

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA LESNICKÉ GENETIKY A FYZIOLOGIE



**Výhody a rizika využití geneticky modifikovaných
lesních dřevin v České republice**

**Benefits and risks of using genetically modified forest
trees in the Czech Republic**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vedoucí práce: prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc., Ph.D.

Vypracovala: Miroslava Malyk

© 2024 ČZU v Praze

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Myroslava Malýk

Aplikovaná ekologie

Název práce

Výhody a rizika využití geneticky modifikovaných lesních dřevin v České republice

Název anglicky

Benefits and risks of using genetically modified forest trees in the Czech Republic

Cíle práce

Cílem práce je podat podrobnější informaci o možnostech využití geneticky modifikovaných lesních dřevin v podmínkách ČR.

Metodika

Práce bude rozdělena do následujících částí: (1) historie a využití GMO v zemědělství a lesnictví, (2) metody genového inženýrství – od prvních pokusů až k moderní editaci genomu, (3) legislativní regulace v EU (direktiv 2009/41/EC) a další předpisy, (4) výhody a rizika spojená s využitím GMO z pohledu lesnictví a ochrany přírody v České republice, (5) scénáře budoucího vývoje.

Metodika je postavena na podrobné literární rešerši na témata geneticky modifikované lesní dřeviny, vědecké metody genového inženýrství a platné legislativy (EU, ČR). Na základě rešerše budou studentem rozebrány výhody a rizika využití geneticky modifikovaných lesních dřevin v ČR. V souvislosti s platnou legislativní úpravou v EU a v jiných zemích je možné predikovat několik scénářů budoucího vývoje v této oblasti, tyto budou diskutovány v závěrečné části práce.

Práce je tak rozdělena do pěti etap. Harmonogram řešení: části 1-2 do konce 7-21, část 3 do konce 8-21, části 4-5 do konce 12-21. V ideálním případě student uvedený rozbor zveřejní formou popularizačního článku (např. Vesmír), 5-22.

Doporučený rozsah práce

40 stran

Klíčová slova

GMO, lesní dřeviny, genové inženýrství, biotechnologie

Doporučené zdroje informací

- Aucott, M., & Parker, R. A. (2021). Medical biotechnology as a paradigm for forest restoration and introduction of the transgenic American chestnut. *Conservation Biology*, 35(1), 190-196.
- Barnhill-Dilling, S. K. (2018). Growing Governance: Considerations for Inclusive Engagement for Genetically Modified Trees. Ph.D. dissertation. North Carolina State University. Raleigh, USA.
- Burdon R.D. et al. (2010). Forests and genetically modified trees. FAO Rome 2010.
<http://www.fao.org/3/i1699e/i1699e00.pdf>
- Custers, R., Bartsch, D., Fladung, M., Nilsson, O., Pilate, G., Sweet, J., & Boerjan, W. (2016). EU regulations impede market introduction of GM forest trees. *Trends in Plant Science*, 21(4), 283-285.
- Fladung, M., Altosaar, I., Bartsch, D., Bauchner, M., Boscaleri, F., Gallardo, F., ... & Vettori, C. (2012). European discussion forum on transgenic tree biosafety. *Nature Biotechnology*, 30(1), 37-38.
- Harfouche, A., Meilan, R., & Altman, A. (2011). Tree genetic engineering and applications to sustainable forestry and biomass production. *Trends in Biotechnology*, 29(1), 9-17.
- Chang, S., Mahon, E. L., MacKay, H. A., Rottmann, W. H., Strauss, S. H., Pijut, P. M., ... & Jones, T. J. (2018). Genetic engineering of trees: progress and new horizons. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54(4), 341-376.
- Newhouse, A. E., Polin-McGuigan, L. D., Baier, K. A., Valletta, K. E., Rottmann, W. H., Tschaplinski, T. J., ... & Powell, W. A. (2014). Transgenic American chestnuts show enhanced blight resistance and transmit the trait to T1 progeny. *Plant Science*, 228, 88-97.
- Strauss, S. H., Tan, H., Boerjan, W., & Sedjo, R. (2009). Strangled at birth? Forest biotech and the Convention on Biological Diversity. *Nature Biotechnology*, 27(6), 519-527.
- Timmons, A. M., Charters, Y. M., Crawford, J. W., Burn, D., Scott, S. E., Dubbels, S. J., ... & Wilkinson, M. J. (1996). Risks from transgenic crops. *Nature*, 380(6574).
-

Předběžný termín obhajoby

2021/22 LS – FZP

Vedoucí práce

prof. Ing. Milan Lstibůrek, MSc., Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra genetiky a fyziologie lesních dřevin

V Praze dne 30. 04. 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: „Výhody a rizika využití geneticky modifikovaných lesních dřevin v České republice“ vypracovala samostatně a citovala jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použila a které jsem rovněž uvedla na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů.

Jsem si vědoma, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jsem si vědom/a, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V Praze, 27.3.2024

Podpis:.....

Poděkování

Chci poděkovat vedoucímu své bakalářské práce, prof. Ing. Milanovi Lstibůrkovi, MSc, Ph.D. za vedení mé práce, odborné rady a poskytnutou pomoc, které mi pomohly ve vypracování této bakalářské práce.

Abstrakt

Tato bakalářská práce zkoumá možné aplikace geneticky modifikovaných lesních dřevin v České republice. Studie je strukturována do pěti sekcí, které pokrývají historické pozadí genetického inženýrství, různé metodiky používané v genetických modifikacích, příslušné legislativní rámce EU, výhody a nevýhody spojené s využitím GMO v lesnictví a potenciálním postupem budoucího vývoje GMO. V poslední části práce budou zhodnoceny výhody a rizika využití GMO a diskuse výsledků.

Klíčová slova:

GMO, lesní dřeviny, genové inženýrství, biotechnologie

Abstract

This bachelor thesis investigates possible applications of genetically modified forest tree species in the Czech Republic. The study is structured into five sections covering the historical background of genetic engineering, various methodologies used in genetic modifications, EU legislative regulation, advantages and disadvantages associated with the use of GMOs in forestry and potential future development of GMOs. In the last part of the thesis, the benefits and risks of GMO use will be evaluated and the result discussed.

Key words:

GMO, forest woods, genetic engineering, biotechnology

Obsah

1. ÚVOD	9
2. CÍL PRÁCE	10
3. HISTORIE A VYUŽITÍ GMO V ZEMĚDĚLSTVÍ A LESNICTVÍ	11
3.1. HISTORIE GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ	11
3.2. ZAČÁTEK MODERNÍ GENETICKÉ MODIFIKACE	12
3.3. TRADIČNÍ METODY ŠLECHTĚNÍ	14
3.4. HISTORIE VYUŽITÍ GMO V LESNICTVÍ	14
3.5. VLIV A BEZPEČNOST GM PLODIN	18
4. METODY GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ – OD PRVNÍCH POKUSŮ AŽ K MODERNÍ EDITACI GENOMU	20
4.1. PROCES VYTVOŘENÍ GMO	20
4.2. BIOTECHNOLOGIE V LESNICTVÍ	22
4.3. BALISTICKÁ METODA (BIOLISTIKA)	26
4.4. GENOVÉ MARKERY	27
4.5. HODNOCENÍ RIZIK	29
4.6. ODOLNOST VŮČI HERBICIDŮM	30
4.7. REZISTENCE PROTI HMYZU	31
5. LEGISLATIVNÍ REGULACE V EU (DIREKTIV 2009/41/EC) A DALŠÍ PŘEDPISY	33
5.1. PRÁVNÍ PŘEDPISY GMO V ČR	33
5.2. EVROPSKÉ SMĚRNICE	33
5.3. BIOLOGICKÁ BEZPEČNOST TRANSGENNÍCH STROMŮ	35
5.4. ÚMLUVA O BIOLOGICKÉ ROZMANITOSTI	36
6. VÝHODY A RIZIKA SPOJENÁ S VYUŽITÍM GMO Z POHLEDU LESNICTVÍ A OCHRANY PŘÍRODY V ČESKÉ REPUBLICE	38
6.1. GMO V ČESKÉ REPUBLICE	38
6.2. LESNICTVÍ A PRODUKCE BIOMASY	40
6.3. VÝHODY GMO	42
6.4. KONTROVERZE O GMO	43
7. SCÉNÁŘE BUDOUCÍHO VÝVOJE	45
7.1. BUDOUCNOST A PŘEDPOKLADY	45
8. DISKUSE	47

9. ZÁVĚR	49
10. LITERÁRNÍ ZDROJE	50
INTERNETOVÉ ZDROJE	55
SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ A GRAFŮ	57

1. Úvod

Od začátku svého vzniku je genetická modifikace problematickým tématem a předmětem různých diskusí ohledně bezpečnosti jejího použití. S geneticky modifikovanými organismy (GMO) je spojeno hodně kontroverzí, ale tato technologie má také přínosy a mohla by pomoci vyřešit řadu globálních problémů.

Genetická modifikace je technologie, která je v posledních letech populárním tématem a její využití je možné v různých oborech včetně lesnictví. Jde o proces, při kterém se vybrané organismy geneticky upravují pro speciální účely (Walter a Menzies, 2010). Při tvorbě GMO se geny vnášejí do buněk rostliny, aby se přenesly do jejího genomu, což vede k vytvoření transgenní rostliny. Transgen, který se přenáší, je upraven tak, aby bylo možné regulovat kde a kdy se projeví v rostlině. Přenos genů do buněk rostlin se provádí přímým přenosem DNA nebo pomocí bakteriálního nosiče (Oliver, 2014).

Lesy hrají zásadní roli v globálních ekologických procesech, protože poskytují životní prostředí pro širokou škálu druhů, regulují koloběh uhlíku a udržují hydrologický cyklus. Lesy však čelí několika hrozbám, včetně odlesňování, změny klimatu a propuknutí chorob. Tyto hrozby způsobují vážnou degradaci lesních ekosystémů, což vede ke ztrátě biologické rozmanitosti, erozi půdy a uvolňování oxidu uhličitého do atmosféry. Obnova lesů je zásadním přístupem ke zmírnění nepříznivých dopadů lidské činnosti na lesní ekosystémy. Moderní biotechnologie nabízí slibné nástroje pro obnovu lesů, včetně využití transgenních stromů (Aucott a Parker, 2011).

V této bakalářské práci se zabývám historií využití GMO v lesnictví a zemědělství, popisuji metody genového inženýrství, zjišťuji výhody a nevýhody této technologie a vliv GMO na životní prostředí. Na základě různých zdrojů jsem provedla rešerši, která mi pomohla vyhodnotit výhody a rizika spojené s potenciálním využitím GMO v lesnictví České republiky.

2. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je poskytnout detailní informaci o možnostech využití geneticky modifikovaných lesních dřevin v prostředí ČR. Metodika práce bude rozdělena do pěti částí. V první kapitole bude popsána historie genového inženýrství a využití GMO v zemědělství a lesnictví. Ve druhé kapitole vysvětlím jak vznikly první pokusy editace genomu a jaké metody genového inženýrství se používají v současnosti. Ve třetí kapitole bude popsán přehled právních předpisů spojených s použitím GMO v EU. Ve čtvrté kapitole budou zhodnoceny výhody a rizika spojená s využitím GMO z pohledu lesnictví a ochrany přírody v České republice. V poslední kapitole proberu scénáře budoucího vývoje GMO. Metodika je založená na rozsáhlém přehledu literatury na téma geneticky modifikovaných lesních dřevin, vědecké metodice genového inženýrství a platných předpisech v EU a ČR. Na základě rešerše rozeberu výhody a rizika spojená s využitím geneticky modifikovaných lesních dřevin v rámci ČR. S ohledem na existující legislativu v rámci EU a dalších zemích bude studie předvídat různé možné scénáře budoucího pokroku v této oblasti, o kterých se bude uvažovat v závěrečné části práce.

3. Historie a využití GMO v zemědělství a lesnictví

3.1. Historie genového inženýrství

Genetické modifikace rostlin a živočichů probíhaly již před několika tisíci lety. Pro zvýšení množství potravy lidé vybírali rostliny nebo zvířata s lepšími vlastnostmi, aby je pak mohli křížit. Např. mohli zkřížit rostlinu, která měla vyšší odolnost vůči škůdcům s rostlinou s vyšší výnosností a tak získat rostlinu s vyšším výnosem a lepší tolerancí vůči škůdcům (Lemaux, 2006). Naši předkové neměli žádné pojetí genetiky, ale byli stále schopni ovlivnit DNA jiných organismů pomocí procesu zvaného „selektivní šlechtění“ nebo „umělá selekce“. Tyto termíny popisují proces výběru organismů s nejoblíbenějšími vlastnostmi a jejich párování s cílem spojit a rozšířit tyto vlastnosti přes své potomky. Umělá selekce není to, co je obvykle považováno za technologii GMO, ale pořád je předchůdcem moderních procesů. Nejstarší důkazy o umělém výběru rostlin pocházejí z roku 7800 př. n. l., kdy vědci našli domestikované odrůdy pšenice v archeologických nalezištích v jihozápadní Asii. Největší změna v genetice rostlin nastala díky umělému výběru kukuřice. Dříve kukuřice byla známa jako divoká tráva *teosinte*, která měla malé klásky a velmi malá jádra. Během několika staletí byl *teosinte* selektivně pěstován tak, aby měl větší klásky s více jádry a přivedlo to ke vzniku kukuřice, kterou známe v současnosti (Rangel, 2015).

Prakticky každá dnešní potravina je modifikovaná stejným způsobem a většina jídel, které konzumujeme, vypadají jako jejich starověký předek (Lemaux, 2006). Všechny potravinářské plodiny které dnes spotřebujeme byly modifikovány umělým výběrem v průběhu tisíciletí a značně se tak liší od původního charakteru. Zemědělci si vybírali výnosnější rostliny s odolností vůči suchu a škůdcům. Objevem pravidel dědičnosti a proměnlivosti Gregorem Mendelem začalo období systematického přístupu ke genetice obecně a šlechtění rostlin konkrétně. Tím se zlepšily vědecké poznatky a vědci se snažili rozšířit genetické úpravy novými metodami a šlechtěním (Zilberman a kol, 2018).

Celý soubor genů v singulárním organismu determinuje jaké vlastnosti bude organismus mít, nicméně fenotypový projev je samozřejmě ovlivněn též podmínkami

prostředí, ve kterém se organismus nachází. Každý druh má svou vlastní sadu informací, které se říká genom. Objev DNA v 50. letech 20. století pomohl výzkumníkům porozumět změnám ve vlastnostech různých druhů a poskytnout nové přístupy pro studium dědičné informace a možností její modifikace (Zilberman a kol. 2018).

