

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
katedra rostlinné výroby

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Porovnání geneticky modifikované a nemodifikované kukuřice

Jméno: František Bezunk

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Jiří Diviš, CSc

Datum odevzdání: 20. 4. 2007

Anotace

Bakalářská práce podává přehled o Bt-kukuřici, se zaměřením na pěstování této transgenní rostliny v České republice. Z hlediska vypracování ji můžeme rozdělit na dvě části, a to část teoretickou a praktickou.

Teoretická část sleduje pěstování Bt-kukuřice v České republice zemědělskými podniky a výzkumnými ústavami. V praktické části je porovnána tato geneticky modifikovaná kukuřice s geneticky nemodifikovanou. K tomuto porovnávacímu pokusu byly vybrány hybridy DKC 3511 a DKC 4442 YG. Porovnání se zaměří na výnos zrna a na napadení palic houbovými patogeny.

Na základě výsledků z praktické a teoretické části práce budou zhodnoceny přínosy a rizika zjištěná při pěstování Bt-kukuřice v České republice.

Klíčová slova : GMO, kukuřice, Bt-kukuřice

Annotation

This thesis provides a general view of Bt-corn and the growing of this genetically modified plant in the Czech Republic. It comprises of two main parts, a theoretical and a practical one.

The theoretical part deals with Bt-corn growing by agricultural companies and research institutes in the Czech Republic. The practical part provides a direct comparison of genetically modified and genetically unmodified corn. The DKC 3511 and DKC 4442 YG hybrids were selected as subjects of this comparison. The key aspects of the comparison are the outcrop and the extent of infestation of corn crops with fungic pathogens.

Based on the results gathered in the practical and theoretical part of the thesis, pros and cons of Bt-corn growing in the Czech Republic will be assessed.

Keywords: GMO, corn, Bt-corn

Děkuji doc. Ing. Jiřímu Divišovi, CSc. za odborné vedení při tvorbě této bakalářské práce. Dále děkuji Ing. Oxaně Habuštové, CSc., RNDR Slavomiru Rakouskému, CSc., Ing. Janu Frouzovi CSc. a doc. Ing. Vladislavu Čurnovi, Ph.D. za poskytnutí podkladů a informačních materiálů, Ing. Martinu Němcovi za odbornou pomoc při vstupech do porostů kukuřice, Ing. Václavu Kropáčovi za umožnění pokusu na pozemcích jejich ZD a za vstřícnost a ochotu při poskytnutí informačních materiálů, doktorandům Biotechnologického centra Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity za uskutečnění detekce transgenu, Mgr. Veronice Strakové za jazykovou korekci, Bc. Lence Mlátilíkové a Věře Vopelkové za pomoc při zjišťování výnosu a Mgr. Martinovi Divišovi za technickou spolupráci.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, a že jsem uvedl veškerou použitou literaturu.

V Českých Budějovicích dne 20. 4. 2007

.....

František Bezunk

Obsah

1. Úvod.....	8
2. Literární rešerše	10
2.1. Pojmy a definice spojené s GMO.....	10
2.2. Nakládání s transgenními plodinami mimo EU	11
2.3. Typy GM plodin.....	14
2.3.1. GM sója rezistentní k herbicidům.....	14
2.3.2. Další GM plodiny	15
2.4. Nakládání s GMO v EU	16
2.4.1. Legislativa v EU	16
2.4.2. GMO uváděné do oběhu v EU.....	17
2.5. Nakládání s GMO v České republice	19
2.5.1. Legislativa.....	19
2.5.2. GMO pro uzavřené nakládání.....	19
2.5.3. GMO uváděné do životního prostředí	20
2.5.4. GMO uváděné do oběhu	21
2.6. Bt-kukuřice.....	21
2.6.1. Charakteristika	21
2.6.2. Pěstování Bt-kukuřice v EU	23
2.7. Bt-kukuřice v České republice	25
2.7.1. Schválení Bt-kukuřice.....	25
2.7.2. Zavíječ kukuřičný (<i>Ostrinia nubilalis</i>)	26
2.7.3. Monitoring Bt-kukuřice	27
2.7.4. Podmínky při pěstování Bt-kukuřice	30
2.7.5. První zkušenosti zemědělských podniků s pěstováním Bt-kukuřice ...	33
3. Cíl bakalářské práce	35
3.1. Metodika pokusu	35
3.2. Půdní a pěstitelské podmínky	36
3.3. Průběh počasí od zasetí do sklizně	36
3.4. Charakteristika porovnávaných kukuřičných hybridů	37
3.4.1. DKC 4442 YG	37

3.4.2. DKC 3511	38
3.5. Detekce transgenů v Bt-kukuřici	38
3.5.1. Izolace rostlinné DNA	38
3.5.2. PCR.....	39
3.5.3. Elektroforéza.....	40
3.5.4. Vyhodnocení výsledků detekce transgenů.....	41
4. Výsledky	42
5. Diskuse	47
5.1. Vyhodnocení dosaženého výnosu zrna	47
5.2. Napadení porostu zavíječem kukuřičným a palic houbovými patogeny.....	48
6. Závěr	49
Přílohy	50
Seznam použité literatury	52
Literatura	52
Internet.....	54

1. Úvod

Získávání nových poznatků z oblasti buněčné biologie, biochemie a především molekulární biologie vedlo k rozvoji nových metod a technik využívaných v řadě průmyslových odvětví. Tyto metody dostaly obecný název biotechnologie. V zemědělské výrobě jsou nejvíce známy ve spojení se šlechtěním rostlin, kde jsou známy pod pojmem rostlinné biotechnologie. První praktické výsledky rostlinných biotechnologií se začaly objevovat v sedmdesátých letech. Ve vztahu k technikám molekulární biologie to bylo o deset let později. Při šlechtění rostlin se v současnosti využívají především tyto biotechnologické metody:

- kultivace rostlinných tkání a buněk in vitro
- transgenoze.

V in vitro podmínkách (přesně dané podmínky po stránce chemické a fyzikální, kde je zabráněno nežádoucí kontaminace) lze metodami genového inženýrství upravovat a vnášet geny nebo části DNA do genomu rostlin.

Pro integraci cizorodé DNA do genomu eukaryotních organismů se začal užívat pojem transgenoze. Takto vyšlechtěné rostliny jsou označovány jako transgenní. Zejména se využívá transgenoze prostřednictvím bakterií *Agrobacterium* a prostřednictvím techniky zvané bombardování mikroprojektily. Těmito metodami (a dalšími) byly získány odrůdy, které pomocí transgenů získávají nové vlastnosti (např. tolerance k herbicidům, rezistenci k hmyzím škůdcům, změněný obsah škrobu v hlízách, a další). Do rostlinného genomu se vnášejí jak geny z jiných rostlinných druhů, tak i z jiných organismů.

K takovému křížení bez využití biotechnologických metod by nikdy nedocházelo. Z tohoto důvodu je předběžná opatrnost na místě. V EU transgenní rostliny podléhají přísným testům na bezpečnost pro prostředí a bezpečnost při použití v potravinách. Zajímavé je, že těmto testům zřejmě z příčiny nezájmu politických i nevládních organizací (např. Greenpeace) nepodléhají rostliny vyšlechtěné pomocí záření. Ačkoliv při vyšlechtění těchto rostlin taktéž vznikají nepřírozené geny vytvořené člověkem. Takto vyšlechtěných rostlin je již přes dva tisíce.

V České republice je první komerčně pěstovanou transgenní plodinou kukuřice linie MON 810 s vneseným genem pro insekticidní protein Cry1A(b) pocházejícím z *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* hubícím zavíječe kukuřičného. Poprvé

čeští zemědělci tuto Bt-kukuřici zasely v roce 2005 na ploše o rozloze 270 ha. Cílem této práce je zhodnotit rizika a přínosy spojená s pěstováním Bt-kukuřice v České republice. A to jak z dostupných a získaných informací o pěstování Bt-kukuřice, tak i z výsledku vlastního pokusu.

2. Literární rešerše

2.1. Pojmy a definice spojené s GMO

Veškeré nakládání s GMO podléhá přísné kontrole a je řízeno přesnými pravidly. Z tohoto důvodu jsou veškeré pojmy spojené s GMO uvedeny v zákonech a předpisech. Pojmy uvedené v zákoně č. 78/2004 Sb o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, v paragrafu 2:

Organismus – biologická jednotka, včetně jednotky mikrobiologické, schopná rozmnožování nebo přenosu dědičného materiálu

Dědičný materiál – deoxyribonukleová nebo ribonukleová kyselina

Geneticky modifikovaný organismus – organismus, kromě člověka, jehož dědičný základ byl změněn genetickou modifikací provedenou některým z technických postupů uvedených v příloze č. 1 bodu 1, tohoto zákona (začlenění rekombinantní DNA do genetického materiálu příjemce, ve kterém se normálně nevyskytuje, a která je schopna se dále množit; DNA připravená in vitro a zavedena jakýmkoliv způsobem do genetického materiálu příjemce; buněčnou fúzí při které jsou vytvářeny životaschopné buňky s novým genetickým materiálem a to metodami nebo prostředky, které se nevyskytují přirozeně).

Genetickou modifikací je cílená změna dědičného materiálu spočívající ve vložení cizorodého dědičného materiálu do dědičného materiálu organismu nebo vynětí části dědičného materiálu organismu způsobem, kterého se nedosáhne přirozeným způsobem.

Genetický produkt – jakákoli věc obsahující jeden nebo více geneticky modifikovaných organismů, která byla vyrobena nebo jinak získána bez ohledu na stupeň jejího zpracování a je určena k uvedení do oběhu (www.env1).

Pojem **GMO**, tak jak ho chápeme, je pouze úředním označením organismu. Z biologického hlediska je geneticky modifikovaný každý organismus, který má nějakou změnu svého genetického materiálu, tedy např. mutaci. Mutace jsou zdrojem veškeré genetické a následně biologické diverzity (různorodosti živých organismů), potom je geneticky modifikovaný každý organismus (Řehout, 2005).

Vhodnějším názvem pro organismy, jejichž dědičnost byla řízeně změněna metodou genového inženýrství, namísto názvu GMO, je transgenní organismus. Pojmů a definic spojených s biotechnologiemi je velké množství a jejich porozumění je nezbytné k pochopení nových metod použitých při šlechtění rostlin a při získávání nových produktů.

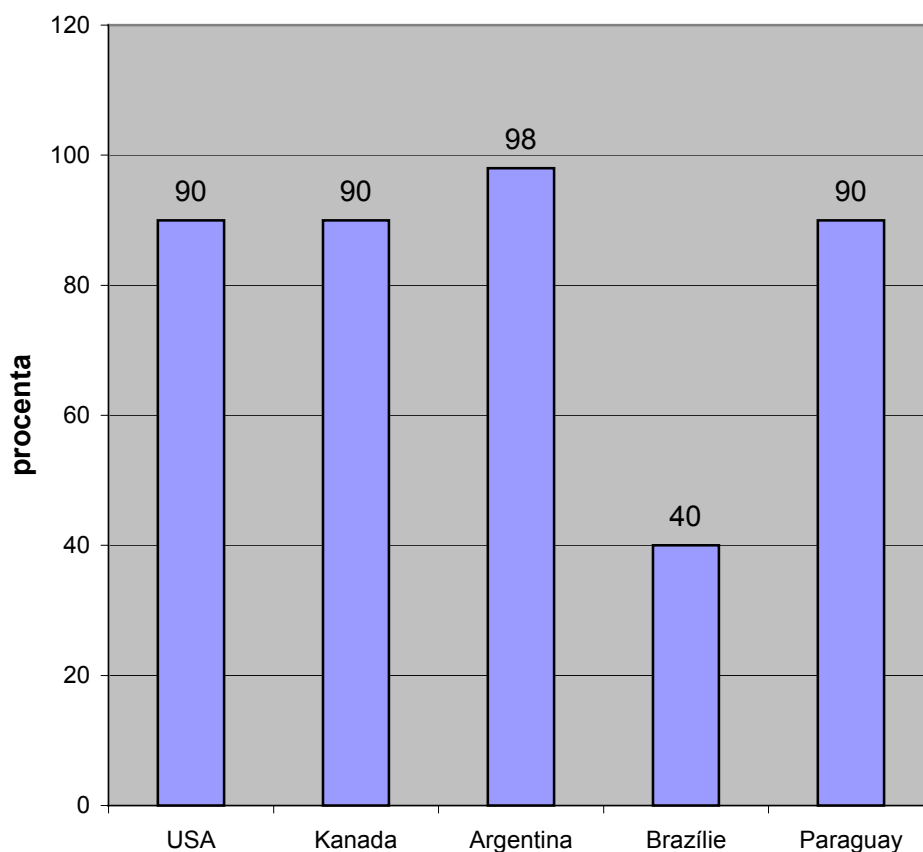
V této bakalářské práci se nejčastěji setkáme s pojmem Bt-plodina. Bt-plodiny (Bt-kukuřice, Bt-bavlník, Bt-brambor, a další) jsou plodiny do jejichž genomu byl metodami genového inženýrství zaveden gen pro tvorbu Cry-bílkoviny z *Bacillus thuringiensis*, která je selektivně toxická pro hmyz.

