ŽÁDOST O UDĚLENÍ POVOLENÍ PRO UVÁDĚNÍ DO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ PRO PRO GENETICKY MODIFIKOVANÝ ORGANISMUS, KTERÝ JE VYŠŠÍ ROSTLINOU

[K § 17 odst. 3 písm. a) zákona]

1. Název projektu:

Uvedení geneticky modifikovaných linií jarního ječmene s mutacemi v genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k* do životního prostředí za účelem hodnocení jejich agronomických vlastností a potenciálního využití v zemědělství

2. Žadatel

ÚSOVSKO a. s. se sídlem č.p. 33, 789 73 Klopina

Pozn. ÚSOVSKO a.s. jako žadatel je 100 % vlastník společnosti ÚSOVSKO AGRO s.r.o. a MOHELNICE AGRO s.r.o. Společnost ÚSOVSKO AGRO s.r.o. a MOHELNICE AGRO s.r.o. se zabývá výhradně zemědělskou výrobou. Zaměstnanci této společnosti budou pro žadatele ÚSOVSKO a.s. zajišťovat a realizovat část pracovních operací v rámci projektu

IČO 60793015

5. Charakteristika nakládání s geneticky modifikovaným organismem

Účel uvádění do životního prostředí, jako jsou zejména agronomické účely, zkoušky hybridizace, změna schopností přežití nebo šíření nebo zjišťování účinků na cílové nebo necílové organismy

Účelem uvádění geneticky modifikovaných linií jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L., odrůdy Carbona a Golden Promise) do životního prostředí je namnožení osiva vybraných homozygotních linií s cílenými mutacemi v genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k* a hodnocení jejich fyziologických a agronomicky významných vlastností v polních podmínkách. Pokusy budou zaměřeny na posouzení vlivu těchto mutací na výměnu plynů, fotosyntetické parametry, využití dusíku, architekturu rostlin, výnosové charakteristiky a složení rostlinné biomasy v porovnání s kontrolními odrůdami.

Výzkum probíhá v rámci projektu BEST-CROP „Boosting photosynthESis To deliver novel CROPs for the circular bioeconomy“ (projekt č. 101082091). Přehled linií určených k uvedení do životního prostředí je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1. Přehled homozygotních linií jarního ječmene s cíleně editovanými geny určených k uvedení do životního prostředí

Změněný gen	Odrůda	Označení linií	Počet linií
HvMPK5	Golden	GP-koMPK5-1-S2-2C; GP-koMPK5-1-S2-8; GP-	4

	Promise	koMPK5-1-S2-2B; GP-koMPK5-2 B-3	
cpSRP43	Carbona	703-1-6-P18; 703-1-6-P19	2
Ert-a	Carbona	CAR-koErt-a-P2-2; CAR-koErt-a-P2-4; CAR-koErt-a-P3-6/10	3
Ert-k	Carbona	CAR-koErt-k-P1-1/16; CAR-koErt-k-P3-3; CAR-koErt-	3
Celkem			**12**

3. Doba uvádění do životního prostředí

Celková doba uvádění geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí a datum jeho předpokládaného zahájení

Celková doba uvádění GMO do životního prostředí – 10 let (tj. od roku 2027 do roku 2036). Datum zahájení bude shodné s datem výsevu na pole. Uvedené modifikované linie budou vysety na jaře 2027.

4. Plánuje žadatel uvádění stejného geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí v některém členském státě Evropské unie nebo mimo její území?

Ne, nevztahuje se.

5. Podal žadatel žádost pro uvádění stejného geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí v jiném členském státě Evropské unie?

Ne, nevztahuje se.

6. Podal žadatel žádost pro uvádění stejného geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí nebo na trh mimo území Evropské unie?

Ne, nevztahuje se.

7. Hodnocení rizika uvádění geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí

7.1. Shrnutí hodnocení rizika

Ječmen je samosprašná rostlina, v přírodě neinvazivní. Sexuální kompatibilita s plevelným druhem ječmenem myším *(Hordeum murinum* L.), který se na našem území volně vyskytuje, je obtížná, ke křížení nedochází, nevytvářejí hybridy.

Kultivary jarního ječmene Golden Promise i Carbona se řadí mezi běžný kulturní ječmen (*Hordeum vulgare* L.) s dlouhou historií zemědělského využití. Oba genotypy vykazují biologické vlastnosti typické pro kulturní ječmen, zejména převládající samoopylení v důsledku kleistogamního kvetení, nízkou schopnost přenosu pylu a omezenou schopnost dlouhodobého přežívání mimo kultivované prostředí. Samotné použití těchto kultivarů jako příjemce genetických modifikací nepředstavuje zvýšené riziko ve srovnání s jinými běžně pěstovanými odrůdami ječmene.

V Evropské unii se nenacházejí žádné jiné sexuálně kompatibilní planě rostoucí příbuzné druhy ječmene. Horizontální přenos genů u vyšších organismů se považuje za vzácný, ale k jeho zabránění podnikneme následující kroky - ošetření pole herbicidem před vysetím ječmene, minimálně 2,5 m izolační pás a minimálně 50 m izolační vzdálenost pro zamezení přenosu pylu na další, konvenční rostliny mimo pokusnou plochu. S ječmenem rostoucím v izolačním pásu

bude nakládáno jako s GMO. Přístup lidí, zvěře, ptáků a hlodavců ke geneticky modifikovanému ječmeni bude zamezen oplocením, značením, omezeným vstupem do areálu a skladu, plotem, a plašičkami. Všichni pracovníci, kteří přijdou do kontaktu s GM materiálem, budou řádně proškoleni.

Předmětem hodnocení je plánované uvádění dvanácti homozygotních linií jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L.) odrůd Golden Promise a Carbona s cílenými mutacemi v genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert*-a a *Ert-k* do životního prostředí. Účelem je namnožení osiva pro další roky polních pokusů a hodnocení fyziologicky a agronomicky významných vlastností rostlin v podmínkách maloparcelního polního pokusu. Hodnocení vychází z charakteru genetických změn, údajů poskytnutých původci linií, dosavadních pozorování při uzavřeném nakládání a navržených opatření k omezení šíření geneticky modifikovaného materiálu.