3.2. Začátek moderní genetické modifikace

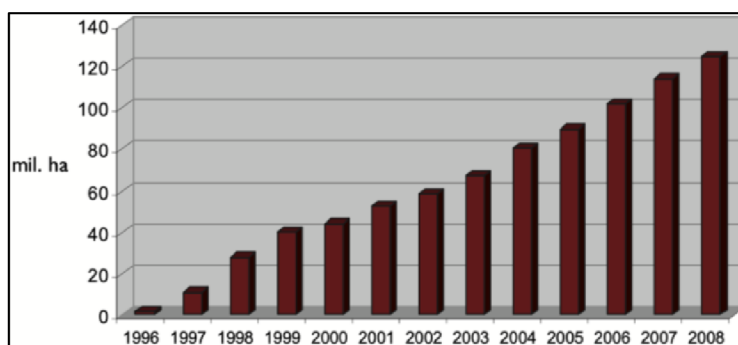
V r. 1946 vědci poprvé zjistili, že genetický materiál se může přenášet mezi různými druhy. Poté v r. 1954 následovalo odhalení dvojité spirálovité struktury DNA a transkripce DNA na RNA a následující přemístění do proteinů Watsonem a Crickem (Raman, 2017). V roce 1973 Herbert Boyer a Stanley Cohen kolektivně vyvinuli první zdařilý geneticky upravený organismus, co způsobilo ohromný převrat v technologii GMO (Cohen, 1973). Vědci vyvinuli metodu vyřiznutí genu z jednoho organismu a jeho vložení do druhého. Tímto způsobem přemístili gen, který je rezistentní k antibiotikům z jednoho jádra bakterií do jiného, čímž poskytl příjemci resistenci. O rok později Rudolf Jaenisch a Beatrice Mintz použili podobný postup u zvířat a zavedli cizí DNA do myších embryí (Jaenisch a Mintz, 1974). Tato nová technologie otevřela řadu možností výzkumu a neprodleně po jejím vývoji se média, vlády a vědci začali obávat možných důsledků na lidské zdraví a ekosystémy. V r. 1975 se konala konference Asilomar na které se debatovalo o různých pokusech s genetickými modifikacemi. Účastníci došli k závěru, že projekty genového inženýrství mohou pokračovat, ovšem s patřičnou mírou regulace. Vládní organizace po celém světě posléze podpořily krok postupovat ve výzkumu genového inženýrství, čímž otevřely novou éru moderních biologických věd (Rangel, 2015).

Genové inženýrství se používá v mnoha oblastech, ale používání genetických modifikací ve výrobě potravin je velmi náročné. V r. 1987 proběhly počáteční polní zkoušky s potravinářskými plodinami, které byly upraveny pomocí technologie rekombinantní DNA. Americká agentura pro ochranu životního prostředí po přísném testování schválila první plodinu produkující pesticidy v roce 1995 (Ye a kol., 2000). Geneticky modifikovaná kukuřice byla povolena o rok později a používá se téměř všude v USA. Plodiny byly geneticky upraveny tak, aby byly odolné vůči herbicidům

a aby pomohly farmářům regulovat fyziologické procesy rostlin. První plodinou odolnou vůči glyfosátu byla odrůda sóji, vyvinutá společností Monsanto v roce 1996. Tato technologie byla použita u mnoha dalších plodin, např. kukuřice a cukrové řepy (Rangel, 2015).

Geneticky modifikovaný tabák odolný vůči antibiotikům a petúnie byly úspěšně vytvořeny v roce 1983 třemi nezávislými výzkumnými skupinami. Od té doby několik transgenních plodin obdrželo schválení velkovýroby v letech 1995 a 1996 (Rangel, 2015). GM plodiny pomohly redukovat důležité zemědělské problémy a současně umožnily množství výhod pěstitelům po celém světě. Od roku 1996 bylo získáno přes 117,6 miliard USD ve prospěch celosvětového příjmu zemědělců (Brookes a Barfoot, 2014). Pro srovnání by bylo zapotřebí více než 300 milionů akrů (121 405 800 ha) plodin, aby mohlo dojít ke srovnatelným výsledkům s ohledem k produkci. Zavádění GM plodin na trh tak prospělo hospodářství, ale též životnímu prostředí díky intenzifikaci rostlinné výroby. Následně byly získávány další geneticky modifikované plodiny (kukuřice, listový salát, jahody, lilek, rýže, oves, mrkev), které snižují dopad na životní prostředí, což vede ke zvýšení pestrosti druhů. GM plodiny byly uznávány zemědělci, pěstiteli a většinou ekologů na celém světě (Raman, 2017).

Na grafu (Obr. 1) je zobrazen vývoj využití zemědělské plochy geneticky modifikovanými plodinami ve světě od roku 1996 (zavedení GM na světový trh) až do r. 2008. Nejvíce byla pěstovaná kukuřice, bavlník, rýže, řepka, sója, rajčata a další.



Obr. 1 – Vývoj využití plochy pro GM plodiny ve světě. Zdroj: isaaa.org

3.3. Tradiční metody šlechtění

Pěstitel má díky selekčnímu postupu bezprostřední kontrolu nad tím, které formy genu (alely) se zachovávají nebo eliminují v případě Mendelistických znaků, případně ovlivňuje alelické frekvence u znaků s polygenním základem dědičnosti. Opakované cykly umělého výběru, genetického testování a křížení je základem tradičního šlechtění (Lemaux, 2006).

Tradiční šlechtění a mutageneze jsou podstatně méně přesné než technologie GE. Ve tradičním šlechtění dochází ke genetickým změnám prostřednictvím uspořádaného chovu, zatímco u GE se vykonávají úpravy u konkrétních částí rostlin v laboratoři. U klasického šlechtění nastává přenos výhodných alel přes křížení v rámci jednoho druhu. Současné metody genového inženýrství jsou preciznější než dřívější metody, a proto mohou být aktuální geneticky pozměněné plodiny více akceptované veřejností než rané GMO (Zilberman a kol. 2018).

V současnosti GM plodiny spadají do dvou kategorií: plodiny odolné vůči herbicidům, zejména glyfosátu, a plodiny odolné vůči hmyzu, které vytváří proteiny produkované bakterií *Bacillus thuringiensis*. Cílem těchto modifikací je zlepšit výnosy plodin snížením ztrát způsobených plevele a hmyzem, snížit náklady zemědělců a omezit použití herbicidů a insekticidů. Diskuse o bezpečnosti a dopadu geneticky modifikovaných plodin se často zaměřuje na tyto technologie (Brookes a Barfoot, 2014).

3.4. Historie využití GMO v lesnictví

Lesní ekosystémy mají zásadní význam pro zachování biologické rozmanitosti, vázání uhlíku a ekologické rovnováhy. Lidské činnosti, jako je odlesňování, změna klimatu a výskyt chorob, však způsobují vážnou degradaci lesních ekosystémů. Obnova lesů je zásadním přístupem ke zmírnění nepříznivých dopadů lidských činností na lesní ekosystémy. Moderní biotechnologie nabízí slibné nástroje pro obnovu lesů, včetně využití transgenních stromů (Aucott a Parker, 2011).

Genové inženýrství stromů za poslední léta dosáhlo pokroků při zvyšování odolnosti vůči různým stresovým podmínkám, jako např. chlad nebo zasolení. Stromy, jako jsou kaštiny, citrusy a švestky, prokázaly zvýšenou odolnost vůči stresu právě díky genetické modifikaci. Technologie, jako je CRISPR, mají velkou způsobilost pro rozvoj lesnictví, ale stále existují překážky – omezení polních testů, nedostatečné odborné znalosti a omezení podpory výzkumu (Zhou a kol., 2015). Genové inženýrství stromů je také brzděno regulačními a tržními omezeními. Poměrně často je genové inženýrství vnímáno jako nebezpečné a výzkum probíhá pod přísnou kontrolou. Pro urychlení přijetí genového inženýrství v lesnictví je nezbytné zapojení veřejnosti a pečlivého provádění polních testů (Chang a kol., 2018).

Americký kaštanovník jedlý (*Castanea dentata*) je druh, který byl vážně zasažen houbovým patogenem *Cryphonectria parasitica*, způsobujícím chorobu kaštanovníku jedlého. Tato dřevina téměř vyhynula v 50. letech 20. století a nadace The American Chestnut Foundation se snažila získat rezistentní geny právě pomocí genetické transformace (Newhouse a kol., 2014). Transgenní kaštanovníky americké nabízejí několik potenciálních výhod pro obnovu lesa a pro obnovu tohoto druhu. Zavedení transgenních stromů kaštanovníku amerického by mohlo nabídnout řešení problému s chorobou plísně kaštanové (*Cryphonectria parasitica*), která tento druh devastuje již více než sto let. Transgenní stromy kaštanovníku amerického jsou upraveny tak, aby produkovaly enzym, který rozkládá toxin produkovaný houbou, a tím zajišťují odolnost vůči této chorobě (Powell a kol., 2019). Obnova amerického kaštanovníku by navíc mohla přispět k ekologické obnově lesů a poskytnout tak životní prostředí několika volně žijícím živočichům. Zavádění transgenních stromů přesto vyvolává také etické a environmentální obavy. Použití biotechnologií při obnově lesů by mohlo vyvolat obavy ohledně genetické modifikace a možného ekologického dopadu transgenních stromů na původní ekosystémy. Je nezbytné zvážit potenciální rizika spojená se zaváděním transgenních stromů, včetně šíření transgenů do původních populací, předpokládaného dopadu na necílové druhy a možného dopadu na ekosystémové procesy. Zavádění transgenních dřevin by mělo být prováděno zodpovědně a transparentně, s vhodnými regulačními rámci, které zajistí ochranu původních ekosystémů a biologické rozmanitosti (Aucott, Parker, 2021).

Studie plísně kaštanovníku se zaměřila na optimalizaci metody transformace a testování různých variant, které vedly k vytvoření efektivního protokolu. Výběr transgenů obsahoval markerové geny pro identifikaci a selekci transformovaných pletiv. Studie také zkoumala sedm genů kaštanu, které souvisí s odolností vůči houbám. Tyto geny však nejsou úplně účinné a jejich účinek se liší podle prostředí, hostitelských organismů a typů patogenů. Dosáhnout úplné a trvalé odolnosti vůči plísni je proto náročné. Křížením transgenních stromů s planě rostoucími stromy lze získat potomstvo s podobnými vlastnostmi. V tomto experimentu byly použity ko-transformační vektory k přidání rezistence a selekčních markerů do kaštanu amerického. Embrya byla selektována na selekčním médiu a identifikována pomocí exprese GFP. Testy potvrdily integraci selekčních markerů do genomu a jejich expresi v embryu, což bylo úspěšně provedeno u transgenních rostlin. Tato studie využila metodu Southern hybridizace k identifikaci transgenů v genomu, určení jejich počtu a rozlišení jedinečných transgenních jevů. Kromě toho byla vyvinuta nová metoda qPCR pro rychlé a účinné stanovení počtu kopií genů. Extrakce DNA byla provedena pomocí soupravy Qiagen Plant Mini kit namísto tradičního postupu. Byly navrženy primery pro amplifikaci specifických genů a amplifikace byla provedena pomocí přístroje BioRad iCycler-48 a činidel SYBR Green. Výsledky byly analyzovány pomocí softwarového nástroje BioRad CFX Manager. K vyhodnocení exprese genu OxO bylo použito měření aktivity enzymu OxO a identifikace exprimujících pletiv. Expres transgenů v různých fázích byla sledována pomocí kvantitativní PCR s reverzní transkripcí (RT-qPCR). Kvantifikace RNA byla provedena pomocí spektrofotometru NanoDrop 2000. Tato studie nabízí důležité informace o identifikaci a kvantifikaci transgenů v genomu a jejich projevu v různých pletivech (Newhouse a kol., 2014).

V rámci studie byly provedeny pokusy na transgenních amerických kaštanech a transgenních ořešácích královských s cílem posoudit jejich odolnost vůči plísni a jejich bezpečnost. Testy na listech a kmenech prokázaly odolnost transgenních rostlin vůči houbovým chorobám. Při experimentech s opylením transgenním pylem byly výsledné ořechy porovnávány s kontrolními a analýza prokázala, že hlavní metabolity ořechů byly u obou skupin podobné, což ukazuje na jejich bezpečnost pro konzumaci.

Do amerických kaštanů byly úspěšně vnášeny geny rezistence vůči houbám, ale úroveň rezistence nebyla tak vysoká jako u čínského kaštanu. Transgenní americké kaštany tak mohou mít pozitivní dopad na životní prostředí, ale vyžadují další výzkum. Transgenní vlašské ořechy vykazovaly rovnoměrnější a rychlejší růst po opylení transgenním pylem a analýza bezpečnosti prokázala, že jsou bezpečné pro konzumaci. Klíčení ořechů nebylo výrazně ovlivněno genetickými úpravami (Newhouse a kol., 2014).

V Jihoafrické republice se vyvíjí geneticky modifikovaný druh *Eucalyptus grandis* pro komerční lesnictví. Plantáže tvoří 1,2 % rozlohy země a jsou hospodářsky významné jako exportní odvětví. Lesní biotechnologové zkoumají genomické změny v lesnictví a zmapovali genom modifikovaného *Eucalyptus grandis*, což je velký úspěch pro jihoafrické lesnictví. Cílem je vyvinout stromy pro různá využití, které by byly méně náročné na zdroje a snadněji zpracovatelné zejména pro výrobu dřevěných výrobků (Barnhill-Dilling, 2018).

Zlepšování růstu lesních dřevin se soustřeďuje na zvýšení výnosového potenciálu a udržení výnosu za stresových podmínek. Šlechtění stromů se zaměřuje na vylepšení vlastností jako je tvar kmene a charakteristik větvení. Stejně jako u zemědělských plodin se očekává, že zlepšení procesů ovlivňujících výnosový potenciál, zachycení světla, přeměnu energie na biomasu a alokaci biomasy do sklizňové zóny povede ke zvýšení produktivity stromů. Nedávné studie se zaměřily na zkoumání strategií zvyšování biomasy stromů pomocí transgenních technik, jako je změna architektury stromu, zlepšení příjmu živin a vody, modifikace fotosyntézy a zlepšení odolnosti proti škůdcům a stresovým podmínkám (Dubozel a kol., 2013). Výzkum zaměřený na genové inženýrství v této oblasti je stále poměrně minoritní (Chang a kol., 2018).