2.2. Nakládání s transgenními plodinami mimo EU

Ve světě se plocha osetá transgenními plodinami každoročně zvětšuje, s pěstováním GM plodin se začalo již v roce 1996. Zatímco v roce 1996 činila výměra plochy osetá transgenními plodinami 1,7 mil. ha, v roce 2006 již to byla plocha o výměře 102 mil. ha. Největším světovým producentem transgenních plodin jsou Spojené státy Americké (54,6 mil. ha), následují je Argentina (18 mil. ha), Brazílie (11,5 mil. ha), Kanada (6,1 mil. ha), Indie (3,8 mil. ha), Čína (3,5 mil. ha), Paraguay (2,8 mil. ha) a Jihoafrická republika (1,4 mil. ha). Společně se tyto země podílejí na celkové světové produkci transgenních plodin z 99 %. Největší výměru plochy zasetych GM plodin má sója (58,6 mil. ha). Dalšími nejvíce pěstovanými GM plodinami jsou GM kukuřice (25,6 mil. ha), GM bavlník (13,4 mil. ha) a GM řepka (4,8 mil. ha) (www.ISAAA).

Sója začala být pěstována jako první z GM plodin, již v roce 1996 na ploše o rozloze 1,7 mil. ha. V současné době již produkce GM sóji předčila produkci netransgenní sóji, v některých státech je tento rozdíl velmi výrazný (viz graf 1) (www.transgen).

Graf 1: Podíl transgenní sóji z celkové plochy pěstované sóji (zdroj: [www. transgen](http://www.transgen))



Ve světě se GM rostliny využívají jako potraviny nebo krmiva již déle jak deset let. V současné době se na světovém trhu můžeme setkat s více než 50 produkty, získanými z GM plodin. Zahrnují například řepkový olej, kukuřici, bavlníkový olej, papáju, brambory, sóju, dýně, cukrovou řepu, rajčata, a další (Ruprich, 2007).

Krmiva jimiž jsou krmena hospodářská zvířata mohou obsahovat velké množství GM plodin, přesto nejsou zatím důkazy o škodlivém účinku na produktivitu nebo zdraví. U potravin získaných z GM plodin, taktéž nebyl zaznamenán žádný škodlivý efekt, který by byl spojený s konzumací těchto potravin. Sledování všech látek potravin z hlediska jejich nepříznivých účinků v populaci je podstatně složitější než sledování jednotlivé látky. Ve skutečnosti je současný monitoring založen jen na náhodně zjištěném škodlivém účinku konzumentem a následném zjišťování ve spojitosti s GM potravinou. Z těchto příčin musí monitoring zahrnovat delší časové období (Kadlec, 2003).

Státy nakládající s GMO mají vlastní legislativu a kontrolní orgány dohlížející na bezpečném nakládání s GMO. Ve Spojených státech amerických bylo nakládání s GMO kontrolováno a zajištěno v roce 1986, třemi federálními úřady: Správa potra-

vin a léčiv (FDA – Food and Drug Administration), Úřad pro ochranu a prostředí (EPA – Environment Protection Agency), Veterinární a rostlinolékařská inspekce Ministerstva zemědělství (APHIS – Animal and Plant Health Inspection Service of the Department of Agriculture) (Nelson, 2001).

FDA, která spadá pod FFDC Act (Federal Food, Drug, and Cosmetic Act) vychází ze zásady, že produkty GMO jsou novými produkty, a proto jsou hodnoceny jako každé jiné nové produkty. Vznik genetickou modifikací není pro toto hodnocení rozhodující. Snaha o bezpečném celosvětovém nakládání s GMO vyústila k sepsání mezinárodní Dohody o biologické bezpečnosti (CBD).

V červnu 1992 na Konferenci Spojených národů o životním prostředí a rozvoji byla uzavřena Dohoda o biologické rozmanitosti (CBD) zahrnující problematiku moderních biotechnologií a možné následky pro životní prostředí a člověka. Ustanovila se pracovní skupina biologické bezpečnosti¹, která měla sestavit pravidla pro mezinárodní pohyb modifikovaných organismů. Tyto pravidla byly sestaveny až v roce 2000 v tzv. Cartagenském protokolu. Cílem tohoto protokolu je zajistit dostatečnou ochranu v oblasti bezpečného přenosu, manipulace a využívání živých modifikovaných organismů vzniklých metodami moderních biotechnologií, dále pak zabezpečit zachování biologické rozmanitosti a zohlednit rizika pro lidské zdraví (Ondřej, 1999).

Tento protokol byl otevřen k podpisům států a regionálních organizací ekonomické integrace od 15. května roku 2000. V platnost měl vstoupit devadesátý den po uložení padesáté ratifikační listiny (od státu nebo regionální organizace ekonomické integrace, které jsou smluvními stranami úmluvy. Tímto dnem se stalo 11. září roku 2003. V současné době (27. březen 2007) Cartagenský protokol ratifikovalo nebo na něj přistoupilo 140 smluvních stran úmluvy (www.biodiv.org).

GMO produkty podléhají pravidlům světového obchodu, na které dohlíží Světová obchodní organizace WTO (World Trade Organization). Dochází k překrývání kompetencí. Jednotlivé země mají své vlastní představy o tom jak řešit sporné otázky. V současnosti EU a rozvojové země upřednostňují dohody o životním prostředí jako např. Protokol o biologické bezpečnosti (Biosafety Protocol) před hledisky Světové obchodní organizace (WTO) v oblastech jako je například import GM (Nelson 2001). To je hlavní důvod, proč Cartagenský protokol o biologické bezpečnosti ne-

¹ Working Group on Biosafety

ratifikovaly země s největší produkcí a vývozem GMO: Spojené státy americké, Kanada a Argentina.

2.3. Typy GM plodin

2.3.1. GM sója rezistentní k herbicidům

Nejrozšířenější a snad první povolenou transgenní plodinou byla sója využívající transgen CP4 EPSPS k rezistenci vůči herbicidu Roundup (Roundup Ready sója). V současné době jsou vyšlechtěny i transgenní odrůdy Roundup Ready kukuřice, brambor, ozimé řepky, lnu a dalších plodin. Herbicid Roundup je neselektivní herbicid.

Transgen byl získán z půdní bakterie *Agrobacterium rhizogenes*, nesoucí geny zodpovědné za toleranci vůči Roundupu – jeho účinné látky glyfozátu, který v rostlinách inhibuje aktivitu enzymu EPSPS (5-enolpyruvylšikimát-3-fosfátsyntáza) (Řehoult, 2005). Tím znemožňuje syntézu důležitých aromatických aminokyselin (fenylalaninu tyrosinu a tryptofanu) a některých dalších látek produkovaných v tzv. šikimátové dráze, nazvané podle významného meziprojektu – kyseliny šikimátové (šikimátu) (Špička, 2004). Geny potřebné pro syntézu aromátů šikimátové dráhy jsou lokalizovány v chloroplastech. Větší rezistence dosahovaly transgenní rostliny s transgenem transformovaným do cpDNA. Bakteriální geny kódující enzym EPSPS tolerantní ke glyfozátu, se získávají i ze *Salmonella typhirum*, *Esherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, atd.

K odolnosti proti glyfosfátu se využívá i transgenu získaného z bakterií *Achromobacter* sp., zajišťující produkci enzymu glyfosát oxidoreduktázy (zkráceně GOX), který glyfozát v buňce metabolizuje. U některých transgenních rostlin (např. řepka olejka) bylo použito obou těchto variant obrany před herbicidní účinnou látkou glufozátem. Tím byla dosažena vysoká tolerance rostlin k herbicidu (Petr, 2005).

Je již vyvinuta celá řada dalších transgenních rostlin, využívajících transgenu k toleranci proti různým aktivním složkám herbicidu. Např. fosfinotricin, který blokuje enzym glutaminsyntázu, ten k syntéze glutamátu a glutaminu využívá NH₄ (přijímán přímo rostlinou, nebo syntetizován z N₂ a NO₃) (Špička, 2004). Tím dochází k hromadění NH₄, což vede k blokadě fotosyntézy a k rozpadu chloroplastů.

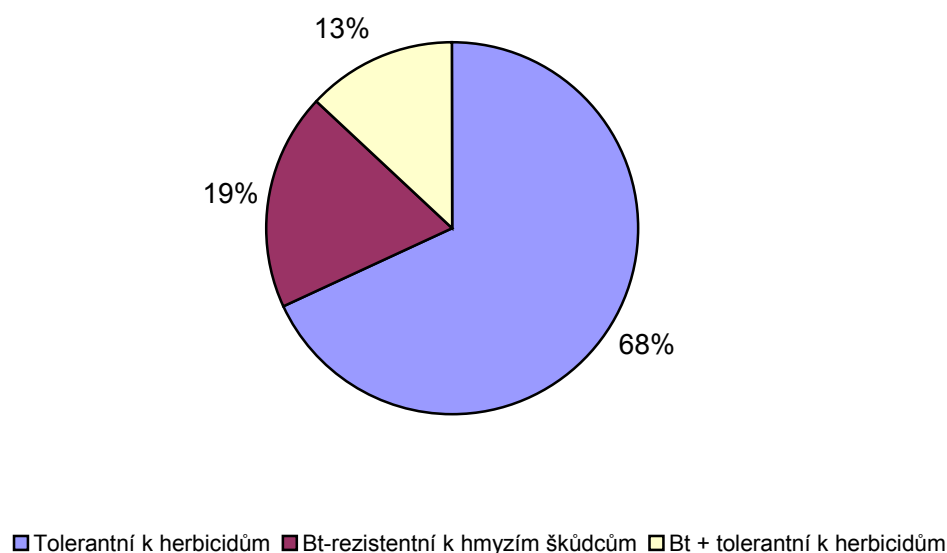
K rezistenci se používá transgen z bakterií *S. hygroscopicus* a *S. viridochromogenes*, syntetizující enzym fosfotricin-N-acetyltransferázu (PAT), který inaktivuje fosfotricin acetylací jeho volné NH₂ skupiny (Ondřej, 2002). Z pohledu pěstovaných GM plodin jsou transgenní rostliny tolerantní k určitým herbicidům nejpočetnější skupinou.

2.3.2. Další GM plodiny

Druhou nejzastoupenější skupinou GM rostlin jsou transgenní rostliny s rezistencí proti hmyzím škůdcům kódující bílkovinu δ -endotoxin bakterie *B. thuringiensis*. První transgenní rostliny s tímto genem byly získány v r. 1983. Gen pro Bt-toxin byl poprvé transgenován do tabáku a rajčete (Ondřej, 1999). Nyní je již v celé řadě kulturních rostlin (kukuřice, bavlník, sója, brambor a další).

Byly již vyšlechtěny transgenní rostliny obsahující transgeny jak pro rezistenci k herbicidům, tak i pro rezistenci k hmyzím škůdcům. Kromě těchto tří nejrozšířenějších typů transgenických rostlin (viz graf 2) se pěstuje i řada dalších.

Graf 2: Zastoupené typy transgenních rostlin v roce 2006 (www.transgen.)



První geneticky modifikovanou plodinou, která se dostala na trh byly transgenní rajčata. Tato rajčata se mohla sklízet zralá, a přesto zůstávaly dlouho čerstvá.

Pro změnu zrání rajčat se využívá inserce antisense RNA, jež je pravým opakem mRNA syntetizované podle genu pro polygalakturonasu. Působením tohoto genu se v období zrání postupně odbourávají pektinové látky, které jsou uloženy zejména ve střední lamele, kde zajišťují mechanickou tuhost. Obě jednovláčkové RNA – mRNA a antisense RNA – spolu reagují a vytvářejí přitom dvojitou šroubovici. Podle té již ribozomy enzym vyrobí neumějí (Petr, 2007), naopak dvojitá šroubovice RNA vyvolá tzv. RNA interferenci a je působením enzymů Dicer a RISC degradována. Jestliže je méně enzymu, více pektinu zůstane nerozloženo a rajče si ponechá svou tuhou konzistenci o něco déle.

Vývoj transgenních rostlin rychle pokračuje. Rozlišují tři základní skupiny geneticky modifikovaných rostlin. První generace GM rostlin zahrnuje geneticky modifikované odrůdy, které jsou výhodné z hlediska zemědělské produkce (odolnost k herbicidům, odolnost ke škůdcům). Druhá generace má změněné složení finálního produktu (lepší složení proteinů, změněné složení olejů, vyšší obsah vitamínů). Třetí generace by měla najít uplatnění ve farmaceutickém průmyslu a zdravotnictví (např. tzv. jedlé vakcíny, výroba některých kofaktorů, enzymů) (Ovesná 2005). Celkem je již ve světě v této době registrováno více než 60 transgenních plodin.

2.4. Nakládání s GMO v EU

2.4.1. Legislativa v EU

Evropská unie vydala řadu právních předpisů řešící GMO a návazně i potraviny a krmiva z nich vyrobených. Rozhodujícími normami jsou následující:

- Směrnice Evropského Parlamentu a Rady 2001/18/ES – reguluje uvádění geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a na trh. Definiuje pojmy v oblasti GMO, administrativní přístupy, informační systém a zapojení veřejnosti
- Nařízení Evropského Parlamentu a Rady č.1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady č.1830/2003 o sledovanosti a označování geneticky modifikovaných organismů a sledovanosti potravin a krmiv vyrobených z geneticky modifikovaných organismů

- Nařízení Evropského Parlamentu a Rady č. 1946/2003 o pohybech geneticky modifikovaných organizmů přes hranice (směrnice přejímá Cartagenaický protokol o biologické bezpečnosti) (Řehout, 2005)

V zemích EU veškerá manipulace s GMO vyžaduje povolení, řídí se směrnicí 2001/18/ES. Ať již jde o pokusné testování v laboratořích (tzv. uzavřená manipulace), na pokusných polích (tzv. uvádění do životního prostředí) a uvádění do oběhu (dovoz, zpracování, komerční pěstování).