Genetické změny byly získány cílenou editací endogenních genů pomocí technologie CRISPR/Cas. Pro polní pokusy byly vybrány homozygotní linie, u nichž byly mutace ověřeny sekvenováním a opakovanou PCR nebyly detekovány sledované sekvence transformačního konstruktu. Původní transformační konstrukty byly odstraněny segregací. Výsledné linie tedy nejsou určeny k expresi cizorodých proteinů z transformačního konstruktu.

Mutace v genu ***HvMPK5*** ovlivňují regulaci průduchů; podle dosavadních experimentů vykazují tyto linie zvýšenou vodivost průduchů. Při hodnocení jejich chování v prostředí je proto nutné zohlednit možné změny výměny CO_2, transpirace a příjmu ozonu. Případný přínos pro produktivitu ani zachování výnosu za nedostatku vody nelze předem považovat za prokázané.

Mutace v genu ***cpSRP43*** mohou ovlivnit obsah chlorofylu, světlosběrný aparát a fotosyntetické vlastnosti rostlin v závislosti na podmínkách prostředí. U dříve popsaného mutanta ječmene *hus1* s mutací v analogu tohoto genu byla za standardních polních podmínek zjištěna produkce biomasy a výnos zrna srovnatelná s kontrolou, což však samo o sobě neprokazuje stejné chování u nově připravených linií.

Mutace v genech ***Ert-a* a *Ert-k*** jsou zaměřeny na změny architektury klasu, výšky rostlin a vlastností stébla. U dříve popsaných mutantů *ert-k* byla zaznamenána zvýšená odolnost proti poléhání. Tyto agronomicky příznivé vlastnosti však nelze automaticky ztotožňovat se zvýšenou schopností přežívat a šířit se mimo obdělávané plochy. U posuzovaných linií nejsou podle dostupných podkladů doloženy změny vedoucí k invazivnímu chování; jejich přežívání, reprodukce a případné šíření budou sledovány.

Při posuzování šíření geneticky modifikovaného materiálu jsou zohledněny zejména přenos pylu na jiný ječmen, únik zrn při manipulaci a výskyt rostlin z výdrolu. Ječmen je převážně samosprašný, avšak přenos genetické informace cizosprášením nelze zcela vyloučit (Ritala et al., 2002). Prostorová izolace a ochranný obsev budou proto použity k omezení přenosu pylu mimo pokus.

Při dosavadním pěstování v podmínkách uzavřeného nakládání nebyly zaznamenány nepříznivé interakce s jinými rostlinami nebo necílovými organismy. Rozsah těchto pozorování je však omezený a nenahrazuje hodnocení v polních podmínkách. Z dostupných údajů nevyplývá konkrétní mechanismus, který by u hodnocených linií vedl ke zvýšené toxicitě nebo alergenicitě oproti výchozím odrůdám. Rostliny, zrno ani ostatní materiál získaný z pokusů nebudou použity jako potravina nebo krmivo.

Riziko nežádoucího rozšíření bude omezováno prostorovou izolací, ochranným obsevem, označením a oplocením pokusné plochy, kontrolovaným přístupem, evidencí materiálu a proškolením pracovníků. Osivo a odebrané vzorky budou přepravovány v uzavřených, řádně označených obalech (GMO v dvojitých obalech) a uchovávány v určených zabezpečených prostorách. S ochranným obsevem bude nakládáno jako s geneticky modifikovaným

materiálem. Sklizeň, očista používaného vybavení, nakládání s odpady a posklizňová opatření budou prováděny podle Provozního řádu a Havarijního plánu.

Během pěstování budou nejméně jednou měsíčně prováděna všeobecná pozorování a nejméně jednou za dva týdny sledovány případné nepříznivé účinky související s interakcemi s necílovými organismy. Po sklizni bude kontrolován výskyt rostlin z výdrolu nejméně jednou měsíčně a případné nepříznivé účinky na životní prostředí nejméně jednou za dva měsíce, po dobu nejméně dvou let od poslední sklizně geneticky modifikovaného ječmene na příslušné ploše. Rostliny z výdrolu budou likvidovány před vytvořením dalšího potomstva. Při zjištění neočekávaných nepříznivých účinků budou přijata odpovídající nápravná opatření podle plánu monitoringu a Havarijního plánu.

Na základě dostupných podkladů, omezeného rozsahu pokusu a navržených ochranných opatření lze riziko nepříznivých účinků plánovaného uvádění těchto linií do životního prostředí předběžně hodnotit jako nízké.

8. Údaje o příjemci, případně, kde je to aplikovatelné, rodičovském organismu

8.1. České a latinské rodové a druhové jméno organismu, s přesným určením kultivaru (odrůdy, linie, hybridu)

(A) NÁZEV ČELEDI: *POACEAE* (*GRAMINEAE*)

(B) ROD: *HORDEUM*

(C) DRUH: *H. VULGARE* L.

(D) PODDRUH: *H. VULGARE L*., JARNÍ FORMA

(E) KULTIVAR:

- GOLDEN PROMISE
- CARBONA

(F) OBECNÝ NÁZEV: JARNÍ JEČMEN

9. Údaje o genetické modifikaci a geneticky modifikované vyšší rostlině

9.1. České a latinské rodové a druhové jméno geneticky modifikované vyšší rostliny, s přesným určením kultivaru (odrůdy, linie, hybridu)

Obiloviny, ječmen setý, (*Hordeum vulgare* L.), jarní forma, kultivar:

- Golden Promise
- Carbona

9.2. Popis a charakteristika dědičných vlastností, které byly vloženy nebo změněny, včetně signálních a selekčních genů a předchozích modifikací, a popis jejich fenotypových projevů

U geneticky modifikovaných linií ječmene (*Hordeum vulgare* L.) byly pomocí metod cílené editace genomu (NGT) provedeny změny ve vybraných endogenních genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert*-a a *Ert-k*. Výsledné změny byly vytvořeny pomocí technologie CRISPR/Cas9 a zahrnují delece nebo malé, endogenní inzerce v cílových genech.