V roce 2023 americká společnost Living Carbon vysadila transgenní topol v americkém státě Georgie. Je to první GM strom vysazený v americkém lesním porostu, který by měl růst dvakrát rychleji než obyčejný strom. Vědci ze společnosti Living Carbon vložili bakterii do genomu pro následné vytvoření geneticky modifikovaného topolu. Momentálně organizace vysazuje stromy na soukromých pozemcích a má v

plánu zalesňovat větší plochy. V roce 2020 společnost podala žádost o schválení pěstování GM topolů, která byla později schválena Americkou inspekcí pro zdraví. Genetická modifikace již byla v americkém lesnictví použita dříve, když byl kaštanovník americký ohrožen plísní (jak popsáno v předchozích částech). Pěstitelé těchto stromů doufají, že za několik let pomocí genetického inženýrství dosáhnou velkých zisků. Příznivci GMO prohlašují, že pěstování těchto stromů může pomoci v boji s klimatickou změnou a vyvolat změnu v lesnictví. Několik ekologických společností však kritizuje tuto událost a jsou znepokojené tím, jaký dopad tyto stromy mohou mít na životní prostředí. Odborník – profesor na univerzitě v Georgii měl obavy z šíření pylu z transgenních topolů, ale vědec ze společnosti Living Carbon uvedl, že tyto stromy neprodukují pyl a semena a že se nemohou rozšířit do volné přírody, protože se nedokážou křížit s jinými topoly (Blankenship, 2023; Popkin, 2023).

3.5. Vliv a bezpečnost GM plodin

Od začátku vytvoření geneticky modifikovaných plodin se zvětšovala plocha, na které se tyto plodiny pěstovaly tyto plodiny (kukuřice, sója a bavlna) a jejich šlechtění mělo významné ekonomické výhody. Podle výzkumu GM plodiny zvýšily příjem farem o 40,7 miliardy dolarů v pokročilém a základním zemědělství a veškerý nárůst příjmů farem dosáhl 116 miliard USD (James, 2013). Geneticky modifikované plodiny zvýšily celosvětovou produkci o 377 milionů tun díky menšímu počtu znečištění plevelem a hmyzem, pokročilé genomice a sníženým výrobním nákladům (Brookes a Barfoot, 2014). Pokud chceme produkovat stejné množství plodin jako s geneticky modifikovanými plodinami, museli bychom využít dalších 122 milionů hektarů půdy. To by bylo nutné provést v oblastech, které se v současnosti nevyužívají k zemědělství a pravděpodobně by to mělo negativní dopady na životní prostředí. Biotechnologie může pomoci snížit chudobu a hlad v rozvojových zemích, zejména v Číně a Indii, kde farmáři využívají geneticky modifikované plodiny. Plodiny zde často mají vyšší výnosy a zásobování potravinami je jistější. Proto ekonomika v těchto zemích, které jsou založené na zemědělství, se může zvednout a mohou být menší obavy o zajišťování potravin (Oliver, 2014).

Produkce GM plodin je označována jako důležitý nástroj v zemědělství, který může přispět k dosažení vysokých cílů v oblasti zvyšování výnosu a stability plodin. Technologie ekologické produkce plodin jsou klíčové pro snahy o stabilizaci a zvýšení výnosů, zejména v regionech, kde se ukazují jako nejúčinnější, i když často poskytují nižší výnosy ve srovnání s tradičními plodinami. Přerušování takového úsilí by bylo potenciálně nebezpečné vzhledem ke složité a neustále se vyvíjející povaze zemědělských výrobních systémů ve spojení s měnící se krajinou způsobenou globální změnou klimatu. Část společnosti se důrazně staví proti přijetí GM technologií v zemědělství a vychází z názoru, že takové plodiny představují nepřijatelné riziko pro lidské zdraví a životní prostředí. Podle Rolanda, 2011 existují odborné názory o neexistenci škodlivých účinků GMO na lidské zdraví ani na životní prostředí od svého zavedení v roce 1996. Po důkladné vědecké analýze bezpečnostních obav spojených se zavedením GM plodin výbory Národní rady pro výzkum, Evropská komise a Společná komise dospěly k závěru, že genové inženýrství využívající biotechnologie se neliší od tradičního zemědělství, pokud jde o nezamýšlené důsledky pro životní prostředí nebo lidské zdraví (Roland, 2011). S cílem řešit obavy z používání GM plodin Evropská komise financovala více než 50 výzkumných programů v letech 2001 až 2010 a vědecký výzkum dosud nezjistil žádná významná rizika přímo související s používáním GM plodin (Evropská komise, 2010). Cílem těchto výzkumů bylo zvýšit výnosy snížením ztrát způsobených plevelem a poškozením hmyzem, nižšími vstupními náklady zemědělců díky lepšímu hospodaření s plodinami a snížením používání insekticidů a herbicidů (Oliver, 2014).

4. Metody genového inženýrství – od prvních pokusů až k moderní editaci genomu

4.1. Proces vytvoření GMO

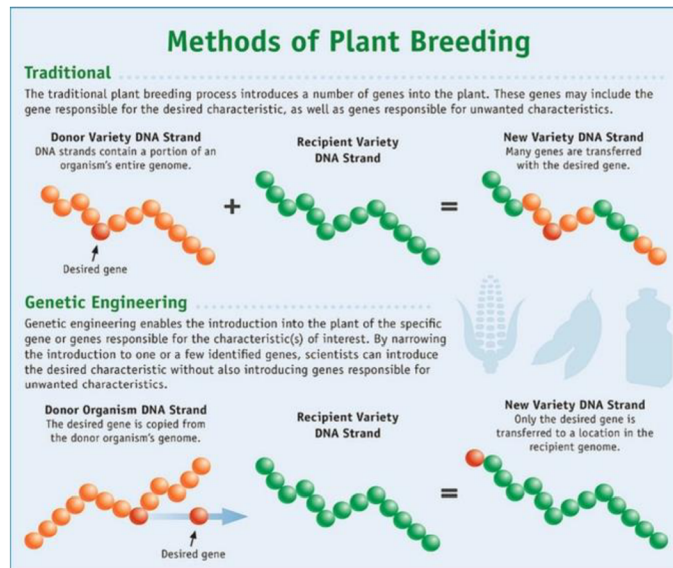
Genové inženýrství (GE) je proces genetických úprav znaků rostlin vyžadující přímé použití rekombinantních metod DNA. Výzkumníci mohou charakterizovat jeden určitý gen z libovolného živého organismu, tento vyjmout a následně vložit do genomu stejného nebo jiného organismu. Ve výsledku mohou být tyto geny rezistentní vůči herbicidům nebo antibiotikům, anebo mohou dovolit rostlinám růst v jinak stresových podmínkách. Tvorba rostlin pomocí GE záleží na jedinečných vlastnostech rostliny. Z libovolné rostliny lze odebrat rostlinnou buňku a když se do ní dostane nový gen, buňky obsahující nový gen se množí a tato buňka dává vzniknout celé rostlině. Část rostliny (např. list nebo semeno) se odebere a gen se zavádí do malého množství buněk v té části biologickou nebo fyzikální metodou (Oliver, 2014). Biologická metoda používá mikroorganismus *Agrobacterium*, který vkládá vlastní DNA do genomu rostliny. U jiné metody se používají mikroskopické náboje potažené DNA, které se umisťují uvnitř buňky a pak vloží se do genomu rostliny (Barampuram, 2011; Sanford, 1990).

K přenosu cizorodé DNA do rostlin se nejčastěji používají dvě technologie – *Agrobacterium tumefaciens* a biolistika. *A. tumefaciens* infikuje rostlinné buňky a přenáší úsek DNA zvaný T-DNA, který způsobuje nekontrolovaný růst. T-DNA lze nahradit libovolným genem a přenos DNA do dřevin je složitější, ale u některých druhů byly zaznamenány úspěšné transformace. Biolistika zahrnuje použití malých kovových částic potažených DNA, které jsou vpraveny do cílových buněk. Transformované buňky se oddělují od netransformovaných buněk a vybírají se pomocí selektivního markerového genu. Biolické techniky jsou účinnější než *A. tumefaciens*, ale i tak nejnovější modifikace umožňují produkci až 200 trans klonů za den. Geneticky modifikované stromy se již pěstují komerčně v některých zemích, jako je Čína a USA. Tyto stromy mají potenciál zlepšit vlastnosti jako je odolnost vůči herbicidům a hmyzu, a také zvýšit obsah celulózy. V některých případech je nutné

stromy sterilizovat, aby se zabránilo šíření geneticky modifikovaných genů do přírodních populací. Celkově je genetická modifikace stromů prováděna ve více než 35 zemích, avšak některé země požadují zničení pokusů před jejich výsadbou. Čína jako jediná schválila komerční pěstování geneticky modifikovaných stromů. Přestože většina geneticky modifikovaných činností je experimentální a podléhá přísné regulaci, obavy z těchto stromů jsou podobné jako v případě geneticky modifikovaných plodin (Walter a Menzies, 2010).

Na konci 70. let 20. století se začalo uvažovat o uplatnění půdní bakterie *Agrobacterium tumefaciens*. Tato bakterie mění genom rostliny vložением genu, který nakazí rostlinu v místě mezi stonkem a kořenem, což vede k buněčné proliferaci. V důsledku buněčné proliferace je tvořeno množství buněk, ve které bakterie žijí. *A. tumefaciens* vytváří nádor v rostlině a také poskytuje buňkám modifikované aminokyseliny (opiny), které bakterie používají jako zdroj živin. Nádor vzniká při proniknutí částí DNA bakterie (Ti-plasmid, také známo jako T-DNA) do buňky. T-DNA je tvořeno levou stranou (LB) a pravou stranou (RB). T-DNA zahrnuje geny produkující hormony, které vyvolávají nádor, auxin a cytokinin, které způsobují proliferaci buněk a odpovídají za metabolismus opinů. Dále Ti-plasmid obsahuje geny, které umožňují bakteriím infikovat rostliny a přenášet T-DNA do cílové buňky (Brampuram a Zhang, 2011).

S vynálezem binárních vektorů v 80. letech došlo k pokroku ve sféře GE. Binární vektory rozdělily T-DNA do menšího plazmidu, který je oddělenou částí v buňce *Agrobacterium*. Tento vektor byl vytvořen tak, aby se rozmnožil v obou organismech - *A. tumefaciens* a *E. coli*, což ulehčuje stavbu požadovaných genů v levé a pravé části T-DNA. Binární vektor byl upraven nahrazením s T-DNA geneticky upravenými geny schopnými exprese v rostlinných buňkách, v důsledku bakteriální infekce a přenos DNA do rostliny již nevedly k rychlému rozmnožení buňky. Proces od začátku se příliš nezměnil a stále se používá malý počet binárních vektorových systémů. Vědci se zaměřují na efektivní změny a nové metody zavádění agrobakterií do pletiva (Oliver, 2014).



Obr.2 Rozdíl mezi tradičním šlechtěním a GI. Zdroj: Kansas Corn Stem

4.2. Biotechnologie v lesnictví

V lesnictví zahrnují biotechnologie širokou škálu postupů, včetně šlechtění stromů a klonování rostlin, genotypování DNA, genových manipulací a přenosu genů. Klonování rostlin se v lesnictví používá již staletí a zahrnuje množení stromů roubováním a řízkováním. Tyto techniky se uplatňují hlavně v Číně při pěstování jedle čínské (*Cunninghamia lanceolata*) a v Japonsku při pěstování japonského cedru (*Cryptomeria japonica*). Některé druhy dřevin, jako jsou topoly, vrby, eukalypty, smrky, sekvoje a borovice, jsou pro klonování vhodné a běžně se používají ve výsadbách. S technologickým pokrokem se očekává, že celosvětově poroste využívání klonů stromů pro výsadby s vysokými výnosy. Klonování má také význam pro zachování vzácných, ohrožených a kulturně, hospodářsky nebo ekologicky významných druhů (Burdon a kol., 2010).

Topoly jsou nejúspěšnějšími dřevinami pro genetické transformace, protože mají schopnost vegetativního množení a vysokou efektivitu transformace. V roce 1989 byl vypěstovaný první GM topol (*Populus nigra*) a byl do něj vnesený gen rezistence vůči Bt hmyzu. Po úspěšných zkouškách bylo schváleno pěstování GM stromů a v roce 2004 v Číně byla vytvořena první plantáž GM stromů. Čína se vyrovnává s demografickým tlakem způsobeným rychlým sociálním a hospodářským rozvojem,

což má za následek značný tlak na produkci lesů. Odlesňování a degradace lesní půdy jsou hlavními problémy, se kterými se země potýká. Čína se v posledním desetiletí snažila tyto problémy řešit prostřednictvím šesti velkých národních lesnických programů, zahrnujících vývoj průmyslových plantáží s rychle se obnovujícími druhy topolů. Nicméně, hlavní druhy topolů jsou často náchylné ke škůdcům a chorobám, což brání rozvoji těchto plantáží. Stejný problém se objevuje i u jiných hospodářsky významných dřevin. Proto je zapotřebí vyšlechtit stromy s vyšší odolností vůči škůdcům, chorobám a stresu. Genové inženýrství je moderní technologií, která může nabídnout účinná řešení při zlepšování odolnosti dřevin v porovnání s tradičními šlechtitelskými metodami (Zheng, 2010).

Mikropropagace je technika vegetativního množení rostlin, která se provádí *in vitro*. Tato metoda umožňuje produkovat geneticky identické jedince a obcházet genetickou rekombinací spojenou s pohlavním rozmnožováním. Mikropropagace organogenezí se zabývá kultivací malých částí rostlin, jako jsou meristémy z klíčících embryí nebo vrcholky mladých rostlin. Proces mikropropagace zahrnuje sterilizaci, iniciaci výhonů, prodlužování a množení, zakořeňování a aklimatizaci. Sterilizace se obvykle provádí bělicím roztokem a následně se na vhodném médium indukují výhony. Výhony mohou vznikat z axilárních nebo adventivních meristémů stimulovaných cytokininem. Rostliny z adventivních výhonů však mohou vykazovat známky pokročilého stáří, což může být nežádoucí. Mikropropagace je velmi užitečný nástroj pro lesníky a šlechtitele dřevin (Walter a Menzies, 2010).

Embryogeneze je proces tvorby somatických embryí z embryogenně kompetentních somatických buněk. Tento proces byl poprvé úspěšně zaznamenán u dřeviny *Liquidambar styraciflua* a smrku ztepilého v 80. letech. Od té doby byla somatická embryogeneze zkoumána u mnoha druhů listnatých a jehličnatých stromů. Embryogeneze se liší od organogeneze tím, že vytváří embrya, která vyklíčí, zatímco organogeneze vytváří výhony, které musí být zakořeněny. Proces embryogeneze zahrnuje fáze iniciace embryogenního pletiva, množení, vývoj, zrání, klíčení a aklimatizaci. Embryogenní tkáň se obvykle vytváří z nezralých semen těsně po oplození a může se udržovat nebo množit v nezaměněném stavu. Změny v médiu mohou stimulovat embrya k vývoji a dozrání. Embrya lze poté uchovávat pomocí

kryokonzervace při nízkých teplotách, aby se zabránilo poškození buněk ledovými krystaly. Embryogeneze je technologie s potenciálem produkovat žádoucí embrya za nižší ceny než kontrolní opylení. Zlepšení genotypového zachycení, automatizace a vývoj umělého osiva je klíčem k tomu, aby se tyto výhody dosáhly (Walter a Menzies, 2010).