2.4.2. GMO uváděné do oběhu v EU

Nejpřísněji jsou kontrolované GMO určené k uvádění do oběhu. O povolení k uvádění GMO do oběhu se rozhoduje na úrovni Evropské unie. Vyjádřit se mohou všechny členské státy EU. Žádost je posuzována Evropským úřadem pro bezpečnost potravin. Rozhodnutí k povolení může vydat Rada ministrů pro životní prostředí, hlasováním členských států. Pokud při hlasování k rozhodnutí nedojde, rozhodne Evropská komise (Doubková, 2006). V současné době zůstává jedinou GM plodinou povolenou ke komerčnímu pěstování Bt-kukuřice linie MON810 s vneseným genem pro insekticidní protein Cry1A(b).

Tabulka 1: GM plodiny povolené v EU (Custers, 2006)

Druh	Vlastnost
Sladká kukuřice	Rezistence k hmyzu na základě Bt genu; nikoli k pěstování, jen pro dovoz a zpracování jako potravina
Cikorka	tolerantní k amonium glufosinátu se samčí sterilitou; pro šlechtitelství
Sója	Tolerantní ke glyfosátu
Bavlník	Rezistence ke hmyzu
Řepka	Tolerantní ke glyfosátu, tolerantní k amonium glufosinátu; pro šlechtitelské pokusy
Brambor	Se změněným obsahem škrobu vhodným pro průmyslové zpracování, např. na plasty; nikoliv jako potravina
Kukuřice	Tolerantní ke glyfosátu; tolerantní k amonium glufosinátu; rezistentní k zavíječi kukuřičném a k bázlivci (larvy požírají kořeny). Rezistence k zavíječi kukuřičnému s tolerancí ke glyfosátu. Kříženci.
Karafiát	Se změněnou barvou a větší trvanlivostí
Tabák	Snášejíci bromoxynil
Testovací souprava	Na zjišťování antibiotik v mléce
Vakcíny	Pro veterinární použití, např. proti Aujezského chorobě

GM plodiny se uplatňují zejména v zemědělsko-potravinářském sektoru pro výrobu krmiv, v menší míře k výrobě potravin. GM potraviny a krmiva jsou taková která obsahují nebo jsou vyrobena z GMO (dle definice vycházející z nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech). Na nezávadnost potravin dohlíží Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA – European Food Safety Agency) a Spojené výzkumné středisko (JRC – Joint Research Centre). Nařízením 1830/2003 musí být označeny nejen veškeré výrobky obsahující GMO, ale i výrobky vyrobené z GMO Označení musí být uvedeno na štítku ve složení výrobku (Říha, 2006).

2.5. Nakládání s GMO v České republice

2.5.1. Legislativa

Nařízení a směrnice týkající se GMO a schválené Evropským parlamentem a Radou platí pro všechny členské státy EU. Česká republika vydala zákony upravující nakládání s GMO. Ve své podstatě, až na některé formulace, odpovídají směrnici a nařízením EU.

Těmito zákony jsou:

- Zákon č.78/2004 Sb. po novelizaci 346/2005 Sb. a prováděcí vyhláška č. 209/2004 Sb – o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty
- Zákon č. 110/1997 Sb. po novelizaci 306/2000 Sb. – přikazuje způsob označování potravin vyrobených z GMO a uvádění nových potravin do oběhu.

Ze zákona č. 78/2004 Sb. rozeznáváme tři typy nakládání s GMO:

- uzavřené nakládání – vymezuje podmínky vzniku a využití GMO v laboratořích, průmyslových provozech, sklenících, chovech.
- uvádění do životního prostředí – vymezuje podmínky za jakých je možné pěstování v polních pokusech nebo chov v experimentálních chovech a jak lze nakládat se získanými produkty pro pokusné účely;
- uvádění do oběhu – vymezuje za jakých podmínek mohou být GMO dováženy, prodávány, zpracovány či komerčně pěstovány;

2.5.2. GMO pro uzavřené nakládání

Nejpočetnější povolenou skupinou jsou GMO pro uzavřené nakládání. Využívané v uzavřených prostorech pro výzkumné účely či k výuce. Např. Jihočeská univerzita, Biologická fakulta používá tyto GMO (www.env2):

- z rostlin tabák, len setý, brukev zelná, jahodník;
- z živočichů octomilku (moucha), *Leishmania tarentolae* (prvok);

- z mikroorganismů *Escherichia coli*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes*;

Při žádosti o povolení GMO pro uzavřené nakládání postačuje oznámení Ministerstvu životního prostředí. V oznámení se uvede charakterizace GMO, vyhodnocení možných rizik, popsání zamýšlené činnosti s GMO a vybavení pracoviště. Při uzavřeném nakládání s GMO s vyšším rizikem je vydáváno povolení Ministerstvem životního prostředí ve správném řízení.

2.5.3. GMO uváděné do životního prostředí

Vydávání povolení k uvádění do životního prostředí mají v kompetenci jednotlivé členské státy. Evropská komise o tom musí být informována a může se k těmto povolení vyjadřovat. V České republice je povolení vydáváno Ministerstvem životního prostředí, které pro tento účel zřídilo poradní orgán ČK GMO (Česká komise pro nakládání s GMO a genetickými produkty). Tato komise je složená z vědců a odborníků z různých oborů (ochrany zdraví, životního prostředí, molekulární biologie rostlin, zdravotnictví, zemědělství, atd.). Dále se k žádosti vyjádří Ministerstvo zemědělství, Ministerstvo zdravotnictví, kraj ve kterém má být s GMO nakládáno a veřejnost (musí být včas informována). Po prostudování všech vyjádření vydá Ministerstvo životního prostředí rozhodnutí (Doubková 2006).

V roce 2007 bylo povoleno Ministerstvem životního prostředí, uvedení do životního prostředí těmito GM plodinám (www.env3):

- Brambor se změnou obsahu cukrů
- Brambor se zvýšeným podílem amylózy
- Brambor se zvýšeným podílem amylopektinu
- Brambor se změněným složením škrobu
- Kukuřice linie GA21 (tolerantní k herbicidům – účinné látky glyfosát)
- Hybrid kukuřice NK603 x MON810
- Kukuřice NK 603 (tolerantní k herbicidům – účinné látky glyfosát).
- Slivoň Stanley (rezistentní k viru šárky)

Hlízy a zrna z těchto povolených plodin nesmí být použita k pěstování, konzumaci ani zkrmování. Musí být uskladněna v označených pytlech.

2.5.4. GMO uváděné do oběhu

Povolení k uvádění GMO do oběhu vydává Ministerstvo životního prostředí po projednání s (ČK GMO). Souhlas s tímto povolením musí vyjádřit i Ministerstvo zemědělství a Ministerstvo zdravotnictví. Při souhlasu všech institucí je podán návrh Evropské komisi ke konečnému rozhodnutí (Doubková 2006).

Na potraviny u nás tvoří legislativu Ministerstvo zemědělství a kontrolu provádí Česká zemědělská a potravinářská inspekce a Státní veterinární ústav. Dalším dohlížecím orgánem je Ministerstvo zdravotnictví a jeho Centrum hygieny potravinových řetězců, které je součástí Státního zdravotního ústavu (Custers, 2006). Pro použití v krmivech a potravinách je povolena GM sója a GM kukuřice. Jedinou komerčně pěstovanou GM plodinou zatím zůstává kukuřice MON 810.

V EU se řeší žádost (společnosti BASF), o povolení ke komerčnímu pěstování (uvádění do oběhu) transgenních brambor odrůdy amflora. Ta má ve škrobu pozměněný poměr amylozy (2 %) k amylopetinu (98 %). To je významné především pro zpracovatelský průmysl, který musí před dalším zpracováním tyto dvě složky oddělovat.

Pro povolení každé geneticky modifikované plodiny je klíčové rozhodnutí odborné hodnotitelské skupiny EFSA (Evropský úřad pro bezpečnost potravin). Ta již před časem oznámila, že Amflora (vzniklá transformací odrůdy Prevalent pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens*) je z pohledu vlivu na zdraví lidí, zvířat a životní prostředí srovnatelná s ostatními odrůdy.

Očekává se, že Evropská komise souhlas s pěstováním a využitím GM brambor vydá. Počítá se s využitím jen pro výrobu škrobu. Tímto rozhodnutím by se stala GM brambora od roku 1998, druhou transgenní plodinou povolenou k pěstování v EU (Petr 2007).

2.6. Bt-kukuřice

2.6.1. Charakteristika

Bt-kukuřice je transgenní rostlina s rezistencí proti hmyzím škůdcům kódující bílkovinu δ -endotoxin bakterie *B. thuringiensis*. *Bacillus thuringiensis* byl poprvé

objeven v Japonsku v roce 1902 v podniku, kde se pěstoval bourec morušový. Bakterie tam působila úhyn motýlů. Pak byl znovu izolován z populace moučných červů v Durynsku biologem Berlinerem v roce 1911.

Bakterie *Bacillus thuringiensis* se používají jako bioinsekticidy k ochraně polních plodin proti více než 300 druhům hmyzu již více než 30 let. Jejich používání v bioinsekticidech má však jisté nevýhody. Především nestabilitu preparátu za deště a přímého slunečního záření a neefektivita vůči škůdcům nacházejícím se uvnitř rostliny. Využití insekticidních vlastností této bakterie produkcí jejího proteinu rostlinou samotnou tyto nevýhody neguje (Petr, 2005).

Bacillus thuringiensis je Gram-pozitivní bakterie, která syntetizuje při sporulaci proteiny Cry, které jsou toxické pro některé skupiny hmyzu. V současnosti je definováno 6 tříd klasifikujících Cry proteiny Bt. (dříve Cry I-Cry VI, nověji pak Cry1-Cry6), které jsou dále detailně členěny na podtřídy (např. Cry1A až Cry1F; Cry2A a B; Cry3A až C apod.). Každá z tříd Cry proteinů je charakterizována velikostí proteinů (kDa) a je implicitně vázána na specifický okruh hostitelů (např. Cry1A- larvy motýlů) (Landa, 2007).

Tyto toxické proteiny se vyskytují u několika poddruhů *B. thuringiensis*:

- *Ssp. kurstaki* a *aizawai* jsou toxické pro *Lepidoptera*,
- *ssp. israelensis* pro *Diptera*,
- *ssp. morrisonii* a *tenebrionis* pro *Coleoptera*

Aby získaly entomopatogenní aktivitu, δ -endotoxiny musí být rozpuštěny ve střevě hmyzu a aktivovány proteázami, které specificky odštěpují C-terminální vysokomolekulární část (130 kDa) protoxinu a několik aminokyselin na N- konci. Vzniká výsledný menší polypeptid (60-70 kDa), který je teprve aktivním toxinem. Toxin se specificky váže na apikální část kartáčovité membrány epitelu středního střeva citlivého hmyzu ve dvou fázích, z nich druhá je již ireverzibilní. Po inzerci toxinu dochází k destrukci plasmatické membrány a postupné destrukci střeva. Celý děj je podobný plazmolýze (Ondřej, 2002).

Specifičnost účinku je dána nejen selektivní afinitou enzymaticky upraveného proteinu k vazebným doménám na membránách střevního epitelu, ale částečně i kyselostí prostředí zažívacího traktu a specifíčností trávicích proteolytických enzymů. Díky poměrně úzkému rozsahu působnosti δ -endotoxinu, toxin působí jen na

cílového škůdce a ne na užitečný hmyz a transgenní rostliny, se mohou stát součástí integrované ochrany rostlin (Ondřej, 1999).

2.6.2. Pěstování Bt-kukuřice v EU

V Evropské unii, vyjma Španělska byly do roku 2004 pěstovány GM rostliny jen na pokusných plochách. Ve Španělsku komerčně pěstovanou GM rostlinou byla Bt-kukuřice, poprvé zaseta již v roce 1998 na ploše 18 tis. ha. Tato Bt-kukuřice byla povolena Evropskou komisí dne 22. dubna 1998 směrnicí Rady 90/220/EHS s označením linie MON 810.

V roce 2003 vydala Evropská komise doporučení, které se týká metodických pokynů pro vytváření národních strategií a správných postupů k zajištění koexistence GM zemědělských plodin s konvenčním a ekologickým zemědělstvím². V tomto doporučení Evropská komise uvedla, že pravidla pro zajištění koexistence, by měly být vyvinuty jednotlivými členskými státy.

