



# VĚDECKÝ VÝBOR FYTOSANITÁRNÍ A ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

<b>Klasifikace:</b> Draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/> <i>Pro vnitřní potřebu VVF</i>
Finální dokument	<input type="checkbox"/> <i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/> <i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

## Hodnocení rizik geneticky modifikovaných rostlin pro životní prostředí

Poznámka:

VVF-07-04

Zpracovatel: Doc. RNDr. Ing. František Kocourek, CSc.; Ing. Karel Říha, Ph.D.;  
Ing. Jitka Stará, Ph.D. (VĚV, Envicho)

Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 PRAHA 6 - Ruzyně

Tel.: +420 233 022 324 , fax.: +420 233 311 591, URL: <http://www.phytopsanitary.org>

**OBSAH:**

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>2</b>
1.1	CÍLE STUDIE .....	2
1.2	OPODSTATNĚNÍ STUDIE .....	2
1.3	DEFINICE ZÁKLADNÍCH POJMŮ .....	3
<b>2</b>	<b>MECHANISMY ÚČINKŮ GENETICKY MODIFIKOVANÝCH PLODIN (GM PLODIN)</b> .....	<b>4</b>
2.1	GM PLODINY TOLERANTNÍ K HERBICIDŮM .....	4
2.2	GM PLODINY REZISTENTNÍ VŮČI HMYZÍM ŠKŮDCŮM .....	4
2.2.1	<i>Původ bakterie Bacillus thuringiensis a mechanismus účinku Bt-toxinu</i> .....	5
2.2.2	<i>Typy Bt-toxinu v GM rostlinách</i> .....	6
2.2.3	<i>Účinnost Bt-plodin vůči škůdcům</i> .....	6
2.3	GM PLODINY REZISTENTNÍ K VIROVÝM CHOROBÁM .....	7
<b>3</b>	<b>METODOLOGIE HODNOCENÍ RIZIK GM PLODIN NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ</b> .....	<b>8</b>
3.1	HODNOCENÍ RIZIK PRO STANOVENÍ ZDRAVOTNÍ BEZPEČNOSTI POTRAVIN, VČETNĚ PRODUKTŮ GMO ..	8
3.2	HODNOCENÍ RIZIK GMO PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ .....	9
<b>4</b>	<b>RIZIKA PRODUKTŮ GM PLODIN PRO ZDRAVÍ ČLOVĚKA A HOSPODÁŘSKÝCH ZVÍŘAT</b> .....	<b>13</b>
<b>5</b>	<b>RIZIKA GM ROSTLIN PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ</b> .....	<b>14</b>
5.1	RIZIKA GM ROSTLIN TOLERANTNÍCH K HERBICIDŮM PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ .....	14
5.1.1	<i>GM rostliny jako rostliny invazní</i> .....	15
5.1.2	<i>Tok genů mezi GM plodinami a planě rostoucími rostlinami</i> .....	16
5.1.3	<i>Šíření transgenů v planě rostoucích rostlinách</i> .....	18
5.1.4	<i>Vliv GM plodin tolerantních k herbicidům na biodiverzitu</i> .....	19
5.2	RIZIKA GM PLODIN REZISTENTNÍCH VŮČI ŠKŮDCŮM NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ .....	20
5.2.1	<i>Vliv GM plodin rezistentních vůči škůdcům na necílové organismy a diverzitu členovců</i> .....	20
5.2.2	<i>Vliv GM plodin rezistentních vůči škůdcům na společenstva půdních členovců a dekompozici biomasy</i> .....	23
5.3	GM PLODINY REZISTENTNÍ K VIROVÝM CHOROBÁM A NOVÉ VIRY .....	23
5.3.1	<i>Rizika vzniku rekombinací mezi virovými transgeny a viry napadajícími rostlinu</i> .....	24
5.3.2	<i>Rizika vzniku interakcí mezi produkty transgenů a viry napadajícími rostlinu</i> .....	26
5.3.3	<i>Riziko úniku transgenů z GM plodin rezistentních k virům do prostředí</i> .....	27
5.4	RIZIKA SELEKTIVNÍCH A SIGNÁLNÍCH GENŮ PŘÍTOMNÝCH V GM PLODINÁCH .....	28
<b>6</b>	<b>JINÁ RIZIKA GM PLODIN NEŽ NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ</b> .....	<b>30</b>
6.1	RIZIKA AGRONOMICKÁ .....	30
6.1.1	<i>Selekce rezistentních populací škůdců k Bt-toxinům</i> .....	32
6.1.2	<i>Mechanismus vzniku rezistence k Bt-toxinu</i> .....	33
6.1.3	<i>Antirezistentní strategie u GM plodin rezistentních vůči škůdcům</i> .....	34
6.2	RIZIKA SOCIO-EKONOMICKÁ .....	35
6.3	RIZIKA OBCHODNÍ .....	37
<b>7</b>	<b>PŘÍNOSY GM PLODIN</b> .....	<b>38</b>
7.1	PŘÍNOSY GM PLODIN TOLERANTNÍCH K HERBICIDŮM .....	38
7.2	PŘÍNOSY GM PLODIN REZISTENTNÍCH VŮČI HMYZÍM ŠKŮDCŮM .....	39
7.3	PŘÍNOSY GM PLODIN REZISTENTNÍCH VŮČI VIROVÝM CHOROBÁM .....	40
<b>8</b>	<b>ZÁVĚRY</b> .....	<b>41</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>42</b>

# 1 Úvod

## 1.1 Cíle studie

Cílem předložené studie je na základě nejnovějších poznatků vědy a výzkumu podat přehled o metodách identifikace a hodnocení rizik geneticky modifikovaných zemědělských plodin (GM plodin) a jejich produktů pro životní prostředí. Dále vypracovat strukturu těchto rizik dosud identifikovaných ve světě a zhodnotit, která z těchto rizik by mohla být závažná pro proces uvolňování určitých skupin geneticky modifikovaných rostlin (GM rostlin) do prostředí a do oběhu. Z širokého spektra geneticky modifikovaných organismů byly pro tuto studii vybrány tři skupiny: GM plodiny tolerantní k herbicidům, GM plodiny rezistentní ke škůdcům a GM plodiny rezistentní k virovým chorobám. Tyto GM plodiny jsou ve světě nejvíce v praxi pěstovány a poznatků o jejich přínosech a rizicích je již shromážděno dostatečně. U každé z těchto tří skupin GM plodin je v úvodu stručně uveden princip působení.

Originálním způsobem je ve studii zpracována metodologie procesu identifikace a hodnocení rizik GM plodin. Je zde uveden obecný postup jak rizika identifikovat a hodnotit, který je doplněn konkrétními příklady. Ve studii jsou také uvedeny některé důvody, proč chceme rizika GM plodin minimalizovat, nebo proč je možné je tolerovat. Na příkladech jsou demonstrovány některé možnosti prevence rizik, které může uplatňovat uživatel GM plodin, nebo které mohou být doporučeny nebo nařízeny orgány státního dozoru. Vedle hodnocení rizik GM plodin využívaných v zemědělství budou stručně uvedeny také jejich přínosy pro uživatele, společnost i pro životní prostředí.

Předložená studie vychází z terminologie a základních metodických přístupů uvedených ve zprávě panelu „An Expert Panel Report on the Future of Food Biotechnology“ organizace „The Royal Society of Canada“ (Anonymus, 2001), kterou doplňuje o nejnovější poznatků vědy. V této studii jsou na rozdíl od zprávy panelu (Anonymus, 2001) rozšířeny definice termínů týkajících se hodnocení rizik GM plodin pro životní prostředí a nově zpracována metodologie hodnocení rizik těchto organismů pro životní prostředí. Dále je v této studii uveden podrobný přehled rizik GM plodin pro životní prostředí, včetně rizik agronomických, sociálně-ekonomických, obchodních. Zpráva panelu (Anonymus, 2001) může být doplňkovým zdrojem informací k této studii, pokud se týká podrobnějších informací o charakteristikách současných a očekávaných potravních biotechnologií a identifikaci některých dalších nebezpečí (hazard) potenciálně spojených s produkty těchto biotechnologií. Vedle toho je tato zpráva zdrojem metodických přístupů a postupů požadovaných od průmyslu a dozorových orgánů státu pro management rizik na bezpečnou nebo přijatelnou úroveň.

## 1.2 Opodstatnění studie

V současné době je ve světě dosud málo ucelených poznatků o možných vlivech GM plodin na životní prostředí. V zemích EU probíhá v posledních letech intenzivní výzkum této problematiky a objevují se tak nové poznatky, které je třeba zhodnotit. Některé z těchto poznatků mohou ovlivnit jak proces uvolňování GM plodin do prostředí a do oběhu anebo dozorové činnosti při jejich využívání v zemědělské praxi. V ČR se to například týká transgenní kukuřice rezistentní vůči škůdcům.

V rámci předkládané studie budou pro tyto GM plodiny jako pro modelové objekty vypracovány podrobnější podklady pro hodnocení rizik, jak agronomických tak i rizik pro životní prostředí. Dosud převážná většina výzkumných studií týkajících se identifikace a hodnocení rizik GM plodin byla prováděna v uzavřeném prostředí nebo na modelových plošně omezených parcelách polí. Získané poznatky výzkumu je třeba vyhodnotit a posoudit, která z dosud identifikovaných rizik mohou být významná po uvolnění GM plodin do prostředí. Současně je třeba zhodnotit dosud používané metody identifikace a hodnocení rizik a navrhnout, která z potenciálních rizik bude účelné nebo nutné monitorovat po uvolnění GM plodin do prostředí. Takové informace budou nezbytné pro realizaci ustanovení vycházející ze směrnic EU, které se týkají povinností každé země zajišťovat monitoring rizik po uvolnění GM plodin do oběhu.

### 1.3 Definice základních pojmů

Geneticky modifikovaný organismus (GMO) – transgenní organismus – je organismus, jehož genetický materiál (DNA) byl změněn do podoby, která se nevyskytuje po přirozeném páření nebo po přirozené rekombinaci.

Genetické inženýrství je soubor technik pro výběr jednotlivých genů a jejich přenos z jednoho organismu do jiného organismu, včetně přenosu mezi nepříbuznými druhy organismů. Tyto technologie jsou označovány také jako „moderní biotechnologie“, „genové technologie“ nebo „rekombinantní DNA technologie“.

Geneticky modifikované organismy obsahují ve svých buňkách rekombinantní molekulu DNA. Narozdíl od přirozených rekombinací je tato rekombinantní molekula vytvořena člověkem. V roce 1972 tým vedený Paulem Bergem na Stanfordské univerzitě vytvořil poprvé rekombinantní DNA. Pomocí restrikčních enzymů „rozkrájel“ dvě DNA molekuly ze dvou rozdílných zdrojů a potom spojil tyto kousky dvou cizích molekul do formy funkční hybridní DNA molekuly.

GM plodiny využívané v ochraně vůči škodlivým organismům patří do širší kategorie, které jsou označovány jako zemědělské produkty moderních biotechnologií (nebo také potravinářských biotechnologií – food biotechnology). Základem moderních biotechnologií je ovlivňování živých organismů pomocí genetických modifikací. Předpovědi dopadů potravinářských biotechnologií vychází z povinnosti posuzovat bezpečnost těchto produktů technologií a hodnotit rizika, která tyto technologie přináší pro zdraví člověka, zvířat a pro životního prostředí.

#### **Cíle genetických modifikací (transgenóze):**

Cílem transgenóze je (1) získat nové vlastnosti organismu nebo zlepšit stávající vlastnosti, (2) získat nové typy produktů nebo změnit kvalitu produktů. Gen pro mechanismus účinku (1) nemusí být pozměněn oproti přírodnímu modelu, nebo (2) může být modifikován. Vnesený gen odpovídá za syntézu jednoho proteinu. Nový protein je enzym (například umožňující detoxikaci herbicidů), nebo je to toxin (či inhibitor trávícího enzymu hmyzu) u rostlin rezistentních vůči hmyzu, nebo je to protein identický s proteinem fytopatogenního viru u rostlin rezistentních k virovým chorobám. Donorovými organismy jsou nejčastěji viry, bakterie, houby a vyšší rostliny. Akceptorem nejčastěji vyšší rostliny a bakterie. Transfer genů je však možný mezi organismy různých taxonů. Dosud největšího komerčního využití dosáhly transgenní rostliny a bakterie.

## 2 Mechanismy účinků geneticky modifikovaných plodin (GM plodin)

### 2.1 GM plodiny tolerantní k herbicidům

Produktem transgenu je enzym, který cíleně odbourává a detoxikuje účinnou látku neselektivního herbicidu. Geny zodpovědné za produkci takového enzymu jsou v přírodě běžné u bakterií i u některých vyšších rostlin (přirozená tolerance k herbicidům). GM plodiny tolerantní k herbicidům mají gen pro tento enzym včleněn do genetického základu a všechny buňky rostliny tak trvale tento enzym syntetizují. Po aplikaci neselektivního herbicidu všechny plevele hynou a přežívají jen transgenní rostliny. V současné době jsou nejrozšířenější systémy Roundap Ready (s účinnou látkou glyphosate - herbicid Roundap) a Liberty Link (s účinnou látkou gluphosinate - herbicid Basta). Ze širokého spektra GM plodin jsou v současné době ve světě nejvíce pěstovány sója, kukuřice, řepka, cukrovka a tabák.

### 2.2 GM plodiny rezistentní vůči hmyzím škůdcům

Převážná většina dnes využívaných GM plodin rezistentních vůči škůdcům má do svého genomu zabudován gen, kódující protein z bakterie *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). GM plodiny s tímto typem rezistence jsou proto označovány zkratkou *Bt*-plodiny (např. *Bt*-kukuřice). Produktem transgenu v rostlinách je bílkovina s insekticidními účinky, takzvaný delta toxin. Buňky transgenní rostliny trvale syntetizují tento protein. Jeho obsah v rostlině se pohybuje v rozmezí 0,1-1% z celkového obsahu proteinů. Hmyz, který pozře pletivo s tímto toxinem, postupně snižuje příjem potravy a během několika hodin až dnů hyne. Delta toxin není toxický pro necílové skupiny škůdců a je zcela neškodný pro obratlovce včetně člověka. *Bt*-plodiny byly přednostně vyvíjeny pro plodiny, u kterých chemická ochrana vlivem selekce populací škůdců rezistentních k pesticidům zcela selhává, nebo kde přímým postřikem nelze škůdce dobře zasáhnout. Příklady nového přístupu ve šlechtění na rezistenci plodin využitím metod genového inženýrství uvádí Guthrie (1988). Ve světě je v současné době z transgenních plodin rezistentních vůči hmyzu nejvíce rozšířeno pěstování kukuřice, bavlníku, brambor a rajčat. Kukuřice byla první registrovanou GM plodinou vykazující insekticidní účinky po genové manipulaci. Byla registrována v USA v roce 1995 (US Department of Agriculture) (Web, 2004). Maloparcelkové polní pokusy s GM plodinami obsahujícími geny z bakterie *Bacillus thuringiensis*, které vykazují rezistenci k hmyzím škůdcům byly zahájeny v roce 1986. Pokusy s těmito plodinami na větších plochách byly prováděny již od počátku devadesátých let dvacátého století (Krattiger, 1997).

Vedle *Bt*-plodin lze v krátké době očekávat zavádění GM plodin rezistentních k hmyzu, které jsou založeny na transgenech pocházejících z rostlin a jejich produktů. Jsou to zejména geny produkující inhibitory trávicích enzymů hmyzu (proteázy a amylázy), lektiny, chitinázy a komplexy genů pro syntézu sekundárních metabolitů. Každá s těchto skupin látek má zcela odlišná rizika pro zdraví člověka a pro životní prostředí. Pro nejbližší období jsou perspektivní pro rozšíření v praxi GM plodiny s geny pro inhibitory proteáz a amyláz hmyzu.

Řada plodin s těmito geny již opustila laboratoř a je v procesu ověřování účinnosti. Například transgenní rýže s inhibítozem PI – 2 z brambor (Duan a kol., 1996), který podmiňuje ochranu rýže proti housenkám motýlů. Dalším příkladem mohou být transgenní odrůdy hrachu s genem pro produkci alfa amylázového inhibitoru z fazolu, zajišťující rezistenci k zrnokazům (Ishimoto a kol., 1996). Ve zkouškách je také řada transgenních lesních dřevin s různými typy transgenů. Například topol s genem pro cysteinový proteinázový inhibitor původem z rajčete, který podmiňuje ochranu proti mandelinkám (Leplé a kol., 1995). Naproti tomu je malá perspektiva pro využití GM plodin s geny pro produkci lektinů. Například brambory a rajčata s genem lektinu ze sněženky zvyšují odolnost rostlin vůči housenkám motýlů. (Bouter a kol., 1990) a mšicím (Down a kol., 1996). Lektiny se váží na sacharidy a mohou být toxické pro obratlovce. V pokusech na hlodavcích lektiny vedly ke zpomalení růstu a potlačení imunitního systému. Při prokázání jakýkoliv rizik na zdraví člověka při vývoji GM plodin již v laboratorních testech je vývoj takových organismů ukončen.

