

ŽÁDOST O UDĚLENÍ POVOLENÍ PRO UVÁDĚNÍ DO ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ PRO JINÉ ÚČELY NEŽ KLINICKÉ HODNOCENÍ LÉČIVÝCH PŘÍPRAVKŮ

Díl 2

ŽÁDOST PRO GENETICKY MODIFIKOVANÝ ORGANISMUS, KTERÝ JE VYŠŠÍ ROSTLINOU

[K § 17 odst. 3 písm. a) zákona]

1. Název projektu:

Uvádění geneticky modifikovaných linií ječmene do životního prostředí s cílenou editací genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* za účelem hodnocení jejich vlivu na agronomicky významné vlastnosti rostlin.

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

Jedním z hlavních cílů současného šlechtění je vývoj odrůd ječmene s vyšší produktivitou, efektivnějším využitím živin a vhodnějšími kvalitativními vlastnostmi biomasy při zachování vysokého výnosového potenciálu. Nové genomické techniky umožňují cílenou modifikaci genů regulujících tyto vlastnosti a jejich ověření v polních podmínkách.

Výzkumná skupina rostlinného inženýrství a biotechnologie (CATRIN, Univerzita Palackého v Olomouci) se genetické transformaci ječmene věnuje 20 let. V rámci projektu Horizont BEST-CROP: Boosting photosynthESIS To deliver novel CROPs for the circular bioeconomy (číslo projektu: 101082091) byly připraveny nové homozygotní mutantní linie ječmene s editovanými geny regulujícími složení biomasy s cílem zvýšit kvalitu ječné slámy. Sada linií jarního ječmene byla připravena pomocí technik NGT (nové genomické techniky) s cílem analyzovat vliv těchto genetických změn na účinnost využití dusíku, na obsah ligninu ve slámě a na stravitelnost slámy u jarních odrůd ječmene Golden Promise a Carbona.

Cílem projektu je polní ověření linií ječmene s cílenými genetickými změnami v genech regulujících využití dusíku, metabolismus sacharidů, vývoj rostlin a složení buněčné stěny.

V prvním roce bude hlavním účelem pěstování a namnožení osiva pro navazující polní experimenty a získání biomasy pro laboratorní analýzy. Modifikované rostliny budou pěstovány do plné zralosti. Bude u nich hodnocen fenotyp, sklizňový index (harvest index, HI) a bude provedena analýza slámy (viz níže). Součástí experimentu bude rovněž sledování základních agronomických parametrů a environmentální bezpečnosti nových geneticky modifikovaných linií, zejména jejich schopnosti přežívání, případného šíření a možných účinků na necílové organismy.

6. 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 dle schválení žádosti. Uvedené modifikované linie budou vysety na jaře 2027

V prvním roce bude hlavním účelem pěstování namnožení osiva pro navazující polní experimenty a získání biomasy pro detailní laboratorní analýzy. Modifikované rostliny budou pěstovány do plné zralosti. Bude u nich hodnocen fenotyp, sklizňový index (harvest index, HI) a bude provedena analýza slámy (viz níže). Součástí experimentu bude rovněž sledování základních agronomických parametrů a environmentální bezpečnosti nových geneticky modifikovaných linií, zejména jejich schopnosti přežívání, případného šíření a možných účinků na necílové organismy.

Rostliny budou pěstovány do plné zralosti, pěstování může probíhat při různých podmínkách hnojení (pokud bude detekován na jaře snížený obsah dusíku v půdě), po sklizni bude analyzována zralá a suchá sláma, která bude na konci vegetační sezóny odebrána, pečlivě označena a následně předána skupině prof. Luigiho Cattivelliho a Alessandra Tondelliho (Council for Agricultural Research and Economics (CREA), Výzkumné centrum pro genomiku a bioinformatiku ve Fiorenzuola d'Arda, Itálie) nebo skupině prof. Claire Halpin (University of Dundee). Tyto skupiny zajistí její další zpracování, které bude zahrnovat stanovení hrubého obsahu bílkovin pomocí kalibrované spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR) ve spojení s analytickými postupy, jako je Dumasova spalovací metoda, pro určení celkového obsahu dusíku (CREA) nebo stanovení ligninu (např. metodou Klason/AcBr), spektroskopii v blízké infračervené oblasti (NIR) a další biochemické analýzy složení biomasy související se stravitelností slámy (University of Dundee).