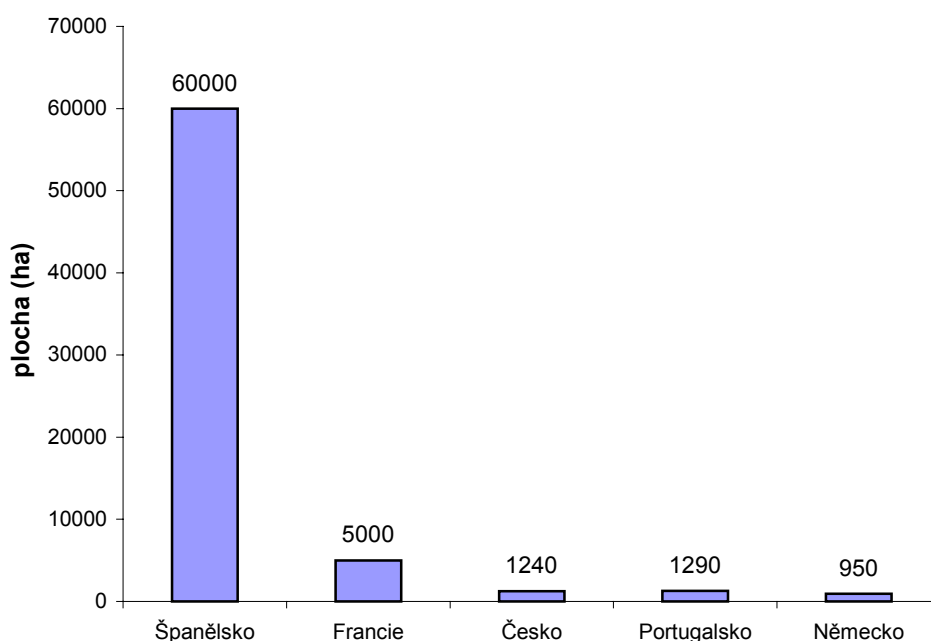
Koexistenci se rozumí souběžná existence dvou a více pěstitelských systémů. Těmito pěstitelskými systémy jsou myšleny tyto: konvenční, konvenční s GMO, ekologický. Od 1. května 2004 vstoupila v platnost směrnice Rady 2002/53/ES. Jejím základem je Společný katalog odrůd druhů zemědělských rostlin, který uvádí odrůdy řepy, píce, obilnin, bramboru, olejnin a přadných rostlin, jejichž osivo a sadbu lze uvádět do oběhu v celém společenství států EU (Čeřovská, 2005).

V září roku 2004 bylo Evropskou komisí schváleno zapsání prvních GM odrůd kukuřice linie MON 810 do Společného katalogu odrůd druhů rostlin. Těmito odrůdami byly Bt-kukuřice linie MON810 s vneseným genem pro insekticidní protein Cry 1A(b), pocházejícím z *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, s rezistencí k zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*). Již v následujícím roce 2005 začala být Bt-kukuřice komerčně pěstována v Portugalsku, Francii České republice, Německu a samozřejmě ve Španělsku. Největším pěstitelem GM kukuřice v EU zůstalo Španělsko s 54 tis. ha. Ostatní státy zasely Bt-kukuřici na této výměře: Portugalsko 780 ha, Francie 500 ha, Německo 360 ha a Česká republika 270 ha. Ani po sečtení

² (Commission recommendation of 23 July 2003 on guidelines for the development of national strategies and best practices to ensure the coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming) (notified under document C(2003) 2624 (2003/556EC).

veškeré plochy GM kukuřice oseté v EU, nedosahoval tento podíl 1 % z celkové plochy GM kukuřice pěstované ve světě. V roce 2006 se počet států pěstovaných Bt-kukuřici nezměnil. Ve všech státech vzrostla plocha zaseté Bt-kukuřice MON810 (viz. graf 3) (www.transgen).

Graf 3: Plocha oseté Bt kukuřicí



Největší nárůst byl ve Francii. Některé země EU nadále zastávají k GMO negativní postoj a zakázaly pěstování Bt-kukuřice MON810 na svém území, čímž nerespektují rozhodnutí Evropské komise. Těmito členskými státy jsou Rakousko, Polsko, Maďarsko a Řecko (Čeřovská 2005).

Argumentem pro zákaz pěstování Bt-kukuřice v Maďarsku je riziko pro životní prostředí a biodiverzitu. Problémy pěstování Bt-kukuřice se týkají čtyřech oblastí: extrémně vysoká produkce Cry 1A toxinu na 1 ha, pomalá dekompozice reziduí Cry 1A toxinu v půdě, pokleslá biologická aktivita organismů v půdě s rezidui Bt- toxinu, vysoká mortalita housenek chráněných motýlů po příjmu potravy s pylem MON810.

Rakousko uvádí tyto problémy týkající se čtyř oblastí: vliv na necílové organismy, management rezistence, riziko vzniku sekundárních škůdců, nedostatečný monitorovací plán předložený firmami. Maďarsko ani Rakousko nepředložily argumenty s vědeckými důkazy, že v podmínkách střední Evropy existují závažnější rizika pěstování Bt-kukuřice pro životní prostředí (Kocourek, 2006).

2.7. Bt-kukuřice v České republice

2.7.1. Schválení Bt-kukuřice

Dne 19. 9. 2003 rozhodlo Ministerstvo životního prostředí zapsat do Seznamu geneticky modifikovaných organismů a produktů schválených pro uvádění do oběhu v České republice kukuřici (*Zea mays* L.) linie MON 810 s vneseným genem pro insekticidní protein Cry1A(b) pocházející z *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (komerční označení YieldGard) a potomstvo (hybridy popř. linie) odvozené od této kukuřice tradičními šlechtitelskými postupy. Podkladem pro vydání tohoto rozhodnutí byly tyto skutečnosti:

1) Související vydaná povolení

Bt-kukuřice (*Zea mays* L., linie MON810) byla schválena v Evropských společenstvích pro uvádění na trh dne 22.4.1998 podle směrnice Rady 90/220/EHS. V České republice byla Bt-kukuřice MON810 schválena pro uvádění do životního prostředí Ministerstvem životního prostředí dne 9. 4. 2002.

2) Posouzení rizik

Evropská komise již při schválení Bt-kukuřice linie MON810 uvedla, že neexistuje žádný důvod se domnívat, že zavedením genu Cry1A(b) pro ochranu před hmyzem může mít nepříznivé účinky na lidské zdraví a životní prostředí. Od vydání tohoto rozhodnutí nebyly v členských státech Evropského společenství zjištěny nepříznivé účinky Bt kukuřice pro zdraví nebo životní prostředí.

Kukuřice je jednoletá rostlina s vysokými pěstitelskými požadavky. Semena sice mohou ojedinele přezimovat v půdě a vyklíčit v následujícím roce, ale nemohou být považována za významné plevelné společenstvo. Evropa není oblastí původu kukuřice a nevyskytují se zde žádné druhy, se kterými by se kukuřice mohla křížit.

I když nežádoucí účinky Bt plodin na ekosystém nelze vyloučit, jsou srovnatelné nebo menší než účinky jiných zemědělských postupů (použití chemických pesticidů).

Vznik rezistentních populací k Bt-toxinu je významné z hlediska zemědělství, a tím i tedy pro žadatele. To je jedním z důvodů pro omezení doby platnosti povolení. Povolení bylo vydáno na dobu 5 let (www.env).

2.7.2. Zavíječ kukuřičný (*Ostrinia nubilalis*)

Ještě v devadesátých letech dvacátého století, byl zavíječ kukuřičný (*Ostrinia nubilalis*), považován za škůdce způsobujícího škody v teplých oblastech, v porostech kukuřice pěstované na zrna. Touto oblastí byla jižní Morava, převážně okresy Znojemský, Břeclavský a Hodonínský. V současné době se vyskytuje ve všech oblastech pěstující kukuřici a je považován za nejvýznamnějšího škůdce napadajícího porosty kukuřice.

Zavíječ kukuřičný (*Ostrinia nubilalis*) je polyfágním druhem, běžně se vyskytuje na slunečnici, merlíku, lebedě a dalších větších bylinách. Kukuřice je pro něj vhodnou hostitelskou rostlinou. V našich klimatických podmínkách má jednu generaci za rok (v Itálii až tři generace za rok). Housenky přezimují v larválním stádiu ve spodních částech stébel hostitelských rostlin. Na jaře se kuklí (vyžaduje vlhké podmínky), motýlci se líhnou od konce května do začátku srpna. Největšího maxima výskytu dosahují na začátku a na konci července. Vhodnými podmínkami pro motýlky je chladnější a vlhčí počasí. Samičky kladou vajíčka na spodní strany listů, vyhlédlé larvy se pomocí žíru dostanou do stébel, kde vyvírají pletiva pod palicí, nad palicí i v palici samotné. Porosty silně poškozené urychleně dozrávají a mají obvykle nižší vlhkost sklizeného zrna než porosty bez napadení. V našich podmínkách dochází ke ztrátám na výnosech, které jsou ekonomicky významné při napadení více než 50 % rostlin (Kocourek, 2006). Na konci vegetaci se housenky zavíječe kukuřičného přemístí do spodních částí stébel a tam přezimují.

Žírem pletiv oslabují rostliny, čímž nepříznivě ovlivňují výnos. Způsobují i nepřímé škody. Narušená pletiva se stávají vstupní branou pro další fytopatogenní choroby. Rizikové faktory, které umožňují vyšší výskyt zavíječe kukuřičného je pěstování kukuřice po sobě, zakládání porostů kukuřice v blízkosti loňských porostů, vysoké strniště, nedokonalé zapravení posklizňových zbytků nebo využívání minimalizační technologie zpracování půdy v oblastech, kde víme o nebezpečí výskytu zavíječe. (Rotrekl 2006).

Ochrana porostů kukuřice před zavíječem kukuřičným:

- agrotechnická opatření (nízké strniště, likvidace posklizňových zbytků kukuřice rozdrčením a zapravením do půdy),
- chemická ochrana (postřikové přípravky např. Decis EW 50, Decis Flow 2,5, Karate 2,5 WG, Vaztak 10 EC, a další),
- biologická ochrana (Biobit WP či Biobit XL – ochrana bakteriemi *Bacillus thuringiensis* spp. *kurstaki*; Trichocap a Trichoplus – ochrana vosičkou *Trichogramma evanescens* vaječným parazitoidem zavíječe kukuřičného; Bt-kukuřice – rostliny exprimující protein bakterie *Bacillus thuringiensis* spp. *kurstaki*).

2.7.3. Monitoring Bt-kukuřice

Pokusy sledující přínosy a rizika spojená s pěstováním Bt-kukuřice. Výsledky výzkumů přínosů a rizik Bt-kukuřice prováděných v České republice:

Hodnocení rezistence Bt kukuřice vůči zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*)

Rezistence byla sledována na 9 hybridech kukuřice, z nichž 4 produkovaly Bt toxin Cry1Ab (hybridi MON810 – X0897AT, X0957GT, X0829ZT, X0768MT). Metoda spočívala v krmení housenek zavíječe kukuřičného semisyntetickou dietou s podílem pletiv příslušných hybridů Bt kukuřice. Přítomnost delta toxinu v dietě způsobila retardaci růstu housenek. Tři dny po začátku příjmu potravy s delta toxinem byl přírůstek hmotnosti housenek minimální a v následujících dnech poklesal. Po žíru housenek na semisyntetické dietě s pletivy pěti hybridů kukuřice bez genetické modifikace nebyly nalezeny významné odchylky v růstu housenek.

Obsah Cry1Ab proteinu zjištění metodou ELISA v Bt kukuřici se u jednotlivých hybridů pohyboval v rozmezí 2,1 – 7,7 µg/g čerstvé hmoty listů. Byla ověřena schopnost regenerace housenek zavíječe kukuřičného po účinku Bt toxinu. Z pokusu s regenerací housenek zavíječe kukuřičného po předchozí intoxikaci Bt proteiny z jednotlivých hybridů kukuřice se ukazuje, že pro dostatečný účinek Bt toxinu z těchto rostlin na housenky zavíječe kukuřičného není důležitá pouze jeho koncentrace, ale i faktor času. Konečná mortalita housenek krmených pletivy hybridů Bt kukuřice vykazovala 100 %. (Říha, 2003).

Společenstvo hmyzu na kukuřici exprimující Bt-endotoxin

Na testování byla použita Bt-kukuřice MON810 a izogenní kukuřice. Polní pokus byl uskutečněn v roce 2002 v jižních Čechách (300 m n.m.). Nebyly aplikovány žádné insekticidy. Relativně ve velkém počtu se na kukuřici vyskytovali tři skupiny necíleného druhu hmyzu: *Rhopalosiphum padi*, *Mentopolophium dirhodum*, *Franklinella occidentalis*. Tito herbivoři byli konzumováni některými predátory, z kterých převládal *Oriu* sp. Nebyly zjištěny velké rozdíly v složení a výskytě artropodního společenstva na Bt-kukuřici a izogenní kukuřici, až na *Ostrinia nubilalis*, který chyběl na Bt-kukuřici, exprimující Bt-endotoxin Cry1Ab (Habuřtová, 2003).

Společenstva střevlíků (Coleoptera Carabidae) a pavouků (Arachnida) v porostech Bt-kukuřice

Byl zkoumán možný vliv Bt-kukuřice na společenstva epigeického hmyzu a pavouků. Pole o výměře 7,6 ha bylo po vytýčení ochranných zón rozděleno na 10 čtvercových ploch, každá o velikosti půl hektaru. Pět ploch bylo oseto Bt-kukuřicí MON810 a pět isogenní kontrolní kukuřicí. Na každou plochu bylo umístěno 15 zemních pastí s kruhovým otvorem 10 cm. Pasti byly exponovány po dobu přibližně 14 dnů, jednou před výsevem plodiny, čtyřikrát v průběhu vegetační sezóny, a jednou po sklizni.

Celkem bylo v průběhu roku zaznamenáno 6883 kusů střevlíkovitých řadících se ke 40 druhům. Ukázalo se, že přítomnost Bt-toxinu v rostlinách a v odpadu neměla vliv na žádné ze zkoumaných společenstev. Kvantitativní a kvalitativní rozšíření střevlíkovitých i pavouků podléhalo jiným vlivům jako byla vlhkost a kvalita půdy či povaha okolního porostu (Spitzer, 2003).