### **2.2.1 Původ bakterie *Bacillus thuringiensis* a mechanismus účinku *Bt*-toxinu**

V současné době jsou přípravky na bázi bakterie *Bacillus thuringiensis* nejvíce využívané přípravky biologické ochrany rostlin. Celosvětový trh s biopreparáty na bázi *Bacillus thuringiensis* charakterizuje roční obrat 100 milionů US\$ při průměrném ročním nárůstu 10% (Zvára a kol., 1998). Tyto biopreparáty tvoří 80 – 90% všech dnes dostupných biopesticidů. Na druhé straně je to pouze 1 - 2% z celkového obchodu s pesticidy (Bernhard a Utz, 1993).

*Bacillus thuringiensis* (dále též *Bt*) je půdní bakterie, poprvé objevená v Japonsku v roce 1901 Ishawatou a dále v roce 1911 v Německu Ernestem Berlinerem (Baum a kol., 1999). *Bacillus thuringiensis* je sporulující, gram-pozitivní tyčinkovitá bakterie, která se běžně vyskytuje v půdě. V průběhu tvorby spóry vytváří bakterie nejen vegetativní buňku, ale i intracelulární proteinový krystal. Ten sehrává klíčovou roli v patogenezi této bakterie. Toxicita a druhová specifita je dána právě složením proteinového krystalu. Ten je tvořen kombinací 3-5 různých toxinů (Zvára a kol., 1998). Po požití housenkou, jsou krystaly toxinu rozpuštěny ve středním střevě za uvolnění protoxinu (netoxická bílkovina), z kterého jsou tvořeny. Ty jsou proteolyticky pomocí enzymů středního střeva rozloženy na fragmenty – menší toxické proteiny (tzv.  $\delta$  endotoxiny), které se váží na receptory střevního epitelu. Aktivovaná bílkovina mění osmotickou rovnováhu buněk epitelu. V buněčných membránách vznikají póry a pak následuje rozklad celých buněk (Van Rie a kol., 1992). Střevo je paralyzováno, hmyz přestává přijímat potravu. Většina hmyzu umírá v několika hodinách po požití toxinu (Marrone a Macintosh, 1993). Účinnost jednotlivých typů toxinu bakterie *Bacillus thuringiensis* se liší. Účinek  $\delta$  endotoxinu (dále jen *Bt*-toxinu nebo *Bt*-proteinu) zasahuje množství druhů z řádů Coleoptera (brouci), Lepidoptera (motýli), Diptera (mouchy, komáři) (Höfte and Whitely, 1989). (Zkratka *Bt* je tak používána pro označení produktů této bakterie a nebo pro označení transgenních zemědělských plodin, které obsahují gen z této bakterie).

Poprvé bylo využito *Bacillus thuringiensis* v komerční formulaci insekticidního přípravku ve Francii v roce 1938. Mnoho let byl tento přípravek využíván ve formě postřiku na rostliny. Malá perzistence přípravku však vyžadovala časté opakování aplikace (Van Frankenhuyzen, 1993). Přestože jsou insekticidy na bázi bakterie *Bacillus thuringiensis* používány více než 50 let, v současnosti zejména v organickém zemědělství, nedošlo k jejich rozšíření v masovém měřítku. Většímu rozšíření brání zejména vysoká cena těchto přípravků, ale i následné náklady spojené s nutností opakovaných aplikací přípravku vzhledem k jejich výše zmíněné malé perzistenci v polních podmínkách (Cannon, 1993).

### 2.2.2 Typy *Bt*-toxinu v *GM* rostlinách

Insekticidní *Bt*-proteiny dostupné v současných komerčních formulacích přípravků jsou kódovány geny *cry1*, *cry2*, *cry3* a *cry4*. Obecně se dá říci, že toxiny kódované *cry1* jsou účinné proti motýlům (Lepidoptera), *cry2* jsou toxické pro Lepidoptera a Diptera, *cry3* proteiny jsou toxické pro Coleoptera a *cry4* proteiny jsou toxické pro Diptera (Gill a kol., 1992).

Konkrétní geny vkládané do rostlinných genomů umožňují rostlině produkci konkrétních toxinů specifických vůči určitému taxonu fytofágnímu hmyzu. Takto například toxin *cry1Ac* způsobuje rezistenci transgenního bavlníku vůči jeho hlavním škůdcům z řádu Lepidoptera (Perlak a kol., 1990). Toxin *cry3* exprimovaný v rostlinách brambor způsobuje jejich odolnost vůči *Leptinotarsa decemlineata* (Fischhoff, 1996). Toxiny *cry1Ab*, *cry1Ac* a *cry9C* produkované *Bt*-kukuřicí způsobují její rezistenci k zavíječi kukuřičnému (Koziel a kol., 1993, Fischhoff, 1996, Jansens a kol., 1997). Účinek těchto toxinů může být i druhově specifický. Zástupci čeledi můrovitých (*Noctuidae*) jako například osenice ypsilonová (*Agrotis ypsilon*), blýskavka kukuřičná (*Spodoptera frugiperda*) a plavokřídlec jižní (*Pseudaletia unipunctata*) nejsou v současné době nejvíce rozšířenými hybridy *Bt*-kukuřice účinně regulovány (Letourneau a Burrows, 2002). Ve vývoji jsou hybridy *Bt*-kukuřice s dalšími různými typy toxinů, například toxin *cry1F* s kombinacemi výše uvedených toxinů.

### 2.2.3 Účinnost *Bt*-plodin vůči škůdcům

Vlivem dostatečně vysokého obsahu *Bt*-toxinu ve všech částech rostliny je účinnost geneticky modifikované kukuřice v porovnání s použitím insekticidů podstatně vyšší. Housenky zavíječe byly redukovány z 95 – 99 %. To se týká insertu *Bt*-11, který produkuje *cry1Ab* toxin (Fawcett, 1998). Podobných výsledků dosahují Říha a Kocourek (2004), kdy na pokusných polích s geneticky modifikovanou kukuřicí nebylo během dvou let testování nalezeno jediné poškození způsobené zavíječem kukuřičným (insert MON 810 - produkuje *cry1Ab* toxin). Jestliže je *Bt*-toxin tvořen pouze v zelených částech rostliny a v pylu (všechny hybridy s insertem 176 - produkuje *cry1Ab* toxin), je účinnost této geneticky modifikované kukuřice proti druhé generaci zavíječe nižší a to kolem 50 – 75 %. Některé housenky zavíječe z druhé generace se totiž živí na bliznách a mladých palicích (Gianessi a Carpenter, 1999). Siegfried a kol. (2001) uvádějí, že F1 generace z housenek, které přežily na hybridech kukuřice s insertem 176 neukázala v laboratorních pokusech změny v citlivosti k *Bt*-toxinu v porovnání s housenkami získanými z konvenčních (geneticky nemodifikovaných) hybridů.

Míra exprese *cry1Ab* *Bt*-toxinu u kukuřice s insertem MON 810 je nejvyšší v listech – 9,35 µg/g čerstvé hmoty (7,93 – 10,34). Ve sklizeném zrnu je obsah *Bt*-toxinu 0,31 µg/g (0,19 – 0,39). Průměrný obsah *Bt*-toxinu v celé rostlině se může pohybovat kolem 4,15 µg/g čerstvé hmoty. Nejmenší obsah *cry1Ab* se nachází v pylu a to 0,09 µg/g čerstvé hmotnosti (Web, 2004) Obecně se dá říci, že nejvyšší obsah *Bt*-toxinu je v mladých rostlinách. Během vývoje se jeho obsah postupně snižuje a nejnižší je ve fázi senescence (Dutton a kol., 2003). V kukuřici s různými inserty může být obsah *Bt*-toxinu odlišný. Obsah *Bt*-toxinu v rostlinách se může odlišovat mezi hybridy kukuřice se stejným insertem, např. MON 810 vlivem různého genetického pozadí (Říha a Kocourek, nepublikováno). Z uvedeného je zřejmé, že obsah *Bt*-toxinu se bude odlišovat také mezi různými *Bt*-plodinami. Při hodnocení rizik GMO na životní prostředí je *Bt*-toxin považován za nebezpečí. Jestliže jeho množství je odlišné v různých částech plodin a je závislé na typu toxinu, typu inzeru, je třeba riziko pro životní prostředí hodnotit pro každou specifickou kombinaci uvedených faktorů.

### 2.3 GM plodiny rezistentní k virovým chorobám

Odolnost těchto rostlin je založena na přerušení replikace virové nukleové kyseliny nebo na přerušení životního cyklu viru v buňce. Do rostliny jsou zavedeny geny, které odpovídají nebo jsou odvozeny z genů virových patogenů, vůči nimž je cílena ochrana. Produkty těchto genů v rostlině zabraňují šíření virů v buňkách rostlin nebo zabraňují jejich přenosu přes hmyzí vektor. Genetická transformace rostlin obvykle neposkytne k virům zcela imunní rostliny, ale poškození rostliny je zabráněno. Při tvorbě transgenních rostlin rezistentních k virovým chorobám se využívá několika základních mechanismů. Nejrozšířenější jsou v současnosti rostliny s genem obalového proteinu (CP). Buňky rostliny trvale syntetizují obalový protein viru, který po proniknutí viru do buňky zabrání viru v rozmnožování. Dosud je známo, že tato rezistence je účinná proti 11 různým klasifikačním skupinám virů způsobujícím virózy na bramborách, rajčatech, okurkách, vajtěšce, rýži, kukuřici a dalších rostlinách.

Příklady virů, vůči nimž již byly transgenní rostliny vyvinuty jsou: TMV virus na rajčatech, CMV na okurkách, PLVR, X a Y viru bramboru, rhizomanie na cukrovce, šarka švestky.



### 3 Metodologie hodnocení rizik GM plodin na životní prostředí

Rizika - risk (R) vlivem transgeních rostlin na životní prostředí mají dvě složky: nebezpečí - hazard (H) a expozici (vystavení účinku) – exposure (E). Riziko se obecně vyjadřuje jako součin nebezpečí a expozice, tj.  $R = H \times E$ .

Expozici lze pro daný účel vyjádřit dvěma způsoby: a) jako pravděpodobnost, s jakou může nebezpečí nastat nebo se vyskytovat, nebo b) jako jeho dávku (dose) v případech, že lze nebezpečí kvantifikovat, například v rostlině, v jejím produktu, v jejím orgánu, pletivu, pylu, nebo v prostředí (v biomase, v půdě) anebo v potravinovém řetězci, v jednotlivých trofických složkách společenstev.

Stanovení expozice budeme dále demonstrovat na dvou odlišných postupech. Zaprvé, v případě kvantifikace nebezpečí u transgenních rostlin rezistentních vůči hmyzu, tj. při kvantifikaci *Bt*-toxinu v orgánech rostlin a trofické síti členovců. Zadruhé v případě odhadu pravděpodobnosti vzniku a výskytu nebezpečí u GM plodin rezistentních vůči virům, tj. na základě posouzení vzniku nových pro rostliny agresivnějších taxonů nebo kmenů virů.

Problematiku identifikace a řízení (management) rizik lze členit do 4 postupně na sebe navazujících oblastí:

- identifikaci a hodnocení rizik
- monitoring rizik
- management rizik
- komunikaci o riziku

Pro hodnocení rizik GMO pro životní prostředí není dosud vypracován jednotný postup analogický k postupu pro hodnocení rizik z hlediska bezpečnosti potravin. Jako východisko v této studii jsme zvolili postup hodnocení rizik pro stanovení zdravotní bezpečnosti potravin, který byl popsán US National Academy of Sciences (1983) a je mezinárodně akceptován. Pro definice termínů a popis hodnocení rizik GMO pro životní prostředí navrhujeme vlastní definice, přičemž využíváme analogií s termilogií a procesem hodnocení rizik GMO z hlediska bezpečnosti potravin. V případech odlišností mezi oběma rozdílnými účely hodnocení rizik uvádíme zdůvodnění.

#### 3.1 Hodnocení rizik pro stanovení zdravotní bezpečnosti potravin, včetně produktů GMO

**1. Identifikace nebezpečí** je určení, zda určitá látka, jako např. složka potravy, má nebo nemá konkrétní účinky na zdraví. Nebezpečí je obvykle určováno experimentálně v řízených toxikologických studiích se známou dávkou nebo expozicí zkoumané látky. V praxi je výsledkem statistického vyhodnocení „maximální tolerovaná dávka“ (MTD), tj. nejvyšší použitelná dávka, která může být podána (ve většině studií platí pro laboratorní zvířata) (Lu a Sielken, 1991). V kontextu hodnocení bezpečnosti potravin definovala Světová zdravotnická organizace (WHO, 2000a) „nebezpečí“ jako biologické, chemické nebo fyzikální agens schopné způsobit nepříznivé zdravotní účinky. Takováto agens se vyskytují přímo v potravinách, nebo ovlivňují potraviny v závislosti na vnějších podmínkách.

**2. Hodnocení vztahu dávka-odezva** je určení vztahu mezi dávkou (velikostí expozice) a pravděpodobností výskytu studovaného nepříznivého účinku na zdraví.

**3. Hodnocení expozice** je určení rozsahu expozice studované látky při jednotlivých souborech podmínek, za kterých k expozici dochází. Hodnocení expozice zahrnuje určení dávky (velikosti expozice), frekvence expozice a trvání expozice.

**4. Charakteristika rizik** je hodnocení, při kterém se berou v úvahu všechny tři výše uvedené procesy. Souhrnně je riziko zdravotní bezpečnosti potravin charakterizováno jako kvantitativní zhodnocení pravděpodobnosti výskytu nepříznivého účinku na zdraví za definovaných podmínek expozice. Hodnocení rizik (proces, který vede k charakterizaci rizik) zahrnuje tři dílčí procesy, a to identifikace nebezpečí, hodnocení vztahu dávka – odezva a hodnocení expozice. V kontextu bezpečnosti potravin, WHO (WHO, 2000a) definuje „riziko“ jako funkci pravděpodobnosti nepříznivého účinku na zdraví a vážnosti takového účinku, které je výsledkem nebezpečnosti potraviny.

## **3.2 Hodnocení rizik GMO pro životní prostředí**

### **1. Identifikace nebezpečí pro účely hodnocení rizik GMO pro životní prostředí**

Prvním krokem při hodnocení rizik pro životní prostředí je identifikace nebezpečí. V tomto případě spočívá v určení, zda GMO nebo jeho část, nebo jeho produkt má nebo nemá vliv na ostatní organismy ekosystému, jejich populace a společenstva. Nebezpečí může být v případě stanovení rizik GMO pro životní prostředí značně proměnlivé. Zaprvé je nebezpečím samotný GMO nebo jeho transgen. Nebezpečím mohou být také části takového organismu, například semena nebo pyl obsahující transgen, kterými se GMO uchovává v ekosystému a šíří v prostoru a čase do prostředí. Zadruhé, odlišným nebezpečím mohou být produkty transgenů, například *Bt*-toxin. V tomto případě je pyl GM rostliny obsahující *Bt*-toxin jiným nebezpečím než je pyl obsahující transgen pro *Bt*-toxin. Pro vysvětlení uvedeme, že existují 4 možnosti výskytu transgenů a jeho produktu v pylu: 1) pyl obsahuje současně transgen a jeho produkt, 2) pyl obsahuje pouze transgen (v případě tkáňové specifické exprese genu), 3) pyl obsahuje pouze produkt transgenů (v případě výlučné dědičnosti GMO po matce), 4) pyl neobsahuje ani transgen ani jeho produkt (v případě kombinace navedené pod body 3 a 4). Hodnocení rizik čtyř těchto různých typů pylu transgenních rostlin pro životní prostředí musí být odlišné a stanovené riziko bude pro jednotlivé typy pylu zcela odlišné.