Transformační konstrukty použité při přípravě linií byly odstraněny segregací - linie určené k uvedení do životního prostředí jsou prosté původní T-DNA, tedy bez zachovaných kazet pro Cas9, vodicí RNA a selekční marker. Dědičnou změnou zachovanou v liniích určených pro polní pokusy jsou cílené mutace vlastních genů ječmene. Charakter těchto změn a jejich

známé nebo předpokládané fenotypové projevy jsou popsány níže.

1. Linie s mutacemi v genu *HvMPK5*

Gen *HvMPK5* (HORVU.MOREX.r3.7HG0699160), lokalizovaný na chromozomu 7H, kóduje mitogenem aktivovanou proteinkinázu zapojenou do regulace odpovědi průduchů na změny koncentrace CO_2. Všechny čtyři nově uváděné linie odrůdy Golden Promise nesou mutaci ve čtvrtém exonu tohoto genu.

Uvedené změny vedou k vyřazení funkce HvMPK5. Při dosavadním pěstování v kontrolovaných podmínkách byla u mutantních linií zaznamenána zvýšená vodivost průduchů a nižší teplota listů. Nebyly popsány zjevné změny celkového vzhledu a vývoje rostlin oproti rodičovské odrůdě.

Možné důsledky zvýšené vodivosti průduchů pro fotosyntetickou asimilaci CO_2, hospodaření s vodou a výnos budou ověřovány v polních podmínkách. Zvýšení výnosu ani ovlivnění odolnosti vůči suchu nejsou u těchto linií považovány za předem prokázané vlastnosti.

2. Linie s mutacemi v genu *cpSRP43*

Gen *cpSRP43* (HORVU.MOREX.r3.4HG0409840) kóduje chloroplastový chaperon podílející se na transportu a začleňování světlosběrných proteinů do tylakoidních membrán. Jeho změna může ovlivnit sestavení světlosběrných antén fotosystémů, obsah chlorofylu a fotosyntetické vlastnosti rostlin.

Dvě homozygotní linie odrůdy Carbona byly připraveny na Univerzitě Heinricha Heineho v Düsseldorfu.

Delece 8 bp u linie 703-1-6-P18 mění čtecí rámec v navazující části kódující sekvence a vede ke změně C-koncové části proteinu. U linie 703-1-6-P19 způsobuje delece 20 bp posun čtecího rámce a předčasné ukončení translace. Druhá delece o délce 21 bp představuje další změnu téhož genu.

Obě linie vykazují světlezelené zbarvení odpovídající narušení funkce cpSRP43. Vliv mutací na obsah chlorofylu, fotosyntetické parametry, využití dusíku, produkci biomasy a výnos bude hodnocen ve srovnání s kontrolními genotypy. Případné zlepšení těchto vlastností, zejména při rozdílné dostupnosti dusíku nebo hustotě porostu, představuje hypotézu určenou k experimentálnímu ověření.

3. Linie s mutacemi v genu *Ert-a*

Gen *Ert-a* kóduje protein podobný auxinovému transportéru ABCB1 s předpokládanou funkcí v transportu auxinu a regulaci růstu a architektury rostlin.

Při skleníkovém hodnocení generace M1 byly pozorovány rostliny nižšího vzrůstu s kompaktnějšími klasy, s výjimkou linie CAR-koErt-a-P2-2, u níž tyto projevy nebyly zaznamenány. Fenotyp proto nelze bez dalšího ověření považovat za shodný u všech linií. V polních podmínkách budou hodnoceny zejména výška rostlin, architektura klasu, délka článků klasového vřetene a výnosové parametry.

4. Linie s mutacemi v genu *Ert-k*

Gen *Ert-k* kóduje protein ze skupiny α/β hydroláz. Na základě sekvenční podobnosti se předpokládá jeho účast na posttranslačních modifikacích proteinů ovlivňujících architekturu

rostlin.

Jednonukleotidové inzerce u linií CAR-koErt-k-P1-1/16 a CAR-koErt-k-P3-3 vedou k posunu čtecího rámce a k předčasnému ukončení translace. U linie CAR-koErt-k-P4-2 dochází ke zkrácení proteinu. Dopad na funkci proteinu bude posouzen pomocí charakterizace fenotypu.

Při pěstování ve skleníku byly u všech transformačních událostí *Ert-k* v generaci T0 pozorovány kompaktnější klasy. U potomstva určeného pro polní pokus bude ověřována stabilita tohoto projevu a dále hodnocena výška rostlin, vlastnosti stébla, odolnost proti poléhání a výnosové charakteristiky.

9.3. Typ genetické modifikace

9.3.1. Vnesení cizorodého dědičného materiálu

Není relevantní (žádný cizorodý dědičný materiál se v modifikovaných linií nenachází)

9.3.2. Vynětí části dědičného materiálu

U části modifikovaných linií byly pomocí technologie CRISPR/Cas9 vytvořeny cílené delece v endogenních genech *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k*.

9.3.3. Kombinace vynětí a vnesení dědičného materiálu

Není relevantní

9.3.4. Buněčná fúze

Není relevantní

9.3.5. Jiné (jednoznačně identifikujte)

Není relevantní

9.4. Vlastnosti a původ použitého vektoru (pokud byl vektor při genetické modifikaci použit)

12.4. Údaje o každé části úseku DNA, který byl vnesen do organismu příjemce (pokud genetická modifikace zahrnuje vnesení dědičného materiálu)

Nevztahuje se na T2 generaci linií geneticky modifikovaného ječmene, která bude uvedena do životního prostředí. K případné inzerci (viz výše) došlo v průběhu standardního procesu opravy poškození DNA pomocí nativních reparačních buněčných mechanismů.