Účinek Bt-kukuřice na rozkladače a rozklad kukuřičných posklizňových zbytků v laboratorních a půdních podmínkách

Účinek Bt-kukuřice při rozložení posklizňových zbytků na množství dominantních skupin půdní fauny, na mikrobiální biomasu, na mikrobiální respiraci a na složení mikrobiální komunity byl sledován metodou PLFA (phospholipid fatty acid analysis). Pokus probíhal na dvou pokusných pozemcích (poblíž Prahy a Brna). Zasedla se Bt-kukuřice a stejný kultivar netransgenní kukuřice na polovině pozemku jako monokultury a opakovaně se pěstovaly po tři roky. Další výzkum se uskutečnil v laboratorních podmínkách. Do odpadních pytlů byly umístěny kukuřičné posklizňové zbytky Bt-kukuřice a zvláště netransgenní kukuřice a vyrovnané a odpovídající

půdní vzorky z pokusných polí. Byly vystaveny stejným podmínkám po dobu 2 roků. Analýza dat metodou PFLA signalizovala významný rozdíl mezi experimenty v oblasti poblíž Prahy a Brna.

V laboratorním testu byl zjišťován účinek, čerstvě rokládajících se posklizňových zbytků Bt-kukuřice a posklizňových zbytků Bt-kukuřice po 60 dnech, na mikrobiální respiraci a populační růst *Enchytraeus crypticus* (*Oligochaeta*; *Enchytraeidea*). U čerstvě rozkládající se Bt-kukuřice bylo zjištěno značné snížení populačního růstu *E. crypticus* (okolo 30 %), avšak toto snížení již nebylo zjištěno u vzorků rozkládajících se v půdě 60 dnů.

Na závěr, Bt kukuřice může mít škodlivý účinek na rozkladače v laboratoři, ale tento účinek je malého rozsahu, je omezen jen na počáteční fázi rozkladu čerstvé Bt-kukuřice a nezjistitelný v dlouhodobém půdním experimentu (Frouz, 2004).

Ověřování účinnosti Bt-kukuřice na regulaci populace zavíječe kukuřičného ve srovnání s biologickou ochranou pomocí introdukce vaječného endoparazita – vosičky rodu *Trichogramma*

Ve dvou polních pokusech na lokalitách Ruzyně a Ivanovice na Hané byla ověřována účinnost Bt-kukuřice na regulaci populace zavíječe kukuřičného ve srovnání s biologickou ochranou pomocí introdukce vaječného endoparazita – vosičky rodu *Trichogramma*. *Trichogramma* byla aplikována v dávce odpovídající 3 × 100 kapsulí na 1 ha (přípravek Trichocarp) Třetí variantou pokusu byla neošetřovaná kontrola.

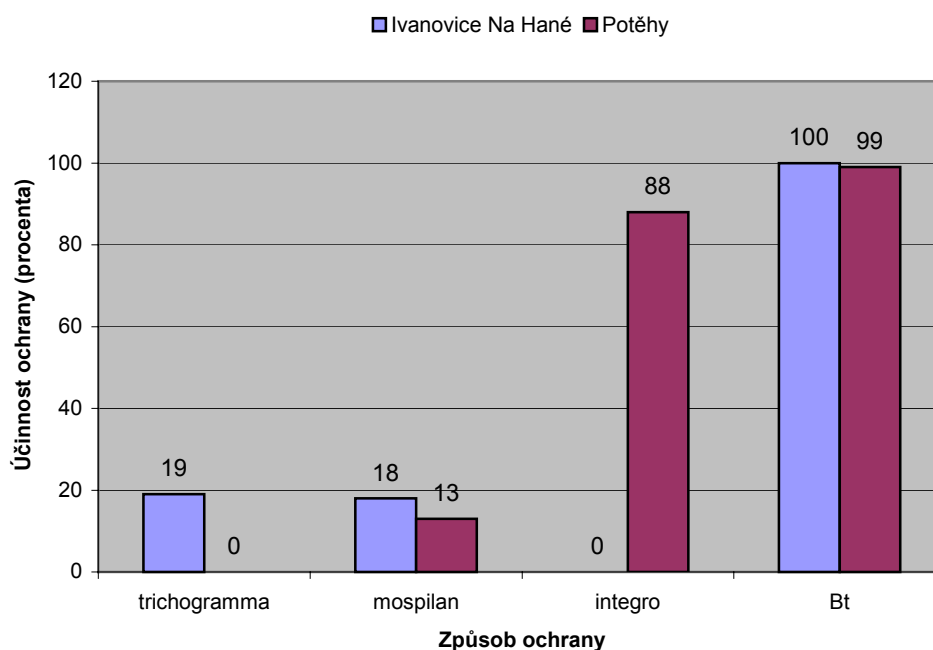
Hodnoceny byli tři hybridy kukuřice: MON810, Monumental (izolinie k Bt-kukuřici), Raissa (běžná lokální odrůda). Podle stupně poškození rostlin byla biologická účinnost Bt-kukuřice na zavíječe kukuřičného 100%, biologická účinnost po aplikování *Trichogrammy* se pohybovala od 35 % do 69 % (dle lokality) ve srovnání s neošetřovanou kontrolou. Výskyt hub rodu *Fusarium* v palicích na Bt-kukuřici nebyl vizuálně zjištěn. Na neošetřované kontrole byl podíl napadených palic na lokalitě Ruzyně u jednotlivých odrůd 2% a 15% a na lokalitě Ivanovice na Hané 27% a 60%. Biologická účinnost *Trichogrammy* na redukci výskytu hub rodu *Fusarium* se pohybovala od 30 % do 66 %. Výnos zrna byl na Bt-kukuřici zvýšen oproti kontrole bez ošetření o 21 % v Ivanovicích a o 28 % v Ruzyni, u porostech ošetřených vosičkou rodu *Trichogramma* byl zvýšen výnos zrna oproti kontrole bez ošetření v Ruzyni o 20 % (Kocourek, 2003).

Porovnání ochrany porostů kukuřice před zavíječem kukuřičným následujícími strategiemi:

- Bt-kukuřice
- Parazitická vosička *Trichogramma*
- Insekticidy: Mospilan, Integro

Polní pokusy byli prováděny na dvou lokalitách v Ivanovicích na Hané a v Potěhách v roce 2005.

Graf 4: Způsoby ochrany proti zavíječi kukuřičnému



Výsledky účinnosti ochrany před napadením rostlin zavíječem kukuřičným jsou zobrazeny v grafu 4. V Ivanovicích na Hané nebyla testována ochrana přípravkem Integro. Jako nejlepší způsob ochrany z testovaných metod, byla vyhodnocena ochrana Bt-kukuřicí MON810 (Kocourek, 2006).

2.7.4. Podmínky při pěstování Bt-kukuřice

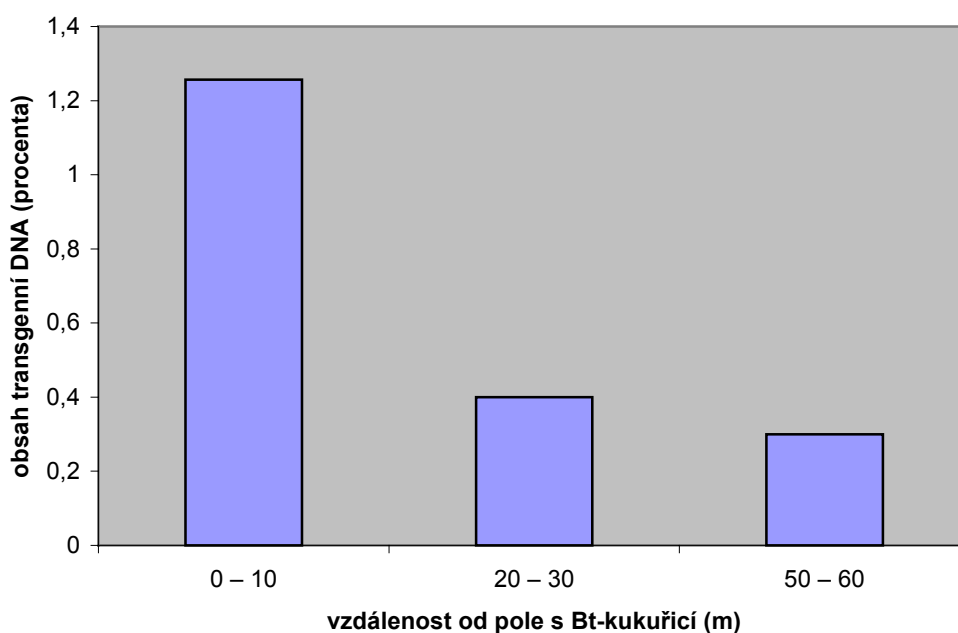
Podmínky za kterých lze pěstovat GM rostliny jsou určeny zákonem č. 441/2005 Sb (v platnosti od 10.11.2005) o zemědělství a vyhlášce č. 89/2006 Sb. Povinnosti pro splnění podmínek pěstování GM kukuřice, dle zákona o zemědělství, se dají rozdělit do několika bodů:

1. Informovat státní správu i sousedního zemědělce 1,5 měsíce před vyšetím (u kukuřice nejpozději do 1. 3.). V informaci musí být uvedeno místo pěstování (k identifikaci může být použito číslo půdního bloku popř. díl půdního bloku), doba plánovaného výsevu a provedení obsevu nemodifikovanou kukuřicí (pokud bude provedeno). Za sousedního zemědělce se považuje osoba hospodařící na pozemku, který je vzdálen od vnější hranice pozemku (bez ohledu na umístění GM kukuřice v rámci pozemku) s plánovanou GM kukuřicí:
 - 70 m – pokud hospodaří klasickým způsobem
 - 200 m – pokud hospodaří v režimu ekologického zemědělství
2. Po zasetí potvrdit tuto skutečnost do 15 dnů sousednímu zemědělci, do 30 dnů ministerstvu zemědělství (místní zemědělské agentuře) a nejpozději do 60 dnů ministerstvu životního prostředí (na základě zákona č. 346/2005 Sb.).
3. Dodržení minimální vzdálenosti od sousedních zemědělců pěstujících tutéž geneticky nemodifikovanou plodinu:
 - 70 m (pokud hospodaří klasickým způsobem) – Vzdálenost se měří vnější hranice pozemku. Může být zredukována použitím obsevu geneticky nemodifikované kukuřice (následně musí být sklizena jako GM kukuřice). Jedna řada obsevu o šíři 0,7 m nahradí 2 m minimální povinné vzdálenosti.
 - 200 m (pokud hospodaří v režimu ekologického zemědělství) – Platí stejná pravidla jak u zemědělce hospodařícím klasickým způsobem, kromě jednoho rozdílu. Obsevem lze nahradit pouze 100 m. Zbylých 100 m musí být dodrženo.
4. Vyznačit místo pěstování je nutné jen tehdy, pokud se na pozemku s GM kukuřicí pěstuje i geneticky nemodifikovaná kukuřice. Dle zákona stačí vyznačit obvod pěstované GM odrůdy v terénu rozpoznatelným způsobem.
5. Označit sklizený produkt jako GMO, včetně identifikačního kódu. Pro Bt-kukuřici linie MON810 je stanoven tento kód: MON-00810-6.
6. Po dobu 5 let uchovat údaje o nakládání s GM kukuřicí (Čeřovská, 2007)

Tato pravidla platí pro všechny GMO (v dohledné době se očekává pěstování brambor a řepy). Jediná změna je u dodržování minimální vzdálenosti dle vyhlášky

č. 89/2006 Sb. od sousedního zemědělce pěstujícího stejnou geneticky nemodifikovanou plodinu. Minimální vzdálenost bude závislá na možnosti šíření pylu z transgenních rostlin (viz graf 5).

**Graf 5: Přenos genu MON 180 do okolní konvenční plochy, průměr ze šesti stano-
višť (Bouma, 2005)**



Rozdílné minimální vzdálenosti u zemědělce hospodařícího klasickým způsobem a u zemědělce hospodařícího v ekologickém režimu jsou dány tolerancí ke GMO. Zemědělci hospodařícími klasickým způsobem je tolerováno 0,9 % příměsi GMO. Zatímco zemědělci hospodařícími v ekologickém režimu je dle zákona č. 242/2000 Sb. o ekologickém zemědělství zakázána jakákoliv přítomnost GMO (Čeřovská 2005).

Pro srovnání u GM brambor je minimální vzdálenost stanovena na 3 m, na počátku i na konci sazené partie nejméně 10 m v šíři sazeče od zemědělce pěstujícího brambory klasickým způsobem a na 20 m od zemědělce pěstujícího brambory v ekologickém režimu (www.mvcr).

2.7.5. První zkušenosti zemědělských podniků s pěstováním Bt-kukuřice

V prvním roce byla Bt-kukuřice zasetá 52 zemědělskými podniky na ploše 270 ha. Nejvíce byla pěstována na pozemcích menších než jeden hektar. Tyto pozemky představovaly z celkového počtu ploch osetých Bt-kukuřicí 59 %. To dokazuje, že až na výjimky se jednalo spíše o pokusné výměry. Což je pochopitelné, pokud uvážíme, že se jednalo o první rok, kdy mohly být získány první zkušenosti s komerčním pěstováním GM plodiny. A to nejen v oblasti pěstitelské, ale i administrativní.