Zatřetí, nebezpečím však může být také herbivor, který akumuluje v těle *Bt*-toxin s příjmem potravy na transgenní rostlině. Takový herbivor je potenciálním nebezpečím pro jeho predátory a parazitoidy. Začtvrté, další odlišné typy nebezpečí by mohly vznikat rekombinací transgenů s geny přírodních organismů. Příkladem může být vznik nových virů nebo jejich kmenů s jinými vlastnostmi nebo nové druhy rostlin s novými vlastnostmi, do kterých se transgen dostal křížením. Při hodnocení rizika takových nebezpečí pro životní prostředí se zvažuje pravděpodobnost úniku genů nebo vzniku rekombinantních organismů, dále jejich schopnost přežívání, jejich fitness a pravděpodobnost šíření v prostředí. Takové organismy se považují za potenciálně invazní a podle toho se posuzují. Některá nebezpečí lze kvantifikovat v laboratorních podmínkách, jiná lze stanovit na základě různých experimentů v ekosystémech, jiná nebezpečí lze jen pouze teoreticky předpokládat a po jejich prokázání je potřebný monitoring rizik prováděný až po zavedení daného typu GMO do prostředí.

Dva nejčastější způsoby detekce a kvantifikace nebezpečí GMO jsou: 1) molekulární diagnostika transgenů, obvykle PCR. 2) diagnostika produktu transgenů, obvykle imunologická metoda ELISA. Vedle toho mohou být použity pro identifikaci GMO nebo stanovení podílu jejich výskytu v populacích organismů také biologické testy. Například použití neselektivního herbicidu na semenáčky rostlin, mezi kterými předpokládáme výskyt GM rostlin rezistentních k tomuto herbicidu. Nebo u *Bt*-plodin infestace druhem škůdce vůči kterému je rezistence cílena.

Je obtížné jednoznačně definovat nebezpečí GMO pro životní prostředí. Lze pouze obecně definovat, že takovým nebezpečím pro životní prostředí jsou GMO, jejich transgeny nebo produkty těchto transgenů, které mají schopnost za určitých podmínek ovlivňovat jiné organismy a jejich populace nebo měnit složení společenstev organismů v ekosystému s možnými negativními dopady na biodiverzitu nebo na změny funkcí ekosystému.

## **2. Hodnocení vztahu dávka odezva pro účely hodnocení rizik GMO pro životní prostředí**

Tento druhý krok při hodnocení rizik GMO pro životní prostředí lze stanovit pouze v některých případech, narozdíl od tohoto obligátního kroku při hodnocení rizik pro zdraví člověka. V principu se jedná o určení vztahu mezi dávkou (velikostí expozice) a pravděpodobností výskytu nepříznivého vlivu GMO, jeho transgenů nebo produktu transgenů na ostatní organismy, jejich společenstva a na funkce ekosystému. U řady nebezpečí GMO pro životní prostředí lze velikost expozice, tj. dávku kvantifikovat. U produktů transgenů lze jeho obsah kvantifikovat v různých orgánech rostliny, v pylu, v pletivech, nebo v závislosti na ontogenezi rostliny. Nepříznivé účinky těchto nebezpečí lze stanovit v laboratorních testech anebo na základě monitorování v různých polních experimentech. U transgenních rostlin rezistentních k hmyzu budou v další části textu uvedeny výsledky testů na příkladu vlivu *Bt*-toxinu na necílové organismy. Nepřímý vliv je v tomto případě zvýšená mortalita nebo jinak změněné životní aktivity necílových organismů po příjmu určité dávky nebezpečí (*Bt*-toxinu).

U rostlin tolerantních k herbicidům bude v dalším textu uveden přehled, ve kterém bude hodnocen vliv pěstební technologie s těmito herbicidy na změny společenstev plevelů, změny zásoby semen v půdě a jejich následný vliv na společenstva herbivorů a organismy ve vyšších trofických úrovních. V těchto případech není nebezpečný samostatný GMO, ale technologie pěstování, která je daným typem genetického organismu vynucena. To je současně příklad, kdy nebezpečím je nová technologie pěstování, dávkou je rozsah pěstební plochy nebo zastoupení technologie v osevním postupu a odezvou jsou formy vlivu na organismy, strukturu a funkce ekosystému.

V další části textu bude také podrobně rozveden jiný příklad hodnocení dávka-odezva. Bude odlišný od předchozích příkladů v tom, že je nelze zjišťovat dříve, než je uvedený typ GMO zaveden plošně do prostředí. Jedná se o šíření transgenní řepky rezistentní ke třem různým typům herbicidů v agroekosystémech v Kanadě. V tomto případě by se dávka stanovovala jako početnost těchto GMO v jiných plodinách nebo v netransgenní řepce. Odezvou by byla škodlivost těchto plevelů, nebo vícenáklady na regulaci těchto GMO v prostředí, případně ohodnocení negativního vlivu na životní prostředí při použití méně šetrných herbicidů pro jejich regulaci. V tomto případě se prolínají rizika těchto GMO agronomická a rizika pro životní prostředí, přičemž jedna z nich mohou převažovat. Prolínání těchto dvou typů rizik GMO bylo důvodem, proč v dalším textu byla vedle rizik pro životní prostředí věnována zvýšená pozornost také agronomickým rizikům.

Dalším typickým příkladem agronomických rizik je kontaminace osiv netransgenních plodin stejného druhu osivy transgenních rostlin, ke které může dojít přenosem pylu. Dávku, tj. přítomnost semen GMO a jejich množství, lze kvantifikovat pomocí molekulárních metod (PCR) nebo imunoenzymatických (ELISA). Odezva, tj. nepříznivý účinek, bude v tomto případě závislá na hodnotě limitu, který bude tolerován. To je současně příklad možnosti využití limitů tolerance při hodnocení rizik GMO. Například u osiva pro biologický systém pěstování je dosud limit 0. To znamená, že jakýkoliv výskyt GMO v osivu vyřazuje toto osivo z biologického systému pěstování. Nutno připomenout, že takový limit závisí také na prahu detekce metody samotné i na počtu vzorků, který je pro detekci použit. Různé metody detekce jsou různě citlivé, ale prakticky neexistuje metoda, která by garantovala nulový limit GMO v osivu nebo v produktu.

Příkladem dalšího hodnocení rizika uváděného podrobně dále v textu je riziko vzniku rezistentních populací cílových škůdců k *Bt*-plodinám. Jde o typický příklad agronomických rizik. V tomto případě je nebezpečím rezistentní jedinec nebo část populace škůdce rezistentní k *Bt*-toxinu. Dávka, tj. velikost expozice, je stupeň rezistence (např. index rezistence, tj. kolikrát vyšší dávky toxinu je třeba k dosažení 100% mortality, oproti dávce vyvolávající stejnou mortalitu u citlivé populace). Případně může být dávkou podíl jedinců s rezistencí k *Bt*-toxinu v populaci škůdce. Odezva je v tomto případě pravděpodobnost neúčinnosti rezistence geneticky modifikovaných rostlin, nebo riziko takto způsobených ztrát na výnosech nebo potřeba zvýšených nákladů na ochranná prostředí. Na příkladu *Bt*-rostlin je dále v textu podrobně rozvedena problematika antirezistentních strategií. Jedná se v podstatě o návody a opatření, která oddalují nástup populací škůdců rezistentních k produktům GMO. Tato opatření jsou však již součástí monitoringu a managementu rizik GMO. Jde o aktivní proces prevence a minimalizace rizik.

Existují ještě další skupiny nebezpečí GMO pro životní prostředí, u kterých nelze schéma „hodnocení vztahu dávka-odezva“ jednoduše nebo vůbec použít. V dalším textu budou taková nebezpečí rozvedena na příkladu rizik transgenních rostlin tolerantních k virům. Nebezpečí v tomto případě je rekombinantní virus. Dávku, tj. velikost expozice nelze v tomto případě experimentálně stanovit. Místo dávky se v tomto případě určuje pravděpodobnost, s jakou a za jakých podmínek může ke vzniku rekombinantů docházet. Také odezvu tj. pravděpodobnost výskytu nepříznivého účinku na ostatní organismy je obtížné stanovit. Proto se odhaduje, jaká je schopnost rekombinantního viru přežít, uniknout do prostředí anebo vyvolat vážnější chorobu než působil nerekombinovaný virus. Také v těchto případech přechází plynule rizika GMO pro životní prostředí v rizika agronomická.

Posledním typem z příkladů hodnocení rizik GMO uvedených dále v textu jsou rizika úniku transgenů do populací planě rostoucích předků transgenních rostlin. V tomto případě je nebezpečím potenciální planě rostoucí předek kulturní rostliny s transgenem. Z hodnocení vztahu dávka-odezva však vyplývá, že odezva, tj. pravděpodobnost nepříznivého účinku na kontaminaci genofondu je vysoká. Velikost expozice je v tomto případě 0. Vzhledem k vysokým rizikům je pěstování transgenních plodin v oblastech výskytu jejich planě rostoucích předků zakázáno. To je další příklad prevence rizik, který je předmětem managementu rizik GMO na úrovni nadnárodních regulací.

### **3. Hodnocení expozice při určování rizik GMO pro životní prostředí**

Při třetím kroku hodnocení expozice GMO při určování rizik GMO pro životní prostředí zjišťujeme, jak se mění rozsah expozice v závislosti na podmínkách prostředí. Hodnocení expozice zahrnuje určení dávky (velikosti expozice), frekvenci expozice a dobu trvání expozice. V řadě případů však při určování rizik GMO pro životní prostředí lze stanovit pouze velikost expozice, v některých případech však nelze stanovit ani tento parametr.

### **4. Charakteristika rizika GMO pro životní prostředí**

Při charakterizaci rizik GMO pro životní prostředí se na základě výše uvedených tří dílčích procesů souhrnně zhodnotí pravděpodobnost výskytu nepříznivého vlivu GMO, jeho transgenu nebo produktu na životní prostředí za definovaných podmínek expozice. Rizika GMO na životní prostředí je možno definovat jako funkci pravděpodobnosti nepříznivého vlivu GMO a závažnosti takových účinků na jiné druhy organismů, společenstva organismů a funkce ekosystému. Na základě takové charakterizace rizika GMO pro životní prostředí se navrhne konkrétní doporučení pro management rizik. V případech, kdy identifikujeme nová nebezpečí GMO pro životní prostředí (což je jedním z poslání vědeckých výborů a panelů) a není dostatek podkladů pro charakterizaci rizika GMO doporučuje se na tomto úseku zahájit výzkumné aktivity.

## 4 Rizika produktů GM plodin pro zdraví člověka a hospodářských zvířat

V současné době jsou geneticky modifikované organismy považovány nesprávně za nebezpečí (hazard) pro bezpečnost potravin, respektive pro zdraví lidí a hospodářských zvířat. Není správné řadit GM plodiny a jejich produkty vedle reziduí pesticidů, přírodních toxinů jako jsou mykotoxiny, alergenů, atd. jako nebezpečí ve vztahu ke zdravotní nezávadnosti potravin.

U registrovaných transgenních odrůd zemědělských plodin nebyly dosud zaznamenány žádné negativní dopady z konzumace jejich produktů na zdraví lidí nebo hospodářských zvířat. Již po dobu 7 let konzumuje přes 100 milionů lidí na světě potraviny z geneticky modifikovaných zemědělských plodin, aniž by byly zaznamenány jakékoliv trendy ovlivňující jejich zdraví.

Potraviny vyrobené z produktů GM plodin nebo obsahující jejich příměsi nejsou z hlediska zdravotní bezpečnosti odlišitelné od potravin vyrobených z produktů prostých GM plodin.

Geny transgenů a jejich produktů lze dostupnými metodami detekovat v potravinách, krmivech i v prostředí. Stávající transgeny a jejich produkty nelze proto označovat z hlediska bezpečnosti potravin za nebezpečí (hazard).

Z faktorů bezpečnosti potravin vyrobených z produktů GM plodin se v dlouhodobých pokusech hodnotí: (1) produkt nově vloženého genu, (2) změna obsahu živin a známých negativně působících látek, (3) možnost vyvolání alergií a možný přenos genů mezi rostlinou a mikroflorou zažívacího traktu člověka a zvířat. Ověřování vlivu GM plodin a jejich produktů na zdraví člověka a dozorové činnosti nad GM plodinami jsou důkladnější a přísnější než nad rezidui pesticidů. Vliv reziduí pesticidů na zdraví člověka není dodnes dostatečně prozkoumán. Některá z nich mohou mít podíl na zvyšování frekvence výskytu alergických onemocnění, mohou zasahovat do hormonálních regulací a není vyloučen jejich podíl na prudkém poklesu plodnosti lidí a hospodářských zvířat v některých vyspělých zemích. Například v zemích EU a obdobně také v ČR je v posledních letech kontaminováno rezidui pesticidů okolo 40 % ovoce a zeleniny v přípustné normě a z toho přes 3 % je nad úrovní přesahující povolené limity.

Vliv produktů GM plodin na zdraví člověka a zvířat je podrobně studován dříve než je povoleno uvádět tyto produkty na trh. Naproti tomu při klasickém šlechtění tomu tak dosud vždy nebylo. Mohou se tak na trhu objevit produkty nových odrůd, které mají nepříznivý vliv na zdraví člověka. Například některé odrůdy brambor, které byly vyšlechtěny klasickým způsobem měly neakceptovatelně vysokou úroveň glykoalkaloidů. Například kříženec mezi *Solanum tuberosum* a *S. chacoense* (Zitnak a Johnston, 1970) nebo odrůda brambor, která musela být stažena ze švédského trhu (Hellenas a kol., 1995). Obdobně musela být z trhu stažena odrůda celeru, která způsobovala kontaktní dermatitidu u pracovníků na poli. Chemická analýza prokázala u této odrůdy vysokou hladinu furanokumarinů (Trumble a kol., 1990).

## 5 Rizika GM rostlin pro životní prostředí

Je třeba si uvědomit, že každá změna technologie pěstování zemědělských plodin způsobuje změny v biodiverzitě agroekosystémů. V posledním období působily tyto změny zejména koncentrace plodin, zjednodušené oseední postupy, zavádění nových intenzivních odrůd plodin a změny v metodách a prostředcích ochrany vůči škodlivým organismům. Negativní vliv pesticidů na biodiverzitu a na životní prostředí, zejména půdní úrodnost a kvalitu vodních zdrojů je dostatečně dokladován. Také po zavedení GM plodin na velké plochy bude docházet ke změnám v biodiverzitě agroekosystémů. Dosud nejsme schopni předvídat, zda vliv GM plodin na biodiverzitu bude negativní nebo pozitivní, významný nebo nevýznamný. Na základě současných poznatků však můžeme předpovídat, zdali bude například významnější než vliv používání syntetických pesticidů.

Neočekávané změny ve společenstvech agroekosystémů, například změny ve spektru škodlivých organismů a ve změnách jejich hospodářského významu, anebo ve změnách společenstev indiferentních členovců a přirozených nepřátel škůdců mohou nastat až po zavedení GM plodin na velké plochy. Taková rizika lze jen obtížně předem odhadovat. Někdy i velmi malý vedlejší účinek GMO na necílové organismy může při plošném a dlouhodobém působení mít negativní vliv na změny společenstev. Také rizika ze vzájemných interakcí mezi různými GMO lze jen obtížně předpovídat.

Pro ekosystémy jsou z ekologických rizik většinou uváděny dva možné typy rizik. Zaprvé, přímý únik transgenních plodin z polí (nebo z laboratoří) a jejich šíření jako nových invazních druhů. Zadruhé, křížení a únik genů do planých druhů rostlin a šíření těchto rostlin do ruderálních nebo původních společenstev. Rizika tří typů GM plodin (tolerantních k herbicidům, rezistentních vůči škůdcům a rezistentních vůči virovým chorobám) přestože mají řadu společných znaků, mají také svá specifika. V následujících podkapitolách jsou popsána rizika těchto tří skupin organismů na životní prostředí odděleně z důvodu vyzvednutí jejich odlišností. Tyto odlišnosti vedou na jedné straně vedou k diferenciaci problému z hlediska potřebného výzkumu (výzkum má odlišné cíle a metody), na straně druhé vedou k odlišnému managementu uvedených tří skupin GMO. Základním postulátem hodnocení rizik GMO pro životní prostředí je, že rizika lze jen obtížně zevšeobecňovat, že je nezbytné vždy posuzovat konkrétní konstrukty v konkrétních plodinách a pro konkrétní prostředí. Z tohoto pohledu nelze všechny poznatky výzkumu rizik GMO přebírat ze světa, ale je třeba i v ČR podporovat a rozvíjet vlastní výzkum této problematiky.