Genomika studuje geny a jejich funkce v organismech. Investice do výzkumu genomiky se zaměřují na lidské genomy, agronomické plodiny a lesní dřeviny. Cílem je identifikovat řadu genů a jejich funkcí, což se zatím částečně povedlo u modelového druhu *Populus trichocarpa*. Genomika má mnoho aplikací, včetně asociačních studií a genetických modifikací. Studie genů ukázaly podobnosti mezi různými stromy, což dává naději, že co se zjistí u jednoho druhu, bude prospěšné pro mnoho dalších (Walter a Menzies, 2010). Funkční genomika se zabývá analýzou genetického materiálu organismu a jeho vztahem k jednotlivým fyziologickým procesům. Identifikace užitečných mutací a jejich funkčnost je klíčová pro modifikaci znaků u rostlin. Škody způsobené škůdci na lesních dřevinách mají celosvětový dopad a ovlivňují růst a produktivitu lesů. V čínských topolových plantážích byla zaznamenána významná ztráta porostů kvůli hmyzím škůdcům, které odstraňují listy, jako jsou obaleči topolovní a můry sněti. Hmyzí škůdci také ovlivňují jehličnaté stromy, jako je borovice kleč a smrk ztepilý. Kromě hmyzu existují také houbové, bakteriální a virové patogeny, které mohou ovlivnit zdravotní stav lesa (McDonell a kol., 2010).

Díky technologii rekombinantní DNA je možné studovat geny a jejich funkce, přenášet geny mezi druhy a zajistit jejich účinnou expresi. Tato technologie umožňuje zkombinovat genetický materiál z různých organismů a zlepšit tak naše znalosti o regulaci genů, syntéze proteinů u eukaryot a organizaci eukaryotických genomů. V oblasti genového inženýrství jsou techniky rekombinantní DNA nezbytné pro identifikaci genů odpovědných za specifické znaky, izolaci těchto genů, vytvoření genetických konstruktů obsahujících tyto geny a potřebná činidla pro jejich expresi v hostitelském organismu a výběr transgenních buněk. Při produkci geneticky modifikovaných rostlin tato technologie umožňuje vybrat nejlepší jedince s preferovanou integrací transgenů a sledovat jejich expresi na molekulární úrovni.

Technologie rekombinantní DNA má také význam pro reprodukci a adaptaci těchto rostlin v různých prostředích (Meilan a kol., 2010).

Historicky byly nahosemenné rostliny transformovány pomocí bombardování částicemi kvůli problémům s konvenčními kmeny *Agrobacterium*. Problémy s geneticky modifikovanými dřevinami byly částečně překonány a mnoho druhů bylo transformováno pomocí standardních kmenů *Agrobacterium*. Je však potřeba více práce na regeneraci celých rostlin z transgenních dřevin, přičemž dvě metody jsou přímá organogeneze a somatická embryogeneze (Meilan a kol., 2010).

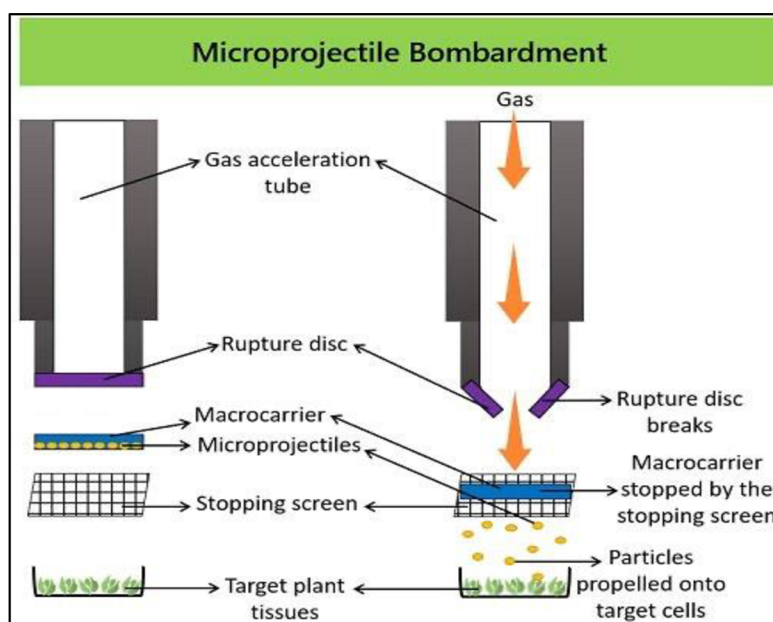
Agrobacterium tumefaciens je bakterie, která způsobuje onemocnění dvouděložných rostlin, vedoucí ke vzniku nádorů rostlin. Přenáší kus své DNA, nazývané T-DNA, do rostlinného genomu, který obsahuje geny pro vývoj nádorů a syntézu opinů. Tento přirozený proces byl použit v rostlinné biotechnologii, kde je odzbrojený kmen *A. tumefaciens* transformován binárním vektorem obsahujícím požadované geny. T-DNA se přenáší do rostlinných buněk kokultivací s bakterií. Transgenní buňky jsou pak množeny a pěstovány v rostlinách prostřednictvím somatické embryogeneze nebo organogeneze. Tato metoda byla použita k produkci geneticky modifikovaných stromů, včetně topolů, osik, topolů, eukalyptů a vlašských ořechů, s nedávným pokrokem v nahosemenných rostlinách, jako jsou borovice, modřiny a smrky. Účinná regenerace rostlin však zůstává náročná, zejména prostřednictvím organogeneze (Meilan a kol., 2010).

Existují pět hlavních přístupů k zadržování. Retence je řízenou formou domestikace rostlin, která využívá výhod transgenů pro fitness a zároveň je propojuje s geny škodlivými pro jiné oblasti. Tento přístup je použitelný pro vegetativní i pohlavní rozmnožování. Dále se zkoumají geny snižující růst lesních dřevin, jako konkurenční nevýhoda volně rostoucím druhům, a také geny související se zakrslostí (Straus a kol, 2006). Jiné formy retence ovlivňují pohlavní rozmnožování, které je pro většinu druhů dřevin nejdůležitějším způsobem velkoplošného šíření. Existují čtyři přístupy ke genetickému inženýrství: ablace, kdy jsou květní pletiva účinně zničena nebo zneškodněna cytotoxinem; excize, kdy jsou některé nebo všechny funkční transgeny odstraněny z gamet před jejich uvolněním; genová suprese, kdy je aktivita

jednoho nebo více genů nezbytných pro reprodukci narušena na úrovni DNA, RNA nebo bílkovin; a represe, kdy je nástup kvetení oddálen úpravou exprese genů, které podporují vegetativní růst nebo potlačují přechod k reprodukčnímu stádiu (Brunner a kol., 2010).

4.3. Balistická metoda (biolistika)

Balistická metoda je jedním z rozsáhle používaných způsobů k zavedení DNA do rostlinné buňky. „Bombardování částicemi“ (micro/particle bombardement) bylo vyvinuto J. Sanfordem na konci 80. let 20. století. Mikročástice pokryté DNA jsou nastřeleny do rostlinného pletiva při vysoké rychlosti. Čím vyšší byla rychlost částic, tím hlubší bylo proniknutí do cílového pletiva. Přizpůsobený gen byl zaveden jako plazmid (kruhová molekula DNA schopná replikace v bakteriálním hostiteli) s nadměrným reprodukčním množstvím a zařadil se do rostlinného genomu hned co pronikl do buňky. Na rozdíl od jiných strategií má bombardování mikročásticemi výhodu v tom, že může být uplatněno k přemístění velkých částí DNA nebo k přenosu celých chromozomů (Schmidt, 2008).



Obr.3 Schéma balistické zbraně. Zdroj: Biology reader

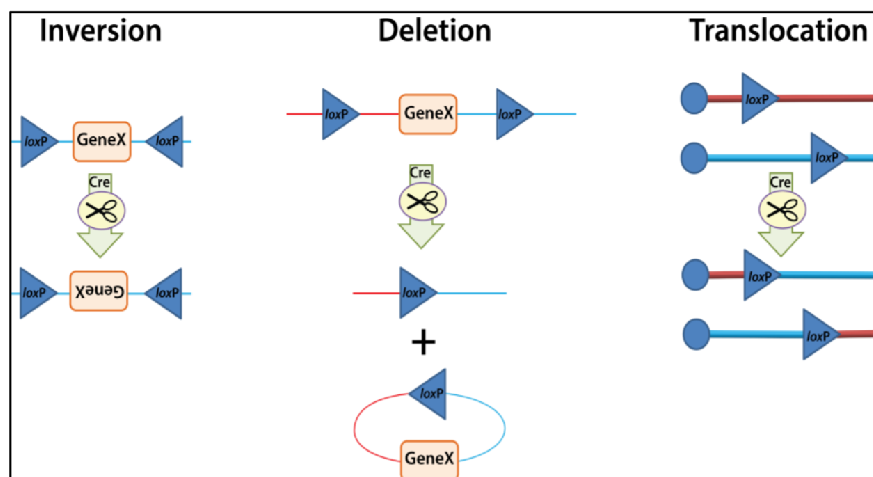
4.4. Genové markery

Existuje několik různých způsobů použití genetických nástrojů, které se aplikují pro úpravu genotypu rostlin a živočichů. MAS (marker-assisted selection) je nástrojem k selekci jedinců dle vhodného genotypu DNA markeru – využívá se genetické vazby markeru na jednotlivé znaky ovlivňující požadované vlastnosti rostlin. Tento proces umožňuje tvorbu nových odrůd podstatně efektivněji než konvenční šlechtění, nicméně je omezené genetickou architekturou znaků a spíše je reálné u znaků s jednoduchou architekturou (malý počet genů s relativně velkým účinkem). Např. MAS byl použit výzkumníky v Mexiku pro zlepšení odolnosti kukuřice proti suchu a virům (Lemaux, 2006). Binární vektorové systémy zahrnují selektovatelné markery pro produkci transgenních rostlin. Jedná se o gen, který umožňuje selekci transformovaných buněk a tkání z nich regenerovaných v cílovém pletivu, kromě netransformovaných buněk/pletiv.

V lesnictví se často využívají molekulární markery při výzkumu genetické diverzity v populacích stromů. Využití markerů pro zvýšení účinnosti šlechtění a selekce stromů bude v následujících letech pravděpodobně častější v lesnickém provozu. MAS (Marker Assisted Selection) a MAB (Marker Assisted Breeding) jsou metody šlechtění stromů, které využívají molekulární markery k identifikaci požadovaných genetických variant. Tyto techniky umožňují vytváření genetických map a lokalizaci genů zodpovědných za určité znaky. MAS umožňuje výběr požadovaných alel, zatímco MAB se zaměřuje na rozčlenění a výběr kandidátních genů. Tyto metody jsou populární v Severní Americe, Evropě a na Novém Zélandu, avšak jsou nákladné a omezené na specifické druhy a rodokmeny. Přestože se jejich použití nerozšířilo v takové míře, jak se původně očekávalo, MAS a MAB mají stále potenciál ve šlechtění dřevin (Walter a Menzies, 2010).

Použití rekombinace je jednou z neúčinnějších technologií. Jsou to enzymy, které katalyzují rekombinaci DNA. Systémy CRE-LOX a FLP-FRT jsou nejčastěji používané místně specifické rekombinázy. Rekombinační činnost katalyzovaná těmito enzymy je řízena ovládaná rozpoznávacími místy. Pokud je orientace stejná, dojde k vyříznutí DNA mezi oběma místy, pokud je orientace opačná, dojde k převrácení DNA. Strategie pro použití rekombinázy při produkci GM plodin bez markerů,

zahrnují: inženýrství LOX míst na obou stranách markerového genu; exprese enzymů CRE rekombinázy v transgenní rostlině nebo tkáni po selekci; a oddělení transgenních rostlin bez markerů z potomstva pro GM vývoj plodin (Nicolia a kol.,2014; Parrot a kol.,2010).



Obr. 4 Systém CRE-LOX. Zdroj: Juchheim, A.M., 2015

Živočichové nebo lidé konzumují jen velmi malé množství DNA, které je úplně běžné a rozkládá se stejným trávicím procesem (Rizzi a kol., 2012). Riziko pro výrobu antibiotik spočívá v tom, že by mohly být začleněny buď do DNA zvířete, které DNA požilo, nebo do mikrobů ve střevě, což je činí odolnými vůči antibiotikům. Celý gen pravděpodobně zůstane nedotčen, protože během trávení rozštěpena na velmi malé fragmenty (Oliver, 2014).

Další molekulární techniky pro identifikaci kandidátních genů zahrnují supresní subtraktivní hybridizaci (SSH), PCR s diferenciálním zobrazením (DD-PCR) a cDNA-AFLP (amplifikovaný polymorfismus délky fragmentů). Tyto techniky umožňují identifikaci vývojových, tkáňově specifických a diferenciálně exprimovaných genů a jsou výkonnými nástroji pro molekulárně genetické a poziční klonovací studie. SSH a DD-PCR byly použity pro identifikaci změněné exprese genů a identifikaci specifických genů v různých organismech, jako jsou kaučukovníky a meruňky. Metoda cDNA-AFLP byla účinnou alternativou k mikročipům a byla použita k analýze exprese genů během vývoje brambor a spojených se zralými embryi

a vysycháním rostlin u mandloní. Tyto molekulární techniky představují cenný nástroj pro studium genové exprese a identifikaci specifických genů v různých organismech (Meilan a kol., 2010).

Jednou z účinných metod potlačení reprodukčních struktur je technická sterilita, ale její uplatnění zůstává nejisté. Objevování genů, zejména u lesních dřevin, může být značnou výzvou vzhledem k vlivu regulačních genových sekvencí a neznámých sekvencí kódujících RNA na jejich fenotypové účinky (Burdon a Wilcox, 2007). Přenos genů během pohlavního rozmnožování je nadějnou technologií, avšak představuje výzvu pro lesní dřeviny. Tento přístup nezabraňuje přesunu zdrojů do reprodukce a nespolehá na integraci do přirozeného reprodukčního systému. Pro snížení potenciálních negativních dopadů na genetickou diverzitu populace je třeba doplnit tento proces s řízeným šlechtěním (Luo a kol., 2007).

Zavedením techniky “zranění” buňky *A.tumefaciens* se povedlo podpořit kontakt bakterií s modifikovanými rostlinnými buňkami. Účinnost transformace se zvýšila desetinásobně když “zraněné” buňky s čepelí potaženou *A. tumefaciens* byli namočené do suspenze. Metoda, která se zaměřuje na vývoj vajíček *A. tumefaciens in situ*, odstraňuje potřebu regenerovat celou transgenní rostlinu v tkáňové kultuře. Metoda “floral-dip” se již dlouho používá k transformaci rostliny *Arabidopsis thaliana*. Variace této metody byly použity pro k transformaci pšenice, pakchoi, řepky, čiroku, kukuřice, bavlny a pšenice aplikací *A. tumefaciens* přímo na pestík (Oliver, 2014).