12.5.1. Původ (české a latinské rodové a druhové jméno dárcovského organismu přesným určením kultivaru – odrůdy, rasy, plemene, linie, formy, hybridu, kmene, patovaru)

Nevztahuje se. K inzerci došlo v průběhu standardního procesu opravy poškození DNA, pomocí nativních reparačních buněčných mechanismů.

12.5.2. Funkční charakteristika

12.5.3. Velikost

Nevztahuje se. Žádná z linií, která budou uvedeny do životního prostředí již neobsahuje cizorodou dědičnou informaci.

12.5.4. Poloha – pokud byl integrován

Nevztahuje se. Žádná z linií, která budou uvedeny do životního prostředí již neobsahuje cizorodou dědičnou informaci.

12.5.5. Sekvence

Nevztahuje se. Žádná z linií, která budou uvedeny do životního prostředí již neobsahuje cizorodou dědičnou informaci.

Popis funkce úseku, pokud došlo k deleci:

Odstraněné úseky jsou součástí kódujících sekvencí endogenních genů *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k*. Jejich delece ovlivňují výslednou aminokyselinovou sekvenci příslušných proteinů. Funkční důsledky závisejí na poloze a rozsahu delece.

Gen *cpSRP43* kóduje chloroplastový chaperon podílející se na transportu a začleňování světlosběrných proteinů do tylakoidních membrán. U linie 703-1-6-P18 vede delece 8 bp k posunu čtecího rámce a změně C-koncové části proteinu. U linie 703-1-6-P19 způsobuje delece 20 bp v počáteční části kódující sekvence posun čtecího rámce a předčasné ukončení translace; druhá delece o délce 21 bp se nachází dále v témže genu. Změny vedou u obou linií k narušení funkce cpSRP43 a projevují se světlezeleným zbarvením rostlin.

Gen *Ert-a* podle podkladů původce kóduje protein podobný auxinovému transportéru ABCB1, s předpokládanou úlohou v transportu auxinu a regulaci růstu a architektury rostlin. Delece jednoho nukleotidu u linie CAR-koErt-a-P2-2 a delece 5 bp u linie CAR-koErt-a-P2-4 zasahují první exon a vedou k posunu čtecího rámce a předčasnému ukončení translace. Předpokládaným důsledkem je ztráta nebo výrazné omezení funkce příslušného proteinu.

Gen *Ert-k* kóduje protein ze skupiny α/β hydroláz, u něhož se předpokládá účast na posttranslačních modifikacích proteinů ovlivňujících architekturu rostlin. U linie CAR-koErt-k- P4-2 byly odstraněny úseky o délce 27 bp v prvním exonu a 12 bp ve třetím exonu. Pokud delece neovlivňují sestřih transkriptu, odpovídají odstranění devíti a čtyř aminokyselin při zachování navazujícího čtecího rámce. Mohou tak ovlivnit strukturu a funkci proteinu, případné změny funkce budou sledovány během polního pokusu.

12.5. Popis metody použité pro genetickou modifikaci

Metoda transformace: Explantáty jarního ječmene, nezralá zygotická embrya (odrůdy Golden Promise pro editaci genu *HvMPK5* a odrůdy Carbona pro editaci genů *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k*), byla transformována pomocí půdní bakterie *Agrobacterium tumefaciens* (kmen AGL1) obsahující expresní vektor. V současné době je to nejpoužívanější metoda transformace ječmene. Byl využit upravený Ti plasmid, mezi jehož hraniční sekvence jsou vloženy požadované geny. Metoda použitá pro genetickou modifikaci je typem NGT techniky cílené editace genů - CRISPR/Cas9. Při přípravě linií ječmene byl použit enzym Cas9, který je naváděn na cílovou sekvenci zájmového genu pomocí tzv. guide RNA (gRNA). Aktivní Cas9 v rostlinné buňce vyvolá dvouvláknový zlom, který je následně přirozeně opraven buněčnými reparačními mechanismy. Reparace probíhá i s náhodnými chybami, což vede k vytvoření bodové mutace, inzerce, případně delece, která je přenositelná do následující generace.

12.14. Jednoznačné údaje o tom, v čem se geneticky modifikovaná vyšší rostlina liší od příjemce nebo rodičovského organismu:

12.15.1. způsob a rychlost rozmnožování

Není ovlivněno způsob a rychlost rozmnožování.

12.15.2. šíření v prostředí

Není ovlivněno šíření v prostředí.

12.15.3. schopnost přežití

Během uzavřeného nakládání nebyla pozorována žádná změna v porovnání s kulturními rostlinami.

12.15.4. účinky na zdraví lidí, zvířat a životní prostředí

Nejsou známy rozdílné účinky na zdraví lidí, zvířat a životní prostředí.

12.15.5. jiné (upřesněte)

Další rozdíly oproti výchozím kultivarům se týkají fyziologických a morfologických vlastností souvisejících s cílenými změnami příslušných genů:

- ***HvMPK5*:** V laboratorních podmínkách byla u mutantních linií pozorována zvýšená stomatální vodivost a nižší teplota listů. Vliv těchto změn na výměnu CO_2, růst a výnos bude ověřován v polních podmínkách.
- ***cpSRP43*:** Linie vykazují světlejší zbarvení listů související se sníženým obsahem chlorofylu. Předmětem polních pokusů bude ověření vlivu této změny na fotosyntetické vlastnosti, využití dusíku, tvorbu biomasy a výnos při rozdílné dostupnosti dusíku a případně rozdílné hustotě porostu.
- ***Ert-a* a *Ert-k*:** Předmětem hodnocení budou změny architektury rostlin, zejména délky a kompaktnosti klasu, délky článků klasového vřetene, výšky rostlin a vlastností stébla. Rozsah projevů jednotlivých mutací a jejich případný vliv na odolnost proti poléhání a výnos budou ověřovány porovnáním s kontrolními genotypy.

Případné zlepšení agronomických vlastností těchto linií v polních podmínkách dosud nebylo prokázáno a představuje výzkumný předpoklad.