### 5.1 Rizika GM rostlin tolerantních k herbicidům pro životní prostředí

Jedno z nejobecněji chápaných rizik, které je spojeno s používáním GM plodin, se týká možnosti úniku transgenů z kulturních plodin do životního prostředí. Obvykle jsou zmiňovány dvě otázky týkající se tohoto problému. Mohou se geneticky modifikované rostliny stát invazními? Může přenos genů z transgenních rostlin do jejich planě rostoucích příbuzných druhů prostřednictvím hybridizace vést ke vzniku agresivnějších plevelných druhů rostlin? Obě tyto možnosti předpovídají vznik tzv. „superlevelů“, jakožto nezamýšlených výsledků biotechnologií, které mohou mít za následek nové biologické invaze.

Pod termínem superplevele se míní buď přímo GM plodiny tolerantní k herbicidům, které se vyskytují v jiné plodině, nebo plevelné druhy rostlin rezistentních k herbicidům. Přítomnost rezistence k herbicidům může vzniknout samovolně pod selekčním tlakem dlouhodobého a opakovaného používání téže účinné látky nebo přenosem pylu z transgenních plodin na příbuzné druhy plevelných rostlin. Příkladem může být možnost křížení řepky s příbuznými druhy plevelných rostlin. Na polích lze hubit tyto superplevele klasickými herbicidy.

Problémy by mohly nastat, pokud by tyto plevele pronikly mimo agroekosystémy. Vzhledem k možnému ekologickému nebezpečí spojenému s únikem transgenů do prostředí, byla tomuto problému věnována ve výzkumu značná pozornost (Crawley, 1990, Raybould a Gray, 1994, Snow a Palma, 1997, Warwick a Small, 1998). Výsledky nejnovějších teoretických a empirických studií, týkajících se možného úniku transgenů do prostředí, umožňují určitý odhad pravděpodobnosti rizik pro životní prostředí, které představují GM plodiny. Pokud se týká vzniku tzv. „superplevelů“, ukazuje se, že ekologická rizika jsou nízká, avšak agronomická rizika by mohla být závažná.

### **5.1.1 GM rostliny jako rostliny invazní**

Pravděpodobnost, že se GM plodiny stanou invazivními a budou působit vážné problémy jako superplevele, je často považována za velmi malou, protože většina dnes pěstovaných hlavních plodin (např. kukuřice, rýže, pšenice, luskoviny) byla dlouhodobě pod intenzivní umělou selekcí. Touto selekcí byly získány znaky, které vedou k nízké schopnosti přežití těchto rostlin ve většině přírodních podmínkách. Znaky, jako je neschopnost samovolného uvolňování semen u obilovin, snížená obranyschopnost vůči škodlivým organismům, ztráta dormance semen a vysoké požadavky na hnojení, omezují schopnost přežití většiny domestikovaných druhů rostlin mimo agroekosystémy. Domestikované druhy rostlin nepatří ve světovém měřítku mezi vážné invazivní druhy rostlin. Přežití ve společenstvech planě rostoucích rostlin je výsledkem kombinace působení řady genů, které vytvářejí funkční fenotyp adaptovaný na místní podmínky prostředí. Z tohoto důvodu je ve většině případů nepravděpodobné, že by vložení specifických transgenů do kulturních plodin mohlo ovlivnit jejich ekologii natolik, že by se staly agresivními invazivními druhy rostlin. Je nepravděpodobné, že by cílené genetické modifikace potlačily výsledky dlouholetých umělých selekcí.

GM rostliny s krátkou historií domestikace mohou představovat větší environmentální rizika než hlavní zemědělské plodiny. GM rostliny se mohou stát invazivními, jestliže genetické modifikace zvýší schopnost přežívání a reprodukce kultivarů v přírodních ekosystémech. Jak ukazují zkušenosti z Kanady s jarní řepkou (angl. canola) tolerantní k herbicidům, některé plodiny mají potenciál stát se vážnými plevelnými druhy v agroekosystémech.

Řepka olejná patří mezi plodiny, které byly domestikovány relativně nedávno, ve srovnání s hlavními obilovinami (např. kukuřice, pšenice, rýže). U řady odrůd řepky se bohužel zachovaly dva divoké znaky, a to krátká dormance semen a schopnost samovolného uvolňování semen. V důsledku projevu těchto znaků se velké množství semen při sklizni dostává do půdy, přetrvává v zásobě semen v půdě a v dalších letech pak rostliny z těchto semen zaplevelují další plodiny (Perkun a kol., 1998, Downey, 1999). Obvykle se invazivní druhy rostlin objevují v pěstovaných plodinách v relativně malé hustotě a jsou hubeny selektivními herbicidy. Problémy nastávají, pokud jsou tyto invazivní druhy rezistentní k herbicidům. Řepka rezistentní k herbicidům se jako plevelný druh stává hlavním



problémem některých částech Prairie Province v Kanadě. Někteří herbologové předpovídají, že řepka tolerantní k herbicidům se stane hlavním plevelným druhem v Kanadě, protože se tato GM řepka pěstuje v Prairie Province na obrovských plochách. Existují také určité obavy z přenosu genů pylem z odrůd řepky rezistentních k různým herbicidům. Může k tomu dojít při křížení invazních druhů a pěstovanou plodinou a nebo mezi různými invazními druhy. V západní Kanadě se v současné době pěstují tři druhy řepky tolerantní k herbicidům (rezistentní ke glyfosátu, glufosinátu a imidazolinu). Současné poznatky ukazují, že nezáměrné křížení mezi těmito kultivary vede ke vzniku rostlin s multiple-rezistencí k dvěma a v některých případech ke třem skupinám herbicidů (Derksen a Watson, 1999, Topinka a kol., 1999). Takového genetické změny vedou k vážným problémům, protože k likvidaci multiple-rezistentní plevelné řepky jsou farmáři nuceni používat starší typy herbicidů, z nichž některé jsou méně šetrné k životnímu prostředí než novější produkty.

Vzhledem k velikosti ploch, na kterých se dnes transgenní řepka rezistentní k herbicidům pěstuje v Kanadě, není překvapivé, že se příležitosti ke genetickému křížení mezi různými odrůdami vyskytují. Navzdory nejlepšímu snahám farmářů mohou být semena náhodně převážena polní technikou mezi poli, kde se pěstují různé odrůdy řepky tolerantní k herbicidům, nebo mohou být jednoduše odnesena větrem z návěsů převážejících semena na pole a z polí (Gray a Raybould, 1998). Bez ohledu na mechanismy vedoucí ke vzniku multiple-rezistentních odrůd řepky je velmi obtížné předpovídat pravděpodobnost přenosu genů na základě maloparcelkových pokusů s relativně malým počtem pěstovaných rostlin. Navíc je třeba zdůraznit problémy v kontrole genetických materiálů v kontextu normální zemědělské praxe, ve které jsou produkovány a sklizeny doslova miliony semen na obrovských plochách.

### **5.1.2 Tok genů mezi GM plodinami a planě rostoucími rostlinami**

Při procesu šíření pylu se pouze malá část z velkého množství samčích gamet produkovaných rostlinou (obvykle méně než 1%) úspěšně realizuje v opylení rostlin stejného druhu. Většina gamet je v procesu opylování neúspěšná a pouze malá část jich je přenesena na blizny rostlin jiných druhů. V případě, že se jedná o příbuzné druhy dárce a příjemce, může dojít k mezidruhovému křížení. Většina kříženců, vzniklých mezidruhovým křížením, je geneticky sterilních nebo je vlivem kombinace znaků s nízkou adaptací v průběhu přirozené selekce brzy eliminována. Historicky hrála mezidruhová hybridizace významnou roli v evoluci kvetoucích rostlin, s významným podílem (30% – 50%) všech druhů vzniklých tímto způsobem.

Hlavní obava spojená se zemědělskými biotechnologiemi je, že genový tok z GM plodin na blízce příbuzné planě rostoucí plevele vyústí v utvoření nových fenotypů plevelů, které budou mít potenciál stát se značně invazivními. Značné úsilí bylo v posledních letech věnováno zjištění, jak je tento proces pravděpodobný u jednotlivých plodin a jak zmírnit negativní dopady na životní prostředí, které mohou vyplynout z náhodného genového transferu (Kareiva a kol., 1994, Snow a Palma, 1997, Lavigne a kol., 1998, Riesenberga a kol., 1999). Významné snížení rizika úniku transgenů do prostředí pylem bude možné využitím genetických konstruktů, které jsou děděny výhradně po matce (Daniell a kol., 1998, Gray a Raybould, 1998).

Výsledky experimentů zaměřených na šíření pylu a tok genů mezi rostlinami obecně ukazují, že pyl většiny rostlin se šíří na krátké vzdálenosti, s tím že stabilně klesající podíl pylových zrn je přenášen na delší vzdálenosti. Např. pyl z bylin se šíří na vzdálenost 2-3 m od zdroje, s malým podílem přenášeným do vzdálenosti 1 km nebo dále (Lavigne a kol., 1998). Dvěma hlavními faktory, které určují šíření pylu, jsou způsob opylování rostlin a přenos pylu větrem nebo zvířaty. Obecně řečeno, převážně samosprašné rostliny produkují mnohem méně pylu než cizosprašné a pouze malá část pylu z těchto rostlin je přenesena na jinou rostlinu. Naproti tomu cizosprašné rostliny produkují mnohem více pylu a pyl z těchto rostlin může být přenesen na značné vzdálenosti, zvláště v případě přenosu pylu větrem. A priori není žádný důvod, proč by tyto obecné principy neměly platit pro GM rostliny, tzn. přenos pylu s transgeny by se neměl lišit od přenosu pylu bez transgenů.

Plodiny mohou být zhruba rozděleny do tří kategorií podle pravděpodobnosti výskytu transferu genů, ke kterému by mohlo dojít v přírodě. 1) žádná možnost transferu – když jsou plodiny pěstovány v oblastech, kde se nevyskytují planě rostoucí příbuzné druhy (např. GM kukuřice mimo oblasti Střední a Jižní Ameriky, soja mimo oblasti Jihovýchodní Asie), 2) malá možnost transferu – GM plodiny, které jsou převážně samosprašné (většina obilovin) nebo se rozmnožují převážně asexuálně (sladké brambory, cukrová třtina), 3) mírná až vysoká možnost transferu – když jsou plodiny cizosprašné a jsou pěstovány v oblastech, kde se v přírodě vyskytují příbuzné druhy rostlin (např. řepka olejná v mnoha částech Evropy a Severní Ameriky, rýže v Jihovýchodní Asii). Současné směrnice pro polní experimenty s GM plodinami berou v úvahu toto rozlišení, a doporučení týkající se velikosti a izolace experimentálních ploch odrážejí pravděpodobnost výměny genů mezi GM plodinami a planě rostoucími příbuznými druhy rostlin. Při komerčním pěstování GM plodin na velkých plochách však možnosti pro genový transfer budou výrazně větší než při maloparcelkových pokusech. Z toho důvodu je třeba postupovat s jistou obezřetností při zevšeobecňování pravidel pro izolační vzdálenosti (tj. vzdálenosti, které zabraňují disperzi pylu) na základě experimentů na malých plochách.

Podle současných poznatků nejsou známy žádné případy úniku transgenů z komerčních ploch do populací plevelů. Nejvíce prací na toto téma se dosud týkalo řepky olejné (*Brassica napus*), která se může křížit s několika příbuznými druhy (*B. rapa*, *B. oleracea*) i s divokou ředkvi (*Raphanus raphanistrum*). Předpokládá se, že tento druh se může křížit s více než devíti příbuznými taxony (Stewart a kol., 1997). Jelikož některé z těchto taxonů jsou také schopné se křížit s dalšími planě rostoucími druhy z rodu *Brassica*, množství druhů rostlin, do kterých se mohou transgeny přenést, je poměrně velké.

Ačkoliv jsou současné poznatky nedostatečné a omezené na experimentální plochy jediné GM plodiny (řepky olejné), tyto poznatky naznačují, že transgeny mohou být přeneseny do planě rostoucích rostlin, byť s malou četností. Význam takových hybridizací by z hlediska ekologie závisel na tom, zda by planě rostoucí rostliny se získanými transgeny měly natolik zvýšenou fitness, která by umožnila nárůst jejich početnosti. Kontaminace geneticky nemodifikovaných plodin transgeny jsou navíc problémem pro zemědělství s nízkými vstupy (organické zemědělství) a mohou zvyšovat nároky na izolační vzdálenosti tak, aby byla zajištěna čistota ne – GM produkce (Moyes a Dale, 1999).

### 5.1.3 Šíření transgenů v planě rostoucích rostlinách

Mnohem složitější než zjišťování, zda je výskyt genového toku mezi plodinami pravděpodobný, je předpovídání osudu transgenů v populacích planě rostoucích rostlin. Je tomu tak proto, že jakmile jsou transgeny zabudovány do genetického pozadí planě rostoucích rostlin, jejich uplatnění a další šíření je řízeno různými ekologickými a evolučními procesy. Zjištění ekologických a evolučních důsledků šíření transgenů v populacích planě rostoucích rostlin je jedním z hlavních problémů v posuzování dopadu pěstování GM plodin na životní prostředí.

Šíření transgenů v populacích planě rostoucích rostlin bude záviset na možných přínosech pro rostliny, do kterých budou transgeny přeneseny, tj. např. zvýšené schopnosti přežívání a úspěšnosti v reprodukci. To záleží na typu transgenů a jejich vlivu na fenotyp rostlin. První generace transgenních rostlin měla v převážné většině vložené geny pro rezistenci k herbicidům a různým chorobám či škůdcům, zatímco v blízké budoucnosti budou pravděpodobně komerčně dostupné rostliny s geny pro toleranci ke stresu (např. tolerance k zasolení půdy, k suchu a k vysokým či nízkým teplotám). Není těžké si představit, že únik takových genů by mohl ovlivnit ekologii společenstva planě rostoucích rostlin. Nicméně je obtížné odhadovat potenciální ekologický dopad dalších genů druhé generace GM plodin (např. rýže obohacená na vitamíny, prodloužené období kvetení u okrasných rostlin).

Zvláště významné je zjišťování persistence transgenů v populacích planě rostoucích rostlin v podmínkách absence selekce, která udržuje vložené znaky (např. kontinuální ošetřování herbicidy nebo napadení škůdci a chorobami). Není překvapivé, že výsledky srovnávacích studií GM-plodiny versus ne-GM-plodiny nejsou zcela jednotné. Například Snow a kol. (1999) nezjistili v laboratorních podmínkách žádné významné rozdíly v přežívání a produkci semen u netransgenních a transgenních hybridů *Brassica napus* x *B. rapa* tolerantních k herbicidům. Naproti tomu Bergelson a kol. (1996) zjistili u plevele *Arabidopsis thaliana* velké energetické náklady, které rostliny vynakládají na rezistenci k herbicidům. V tomto případě transgenní rostliny produkovaly v polních podmínkách o 34% méně semen ve srovnání s vnímavými genotypy. Jedna ze studií demonstruje zvýšenou fitness u transgenních rostlin *Brassica napus* s genem *Bt cryIAc* (Steward a kol., 1997). Crawley a kol. (1993) odhadovali demografické parametry transgenní a netransgenní *Brassica napus* v různých habitatech a klimatických podmínkách v UK v průběhu tří let. Navzdory výrazným rozdílům ve výkonnosti rostlin na různých lokalitách a při různém ošetření, autoři nezjistili žádné důkazy, že by transgenní rostliny byly více nebo méně schopné přežít v nevyrovnaných podmínkách než rostliny netransgenní.

Ačkoliv ve většině studií dosud nebyly prokázány žádné výrazné ekologické výhody transgenních rostlin ve srovnání s konvenčními odrůdami, není možné toto brát jako důkaz, že ekologická rizika spojená s únikem transgenů do prostředí budou vždy minimální. Příliš málo GM druhů rostlin bylo dosud zkoumáno na to, aby bylo možné závěry z těchto studií generalizovat. Většina vědců zabývající se problémem úniku transgenů do prostředí se shoduje v názoru, že je třeba každý druh GM rostliny a kombinace transgenů brát samostatně a brát v úvahu jak vývojové atributy komplexu GM plodina – plevel, tak ekologický kontext, v jakém se vyskytují.

#### **5.1.4 Vliv GM plodin tolerantních k herbicidům na biodiverzitu**

Potenciální dopad používání GM plodin na biodiverzitu je jednou z nejméně prostudovaných otázek spojených s GMO. Ačkoliv obecně je biodiverzita chápána jako množství a rozmanitost druhů ve společenstvu, je důležité zdůraznit, že biodiverzita má také vnitrodruhovou složku, zvláště genetickou diverzitu uvnitř druhu. Jak by mohlo velkoplošné zavádění GM plodin ovlivnit tuto složku biodiverzity? Jeden z možných dopadů zahrnuje genetické změny v populacích planě rostoucích rostlin spojené se změnami zemědělské praxe. Např. velkoplošné zavádění plodin rezistentních k herbicidům nepochybně ovlivní spektrum plevelů na obdělávané půdě a v jejím okolí. Jestliže se zvýší používání herbicidů, můžeme také očekávat více případů rozvoje plevelů rezistentních k herbicidům. Od roku 1968, kdy byla rezistence k herbicidům poprvé publikována, bylo dosud ve světovém měřítku popsáno přes 200 případů výskytu biotypů plevelů rezistentních k herbicidům (Heap, 1999).