4.5. Hodnocení rizik

Hodnocení rizik se zaměřuje na srovnání geneticky modifikovaných a nemodifikovaných plodin z agronomických, morfologických a dalších hledisek. Bezpečnost těchto plodin je posuzována v porovnání s tradiční plodinou, která je považována za bezpečnou a běžně se konzumuje. Pokud jsou rozdíly ve složení GM plodiny odlišné od rozsahu nemodifikovaného protějšku, následuje další posouzení bezpečnosti (WHO, 2003; Parrot, 2005). Dosud testované GM plodiny byly

považovány za bezpečné, a nedávné výzkumy naznačují, že GM plodiny jsou více podobné nemodifikovaným liniím než plodiny vyšlechtěné tradičními metodami. Tato závěrečná analýza podporuje názor, že vkládání transgenů do rostlin za účelem vytvoření GM plodin nepředstavuje vyšší riziko než tradiční šlechtění. I když testování rovnocennosti pomocí těchto analýz není běžné, GM plodiny jsou přesto podrobovány přísnějším testům než obvyklé plodiny (Ricroch a kol., 2011).

4.6. Odolnost vůči herbicidům

Geneticky modifikované plodiny jsou rozšířené po celém světě, což redukuje používání chemikálií. GMO mohou šířit své vlastnosti do sousedních plodin, i když tyto plodiny nejsou geneticky modifikované. To je problém v ekologickém zemědělství, protože certifikace plodin, které nejsou geneticky modifikované, je tímto podmíněna. Zabránit tomuto jevu zůstává výzvou v rostlinné výrobě. U mnoha plodin se uvažuje o strategiích soužití a jejich uplatnění vychází nejen z vědeckých nebo společenských tlaků, ale také z faktorů ekonomické proveditelnosti (Nikolia a kol., 2014). Mezi tyto strategie patří izolace vzdáleností, aby se zabránilo toku pylu z jedné plodiny na druhou, postupy sklizně, které omezují hromadění zbytkových semen, postupy přepravy a skladování po sklizni. K izolaci genů pro zlepšování stromů byly použity různé přístupy, včetně mutační analýzy a cíleného příbuzenského křížení. Tyto konvenční metody jsou však pomalé, pracné a mohou vést k nedostatečné vitalitě a tvaru stromů. Zlepšování stromů pomocí těchto metod tak může trvat mnoho desetiletí (Bradshaw and Strauss, 2001).

Geneticky modifikované plodiny jsou odolné vůči pesticidům a mohou ovlivnit biologickou rozmanitost v zemědělských ekosystémech. Tradiční zemědělství má větší negativní dopad na životní prostředí, protože způsobuje změny stanovišť a ekosystémů. Geneticky modifikované plodiny zvyšují výnosy a snižují potřebu půdy k zemědělství. Rovněž umožňují využití metod minimálního obdělávání půdy, které zlepšují kvalitu půdy a snižují odtok vody a ztráty živin (Oliver, 2014). Geneticky modifikované plodiny odolné vůči herbicidům také umožňují použití méně škodlivých chemikálií. Konkrétně glyfosát a glufosinát jsou herbicidy s průměrnou perzistencí 40

dní a mírnou toxicitou (Roland, 2011). Existují obavy, že použití herbicidu představuje větší riziko špatného dopadu na životní prostředí. Proto vědci vyvinuli metriku nazvanou Environmental Impact Quotient (EIQ), která využívá údaje o expozici a toxicitě pro každý herbicid, pesticid a fungicid k vytvoření jediné hodnoty, která v představuje průměrné riziko/dopad pro zemědělce, spotřebitele a ekology (Kovach a kol., 1992). EIQ je definováno jako parametr, který vzniká vynásobením EIQ pro konkrétní herbicid množstvím účinné látky aplikované na hektar, což umožňuje přímé srovnání mezi použitím obvyklého herbicidu a produkcí GM plodin (Brookes a Barfoot, 2014).

4.7. Rezistence proti hmyzu

Při vývoji geneticky modifikovaných plodin odolných vůči hmyzu se nejčastěji používá transgen, který umožňuje produkci bílkovinného toxinu CRY z bakterie *Bacillus thuringiensis* (Bt). Tento toxin působí na housenky a brouky, kteří plodiny poškozují. Toxiny CRY jsou škodlivé pro hmyz, ale neškodí obratlovcům ani člověku (Bravo, 2007; Sanchez, 2010). Studie ukazují, že geneticky modifikované plodiny jsou bezpečné pro lidskou spotřebu a životní prostředí. Geneticky modifikované Bt plodiny produkují toxin pouze pro hmyz a minimalizují tak riziko pro životní prostředí (Roland, 2011). Dosud nebyly prokázány negativní účinky přenosu genů na volně žijící druhy. Přítomnost genů odolných vůči hmyzu může poskytnout selekční výhodu v podobě zvýšené produkce osiva (Mannion, 2013; Baulcombe, 2014). Studie také ukázaly, že plodiny s Bt genem jsou méně přizpůsobené prostředí, ale lépe přežívají při napadení hmyzem. Ekologičtí zemědělci se obávají přenosu genů mezi geneticky modifikovanými a okolními plodinami, a proto musí přijmout specifické strategie řízení. Některý hmyz si vyvinul odolnost vůči Bt toxinu kvůli jeho nedostatečnému množství nebo kvůli nákladnosti úkrytů. Proto jsou zaváděny strategie jako je zvýšení množství proteinu dodávaného rostlinou nebo smíchání geneticky nemodifikovaných semen s Bt-GM osivem (Oliver, 2014).

Používání Bt GM plodin výrazně snížilo používání chemických pesticidů ve všech zemích, kde byly pesticidy užívány, což snižuje dopady na životní prostředí a

související zdraví člověka (Mannion, 2013; Quaim, 2009). Snížení se vztahuje jak na množství účinných látek, tak na její EIQ u každé základní rostliny. Příznivé ekonomické, environmentální a zdravotní účinky sníženého používání pesticidů se zaměřují na určitý hmyz (nebo jiné bezobratlé) a jsou přímým výsledkem schopnosti GM technologie integrovat pesticidy do rostlin (Brookes a Barfoot, 2014).

Laboratorní experimenty s krměním Bt pylem ukázaly, že Bt-GM kukuřice představuje vážnou hrozbu pro ochranu motýlů monarchových ve Spojených státech a vyvolalo to debatu o potenciálním dopadu Bt-GM plodin na biologickou rozmanitost. Bylo shromážděno velké množství údajů pro hodnocení environmentálního vlivu Bt-GM plodin na biologickou rozmanitost užitečných organismů i cílových škůdců. Analýza literatury ukázala, že biodiverzita půdy nebyla používáním Bt-GM plodin z velké části ovlivněna (Gatehouse, 2002). Byly pozorovány změny v půdních mikroorganismech, ale tyto změny nemají zjevnou příčinu nebo mohou být způsobeny půdním typem, teplotou nebo jinými faktory. Bt-GM plodiny nemají významné negativní účinky na užitečné organismy nebo na cílové škůdce. Přirození predátoři a parazité byli zaznamenáni pouze v kontrolovaných laboratorních a skleníkových studiích, kde hmyz živící se Bt-GM rostlinami nebyl usmrcen, ale pouze zraněn. V oblastech, kde se pěstují Bt-GM plodiny, se populace cílových škůdců zredukovaly (Carpenter, 2011). Nedávné studie o dopadu Bt-GM plodin ukazují, že se zavedením Bt bavlny a souvisejícím snížením používání pesticidů došlo k poklesu výskytu cílového hmyzu, zavíječe bavlníkového, a k výraznému nárůstu výskytu některých běžných predátorů. S nárůstem běžných predátorů se zvýšily i populace zavíječe bavlníkového, který poškozuje rostliny, ale není kontrolován Bt toxiny. Účinky na užitečné predátory zajišťují biologickou kontrolu rostlinných škůdců, kteří ovlivňují sousední rostliny, jež nemusí být geneticky modifikovány (Lu, 2018; Oliver, 2014)

5. Legislativní regulace v EU (direktiv 2009/41/EC) a další předpisy

5.1. Právní předpisy GMO v ČR

V ČR pláti zákon č. 149/2003 Sb. o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin. Tento zákon dovoluje použití GMO k renovaci lesů, pokud reprodukční materiál bude schválen příslušnými institucemi, bude splňovat požadavky a projde bezpečnostní kontrolou. Zákony o ochraně životního prostředí před působením GMO jsou zaměřené na předcházení vzniku rizik a případnými nežádoucími dopady. Existuje také havarijný plán podle zákona 78/2004 Sb o nakládání s GMO a zákon č. 167/2008 Sb., o předcházení ekologické újme a o její nápravě (Foldyna, J., 2013). – prosím o úpravu citace, aby odpovídala formátu použitým v celé práci.

Před uvedením na trh v ČR musí být GM plodiny nejdříve schválené Evropskou komisí a musí projít vyhodnocením rizik a různými kontrolami. Pěstování GM plodin v ČR jsou řízeny určitými právními předpisy: zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství; vyhláška č. 89/2006, o podmínkách pěstování geneticky modifikovaných odrůd; zákon č. 78/2004, o nakládání s GMO a GM produktu; nařízení č.1829/2003 o GM potravinách a krmivech; nařízení č.1830/2003 o označování GMO a zpětné dohledatelnosti potravin a krmiv z GMO. Pěstitelé GM rostlin v ČR musí oznámit svůj záměr pěstování příslušným orgánům a také dalším sousedním zemědělcům (Křístková, 2009).

5.2. Evropské směrnice

Existují dva hlavní regulační systémy pro obchod s reprodukčním materiálem lesních dřevin: systém OECD a směrnice Rady EU. Systém OECD byl vytvořen v roce 1974 a revidován v roce 2007 s cílem harmonizovat předpisy mezi členskými státy OECD a EU. Směrnice Rady EU pak obsahuje předpisy pro uvádění geneticky modifikovaného reprodukčního materiálu lesních dřevin na trh. Geneticky modifikovaný reprodukční materiál lesních dřevin musí splňovat požadavky dvou směrnic: Směrnice Rady 90/220/EHS a Směrnice Rady 1999/105/ES. Tyto směrnice

stanoví požadavky na získání povolení k uvádění geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a na uvádění reprodukčního materiálu na trh (Muhs, 2010).

Nové technologie by mohly zvýšit produkci lesních dřevin pro získávání biomasy a jiných materiálů. Nařízení EU však neumožňují, aby GM plodiny vstoupily na trh bez ekonomických, sociálních a ekologických výhod. V roce 2010 byla zahájena akce European Science and Technology Cooperation Action. Jejím účelem bylo zhodnotit vědecké poznatky o biotechnologii GM lesních stromů, což bylo základem pro budoucí evropskou politiku v této oblasti (Custers a kol., 2016).

V Evropě je pěstování GMO, včetně geneticky modifikovaných lesních dřevin, omezeno a vyžaduje dodržování vnitrostátních právních předpisů provádějících směrnici 2009/41/ES. Záměrné využití transgenních rostlin pro experimentální účely musí být v souladu s částmi B a C směrnice 2001/18/ES. Národní legislativa upravuje část B ověřování a vyžaduje povolení ke zkoušce v terénu od příslušné státní agentury. Část C sleduje evropský přístup, který vyžaduje rozhodnutí většiny členských států EU. Předpisy EU vyžadují postupné přezkoumání pro zkušební verze a verze pro přístup na trh. Odhad rizika v Evropě zkoumá přímé, nepřímé, bezprostřední a dlouhodobé dopady na lidské zdraví a životní prostředí. Evropský úřad pro bezpečnost potravin vydal několik pokynů a vědeckých doporučení pro předepisování posouzení rizik. Mnoho témat obsažených v těchto dokumentech souvisí s odhadem rizik a genetickou modifikací plevelů. Zákon stanoví, že u transgenních rostlin je třeba při formulaci problému u posouzení rizik zvážit a řešit následující otázky, pokud je identifikováno potenciální nebezpečí u formulaci problému: i) vytrvalost a invazivita; ii) vytrvalost a invazivita ve volné přírodě; iii) četnost a důsledky horizontálního přenosu genů; iv) účinky na cílové organismy; v) účinky na necílové organismy; vi) dopady specifického pěstování, hospodaření nebo techniky sklizně; vii) účinky na biogeochemické procesy; viii) dopady na zdraví lidí a zvířat prostřednictvím expozice bez požití, včetně posouzení alergenity (Custers a kol., 2016).

Proces hodnocení rizik pro evropské lesní dřeviny je dlouhý a nákladný, proto je potřeba vyhodnotit potenciální dlouhodobé účinky, provést terénní pokusy a sebrat

data o posuzování rizik. Pro žadatele je obtížné předvídat rozsah a podrobnosti požadavků pro hodnocení necílových organismů. Pokyny ohledně požadovaných údajů a použití předpokládaných nástrojů k určení dlouhodobého dopadu hodnocení environmentálních rizik by mohly pomoci GM plodinám. Neexistuje žádná záruka, že GM lesní dřeviny budou schváleny i když obdrží pozitivní vědecké stanovisko od Evropského úřadu pro bezpečnost potravin. Členské státy EU mohou omezit nebo zakázat pěstování GM plodin na svém území z důvodů, které se specificky nevztahují s rizikem (Custers a kol., 2016).

Cílem evropské legislativy spojené s GMO je zachovat životní prostředí a lidské zdraví, zvláště ohrožené druhy a biotopy. Geneticky modifikované lesní dřeviny jsou vyšlechtěny pro použití při zalesňování, ale nejsou určeny k vysazování do chráněných stanovišť. S vyšším využitím geneticky modifikovaných dřevin však bude menší tlak na přirozené lesy. Na trh nemohou být zavedeny ani ty druhy, které mají zřetelné ekonomické, sociální a environmentální přínosy, kvůli tomu, jak probíhá aktuální rozhodovací proces (Evropská komise, 2010).

GM topoly se již pěstují v Číně a jsou v procesu schválení v Severní a Jižní Americe (ISAA, 2016). Podle předpovědi vědců další vývoj GM plodin bude probíhat mimo EU. Stejný vývoj je pravděpodobný pro GM lesní dřeviny. Rozhodovací proces pro udělování licencí pro GM zaměřené na lesní plantáže by se měl více zaměřit na vědecké hodnocení, které by mělo být také použito jako základ pro management GM lesních plantáží (Custers a kol., 2016).