12.15. Fenotypová stabilita geneticky modifikované vyšší rostliny

Do polních pokusů budou zařazeny homozygotní linie jarního ječmene s cílenými mutacemi v genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k*. Stabilita příslušných genetických změn představuje předpoklad dědičnosti souvisejících fenotypových znaků; jejich projev však může být ovlivněn podmínkami prostředí. Fenotypová stabilita v polních podmínkách proto bude ověřována v průběhu víceletého hodnocení.

U linií **HvMPK5** budou sledovány zejména stomatální vodivost, výměna CO_2, růstové a výnosové parametry. U linií **cpSRP43** bude hodnocen obsah chlorofylu, fotosyntetické vlastnosti, tvorba biomasy a výnos, v dalších letech také při rozdílné dostupnosti dusíku a případně rozdílné hustotě porostu. U linií **Ert-a** a **Ert-k** bude sledována zejména architektura klasu, výška rostlin, vlastnosti stébla a výnosové parametry.

V prvním roce bude pěstování zaměřeno na množení osiva a předběžné sledování požadovaných parametrů. Výsledky jednotlivých linií budou porovnávány s příslušnými kontrolními genotypy a mezi vegetačními sezónami s přihlédnutím k podmínkám pěstování.

12.16. Jakákoliv změna schopnosti geneticky modifikované vyšší rostliny přenášet genetický materiál na jiné organismy v důsledku genetické modifikace

Nedošlo ke změně schopnosti modifikované rostliny přenášet genetický materiál na jiné organismy v důsledku genetické modifikace.

12.17. Informace o každém možném škodlivém účinku geneticky modifikované vyšší rostliny na zdraví lidí způsobeném genetickou modifikací

Takový účinek není předpokládán. Navíc rostliny z polních pokusů nebudou použity k produkci potravin.

12.18. Údaje o bezpečnosti geneticky modifikované vyšší rostliny pro zdraví zvířat, zejména s ohledem na jakékoliv škodlivé účinky způsobené genetickou modifikací, pokud má být geneticky modifikované vyšší rostliny použito jako krmivo

Není znám žádný možný potenciálně škodlivý účinek geneticky modifikované vyšší rostliny pro zdraví zvířat způsobený genetickou modifikací. Rostliny či zrna z polních pokusů nebudou použity jako krmivo.

12.19. Mechanismus interakce mezi geneticky modifikovanou vyšší rostlinou a cílovým organismem, pokud cílový organismus existuje

Neexistuje cílový organismus.

12.20. Možné změny v interakcích geneticky modifikované vyšší rostliny s necílovými organismy plynoucí z genetické modifikace

Cílené mutace v genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k* jsou zaměřeny na změny fyziologických a agronomických vlastností ječmene, nikoli na působení proti konkrétním organismům. Podle dostupných podkladů nejsou u hodnocených linií doloženy nepříznivé změny interakcí s necílovými organismy.

V průběhu polních pokusů budou v souladu s plánem monitoringu jednou za dva týdny sledovány případné odchylky v interakcích s necílovými organismy, zejména výskyt škůdců, příznaky chorob a poškození rostlin, v porovnání s příslušnými kontrolními genotypy. Případná neobvyklá zjištění budou zaznamenána a posouzena z hlediska možné souvislosti s genetickou modifikací a potřeby aktualizace hodnocení rizika.

12.21. Možné interakce geneticky modifikované vyšší rostliny s neživými složkami životního prostředí

Na základě dostupných poznatků se nepředpokládá, že by geneticky modifikované linie měly nepříznivý vliv na fyzikální nebo chemické vlastnosti půdy, vodní režim ani další neživé složky životního prostředí. Případné odchylky budou sledovány v rámci polního pokusu a vyhodnoceny ve srovnání s výchozí odrůdou ječmene.

13. Pracoviště a pozemky, na kterých bude uvádění do životního prostředí probíhat

(+) Havarijní plán podle přílohy č. 5 k této vyhlášce – viz příloha „Havarijní plán“

(+) Provozní řád pracoviště podle přílohy č. 4 k zákonu – viz příloha „Provozní řád“

(+) Kopie katastrálních map s vyznačením pozemku a přehledný plánek ve vhodném měřítku s vyznačením pokusné plochy a plodin, pěstovaných na okolních pozemcích – viz příloha „Plán polních pokusů“

13.1. Umístění pozemku

13.1.1. Kraj

Olomoucký

13.1.2. Obec

Mohelnice

13.1.3. Název katastrálního území a parcelní číslo

698032 – Mohelnice, p.č 2502/4 (pole), p.č. 2477 (sklad)

13.2. Velikost a využití pozemku

13.2.1. Celková rozloha pozemku

14 919 m2

13.2.2. Velikost a poloha plochy, na které mají být geneticky modifikované vyšší rostliny pěstovány (m^2)

10 300 m2

13.2.3. Velikost (m^2) a způsob využití izolačního pásma kolem plochy pěstování geneticky modifikované vyšší rostliny (vyznačit v plánku)

Okolo celého pokusu bude vyset ochranný izolační pás jarního ječmene široký minimálně 2,5 m. Vyseta bude konvenční odrůda jarního ječmene. Celková plocha všech pěstovaných jarních ječmenů, včetně ochranného pásu, bude maximálně 10300 m^2. Obsev bude zničen před, nebo těsně po sklizni pokusu a to tímto způsobem: rozdrcení rostlin, podmítka, po vzejití postřik totálním herbicidem a následně orba. Izolační pásmo zamezí transferu modifikovaných genů do jiných nepokusných rostlin jarního ječmene. Geneticky modifikovaný ječmen bude od veškerého nepokusného jarního ječmene pěstovaného mimo experimentální pole oddělovat izolační vzdálenost minimálně 50 m. Využití pozemků v okolí a plán pokusu viz příloha „Plán polních pokusů“.

13.3. Využití okolních pozemků

Využití okolních pozemků je uvedeno v příloze “Plán polních pokusů“.

13.4. Vzdálenost pozemku od specifických území (v metrech nebo kilometrech)

Posuzovaná lokalita v Mohelnici se nenachází na žádném chráněném území ve smyslu zákona č. 114/92 Sb. o ochraně přírody a krajiny.

