



## Igangværende projekter under Miljøstyrelsens Bekæmpelsesmiddelforskningsprogram

### **Biocid rotation og kontrol af mikrobiologisk resistens udvikling i fødevarerindustrien** (DTU Fødevarerinstitutionen)

#### *Projektbeskrivelse*

Fødevarerirksomheder, store som små, beror sig på brug af biocider eller desinfektionsmidler til at nulstille mikrobiologien efter afslutning af den daglige produktion. Hvis rengøring og desinfektion ikke i tilstrækkelig grad fjerner alle mikroorganismer fra overflader af produktionsudstyr, kan der opstå en smittefare, da bakterier og svampe kan overføres til fødevarer på næste produktionsdag.

Ved vedvarende brug af et desinfektionsmiddel kan der opstå resistens blandt mikroorganismene, hvilket kan føre tab af effekt. Den farlige bakterie, *Listeria monocytogenes*, har fx vist sig at være særdeles dygtig til at udvikle resistens og etablere sig i produktionsmiljøet, hvilket leder til utallige tilbagekald af spiseklare fødevarer og udbrud af den potentielt dødelige listeriosis sygdom.

Dette projekt vil tage udgangspunkt i anbefalingen om, at virksomhederne skal rotere desinfektionsmidler for at undgå opbygning af resistens blandt mikroorganismene. Formålet med projektet er at undersøge variationer i resistens blandt industrielle *L. monocytogenes* stammer og mikrobiotaen fra produktionsmiljøer, hvilke rotationer, der virker, og hvor ofte, der skal skiftes desinfektionsmiddel for at nedbringe resistens og opnå et effektivt og bæredygtigt biocidforbrug med et formindsket forbrug og udledning.

Vi vil undersøge resistensudviklingen hos mindst 100 *L. monocytogenes* stammer overfor almindelige desinfektionsmidler fx hypoklorit, pereddikesyre og kvarter-nære ammonium stoffer som funktion af eksponering (koncentration, tid) og tilstedeværelsen af organiske stoffer (snavs) og biofilm. Der er speciel fokus på resistensdannelse i biofilm med *L. monocytogenes*. Resistensudvikling i mikrobiotaen fra produktionsmiljøet hos vores samarbejdspartnere undersøges også i relation til industrielle forhold med simulering af deres brug af biocider. Med afsæt i de op-nåede resultater undersøges forskellige rotationsstrategier med skift af desinfektionsmiddel for at belyse, hvordan resistens hos bakterier i og uden for biofilm påvirkes, dvs. undertrykkes den eller udvikles der krydsresistens?

Resultaterne fra dette forskningsprojekt skaber ny viden om hvordan industriel brug af desinfektionsmidler påvirker den mikrobielle økologi og resistensdannelse, specielt hos den farlige *L. monocytogenes* bakterie. Den nye viden kan bruges til at formindske udvikling af resistens og dermed også forbruget af desinfektionsmidler.

### **Undersøgelser af mulige punktkilder inkl. azol-fungicid brug for udvikling af azol resistent *Aspergillus fumigatus***

(Statens Serum Institut)

#### *Projektbeskrivelse*

Azole resistance in human fungal pathogens has increased over the past twenty years, especially in immunocompromised patients. Similarities and cross-resistance between azoles used in medicine and

agricultural azole fungicides used in crop protection, has put focus on whether the increased resistance rate reported in patients with aspergillosis, is a result of extensive use of azoles in the agricultural environment. *Aspergillus* species, and especially *Aspergillus fumigatus*, are among the dominating causes of patient morbidity and mortality from fungi. Alternative drugs for control of aspergillosis are limited, expensive, less efficacious, more toxic and require intravenous administration.

Azoles are also used in wood and textile preservation and consumer and animal health products, but the majority is used in agriculture and horticulture, when applied as seed treatment or as a spray for control of plant pathogenic diseases. Azoles are today the most widely used group of fungicides providing control of a wide range of plant pathogens in many crops. The potential conflict between the level of agricultural use and the durability of clinical effectiveness of azoles highlights how limited the antifungal toolbox is, where neither "side" can afford to lose a mode of action (through resistance or a ban of use) as this will have major impact on agricultural production and on cost and outcome of patients with aspergillosis.

So far, only limited investigations have been made on the occurrence of azole resistant *A. fumigatus* in the Danish environment, as also specified and summarised in a recent report from SSI. The aim of this project is to investigate potential hotspots for developing resistance in AP (i.e. where is resistance development occurs in DK). Moreover, to investigating if and how specific azoles can select for resistance, when applied to *A. fumigatus* population with low frequency of azole-resistance (i.e. which fungicide, concentrations and application frequencies are determinants for resistance development in *A. fumigatus*). Hotspots for sampling will be picked based on knowledge on actual use of azoles in the environment as well as based on experiences published in literature. Both agricultural environments (soils, compost heaps, straw environment), gardens and storage places will be investigated for azole concentration and AF populations. Isolated *A. fumigatus* from hot spots will be tested for specific resistance mutations and screened for susceptibility to relevant medical azoles and azole fungicides incl. 1,2,4 triazole metabolites, which are commonly found in field samples.

## **Eksposering for pyrethroider under udviklingen og indvirkning på hjerne- og hjertefunktion**

(IST, Syddansk Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

Pyrethroider er insektmidler som i stigende grad anvendes og befolkningen udsættes især fra rester i frugt, grøntsager og kornprodukter. Nedbrydningsprodukter af pyrethroider kan nu måles i urin hos stort set alle, herunder børn og gravide kvinder, som også påvist i Odense Børnekohorte. Pyrethroider er nervegifte, som primært påvirker spændingsafhængige natrium-kanaler, der er vigtige for ledning og overførsel af elektriske impulser i nervesystemet. Da tilsvarende natrium-kanaler er væsentlige for hjertemusklens sammentrækning, mistænkes pyrethroider for også at være skadelige for hjertet men der mangler viden om dette. Desuden menes pyrethroider at kunne påvirke skjoldbruskkirtels hormoner, og selv små ændringer i moderens niveauer af disse hormoner under graviditeten kan påvirke udviklingen af fosterets hjerne. Eksposering for pyrethroider i følsomme perioder i fosterliv og barndom kan derfor måske påvirke barnets udvikling og medføre øget sygdomsrisiko senere i livet. Kun få befolkningsundersøgelser har undersøgt, om der er sammenhæng mellem tidlig udsættelse for pyrethroider og nervesystemets udvikling hos børn og resultaterne er modstridende. Ingen studier har undersøgt om pyrethroider kan påvirke hjertemuskelceller fra mennesker eller hjertekarsystemet hos børn. I Odense Børnekohorte er gravide kvinder bosat i Odense Kommune og deres børn fulgt med gentagne spørgeskemaer, kliniske undersøgelser herunder måling af blodtryk, samt blod og urinprøver. Børnene er bl.a. blevet testet for symptomer på ADHD og autisme ved 5 år og deres

kognitive funktion (inkl. IQ) er testet i 7-årsalderen. Kohorten giver en enestående mulighed for at undersøge, om udsættelse for pyrethroider i graviditet og barndom har betydning for børnenes kognitive udvikling og deres blodtryk i barndommen. Der er allerede analyseret nedbrydningsprodukter fra pyrethroider i 1200 urinprøver fra møderne i graviditeten og langt de fleste (94%) havde målbare koncentrationer, som vi har fundet relateret til højere ADHD-score blandt børnene i 2-4-årsalderen. Vi er aktuelt ved at måle de samme nedbrydningsprodukter i urinprøver indsamlet fra 460 børn i 5-års alderen og ønsker at supplere med yderligere 400 urinprøver. Vi ønsker desuden at undersøge om pyrethroider binder sig til proteinet, transthyretin, som transporterer skjoldbruskkirtelhormoner i blodbanen, og om de påvirker moderens koncentration af hormonerne, og derved indirekte kan skade hjernens udvikling hos fosteret. Endelig ønsker vi at undersøge om pyrethroider påvirker sammentrækningen i hjertemuskelceller (kardiomyocytter) ved hjælp af en helt ny metode baseret på stamceller fra mennesker. Resultaterne fra projektet vil bidrage med vigtig ny viden om mulige langtidseffekter af pyrethroider i sårbare befolkningsgrupper og mekanismer bag og vil kunne anvendes i myndighedernes regulering af disse stoffer.