5.3. Biologická bezpečnost transgenních stromů

Od konce 80. let 20. století byly zdůrazněné různé názory a obavy různých zemí ohledně akceptace GM dřevin. K řešení mezery ve znalostech byla vytvořena akce Evropské unie EU-COST (Kooperace ve vědě a technologiích) FP0905, jejímž cílem je posílit vědecký základ pro bezpečný vývoj a implementaci geneticky modifikovaných stromů, zejména v evropském kontextu. Cíle akce zahrnují vyhodnocení vědeckých údajů o biologické bezpečnosti geneticky modifikovaných

stromů, řešení existujících mezer ve znalostech a formulování vědeckých základů pro politické směrnice EU (Fladung a kol., 2012).

Hodnocení rizik dlouhověkých stromů se výrazně liší od zemědělských plodin kvůli jejich složitým ekosystémovým funkcím. Je nezbytné shromáždit a sloučit různé databáze o transgenních lesních stromech pro usnadnění kontroly regulačními orgány, jako je Evropský úřad pro bezpečnost potravin a institucemi dohlížejícími na hodnocení bezpečnosti geneticky modifikovaných stromů, např. MŽP. Tato iniciativa představuje významný krok v podpoře evropské vědecké spolupráce a výměny znalostí v oblasti biologické bezpečnosti, zejména ve světle probíhajících diskusí o geneticky modifikovaných rostlinách a jejich úloze při udržitelnosti životního prostředí a zmírňování změny klimatu (Fladung a kol., 2012).

Akce COST FP0905, podporovaná 26 státy EU a dalšími státy, má za cíl rozšířit vědecké poznatky v této oblasti. Hlavním cílem je dosáhnout ideálního stromu s vysokým výnosem biomasy, přizpůsobivým klimatu a minimální potřebou vody a živin. Genetické technologie nabízí rychlejší alternativu oproti tradičnímu šlechtění, s možností zlepšení odolnosti vůči škůdcům a vlastností biomasy, biopaliv a zpracovatelnosti. COST Akce FP0905 je první svého druhu, reagující na globální zájem a přispívající k vědecké výměně a vytvoření společného základu pro výzkum geneticky modifikovaných stromů (Fladung a kol., 2012).

5.4. Úmluva o biologické rozmanitosti

Biotechnologie jsou důležitou součástí lesního hospodářství a zahrnují množení, mezidruhové křížení a molekulární nástroje pro výběr genotypů (Grattapaglia a kol., 2009). Využití rekombinantních technologií se používá k ekologické regeneraci prostředí a zachování dřevin, které byly dotčeny chorobami. Například zvýšená odolnost kaštanů a jilmů vůči chorobám by mohla podpořit biologickou rozmanitost lesů. Tento přístup je uznáván Cartagenským protokolem, který doporučuje, že hodnocení rizik GMO by mělo být prováděno s ohledem na použití a prostředí, ve kterém se mohou vyskytovat (Brunner a kol., 2007).

Kvůli úmluvě o biologické rozmanitosti (CBD) se ekologičtí aktivisté snažili zakázat terénní výzkum a komerční vývoj geneticky modifikovaných (GM) stromů. Cílem úmluvy o biologické rozmanitosti (1993) bylo zachovat a přijatelně využívat biologické a genetické zdroje. CBD a Cartagenský protokol (2000) byly přijaty jako zvláštní ustanovení pro regulaci transgenních organismů. Cartagenský protokol se specializuje na biologickou bezpečnost a kontrolu přenosu GMO, má sloužit při rozhodování o dovozu GMO a vytváření národních předpisů o biologické bezpečnosti. Biotechnologie může mít přínosy, ale odmítavý postoj některých zemí EU a neziskových organizací způsobuje negativní názor. Evropská komise přijala dvě usnesení, která se týkají geneticky modifikovaných stromů a varují před možným šířením jejich genů. Usnesení neposkytuje srovnávací hodnocení rizik, což je v rozporu s požadavky Cartagenského protokolu (Jaffe, 2005). Navržená doporučení komise určují přísná pravidla a kontroly pro všechny GM stromy, což je proti zásadám ekologických organizací. Návrh také nebere v úvahu možné přínosy GM stromů a zabývají se potenciálem GM metod v prevenci šíření invazních druhů (Strauss a kol., 2009).

V roce 2004 CBD zahájila aktivní kampaň proti geneticky modifikovaným stromům, kvůli riziku šíření pylu a semen. Pro tuto akci byl vypracován dokument, který se zabýval přínosy a riziky spojenými s používáním geneticky modifikovaných stromů. Do kampaně proti GM stromům se zapojilo 137 organizací (např. Greenpeace). Nejvíce byly posuzované plantáže (Strauss a kol., 2009).

Polní výzkum geneticky modifikovaných stromů je prováděn s vysokou biologickou bezpečností a kontrolou květů a semen, aby se zabránilo jejich šíření. Tyto polní pokusy nezpůsobily žádné škody na biologické rozmanitosti ani životním prostředí. Pomocí polních pokusů lze posoudit ekonomickou hodnotu a ekologický dopad GM stromů, lze zkoumat různé vlastnosti stromů (Campos, 2004). Důležitou součástí polního výzkumu je také sběr dat, který dává realistický obraz o ekologických účincích těchto rostlin. Je však třeba provést další polní pokusy, aby bylo možné získat co nejpresnější informace o dopadu GM stromů na životní prostředí (Strauss a kol., 2009).

6. Výhody a rizika spojená s využitím GMO z pohledu lesnictví a ochrany přírody v České republice

V ČR se genetická modifikace zatím uplatňovala pouze v zemědělství nebo ve zdravotnictví. Využití GM stromů by pomohlo s různými problémy v lesnictví, ale momentálně se žádné využití neuvádí a můžeme tak sledovat pouze výzkum a pokrok v jiných zemích. Šlechtění geneticky modifikované kukuřice by nadále mohlo přinášet výhody v zemědělství a ekonomice, ale v současnosti se tyto plodiny v ČR nepěstují. Ministerstvo zemědělství sděluje, že od r. 2017 se na území ČR nepěstují GM plodiny (MZe, 2017).

6.1. GMO v České republice

Geneticky modifikovaná kukuřice odrůdy MON 810 byla zapsaná do katalogu zemědělských rostlin EU v roce 2004. GM kukuřice se začala pěstovat v ČR od r. 2005 a byly k tomu využívány převážně menší plochy. Po prvních zkušenostech s pěstováním byl proveden výzkum na základě názoru od pěstitelů. Zavádění GM kukuřice mělo své výhody a nevýhody. Přínosem této plodiny bylo např. ochrana proti škůdci zavíječi kukuřičnému (*Ostrinia nubilalis*), zlepšilo to zdraví rostlin a snížilo se použití pesticidů. Největší potíže spočívaly v administrativě spojené s GM plodinami, ceně semínek a omezeném zájmu ze strany odběratelů kukuřice (Kučera L., Čeřovská M., 2006).

Společnost ISAAA uvádí, že v roce 2005 se ve světě nejvíce pěstovaly GM sója, kukuřice, bavlna a řepka na přibližně 400 mil. hektaru půdy. V EU byla použita směrnice 2001/18/EC a nařízení č. 258/1997 a 1829/2003 pro schválení pěstování a dovoz GM výrobků. Pro testování bezpečnosti GM potravin byla vytvořena metoda „substantial equivalence“. Tento postup srovnává běžný organismus a stejný GM organismus a na základě toho lze posoudit, zda GM organismus má nějaké rizikové faktory. Při posuzování o bezpečnosti těchto plodin jsou důležité následující faktory:

výskyt specifických genů, toxické a alergenní účinky, výživové působení a choroboplodnost u GM mikroorganismů (Rupich J., 2006). dtto citace

Na začátku se Bt kukuřice (Bt = *Bacillus thuringiensis*) pěstovala v Jihomoravském kraji, ale později se rozšířila i do Středočeského, Plzeňského a Královéhradeckého kraje. Plodina byla pěstovaná pouze pro krmení zvířat a dle dotazníku byla využita v rozsahu vlastních firem. Studie zjistila, že Bt kukuřice je výhodnější oproti tradiční kukuřici, protože je méně nákladná. Některým pěstitelům vyhovuje tato kukuřice a stále ji používají jako krmivo pro zvířata. Jiní zemědělci odstoupili od pěstování této plodiny z důvodu složitých administrativních potřeb a obtížného prodeje vypěstovaných rostlin (Křístková, 2009).

V roce 2003 byl zveřejněn seznam registrovaných GM plodin v EU prostřednictvím Úředního věstníku Evropské unie. Dle nařízení č. 1829/2003 jsou registrované tyto plodiny: bavlna, kukuřice, sója, cukrová řepa. Tento dokument uvádí, že schválené potraviny nesmí mít nepříznivé účinky na lidský organismus a nesmí se lišit od tradičních potravin, které má GMO nahradit (Evropská komise, 2003).

V roce 2015 Evropský parlament schválil směrnici č. 412/2015, která měla omezit nebo zakázat pěstování těchto plodin na území členských států (Ministerstvo zemědělství, 2015).

V tabulce lze vidět vývoj plochy v České republice, na které se pěstovala modifikovaná kukuřice v letech 2005–2015. Z těchto informací je patrné, že postupem času začala klesat její plocha.

Tabulka 1. Zdroj: MZe, 2015

Rok	Plocha (ha)	Počet pěstitelů
2005	150	51
2006	1290	82
2007	5000	126
2008	8380	167
2009	6480	121
2010	4680	82
2011	5090	64

2012	3050	41
2013	2560	31
2014	1754	18
2015	997	11

Evropské sdružení výrobců krmiv (FEFAC) sdílí, že velké množství krmiva pro zvířata je původem z GM. Kukuřice a sója obsahují důležité bílkoviny pro zvířata a tyto plodiny jsou často vypěstované pomocí GM (FEFAC).

Česká inspekce životního prostředí je organizace, která dohlíží na plnění právních předpisů fyzických a právnických osob, které mohou manipulovat s GMO. ČIŽP může provádět kontroly a brát vzorky, udělovat pokuty, zakázat práci s GM výrobky (Fornůsková, 2011).

MŽP schválilo použití GMO v lékařství (oddělení hematologie) v nemocnicích v Praze, Brně, Hradci Králové a v Olomouci. Dle § 5 odst. 12 zákona č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy bylo schváleno použití léčivého přípravku, který obsahuje GM T-lymfocyty (MŽP, 2023).

6.2. Lesnictví a produkce biomasy

Lesní dřeviny jsou široce využívány v navazujícím dřevozpracovatelském průmyslu, přispívají k zachování biodiverzity a zamezují negativním účinkům klimatických změn. S větším zájmem o využitím lesních dřevin dochází k odlesňování. Tradiční lesnictví nemůže stačit pro zabezpečení rostoucí spotřeby, a proto vhodným je řešením použití nových technologií, které umožňují rychlé pěstování lesa. Lesy pomáhají udržovat biologickou rozmanitost, chránit půdu a vodní zdroje a zmírňovat změnu klimatu a zvyšující se úroveň CO₂ (Sedjo, 2001). Lesy také poskytují sociální a environmentální výhody, kromě toho, že dodávají širokou škálu komerčních produktů. Roste zájem o využití rychle rostoucích lesních dřevin s krátkým obmýtím jako bioenergetické plodiny druhé generace. Zvýšenou poptávku po lesních produktech však provází rychlé odlesňování. Existuje naléhavá potřeba opětovného zalesnění a zřízení specializovaných plantáží. Tradiční šlechtitelské programy samy o sobě již nestačí ke splnění těchto požadavků z důvodu dlouhého období a

nepřítomnosti přirozených genů potřebných k dalšímu navýšení komerčně důležitých vlastností. Nedávné pokroky v molekulární biologii lesních stromů, včetně objevování genů, profilování transkriptů, sekvenování genomu a genetického mapování, vydláždily cestu ke genetickému inženýrství stromů pro vysoce výnosné klonální plantáže (Harfouche a kol., 2011).

Lesy jsou klíčové ekosystémy pro zachování biologické rozmanitosti, regulaci klimatu a poskytování zdrojů pro lidskou společnost. Neudržitelné lesnické postupy, však vedou k degradaci lesů a ztrátě biologické rozmanitosti. Změna klimatu dále zhoršuje problémy, kterým lesnictví čelí, a způsobuje suchu, výskyt škůdců a lesní požáry. Genové inženýrství nabízí nové nástroje pro zvýšení udržitelnosti a produktivity lesů. Úpravou genů zodpovědných za klíčové vlastnosti, jako je růst, výnos a odolnost vůči stresu, může genové inženýrství zlepšit produkci a poskytnout nové příležitosti pro udržitelné lesnictví a produkci biomasy (Sticklen, 2006).

Genové inženýrství nabízí několik potenciálních výhod pro udržitelné lesnictví a produkci biomasy. Inženýrství zlepšující vlastnosti dřeva, jako je zvýšená hustota a snížený obsah ligninu, může zvýšit kvalitu dřeva a usnadnit jeho zpracování pro výrobu buničiny a papíru. Zlepšení růstových a výnosových vlastností, jako je zvýšená fixace uhlíku a fotosyntéza, může zvýšit produktivitu lesa a produkci biomasy. Technické vlastnosti, jako je odolnost vůči stresu, odolnost vůči suchu a škůdcům, mohou zlepšit přežití stromů a snížit potřebu chemického ošetření (Wegrzyn, 2010).

Používání genového inženýrství u lesních dřevin však také vyvolává etické a environmentální obavy. Značné obavy vzbuzuje potenciální dopad transgenních stromů na původní ekosystémy a biologickou rozmanitost. Je nezbytné vyhodnotit možná rizika spojená se zaváděním transgenních stromů a zajistit jejich omezení a řádné monitorování. Genové inženýrství stromů nabízí nové nástroje pro zvýšení udržitelnosti a produktivity lesů. Zlepšení vlastností dřeva, zvýšení produkce a odolnosti vůči stresu může poskytnout nové příležitosti pro udržitelné lesnictví a produkci biomasy. Je však nezbytné zvážit potenciální etické a environmentální problémy spojené s používáním transgenních stromů. Pro zajištění ochrany původních

ekosystémů a biologické rozmanitosti je nezbytné vytvořit regulační rámce a pokyny pro odpovědné využívání genového inženýrství (Harfouche a kol., 2011).