Nejbližším takto chráněným územím je chráněná krajinná oblast Litovelské Pomoraví, která byla zřízena vyhláškou MŽP ČR č. 464 ze dne 29. října 1990. Její západní hranice probíhá východně od areálu ve vzdálenosti přibližně 800 metrů. CHKO má rozlohu 96 km^2 a na tomto území je vyhlášeno celkem 26 maloplošných zvláště chráněných území.

13.4.1. Zvláště chráněná území[12)]

Nejbližším takto chráněným územím je chráněná krajinná oblast Litovelské Pomoraví. Západní hranice CHKO Litovelské Pomoraví probíhá východně od areálu ve vzdálenosti přibližně 800 metrů.

13.4.2. Ochranná pásma vodních zdrojů

Nevyskytují se v blízkém okolí.

13.4.3. Vodní toky, vodní nádrže

V blízkosti pokusného pole se nachází vodní tok Újezdka – potok o průměrné šířce břehové linie 4 m a hloubce cca 1.5 až 2 m (viz příloha „Plán pokusů“) a bezejmenný vodní útvar (odvodňovací strouha, většinu roku zcela suchá). Pokusné pole se nevyskytuje v záplavové oblasti.

13.4.4. Území obhospodařovaná v ekologickém zemědělství[13)]

Pozemky v ekologickém zemědělství v blízkém okolí nejsou

13.4.5. Jiné

13.5. Způsob zabezpečení pozemku

13.5.1. Zabezpečení pozemku proti neoprávněným osobám

Proti vstupu neoprávněných osob bude pozemek opatřen čtyřmi výstražnými cedulemi, umístěnými v rozích pozemků "POZOR - GMO - NEVSTUPOVAT - NEZKRMOVAT- CHEMICKY OŠETŘENO“. V případě, že to bude z pohledu organizace pokusu nutné, bude použito více cedulí tak, aby bylo vidět z jedné na druhou. Pokusná lokalita s GM jarním ječmenem bude obseta minimálně 2,5 m pásem porostu jarního ječmene okolo celého pokusu, a tím bude přímý přístup k pokusným plochám omezen.

Pozemek s GMO ječmenem bude bezpečně oplocen pletivem.

Celý areál, za kterým se pozemky nacházejí, je zabezpečen proti vniknutí neoprávněných osob (vstup na kartu). Na pokusný pozemek je možný přístup jen z tohoto zabezpečeného areálu. V tomto zabezpečeném areálu se nachází GM sklad na parcelním čísle 2477 (zastavěná plocha a nádvoří).

13.5.2. Zabezpečení pozemku proti zvěři

Pokusná plocha s výsevem jarního ječmene bude bezpečně oplocena ohradovým pletivem do výšky 120 cm. Bezpečnost zajistí i obsev porostu jarního ječmene v šířce minimálně 2,5 m okolo celého pokusu. Pozemek s ječmenem bude bezpečně oplocen pletivem. Celý areál, na kterém se pozemky nachází, je zabezpečen proti vniknutí.

13.5.3. Zabezpečení pozemku proti splachu

Na rovinatém terénu pokusného pozemku nepředpokládáme riziko splachu.

Pokusné pole se nevyskytuje v záplavové oblasti.

13.6. Popis ekosystému v místě pozemku

13.6.1. Typ půdy

Hnědozem (hnědozem modální slabě oglejená)

13.6.2. Vodní režim včetně zavlažování

Vodní režim je přirozený a v místě pokusu se nezavlažuje

13.6.3. Klimatické podmínky

Město Mohelnice leží v nadmořské výšce 280 m v klimatické oblasti T 2 teplá, mírně suchá s mírnou zimou. Průměrná roční teplota je 8,5 0 C. Ve vegetačním období je prům. teplota 14,0 0 C. Průměrný roční úhrn srážek v této oblasti je 650 mm, z toho ve vegetačním období (IV. - IX.) 380-390 mm,

13.6.4. Flóra včetně zemědělských plodin

Běžné polní plevele - merlíky, lebedy, pcháče, svízel, laskavec, rdesna, svlačce, pýr plazivý, ježatka kuří noha a další. Pozemek se nyní nevyužívá k produkčnímu pěstování plodin.

13.6.5. Fauna včetně hospodářských a migrujících zvířat

V okolí Mohelnice se vyskytují běžné druhy savců, ptáků a obojživelníků

Savci: zajíc polní, hraboš polní, myšice křovinná nebo podobné myšice a myši, ježek evropský, veverka obecná, liška obecná, srnec obecný, divoké prase

Ptáci: bažant obecný, kachna divoká, skřivan polní, drozd zpěvný, koroptev polní, čejka chocholatá, poštolka obecná, strnad obecný.

Možný výskyt migrujících ptáků: husy rodu Anser, racci, bahňáci na průtahu.

Obojživelníci: ropucha obecná, skokan hnědý Hospodářská zvířata v regionu

a mimo něj 280 - 290.

údaj(faktor)	hodnota
Průměrná roční teplota vzduchu °C:	7,5
Průměrná roční teplota vzduchu ve vegetačním období oC:	14,0
Počet dní ledových za rok:	40
Průměrné datum prvního mrazového dne:	11.10
Počet mrazových dní za rok:	110
Průměrné datum posledního mrazového dne:	1.5
Počet dní se sněhovou pokrývkou za rok:	50
Počet dní v roce se srážkami nad 10,0 mm:	17,5
První den se sněhovou pokrývkou:	21.11
Poslední den se sněhovou pokrývkou:	21.3

zahrnují zejména skot, prasata, drůbež, ovce a kozy – v blízkosti pokusného pole nejsou chována

13.7. Relevantní údaje týkající se předchozích případů uvádění do životního prostředí stejné geneticky modifikované vyšší rostliny, pokud existují, zejména ve vztahu k možným vlivům na zdraví lidí a zvířat, životní prostředí a biologickou rozmanitost

Nevztahuje se.