### **Bedre værktøjer til vurdering af hormonforstyrrende egenskaber af biocider og pesticider – ToAD**

(DTU Fødevarerinstitutionen)

#### *Projektbeskrivelse*

EU lovgivningen kræver, at alle biocider og pesticider undersøges grundigt for hormonforstyrrende effekter. De nuværende testmetoder og den eksisterende vejledning er dog ikke tilstrækkelig, og efterlader den vurderende myndighed med vanskelige overvejelser. I dette projekt vil vi adressere to udfordringer i vurderingen af hormonforstyrrende effekter. Vi vil øge forståelsen af, hvordan forskellige mekanismer bag hormonforstyrrende effekter på reproduktionssystemet spiller sammen, og dermed forbedre muligheden for at forudsige effekter af pesticider og biocider ud fra screeningsstudier uden brug af dyreforsøg. Dernæst vil vi udvikle nye metoder til at screene biocider eller pesticider for potentielle effekter på retinoid-signaler, uden brug af dyreforsøg. Retinoid-signaler er nødvendig for udvikling af en lang række organsystemer i alle dyrearter, inklusive reproduktionssystemet, immunsystemet og skeletdannelse. Nyere undersøgelser har vist, at kemikaliepåvirkning af retinoid-signaler spiller sammen med hormonforstyrrende mekanismer, og en øget forståelse af dette samspil vil være nødvendig for at kunne forudsige skadevirkning af stoffer, der påvirker retinoid-signaler, især under fosterudviklingen. Endnu er der ikke udviklet testmetoder til at screene for, om biocider og pesticider kan påvirke retinoid-systemet. Disse nye metoder, samt øget forståelse af samspillet mellem forskellige hormonforstyrrende mekanismer, vil lette myndighedernes vurdering af hormonforstyrrende egenskaber af pesticider og biocider. Desuden vil de understøtte brugen af alternative metoder til risikovurderingen af pesticider, biocider og andre kemikalier, samt, bidrage til en forbedret vurdering af risikoen for menneskers sundhed i forhold til faktisk eller anslået eksponering.

### **Et pilotprojekt - Eksponeringsveje for pesticider i harer i agerlandet**

(Institut for Kemi og Biovidenskab, Aalborg Universitet)

#### *Projektbeskrivelse*

Antallet af danske harer (*Lepus europaeus*) har været faldende gennem flere år. Vildtudbyttet af harer er faldet fra omkring 400.000 harer før 1960 til omkring 41.000 om året i dag, og et gennemsnitligt fald på 4% per år i de seneste 20 år. Selvom vildtudbyttet til en vis grad afhænger af jagttraditioner, viser udbyttet et tydeligt fald. Harer i Danmark er et yndet jagtobjekt og anvendes til konsum. Det

formodes at årsagerne til harens tilbagegang i Danmark er ændringer i landbrugslandets dyrkningsformer og anvendelse af pesticider i agerlandet. Harer er valgt som fokusart i risikovurderingen i rapporten ”The Northern Zone in accordance with Regulation EC 1107/2009”. Harer lever i åbne landskaber og søger føde i agerlandet i markskel og på marker. Nyere undersøgelser af harer viser, at harer i dag ikke kun lever af vilde urter, men også en lang række markafgrøder som byg, majs, rødkløver og græs, og at de søger føde i sprøjtezoner, hvor de udsættes for oversprøjtning med pesticider. Harer kan derfor være særligt udsatte i forhold til pesticider, som de både kan optage gennem føden, men også gennem andre eksponeringsveje som indånding og dermal absorption. I projektet vil vi screene 100 harer for en lang række pesticider. Sundhedstilstanden og reproduktion vil blive undersøgt hos 400 harer. Projektet er et pilotprojekt og vil vurdere om der kan være sammenhæng mellem forekomst af pesticider og harernes helbredstilstand. Desuden vil der være fokus på, om der kan være andre eksponeringsveje end føden for pesticider til harer. Resultaterne af undersøgelsen vil også være vigtig i forhold til andet markvildt, som søger føde i markskel og småhabitater i agerlandet.

Harerne vil blive indsamlet via det netværk som allerede eksisterer i forbindelse med ”faldvildt-ordningen”, hvor dyrlæger ved Aalborg Universitet (AAU) og DTU-Center for Diagnostik (DTU-CfD), hvert år undersøger 1000-2000 vilde dyr for sygdomme. Faldvildt-ordningen samarbejder Naturstyrelsens enheder og jægere. Desuden indsamles harer gennem Falck redningstjeneste. Der modtages i øjeblikket ca. 40 harer om året, men dette ønskes udvidet til 100 harer pr år i projektperioden. De 40 harer om året indgår som medfinansiering dvs. ca. 10% af obduktionsomkostningerne.

*Formålet med projektet er at undersøge:*

- om der kan findes pesticider i danske harer i så høje koncentrationer, at det må forventes at påvirke helbred og reproduktion
- undersøge om der kan påvises andre eksponeringsveje for pesticider for hare i agerlandet end gennem føden.

*Formidling af resultater:*

Projektet vil blive afsluttet med en rapport til Miljøstyrelsen. Desuden vil resultater i dialog med styrelsen formidles til relevante medier og målgrupper. Videnskabeligt vil resultaterne blive publiceret i relevante tidsskrifter og offentliggjort ved nationale- og internationale konferencer.

## **SURFPEST – Måling af betydningen af overfladisk afstrømning som transportvej for pesticider fra mark til vandløb**

(Institut for Bioscience, Aarhus Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

Overfladisk afstrømning er en ofte overset transportvej, men med en stigende og højere intensiv nedbør måske en vigtig, direkte transportvej for pesticider fra mark til overfladevand. En sådan transportvej kan især have betydning for eventuelle pulser af pesticider i vandløb. Transportveje kan føre både opløste og partikel-bundne pesticider til overfladevand. Der er derfor et stort behov for flere kvantitative opgørelser af betydningen heraf på både mark og oplandsniveau.

Den direkte transportvej som overfladisk afstrømning udgør under intensiv nedbør og snesmeltning er desuden mangelfuldt beskrevet i modeller, så der er et stort behov for at få indsamlet data som kan medvirke til at udvikle og validere modeller for overfladisk afstrømning da denne transportvej forventes at blive vigtigere når klimaet ændrer sig mod mere nedbør og mere ekstreme nedbørshændelser. I projektet måles og kvantificeres overfladisk afstrømnings betydning som transportvej fra mark til vandløb og deres indflydelse på pulskoncentrationer af opløste og sedimentbundne pesticider i tre mindre vandløb i Vestjylland og Østjylland. Der udvikles og af testes en ny metode til hydrografopsplitning af overfladisk afstrømning støttet af sensormålinger af

ledningsevne, anvendelse af stabile isotoper som tracere, samt støttet af en række fysisk-kemiske parametre analyseret ved udtag af samtidige vandprøver i overfladisk afstrømning og vandløb med automatiske prøvetagere.

## **Pesticideksponeringsrisiko for flagermus i landbrugsområder – BatPER**

(Institut for Bioscience, Aarhus Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

Gældende metoder til risikovurdering for bekæmpelsesmidler for fugle og pattedyr vurderes ikke at være tilstrækkeligt dækkende for eksponering af flagermus. Risikovurderingen omhandler fx ikke risikoen for dermal eksponering og inhalering af bekæmpelsesmidler som flagermus kan opleve, hvis de jager insekter samtidig med udbringningen af bekæmpelsesmidlerne. Endvidere er der generel dårlig viden om toksiciteten af bekæmpelsesmidlerne for flagermus i forhold til de typiske testorganismer, og de toksiske effekter under flagermusenes dvaleperiode.

Alle flagermusarter er strengt beskyttede i Danmark og resten af Europa. Alle flagermusbestandes status er desuden meget følsomme over øget dødelighed, fordi arterne alle har relativt lange levetider og lave reproduktionsrater. Desuden flyver flagermus ofte mange kilometer hver nat for finde insektrige jagtområder, fx over marker, langs levende hegn eller i frugtplantager, hvorved de kan udsættes for pesticider. Flagermus kan ligefrem opsøge landbrugsmaskiner, dels fordi flagermusene fouragerer på de insekter som sværmer op omkring maskinerne, og dels fordi flagermusene tiltrækkes af lys på maskinerne. Den adfærd medfører en stor risiko for at flagermusene bliver direkte oversprøjtet med bekæmpelsesmidler eller eksponeres dermalt og inhalerer midlerne, når flagermusene fouragerer i pesticidsky-en bag sprøjtebombene.

I dette projekt vil vi undersøge eksponeringsrisikoen for flagermus i dansk land-brugslandskaber inklusiv frugtplantager ved at:

- 1/ Kvantificere aktiviteten af flagermus i tid og rum gennem sommeren i landbrugsområder,
- 2/ Undersøge flagermus' fourageringsadfærd i flagermusenes yngletid og ved pesticidudbringning,
- 3/ Modellere flagermus' brug i landbrugshabitater og eksponeringsrisikoen.

Rumlige og temporære mønstre i aktivitet af flagermus i landbrugshabitater og frugtplantager undersøges med passive ultralydsdetektorer i 10 studieområder. Ultralydsdetektorerne, der registrerer flagermusenes ekkolokaliseringsskrik, placeres langs levende hegn og skovbryn ud mod marker og i frugtplantager i 10 døgn i hvert studieområde hver måned fra sidst i maj til september. Desuden undersøges fourageringsadfærden med flagermusdetektorer og direkte observationer i yderligere 10 områder først på sommeren i flagermusenes yngleperiode.