Otázce možné redukce biodiverzity způsobené používáním GM plodin je věnována zvýšená pozornost zejména v Evropě, kde má koexistence agroekosystémů a přirozených ekosystémů mnohem delší historii, než např. v Americe. V Evropě je řada druhů adaptována na prostředí spojené se zemědělskou praxí, např. na meze, strouhy, remízky a louky. Používání širokospektrálních herbicidů do plodin rezistentních k herbicidům pravděpodobně redukuje diverzitu rostlin s přímým a nepřímým vlivem na obratlovce a bezobratlé. Např. Watkinson a kol. (2000) zdůrazňují, že používání GM plodin tolerantních k herbicidům by mohlo vést k redukci populací plevelů s následným negativním dopadem na ptáky živící se semeny. Výsledky posledních výzkumných projektů, které uvedeme dále podrobněji ukázaly, že u některých GM plodin tolerantních k herbicidům tomu tak být nemusí.

Zatímco vliv jedné plodiny nebo jedné geneticky změněné vlastnosti plodiny se nemusí vůbec projevit na biodiverzitu, u jiné transgenní plodiny by mohlo dojít k významným změnám, možná i negativním. Dobrým příkladem mohou být výsledky rozsáhlého výzkumného projektu, který byl uskutečněn ve Velké Británii v letech 2002 – 2003, při kterém byly hodnoceny přínosy a rizika tří plodin tolerantních k herbicidům (Sweet, 2003). V pilotních projektech bylo hodnoceno 66 porostů cukrovky, 68 porostů kukuřice a 67 porostů jarní řepky, vždy ve srovnání transgenních a netransgenních odrůd. U všech tří plodin se na transgenních odrůdách významně snížilo množství aplikovaných aktivních látek herbicidů ve srovnání s konvenčními odrůdami. Přitom u transgenní cukrovky a řepky byl také významně nižší počet prováděných aplikací herbicidů než u netransgenních odrůd. U transgenní cukrovky a jarní řepky bylo v porostech před postemergentní aplikací herbicidu více plevelů než v porostech konvenčních odrůd. Naproti tomu před sklizní byla u transgenní cukrovky a jarní řepky snížena biomasa plevelů a také produkce jejich semen na jednu třetinu nebo ještě více oproti stavu v konvenčních odrůdách.

U těchto dvou plodin vedl systém ochrany na transgenních odrůdách k výraznému snížení přírodní zásoby semen plevelů v půdě. Naproti tomu po provedené ochraně u transgenní kukuřice tolerantní k herbicidům byla biomasa plevelů v průběhu sezóny vyšší než u konvenční odrůdy a nebyly zjištěny rozdíly mezi oběma typy odrůd v zásobě semen plevelů v půdě. U všech třech plodin nebyl mezi oběma systémy ochrany zjištěn významný vliv na biodiverzitu plevelů. Změny plevelných společenstev, ke kterým došlo vlivem používaných herbicidů, se projeví ve změnách početnosti a diverzity členovců, herbivorů, detritofágů, parazitoidů a predátorů. Naproti tomu u všech tří plodin nebyl zjištěn žádný vliv transgenních odrůd na změny v početnosti škůdců zemědělských plodin oproti odrůdám konvenčním.

Chvostokoci byli početnější u všech tří plodin v transgenních odrůdách, a to vlivem pozdějšího termínu aplikace herbicidů. Naproti tomu střevlíci požírající semena plevelů byli v transgenní cukrovce a řepce méně početní než v konvenčních odrůdách. V transgenní kukuřici však tyto střevlíci byli více početní než v konvenční odrůdě. Početnost motýlů a včel byla nižší podél porostů transgenní cukrovky a řepky a netransgenní kukuřice. Změny v početnosti plevelů, jejich snížení v porostech transgenních odrůd tolerantních k herbicidům u cukrovky a u jarní řepky, vedly ke snížení potravní nabídky pro indiferentní druhy herbivorního hmyzu, což vedlo k úbytku potravních zdrojů pro predátory a parazitoidy.

U transgenní kukuřice byl zjištěn opačný pozitivní trend na biodiverzitu, což má za následek doporučení pěstování transgenní kukuřice na velkých plochách. Naproti tomu na základě výzkumu očekávaný významný trend dlouhodobého poklesu výskytu dvouděložných plevelů v porostech transgenní cukrovky a jarní řepky by mohl vést k poklesu početnosti členovců, pro které jsou tyto plevele potravním zdrojem. Vědci se obávají, že následkem toho by mohla být snížena početnost výskytu drobných hlodavců a ptáků, pro které jsou tyto členovci potravou. Výsledky studie zatím vedly k pozastavení rozšiřování pěstování transgenní cukrovky a jarní řepky tolerantní k herbicidům v UK (Sweet, 2003). Mezitím nezávisle další vědecký tým v Belgii potvrdil některé další negativní vlivy pěstování transgenní řepky na životní prostředí. Z těchto důvodů a také vlivem zvýšených rizik agronomických dosud žádná země EU nepovolila pěstování transgenní řepky tolerantní k herbicidům do oběhu a pro pěstování. Nelze však usuzovat, že tento stav je konečný. Trendy dlouhodobých interakcí mezi plevelem a populacemi bezobratlých mohou být odlišné v různých geografických oblastech a jsou vedle systému ochrany vůči plevelům významně ovlivňovány osevními postupy, systémy zpracování půdy a celkovou diverzitou agroekosystémů.

## **5.2 Rizika GM plodin rezistentních vůči škůdcům na životní prostředí**

### **5.2.1 Vliv GM plodin rezistentních vůči škůdcům na necílové organismy a diverzitu členovců**

Pro hodnocení rizik *Bt*-plodin na ostatní organismy a na biodiverzitu je možno použití v zásadě dva přístupy: (1) hodnocení rizik na základě laboratorních experimentů, (2) hodnocení rizik na základě výsledků monitoringu společenstev organismů v polních experimentech. Hodnocení rizik *Bt*-kukuřice na členovce na základě laboratorních testů budeme demonstrovat na příkladech uváděných Dutton a kol. (2002).

V první fázi je třeba identifikovat a kvantifikovat nebezpečí, to znamená stanovit obsah *Bt*-toxinu v rostlinách a v organismech různých trofických úrovní. Například u testovaného hybridu byl obsah *Bt*-toxinu v listech *Bt*-kukuřice 3,3 µg/g čerstvé hmotnosti, v zrnu 1,4 µg/g a v pylu méně než 90 ng/g sušiny, přičemž *Bt*-toxin byl detekován v mezofylu, ale nebyl nalezen ve floénu a xylénu. Na mšice a další skupiny členovců, kteří sají výhradně z floénu tak nemůže mít *Bt*-toxin žádný negativní vliv, protože se s ním nemohou setkat. Žádný přímý negativní vliv *Bt*-toxinu se tak nemůže projevit ani u přirozených nepřátel mšic.

Naproti tomu na skupiny hmyzu sající z mezofylu může mít *Bt*-toxin negativní vliv, anebo se v nich může *Bt*-toxin akumulovat, v případech, kdy na ně *Bt*-toxin nepůsobí. Takové skupiny herbivorů mohou mít negativní vliv na organismy ve vyšších trofických úrovních (na predátory a parazitoidy), pokud budou organismy z těchto skupin k *Bt*-toxinu citlivé.

Například ve fytofágních roztočích byl zjištěn obsah *Bt*-toxinu po sání na *Bt*-rostlinách až 6 µg/g živé hmotnosti, u třásněnek a kříسů do 1 µg/g živé hmotnosti a housenek motýlů necílových druhů do 0,8 1 µg/g živé hmotnosti. Vliv *Bt*-plodin na přirozené nepřátele se může projevit přímo, příjmem *Bt*-toxinu v kořisti, anebo nepřímo na základě změn v populacích druhů, které jsou kořisti, nebo změnami kvality kořisti, nebo změnami v závislosti na rozdílném výskytu medovice. Přímý příjem *Bt*-toxinu z kořisti, která jej obsahuje může být u různých skupin predátorů rozdílný. Například u slunéček, střevlíka rodu *Bembidion* a u pestřenek nebyl příjem *Bt*-toxinu prokázán, na rozdíl od výskytu *Bt*-toxinu v tělech zlatooček a ploštic rodu *Orius*.

Dutton a kol. (2002) dále uvádějí příklady rozdílného působení *Bt*-toxinu v transgenních rostlinách a po přímém postřiku přípravky na bázi *Bt*-toxinu. Například u zlatoočky lze v experimentálních podmínkách prokázat negativní vliv na přežívání po příjmu kořisti s *Bt*-toxinem. U řady jiných druhů predátorů se po příjmu kořisti obsahující *Bt*-toxin neprokázaly žádné změny v mortalitě nebo jiných životních aktivitách. Experimentálně lze také prokázat negativní vliv *Bt*-toxinu na necílové druhy herbivorů. Jeden z prvních takových důkazů byl publikován pro housenky motýla monarcha (*Danaus plexipus*). Zvýšená mortalita housenek tohoto motýla, který je považován v USA za místní symbol ochrany přírody, byla zjištěna po příjmu listů klejchy kontaminované pylem *Bt*-kukuřice (Losey a kol., 1999). Klejcha je živnou rostlinou tohoto motýla a v Americe se běžně vyskytuje jako plevel v kukuřici. V později prováděných obdobných experimentech v polních podmínkách bylo prokázáno, že v přirozených podmínkách nemá kontaminace klejchy pylem *Bt*-kukuřice praktický významný vliv na redukcii populační hustoty monarcha (Hansen a Obrycki, 2000).

Uvedený příklad ukazuje, jak lze v laboratorních experimentech identifikovat potenciální riziko pro životní prostředí. Až teprve v přirozených podmínkách lze zhodnotit skutečné riziko, které pro případ housenek motýla monarcha je zanedbatelné. Ale pro jiný druh organismu by mohlo být takové riziko významné. V laboratorních podmínkách nebyl zjištěn negativní vliv pylu z *Bt*-luluřice na vývoj a životní aktivity dravé ploštiny *Orius majusculus*, kterým byl tento pyl přidáván k potravě (Pons a kol., 2003).

Jiným příkladem vlivu na necílové organismy může být *Bt*-kukuřice v systému Yield Gard. Tato je cílena na ochranu vůči zavíječi kukuřičnému a není cílena na ochranu proti jiným druhům škodlivých motýlů. Účinnost této *Bt*-kukuřice na housenky z rodů *Spodoptera* a *Agrotis* nebo na *Helicoverpa armigera* je nedostatečná (Headrick, 2002). *Bt*-toxin u těchto druhů pouze zpoužďuje vývoj housenek a snižuje přežívání. *Bt*-toxin se však může v housenkách těchto druhů akumulovat. Experimentálně lze pak prokázat negativní vliv *Bt*-toxinu v těchto housenkách na jejich predátory nebo parazitoidy (Meisole a kol., 2003).

Druhý způsob hodnocení rizik je založen na monitoringu společenstev organismů v polních experimentech, který je prováděn obvykle v průběhu uvádění GMO do prostředí ještě před jejich uvedením do oběhu. Z hlediska metodického je významné monitorovat výskyt členovců z různých trofických úrovní (Freier, 20002).

Vedle výběru modelových taxonů, mohou být výsledky ovlivněny použitými metodami monitorování. První trofickou úroveň představují herbivoři, u kterých musíme diferencovat na druhy žravé a savé. Přitom u žravých druhů lze diferencovat na druhy požírající listy a stonky, a na druhy požírající pyl nebo živící se medovicí. U savých druhů herbivorů je třeba rozlišovat mezi skupinami které sají přímo z floénu a těmi sajícími z mezofylu nebo povrchových buněk. U predátorů je potřeba rozlišovat mezi druhy preferujícími jako kořist

mšice a druhy polyfágními jako je například většina druhů střevlíků nebo pavouků. Významnou skupinou pro monitoring jsou druhy semenožravé, kam například patří celá řada druhů střevlíků, zejména z rodu *Amara*. Další trofickou úrovní jsou saprofágové, ať už půdní jako chvostoskoci a kroužkovci, anebo vyvíjející se v hnilobných částech rostlin jako jsou dvoukřídlí. Specifickou indikátorovou skupinou členovců na *Bt*-plodinách mohou být druhy mykofágní.

V řadě evropských zemí byly v posledních letech provedeny rozsáhlé polní experimenty za účelem hodnocení vlivu *Bt*-plodin na společenstva členovců. Nejvíce studií, včetně ČR bylo prováděno v porostech *Bt*-kukuřice. Shodně ve všech zemích nebyl zjištěn žádný negativní trend na diverzitu členovců ani na výskyt přirozených nepřátel ve srovnání s konvenčními odrůdami. Stejná diverzita a početnost byla v obou typech odrůd zjištěna pro půdní faunu, střevlíkovité brouky a pavoukovce a také pro komplex herbivorních druhů, včetně mšic a spektra jejich přirozených nepřátel (Furlan, 2002, Freier, 2003 Lang, 2002, Habušová a kol., 2003, Sehnal a kol., 2003). V některých studiích byla dokonce prokázána vyšší početnost populací některých druhů predátorů, např. slunéček a ploštic v porostech *Bt*-kukuřice (Gülü, 2002) anebo byla v porostech *Bt*-kukuřice zjištěna vyšší početnost svilušek a dravých roztočů (Furlan, 2002) ve srovnání s porosty konvenčních hybridů kukuřice. Také v pokusech s hodnocením vlivu pylu *Bt*-kukuřice, který kontaminuje podsev brukvovitých rostlin, nebyl prokázán jeho negativní vliv na housenky motýlů (Gathman a kol., 2003). V polních experimentech nebyl také prokázán negativní vliv *Bt*-kukuřice na vaječné parazitoidy zavíječe kukuřičného z rodu *Trichogramma* (Mamachimi a Lozzia, 2003). V pokusech s *Bt*-bramborami byly zjištěny významně vyšší populační hustoty aphidofágních slunéček v porostech *Bt*-brambor ve srovnání s porosty konvenčních odrůd ošetřovaných pesticidy vůči mandelince bramborové Kalushlov a Nedvěd, 2003).

V řadě dalších studií bylo prokázáno, že *Bt*-plodiny jsou šetrnější k užitečnému hmyzu než konvenční ochrana současnými insekticidy. Například negativní účinky pyretroidů na užitečný hmyz jsou 10 až 100x větší než při použití transgenních odrůd rezistentních vůči hmyzu. Je zcela neadekvátní srovnávat negativní účinky GMO a chemických insekticidů typu DDT. V době, kdy se chlorované insekticidy zaváděly do praxe, se o mechanismech jejich účinků vědělo jen málo a o kumulaci v potravinových řetězcích vůbec nic. Naproti tomu geny transgenních odrůd i jejich produkty jsou velmi dobře známé, chemicky identifikované struktury s přesně známými mechanismy účinku. V prostředí lze tyto látky stanovit pomocí dostupných metod. Obecně význam užitečného hmyzu pro regulaci cílových druhů škůdců v transgenních odrůdách rezistentních k hmyzu bude nižší než je v systémech integrované ochrany využívající selektivní insekticidy anebo v systémech organického pěstování. Při porovnání *Bt*-plodin a netransgenních plodin ošetřovaných syntetickými neselektivními zoocidy bude početnost přirozených nepřátel škůdců i druhová diverzita členovců vyšší na *Bt*-plodinách. Účinná eliminace dominantních druhů škůdců v porostech *Bt*-plodin se může vlivem úbytku potravních zdrojů projevit nižší početností některých přirozených nepřátel škůdců, jejich predátorů a parazitoidů. Tím se odlišuje GMO strategie od tzv. ekologických způsobů hospodaření, kde výskyt užitečného hmyzu je základním předpokladem pro regulaci škůdců. Geneticky modifikované odrůdy jsou určeny do vysoce intenzivních systémů pěstování, které jsou v současné době charakterizovány intenzivním požíváním syntetických pesticidů. Právě v takových systémech umožňují transgenní rostliny rezistentní vůči hmyzu významně minimalizovat spotřebu syntetických pesticidů.