Ministerstvo zemědělství se rozhodlo pro vyhodnocení zkušeností s pěstováním Bt-kukuřice v roce 2005 oslovit formou dotazníku 47 zemědělských podniků (90 % z celkového počtu). Veškeré údaje byly získány dodržením anonymity respondentů. Názory zemědělských podniků se dají rozdělit na klady a zápory pěstování Bt-kukuřice. Nejčastější odpovědi na klady pěstování geneticky modifikované kukuřice byly účinná ochrana proti zavíječi, lepší zdravotní stav rostlin a úspora insekticidů (viz tabulka 1).

Tabulka 2: Klady pěstování geneticky modifikovaných odrůd kukuřice (Kučera, 2006)

Skupina odpovědí	Počet odpovědí	%
Účinná ochrana proti zavíječi	27	41,5 %
Lepší zdravotní stav rostlin	8	12,3 %
Zdravější produkce	2	3,1 %
Lepší kondice porostu	4	6,2 %
Vyšší výnos	7	10,8 %
Úspora insekticidů	8	12,3 %
Nižší zatížení živ. prostředí	1	1,5 %
Úspora práce (monitoring škůdce aj.)	4	6,2 %
Nižší ztráty	4	6,2 %
	65	100,0 %

Lepší zdravotní stav představovalo menší napadení rostlinných pletiv houbovými patogeny (především z rodu *Fusarium*). Na druhou stranu nešlo vyhodnotit výnosy Bt-hybridů jako nejvyšší proti jiným odrůdám kukuřice, protože u většiny pěstitelů nebyl výnos porovnán s konvenčními odrůdami.

Na otázku záporu pěstování geneticky modifikované kukuřice odpovídali nejčastěji respondenti: administrativa spojená s pěstováním GM plodiny (14 odpovědí) a vysoká cena osiva (5 odpovědí). V jednom případě došlo pod tlakem odběratelů k zaorání GM kukuřice.

V roce 2006 byla Bt kukuřice zasetá 85 zemědělskými subjekty na ploše 1290 ha. Z předešlého roku opětovně zaseto Bt-kukuřici 24 zemědělských subjektů. Oproti předcházejícímu roku již nebyla Bt-kukuřice nečastěji pěstována na pozemcích o výměře menších než 1 ha. Zvýšení celkové oseté plochy oproti předcházejícímu roku bylo způsobeno pozitivní zkušeností s předcházejícího roku a rozšířením sortimentu odrůd Bt-kukuřice MON810.

3. Cíl bakalářské práce

Tato bakalářská práce může být z pohledu zaměření rozdělena na dvě části, sledující jeden cíl. A sice na část teoretickou a část praktickou. Teoretická část se po úvodním stručném seznámení s nakládáním s GMO, zaměří na pěstování geneticky modifikované Bt-kukuřice v členských státech EU a především v České republice.

V praktické části je porovnán hybrid Bt-kukuřice DKC 4442 YG s hybridem geneticky nemodifikované kukuřice DKC 3511. V porostech bude zjištěno napadení porostů zavíječem kukuřičným. Porovnávání bude zaměřeno na výnos (HTZ, vlhkost zrna při sklizni a výnos při 14% vlhkosti) a napadení palic houbovými patogeny. Na základě výsledku a i ze zkušeností z předcházejícího roku bude zhodnocen přínos Bt-kukuřice pro zemědělskou výrobu.

3.1. Metodika pokusu

Výskyt zavíječe kukuřičného a napadení palic houbovými patogeny porostu kukuřice byl sledován dne 28. 8. 2006 v růstové fázi porostu BBCH 85. Pozemek byl oset 6,07 ha DKC 4442 YG, zbývající výměra 94,77 ha osetá DKC 3511. Hodnocení byly podrobeny tyto dvě odrůdy. Kontrola byla provedena makroskopicky u 100 rostlin pro každý porovnávaný hybrid.

Pozemek osetý hybridem DKC 4442 YG měl tvar obdélníku o rozměrech 100 × 600 m, z čehož vychází výběr kontrolních míst, které bylo stanoveno následně. Sledování bylo provedeno napříč pozemkem v úhlopříčném směru a v každém 11. řádku u 10 kontrolních jedinců v řadě za sebou. Takto se prošel celý pozemek a bylo provedeno 10 pozorování.

Napadení rostliny zavíječem kukuřičným je charakterizováno otvorem o velikosti 2 – 4 mm, v okolí otvorů i v úžlabí listů nacházíme drť z požeru. Při vyšším napadení dojde až ke zlomení stonku. Napadení palic houbovými patogeny bylo sledováno zároveň. Projevuje se výskytem mikromycet na zrnech.

Po vytýčení obdobného pozemku pro hybrid DKC 3511 v těsné blízkosti pozemku osetého DKC 4442 YG bylo sledování provedeno stejnou metodou. Pro stanovení výnosu zrna byl proveden vstup do porostu den před sklizní v růstové fázi

porostu 89 BBCH (9. 11. 2006). Metoda odběru vzorků je stejná jako při kontrole napadení zavíječem a patogeny pouze s rozdílem počtu míst a odebraných vzorků. Odběrové místo bylo na každém 27. řádku. Vzorek obsahoval veškerá zrna z palic ze 7 rostlin, která byla odebrána na ploše 1 m². Z každé palice byly zjišťovány tyto hodnoty: hmotnost palice, počet zrn v palici a jejich hmotnost. Z těchto údajů byl vypočten výsledný výnos.

3.2. Půdní a pěstitelské podmínky

Kukuřice DKC 3511 a DKC 4442 YG byly zasety do písčitohlinité půdy. Podle půdních rozborů provedených na podzim 2005, je půdní pH 7,4. Kukuřice nebyla na těchto pozemcích pěstována již tři roky. Předplodinou byla hořčice bílá (*Sinapis alba*), zaseta 26. 9. 2005. Přes zimu vymrzla. Podnik praktikuje tzv. bezorební hospodaření. Hnojení (DAM) bylo aplikováno 22. 4. 2006 v dávce 75 kg N/ha. Výsev hybridů kukuřice DKC 3511 a DKC 4442 YG byl uskutečněn 28. 4. 2006 na ploše:

- DKC 3511: 94,77 ha
- DKC 4442 YG: 6,07 ha

Výsevek činil 74 080 zrn/ha, při sponu řádků 0,75 m × 0,18 m. Při setí se provedlo přihnojování (Amofos, močovina) pod patu v dávce 29 kg N a 26 kg P/ha. Dne 11. 5. 2006 byly aplikovány herbicidy (Guardian Safx Max a Clic). Poslední zásah do vegetace proběhl 15. 6. 2006 plečkováním a přihnojením (DAM) v dávce 30 kg N/ha.

3.3. Průběh počasí od zasetí do sklizně

Pozemek se nachází v kukuřičné výrobní oblasti (KVO), v nadmořské výšce 350 m nad mořem.

Tabulka 3: Srážkové a teplotní podmínky od zasetí do sklizně v jednotlivých měsících dle údajů získaných ze Zemědělského družstva

Měsíc	Počet dešťových dnů	Celkové množství srážek (mm)	Průměrná denní teplota ve 14 ⁰⁰ hod. (°C)
Duben	9	34	15,5
Květen	9	81	20,2
Červen	11	97	24,0
Červenec	6	35	28,7
Srpen	13	132	21,5
Září	2	7	22,9
Říjen	4	11	17,2
Listopad ³	1	2	10,8

3.4. Charakteristika porovnávaných kukuřičných hybridů

3.4.1. DKC 4442 YG

Ranost: středně ranný zrnový hybrid – zrno FAO 350, siláž FAO 350

Typ hybridu: dvouliniový

Typ zrna: mezityp

Bez mimořádných nároků na lokalitu, tolerující i vyšší výsevky. Doporučený výsevek při pěstování na zrno (zrn/ha):

- 75 000 (vysoká intenzita pěstování, dobré vláhové podmínky)
- 65 000 (střední intenzita pěstování, horší vláhové podmínky)

Hybrid odolný vůči zavíječi kukuřičnému – Bt verze. Předností hybridu je vysoký stabilní výnos zrna i za méně příznivých podmínek a rychlé uvolňování vody ze zrna v procesu dozrávání. Vhodnou oblastí pro pěstování je kukuřičná výrobní oblast a teplá řepařská výrobní oblast (www.dekalb1).

³ Pouze do 10. 11.

3.4.2. DKC 3511

Ranost: ranný hybrid – zrno FAO 300, siláž FAO 300

Typ hybridu: dvouliniový

Typ zrna: koňský zub

Bez mimořádných nároků na lokalitu. Doporučený výsevek při pěstování na zrno (zrn/ha):

- 75 000 (vysoká intenzita, dobré vláhové podmínky)
- 70 000 (střední intenzita, horší vláhové podmínky)

Výkonný hybrid, který svým potenciálem překonává i pozdnější hybridy. Je určen pro pěstitele, kteří chtějí dosáhnout vysokého výnosu při intenzivních podmínkách, tolerující i suché podmínky. Vhodnou oblastí pro pěstování je kukuřičná výrobní oblast a teplá řepařská oblast (www.dekalb2).

3.5. *Detekce transgenů v Bt-kukuřici*

Pro stanovení přítomnosti určitého genu nebo transgenů se využívá zejména tzv. PCR (polymerázová řetězová reakce), která umožňuje pomnožit specificky část sledovaného genu. Pokud je sledovaný gen přítomen dojde k namnožení kopií vybraného úseku. Tyto kopie pak lze identifikovat pomocí elektroforézy (Ovesná 2005).

Zatím je omezený počet transgenů a na jednotlivé typy transgenů existují specifické testy (s použitím specifických dvojic oligonukleotidů a při dodržení specifické metodiky), z nichž zatím jen některé jsou standartizované v zemích EU a průběžně se doplňují (Ondřej a Drobník, 2002). Přítomnost transgenů v GM kukuřici DKC 4442 YG a netransgenů DKC 3511 jsem testoval na zrnech odebraných při sklizni.

3.5.1. Izolace rostlinné DNA

Izolace kukuřičné DNA byla provedena metodou CTAB – modifikovaný Williams a Rogers (Nováková 2007). Pro izolaci byly připraveny od každého kukuřič-

ného hybridu dva vzorky (viz tabulka 2), byly připraveny naklíčením zrna. K následné izolaci byl odebrán apikální meristém klíčku.

Tabulka 4: Vzorky z izolované kukuřičné DNA

Vzorek č.	Název vzorku	Kukuřičný hybrid	Způsob přípravy vzorku pro izolaci
1	G	DKC 4442 YG	naklíčením zrna
2	GM	DKC 4442 YG	naklíčením zrna
3	N*	DKC 3511	naklíčením zrna
4	S	DKC 3511	naklíčením zrna

3.5.2. PCR

Polymerázová řetězová reakce (PCR) je relativně jednoduchá, ale velmi efektivní metoda detekce malého množství DNA sekvence. Tato technika umožňuje exponenciální namnožení DNA in vitro, které je založeno na unikátních vlastnostech termostabilní Taq-DNA-polymerasou. Rozpoznání specificky krátkých oligonukleotidů (primerů) hybridizovaných na jednořetězcové cílové DNA vede k následné polymerizaci DNA a selektivnímu namnožení již dříve známých fragmentů DNA (Heller, 2003).

V PCR se v závislosti na teplotě reakční směsi pravidelně střídají tři cykly: denaturace dvou vláknové DNA, připojení primerů k odděleným vláknům DNA, syntéza nové dvou vláknové DNA prostřednictvím DNA-polymerázy.

Při metodě PCR byl použit Kit pro kvalitativní identifikaci YieldGardTM-Mon810 kukuřice (GeneScan, 2002). Reakční složky PCR:

- mastermix ... 20 µl (PREMaster ... 19,9 µl, Taq polymerasa ... 0,1 µl)
- vyizolovaná DNA ... 5 µl

PCR proběhla v termocyklu, ve kterém se střídaly tyto teplotní a časové cykly:

1. denaturace DNA (94 °C, 10 min)
2. denaturace DNA (94 °C, 25 sek)
3. připojení primerů (62 °C, 30 sek)
4. syntéza nové DNA (72 °C, 45 sek)

Cykly 2., 3., a 4. se pravidelně opakovaly (50krát)

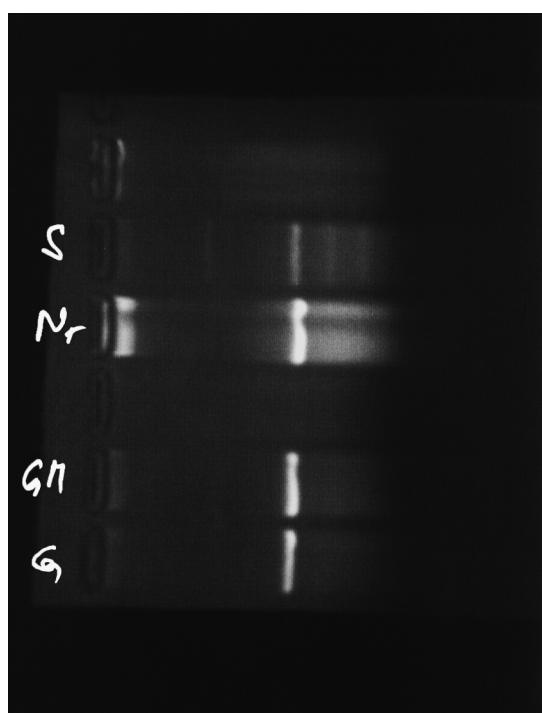
5. syntéza nové DNA (72 °C, 3 min)
6. uchování reakční směsi při 4 °C přes noc

3.5.3. Elektroforéza

Elektroforéza patří v molekulární biologii k nejpoužívanějším separačním technikám při izolaci a analýze nukleových kyselin a bílkovin. Principem elektroforetické separace je pohyb nabitých molekul v elektrickém poli. Hlavním nositelem náboje nukleových kyselin jsou negativně nabitě fosfátové skupiny, a proto se nukleové kyseliny v elektrickém poli pohybují k opačně nabitě elektrodě – anodě (Šmarda, 2005).