Flagermusenes forekomst og habitatbrug er meget afhængig af landskabssammensætningen.

Risikokort for flagermus modelleres ved at kombinere den empiriske viden om flagermusaktivitet i tid og rum med landskabssammensætningen (fx heterogeniteten og sammensætning af levende hegn og skovbryn, afstand til skov og andre relevante habitattyper), sammensætningen af afgrøder i studieområderne og typiske brugsmønstre for bekæmpelsesmiddel.

Projektet vil give empirisk viden om flagermus' brug af landbrugsområder og deres adfærd ifm. pesticidudbringning. Resultaterne vil bidrage til mere realistiske risikovurderinger ift. flagermus og praktiske anbefalinger til at udgå udbring af bekæmpelsesmidler på tidspunkter og steder, hvor der er høj risiko for eksponering af flagermus.

## **Snyltehvæpse i raps: en oversat ressource i bekæmpelsen af skadedyr**

(Institut for Plante og Miljøvidenskab, Københavns Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

Vinterraps tegner sig for 7% af det dyrkede areal i Danmark men for en langt større andel af den samlede belastning med insekticider . Raps angribes gennem hele vækstsæsonen af en række specialiserede skadedyr, hvis betydning for udbyttet varierer med år, lokalitet og afgrødens evne til at kompensere for skaderne. De vigtigste skadedyr er rapsjordloppen, glimmerbøssen, skulpesnudebillen og skulpegalmyggen. Hos flere skadedyr er der dokumenteret resistens overfor insektmidler, og det vurderes at mindst 2/3 af rapsarealet i Europa nu er berørt af resistens overfor insektmidler. Der er derfor et påtrængende behov for, at det sideløbende med udvikling af monitoring, varsling og bedre sprøjteteknik også undersøges, hvorvidt den tilgængelige viden om naturligt forekommende fjender af skadedyrene kan operationaliseres og aktivt indgå i landmændenes beslutninger om direkte bekæmpelse.

Alle rapsens skadedyr angribes af snyltehvepse, hvoraf de fleste indvandrer i rapsmarken i løbet af vækstsæsonen og som ofte parasiterer >30% af skadedyrene. I det pilotprojekt, som nærværende projekt følger op på, er det bekræftet at de vigtigste snyltehvepse forekommer i danske rapsmarker fra meget tidligt i vækstsæsonen frem til høst. I samme periode beslutter landmanden, om rapsmarkerne skal behandles med insekticider, baseret på skadetærskler, historik, risikovillighed og praktiske forhold. For øjeblikket er det ikke muligt at inddrage den lokale "bank" af snyltehvepse og deres naturlige kontrol af skadedyrene i disse beslutninger, bl.a. fordi skadedyrene på grund af snyltehvepsenes livscyklus først påvirkes det følgende år. Det er derfor projektets formål at identificere faktorer af betydning for forekomsten af snyltehvepse med fokus på faktorer, der kan påvirkes af landmænd og som således kan anvise måder at understøtte nyttedyrene. Projektet vil udnytte SEGES's registreringsnet som består af ca 70 rapsmarker fordelt i hele landet til at kortlægge forekomsten af rapsskadedyrenes snyltehvepse og deres aktivitet i form af parasitering, at undersøge betydningen af afstanden mellem dette års rapsmarks og sidste års mark for forekomsten af snyltehvepse, samt at undersøge betydningen af sprøjtehistorik og jordbehandling i rapsmarker på landskabsniveau. Endelig vil vi undersøge, om det er muligt at udvikle DNA-baserede monitoringsmetoder, der synliggør tilstedeværelsen af snyltehvepsene for landmanden og som på længere sigt kan indgå i både bekæmpelsesstrategier og i en langsigtet forvaltning af snyltehvepsene på bedriftsniveau, parallel til fx vildtforvaltning.

## **Afgrødetilpassede blomsterstriber til IPM og bestøvere** (Institut for Agroøkologi, Aarhus Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

Bestøvere og naturlige fjender af skadedyr er afgørende for planteproduktionen, men er også en vigtig del af den funktionelle biodiversitet i landbrugslandskabet. Bekymring for nedgangen i antallet af insekter har fået landmænd til at etablere blomsterstriber, enten i form af frivillige tiltag som blomsterstriber langs mark-kanter eller som regelsatte miljøfokusområder (MFO). Fra et biodiversitetssyns-punkt er blomsterstriber kun et supplement til forbedringer i mængde og kvalitet af habitater, men de er attraktive for landmændene som en måde at synliggøre biodiversitetsvenlige handlinger på. Hidtil har der været mest opmærksomhed på bestøveres brug af blomsterstriber, men fremover skal landmændene også overholde IPM-principperne, der kræver, at de "beskytter naturlige fjender ved brug af økologiske infrastrukturer". Derfor er det relevant at udvikle blomsterstriber, som også er rettet mod naturlige fjender af skadedyr. Eksisterende blomsterstriber er variable: enårige, toårige eller flerårige, og udsået med forskellige frøblandinger i foråret eller efteråret. Der mangler viden om den sæsonmæssige udvikling af blomsterressourcer i striberne i forhold til såtid og alder. Ligeledes er værdien af enkelte plantearter og artsblandinger for henholdsvis naturlige fjender og bestøvere under danske forhold ikke veldokumenteret. Dette projekt sigter mod at udfylde disse videnshuller og gøre det muligt at designe artsblandinger bestående af planter rettet mod relevante bestøvere og naturlige fjender. Vi fokuserer på raps, der har mange skadedyr, en høj

insekticidbelastning og hvor skadedyrsbekæmpelsen udfordres af insekticidresistens. Fra et igangværende MST-projekt ved vi, at snyltehvepse, der angriber de tre vigtigste raps skadedyr, er udbredt i danske marker. "Skræddersyede blomsterstriber" til raps skal derfor designes og etableres så de tilgodeser både snyltehvepse og relevante bestøvere. I plotforsøg på to lokaliteter undersøger vi 1) hvordan plantearter, der er relevante for bestøvere og raps-snyltehvepse, fungerer agronomisk og biologisk, 2) hvordan snyltehvepse og be-støvere udnytter plantearter som fødekilder og til reproduktion, i renbestand og i blomsterblandinger og 3) om vilde bier og snyltehvepse overvintrer i blomsterstriber. Den viden, der genereres, vil muliggøre fremtidig design af afgrødespecifikke blomsterstriber, der understøtter lokale populationer af naturlige fjender og bestøvere, med en potentiel reduktion i insekticidanvendelse og et øget udbytte som resultat.

## **Implementering og kommunikation af en miljørisikovurdering for bier med flere samtidige stressfaktorer**

(Institut for Bioscience, Aarhus Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

En stigende erkendelse blandt forskere, EU rådgivere og EFSA har ført til et forslag om udviklingen af en ny miljørisikovurdering for bier, som inddrager flere samtidige stressfaktorer. Dette forslag er under behandling i EU, og ikke indarbejdet i retningslinjer for miljørisikovurdering endnu. Formålet med dette projekt er at udvikle en metode til implementering af den nye, forståede miljørisikovurdering, og vurdere betydningen under danske forhold og for bestande af honningbier og vilde enlige bier. Projektet udforsker beskrivelsen af de risici, som påpeges af den nye miljørisikovurdering, og hvordan sådanne risici kan kommunikeres til myndigheder og forvaltere. Et centralt punkt i projektet er at udforske effekten af kompleksitet under de lokale landskabssammenhænge, som påvirker miljørisikovurderingerne. Ligeledes vil lokale og nationale forhold af betydning blive inddraget i en sammenligning mellem Danmark, Polen og Holland. Hypotesen om at honningbier er mindre sårbare end vilde enlige bier vil også blive vurderet, da fokus i miljørisikovurderinger bør være på de mest sårbare arter, som ikke er mål for bekæmpelsen. Resultaterne vil også blive brugt til at vurdere præstationen af de modeller, som udvælges til at indgå i miljørisikovurderinger. Dette vil bidrage til at øge tilliden til det nye system. Projektet vil bruge en ny GIS-baseret metode til at konstruere detaljerede simulationer i faktiske landskaber i Danmark, Polen og Holland, samt bruge disse til at vurdere effekten af pesticider i scenarier (landskabsforhold, pesticidbelastning, klimaforhold mv), som defineres ved inddragelse af nøgleinteressenter. Resultaterne vil blive sammenlignet indenfor og mellem landene. For Danmark vil resultater af simuleringer ved forsimpning af input eller model blive sammenlignet med resultater ved inddragelse af forskellige niveauer af kompleksitet, herunder flere samtidigt virkende stressfaktorer. Formålet med denne øvelse er at afdække fordele og ulemper ved at øge detaljeringsgraden ved simulationer, og ydermere, om komplekse vekselvirkninger øger robustheden mod pesticideffekter hos honningbier i forhold til enlige bier. Modellerne vil blive evalueret ved at sammenligne forudsigelser af modellerne i bestemte landskaber med feltdata fra de samme landskaber, for at bestemme modellernes præstationsevne. Resultaterne forventes at have stor betydning, idet de vil danne grundlag for udvikling af en ny, mere realistisk og præcis miljørisikovurdering. Videnskabeligt vil resultaterne bidrage med viden om kontekst afhængighed og betydningen af komplekse systemers struktur for stabiliteten af naturlige bestande. Projektet er første skridt på vejen mod implementering af en miljørisikovurdering med inddragelse af flere samtidige stressfaktorer, resultaterne forventes derfor at have stor nyhedsværdi og offentlig interesse.