### 5.2.2 Vliv GM plodin rezistentních vůči škůdcům na společenstva půdních členovců a dekompozici biomasy

Identifikace nebezpečí a hodnocení rizik pro životní prostředí bude demonstrováno zejména na rostlinách rezistentních k hmyzu. V tomto případě je nebezpečím *Bt*-toxin, který se z rostlin dostává do prostředí, zejména do půdy. Změny společenstev mikrobusů v půdě závisí na typu genetické modifikace, mohou být v řadě případů nevyhnutelné, mohou, ale také nemusí být předmětem rizik. Například u odrůdy transgenní kukuřice NK 4640*Bt* s genem *cry1Ab*, který produkuje *Bt*-protein byl zjištěn tento protein jako exudát mezi normálně přítomných exudáty rhizosféry (Saxena a kol., 1999). Na konci sezóny se *Bt*-toxin s posklizňovými zbytky dostává do půdy. Přitom u každé plodiny a dokonce každého typu transgenu může být odlišný vliv *Bt*-toxinu na půdní společenstva. Například rezidua *Bt*-toxinu během dekompozice biomasy v půdě byla odlišná u dvou typů bavlníku. Rozdíly byly způsobeny rozdílnou expresí *Bt*-toxinu, linie 81 (*cry1Ab*) produkovala 10 až 20x více toxinu než linie 249 (*cry1Ac*) (Palm a kol., 1994).

V některých případech lze v laboratorních podmínkách při specifických testech prokázat nějaký vliv *Bt*-toxinu na půdní organismy, zatímco v reálných polních podmínkách nelze žádný vliv na půdní faunu prokázat. Například (Frouz a kol., in press) prokázal určitý negativní vliv posklizňových zbytků *Bt*-kukuřice MON 810 na populační růst *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta: Enchytraeidae), a to pouze v krátkém období po sklizni kukuřice. Naproti tomu v polních podmínkách nebyl prokázán žádný negativní vliv posklizňových zbytků kukuřice MON 810 na změny společenstev půdních mikrobusů a na proces dekompozice biomasy, oproti vlivu posklizňových zbytků netransgenní kukuřice (Frouz a kol., in press). Otázkou zůstává, jaký vliv mohou mít produkty transgenů na mikrobiální společenstva rhizosféry a půdy. Vlivem degradace proteinů obsah *Bt*-toxin v půdě exponenciálně poklesá. (Tapp a Stotzky, 1998). Pro proteolytické mikroorganismy rhizosféry jsou nové proteiny dodatečným zdrojem živin. Pomocí extracelulárních proteáz jsou toxiny degradovány a jejich komponenty asimilovány. Aktivní *Bt*-toxin je v umělých půdních mediích degradován na inaktivní peptid během několika dnů (Koskella a Stotzky, 1997). V reálných půdách se však může protoxin *Bt* vázat na složky humusu, což může způsobit zpoždění v proteolytické degradaci v některých případech až několika měsíců (Saxena a kol., 1999). Během této fáze perzistence *Bt*-toxinu v půdě by se mohly objevit nějaké interakce mezi druhy z různých tropických úrovní, od virů, bakterií až po mnohobuněčné, včetně hmyzu. Přehled s příklady o možném vlivu transgenních organismů na procesy v ekosystému uvádí (Kirk, 2000).

### 5.3 GM plodiny rezistentní k virovým chorobám a nové viry

Rezistence transgenních rostlin k virovým chorobám je dnes převážně založena na využití genů, které pocházejí z genomu viru, proti kterému je rezistence cílena. To přináší určité výhody, ale i potenciální rizika. V případě transgenních rostlin rezistentních k virům je odhadování pravděpodobnosti potenciálních ekologických rizik dosud na samém počátku. Nicméně v posledním období byly již publikovány práce zaměřené na určení ekologických rizik využívání transgenních rostlin rezistentních k virům (Miller a kol., 1997, Tepfer a Balazs 1997, Hammond a kol., 1999).



Taková rizika lze rozdělit do tří hlavních skupin: 1) rekombinace mezi virovými transgeny a viry napadajícími rostlinu, 2) interakce mezi produkty transgenů a viry napadajícími rostlinu, jako jsou synergické účinky a heterologní enkapsidace, 3) přenos transgenů z transgenní rostliny do divokých virů hybridizací (Letourneau a Burrows, 2002). V prvních dvou skupinách je potenciálním nebezpečím nový virus nebo nový kmen viru, který by mohl způsobovat u hospodářských rostlin závažnější chorobu než původní rodičovské viry, anebo by mohl uniknout do prostředí na nekulturní druhy rostlin. V třetí uvedené skupině je potenciálním nebezpečím „divoká“ transgenní rostlina některého z příbuzných druhů transgenní kulturní rostliny, do které se transgen dostal křížením (nejčastěji přenosem pyly).

V následující části textu uvádíme pro každou ze tří skupin ekologických rizik transgenních rostlin rezistentních k virovým chorobám příklady postupu a vědecké argumentace při odhadu pravděpodobnosti, s jakou může nebezpečí nastat nebo se vyskytovat.

### **5.3.1 Rizika vzniku rekombinací mezi virovými transgeny a viry napadajícími rostlinu**

Nebezpečí spojená s rekombinacemi mezi virovými transgeny a viry napadajícími rostlinu zahrnují: a) možnosti vzniku nových virů s modifikovanou virulencí, b) změny hostitelského spektra a způsobů přenosu, c) potenciální synergické účinky, d) transkapsidaci a další interakce, které mohou vyústit v nové nebo vážnější choroby rostlin.

Je známo, že rekombinace mezi dvěma různými viry se mohou vyskytnout v případě, že rostlina je těmito viry napadena současně. Důkazy o rekombinacích mezi viry byly získány jak v laboratorních experimentech, tak při studiu molekulární fylogeneze virů (Aaziz a Tepfer 1999b, Hammond a kol., 1999). Ale jen málo prací se dosud zabývalo studiem rekombinací mezi viry v přírodních podmínkách, v případě směsných infekcí bez uměle vyvolaného selekčního tlaku (Aaziz a Tepfer 1999a).

Řada rekombinací mezi viry byla popsána v experimentálních podmínkách, které navozovaly vznik rekombinací (Aaziz a Tepfer 1999b, Hammond a kol., 1999). V několika studiích však již byly popsány rekombinace vzniklé v podmínkách mírného nebo slabého selekčního tlaku (Wintermantel a Schoelz 1996, Borja a kol., 1999). Podle Falka a Brueninga (1994) a Hammonda a kol. (1999) je nepravděpodobné, že by se rekombinace mezi virovou RNA a transgenní RNA vyskytovaly ve větší frekvenci než rekombinace mezi přirozeně se vyskytujícími viry. Stejně tak je nepravděpodobné, aby nově vzniklé rekombinantní viry měly vyšší fitness, než přirozeně se vyskytující viry.

Ačkoliv rekombinantní viry mají obvykle nižší fitness než viry rodičovské, existují i případy opačné (Fernández-Cuartero a kol., 1994). Fitness rekombinantních virů může být vyšší než fitness rodičovských virů v případech, že rekombinacemi došlo: a) ke změnám v přenosu hmyzími vektory, b) k rozšíření hostitelského spektra, c) ke změnám virulence. Každá z těchto změn může rekombinantnímu viru poskytnout selekční výhodu a umožnit mu tak rozšíření do prostředí. Dosud však neexistuje žádný důkaz o změně v přenosu hmyzími vektory, která by byla způsobena rekombinacemi.

Thomas a kol., (1998) zkoumali pravděpodobnost vzniku rekombinací v polních podmínkách sledováním změn vlastností virů zjištěných v infikovaných transgenních bramborách. V průběhu 6 let bylo 65 000 rostlin transgenního bramboru produkujícího obalový protein pro potato leafroll virus (PLRV) nebo s genem replikázy tohoto viru vystaveno v polních podmínkách infekci divokými viry. U virů, které napadaly sledované rostliny, nebyly zjištěny žádné neobvyklé změny v symptomatice, serologii, hostitelském spektru a způsobech přenosu. Ačkoliv to možnost výskytu rekombinací zcela nevylučuje, dá se předpokládat, že pravděpodobnost jejich výskytu je velmi nízká. Podobné typy studií jsou prvním krokem v hodnocení rizik v polních podmínkách. Problémem v odhadu pravděpodobnosti šíření a persistence rekombinantních virů v prostředí je nedostatek poznatků o kompetici virů v přirozeném prostředí (Power, 1996) a o šíření virů z polních plodin na divoce rostoucí hostitele. Ačkoliv existuje řada studií o výskytu jednotlivých virů v přírodě nebo na plevelech, jakožto rezervoárů virů (Thresh, 1980), poznatky o šíření virů z polních plodin na planě rostoucí hostitele jsou nedostatečné.

Pravděpodobnost výskytu nových rekombinantních virů v souvislosti s využíváním transgenních odrůd rezistentních k virům je nižší v případech rekombinace mezi viry jednoho taxonu.

### ***Rekombinace mezi různými virovými taxony***

Současné teorie o modulární evoluci, která vychází z předpokladu, že specifické sekvence nukleové kyseliny nebo funkční oblasti v rámci genů se mohou rekombinovat do formy aktivního genu, naznačují, že rekombinace mezi různými virovými taxony a také v rámci jednoho taxonu se v průběhu evoluce virů rostlin vyskytovaly. Nicméně porovnání sekvencí virových genomů a nejnovější výsledky experimentů ukazují, že rekombinace mezi virovou RNA z různých taxonů nebo mezi viry a RNA z transgenní rostliny vedoucí ke vzniku konkurenceschopného viru se vyskytují vzácně. Neexistuje dosud žádný důkaz, který by podpořil domněnku, že rekombinace mezi virovými taxony vedoucí ke vzniku vitálního viru, které by nastaly z roku na rok jsou běžným jevem. Nicméně existují důkazy, že v časovém měřítku evoluce rekombinace mezi virovými taxony vedly ke vzniku nových rostlinných virů a virových kmenů.

### ***Rekombinace mezi viry jednoho taxonu***

Studium rekombinací v rámci jednoho virového taxonu je dosud na samém počátku. Nedostatek vědecké literatury dokumentující rekombinace v rámci taxonu však neznamená, že se tyto rekombinace nevyskytují. V laboratorních a polních podmínkách pod různým stupněm selekčního tlaku byly dosud detekovány rekombinace mezi viry bromo, carmo, diantho, tombus, tobra a alfalfavirus. Rekombinace v rámci taxonu se mohou vyskytovat, ale běžně nemusí být detekovatelné, protože může jít o nekompetitivní rekombinace (ve vztahu k divokému viru nebo k rodičovskému viru) nebo o neživotaschopné rekombinace. Některé taxony mají malou genetickou diverzitu, jiné jsou velmi diverzibilní. Také není dosud známo, zda je tato diverzita způsobena rekombinacemi nebo jinými mechanismy, jako jsou nukleotidové mutace anebo delece.

K rekombinacím může docházet mezi RNA, která je produkována v buňce rostliny transgenem a virovou RNA z viru, který infikuje rostlinu. Vznik nového viru nebo kmene viru je nepravděpodobný v případech, kdy transgen má shodnou sekvenci nukleotidů jako cílový virus. V případech, že transgenní rostlina je napadena jiným virem nebo odlišným kmenem cílového viru je pravděpodobnost vzniku nového viru nebo nového kmene viru rekombinací vyšší. Tento závěr je podpořen následujícími argumenty:

V případě rekombinací mezi transkriptem transgenů a virovou RNA, ke které transgen navozuje rezistenci, nebude pravděpodobnost rekombinací mezi transkriptem transgenů a virem napadajícím rostlinu velká, pokud rostliny skutečně odolají infekci. V buňkách pravděpodobně nebude dost RNA infikujícího viru na to, aby mohlo dojít k rekombinaci. Rekombinace bude ještě méně pravděpodobná, pokud bude velikost transkriptu redukována a jeho sekvence modifikována tak, že z ní budou odstraněny signály a oblasti vhodné pro rekombinace. Pravděpodobnost vzniku rekombinací by se mohla zvýšit v případech, že se vyskytnou kmeny viru schopné překonat rezistenci, které rostlinu infikují a produkují v buňkách dostatečné množství RNA.

V případě rekombinace mezi transkriptem transgenů a virovou RNA, ke které transgen nenavozuje rezistenci, bude pravděpodobnost rekombinací mezi transkripty transgenů a virem napadajícím rostlinu vyšší. Stupeň výskytu rekombinací mezi transkriptem transgenů a virovou RNA, které se mohou úspěšně v rostlině replikovat, závisí na řadě faktorů, např. na koncentraci obou RNA a na dalších charakteristikách (např. struktura genomu viru, vlastnosti virové replikázy, atd.). V současné době nejsou k dispozici žádná data, podle kterých by bylo možné předpovědět, při jaké frekvenci výskytu rekombinací je pravděpodobnost vzniku nového rostlinného viru nebo životaschopné rekombinace natolik vysoká, aby bylo riziko spojené s použitím transgenních rostlin nepřijatelné.

V případech výskytu rekombinací u rostlin infikovaných několika viry a u rostlin produkujících virový transgen nám dosud pro odhad frekvence výskytu rekombinací chybí odpovídající poznatky. Dosud například není znám stupeň výskytu rekombinací mezi viry při směsných infekcích. Není proto možné porovnat frekvenci výskytu těchto rekombinací a výskytu rekombinací mezi virem a transkriptem transgenů.

### **5.3.2 Rizika vzniku interakcí mezi produkty transgenů a viry napadajícími rostlinu**

Při rozmnožování viru v transgenní rostlině rezistentní k viru může docházet k interakcím mezi produkty transgenů a komponenty viru. Příkladem takových interakcí mohou být heterologní enkapsidace nebo transkapsidace. Uvedené typy interakcí představují relativně malé ekologické riziko, protože se v přírodě běžně vyskytují při směsných infekcích rostlin dvěma nebo více viry. Bylo zjištěno, že pokud se dva různé viry při směsné infekci replikují současně, může dojít k enkapsidaci RNA jednoho viru obalovým proteinem druhého viru (Creamer a Falc, 1990, Wen a Lister, 1991).

V případě transkapsidace dochází v přírodě mezi blízkými příbuznými viry k výměně určitých částí bílkovinné kapsidy. Transkapsidace mohou ovlivnit specifitu vektorů a účinnost přenosu viru. Případy transkapsidací viru napadajícího rostlinu obalovým proteinem produkovaným transgenní rostlinou byly dokumentovány u řady virů, jako např. u tobamovirů (Osborn a kol., 1990, Holt a Beachy, 1991), u potyvirů (Farinelli a kol., 1992, Lecoq a kol., 1993, Hammond a Dienelt, 1997) a u bromovirů (Candelier-Harvey a Hull, 1993). Pravděpodobnost vzniku transkapsidací závisí na kombinaci virů nebo virových kmenů, protože transkapsidace jsou obvykle omezeny pouze na blízké příbuzné viry. Navzdory reálné možnosti vzniku nových virů enkapsidací a transkapsidací v transgenních rostlinách, je riziko těchto virů pro životní prostředí malé. Jakmile je virus přenesen do jiné rostliny, při replikaci takového viru je opět produkován původní obalový protein, protože RNA viru stále kóduje produkci původního obalového proteinu. Ačkoliv transkapsidace mohou představovat riziko kolonizace nových druhů hostitelských rostlin, je nepravděpodobné, že by takové případy vedly k dlouhodobým změnám hostitelského spektra viru.

Vážnější riziko interakcí mezi produkty transgenů a viry napadajícími rostlinu představují synergické interakce při směsných infekcích (Miller a kol., 1997). Směsné infekce jsou poměrně běžné a je možné se s nimi v polních podmínkách setkat často, zejména tam, kde je velká diverzita vektorů (mšice, brouci, třásněnky, atd.), nebo kde jeden vektor může přenášet více virů. Směsné infekce se běžně vyskytují zejména u trvalých kultur. Ovocné stromy, jako jabloně, hrušně a třešně, jsou často infikovány několika viry. Ve vědecké literatuře je možné nalézt řadu studií o směsných infekcích, ale tyto informace nebyly dosud shromážděny do jednotné databáze. Je třeba ještě zodpovědět řadu otázek, týkajících se časových a prostorových charakteristik směsných infekcí, jako např. zda jsou všechny buňky infikovány oběma (či více) viry, zda jsou replikační cykly virů synchronizovány tak, aby mezi nimi mohlo dojít k rekombinaci a jestli se stupeň výskytu rekombinací mezi viry z jednoho taxonu liší ve srovnání s viry z jiných taxonů. Z informací získaných při sekvenování genomu RNA lze usuzovat, že rekombinace mezi virovými taxony, které vedou ke vzniku životaschopného a kompetitivního viru jsou vzácné.