Ve studii z r. 1996 byl monitorován pohyb transgenu pomoci pylu a jejich přežití v divokých plodinách. Výsledky studie naznačují, že pyl má schopnost se přenášet na velkou vzdálenost a transgeny mohou ovlivňovat přírodní populace. Rozptyl pylu životaschopnými semeny v zavedených rostlinách je závislý na vzdálenosti od izolovaných míst, což naznačuje, že šíření neovlivňuje klíčení pylu. Také bylo hodnoceno, zda by se transgen selektoval ve volné přírodě, zvláště pokud je herbicid široce používán. Studie zjistila, že zatímco některé přírodní populace podléhaly kontrolním opatřením, aplikace herbicidů byla relativně nízká. V populacích, které byly postříkány herbicidy, byly pozorovány přežívající rostliny schopné produkovat semena. Studie proto naznačuje, že tolerance glufosinátu pravděpodobně významně neovlivní přežití přírodních populací ve studované oblasti. Je proto důležité zvážit potenciální budoucí změny v aplikaci glufosinátu. (Timmons, M., 1996)

6.3. Výhody GMO

Světová populace se neustále zvětšuje a je otázkou jak zabezpečit globální potravinové zdroje. Výroba geneticky upravených plodin by mohla zajistit stálou zásobu potravy, když s pomocí klasického šlechtění nelze tohoto dosáhnout. Pomocí genového inženýrství je možné řešit takové podstatné problémy dnešní doby jako zabezpečení potravin, přizpůsobení se změně klimatu a udržitelnost životního prostředí. Dává to možnost zvýšit zemědělskou produkci, snížit dopady na životní prostředí, zajistit výživu a posílit postavení znevýhodněných lidí. Genové inženýrství může podpořit zemědělství snížením používání pesticidů a jiných chemikálií, efektivnějším využíváním půdy a snížením emisí skleníkových plynů v procesu pěstování potravin (Oliver, 2014).

Geneticky modifikované plodiny jsou důležité pro rozvoj zemědělství. Plodiny se musí neustále vyvíjet, aby se přizpůsobily novým výzvám a nátlaku rychle rostoucí světové populace, změně klimatu a musí snížit dopad na zemědělství. Těchto cílů lze

dosáhnout zvýšením zemědělské kapacity a případně snížením peněžních a ekologických nákladů. Jednou z výhod genetického inženýrství je rychlé pěstování rostlin nebo odrůd s potřebnou vlastností, je to značně podstatné ve vztahu ke změně klimatu (Long, 2010).

Biotechnologie v lesnictví přináší mnoho výhod, jako je bioremediace, zalesňování a ochrana, obnova a biochemické zpracování dřeva, zvýšený zemědělský zisk, nižší používání chemikálií ve výrobě, může vylepšit hodnotu a trvanlivost potravin, používá se ekologickému čištění vody a půdy od kontaminovaných látek, může pomáhat v léčbě různých nemocí (Kellison, 2007; Fornůsková, 2011). Přesto existují obavy ohledně ekologických dopadů, zejména úniku geneticky modifikovaných druhů. Evropská unie zatím omezuje rostlinné biotechnologie, ale rostoucí poptávka po netransgenních plodinách může vést ke využívání geneticky modifikovaných odrůd. Vzhledem k úbytku orné půdy a růstu populace je důležité využívat všechny dostupné zdroje k zajištění přežití lidstva (Kellison, 2010).

6.4. Kontroverze o GMO

Existuje mnoho kontroverzí spojených s genetickou modifikací, zejména s geneticky modifikovanými potravinami. Hodně kritiků nesouhlasí s použitím této technologie na základě environmentálních nebo zdravotních rizik. Bylo prokázáno, že *Bt* toxin (*Bacillus thuringiensis*) měl negativní účinky na populace motýlů v laboratorních testech, ale další zkoumání na zemědělských plodinách potvrdilo bezpečnost této technologie (Kathage, 2012). Nevýhodou jsou potenciální rizika, které mohou vzniknout při genetické modifikaci, např. působení na lidské zdraví a biologickou rozmanitost (Fornůsková, 2011). Pokrok v GM plodinách vyvolal zásadní otázky týkající se jejich bezpečnosti a účinnosti. Celý sektor GM se potýkal s problémy souvisejícími s lidským zdravím z důvodu zřetelného nedostatku bezpečnostních studií a přítomné nedůvěry ohledně GMO. Zapříčinilo to zavedení částečných nebo úplných omezení GM plodin v Evropské unii a na Středním východě. GM zemědělství je nyní široce diskutováno v pozitivním i negativním rámci a v současné době slouží jako ohnisko debaty na veřejné i politické úrovni. GM plodiny

jsou technologii s případnými vážnými zdravotními riziky toxicity, alergií a dalších rizik s nimi spojených (Raman, 2017).

Na konci 90. let 20. století se navýšila informovanost veřejnosti o existenci GM potravin a vznikly výzvy k regulaci a označování těchto potravin v mnoha zemích. Dnes má 64 zemí má zákony o povinném označování GM potravin (Scientific American, 2013). Spojené státy stále nemají zákon o povinném označování, ačkoli mnoho nevládním skupin se snaží vyzvat k vytvoření této povinnosti. Tyto skupiny tvrdí, že označování GM potravin je důležité pro volbu spotřebitele a pro sledování nepředvídaných potíží spojených s touto technologií. Striktní opatření pro znemožnění křížové kontaminace geneticky modifikovaných plodin byly navrženy, aby se omezily problémy související s GM technologií (Evropská Unie, 2010). Nárazníková pásma k zabránění křížové kontaminace plodin, kvalitnější laboratorní testování a zahrnutí zúčastněných stran do procesu náleží do bezpečnostních opatření spojených se zaváděním GMO. Tyto připravované nařízení by mohly podpořit zemědělský průmysl v překonání potíží s GM plodinami a opět získat důvěru lidí (Rangel, 2015).

7. Scénáře budoucího vývoje

7.1. Budoucnost a předpoklady

GM plodiny jsou jedním z nejrychleji rostoucích a inovativních sektorů, z nichž mají zisk nejen šlechtitelé, ale spotřebitelé a významné ekonomické subjekty. Díky podstatnému vědeckému pokroku v nových technologiích GMO se předpokládá, že GM plodiny přinesou výkonnost a užitek pro budoucí zemědělství (Raman, 2017).

Předpokládaná ztráta orné půdy, akcelerovaná urbanizace a rychlé rozšíření světové populace zvyšuje zájem o potravinové zdroje. Dnešní zemědělské postupy nemohou udržet světovou populaci, a v budoucnu může genové inženýrství výrazně zredukovat podvýživu a hlad v globálním měřítku. Podle FAO (Organizace pro výživu a zemědělství) v roce 2030 stále bude podvyživeno 653 milionů lidí, i když se zřetelně sníží celosvětový hlad (FAO, 2017). Existuje nespočet možných využití technologií GM a samotná technologie se rychle zdokonaluje. Do roku 2050 lidé budou muset vyrábět o 70 % více potravin než v současnosti, aby byli schopni zásobit světovou populaci – upozorňuje OSN (Rangel, 2015).

Dalším komerčně pěstovaným zemědělským produktem je v současné době GM papája, první GM stromová plodina odolná vůči destruktivnímu viru lišaje papáji, který ohrožoval havajské papáje (Gonsalves a kol., 2004). GM plodiny nové generace zahrnují takové plodiny, jako je kukuřice, sója a bavlna, a využívají geny pocházející z rostlinných zdrojů, což umožňuje vývoj nových vlastností v komerčních plodinách. V prvním roce komercializace ve Spojených státech se prostřednictvím partnerství veřejného a soukromého sektoru vyvíjí špičková technologie odolnosti vůči suchu využívající bakteriální gen pro použití v Africe. Mezi ty, které se stále komercializují, patří odolnost vůči chorobám a škůdcům, účinnost fotosyntézy, účinnost živin, fixace dusíku, výroba biopaliv a biofortifikace. Geneticky modifikovaná zlatá rýže může řešit nedostatek nutričních živin pomocí biofortifikace a to by pomohlo lidem s nedostatkem vitamínu A, železa a zinku. Před vydáním každá funkce prochází přísným testováním požadovaným komerčními nebo vládními agenturami, aby se zvažila jakákoli potenciální rizika pro zdraví nebo životní prostředí (Oliver, 2014).

Vývoj GM technologie má značný potenciál, ale uplatňování "preventivního přístupu" k GM dřevinám brání pokroku. S geneticky modifikovanými dřevinami jsou spojeny různé obavy, včetně hodnocení rizik, přeshraničního pohybu a odpovědnosti. Regulační orgány mohou mít potíže s poskytnutím srovnatelných bezpečnostních odpovědí kvůli stávajícím omezením (Strauss a kol.,2009).

Geneticky modifikované lesní dřeviny často vyvolávají kritiku ze strany ekologických organizací a jejich používání je prozatím striktně regulováno v celém světě. V dnešní době je vysazení GM stromů stále zakázáno ve většině zemí, ale zavedení geneticky modifikovaných stromů by mohlo mít řadu potenciálních výhod. Další výzkum geneticky modifikovaných stromů je nevyhnutelný, jelikož mnoho existujících studií je vytvořeno na hypotetických předpokladech. Provedení dalších experimentů a studií může zjistit, jaké mohou být skutečné důsledky a dopady GMO na životní prostředí. Zkušenosti s používáním GM stromů byly zaznamenány v Číně, USA, Jižní Americe a Africe. Po zhodnocení všech možných pozitivních a negativních dopadů transgenních stromů Evropská unie by mohla zvážit použití GMO.

8. Diskuse

Tato bakalářská práce je orientovaná na podání informací o potenciálním použití geneticky modifikovaných lesních dřevin v České republice. Práce je řazená do pěti hlavních kapitol, ve kterých se věnuji historii genového inženýrství a využití GMO v lesnictví a zemědělství, metodách genového inženýrství, právních nařízeních EU spojených s GMO, výhodách a rizicích použití GMO v České republice a výhledu dalšího využití GMO.

V první kapitole jsem shrnula historii vzniku GMO a biotechnologií a využití těchto v zemědělství a lesnictví. V prvních odstavcích se lze dozvědět, že genetická modifikace byla používána zemědělci před několika tisíci lety, aby mohli vyšlechtit rostliny s nejlepšími vlastnostmi. Poté v průběhu dvacátého století došlo k vědeckému pokroku a řada testů a experimentů nás přivedla k vzniku současných metod genového inženýrství. Použití GMO v lesnictví pomáhá chránit stromy od škůdců a nemocí, může zlepšit kvalitu dřeva a může pomoci zachovat biodiverzitu. Z hlediska zemědělství využití geneticky upravených potravin nabízí možnost zajištění dostatečného množství potravin, jelikož se může pěstovat větší množství plodin, které také mohou být odolné vůči chorobám a mohou růst za různých stresových podmínek. Někteří vědci tvrdí, že upravené plodiny nemají špatný vliv na lidský organismus a že jejich použití je bezpečné, avšak je potřeba dále zkoumat možné účinky GMO. Je důležité zvážit budoucí použití těchto plodin, jelikož počet obyvatel Země se zvyšuje a je stále těžší zajistit potraviny pro celou planetu.

V druhé části jsem popsala proces vytváření GMO, jaké jsou metody genového inženýrství v lesnictví, biolistiku, problematiku genových markerů, jak lze vytvořit rostliny s odolností vůči herbicidům a hmyzu. Vytvoření geneticky modifikovaného organismu obsahuje výběr požadovaného genu, který se pak vkládá do uváděného organismu. Tato metoda používá bakterii *Agrobacterium tumefaciens*, která přenáší DNA do rostlinné buňky. V lesnictví se používá mnoho technik, které pomáhají stromům zlepšit jejich kvalitu, zvýšit odolnost ke škůdcům a snížit vlivy na životní prostředí.

Třetí část se zmiňuje o zákonech a směrnicích Evropské unie, které hodnotí a kontrolují bezpečnost GMO před tím, než mohou být povolené k použití. Zjistila jsem, že na základě výzkumu Evropská unie zcela omezuje použití transgenních organismů. V Evropské unii a České republice působí právní předpisy o GMO, které požadují, aby tyto organismy byly zhodnocené a sledované. Při řízení GMO je zohledněná ochrana lidského zdraví a životního prostředí.

Čtvrtá kapitola navazuje na předchozí informace a popisuje zkušenosti s GMO v České republice. Aplikace v českém lesnictví je právně komplikovaná a dá se říci téměř nemožná. Proto zde popisuji, jak se používaly GMO v zemědělství. V českém zemědělství jsme mohli pozorovat řadu výhod, které umožnila genetická modifikace. Např. odolnost vůči zavíječi kukuřičnému a dalším škůdcům, větší úroda, menší použití pesticidů. Tato technologie měla také řadu nevýhod: obavy z negativních vlivů životního prostředí, zdravotních rizik a bezpečnosti potravin. Vzhledem k tomu, že v ČR platí nařízení, která omezují využití GMO, je důležité posoudit již známé informace a pokračovat ve výzkumech, které by mohly pomoci při dalších rozhodnutích o využití této technologie.

V páté kapitole se zaměřuji na možné plány budoucího vývoje GMO. Genetická modifikace je technologie, která se mění a zdokonaluje a odborníci předpokládají, že v budoucnu se tato věda bude čím dál více používat. S pokrokem ve vědě můžeme očekávat, že vzniknou nové metody biotechnologie, které budou bezpečnější pro životní prostředí a lidské zdraví.

9. Závěr

V této práci jsem seznámila čtenáře se základními informacemi o genetických modifikacích, historii této problematiky a využití GMO v zemědělství a lesnictví. Cílem této práce bylo zjistit jaké jsou výhody a rizika potenciálního využití geneticky modifikovaných stromů v ČR. Ve své práci jsem čerpala zejména ze zahraničních zdrojů, jelikož není mnoho českých zdrojů k tomuto tématu.

V zemích mimo EU (Čína, USA, Jihoafrická republika) se již pěstují geneticky modifikované stromy a existují i plantáže, které by měly zmírnit tlak na přírodní zdroje a uvolnit plochu, která by byla využívána k pěstování tradičních stromů. Podle předpovědi vědců bude další využití GM stromů probíhat mimo EU.

Analýza zdrojů ukazuje, že v ČR nejsou žádné plány pro využití technologie GM v lesnictví, ale byly zde zkušenosti s GM v zemědělství. V roce 2005 byla v ČR testována geneticky modifikovaná kukuřice a poté se začala pěstovat v celé republice. Zavedení této rostliny pomohlo pěstitelům bojovat se škůdci a snížilo to použití pesticidů v zemědělství. Veřejnost má strach kvůli možným dopadům na lidské zdraví a ekologickým následkům, ale jsou i lidé, kteří věří v potenciál GMO. V dnešní době se tyto plodiny v ČR nepěstují. Je to spojeno s právními předpisy, které regulují a omezují pěstování GM plodin.

Zjistila jsem, že používání GMO v lesnictví by mohlo mít řadu výhod: mohlo by to pomoci chránit lesy před různými riziky (abiotičtí i biotičtí škodliví činitelé). Zatím využití těchto technologií není v řadě zemí povoleno. Je proto důležité provádět další pokusy a víc studovat tuto problematiku, aby se tato technologie mohla bezpečně používat i v lesnictví.

Jsou ale také rizika spojená s použitím GMO. Výskyt těchto nepříznivých účinků vyvolal omezení použití biotechnologií v EU a jiných zemích. Pro lepší porozumění dopadů GMO na životní prostředí a lidský organismus je nutné dále pokračovat ve výzkumech a diskutovat na toto téma.