## **Biologi og bekæmpelse af herbicidresistens hos enårig rapgræs - *Poa annua***

(Institut for Agroøkologi)

### *Projektbeskrivelse*

Enårig rapgræs er en af de mest almindelige ukrudtsarter i DK og forekommer i alle afgrøder. Enårig rapgræs spirer både efterår og forår og kan have flere generationer på et år. Problemer med enårig rapgræs er specielt store i majs og frøgræs, da der findes meget få muligheder for kemisk bekæmpelse i de to afgrøder. I frøgræs vil udbredt resistens hos enårig rapgræs betyde, at der ikke længere kan dyrkes f.eks. engrapgræs. Kravet om renheden af græsfrø er højt, og avlerne vil ikke kunne leve op til disse krav, hvis enårig rapgræs ikke kan bekæmpes. Fundet af flere tilfælde af ALS-resistens hos enårig rapgræs (*Poa annua*) i de senere år er derfor bekymrende, da der forud for disse fund kun var rapporteret et tilfælde i Europa. I 2019 og 2020 er der fundet resistens i ti populationer, primært fra marker med høj frekvens af majsdyrkning. Tidligere er der konstateret resistens i to populationer indsamlet i et korn- og græsfrøskifte. Gentagen brug af ALS-hæmmere (HRAC 2) kendetegner bekæmpelsesstrategier i både majs, græs til frøproduktion og mange andre afgrøder. Projektet vil undersøge spredningen af resistente populationer med udgangspunkt i frømateriale indsamlet i tidligere og sideløbende resistensmonitoringer. Projektet undersøger et af de vigtige spørgsmål, nemlig hvorvidt der er tale om parallel udvikling af resistens i flere marker og/eller flere områder i de enkelte marker, eller om spredningen er sket fra få områder. Projektet vil endvidere undersøge de agronomiske faktorer, som har betydning for udbredelsen af resistens.

En række alternative bekæmpelsesstrategier i majs vil blive afprøvet i markforsøg for at identificere effektive strategier primært baseret på forebyggende tiltag og mekanisk bekæmpelse. Dette inkluderer bl.a. falsk såbed, mekanisk bekæmpelse både før og efter majsens fremspiring f.eks. strigling og radrensning. I modsætning til majs er sædskiftet helt centralt i frøgræssædskifter. Frøgræs dyrkes i et sædskifte med op til 5 år mellem frøgræsmarkerne, som der høstes på i 2-3 år. I frøgræssædskifter vil den primære indsats være forebyggende tiltag i de mellemliggende år. Derfor vil en række afgrøders konkurrenceevne overfor enårig rapgræs blive undersøgt i både markforsøg og under kontrollerede forhold. Foruden et velplanlagt sædskifte er det vigtigt at mindske ukrudtsfrøproduktionen og dermed hindre, at jordens frøpulje øges. En anden vigtig faktor er frøenes overlevelsessevne i jorden, og for at få en bedre forståelse af dette aspekt vil frøprøver blive nedgravet i forskellige dybder i jorden samt på overfladen. Spireevnen af frøene vil blive undersøgt løbende.

## **Betydning af kvaternære ammoniumforbindelser og deres nedbrydningsprodukter i selektion af bakteriel resistens**

(Institut for Veterinær og Husdyrvidenskab)

### *Projektbeskrivelse*

Biocider og desinfektionsmidler bruges alle steder i vores samfund og den seneste tids fokus på hygiejne til begrænsning af Covid-19 har kun udbredt brugen yderligere. Overfor bakterier er desinfektionsmidler effektive ved korrekt brug, men efter anvendelse finder de desinficerende stoffer vej ud i kloaker og rensningsanlæg og kan genfindes i slam som overføres til marker. I denne proces vil koncentrationerne af desinfektionsmidler være kraftigt reduceret, og der kan ske en delvis nedbrydning som kan fremskønnes af miljøbakterier. I dette projekt vil vi undersøge hvorledes nedbrydningsprodukter af desinfektionsmidler påvirker bakterier. Vi vil fokusere på den kvaternære



ammoniumforbindelse, benzalkonium klorid, som har bred anvendelse i såvel husholdninger som i industrien. Fra tidligere studier ved vi, at bakterier kan udvikle tolerance overfor benzalkonium klorid ved at tilegne sig såkaldte *qac* gener, der koder for effluks-systemer, som gør bakterierne i stand til at udskille toksiske forbindelser inklusiv benzalkonium klorid og chlorhexidin. Vi har desuden vist, at mens *qac* gener i dag er hyppigt forekommende i den almindelige hud-bakterie, *Staphylococcus epidermidis* så kunne de ikke påvises i *S. epidermidis* bakterier, der blev indsamlet for mere end 50 år siden. Dette tyder på at *qac* gener er fordelagtige for nutidens bakterier og at der må ske en omfattende selektion af dem. Hypotesen i dette projekt er at nedbrydningsprodukter af desinfektionsmidler bidrager til at fremme forekomsten af bakterier som indeholder *qac* gener, og at der ved koncentrationer, som ikke påvirker bakteriernes vækst, stadig er en lille men signifikant fordel for bakterierne ved huse disse gener i konkurrence med bakterier som ikke indeholder dem. I projektet fokuserer vi på benzalkonium klorid, men projektet kan have vidtrækkende konsekvenser for hvordan vi anskuer påvirkningen fra desinfektionsmidler, og risikovurderer dem i forhold til deres biologiske betydning. Projektet er et samarbejde imellem Århus og Københavns Universitet, hvor der ved Århus universitet er omfattende viden og ekspertise indenfor kemiske analyser af bioder og deres nedbrydningsprodukter mens der ved Københavns universitet er eksperter på mikrobiologiske effekter af biocider på såvel naturlige hud-bakterier, som på sygdomsfremkaldende bakterier. Projektet vil drage nytte og samarbejde med QUAT Fate projektet, der for nylig er finansieret af Miljøstyrelsen.

## **Non-Extractable Residues and the Change in Persistence Assessment (NERCHA)**

(DTU Environment)

### *Projektbeskrivelse*

I den Europæiske Union reguleres kemikalier i henhold til REACH-forordningen (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical substances). For at overholde forordningen skal producenter eller importører vurdere kemikaliet for persistens, bioakkumulerende og toksiske egenskaber (PBT).

En af hjørnestene i vurderingen af persistens er at teste kemikalierne for bionedbrydelighed ved anvendelse af radioaktive kulstofisotoper ( $^{14}\text{C}$ ). I disse test dannes ikke-ekstraherbare rester (NER). Faktisk forbliver op til 90% af radioaktiviteten uidentificeret som NER. NER har i mange år været betragtet som en 'sort boks', og i risikovurdering af kemikalier har NER-fraktionen været anset som nedbrudt stof. Nylig udvikling i både analyseteknikker og teoretisk forståelse har åbnet denne boks og gjort det muligt at kategorisere NER i tre forskellige typer, blandt andet biogene ikke-ekstraherbare rester, eller, bioNER. En ny metode til at estimere dannelsen af bioNER er blevet udviklet. På baggrund af metodologiens nyskabelse og nyttighed har den fundet vej til reguleringsorganerne og er blevet taget op af Det Europæiske Kemikalieagentur. I den seneste vejledning til persistensvurdering af pesticider, biocider og andre kemikalier, der markedsføres i EU, betragtes NER, med undtagelse af bioNER, som værende ikke-nedbrudt kemikalie. For de fleste kemikalier betyder dette at deres nedbrydningstid er længere, og kemikalier, der er i anvendelse i dag, kan reguleres strengere.

I dette projekt undersøger vi specifikt de identificerede huller i den eksisterende viden vedrørende estimeringen af dannelsen af bioNER, såsom ufuldstændig mineralisering af kemikalier, når mikroorganismer lever af flere forskellige stoffer (sultmetabolisme) og nedbrydningen bliver foranlediget af mange forskellige mikroorganismer. En forbedret metode til at estimere bioNER-dannelse

## **Trifluoreddikesyre fra pesticider** (GEUS, Geokemisk Afd.)

### *Projektbeskrivelse*

I 2020 fandt Miljøstyrelsen overraskende trifluoreddikesyre (TFA) i 219 ud af 247 analyserede borer (88,7 %) i grundvandsovervågningen. I 212 borer var koncentrationen over kravværdien for pesticidstoffer på 0,1 µg/l svarende til 85,8% af de undersøgte borer. Den højeste koncentration var 2,4 µg/l.