Synergickými interakcemi mezi viry při směsných infekcích mohou být vyvolána onemocnění rostlin vážnější než při infekci těmito viry samostatně. Běžné jsou tyto typy reakcí u luteovirů (Wen a kol., 1991), kde se synergické reakce projevují díky genu polymerázy (Miller a kol., 1997). Obecně tak transgenní rostliny založené na genech replikázy mohou mít vyšší riziko vzniku závažnějších onemocnění rostlin, než je riziko u rostlin s geny obalových proteinů. Transgenní rostliny s geny polymerázy luteoviru, které mají větší riziko synergických interakcí, jsou více rezistentní k viru než transgenní rostliny produkující obalový protein (Letourneau a Burrows, 2001). Synergismus mezi viry a transgeny představuje větší agronomická rizika, než rizika pro přírodní společenstva rostlin, protože je omezen pouze na transgenní rostliny. Přesto by mohl synergismus vést k vyšší míře virových replikací a tedy i k větší populační hustotě virů, což by mohlo mít negativní vliv i na netransgenní rostliny.

### **5.3.3 Riziko úniku transgenů z GM plodin rezistentních k virům do prostředí**

Obdobně jako transgeny ostatních typů geneticky modifikovaných rostlin by mohly i transgeny rostlin rezistentních k virům uniknout do prostředí, např. přes zásobu semen v půdě (Smitt a Linder, 1994, Raybould, 1999). Pravděpodobnost úniku transgenů do prostředí závisí na možnosti křížení kulturního druhu rostliny s planě rostoucími příbuznými druhy rostlin.

Křížení mezi kulturními plodinami a jejich planě rostoucími příbuznými druhy byla dokumentována pro 12 ze 13 nejvýznamnějších kulturních plodin (Ellstrand a kol., 1999) a pro řadu méně významných plodin (Snow a Moran-Palma, 1997). Některé práce studovaly fitness kříženců F1 generace jako indikátor možného potenciálu zavedení transgenů do nekulturní rostliny. Ačkoliv dvě z těchto prací dokumentují redukovanou fitness F1 kříženců (Jørgensen a kol., 1996, Snow a kol., 1998), ve většině studií byla zjištěna fitness podobné úrovně jako u rodičovských rostlin (Frello a kol., 1995, Arriola a Ellstrand, 1997, Mikkelsen a kol., 1996). Na základě publikovaných studií lze tedy přenos transgenů křížením na planě rostoucí příbuzné druhy rostlin považovat za možný (Klinger a Ellstrand, 1997, Linder a Schmidt, 1995, Frello a kol., 1995). Dosud málo studií bylo věnováno otázce důsledků a dopadu úniku transgenů do prostředí. Raybould (1999) uvádí, že je mnohem snazší měřit a modelovat šíření transgenů v prostředí, než předpovídat jeho důsledky. Je obtížné předpovídat význam případných transgenních nekulturních rostlin rezistentních k určitým virovým chorobám. V případech, kdy by transgen zvýšil fitness takového křížence, mohl by se v prostředí udržet nebo šířit. V případě, že by se jednalo o plevelný druh, mohl by vzrůst jeho význam. Další výzkum a monitoring transgenních rostlin po jejich uvedení do prostředí je na tomto úseku nezbytný.

Na základě uvedených příkladů odhadu pravděpodobnosti vzniku nových rekombinantních virů při pěstování rostlin rezistentních k virům lze konstatovat, že ekologická rizika pěstování těchto transgenních rostlin jsou nízká. Také případná agronomická rizika spojená s možným vznikem hospodářsky významného viru nebo jeho kmene jsou porovnatelná se ztrátou odolnosti netransgenních rostlin nebo s výskytem agresivních kmenů virů na nových územích. Pravidelný monitoring všech transgenních rostlin z hlediska vzniku nových virů rekombinacemi by zřejmě nebyl proveditelný. Pouze takové rekombinace, které by vedly ke vzniku nových onemocnění rostlin nebo ke vzniku vážnějších forem již existujících chorob rostlin, jsou významné z ekonomického hlediska, a byly by snadno detekovatelné pěstiteli nebo producenty osiv. Rekombinace, které vedou ke vzniku nových virů, jejichž infekce se neprojevuje žádnými příznaky nebo onemocněním, jsou významné pouze z hlediska evoluce. Na základě dostupných dat bude frekvence výskytu rekombinací, jejichž výsledkem bude nový virus, nízká. Neměla by se významně lišit od frekvence rekombinací zjištěné při směsných infekcích nebo od genetické variability, která se vyskytuje uvnitř dané populace virionů v infikované rostlině nebo na poli s infikovanými rostlinami.

#### **5.4 Rizika selektivních a signálních genů přítomných v GM plodinách**

U první generace transgenních plodin byly jako selektivní geny použity geny pro rezistenci k antibiotikům a geny pro rezistenci k herbicidům (WHO, 2000b). U genů pro rezistenci k antibiotikům existuje jako u ostatních genů teoretická možnost horizontálního přenosu na patogenní mikroorganismy člověka nebo hospodářských zvířat. Riziko vzniku rezistentních patogenních mikroorganismů spojené s pěstováním GM plodin obsahujících selektivní geny pro antibiotika bylo stanoveno za nepřijatelné. Důvodem byly obavy, že by se mohla snížit klinická účinnost antibiotik užívaných pro léčení lidí nebo hospodářských zvířat.

Přesto je riziko přenosu transgenů z rostlin do bakterií menší než riziko vzniku rezistentních patogenních bakterií selektivním tlakem nadměrného užívání antibiotik u člověka, nebo široce rozšířeného užívání antibiotik jako potravních aditiv u hospodářských zvířat. V řadě tropických a subtropických zemí se antibiotika používají plošně pro udržení produkce ryb

v akvakulturách. Také v tomto případě je riziko vzniku potenciálních patogenních mikroorganismů člověka rezistentních k antibiotikům bude významně vyšší než přenos genu rezistence z rostlin na takové mikroorganismy. Přesto vědecké panely doporučily (Anonymus, 2001) a světové organizace (OECD, 2000 and WHO, 2000c) a vlády řady zemí akceptovaly, že se transgenní rostliny se signálními geny pro rezistenci k antibiotikům neuvolní na trh. Důvodem zákazu použití rostlin s geny pro rezistenci k antibiotikům bylo, že existují dostupné jiné selektivní a signální geny pro proces transgenozy, které jsou založeny na jiných genech (Kunkel a kol., 1999) anebo, že existují postupy jak takové signální geny z transgenních rostlin odstranit (Zubko a kol., 2000).

V transgenních rostlinách jsou dále přítomny promotory, které zajišťují vysokou úroveň genového efektu. U první generace transgenních rostlin byly použity geny promotorů z virů, které indukují konstantní genovou expresi ve všech částech rostlin. Tyto promotory nepřinášejí žádné riziko pro zdraví nebo pro životní prostředí. Přesto se postupně objevují více sofistikovanější mechanismy genové kontroly. Nově jsou testovány tkáňové specifické transgeny promotorů, které zajišťují expresi transgenu pouze ve specifickém orgánu nebo pletivu rostlin, nebo expresi transgenu ve specifickém čase životního cyklu rostliny. Tato schopnost exprese produktu transgenu v cílové tkáni je maximálně efektivní a současně zabraňující akumulaci produktu transgenu v jiných pletivech. Na jedné straně se redukuje metabolické náklady na produkci produktu transgenu, na straně druhé může vést ke snížení rizik takového GMO pro životní prostředí. Příkladem může být druhá generace transgenních rostlin rezistentních vůči škůdcům s genem *Bt*-toxinu. Na rozdíl od stávajících *Bt*-plodin nové *Bt*-plodiny neobsahují *Bt*-toxin v pylu, což vede k vyloučení rizik pylu pro životní prostředí a přirozené nepřátele škůdců. To je příklad, jak s pokrokem technik transgenozy se mohou rizika GMO pro životní prostředí měnit. Ve vývoji jsou další systémy genové kontroly, tzv. indukibilní promotory, u kterých je syntéza produktu transgenu zahájena například ošetřením specifickou chemikálií, anebo syntéza produktu závisí na vnějších podmínkách, například až po poškození rostliny hmyzem nebo suchem či mrazem (Zuo a Chua, 2000).

## 6 Jiná rizika GM plodin než na životní prostředí

Předložená studie se nezabývá filozoficko-metafyzickými riziky využívání GMO. Z kořenů fundamentální filozofie a teologie vychází argumentace, že genetické inženýrství, které dává člověku moc nad přírodou, je vysoce neetické a že člověk nemá právo hrát si na boha. Obdobně jako v případech nízké vzdělanosti občanů, nebo jejich neinformovanosti, odmítání GMO a jejich produktů z teologických důvodů je zdrojem pro kampaně odpůrců biotechnologií. Paradoxem je, že odpůrci GMO požadují zákazy pěstování geneticky modifikovaných plodin jako je kukuřice, sója, řepka, atd. a poukazují na jejich rizika, obvykle však nezpochybňují využívání produktů geneticky modifikovaných mikroorganismů anebo se tomuto tématu vyhýbají. Přitom již v současnosti je využíváno ve světě 160 druhů léků, vytvářených pomocí GMO, například včetně inzulínu (Čuba a Hurta, 2004). Odpor společnosti vůči GMO, který je takto rozdmýcháván, může ovlivnit i politická rozhodnutí a modifikovat legislativní opatření nad regulací GMO. Vedle toho mohou na náladách společnosti a jejich intuitivním odporu ke GMO a jejich produktům profitovat obchodní řetězce, které nad rámec legislativy mohou zavádět regulace produktů GMO, které jsou však motivovány zvýšením zisků a potlačením konkurence.

V předložené studii se zabýváme výhradně objektivními riziky. Vedle toho existují tzv. pocitová rizika, u kterých není logická souvislost s objektivní realitou. Problémem zemí EU, narozdíl např. od zemí Severní Ameriky je, že zákonodárné orgány jsou ovlivněny pocitovým rizikem, které může významně ovlivnit regulaci nad GMO, která by měla být striktně založena na vědeckých poznatcích. Legislativa EU, která je v posledních letech pod ekonomickým tlakem, zejména na základě postupného plnění dohod světové organizace obchodu (WTO), se postupně posunuje ke konceptu USA a Kanady. Ústupkem vycházejícím z pocitového rizika jsou direktivy týkající se označování produktů GMO, vycházející z argumentace svobodné volby občana při výběru potravin.

### 6.1 Rizika agronomická

Agronomická rizika GM plodin se prolínají nebo přímo navazují na rizika GM plodin pro životní prostředí, která byla uvedena v předchozích podkapitolách této studie. Zde pouze připomeňme rizika GM plodin tolerantních k herbicidům jako je kontaminace osiv u netransgenních odrůd při jejich pěstování v blízkém okolí transgenních rostlin. Toto riziko se týká i *Bt*-plodin a obecně všech GM plodin, u kterých je transgen přenosný pylem. Také je možná záměna osiva. Například po ošetření netolerantní odrůdy širokospektrálním herbicidem dojde k úplnému zničení porostu. Potenciální vznik „superplevelů“ popsány v kapitole 5.1. je současně také agronomickým rizikem. Jak je popsáno v kapitole 5.1.1. na příkladu řepky tolerantní k herbicidům, samotný GMO se může stát významným plevem a působit vážné agronomické problémy. Do jisté míry je agronomickým rizikem i ohrožení genofondu kulturních plodin, jak je popsáno v kapitole 5.1.1.

Dalším agronomickým rizikem je kontaminace produktů konvenčního a organického systému pěstování GMO a jejich transgeny nebo jejich produkty. Tato rizika popisujeme v podrobněji v podkapitole 6.2.

Dalším typem agronomických rizik, které jsou zcela shodné s riziky GM plodin pro životní prostředí jsou rizika GMO na změny diverzity a funkce ekosystému. V případě agronomických rizik je pouze ekosystém zaměněn za agroekosystém. Vliv GM plodin na biodiverzitu je popsán na příkladu transgenních plodin rezistentních k herbicidům v kapitole 5.1.4. a na příkladu *Bt*-plodin v kapitole 5.2.1. V případě hodnocení GM plodin na biodiverzitu je při analýze agronomických rizik třeba odlišovat zda nebezpečím je samotný GMO nebo pěstební technologie kterou GMO vynucuje.

Při intenzivním zemědělství dochází i bez využití GMO k změnám pěstebních technologií, které mají významný negativní vliv na životní prostředí a mohou být rizikové pro zdraví člověka. Změny v osevních postupech, genetická unifikace odrůd a intenzivní využívání syntetických pesticidů mají významný vliv na snižování biodiverzity společenstev v agroekosystémech a snižování biodiverzity krajiny. Následkem toho se zvyšují populace škodlivých organismů zemědělských plodin, vzrůstá jejich škodlivost, částečně je to také tím, že klesají populace jejich přirozených nepřátel. Lze odhadovat, že zavedení GM plodin na velké plochy se projeví také změnami ve společenstvech agroekosystémů. V těchto případech však musíme hodnotit rizika a významnost vlivu GM plodin na biodiverzitu agroekosystémů ve srovnání s konvenční pěstební technologií. Tyto jsou v současnosti obvykle založené na aplikaci syntetických pesticidů. Jak je dokladováno v kapitole 5.2. je negativní vliv pesticidů na společenstva v agroekosystémech a v populaci přirozených nepřátel škůdců nesrovnatelně vyšší než vliv GM plodin. Přesto jsou nezbytné poznatky z výzkumu o vlivu jednotlivých GM plodin a jednotlivých konstruktů na společenstva agroekosystémů.

Pro zavedení GM plodin na velké plochy by například mohlo dojít k snížení populací přirozených nepřátel škůdců, jejich predátorů a parazitoidů. Například u *Bt*-plodin je otázkou, zda se téměř úplná eliminace cílových, na konveční plodině dominantních druhů škůdců projeví v poklesu populací přirozených nepřátel vlivem úbytku potravních zdrojů. Zdá se však, že diverzifikovaných agroekosystémech bude tento efekt zanedbatelný. Jak bylo ukázáno v kapitolách 5.1.4. větší rizika pro diverzitu společenstev agroekosystémů představují u některých plodin technologie využívající GM plodiny v kombinaci s neselektivními herbicidy. Při vysoké účinnosti této technologie v regulaci plevelů může dojít k významným změnám herbivorních společenstev a snížení početnosti doprovodných rostlin. Tak se významně sníží nabídka pro indiferentní, neškodlivé druhy herbivorů. To může mít za následek snížení populační hustoty organismů ve vyšších trofických úrovních a s ní spojeným poklesu druhové pestrosti společenstev. Vedle negativního vlivu na hmyzožravce se to může projevit snížením početnosti populací přirozených nepřátel škůdců a poklesem jejich významu pro regulaci škůdců.

Největším agronomickým rizikem je vysoká pravděpodobnost selekce rezistentních populací škodlivých organismů, například u hmyzu k *Bt*-toxinu. Po několika letech pěstování transgenních odrůd rezistentních vůči hmyzu se hmyz může natolik adaptovat, že rezistenci rostliny překoná. Předpokládá se, že rychlost vzniku rezistentních populací hmyzu vůči produktům transgenů v rostlinách je vyšší než rychlost vzniku rezistence vůči pesticidům nebo *Bt*-toxinu aplikovaného postřikem, protože selekční tlak transgenních rostlin je vyšší.

Toto riziko bylo pro tuto studii vybráno jako modelové a v následujících kapitolách je podrobně analyzováno, včetně návrhů pro minimalizaci těchto rizik, jako podklad pro management rizik.



### 6.1.1 Selekce rezistentních populací škůdců k Bt-toxinům

Hlavním problémem při regulaci hmyzích škůdců insekticidy je vývoj rezistence k těmto insekticidům. V roce 1979, United Nations Environmental Programme vyhlásil rezistenci k insekticidům za jeden z nejvýznamnějších ekologických problémů na světě. Tato důležitost je dána problémy s lidskou výživou vyplývajícími ze ztrát na výnosech důležitých zemědělských plodin, rozšiřování nemocí odolným hmyzem a s ohledem na životní prostředí. Rizikové může být také uvádění nových potenciálně nebezpečnějších insekticidů do prostředí v souvislosti s hledáním nových účinnějších látek k potlačování rezistentního hmyzu. Zvyšující se nebezpečí z používání syntetických pesticidů je způsobeno zvyšováním dávek pesticidů s ohledem na rozvíjející se rezistenci (Pimentel a Burgess, 1985).