Dle plánu monitoringu budou dále 1x měsíčně prováděna všeobecná pozorování a jednou za dva týdny bude sledován vliv na životní prostředí zapříčiněný interakcemi s necílovými organismy. Dále budou v době od setby do sklizně hlášeny případné škodlivé vlivy na lidské zdraví související s pokusem. Po sklizni bude sledován výskyt rostlin z výdrolu zrna (alespoň 1x za měsíc po dobu dvou let) a případné škodlivé vlivy na životní prostředí (alespoň 1x za dva měsíce po dobu dvou let). Podrobné údaje o monitoringu jsou uvedené v bodě 15.4 „Žádosti“.

Agronomické postupy jednotlivých činností jsou podrobněji popsány v provozním řádu polního pokusu (viz příloha „Provozní řád“)

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

Ne, nevztahuje se.

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

Ne, nevztahuje se.

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

Ne, nevztahuje se.

10. Hodnocení rizika uvádění geneticky modifikovaného organismu do životního prostředí

1.1. 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, zvířet, 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.

Mutace genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* byla získána pomocí technologie CRISPR/Cas, která umožňuje přesné, specifické změny DNA. V T1 generaci došlo u několika rostlin k přirozenému, spontánnímu vysegregování všech transgenů, které byly součástí expresního vektoru, včetně genu *Cas9*. Tento stav byl opakovaně ověřován pomocí PCR. Pro polní pokusy byly vybrány homozygotní linie ječmene uvedené v tabulce 1. Potomstvo těchto rostlin neobsahuje žádné transgeny, které by mohly pocházet z expresního vektoru, přičemž mutace genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* v genomu rostliny byly taktéž opakovaně potvrzeny pomocí Sangerova sekvenování. Metoda je podrobně popsána v kapitole 12.13.2, včetně sekvence primerů.

Všechny tyto modifikované linie jarního ječmene byly pěstovány ve fytotroních a skleníku výzkumné skupiny rostlinného inženýrství a biotechnologie, CATRIN (Univerzita Palackého v Olomouci) určených pro uzavřené nakládání s GM rostlinami (na základě rozhodnutí z 19. října 2010 čj. 91997/ENV/10 a rozhodnutí 18. ledna 2013 čj. 4498/ENV/13 určeny pro pěstování GM rostlin. V tomto období nebyly u těchto modifikací pozorovány žádné selekční výhody ani nevýhody. Nebyla pozorována žádná interakce s kontrolními rostlinami ani s ostatními rostlinami ani jinými necílovými organismy.

Vzhledem k charakteru modifikace a omezenému rozsahu polních pokusů očekáváme, že linie jarního ječmene s editací genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* po selekci nepředstavují žádná rizika pro životní prostředí ani žádná rizika pro lidské zdraví, ani pro zdraví zvířat a necílové organismy.

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

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

- (A) NÁZEV ČELEDI: POACEAE (GRAMINEAE)
- (B) ROD: HORDEUM1
- (C) DRUH: H. VULGARE L.
- (D) PODDRUH: H. VULGARE L., JARNÍ FORMA
- (E) KULTIVAR:
 - GOLDEN PROMISE
 - CARBONA
- (F) OBECNÝ NÁZEV: JARNÍ JEČMEN

12. Údaje o genetické modifikaci a geneticky modifikované vyšší rostlině

- 1.2. 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

- 1.3. 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 *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11*. Cílem těchto genetických změn je ověřit jejich vliv na zejména na efektivitu využití dusíku, složení a kvalitu lignocelulózové biomasy a další agronomicky významné charakteristiky.

Do genomu rostlin nebyly cíleně vloženy nové kódující sekvence ani geny z nepříbuzných organismů. Genetické změny spočívají v cílených mutacích vlastních genů ječmene, zejména delecích a insercích vedoucích k posunu čtecího rámce nebo ke změně aminokyselinové sekvence. Tyto změny pravděpodobně vedou ke snížení nebo úplné ztrátě funkce příslušných proteinů. V liniích nejsou přítomny funkční signální ani selekční geny určené k expresi nových vlastností.

ARE1 (HORVU.MOREX.r3.7HG0693130)

Gen *ARE1* kóduje protein zapojený do regulace metabolismu dusíku a efektivy využití dusíku (NUE). Identifikované mutace vedoucí k posunu čtecího rámce pravděpodobně vedou ke ztrátě funkce genu. Očekávaným fenotypovým projevem může být opožděná senescence listů, zvýšená retence chlorofylu v pozdních fázích vývoje, změny v distribuci dusíku mezi jednotlivé orgány a možné zvýšení obsahu dusíkatých látek v biomase zejména při omezené dostupnosti dusíku.