TFA kan dannes ved nedbrydning af pesticid-aktivstofferne flurtamone og flufenacet, der dog ikke har haft registreret anvendelse i Danmark, samt ved nedbrydning af perfluorerede gasser i atmosfæren. Teoretisk kan TFA også dannes ved nedbrydning af en række andre pesticid- og biocid aktivstoffer, hvor der indgår C-CF<sub>3</sub>-grupper i molekylet. Da TFA er yderst stabilt i jordmiljøet med halveringstider på >1000 dage i pløjelaget, kan TFA derfor være den sidste persistente rest, når C-CF<sub>3</sub>-pesticider nedbrydes; det er denne proces vi vil studere i det foreslåede projekt.

Diflufenican og fluopyram var i 2019 de mest brugte C-CF<sub>3</sub> pesticider med salg på henholdsvis 38.233 kg og 33.789 kg. Trifluralin, diflufenican og fluazifop-butyl/fluazifop-P-butyl er historisk de mest brugte C-CF<sub>3</sub>-pesticider. I projektet vil vi kvantificere i hvor høj grad syv C-CF<sub>3</sub> pesticider med meget varierende molekylestrukturer kan omdannes til TFA i forskellige typer jorde, med særligt fokus på de fire ovennævnte stoffer. Vi vil derefter anslå i hvilken grad C-CF<sub>3</sub> pesticiderne har bidraget til TFA i grundvandet på baggrund af historiske salgstal og anvendelser kombineret med vores forsøgsresultater. Projektets konklusioner vil være vigtige for den fremtidige regulering af C-CF<sub>3</sub> pesticiders anvendelse og for fastsættelse af TFA's kvalitetskrav i drikkevand.

## **Reduktion i usikkerheder af forudsigelser for pesticidudvaskning** (GEUS, Geokemisk Afd.)

### *Projektbeskrivelse*

For at vurdere potentialet for pesticidudvaskning til grundvandet benyttes ofte modeller, der eksempelvis beskriver pesticiders transportveje ned igennem en landbrugsmark. Grunden til at man benytter matematisk modellering skyldes, at det i naturen er umuligt at måle for alle parametre der har en betydning for pesticiders transportveje. Samtidig kan der ikke måles for alle observationer, som kunne gøre os klogere på, hvordan pesticiderne rent faktisk transporteres. Ved at benytte modeller bliver det muligt, at simulere og estimere nogle af de ubekendte, som vi ikke har mulighed for at måle.

Ved benyttelse af modeller til at vurdere pesticidudvaskning til grundvandet, forsøger man typisk at kalibrere modellerne på baggrund af målinger foretaget på den lokalitet, som man ønsker at vurdere. Dvs., at man ved hjælp af automatiserede kalibreringsrutiner forsøger at justere parametre, således at en model er i stand til at simulere, hvad der rent faktisk har været målt for. Hvis den kalibrerede model tilfredsstillende simulerer, hvad der blevet målt og modelparametrene vurderes repræsentative, benyttes modellen til at vurdere potentialet for pesticidudvaskning.

Selvom metoden omkring modelleringen er udbredt, er der begrænsninger. F.eks., er det ikke sikret, at de tilgængelige målinger er tilstrækkelige for at en model via kalibrering, kan opnå unikke parameterbestemmelser. Dvs., at forskellige værdier for en og samme parameter, kan medføre ens resultater. Samtidig kan flere parametre være afhængige af hinanden, så man

bliver nødt til at udelade nogle parametre i kalibreringen. Dette medfører typisk store usikkerheder i forhold til den simulerede pesticidudvaskning.

Projektets mål er at minimere usikkerhederne forbundet med simuleringer af pesticidudvaskning til grundvandet. Ved at benytte avancerede kalibreringsrutiner, som bliver mere udbredt inden for at andre modelleringsfelter, vil vi sikre at flest mulige parametre kan kalibreres og opnå unikke værdier. Samtidig vil vi via usikkerhedsanalyser på kalibreringsresultaterne kunne vurdere hvilke observationer og parametre, der mest påvirker usikkerheden på den simulerede pesticidudvaskning.

Projekter vil derfor medføre ny viden om

1. hvilke parametre det er mest betydningsfulde for at simulere pesticidudvaskning
2. hvilke observationer, der er vigtigst at indsamle for at opnå unikke parameterbestemmelser
3. hvilke parameter- og observationstyper, der bidrager mest til usikkerheden på simuleret pesticidudvaskning

Projektets perspektiver er, at man vil blive langt bedre til at minimere usikkerhederne på simuleret pesticidudvaskning til grundvandet og dermed opnå en mere retvisende udvaskningsrisiko. Og at man vil kunne lave feltmålinger, som giver mest information til parameterbestemmelser. Dvs., at man vil kunne fokusere omkostninger i forbindelse med målinger og modelleringsressourcer, mere hensigtsmæssigt.

## **GENEPEASE-II: Pesticideffekter på landbrugsjords økosystemer**

(Inst. f. Miljøvidenskab)

### *Projektbeskrivelse*

Landbrugsjordens biodiversitet bidrager til en række økosystemfunktioner, der har afgørende betydning for jordens evne til at understøtte en bæredygtig landbrugsproduktion. Krummedannelse er et eksempel på en vigtig økosystemeffekt af jordbundens mikrobielle aktivitet og er afgørende for landbrugsjordens evne til at fastholde sin fysiske struktur – en proces, der blandt andet involverer vækst af svampehyfer og udskillelse af forskellige ”klistestoffer”. GENEPEASE-II vil fokusere på krummedannelse som en udvalgt økosystemfunktion men vil også give et indblik i hvilke gener og genfamilier, der op- og nedreguleres efter sprøjtning med fungiciderne tebuconazol og prothioconazol. Landbrugsjordens biodiversitet påvirkes af landbrugsdriften som omfatter jordbehandling, kalkning, gødskning og måske fungicidsprøjtning. I GENEPEASE-II vil vi desuden gennemføre en tilbundsgående analyse af hvordan den samlede population af archaea, bakterier, svampe og protozoer påvirkes af de mest udbredte fungicider i dansk landbrug. GENEPEASE-II ligger i en naturlig forlængelse af projekterne PEASE (1995) og GENEPEASE (2011) og bygger på ansøgergruppens kollektive viden om jordbundens biologi og kemi. I PEASE projektet fik vi indikationer på, at fungicider påvirker jordens biodiversitet, men var udfordret af, at opsætning af kontrollerede laboratorie forsøg (sigtning tørring mm) i sig selv påvirker biodiversiteten, så det er vanskeligt med sikkerhed at fastslå fungicidernes effekter på jordbundens biologi. I GENEPEASE projektet viste vi ved validering mod standard guidelines, at pesticideffekter på nitrifikation med stor sikkerhed kunne bestemmes ved kvantificering af genekspression i jord. Vi konkluderede dengang at måling af genekspression direkte i jorden var en mulighed for at forstå pesticiders effekter på vigtige økosystem funktioner – så længe de involverede gener var kendt og man kunne designe PCR-primere til dem.

GENPEASE-II vil udover en beskrivelse af op- og nedregulerede gener i jord påvirket af de to fungicider, give en beskrivelse af fungicidernes effekt på biodiversiteten i landbrugsjorden. Endelig vil vi screen jorden for dannelse af persistente metabolitter fra de to fungicider.

### **Innovative IPM strategier for bekæmpelse af sygdomme i hvede og løg** (Inst. f. Agroøkologi)

#### *Projektbeskrivelse*

Anvendelse af syntetiske plantebeskyttelsesmidler har i mange år været en integreret del af plantedyrkingen i Danmark. De senere år har et stigende politisk og samfundsmæssigt pres for at reducere anvendelsen samtidig med et faldende udbud af midler været medvirkende til en øget interesse for alternative plantebeskyttelsesmidler. Kendetegnende for alternative plantebeskyttelsesmidler er at de er af naturlig oprindelse (eksempelvis mikrobiologiske organismer eller udtræk af planter), men også at de effektmæssigt desværre ikke er på niveau med de kendte syntetiske midler. Bladsyggdommene Septoria og løgskimmel i henholdsvis vinterhvede og spiseløg er eksempler på skadegørere, der kan medføre store udbyttetab, og derfor i dag intensivt beskyttes mod ved hjælp af sprøjtning med syntetiske fungicider. Dele af disse behandlinger vil imidlertid kunne erstattes af alternative plantebeskyttelsesmidler, men grundet deres lavere effekt vil de ikke kunne stå alene, men skal suppleres med andre tiltag. Nærværende projekt vil således udvikle nye IPM strategier overfor Septoria og løgskimmel ved at kombinere sortsvalg med varslings- og beslutningsstøtteprogrammer for optimeret timing af behandlinger samt alternative midler i blanding med relevante additiver for optimeret effekt og regnfasthed. Målet er at reducere afhængigheden og forbruget af syntetiske plantebeskyttelsesmidler i beskyttelsen mod Septoria i vinterhvede og løgskimmel i spiseløg.