14. Popis nakládání s geneticky modifikovanou vyšší rostlinou

14.1. Monitoring

Plán monitoringu:

Předpoklady pro zhodnocení rizika **Všeobecná pozorování**	**Popis pozorování**	**Frekvence pozorování**
Žádný rozdíl v morfologických akpektech rostliny	Pozorování vlastností rostlin ve srovnání s vlastnostmi WT ječmene	Alespoň jednou za čtyři týdny během vegetačního období
Žádný rozdíl v agronimickém chování	Pozorování jednotlivých fází vývoje porostu ve strovnání s kontrolními plochami	Podle potřeby během vegetačního období a alespoň jednou za čtyři týdny během období pokusu
Žádný rozdíl v rozšiřování zrn do životního prostředí	porovnání, zda nedochází k nepřimeřenému uvolňování zrn z klasu	Během zralosti zrna: alespoň jednou během týdne
Sledování výskytu rostlin z výdrolu zrna	Monitoring výdrolu	Alespoň jednou za měsíc během roku následujícím po ukončení pokusu
Monitoring specifických rizik		
Žádný vliv na životní prostředí zapříčiněný interakcemi s necílovými organismy	Vizuální pozorování fauny a flory na pokusné ploše pro identifikaci jakýchkoliv změn oproti běžnému stavu	Alespoň jednou za dva týdny během období pokusu a jednou za dva měsíce v roce následujícím po skončení pokusů
Žádné škodlivé vlivy na lidské zdraví	Bude nahlášen jakýkoliv výskyt zdravotního problému u člověka, který byl v kontaktu s GM ječmenem	Případné hlášení je potřeba podat v době od setby do sklizně

Monitoring v případě havárie		
V případě havárie, kdy dojde k úniku GM rostlinného materiálu, bude na místo havárie pohlíženo stejně jako na pokusnou plochu. Na tomto místě a v jeho nejbližším okolí bude probíhat monitoring ve stejném rozsahu jako na pokusné ploše		
Žádný vliv na životní prostředí zapříčiněný interakcemi s necílovými organismy	Vizuální pozorování fainy a flory na pokusné ploše pro identifikaci jakýchkoliv změn oproti běžnému stavu	Alespoň jednou za dva týdny během období pokusu a jednou za dva měsíce v roce následujícím po zničení pokusů
Žádné škodlivé vlivy na lidské zdraví	Bude nahlášen jakýkoliv výskyt zdravotního problému u člověka, který byl v kontaktu s GM ječmenem	Případné hlášení je třeba podat v době od setby do sklizně
Sledování výskytu rostlin vzešlých z výdrolu zrna	Monitoring výdrolu	Alespoň jednou za měsíc během dvou let následujícím po ukončení pokusu

Během vegetačního období a dva měsíce po sklizni bude sledován 1x měsíčně případný růst ječmene v areálu žadatele mimo pokusné pole pro případný výskyt GM ječmene. V případě výskytu rostlin ječmene mimo pokusné pole bude odebrán list z rostliny (zbytek rostliny bude odstraněn; viz výše) pro izolaci DNA a stanovení modifikace pomocí postupů uvedených v metodách.

Monitoring případného růstu ječmene v areálu žadatele mimo pokusné pole bude probíhat

v přímém okolí pole (do vzdálenosti cca 5 m od pokusného pole). V případě havárie bude cca 5 m od místa případné havárie po dobu dvou let sledován taktéž výskyt rostlin vzešlých z výdrolu zrna.

14.1.1. Metody zjišťování přítomnosti geneticky modifikované vyšší rostliny a monitorování jejích účinků na ekosystém

Ověření modifikace bude prováděno pomocí postupů uvedených v 12.13.2. Během pokusu budou plochy z agronomických a pokusných důvodů pravidelně navštěvovány, a to alespoň jednou za čtrnáct dní. Tyto kontroly umožní, aby byl monitorován vývoj rostlin a bylo zabráněno rozšiřování modifikovaného rostlinného materiálu. Pozorování budou probíhat tak, jak je popsáno v Plánu monitoringu v bodu 5.4.

Po skončení pokusu bude pokusná plocha navštěvována každý měsíc během následujících dvou let za účelem monitoringu výdrolu. Pokud by nějaký výdrol byl nalezen, byl by ještě před metáním odstraněn ručně nebo aplikací totálního herbicidu. V zájmu usnadnění kontroly případného výdrolu nebude následující dva roky na daném poli pěstována komerčně žádná obilovina.

14.1.2. Specificita metod identifikace geneticky modifikované vyšší rostliny a odlišení geneticky modifikované rostliny od dárcovského organismu, příjemce, případně rodičovského organismu, citlivost a spolehlivost těchto metod

Identifikace geneticky modifikovaných linií ječmene je založena na PCR amplifikaci cílových oblastí genů *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k* a následném sekvenování podle bodu 12.13.2. Získané sekvence budou porovnány s odpovídajícími sekvencemi výchozích kultivarů Golden Promise nebo Carbona. Stejné metody byly použity také genotypizaci připravených linií.

Použité primery jsou určeny k amplifikaci příslušných cílových oblastí, nikoli výhradně mutantních alel. Rozhodujícím identifikačním znakem je potvrzená přítomnost konkrétní inzerce nebo delece Sangerovým sekvenováním. Velikost PCR produktu představuje pouze doplňující údaj. Identifikace hodnocených linií vychází ze změn vlastních genů ječmene.

Spolehlivost analýz je zajištěna použitím DNA příslušného nemodifikovaného kultivaru, charakterizovaného mutantního vzorku a negativní kontroly PCR bez templátové DNA. Nejednoznačné výsledky je nutné ověřit opakováním analýzy, případně novou izolací DNA a sekvenováním.

Případné fenotypové znaky budou využívány pouze jako doplňující charakteristiky, nikoli jako samostatný průkaz identity geneticky modifikované linie.

14.1.3. Techniky (metody) detekce přenosu vloženého dědičného materiálu na další organismy

Ověření modifikace bude prováděno pomocí postupů uvedených v 12.13.2., včasná detekce pomocí pravidelného monitoringu (15.4.)