BAHD (HORVU.MOREX.r3.7HG0714720)

Gen *BAHD* kóduje protein zapojený do procesů souvisejících s modifikací buněčné stěny a složením lignocelulózové biomasy. Mutace vedoucí k posunu čtecího rámce a pravděpodobné ztrátě funkce a mohou ovlivnit strukturu a chemické složení buněčné stěny. Očekávaným fenotypovým projevem jsou možné změny obsahu a/nebo složení ligninu a dalších komponent slámy.

BT2A (HORVU.MOREX.r3.3HG0308180) a ***BT2B*** (HORVU.MOREX.r3.3HG0308190)

Geny *BT2A* a *BT2B* patří do genové rodiny Bric-a-brac/Tramtrack/Broad (BTB) a podílejí se na regulaci příjmu a využití dusíku prostřednictvím regulace exprese transportérů dusičnanů. V hodnocených liniích byly tyto geny cíleně editovány pomocí CRISPR/Cas9. Vzniklé mutace vedou k posunu čtecího rámce a předpokládané ztrátě funkce příslušného proteinu. Předpokládaným fenotypovým projevem je změna efektivy využití dusíku a složení biomasy, zejména obsahu dusíkatých látek/proteinů ve slámě.

KNAT (HORVU.MOREX.r3.5HG0513530)

Gen *KNAT* patří do skupiny KNOX transkripčních faktorů regulujících vývoj rostlin a tvorbu sekundární buněčné stěny. Identifikované mutace mohou ovlivnit funkci tohoto regulačního proteinu. Očekávaným fenotypovým projevem jsou možné změny ve struktuře a složení lignocelulózové biomasy, zejména v obsahu a charakteru ligninu, případně změny některých morfologických znaků rostlin.

SP11 (HORVU.MOREX.r3.6HG0570860)

Identifikované mutace v genu *SP11* zasahují počáteční část kódující sekvence a pravděpodobně

vedou ke ztrátě funkce proteinu. Vzhledem k předpokládané úloze genu v procesech souvisejících s tvorbou a vlastnostmi buněčné stěny lze očekávat možné změny ve složení lignocelulózové biomasy, zejména v obsahu ligninu ve slámě.

Fenotypové projevy jednotlivých genetických změn budou ověřeny během plánovaného polního pokusu. Hodnoceny budou zejména parametry růstu a vývoje rostlin, vybrané agronomické charakteristiky a vlastnosti sklizené biomasy včetně stanovení obsahu ligninu a proteinů ve slámě.

1.4. Typ genetické modifikace

1.4.1. Vnesení cizorodého dědičného materiálu

Není relevantní

1.4.2. Vynětí části dědičného materiálu

Geneticky modifikované homozygotní linie byly připraveny pomocí technologie NGT známé jako metoda CRISPR/Cas. Pomocí *Agrobacteria* byly vneseny do nezralých embryí jarního ječmene vektorové kazety obsahující endonukleázu Cas9, specifické gRNA a selekční gen *hpt*. Pomocí systému CRISPR/Cas9, kdy je enzym Cas9 specificky naváděn pomocí specifické gRNA k cílové sekvenci genomu, byly v příslušných genech vyvolány cílené delece a inserce. Tyto změny vedly u hodnocených linií k narušení kódující sekvence a k posunu čtecího rámce cílových genů (tabulka 4), což pravděpodobně způsobuje ztrátu nebo významné omezení funkce příslušných proteinů. Následovala selekce transformantů pomocí selekčního genu *hpt*. Regenerované rostliny (T0) byly postupně selektovány a ponechány k samosprášení s cílem v následujících generacích postupně odsegregovat vnesené transgeny. Nepřítomnost těchto všech transgenů byla prokázána v generaci T1. T2 generace linií ječmene tedy neobsahují žádný vnesený cizorodý dědičný materiál.

1.4.3. Kombinace vynětí a vnesení dědičného materiálu

Není relevantní

1.4.4. Buněčná fúze

Není relevantní

1.4.5. Jiné (jednoznačně identifikujte)

Není relevantní

12.5. 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 (tabulka 4) 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

12.6. Pokud se jedná o vynětí části dědičného materiálu (deleci), velikost a funkce vyňatého úseku

Delece a velikost části dědičného materiálu viz tabulka 4 (bod 12.3.2., delece jsou zvýrazněny modrou barvou).