Elektroforéza proběhla na agarózovém gelovém nosič ve vertikální poloze. Pro zviditelnění separovaných molekul DNA bylo použito obarvení etidiumbromidem. Etidiumbromid po osvětlení ultrafialovým světlem červeně fluoreskoval a to bylo fotograficky zaznamenáno (viz obr. 1).

Obr. 1: Výsledek detekce přítomnosti transgenu



S = DKC 3511
Nr = DKC 3511
GM = DKC 4442 YG
G = DKC 4442 YG

3.5.4. Vyhodnocení výsledků detekce transgenů

Z výsledků detekce vyplývá, že transgen (gen pro insekticidní protein Cry 1A(b) pro geneticky modifikovanou kukuřici, linie MON 810, byl identifikován metodou PCR ve všech vzorcích připravených k izolaci DNA a to jak u geneticky modifikovaného kukuřičného hybridu DKC 4442 YG, tak i u vzorků z geneticky nemodifikované kukuřice DKC 3511.

Vzorek kukuřičného hybridu DKC 3511 nazvaný N* byl při izolaci kontaminován vzorkem z kukuřičného hybridu DKC 4442 YG. U vzorku S je možné přítomnost transgenů zdůvodnit možnou záměnou semen při odběru anebo taktéž kontaminací při izolaci DNA.

Na základě výsledků získaných testovacím kitem pro kukuřici MON 810, od firmy GeneScan, lze potvrdit přítomnost transgenů v kukuřičném hybridu DKC 4442 YG, což bylo cílem detekce transgenů.

4. Výsledky

Hodnoty z 42 odebraných kukuřičných palic pro stanovení výnosu jsou zaznamenány do tabulek č. 6 a 7 V tabulce č. 6 jsou hodnoty získané z 21 palic kukuřičného hybridu DKC 4442 YG a v tabulce č. 7 hodnoty z 21 palic kukuřičného hybridu DKC 3511. Z těchto odebraných vzorků byly získány tyto výsledky (viz graf 6): hmotnost tisíce zrn, vlhkost zrna z odebraných palic a výnos při 14% vlhkosti zrna (t/ha). Hmotnost tisíce zrn (HTZ) byla vypočtena, u obou hybridů, tímto vzorcem:

$$(a / b) \times 1000$$

a = celková hmotnost zrna (g) z 21 palic

b = celkový počet zrn z 21 palic

Vlhkost zrna, získaného z palic, byla zjištěna měřicím přístrojem AGRICOMPUTER – RDS-MK 2. Ze tří ploch, kde z každé bylo odebráno 7 rostlin, bylo provedeno 1 měření. Z těchto tří měření se získala průměrná vlhkost zrna zaokrouhlená na 1 desetinné místo. Ze zrn odebraných z kukuřičného hybridu DKC 4442 YG se naměřila vlhkost (viz. Tabulka 5).

Tabulka 5: Zjištěná vlhkost zrna z odebraných vzorků

Zrna z hybridu	1. měření	2. měření	3. měření	Průměrná vlhkost zrna
DKC 4442	22,1	22,1	22,4	22,2
DKC 3511	21,3	21,4	21,7	21,5

Celkový výnos (t/ha) se získal použitím vzorce:

$$(a \times b \times c) / 1000$$

a = hmotnost 1 zrna (g) (průměr z 21 palic)

b = počet zrn v palici (průměr z 21 palic)

c = počet rostlin na hektar (výsevek 74 080)

Pro porovnání výnosu hybridů DKC 3511 a DKC 4442 YG byly oba výnosy přepočteny na standardní 14% vlhkost.

Napadení porostů zavíječem kukuřičným a napadení palic houbovými chorobami jsou zaznamenána v tabulce č. 8. Výsledky z napadení porostů porovnávaných kukuřičných hybridů zapsané v tabulce č. 8 jsou vyhodnoceny v grafu 7.

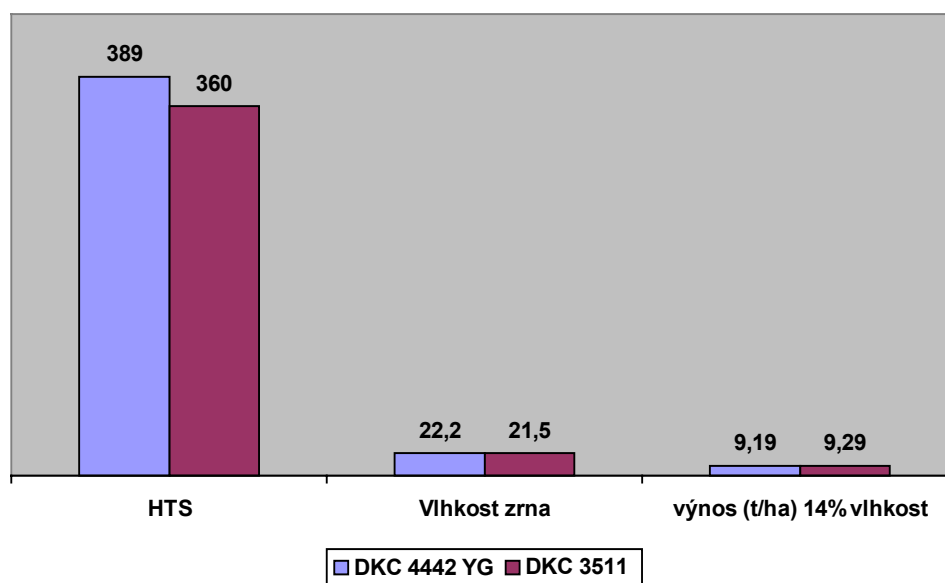
Tabulka 6: Hodnoty odebrané z 21 palic hybridu DKC 4442 YG, určené ke stanovení výnosu zrna

Vzorek č.	Hmotnost palice (g)	Počet zrn v palici	Hmotnost zrna (g)
1	257	578	216
2	175	418	150
3	245	518	210
4	150	359	121
5	179	410	149
6	215	513	185
7	180	411	150
8	295	625	250
9	198	421	168
10	223	492	190
11	180	442	155
12	249	543	212
13	241	510	209
14	183	381	156
15	241	556	205
16	286	610	243
17	267	522	226
18	219	499	184
19	285	552	242
20	317	608	270
21	265	597	223
Průměr	230,95	503,09	195,90

Tabulka 7: Hodnoty odebrané z 21 palic hybridu DKC 3511 určené ke stanovení výnosu zrna

Vzorek č.	Hmotnost palice (g)	Počet zrn v palici	Hmotnost zrn (g)
1	231	535	198
2	224	554	193
3	213	563	176
4	157	449	132
5	218	496	182
6	248	572	208
7	222	560	185
8	182	414	155
9	241	547	207
10	236	495	195
11	238	600	200
12	194	444	163
13	213	541	184
14	255	581	223
15	205	495	177
16	283	665	243
17	161	432	133
18	266	634	230
19	223	472	188
20	285	608	241
21	277	579	233
Průměr	227,23	535,04	192,66

Graf 6: Vyhodnocení výnosu

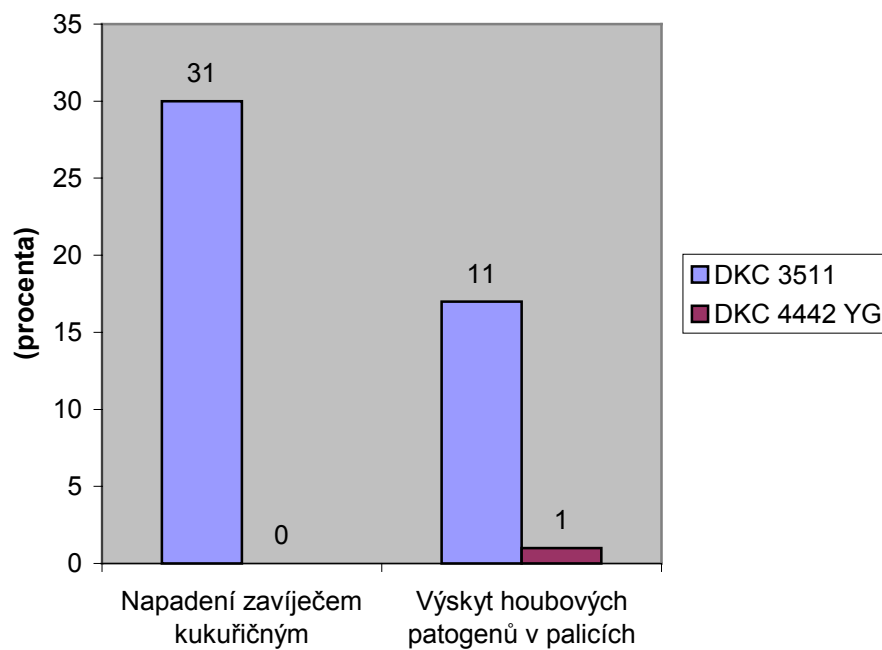


Tabulka 8: Napadení porostů hybridů DKC 3511 a DKC 4442 JG zavíječem kukuřičným a výskyt houbových patogenů v palicích

Pozorování č. ⁴	DKC 3511		DKC 4442 JG	
	Napadení rostlin zavíječem kukuřičným (ks)	Výskyt houbových patogenů v palicích (ks)	Napadení rostlin zavíječem kukuřičným (ks)	Výskyt houbových patogenů v palicích (ks)
1	4	1	0	0
2	5	3	0	0
3	2	0	0	0
4	2	1	0	0
5	2	0	0	0
6	3	1	0	1
7	3	1	0	0
8	5	2	0	0
9	2	0	0	0
10	3	2	0	0

⁴ U každého pozorování bylo sledováno 10 rostlin

Graf 7: Napadení porostů zavíječem kukuřičným a výskyt houbových patogenů v palicích



5. Diskuse

5.1. Vyhodnocení dosaženého výnosu zrna

Porovnáním výsledků z odebraných palic kukuřičných hybridů DKC 3511 a DKC 4442 YG (z plochy 1 ha) byl zjištěn, při 14% vlhkosti, vyšší výnos u geneticky nemodifikovaného hybridu DKC 3511. Rozdíl ve výnosu činil pouze 0,10 t/ha (1 %). Z údajů o sklizni, získanými ze ZD kde byly oba porovnávané hybridy pěstovány, vyplývá, že výnosy i rozdíl byly vyšší. Průměrný hektarový výnos zrna při 14% vlhkosti zrna u porovnávaných hybridů dosáhl:

- DKC 3511 (pěstovaný na ploše 94,77 ha)..... 9,65 t/ha
- DKC 4442 YG (pěstovaný na ploše 6,07 ha) 9,25 t/ha

V tomto případě byl rozdíl v celkovém výnosu zrna 0,4 t (4 %) ve prospěch hybridu DKC 3511. V České republice činil za posledních pět let nejvyšší výnos (celorepublikový průměr) kukuřice pěstované na zrno 8,73 t/ha (v roce 2002) (Kůst, 2006). Pokud porovnáme dosažený výnos zrna obou hybridů, s průměrnými celorepublikovými výnosy, můžeme je z tohoto hlediska považovat za nadprůměrné výnosy.

V roce 2006 v poloprovozním pokusu hybridů DEKALB v lokalitě Mikulov dosáhli naše pokusné hybridy při 14% zrna těchto výnosů: DKC 3511 – 10,40 t/ha a DKC 4442 YG – 11,53 t/ha. Na základě těchto výsledků z lokality Mikulov, ale i řady dalších lokalit je zřejmé, že oba hybridy jsou schopny dosáhnout i vyšších výnosů (www.dekalb3).

Námi zjištěný výsledek při porovnávání výnosů pokusných hybridů DKC 3511 a DKC 4442 YG lze zdůvodnit tvrzením, které je uvedeno v této bakalářské práci v Charakteristice kukuřičného hybridu DKC 3511. Kde je popsán jako ranný hybrid překonávající svým potencionálem i pozdnější hybridy a dosahující vysokého výnosu i v suchých podmínkách. Podle množství srážek zaznamenaných podnikem panovaly v této oblasti suché podmínky.

Na základě našeho výsledku nelze vyhodnotit výnosy Bt-hybridů jako nejvyšší v porovnání s ostatními hybridy.

5.2. Napadení porostu zavíječem kukuřičným a palic houbovými patogeny

Pole se nachází v teplé oblasti jižní Moravy, kde je zavíječ kukuřičný velmi rozšířen. Porost DKC 3511 nebyl proti zavíječi kukuřičnému ošetřen. Na pokusném poli bylo zaznamenáno 31% napadení porostu DKC 3511 zavíječem kukuřičným. Na výskyt zavíječe kukuřičného v našem porostu, mohlo mít vliv suché počasí. Suché počasí způsobuje vyšší mortalitu mladých housenek a jejich výskyt i škodlivé působení je nižší (Ruprich 2007).

V porostu DKC 4442 YG nebylo zaznamenáno napadení rostlin zavíječem kukuřičným. Tento kukuřičný Bt-hybrid prokázal 100% biologicky účinnou ochranu porostu před zavíječem kukuřičným. Jak je zřejmé z výsledků zaměřených na výskyt houbových patogenů v palici, je rozdíl ve výskytu vysoký. I z ostatních dosavadních výsledků se ukazuje, že „Účinná ochrana kukuřice proti zavíječi kukuřičnému = účinná prevence výskytu mykotoxinů v kukuřičných produktech“ (Kocourek 2006).