10. Literární zdroje

- Aucott, M., & Parker, R. A. (2021). Medical biotechnology as a paradigm for forest restoration and introduction of the transgenic American chestnut. *Conservation Biology*, 35(1), 190-196.
- Barampuram, S., and Zhang, Z.J. (2011) Recent advances in Plant transformation. In: *Plant Chromosome Engineering: Methods and Protocols*. Ed: J. A. Birchler, *Methods in Molecular Biology*, vol. 701, Humana Press. pp 1-35 18.
- Barnhill-Dilling, S. K. (2018). *Growing Governance: Considerations for Inclusive Engagement for Genetically Modified Trees*. Ph.D. dissertation. North Carolina State University. Raleigh, USA.
- Baulcombe, D., et al. *GM Science Update: A report to the Council for Science and Technology*. 2014.
- Bravo, A., Gill, S.S., and Soberón, M. (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon* 49: 423-435
- Brookes, G.; Barfoot, P., Economic impact of GM crops: the global income and production effects 1996–2012. *GM crops & food*, 2014, 5.1: 65-75.
- Brunner, A. M., et al. Genetic containment of forest plantations. *Tree Genetics & Genomes*, 2007, 3: 75-100.
- Burdon R.D. et al. (2010). *Forests and genetically modified trees*. FAO Rome 2010. <http://www.fao.org/3/i1699e/i1699e00.pdf>
- Burdon, R.D. & Wilcox, P.L. 2007. Population management: potential impacts of advances in genomics. *New Forests*, 34: 187–206.
- Campos, H. et al. *Field Crops Res.* 90, 19–34 (2004).
- Carpenter JE. (2011) Impact of GM crops on biodiversity. *GM Crops*; 2:7-23
- Chang, S., Mahon, E. L., MacKay, H. A., Ro mann, W. H., Strauss, S. H., Pijut, P. M., ... & Jones, T. J. (2018). Gene c engineering of trees: progress and new horizons. In *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 54(4), 341-376. increase tree biomass. *Plant Sci* 212:72–101

- Codex Alimentarius Commission. "Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Fifth Session, Rome, 30 June-5 July, 2003." (*No Title*) (2003): 47.
- Cohen, S. N., et al. Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1973, 70.11: 3240-3244.
- Custers, R., Bartsch, D., Fladung, M., Nilsson, O., Pilate, G., Sweet, J., & Boerjan, W. (2016). EU regulations impede market introduction of GM forest trees. *Trends in Plant Science*, 21(4), 283-285.
- Dubouzet, J. G., Strabala, T. J., & Wagner, A. (2013). Potential transgenic routes to increase tree biomass. *Plant Science*, 212, 72-101.
- European Commission (2010), A Decade of EU-Funded GMO Research (2001–2010), Publications Office of the European Union
- Fladung, M., Altosaar, I., Bartsch, D., Baucher, M., Boscaleri, F., Gallardo, F., ... & Veori, C. (2012). European discussion forum on transgenic tree biosafety. *Nature Biotechnology*, 30(1), 37-38.
- Gatehouse, A.M.R., Ferry, N., and Raemaekers, R.J.M (2002) The case of the monarch butterfly: a verdict is returned, *Trends in Genetics* 18: 249-251
- Gonsalves, D., et al. Transgenic virus resistant papaya: From hope to reality for controlling papaya ringspot virus in Hawaii. 2004.
- Grattapaglia, D. & Kirst, M. *New Phytol.* 179, 911–929 (2008)
- Hare, P.D., and Chua, N-H. (2002) Excision of selectable marker genes from transgenic plants. *Nature Biotechnology*. 20: 572-580
- Harfouche, A., Meilan, R., & Altman, A. (2011). Tree gene c engineering and applications to sustainable forestry and biomass production. *Trends in Biotechnology*, 29(1), 9-17.
- Jaenisch, R.; Mintz, B., Simian virus 40 DNA sequences in DNA of healthy adult mice derived from preimplantation blastocysts injected with viral DNA. *Proceedings of the national academy of sciences*, 1974, 71.4: 1250-1254.
- Jaffe, G. J. *Public Aff.* 5, 299–311 (2005)

James, C. 2013. Global status of commercialized biotech/GM Crops: 2013. ISAAA Brief No. 46. ISAAA: Ithaca, NY

Kathage J, Qaim M. Economic impacts and impact dynamics of Bt (*Bacillus thuringiensis*) cotton in India. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109(29):11652–11656. doi:10.1073/pnas.1203647109

Kellison, R. 11. Forest biotechnology: more than wood production. *GENETICALLY MODIFIED TREES*, 2010, 217.

Kovach, J., et al. A method to measure the environmental impact of pesticides. 1992.

Kwit, C., et al. Transgene introgression in crop relatives: molecular evidence and mitigation strategies. *Trends in Biotechnology*, 2011, 29.6: 284-293.

Lemaux, P. G., Introduction to genetic modification, 2006, University of California Long, S.P., and Ort, D.R. (2010) More than taking the heat: crops and global change. *Current Opinion in Plant Biology* 2010, 13:241–248

Lu, Y., Wu, K., Jiang, Y., Guo, Y., and Desneux, N. (2012) Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature*, 487: 362–365

Luo, K., et al. ‘GM-gene-deletor’: fused loxP-FRT recognition sequences dramatically improve the efficiency of FLP or CRE recombinase on transgene excision from pollen and seed of tobacco plants. *Plant Biotechnology Journal*, 2007, 5.2: 263-374.

Mannion, A. M.; Morse, S. GM crops 1996–2012: A review of agronomic, environmental and socio-economic impacts. University of Surrey, Centre for Environmental Strategy Working Paper, 2013, 4.13: 1-40.

Mcdonnell, L. M., et al. Engineering trees with target traits. *Forests and Genetically Modified Trees*, FAO, Rome, 2010, 77-122.

Meilan, R.; HUANG, Z.; PILATE, Gilles G. Biotechnology techniques. *Forests and genetically modified trees*, 2010, 240 p.

Melvin J. Oliver, PhD, 2014, Why do we need GMO Crops in Agriculture.

Muhs, H. J. Regulation for genetically modified forest reproductive material moving in international trade. *GENETICALLY MODIFIED TREES*, 2010, 227.

Newhouse, A. E., Polin-McGuigan, L. D., Baier, K. A., Valle a, K. E., Romann, W. H., Tschaplinski, T. J., ... & Powell, W. A. (2014). Transgenic American chestnuts show enhanced blight resistance and transmit the trait to T1 progeny. *Plant Science*, 228, 88-97.

Nicolia, A., et al. An overview of the last 10 years of genetically engineered crop safety research. *Critical reviews in biotechnology*, 2014, 34.1: 77-88.

Parrott, W. (2005). The nature of change: towards sensible regulation of transgenic crops based on lessons from plant breeding, biotechnology and genomics. NABC.

Parrott, W., et al. Application of food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops. *Food and chemical toxicology*, 2010, 48.7: 1773-1790.

Powell, W.A.; Newhouse, A.E.; Coffey, V.. Developing blight-tolerant American chestnut trees. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2019, 11.7: a034587.

Qaim M. (2009) The economics of genetically modified crops. *Annu. Rev. Resour. Econ.* 1:665–93

Raman, R., The impact of Genetically Modified (GM) crops in modern agriculture: A review. *GM Crops & Food* [online]. 2017, 8(4), 195-208 [cit. 2021-9-9]. ISSN 2164-5698. Dostupné z: doi:10.1080/21645698.2017.1413522

Rangel, G., et al. From corgis to corn: a brief look at the long history of GMO technology. *Science in the News*, 2015, 9.

Ricroch, A. E.; Bergé, J.B.; Kuntz, M. Evaluation of genetically engineered crops using transcriptomic, proteomic, and metabolomic profiling techniques. *Plant physiology*, 2011, 155.4: 1752-1761.

Rizzi, A., et al. The stability and degradation of dietary DNA in the gastrointestinal tract of mammals: implications for horizontal gene transfer and the biosafety of GMOs. *Critical reviews in food science and nutrition*, 2012, 52.2: 142-161.

Roland, P. (2011) Plant genetics, sustainable agriculture and global food security. *Genetics* 188:11-20

- Sanchez, V. (2010) From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review. *Agron. Sustain. Dev.* (2011) 31:217–231
- Sanford, J.C. (1990) Biolistic plant transformation. *Physiol. Plant.* 79, 206–209.
- Schmidt, M. A., et al. A comparison of strategies for transformation with multiple genes via microprojectile-mediated bombardment. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2008, 44: 162-168
- Sedjo, R.A. (2001) Biotechnology in forestry: considering the costs and benefits. *Resourc. Future* 145, 10–12
- Sticklen, M.B. (2006) Plant genetic engineering to improve biomass characterization for biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17, 315–319
- Strauss, S. H., Tan, H., Boerjan, W., & Sedjo, R. (2009). Strangled at birth? Forest biotech and the Convention on Biological Diversity. *Nature Biotechnology*, 27(6), 519-527.
- Timmons, A. M., Charters, Y. M., Crawford, J. W., Burn, D., Sco, S. E., Dubbels, S. J., ... & Wilkinson, M. J. (1996). Risks from transgenic crops. *Nature*, 380(6574).
- Walter, C.; Menzies, M. Genetic modification as a component of forest biotechnology. *El-Kassaby YA, Prado JA*, 2010, 3-17.
- Wegrzyn, J.L. et al. (2010) Association genetics of traits controlling lignin and cellulose biosynthesis in black cottonwood (*Populus trichocarpa*, Salicaceae) secondary xylem. *New Phytol.* 188, 515–532
- YE, Xudong, et al. Engineering the provitamin A (β -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, 2000, 287.5451: 303-305.
- Zheng, Y. Research, deployment and safety management of genetically modified poplars in China. *Forests and genetically modified trees*. FAO, Rome, Italy, 2010, 135-44.
- Zhou X, Jacobs TB, Xue L-J, Harding SA, Tsai C-J (2015) Exploiting SNPs for biallelic CRISPR mutations in the outcrossing woody perennial *Populus* reveals 4-coumarate: CoA ligase specificity and redundancy. *New Phytol* 208:298–301

Zilberman, D., Holland, T.G., Trilnick, I., Agricultural fGMOs—What We Know and Where Scientists Disagree, 2018

Internetové zdroje

Blankenship, G., 2023, Genetically engineered trees in a Georgia forest mark a first in the nation (online) [cit. 2024.3.18]. Dostupné z: <<https://www.gpb.org/news/2023/04/13/genetically-engineered-trees-in-georgia-forest-mark-first-in-the-nation>>

European Commission. Community register of GM food and feed (Regulation (EC) 1829/2003) (online) [cit. 2024.3.12]. Dostupné z: <https://food.ec.europa.eu/plants/genetically-modified-organisms/gmo-register_en?prefLang=cs>

FAO. The future of food and agriculture, FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. (online) [cit. 2022.4.10]. Dostupné z: <<http://www.fao.org/publications/fofa/en/>>

Foldyna, J., 2013, Diplomová práce – Ochrana životního prostředí a zdraví před nepříznivými vlivy geneticky modifikovaných organismů (online) [cit.2024.2.25]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/bmyqf/Diplomova_prace.pdf>

Fornůsková, M., 2011. Diplomová práce – Geneticky Modifikované Organismy A Právní Úprava Nakládání S Nimi [online]. [cit. 2024.2.24]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/34863/DPTX_2010_1__0_35868_0_76924.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Informační Centrum Bezpečnosti Potravin. Geneticky modifikované potraviny a krmiva (online). [cit. 2024.3.12]. Dostupné z: <<https://bezpecnostpotravin.cz/kategorie/geneticky-modifikovane-potraviny-a-krmiva/>>

International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications. Pocket K No. 50: Biotech/GM Trees. (online) [cit. 2023.3.22]. Dostupné z: <www.isaaa.org/resources/publications/pocketk/50/default.asp>

Křístková, M., 2009, Dosavadní Zkušenosti S Pěstováním Geneticky Modifikované Bt Kukuřice V ČR 2005–2009 (online) [cit.2024.2.29]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/file/42167/Dosavadni_zkusenosti_Bt_kukurice_v_CR_2005_2009.pdf>

Kučera, L.; Čeřovská, M., První české zkušenosti s GMO (online). [cit. 2024.2.29]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/pub/e3/0/df/3082_4_Sbornik_GMO_2006_1_.pdf>

Ministerstvo Zemědělství. Právní předpisy v oblasti pěstování GM plodin v blízkosti státní hranice ČR (online). [cit. 2024.2.27]. Dostupné z: <<https://eagri.cz/public/portal/mze/zemedelstvi/roslinna-vyroba/gmo-geneticky-modifikovane-organismy?fullArticle=true>>

Ministerstvo Životního Prostředí. Geneticky modifikované organismy (GMO) (online). [cit. 2024.3.1]. Dostupné z: <https://www.mzp.cz/cz/geneticky_modifikovane_organismy>

Popkin, G., 2023, For the First Time, Genetically Modified Trees Have Been Planted in a U.S. Forest (online). [cit. 2024.3.18]. Dostupné z: <<https://www.nytimes.com/2023/02/16/science/genetically-modified-trees-living-carbon.html>>

Rupich J., 2006, Transgenní organismy využívané jako potraviny (online). [cit. 2024.2.29]. Dostupné z: <https://eagri.cz/public/web/pub/e3/0/df/3082_4_Sbornik_GMO_2006_1_.pdf>

Scientific American, August 2013, “Labels for GMO Foods Are a Bad Idea.”. (online) [cit. 2021.6.15]. Dostupné z: <<http://www.scientificamerican.com/article/labels-for-gmo-foods-are-a-bad-idea/>>

Seznam použitých obrázků a grafů

Obr. 1. International Service For The Acquisition Of Agri-Biotech Applications. Development of GM crop areas in the world [online]. [cit. 2.3.2024]. Dostupné z: <isaaa.org>

Obr. 2 Kansas Corn Stem. Genetically modified? [online]. [cit. 21.4.2022]. Dostupný z: <kscorn.com>

Obr. 3: Biology reader, Microprojectile Bombardment, 2024 (online) [cit. 2023.11.24.] dostupné z: <<https://biologyreader.com/microprojectile-bombardment.html>>

Obr. 4: Juchheim, A.M. *Plasmids 101: Cre-lox* [online]. [cit. 2022.10.15]. Dostupné z:< <https://blog.addgene.org/plasmids-101-cre-lox>>

Tabulka 1. Ministerstvo Zemědělství. Vývoj ploch a počtu pěstitelů GM kukuřice v ČR od roku 2005: [online]. [cit. 2024.27.2]. Dostupné z: <<https://eagri.cz/public/portal/mze/zemedelstvi/roslinna-vyroba/gmo-geneticky-modifikovane-organismy?fullArticle=true>>