Popis funkce úseku, pokud došlo k deleci:

ARE1- regulace metabolismu dusíku a efektivity využití dusíku

BAHD- modifikace buněčné stěny a složení lignocelulózové biomasy

BT2A/BT2B – pravděpodobně změna regulace příjmu a využití dusíku a s tím související změny v růstu a složení biomasy

KNAT- regulace vývoje rostlin a tvorby sekundární buněčné stěny

SP11- regulace procesů souvisejících se složením buněčné stěny

12.7. Popis metody použité pro genetickou modifikaci

Metoda transformace: Explantáty jarního ječmene, nezralá zygotická embrya, 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 bakteriálního imunitního systému, 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, inserce, případně delece, která je přenositelná do následující generace.

12.8. 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 přežít

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)

Geneticky modifikované linie ječmene byly odvozeny od výchozí odrůdy Golden Promise nebo Carbona cílenou editací endogenních genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* pomocí systému CRISPR/Cas9. Jednotlivé linie obsahují malé delece nebo inserce, které vedou k posunu čtecího rámce nebo změně aminokyselinové sekvence příslušného proteinu a ve většině případů k pravděpodobné ztrátě funkce *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11*. Ve srovnání s výchozí odrůdou se editované linie liší výhradně přítomností těchto cílených mutací. Neočekávají se změny v rozmnožování, způsobu opylení ani v základních biologických vlastnostech druhu *Hordeum vulgare* L.

Předpokládané fenotypové rozdíly se týkají zejména:

Efektivitu využití dusíku a průběhu senescence (linie s editací genu *ARE1*), složení a vlastností lignocelulózové biomasy, zejména obsahu ligninu ve slámě (linie s editací genů *BAHD*, *KNAT* a *SP11*), regulace příjmu dusičnanů a efektivitu využití dusíku, včetně obsahu dusíkatých látek a proteinů ve slámě (linie s editací genů *BT2A* a *BT2B*).

Nepředpokládá se zvýšení schopnosti přežívání, šíření ani invazivity geneticky modifikovaných linií ve srovnání s výchozí odrůdou. Očekávané změny se týkají především cílových fyziologických a metabolických vlastností, které budou ověřeny v rámci polního pokusu.

12.9. Fenotypová stabilita geneticky modifikované vyšší rostliny

Geneticky modifikované linie ječmene byly připraveny cílenou editací genomu pomocí systému CRISPR/Cas9. Přítomnost požadovaných mutací byla ověřena molekulárně-genetickými metodami a vybrané linie byly následně stabilizovány v homozygotním stavu.

Na základě charakteru genetických změn se předpokládá jejich stabilní dědičnost v následujících generacích. Očekávané fenotypové projevy vyplývající ze ztráty nebo omezení funkce editovaných genů by proto měly být rovněž stabilně děděny. Jejich rozsah však může být ovlivněn podmínkami prostředí, zejména dostupností živin a dalšími faktory ovlivňujícími růst rostlin.

Fenotypová stabilita jednotlivých linií bude ověřována během polního pokusu sledováním základních morfologických, vývojových a agronomických znaků a analýzou cílových vlastností souvisejících s danou modifikací.

12.10. 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.

12.11. 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.

12.12. 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.

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

Neexistuje cílový organismus.

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

Genetické modifikace linií ječmene spočívají v cílené editaci endogenních genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11*, které se podílejí na využití dusíku a průběhu senescence (linie s editací genu *ARE1*), složení a vlastností lignocelulózové biomasy, zejména obsahu ligninu ve slámě (linie s editací genů *BAHD*, *KNAT* a *SP11*), regulace příjmu dusičnanů a efektivity využití dusíku, včetně obsahu dusíkatých látek a proteinů ve slámě (linie s editací genů *BT2A* a *BT2B*). Modifikace nejsou zaměřeny na interakci s jinými organismy a nevedou ke vzniku nových biologicky aktivních látek s insekticidními, fungicidními ani antimikrobiálními účinky.

Na základě současných poznatků se nepředpokládá, že by genetické změny vedly ke změně interakcí s necílovými organismy oproti výchozí odrůdě ječmene. Nelze však vyloučit nepřímé změny vyplývající z odlišného složení rostlinné biomasy nebo z fyziologických změn rostlin, například změny v rychlosti rozkladu posklizňových zbytků nebo ve složení mikrobiálních společenstev v rhizosféře. Tyto případné změny se nepředpokládají jako biologicky významné z hlediska životního prostředí.