14.1.4. Plocha, na které bude monitoring prováděn

Monitoring bude probíhat dle plánu monitoringu, viz bod 15.4, na místě pokusu a v jeho nejbližším okolí.

Monitoring bude také prováděn na místě případné havárie a v jeho nejbližším okolí.

14.1.5. Doba trvání monitoringu

Monitoring bude probíhat dle plánu monitoringu, viz bod 15.4 každý rok během pokusů (od setí do ukončení pokusů) a poté během dvou let od ukončení pokusu.

14.1.6. Četnost monitoringu

dle Plánu monitoringu, viz bod 15.4

15.5. Nakládání s odpady včetně odstraňování geneticky modifikovaných, vyšších rostlin

Odpad z geneticky modifikovaných rostlin vyprodukovaných z pokusu (všechny vegetativní části rostlin) bude na konci pokusu zničen rozdrcením a zapravením do půdy střední orbou. Izolační obsev konvenčního jarního ječmene bude tímto způsobem rovněž zničen (před sklizní nebo během sklizně). Sklizený geneticky modifikovaný ječmen se nedostane do potravinového ani do krmivového řetězce. Odstraňování vzorků určených pro analýzy bude probíhat v laboratoři akreditované pro nakládání s GMO na pracovišti výzkumné skupiny rostlinného inženýrství a biotechnologie, CATRIN, UP Olomouc, Šlechtitelů 27, budova H, 2. podlaží (laboratoř 2.39), a to autoklávováním GMO, jak je uvedeno v provozním řádu daného pracoviště.

Shrnutí ochranných opatření

Uvádění geneticky modifikovaných linií jarního ječmene do životního prostředí bude probíhat na vymezeném pokusném pozemku v souladu s podmínkami povolení, Provozním řádem a Havarijním plánem. Budou dodrženy stanovené izolační vzdálenosti a ochranný obsev konvenčního ječmene. Pokusná plocha bude označena a zabezpečena proti vstupu neoprávněných osob.

S GMO budou nakládat pouze proškolené osoby. Zahraniční spolupracovníci budou před zahájením činností v rámci školení seznámeni s podmínkami pokusu, Provozním řádem a Havarijním plánem. Jejich činnost bude probíhat za přítomnosti proškolených pracovníků společnosti Úsovsko a.s. nebo Univerzity Palackého v Olomouci.

Osivo, sklizené zrno a odebrané vzorky budou odděleně označeny, evidovány a uchovávány ve vyhrazených prostorách. Přeprava bude probíhat v pevných, uzavřených, dvojitých (GMO) nebo jednoduchých (další rostlinný materiál) a řádně označených obalech bránících úniku materiálu. Po manipulaci budou použité nástroje, zařízení a technika zkontrolovány a očištěny od zbytků rostlinného materiálu. Rostliny ani jejich části nebudou použity jako potraviny nebo krmiva.

Nevyužité vzorky na pracovišti CATRIN budou inaktivovány autoklávováním podle Provozního řádu. Rostlinné zbytky a obsev na pokusném pozemku budou po sklizni rozdrceny nebo posečeny a zapraveny do půdy. Následně bude sledován výskyt výdrolu; nalezené rostliny budou odstraněny před dosažením reprodukční zralosti.

Během vegetace bude prováděn monitoring porostu a případných nepříznivých interakcí s necílovými organismy. Posklizňový monitoring bude pokračovat nejméně dva roky po poslední sklizni na dotčené ploše podle bodu 15.4. Případný únik materiálu nebo jiná mimořádná událost budou řešeny podle Havarijního plánu.

15. Shrnutí informací o plánovaných polních pokusech prováděných za účelem získání nových údajů o vlivu uvádění geneticky modifikované vyšší rostliny do životního prostředí na zdraví lidí, zvířat a životní prostředí

Polní pokusy s geneticky modifikovanými liniemi jarního ječmene s cílenými mutacemi

v genech *HvMPK5*, *cpSRP43*, *Ert-a* a *Ert-k* budou zahájeny na jaře 2027 na pokusném pozemku společnosti Úsovsko a.s., parcela č. 2502/4 v katastrálním území Mohelnice. Hlavním účelem bude namnožení osiva a hodnocení fyziologických, fenotypových a výnosových parametrů. Současně budou získávány údaje pro posouzení chování těchto linií v polních podmínkách a případných nepředpokládaných účinků na životní prostředí.

Geneticky modifikované linie budou porovnávány s příslušnými kontrolními genotypy kultivarů Golden Promise a Carbona pěstovanými za srovnatelných podmínek. Sledovány budou zejména průběh vývoje, zdravotní stav rostlin a případné odchylky v interakcích s necílovými organismy. U linií cpSRP43, Ert-a a Ert-k bude podle půdních podmínek hodnocen také vliv rozdílných úrovní dusíkatého hnojení, u linií cpSRP43 i rozdílné hustoty porostu.

Všeobecná pozorování porostu budou prováděna nejméně jednou měsíčně a sledování případných nepříznivých interakcí s necílovými organismy jednou za dva týdny. Zaznamenáván bude zejména výskyt škůdců, příznaků chorob, neobvyklého poškození rostlin a rostlin mimo vymezenou plochu pokusu. Případná zjištění budou posouzena ve vztahu ke kontrolním genotypům, podmínkám prostředí a použitým agronomickým postupům.

Po sklizni bude nejméně jednou měsíčně sledován výskyt výdrolu a nejméně jednou za dva měsíce případné nepříznivé vlivy na životní prostředí, a to po dobu nejméně dvou let po poslední sklizni na dotčené ploše. Nalezené rostliny výdrolu budou evidovány a odstraněny před dosažením reprodukční zralosti.

Rostliny ani jejich části nebudou použity jako potraviny nebo krmiva. Výsledky budou průběžně vyhodnocovány a využity k přezkoumání hodnocení rizika a účinnosti ochranných opatření. Rozsah pokusů umožní především získat údaje o chování linií v konkrétních podmínkách pěstování.