### **Are pesticides and biocides causing activation of pain signaling and thereby increased migraine prevalence?**

(Roskilde Universitet, Rigshospitalet)

#### *Projektbeskrivelse*

Mere end 1 milliard mennesker lider af migræne verden over, og studier viser, at hovedpine sygdommen breder sig. Samtidigt anslår WHO, at migræne er den mest omkostningstunge hjernesygdom i forhold til patienternes sundhed og effekten på samfundet. Vi ved desværre kun lidt om, hvorfor migræneforekomsten kan være stigende. Derfor er vores nye data, der viser, at miljøkemikalier virker aktiverende på centrale smertesignalveje i hjernen vigtige. Vores data viser, at kemikalier kan gå ind og direkte aktivere en smertereceptor kaldet TRPA<sub>1</sub>, der igangsætter migræneanfald hos mennesker. Vi kan ikke teste kemikalierne direkte i mennesker af etiske årsager, men i vores musemodel medfører kemikalierne smertelignende tilstande, der minder om migræne. Blandt de kemikaliegrupper, som vi allerede har testet, er pesticiderne de mest potente. Vi har således fundet, at forbudte pesticider som Lindane, Pentaklorfenol og Hexaklorofen kan aktivere migrænesignalvejene. Hvad der er meget bekymrende er, at vi også har fundet, at moderne pesticider som Fipronil og Prosulcarb har potente effekter. Formålet med det ansøgte projekt er at undersøge høj-eksponeringspesticider og biocider for effekter på TRPA<sub>1</sub> smertereceptoren for at forstå deres evne alene og i cocktails til at skabe migrænelignende smerte i en muse model. Vores hypotese er, på baggrund af præliminære data, at der blandt pesticider og biocider er mange kemikalierne, der kan virke sammen og

have synergistiske effekter, hvorved de potentierte hinandens effekter og sænker tærsklen for initiering af migræneanfald. Vi vil i projektet fokusere på organochlorider, organofosfater, pyrethroider, carbamater og azoler og lægge vægt på stoffer, hvor eksponering af befolkningen er veldokumenteret. I undersøgelsen vil vi desuden også inddrage såkaldte hjælpestoffer i pesticidprodukter og biocider såsom parabener. Disse kan også spille en rolle, da vi har allerede fundet at et hjælpestof som nonylphenol fundet i pesticidformuleringer og anti-bakterielle parabener har samme effekt på migræneinducerende signalering som pesticider. Inden projektstart vil vi konsultere Miljøstyrelsen om, hvilke pesticider og biocider, der kan være særlig relevante for de regulerende myndigheder i Danmark og i EU. Resultaterne fra projektet vil bidrage med viden i forhold til brugen, miljøhåndtering og reguleringen af moderne pesticider/biocider. Derudover vil studiet bidrage til at opklare, hvorfor migræneforekomsten kan være stigende og herved have stor interesse for migrænepatientgrupper og befolkningen som helhed.

## **Bæredygtige biocidbehandlinger til inaktivering af norovirus for øget folkesundhed**

(DTU Fødevarerinstitutionen)

### *Projektbeskrivelse*

Norovirus er en fødevareråber og meget smitsom virus. Virussen er årsag til de fleste udbrud af akut diarré og opkast hos mennesker. For udsatte befolkningsgrupper, såsom spædbørn og ældre, kan norovirus være dødelig. Norovirus kan smitte direkte mellem mennesker og gennem urene overflader, hvis rengøring og desinfektion ikke fjerner virussen tilstrækkeligt. Smitten kan derudover ske via fødevarer, der er håndteret af den syge person. Offentlige institutioner, kantiner og madudsalgssteder benytter rengøring og desinfektionsmidler til fjernelse af norovirus. Fødevarerstyrelsen anbefaler at anvende klor i en 1:9 opløsning og lade det virke i 5 minutter for at fjerne norovirus fra overflader. Anvendelsen af klor har en række ulemper, da desinfektionsmidlet mister sin effekt, hvis der er snavs til stede. Desuden kan der opstå sundhedsskadelige klordampe ved brug, hvorfor det er ikke lovligt at anvende klor i daginstitutioner. COVID-19 pandemien har øget brugen af håndsprit, men denne har ingen effekt på norovirus. For at undgå smittespredning med norovirus er det vigtigt at udpege nye desinfektionsmidler, som er mere bæredygtige (mindre sundhedsfarlige og miljøfarlige) end den nuværende anbefalede klorbehandling.

Det har hidtil ikke været muligt at teste effekten af desinfektionsmidler på humane norovirus, da dyrkning af norovirus i laboratoriet ikke var muligt. Nyligt udviklede metoder, som vi har på Fødevarerinstitutionen, gør det nu muligt at dyrke og påvise humane norovirus. Fremtidige undersøgelser af effekten af desinfektionsmidler på humane norovirus vil derfor være mere retvisende end tidligere.

Formålet med dette projekt er at undersøge desinfektionsevnen af bæredygtige alternativer til klor mod norovirus samt at opdatere de nuværende anbefalinger. Vi vil bestemme den minimale koncentration af udvalgte desinfektionsmidler til at inaktivere 99.99% af alle viruspartikler. Dette vil blive undersøgt for både norovirus og tilsvarende vira, når virussen er opløst i vand eller i prøver med urenheder for at efterligne beskidte og fækalt forurenede miljøer. Derudover vil vi undersøge, hvorvidt desinfektionsmidlerne kan dræbe norovirus i en biofilm, da biofilm er hårdføre og vanskelige at fjerne i fødevarerindustrien. Endeligt vil vi undersøge, om UV-lys kan inaktivere norovirus på rene, beskidte eller fækalt forurenede ståloverflader.

Projektet vil sammenligne desinfektionsmidlers evne til at inaktivere norovirus og tilsvarende vira. Den indsamlede viden vil forhåbentligt føre til udpegning af et bedre og mindre sundhedsskadeligt alternativ til klor til mindsning af smitte med norovirus.

## **Effekter af lav-dosis blandinger indeholdende pesticider og deres metabolitter på CatSper Ca<sup>2+</sup>-kanalen i humane sædceller og konsekvenserne for human fertilitet**

(Rigshospitalet)

### *Projektbeskrivelse*

Vi har for nyligt vist at et udvalg af pesticider og deres metabolitter kan virke hormonforstyrrende ved at efterligne det naturlige kvindelige kønshormon, progesteron, og derved påvirke sædcellens specifikke calciumkanal CatSper. Disse kemikalier kan derved forstyrre vigtige sædcellefunktioner gennem unaturlige effekter på sædcellens normale progesteron-signaler, der er absolut nødvendig for normal fertilitet. Progesteronstimulering af CatSper-kanalen er essentiel for sædcellernes evne til at finde frem til og befrugte ægget. Adskillige studier har vist at en hæmmet progesteron-signaler medfører en mindsket fertilitet, ligesom mænd med mutationer i CatSper er sterile.

Det formodes at mennesker i den industrialiserede del af verden er udsat for flere tusind forskellige miljøkemikalier, hvilket betyder at en sædcelle møder en kompleks sammensætning af kemikalier på sin vej gennem de kvindelige kønsveje mod ægget. Årtiers forskning har vist at grænseværdier for individuelle kemikalier ikke beskytter mod den kombinerede effekt fra de samme kemikalier i lav-dosis blandinger. Vores nyligt publicerede data viser at sådanne lav-dosis blandinger af pesticider og deres metabolitter forstyrrer den normale progesteron-signaler, hvilket kunne mistænkes at hæmme sædcellefunktionen, nedsætte fertiliteten og derved øge behovet for kunstig befrugtning.

Vores hypotese er, at blandingen af pesticider og deres metabolitter i 'cocktail' med andre kemikalier, kan hæmme fertiliteten hos mennesker. Vi vil derfor i dette projekt fokusere på at identificere effekter af lav-dosis blandinger af pesticider og deres metabolitter på CatSper-kanalen i sædceller og på sædcellefunktionen. For at blandingerne er repræsentative for den almene eksponering i befolkningen vil vi basere vores 'cocktail' på de kemikalier vi kan identificere i reproduktive væsker fra kvinder og sædvæske fra mænd i fertilitetsbehandling, ved moderne suspect, non-targeted og targeted LC-MS-baserede metoder. Desuden vil vi forsøge at forudsige additive eller synergetiske effekter af blandingerne ved hjælp af matematisk mixture modellering.

Resultaterne fra projektet vil bidrage med ny viden i forhold til hvordan lav-dosis blandinger af pesticider og deres metabolitter kan påvirke sædceller, samt bidrage til at opklare, hvorfor fertilitetsproblemer er så hyppige i den industrialiserede del af verden. I sidste ende vil resultaterne fra dette projekt kunne bruges til at forudsige effekten af enkelte pesticider og deres metabolitter i lav-dosis blandinger på sædceller, en viden der er yderst relevant i forhold til fremtidige biomonitoreringsdata fra reproduktive væsker både fra par i fertilitetsbehandling, men også andre par der prøver at opnå en graviditet.