Nejvíce zastoupeným houbovým patogenem v kukuřičné palici je druh *Fusarium*. Houby z rodu *Fusarium* produkují škodlivé mykotoxiny. Tyto mykotoxiny mají negativní vliv na přírůstky či plodnost hospodářských zvířat. Některé z těchto mykotoxinů mohou být potencionálními karcinogeny.

6. Závěr

Z výsledků získanými při porovnávání kukuřičných hybridů DKC 3511 a DKC 4442 YG můžeme zhodnotit přínos Bt-kukuřice. Z dosaženého výsledku lze tvrdit, že pěstování Bt-kukuřice nezaručí nejvyšší výnosy. Na výsledný výnos Bt-hybridu má vliv genetický potenciál odrůd a pěstitelské podmínky.

Z výsledku práce vyplývá, že hlavní přínos Bt-kukuřice pro producenty a konzumenty je v produkci zdravých potravin a krmiv, jelikož výskyt mykotoxinů z houbových patogenů v zrna je ovlivněn napadením porostů zavíječem kukuřičným. V této době je Bt-kukuřice nejúčinnějším způsobem ochrany porostu před zavíječem kukuřičným (Kocourek, 2006). Výše uvedené však platí pouze v případě, že rostliny s vloženým genem pro insekticidní protein Cry1A(b) považujeme na základě výsledků z provedených výzkumů za zdravotně nezávadné.

Ačkoliv nežádoucí účinky Bt-kukuřice na ekosystém nelze zcela vyloučit, z dosavadních výsledků výzkumů vyplývá, že jsou srovnatelné nebo i menší než účinky jiných zemědělských postupů. Dalším možným rizikem spojeným s velkoplošným pěstováním Bt-kukuřice je vznik rezistentní populace zavíječe kukuřičného na insekticidní protein Cry 1A(b). Po dvouletém pěstování nebyla tato rezistentní populace zavíječe kukuřičného zjištěna.

Na základě pozitivních výsledků z pěstováním Bt-kukuřice v roce 2006, zaseje v tomto roce ZD kde náš výzkum probíhal Bt-kukuřici na více než 30 ha.

Přílohy

Obr. 2: Napadení porostu zavíječem kukuřičným (DKC 3511)



Obr. 3: Porost DKC 4442 YG před sklizní



Obr. 4: Palice nenapadená houbovými patogeny (DKC 4442 YG)



Obr. 5: Palice napadená houbovými patogeny DKC 3511



Seznam použité literatury

Literatura

Bouma, D.: Dvacet metrů stačí. Úroda, 2005, č. 1, ISSN 0139-6013

Custers, R.; Vlieger, E. De; Stoops, S.; Gysel, A. Van; Verleyen, B.: Průvodce biotechnologiemi. Biotechnologie v zemědělství a potravinářství. ACADEMIA Praha, 2006, str. 70, ISBN 80-200-1350-4

Čeřovská, M.: Pěstování geneticky modifikované kukuřice v ČR má svá pravidla. Agro, 2005, č. 6, str. 61

Čeřovská, M.: Povinnosti pěstitelů geneticky modifikované kukuřice. Jaké povinnosti čekají na zemědělce, kteří se v letošním roce rozhodnou zasít GM kukuřici. Agromanuál, 2006, č. 2, str. 48, ISSN 1801-4895

Diviš, J.; a kolektiv: Pěstování rostlin (Učební texty pro obor provozní podnikatel a pozemkové úpravy a převody nemovitostí). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 2000, ISBN 80-7040-456-6

Frouz, J.; Elhottová, D.; Kocourek, J.: The effect of Bt-corn on decomposers and decomposition rates of corn post-harvest residues under laboratory and field conditions. XIVth International Colloquium on Soil Zoology and Ecology. Abstracts book, University of Rouen – Mont Saint Aignan, France, 2004, str. 195

GeneScan: GMO/ident YieldGardTMMon810. Test Kit for the qualitative identification of YieldGardTMMon810 corn. GeneScan Analytics GmbH, Deutschland, 2002

Habuštová, O.; Sehnal, F.; Hussein H.: Společenství hmyzu na kukurici exprimující Bt-endotoxin (Insect communities on maize expressing a Bt-endotoxin). XVI. Slovenská a Česká Konferencia o ochrane rastlín. Zborník abstraktov. Nitra, 2003, str. 174

Heller, K. J.: Genetically Engineered Food. Methods and Detection. Litges & Dopf Buchbinderei GmbH, Heppenheim, 2003, str. 159, ISBN 3-527-30309-X

Kalač, P.: Organická chemie (Základní část). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 19996, ISBN 80-7040-180-X

Kocourek, F.; Říha, K.: Transgenní kukuřice a parazitoid Trichogramma – dvě strategie ochrany vůči zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*) (Transgenie maize and the parasitoid Trichogramma – two strategies of plant protection against European corn borer (*Ostrinia nubilalis*).). XVI. Slovenská a Česká Konferencia o ochrane rastlín. Zborník abstraktov. Nitra, 2003,

Nelson, G. C.: Genetically Modified Organisms in Agriculture. Economics and Politics, ACADEMIC PRESS, 2001, str. 99-129, ISBN 0-12-515422-4

Nováková, A.; Čurn, V.: Izolace rostlinné DNA pomocí CTAB (modifikovaný Williams a Rogers) – hlavně pro brambory. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 2007, nepublikovaný zdroj

Ondřej, M.; Drobník, J.: Transgenoze rostlin, ACADEMIA, 2002, str. 116-123, ISBN 80-200-0958-2

Ondřej, M.; Drobník, J.; Gartland, K. M. A.; Gartland, J. S.: Genové inženýrství rostlin. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 1999, str.46, ISBN 80-7080-370-3

Petr, J.: Geneticky modifikované rostliny (1. část). Úroda, 2005, č. 1, ISSN 0139-6013

Petr, J.: Geneticky modifikovaný brambor na cestě. Úroda, 2007, č. 1, str. 62, ISSN 0139-6013

Poppy, G. M.; Wilkinson, M. J.: Gene Flow from GM Plants. Blackwell Publishing Ltd, 2005, ISBN 1-4051-2237-4

Řehout, V.: Genetika II. Biotechnologie GMO a transgenoze. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 2005, str. 143-146, ISBN 80 70-40-774-3

Říha, K.; Kocourek, F.: Hodnocení rezistence Bt-kukuřice vůči zavíječi kukuřičnému (Ostrinia nubilalis) (Sioassay forevaluation of resistance of Bt-maize to european corn borer, Ostrinia nubilalis).). XVI. Slovenská a Česká Konferencia o ochrane rastlín. Zborník abstraktov. Nitra, 2003,

Říha, K.: Geneticky modifikované organismy – výroba potravin a krmiv. Krmivářství, 2006, č. 3, str. 12, ISSN 1212-9992

Spitzer, L.; Růžička, V.; Hussein, H. M.; Sehnal, F.; Habuštová, O.: Společenstva střevlíků (Coleoptera Carabidae) a pavouků (Arachnida) na polích s geneticky modifikovanou a kontrolní kukuřicí (Communities of carabid beetles and spiders on fields of a Bt and control maize). XVI. Slovenská a Česká Konferencia o ochrane rastlín. Zborník abstraktov. Nitra, 2003, str. 221

Šmarda, J.; Doškař, J.; Pantůček, R.; Růžičková, V.; Koptíková, J.: Metody molekulární biologie. Masarykova univerzita v Brně, 2005, str.13, ISBN 80-210-3841-1

Špička, J.: Biochemie. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Zemědělská fakulta, 2004, ISBN 80-7040-683-6

Internet

Kadlec, J.: Možné negativní a pozitivní důsledky zařazování geneticky modifikovaných organismů do výživy hospodářských zvířat a člověka. [online], Jihočeská univerzita Zemědělská fakulta, 2003, [cit. 21. 2. 2007], dostupný z WWW:

http://www2.zf.jcu.cz/public/departments/koz/studiu/předměty/genetika_02/gmo/studie.pdf

www.dekalb1: DKC 4442. [online], Monsanto, 2003, [cit. 2. 3. 2007], dostupný z WWW: <http://www.dekalb.cz/dkc4442yg.html>

www.dekalb2: DKC3511. [online], Monsanto, 2003, [cit. 2. 3. 2007], dostupný z WWW: <http://www.dekalb.cz/dkc3511.html>

www.dekalb3: Výnosy ze sklizni 2006. [online], Monsanto, 2003, [cit. 2. 4. 2007], dostupný z WWW: <http://www.dekalb.cz/vynosyzesklizni2006.html>

www.env: Rozhodnutí MŽP – kukuřice MON810 – uvádění do oběhu. [online], Ministerstvo životního prostředí odbor environmentálních rizik, 2003, [cit. 15. 3. 2007], dostupný z WWW: <http://www.env.cz/www/gmo.nsf/main?OpenFrameSet>

Kocourek, F.: Přínosy a rizika pěstování Bt plodin. Metody hodnocení přínosů a rizik a výsledky výzkumu. [online], Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha Ruzyně, 2006, [cit. 15. 3. 2007], dostupný z WWW: [http://www.env.cz/AIS/webpub.nsf/\\$pid/MZPMVFHODSVZ/\\$FILE/oer-prinosy_rizika_GMO-20061107.pdf](http://www.env.cz/AIS/webpub.nsf/$pid/MZPMVFHODSVZ/$FILE/oer-prinosy_rizika_GMO-20061107.pdf)

Kučera, L.; Čeřovská, M.: Geneticky modifikované organismy. První české zkušenosti s GMO. [online], Sborník přednášek ze semináře pořádaného Ministerstvem zemědělství ČR a Českou zemědělskou univerzitou v Praze, 2006, [cit. 3. 4. 2007], dostupný z WWW:

<http://www.mze.cz/Index.aspx?typ=2&ch=75&ids=2726&val=2726>

Kůst, F.; Adamec, J.: Situační výhledová zpráva obiloviny. [online], Odbor rostlinné výroby MzeČR, 2006, [cit. 3. 4. 2007], dostupný z WWW:

http://81.0.228.70/attachments/OBILOVINY_11_2006.pdf

Rotrekl, J.: Zavíječ kukuřičný (*Ostrinia nubilalis*) na kukuřici a ochrana proti němu [online], Výzkumný ústav pícninářský spol. s r. o. Troubsko, 2006, [cit. 20. 3. 2007], dostupný z WWW: http://www.vupt.cz/file/rot_06_11.pdf

Ruprich, J.: Geneticky modifikované organismy. Transgenní organizmy využívané jako potraviny. [online], Sborník přednášek ze semináře pořádaného Ministerstvem zemědělství ČR a Českou zemědělskou univerzitou v Praze, 2006, [cit. 28. 2. 2007], dostupný z WWW:

<http://www.mze.cz/Index.aspx?typ=2&ch=75&ids=2726&val=2726>

www.isaaa: ISAAA Brief 35-2006: Executive Summary Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops:2006. [online], ISAAA, 2007, [cit. 15. 2. 2007], dostupný z WWW:

<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/35/executivesummary/default.html>

www.mvcr: Sbirka zákonů č. 89/2006. Vzdálenosti a rozsah obsetí stanovené pro jednotlivé plodiny při pěstování geneticky modifikované odrůdy. [online], Ministerstvo vnitra České republiky, 2006, [cit. 3. 4. 2007], dostupný z WWW:
<http://web.mvcr.cz/sbirka/2006/sb032-06.pdf>

Landa, Z.: Klasifikace *B. thuringiensis* pomocí Cry proteinů. [online], Jihočeská univerzita Zemědělská fakulta, [cit. 15. 2. 2007], dostupný z WWW:
<http://home.zf.jcu.cz/public/departments/krv/rostlin/vyuka/pp/biopreparaty1/sld012.htm>

www.biodiv: Cartagena Protocol on Biosafety (Montreal, 29 January 2000). Status of Ratification and Entry Into Force. [online], biodiv, 2007, [cit. 2. 4. 2007], dostupný z WWW: <http://www.biodiv.org/biosafety/signinglist.aspx?sts=rtf&ord=dt>

www.env1: Zákon č. 78/2004Sb. Zákon o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty. [online], Ministersvo životního prostředí České republiky, [cit. 1. 2. 2007], dostupný z WWW:
<http://www.env.cz/www/platnalegislativa.nsf/d79c09c54250df0dc1256e8900296e32/538509b51d97a94fc125690b00263a23?OpenDocument>

www.env2: Registr uživatelů geneticky modifikovaných organismů (§ 22 odst. 5, 6, 8). [online], Ministersvo životního prostředí České republiky, [cit. 20. 2. 2007], dostupný z WWW:
http://www.env.cz/_C1256E7F0041C8C2.nsf/gmo-closed?OpenView

www.env3: Registr povolených GMO – uvádění do ŽP. [online], Ministersvo životního prostředí České republiky, [cit. 20. 2. 2007], dostupný z WWW:
http://www.env.cz/_C1256E7F0041C8C2.nsf/gmo-pub-env?OpenView

www.transgen: Gentechnisch veränderte Pflanzen: Anbauflächen weltweit. Soja. [online], TransGen, 2007, [cit. 20. 2. 2007], dostupný z WWW:
<http://www.transgen.de/gentechnik/pflanzenanbau/201.doku.html>.