V průběhu polního pokusu budou sledovány případné odchylky ve vývoji rostlin a jejich interakcích s okolním prostředím. Na základě dostupných poznatků se nepředpokládá zvýšené riziko nepříznivých účinků na necílové organismy ve srovnání s konvenčními liniemi ječmene.

12.15. 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.

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

2.1. Umístění pozemku

2.1.1. Kraj

Olomoucký

2.1.2. Obec

Mohelnice

2.1.3. Název katastrálního území a parcelní číslo

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

2.2. Velikost a využití pozemku

2.2.1. Celková rozloha pozemku

14 919 m²

2.2.2. Velikost a poloha plochy, na které mají být geneticky modifikované vyšší rostliny pěstovány (m²)

10 300 m²

2.2.3. Velikost (m²) a způsob využití izolačního pásma kolem plochy pěstování geneticky modifikované vyšší rostliny (vyznačit v plánu)

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 m². Obsev bude zničen před, nebo těsně po sklizni pokusu a to tímto způsobem: rozdrčení 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“.

2.3. Využití okolních pozemků

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

2.4. 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 km² a na tomto území je vyhlášeno celkem 26 maloplošných zvláště chráněných území.

2.4.1. Zvláště chráněná území¹²⁾

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

2.4.2. Ochranná pásma vodních zdrojů

Nevyskytují se v blízkém okolí.

2.4.3. 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.

2.4.4. Území obhospodařovaná v ekologickém zemědělství¹³⁾

Pozemky v ekologickém zemědělství v blízkém okolí nejsou

2.4.5. Jiné

2.5. Způsob zabezpečení pozemku

2.5.1. 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).

2.5.2. 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.

2.5.3. Zabezpečení pozemku proti splachu

Na rovinatém terénu pokusného pozemku nepředpokládáme riziko splachu.

Pokusné pole se nevyskytuje v záplavové oblasti.

2.6. Popis ekosystému v místě pozemku

2.6.1. Typ půdy

Hnědozem (hnědozem modální slabě oglejená)

2.6.2. Vodní režim včetně zavlažování

Vodní režim je přirozený a v místě pokusu se nezavlažuje

2.6.3. 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, a mimo něj 280 – 290.

2.6.4. Flóra včetně zemědělských plodin

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

2.6.5. 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, raci, bahňáci na průtahu.

Obojživelníci: ropucha obecná, skokan hnědý

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

2.7. 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

V současné době byly v roce 2026 uvedeny pouze tři linie ARE1(GP-koARE-S1-2- A, GP-koARE-S1-3-A, GP-koARE-S2-1-A), č.j.: MZP/2026/940/68. U linie GP- koARE-S1-2-A pozorován výrazně vyšší počet odnoží, vyšší množství biomasy a větší hmota slámy v porovnání s kontrolními rostlinami. Linie GP-koARE-S1-3-A vykazuje celkově horší výnosové parametry než kontrola a linie GP-koARE-S2-1-A se výrazně neliší od kontrolních rostlin.

3. **Popis nakládání s geneticky modifikovanou vyšší rostlinou**

15.1. Monitoring

Plán monitoringu:

Předpoklady pro zhodnocení rizika <u>Všeobecná pozorování</u>		
	Popis pozorování	Frekvence pozorování
Žádný rozdíl v morfologických aspektech rostliny	Pozorování vlastností rostlin ve srovnání s vlastnostmi WT ječmene	Alespoň jednou za čtyři týdny během vegetačního období
Žádný rozdíl v agronomickém chování	Pozorování jednotlivých fází vývoje porostu ve srovnání 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 nepřiměřenému 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 nečlověky 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 nečlověky 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 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.

15.1.1. 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.

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

Pro polní pokusy byly vybrány homozygotní linie s editovanými geny *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* (viz tabulka 1). Potomstvo těchto rostlin neobsahuje žádné transgeny, které by mohly pocházet z expresního vektoru, přičemž jednotlivé mutace genů v genomu rostliny lze prokázat PCR a sekvenováním (viz kapitola 12.13.). Tato rychlá, jednoduchá a spolehlivá metoda tudíž jednoznačně odliší geneticky modifikované linie od všech kontrolních rostlin ječmene.

15.1.3. 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.)

15.1.4. 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.

15.1.5. 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.

15.1.6. 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 vyrobených z pokusu (všechny vegetativní části rostlin) bude na konci pokusu zničen rozcením 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

Vzhledem ke způsobu modifikace neobsahují modifikované rostliny cílenou editací genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* ječmene žádný transgen.

Všechna ochranná opatření jsou v souladu se zákonem č.78/2004 Sb. (aktuálním znění).