## **Udvikling af proaktive strategier til forebyggelse af fungicidresi-stens i kartoffelproduktionen (Akronym: Potato-FRAS)**

(Aarhus Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

I 2022 er der tydelige indikationer på, at der i Danmark er opstået en skimmelse som er mindre følsom overfor mandipropamid, aktivstoffet i fungicidet Revus. Tidligere er der i

Europa fundet en anden genotype, EU37, som er mindre følsom overfor fluazinam (bl.a. i Shirilan). Denne type er ikke fundet i Danmark men den er udbredt i Europa, og den er konstateret i Sydslesvig lige syd for den danske grænse. Fremkomsten af nye *P. infestans* genotyper (f.eks. EU43, EU37) med nedsat følsomhed over for vigtige fungicider er en alvorlig trussel mod en bæredygtig kartoffelproduktion i Europa, men specielt i Danmark, hvor listen af tilladte fungicider mod skimmel er meget kort sammenlignet med andre lande. Revus er et af vores vigtigste forebyggende midler mod skimmel, og hvis det mistes vil det lægge yderligere pres på de tilbageværende midler fx. Ranman og Zorvec mht. resistensudvikling. Derfor er der et akut behov for at forstå udviklingen af fungicid-resistens i relation til bekæmpelse af kartoffelskimmel og at udvikle passende anti-resistens strategier. Formålet med det nærværende projekt er i) at forstå *P. infestans* populationers følsomhed over for de fungicider, der anvendes i Danmark, ii) designe markører til at overvåge de skimmeltyper vi har, forstå hvad der driver udviklingen af fungicidresistens og iii) at udvikle og teste passende proaktive antiresistens-strategier. For at opnå målene vil vi undersøge *P. infestans* følsomhed over for vigtige fungicider i DK og fastslå andre egenskaber, som kan være medvirkende årsag til udbredelsen af fungicidresistente typer (AP1); udvikle og validere markører for de mutationer, der er ansvarlige for resistens over for mandipropamid (AP2); identificere drivkræfterne (f.eks. middeltipe, timing og dosering) for udvikling af fungicidresistens og udvikle antiresistente strategier som kan modvirke resistensudvikling (AP3) og udvikle og etablere en langsigtet infrastruktur til overvågning af fungicidresistens med inddragelse af alle interessenter i kartoffelindustrien (AP4). Projektet vil bidrage til en bæredygtig forebyggelse og bekæmpelse af kartoffelskimmel.

## **Humlebier som vektorer af svampe til biologisk bekæmpelse af skadedyr i jordbærblomster** (Københavns Universitet)

### *Projektbeskrivelse*

Strawberries are increasingly produced in tunnels where the flowers are pollinated by bumblebees in early spring, using commercial hives. Ever-bearing strawberry plants produce flowers again in May, when wild bees and honey bees can enter the tunnels. However, insect pests also enter the tunnels, where mainly thrips and tarnished plant bugs can damage flowers and early fruits. To prevent pest entry, tunnels can be fitted with nets covering the open ends, but this also prevents naturally occurring pollinators from entering, so use of commercial bumblebee hives in early summer may become necessary to ensure pollination. Bumblebees are able to vector fungal spores of biological control agents to strawberry flowers to antagonise grey mould disease in the fruits. This strategy is targeting the biocontrol agent directly to the site of control, and commercial hives with dispensers for biocontrol agents are developed. This project aims to test the ability of bumblebees from commercial hives to vector the fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana* to strawberry flowers and evaluate if this transmission will be sufficient to infect thrips in the flowers. This will be tested in laboratory and experimental greenhouse settings. There is a perceived risk to the bumblebees upon exposure to *B. bassiana*, and the bumblebees may potentially become infected and die. However, risk assessment of biocontrol agents towards bees is mostly done on isolated individuals and not at the colony level. Social insects, including bees, have evolved communal hygienic behaviours, which are expected to limit transmission between nestmates and inside the hive. The project therefore aims to assess if the interactions between fungal exposed bumblebees and their nestmates can limit transmission and infection upon return to the hive after flower visits to ensure functionality of the hive. The consequences for the bumblebee

colony will be evaluated with and without exposure to *B. bassiana* by quantifying emerging new individuals and activity of the hive. As a novel avenue, the project will characterise the microbiota of the bumblebees in the treatments to assess the relationship between colony health and microbial communities. The experiments are expected to provide new knowledge of efficacy and potential risks for using bumblebees as vectors of *B. bassiana* for insect pest control in strawberry flowers in tunnel production, which can benefit growers using insect nets as a preventative method in an integrated pest management strategy.

### **Fremtidens test af plantebeskyttelsesmidler – Identifikation af en dyrefri biomarkør til regulatorisk brug (PeT)**

(DTU Fødevarerinstitutionen)

#### *Projektbeskrivelse*

EU-lovgivning kræver at sprøjtemidler, der bruges til at beskytte afgrøder testes for hormonforstyrrende effekter inden de tages i brug. Flere sprøjtemidler har gennem årene vist sig at have antiandrogene (AA) effekter. Dette betyder, at de fx har hæmmet dannelsen eller funktionen af de mandlige kønshormoner og derved haft en negativ effekt på mandlig kønsudvikling i forsterstadiet. For at undersøge om et stof kan forårsage AA effekter bruger man rottestudier, hvor man måler på effektmål følsomme overfor påvirkninger af det mandlige kønshormonsystem. Et af disse effektmål er anogenital afstand (AGD) - afstanden fra anus til kønsorganerne. I både rotter og mennesker er denne dobbelt så lang i hanner i forhold til hunner, og udsætter man rotter for AA stoffer i forsterstadiet vil AGD forkortes. Samtidig vil man i disse dyr også se effekter på bl.a. prostata, og der er en signifikant korrelation mellem forkortet AGD og nedsat prostatavægt. Desværre har det vist sig, at mange af de laboratorier, som tester pesticider til regulatorisk brug, ikke måler AGD korrekt. Faktisk kan de ikke måle forskel på kontrolhanner og kontrolhunner, hvilket er udgangspunktet for at kunne måle en anti-androgen effekt. Det er problematisk, da vi risikerer at godkende pesticider til brug uden et reelt billede af deres AA potentiale. I dette projekt vil vi adressere udfordringerne ved AGD-måling ved at etablere et dyrefrit alternativ. Formålet med projektet er at udvikle en testmetode, som er objektiv, robust og ikke kræver dyreforsøg, men som er solidt knyttet til de effekter, man ser i dyr - effekter på AGD og prostata. Projektet vil foregå i tre faser; i) eksperimentel fase hvor vi foretager undersøgelser i forskellige typer af celle- og rotteforsøg for at finde frem til prostatagener, som bliver påvirket af kendte AA stoffer, ii) finde fællesnævnerne på tværs af celle- og rotteforsøg og udvikle en AA biomarkør, dvs. en samlet pakke af påvirkede gener, som er typiske for AA stoffer, og iii) bruge AA biomarkøren i celleforsøg til at teste moderne pesticider og pesticidblandinger. Samlet vil projektet give et værdifuldt bidrag til regulering af pesticider: en relevant AA biomarkør, der kan testes i celleforsøg samt viden om mulige forskelligheder i AA aktivitet mellem pesticid aktivstof og blandinger.

### **Transport af tracere og pesticider in 3D (TransTP-3D)**

(GEUS)

#### *Projektbeskrivelse*

Anvendelsen af matematiske modeller er afgørende for at vurdere pesticidudvaskningsrisikoen fra landbrugsdrift. De nuværende modeller, som anvendes i en



reguleringskontekst er 1-dimensionelle modeller. Det betyder, at disse modeller ikke kan repræsentere den naturlige 3-dimensionelle rummelige variation, som er allestedsnærværende. Derfor undervurderer 1-dimensionelle modeller kompleksiteten og den rummelige variation, især når det gælder pesticidtransport over større områder og tidsperioder. Det er velkendt, at 1-dimensionelle modeller ikke er tilstrækkelige til nøjagtigt at vurdere risikoen for udvaskningen. Men det skyldes, at der modellerings-teknisk ikke er udviklet metoder, hvormed den rummelige variation kan indarbejdes i 3-dimensionelle modeller og samtidig tage hensyn til den rummelige variation, som eksisterer på markskala, hvor pesticiderne anvendes. Samtidig er der også udfordringer med at kortlægge områder i tilstrækkelig detaljeret grad til at karakterisere variationen, som findes i og omkring markerne.

I dette projekt vil vi kombinere de nyeste hydrogeofysiske målemetodikker sammen med de nyeste matematiske modellerings-teknikker for at muliggøre:

- (1) Karakteriseringen af den rummelige variation i og omkring udvalgte marker i det danske Varslingssystem for udvaskning af pesticider til grundvand (VAP).
- (2) Indarbejde den målte rummelige variation i 3-dimensionelle modeller til nøjagtigt at simulere udvaskning fra tracerforsøg og pesticidudbringning i VAP.