Geneticky modifikovaná zrna a vzorky (zejména skláma) budou přemísťovány mezi CATRIN (výzkumná skupina rostlinného inženýrství a biotechnologie), UP Olomouc, budova H, Šlechtitelů 27, 783 71 Olomouc a místem realizace polních pokusů a skladem – firmou Úsovsko a.s., ÚSOVSKO AGRO s.r.o. a MOHELNICE AGRO s.r.o. Přístup do skladu bude evidován a omezen na proškolené pracovníky:

Přeprava vzorků bude zajišťována tak, aby během přepravy nevznikla žádná rizika. GM materiál bude řádně označen, umístěn ve dvojitéch plastových boxech/ obalech. Převážející bude mít dále s sebou havarijný plán v a lopatku, smetáček a autoklávovatelný pytel pro případ havárie.

Odebrané vzorky a zrno GM rostlinného materiálu budou řádně označeny tak, aby nemohlo dojít k jejich záměně a při převozu zabezpečeny proti úniku do prostředí.

Aby bylo zabráněno transferu vnášených genů do životního prostředí, bude modifikovaný jarní ječmen od veškerého nepokusného jarního ječmene oddělovat izolační vzdálenost minimálně 50 m.

Pozemek s GMO ječmenem bude bezpečně oplocen pletivem. Celý areál, za kterým se pozemky nachází, 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). Sklad zrna bude určen výhradně pro skladování GM semen ječmene, přístup do skladu bude evidován a omezen (uzamčen, vstup bude umožněn pouze třem osobám), sklad bude řádně označen a okna ve skladu budou opatřena sítí.

Místo pokusu bude navíc chráněno izolačním obsevem konvenčního jarního ječmene obdobné ranosti širokým minimálně 2,5 m. Porost bude ohraničen oplocením bránícím vstupu zvěře a označen viditelnými cedulemi s nápisem "POZOR - GMO - NEVSTUPOVAT - NEZKRMOVAT- CHEMICKY OŠETŘENO. Není určeno ke konzumaci, krmení! Zákaz předávání neoprávněným osobám!".

Plán monitoringu bude realizován během pokusů a po jejich skončení, jak je uvedeno viz plán monitoringu (bod 15.4). Monitoring bude probíhat na pokusném pozemku a v jeho nejbližším okolí. Monitoring bude také prováděn na místě případné havárie a v jeho nejbližším okolí.

Na konci pokusu bude všechna zbývající rostlinná hmota, včetně obsevu konvenčního jarního ječmene, zničena rozdrčením a zapravením do půdy orbou.

Následující dva roky po skončení polního pokusu nebude na pokusné ploše pěstován žádný komerční jarní ječmen.

16. 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

Plánovaný polní pokus je zaměřen na získání nových údajů o vlastnostech geneticky modifikovaných linií ječmene (*Hordeum vulgare* L.) s cílenými editacemi genů *ARE1*, *BAHD*, *BT2A*, *BT2B*, *KNAT* a *SP11* a na ověření jejich vlivu na agronomické charakteristiky, složení biomasy a environmentální bezpečnost.

Hlavním cílem pokusu v prvním roce je namnožení homozygotních geneticky modifikovaných linií pro navazující výzkumné experimenty a získání rostlinného materiálu pro podrobné laboratorní analýzy. Rostliny budou pěstovány do plné zralosti a budou hodnoceny jejich fenotypové projevy, základní agronomické parametry a sklizňový index (harvest index, HI). Po sklizni bude analyzováno zrno a zejména sláma se zaměřením na parametry související s charakterem provedených genetických změn, tj. na obsah ligninu, bílkovin, celkového dusíku a další ukazatele kvality lignocelulózové biomasy.

Součástí polního pokusu bude hodnocení environmentální bezpečnosti geneticky modifikovaných linií, zejména sledování jejich schopnosti přežívání a případného šíření v prostředí, výskytu rostlin z výdrolu a možných interakcí s necílovými organismy. V průběhu vegetace budou prováděna pravidelná pozorování zdravotního stavu rostlin, případných nežádoucích vlivů na životní prostředí a případných účinků relevantních pro zdraví lidí a zvířat.

Získané údaje budou porovnány s kontrolními liniemi ječmene a využity k posouzení, zda cílené genetické změny vedou pouze k očekávaným změnám sledovaných vlastností a zda nedochází ke změnám biologických charakteristik, které by mohly představovat riziko pro životní prostředí, zdraví lidí nebo zvířat.