Med de nyeste hydrogeofysiske målemetodikker vil vi være i stand til karakterisere den rummelige variation inden for markoplande i langt højere grad end tidligere og dermed bedre vurdere, hvor meget variation, der er behov for at inkludere i de matematiske modeller. Samtidig vil vi med de nyeste modellerings-teknikker være i stand til at forfine modelområder, hvor den karakteriserede rummelige variation viser behov for større detaljegrade. Det har ikke været muligt tidligere at have forskellige rummelige opløsninger i en model og simulere transport af eksempelvis pesticider. Derfor har det været nødvendigt at simplificere kompleksiteten i modellerne ved at resultaterne kompromitteres.

Projektet vil medføre ny viden om inklusion af den rummelige variation i 3-dimensionelle modeller for nøjagtigt at modellere udvaskningen til grundvand. Resultaterne vil kunne lede til almen anvendelse af 3-dimensionelle modeller til at simulere pesticid udvaskning til grundvandet og dermed retningslinjer for beslutningstagere. Dette vil give beslutningstagere et forbedret redskab til at vurdere udvaskningsrisikoen til grundvandet og træffe beslutninger på langt bedre grundlag end det hidtil har været muligt.

## **Kildeopsporing af terbuthylazine/terbutryn nedbrydningsprodukter i grundvand (SATri)** (GEUS)

### *Projektbeskrivelse*

Pesticidnedbrydningsprodukterne LM3, LM5 og LM6 er overraskende udbredte i dansk grundvand. Denne nye viden kommer fra omfattende screeninger for pesticidstoffer i grundvandsovervågningen i de senere år. Man ved, at LM3, LM5 og LM6 kan være nedbrydningsprodukter fra ukrudtsmidler med terbuthylazin som aktivstof. Terbuthylazin har været godkendt til bekæmpelse af ukrudt i landbrug, skovbrug og gartneri, men har ikke været brugt i Danmark siden 2008. I det foreslåede projekt vil vi undersøge om LM3, LM5 og LM6 også dannes fra biocidstofferne terbutryn og cybutryn, for når man ser på terbutryns og cybutryns nedbrydningsveje, tyder meget på, at disse biocider kan bidrage betydeligt til den store forekomst af LM3, LM5 og LM6 i grundvandet. Ud fra molekyle-strukturen ligner

terbutryn og cybutryn nemlig terbuthylazin, idet kun en enkelt sidegruppe er forskellig i de tre stoffer. Terbutryn, og tidligere også cybutryn, bruges som biocid i ma-ling, facadepuds og andre bygningsmaterialer og i modsætning til terbuthylazin, er terbutryn stadigvæk tilladt. Frigivelse af terbutryn til vand og jord fra danske bygningsfacader er desuden veldokumenteret i tidligere projekter. I det foreslåede projekt vil vi påvise, om biociderne terbutryn og cybutryn omdannes til LM3, LM5 og LM6 i byjord, sammenligne stof-ernes forekomst i grundvandet i byområder og landområder, og estimere om landbrugsanvendelse eller biocidanvendelse i bebyggede områder er den vigtigste kilde til LM3, LM5 og LM6 i grundvandet. I den tekniske litteratur antages desuden, at terbuthylazin under visse betingelser kan omdannes til terbutryn; denne dannelsesvej vil vi også undersøge. Projektets resultater vil kunne få stor betydning for forureningernes varighed i grundvandet og reguleringen af terbutryn som biocid i facadepuds og andre byggematerialer.

### **Non-Target Molecular Network Analysis: Overlooked Pesticides (PestNet)** (DTU Sustain)

#### *Projektbeskrivelse*

Vi har fornyeligt identificeret 121 miljøfremmede og forurenende stoffer (MFS) i 81 GRUMO grundvandsboringer fra 2022 ved hjælp af non-target analyser (NTA) optaget ved højopløseligt massespektrometri. Mange af disse stoffer (28) er pesticid metabolitter. De nuværende data-analyse metoder af de store NTA-datamængder medfører at vi kun kan identificere 0.1% af de kemiske stoffer i datasættet, fordi at det (tilfældigvis) er netop disse vi har i vores tilgængelige massespektrale biblioteker som vi bruger til identificeringen. Derved indeholder GRUMO datasættet yderligere 200,000 stoffer der for nuværende er ukendte kemikalier.

I dette projekt, PestNet, vil vi optimere og anvende nye keminformatiske metoder - molekylær netværksanalyse - til at identificere pesticid og biocid-familier, samt adjuvanter i pesticidformuleringer, i det eksisterende GRUMO NTA-datasæt. Den molekylære netværksanalyse vil bruge alle stoffernes massespektrale informationer til at forsøge at sammenkæde de 200,000 stoffer i et stort visuelt netværk. Vi vil tage udgangspunkt i de 121 navngivne stoffer i netværket og derefter vil vi brug nye in-silico metoder til at beregne metabolitter for adjuvanter, pesticider og biocider, og kortlægge disse i netværket. Herefter vil vi finde de mulige pesticid, biocid og adjuvant metabolitter i netværket og forbinde dem tilbage til f.eks. pesticidmoderstofferne.

I projektets anden fase vil vi bevise at fremgangsmetoden virker og lave laboratorie nedbrydningsforsøg med et blandet samfund af mikroorganismer fra jordene omkring de undersøgte GRUMO-boringer. I disse laboratorieforsøg vil vi bruge op til 6-10 forskellige pesticider der er isotop-mærket og følge nedbrydningen til pesticidmetabolitter ved avanceret stable isotope-assisted metabolomics. Derved skaber vi bevis for om de pågældende metabolitter, såsom ravsyre og glutarsyre, dannes fra pesticider eller biocider. Slutteligt vil vi danne en nye suspect liste eller massesscreening liste til MST på alle pesticid, biocid og adjuvanter og tilhørende metabolitter der er fundet i GRUMO NTA-datasættet og som der kan bruges i fremadrettet overvågningsprogrammer.

PestNet projektet støtter op om Danmarks Sprøjt middelstrategi 2022-2026 og Miljøstyrelses arbejde med ny information om pesticid, biocid og adjuvant metabolitter der er udvasket til grundvandet. Projektet vil give ny information der kan bruges regulatorisk til at beskytte grundvandet, samt miljø og folkesundheden.

## **Pesticider afsløret - Dechifrering af neuroudviklingsmæssige pesticidvirkningsmåder for at forbedre risikovurderingen (Unmasked)**

(IUF-Leibniz Research Institute for Environmental Medicine)

### *Projektbeskrivelse*

There has been a global surge in neurodevelopmental disorders that has sparked concerns regarding the potential involvement of dangerous environmental chemicals, including pesticides. Exposure to pesticides during development is linked to behavioral and learning impairments, autism spectrum disorders, and psychiatric issues. However, even though the neurotoxic mechanisms of action (MoAs) of pesticides well studied, the causes for the negative outcomes after prenatal or early childhood exposure are not comprehensively understood. The developing brain is especially susceptible to external harms due to its high level of plasticity and various key neurodevelopmental processes (KNDPs) unique to this developmental stage. Since identifying chemicals that cause developmental neurotoxicity (DNT) is based solely on resource-intensive, ethically concerning, and non-mechanistic in vivo rodent studies, it has been agreed that in vitro test methods modeling higher-level KNDPs are valuable tools for studying DNT effects and underlying MoAs of chemicals, including pesticides. In a previous DEPA-project ("From (screen) hit to DNT toxicant," MST-667-00205), we developed the hNNF assay for detecting dysfunctions across KNDPs involved in neural network formation, using GABAergic and glutamatergic neurons alongside human astrocytes. The hNNF assay assessed the potential of 27 pesticides to cause DNT. Out of these, 17 compounds were classified negative while 11 were identified as DNT positives. False negatives may result from KNDPs that are not accounted for in the hNNF assay because of DNT-relevant glial cells missing (e.g. microglia or oligodendrocytes) in the current assay setup. Efforts in the Horizon Europe PARC and EFSA-funded Brain Health projects, along with planned experiments, will create an improved hNNF assay containing all relevant glial cell types and various neuronal subtypes for DNT testing purposes. Using these advanced neuron-glia networks, we will evaluate the potential DNT hazards posed by various exposure-relevant pesticide classes. We will compare the phenotypic data with the classical hNNF assay screening results obtained through the previous project. To address the knowledge gaps regarding the safety of pesticides on the developing brain, we will examine the developmental neurotoxic MoAs of various pesticide categories by conducting transcriptomics on pesticide-exposed neuron-glia networks. Using phenomics and transcriptomics in combination, we will reveal the impact of pesticides on neuron-glia interactions and detect molecular biomarkers characteristic for different pesticide MoA. This research will greatly improve our comprehension of the impact of pesticides on the developing brain across cellular and molecular levels. The findings will benefit various stakeholders, such as regulators, the chemical industry, and the general public.