Paradoxem GM plodin rezistentních vůči hmyzu škůdcům je, že jejich vývoj a počáteční využívání byly vyvolány problémy, které působily rezistentní populace hmyzu k insekticidům. Nárůst cross a multiple rezistence u řady klíčových škůdců nestačil být řešen vývojem nových typů insekticidů. Navíc vývoj nových typů insekticidů se stal natolik nákladným, že náklady na vývoj GM plodin, které byly na počátku velmi vysoké, umožnily konkurenceschopnost produktů těchto technologií s insekticidy. První Bt-plodiny byly určeny pro ochranu vůči rezistentním populacím škůdců k insekticidům, např. mandelince na bramborách, komplexu mûr na bavlníku, anebo byly určeny na škůdce, kteří žijí uvnitř rostlin a účinnost insekticidů je vůči nim nedostatečná, např. housenky zavíječe ve stéblech kukuřice, nebo housenky mûr v pupenech bavlníku. GM plodiny se tak v řadě případů stávají náhradou za používané syntetické pesticidy, a to je také jeden z jejich největších přínosů pro ochranu životního prostředí. Daní za tyto přínosy je riziko vzniku rezistentních populací škůdců také k produktům transgenů.

Hmyz je ve své podstatě schopen vyvinout odolnost k téměř každé insekticidní látce. Právě vznik rezistence k syntetickým insekticidům je důvodem proč je v současnosti *Bacillus thuringiensis* tak vyhledávanou alternativou ochrany. Rezistence hmyzu se vyvíjí díky vysoké genetické variabilitě uvnitř hmyzí populace. Několik jedinců v původní hmyzí populaci není ovlivněno aplikovaným insekticidem (Michaud, 1997). Rezistentní jedinci se v přirozených populacích vyskytují s frekvencí  $10^{-3}$  až  $10^{-4}$ . Obvykle je rezistence podmíněna mutací jedné nebo několika alel. Když dojde k aplikaci insekticidu, neovlivnění jedinci jsou právě ti, kteří mají možnost pokračovat ve vývoji a tak předat svoji genetickou informaci dalším generacím. Postupem času se při stálém selekčním tlaku zvyšuje podíl těchto původně minoritně zastoupených jedinců v populaci.

Některé příčiny vývoje rezistence jsou spojené s vlastnostmi hmyzích populací. Vývoj rezistence může být urychlen u druhů s vysokou reprodukční schopností, s kratším generačním cyklem, větším počtem potomků, vysokou variabilitou uvnitř populací (Pimentel a Burgess, 1985). Rychlost vzniku rezistence závisí také na genetickém základě – například zdali je daná vlastnost dědičná dominantně či recesivně (Wearing a Hokkanen, 1995). Další faktory ovlivňující rychlost vzniku rezistence mohou souviset s vlastnostmi daného typu insekticidu. U přípravků s dlouhou perzistencí se může rezistence vyvinout rychleji. Delší působení těchto přípravků v čase vytváří větší možnost pro selekci v dané populaci. Citliví jedinci postupně mizí z populace a jsou nahrazováni odolnými. Podobný účinek může vykazovat příliš časté používání přípravků s krátkou perzistencí (Wood, 1981). Populace v minulosti vystavené insekticidu s podobným mechanismem účinku, který vykazuje i nový insekticid může vést k vývoji tzv cross-rezistence (Pimentel a Burgess, 1985).

Vývoj rezistence hmyzu k delta toxinu z *Bacillus thuringiensis* představuje největší riziko ztráty účinnosti jak transgenních plodin, tak přípravků na bázi *Bt*. *Bt*-toxiny jsou specifické insekticidy, které jsou zároveň šetrné (neškodné) k životnímu prostředí a nebyl u nich zaznamenán žádný škodlivý vliv na člověka v porovnání s běžně užívanými syntetickými insekticidy. Z těchto důvodů, jsou komerční formulace *Bt*-toxinu užívány v organickém systému hospodaření s žádnými vstupy syntetických insekticidů. *Bt*-insekticidy se staly významným prostředkem k regulaci škůdců v těchto organických systémech hospodaření. Pokud by se vyvinula u některého druhu škůdce rezistence k *Bt*-toxinu, došlo by také ke ztrátě v účinnosti této biologické ochrany. Ztráta tohoto prostředku na ochranu rostlin by pro mnohé organické zeměděle znamenala nemalé potíže (McGaughey a kol., 1998).

Větší problémy s rezistencí škůdců k *Bt*-toxinu nastaly v roce 1990, kdy se začínaly objevovat první zprávy o vyvíjející se rezistenci v polních podmínkách u záplodníčka polního *Plutella xylostella*. Rezistence u tohoto škůdce byla hlášena z Havaje, Floridy, New Yorku po třicetiletém úspěšném používání *Bt*-přípravků v těchto oblastech. Ve stejném období byla po intenzivním používání *Bt*-přípravků nalezena rezistence u *P. xylostella* v několika dalších zemích jako jsou Japonsko, Čína, Filipíny a Thajsko (Liu a Tabashnik, 1997) a Malajsie (Iqbal a kol., 1996).

V laboratorních podmínkách se následně podařilo vyselektovat rezistenci k *Bt*-toxinům u několika hmyzích druhů: *Ostrinia nubilalis* (zavíječ kukuřičný), *Heliothis virescens*, *Pectinophora gossypiella*, *Culex quinquefasciatus*, *Chrysomela scripta*, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera littoralis*, *Leptinotarsa decemlineata* a *Aedes aegypti* (Huang a kol., 1999, Gould a kol., 1997, Liu a kol., 1999, Tabashnik a kol., 1994, Frutos a kol., 1999, Whalon a McGaughey, 1998). Naproti tomu mnoho dalších druhů, které byly po řadu generací vystaveny v laboratorních podmínkách selekčnímu tlaku *Bt*-toxinu si zachovaly citlivost k *Bt* (Whalon a McGaughey, 1998).

### 6.1.2 Mechanismus vzniku rezistence k *Bt*-toxinu

Pochopení mechanismů, jakými hmyz obchází toxicitu *Bt*-přípravků případně geneticky modifikovaných rostlin obsahujících  $\delta$  endotoxin, může napomoci při účinném zpomalování vývoje rezistence. Způsoby, jakými hmyz obchází účinky toxinu, jsou těsně spjaty právě se způsobem, jakým toxin působí na hmyz. *Bt*-toxiny jsou aktivovány proteázami ve středním střevě. Po aktivaci se váží na receptory na povrchu střevního epitelu. Následně několik mezistupňů vede ke smrti hmyzu. Celkový účinek toxinu je tedy výsledkem komplexních procesů, které jsou odvislé na typu *Bt*-toxinu. Právě na základě této komplexnosti se předpokládalo, že jen těžko či vůbec nebude docházet k vývoji rezistence (Whalon a McGaughey, 1998). Způsoby, jakými se hmyz stává rezistentní jsou rovněž komplexní.

Protože je mezi plným účinkem *Bt*-toxinu několik mezistupňů, existuje zde proto také několik cest, jak jeho účinek zastavit či zmírnit. Hluběji byl mechanismus rezistence zkoumán pouze u několika rezistentních druhů hmyzu v laboratořích. Pouze v několika případech byly výsledky dostatečně přesvědčivé. Dosud výsledky převážně většiny studií ukazují že mechanismus rezistence je založen na změnách membránových receptorů, které jsou *Bt*-toxinem aktivovány. U *P. xylostella* je právě snížená vaznost toxinu k receptorům jediným známým mechanismem rezistence (Tabashnik a kol., 1997). Rezistence *P. xylostella* k *Bt*-toxinu *cryIAb* je v korelaci se sníženým počtem *cryIAb* receptorů ve středním střevě

(Van Rie a kol., 1992). Podobně rezistentní *P. interpunctella* vykazuje sníženou afinitu pro *cryIAb* ve středním střevě (Van Rie a kol., 1990). Kromě snížení afinity je rezistence u *P. interpunctella* spojena s chybějícím proteolytickým enzymem ve střevě. Pravděpodobně je tato proteináza spojena s proteolytickým štěpením a následnou aktivací *Bt*-toxinu (Oppert a kol., 1997). U některého hmyzu se mohou oba výše uvedené případy kombinovat, tedy snížená afinita a snížená aktivace toxinu (Michaud, 1997). Další příklad, jak inaktivovat toxin byl zjištěn u druhu *Christoneura fumiferana*. Zde je toxin vysrážen komplexem bílkovin, které se nacházejí ve středním střevě (Michaud, 1997).

### 6.1.3 Antirezistentní strategie u GM plodin rezistentních vůči škůdcům

Cílem antirezistentních strategií (angl. Resistance Management), které byly původně vypracovány k syntetickým insekticidům, není rozvoj rezistence úplně zastavit, ale co možná nejvíce zpomalit její nástup. Tímto způsobem je možné prodloužit generační cyklus určitého insekticidu na co nejdelší dobu (Comins, 1977). I v případě geneticky modifikovaných rostlin obsahujících *Bt*-toxiny je nutné čelit rozvoji rezistence, aby byla dlouhodobě zachována jejich požadovaná účinnost. Antirezistentní programy zde mají několik cílů: vyhnout se rezistenci, tam kde je to možné, oddálit nástup rezistence na co nejdelší dobu nebo umožnit rezistentním populacím vrátit se k citlivosti (Croft, 1990).

Geneticky modifikované rostliny obsahující *Bt*-toxiny mohou velmi výrazně urychlit vznik rezistence, protože při jejich použití je hmyz vystaven neustálému selekčnímu tlaku a to i v čase, kdy nepůsobí ekonomické škody (Mallet a Porter, 1992).

Současná doporučení k oddálení nástupu rezistence u zavíječe kukuřičného vůči geneticky modifikovaným rostlinám obsahujícím *Bt*-toxiny upřednostňují kombinaci několika metod. Jedná se o preferenci rostlin, které produkují relativně velké množství *Bt*-toxinu (angl. High Dose Strategy) společně se strategií tzv. útočišť (angl. Refuge Strategy), ve kterých jsou pěstovány netransgenní rostliny (Roush, 1997). V současné se uvažuje o použití kombinace dvou různých *Bt*-toxinů s různým mechanismem účinku (Frutos a kol., 1999). Použití tzv. „High Dose Strategy“ vychází z předpokladu, že právě vyšší koncentrace *Bt*-toxinu v rostlině zahubí i heterozygotní jedince, kteří při nižších dávkách *Bt*-toxinu častěji přežívají. Na základě tohoto teoretického předpokladu by mělo docházet ke snižování frekvence jedinců nesoucích v populaci recesivní geny způsobující rezistenci (Roush a Daly, 1990, Gould 1994).

Přitom se předpokládá, že jedinec zcela rezistentní k *Bt*-toxinu je recesivní homozygot. V případě tzv. High Dose Strategy jde o geneticky modifikované rostliny produkující několikrát vyšší množství *Bt*-toxinu, než je nutné k zahubení citlivé housenky. Z dřívějších pokusů o stanovení hodnoty, která již odpovídá tzv. „High Dose Strategy“ byla publikována hodnota 25 (EPA, 1998). Tyto geneticky modifikované rostliny (*Bt*-kukuřice) by tedy měly produkovat minimálně 25x více toxinu, než je nutné k zahubení citlivé housenky. V dalších letech bylo dokázáno, že je možné vyselektovat rezistentní populace zavíječe kukuřičného, které odolávají až 65x vyšším koncentracím *Bt*-toxinu, než původní citlivé populace (Huang a kol., 1999).

Tento příklad ukazuje, že stanovená hodnota 25 nemusí být dostatečná pro zabránění vzniku rezistence. Z výsledků laboratorních pokusů s citlivou populací zavíječe kukuřičného provedených v ČR vyplývá, že současné hybridy *Bt*-kukuřice (MON 810) mohou obsahovat

až stonásobně vyšší koncentraci *Bt*-toxinu, než je nutné k zahubení citlivé housenky (Říha, nepublikováno). Další možnosti, jak oddálit nástup rezistence spočívají v tkáňově specifické či časově specifické expresi *Bt*-toxinů (Frutos a kol., 1999). Jako perspektivní antirezistentní strategie se jeví kombinace refugiálních pásů s biologickou ochranou pomocí parazitické vosičky rodu *Trichogramma*, jejíž larvy se vyvíjejí ve vajíčkách zavíječe (Kocourek a Říha 2004).

Při komerčním pěstování *Bt*-plodin jako je kukuřice či bavlník jsou dosavadní antirezistentní programy založeny na ponechání části ploch s klasickými netransgenními odrůdami tzv. refugii. Velikost refugií se pohybuje od 10 do 20% ploch. Vzhledem k tomu, že se na nich neprovádí žádná ochrana proti škůdcům, bývají na těchto plochách hospodářsky významné škody, které snižují celkovou efektivnost pěstování těchto geneticky modifikovaných odrůd. Při ochraně netransgenních odrůd kukuřice v refugiích parazitickou vosičkou je závažným hospodářským škodám zabráněno, avšak vzhledem k účinnosti metody v rozsahu 50 – 70% zůstává populace zavíječe dostatečně velká pro zajištění antirezistentní strategie (Kocourek a Říha, 2004).

Nástup rezistentních populací zavíječe kukuřičného při pěstování transgenní kukuřice může být ovlivnen (urychlen/zpomalen) řadou faktorů, z nichž některé vycházejí ze specifických podmínek České Republiky. To zdůvodňuje potřebu vlastního výzkumu této problematiky v ČR. Geneticky modifikovaná kukuřice odolná k zavíječi kukuřičnému nepředstavuje v tomto čase a místě žádnou hrozbu pro naše životní prostředí a zemědělství. Také se v našich podmínkách neočekává rychlý (v řádu desítek let) nástup rezistentních populací zavíječe k těmto hybridům.

Vedle výše popsané antirezistentní strategie existují ještě další typy. Například střídání transgenních rostlin s rezistencí vůči hmyzu podmíněnou odlišnými typy *Bt*-toxinu. Tato může být využívána ve dvou variantách: (1) zavádění nové transgenní odrůdy až po vzniku nebo ztrátě rezistence vůči škůdcům u první zavedené odrůdy, (2) časová rotace dvou odrůd s odlišnými typy *Bt*-toxinu (Dent, 2000). Také v tomto případě existuje riziko ztráty rezistence při vzniku cross rezistence u hmyzu k oběma účinným látkám. Jiným typem antirezistentní strategie jsou pyramidální geny tj. kombinace dvou nebo více rezistentních genů v jedné rostlině, jejichž podmínky jsou cíleny na stejné skupiny škůdců, například kombinace genů pro *Bt*-toxin s geny pro syntézu inhibitorů proteáz nebo amyláz (Dent, 2000). V tomto případě musíme pro hodnocení rizik tyto GM plodiny odlišovat od GM plodin s více transgeny, z nichž každý je cílen na jinou skupinu škůdců. Například *Bt*-kukuřice současně tolerantní k herbicidům anebo *Bt*-kukuřice se dvěma typy delta toxinu, z nich jeden podmiňuje rezistenci k zavíječi a druhý k bázlivci kukuřičnému. Další teoretickou možností antirezistentních strategií je využívání multilinových hybridů, tj. vysévání několika linií jedné odrůdy ve směsi, přičemž každá linie má odlišný gen rezistence (Dent, 2000).

## 6.2 Rizika socio-ekonomická

Přestože cílem předložené studie není hodnotit socio-ekonomická rizika GMO využívaných v zemědělství, dále uvádíme několik příkladů, které souvisí s hodnocením ostatních rizik a přínosů GMO. Jedním z diskutovaných problémů je koncentrace moderních potravních biotechnologií potravinářského průmyslu v rukou několika málo multinárodních společností. Zejména pro vývojové země by potenciálním rizikem mohla být vzrůstající závislost na multinárodních společnostech a s tím spojený pokles potravinové bezpečnosti (soběstačnosti) v těchto oblastech. Právě z těchto důvodů nebyla na trh uvolněna osivářská technologie označovaná

„Terminátor“ vyvinutá firmou Monsanto. Tato technologie je založená na tom, že produkt transgenu zabraňuje (bez aplikace specifického aktivátoru) klíčení GM rostlin obsahujících transgen pro jinou vlastnost. Jinými slovy je zabráněno přesévání takové transgenní rostliny.

Další potenciální socio-ekonomické riziko využívání GM plodin spočívá v nízkém využívání lokálních a regionálních genofondů kulturních rostlin, které bývají obvykle lépe adaptovány ke geograficko-klimatickým podmínkám. V principu existují dva možné přístupy k využití GM plodin. Za prvé, dovoz transgenní odrůdy z jiné oblasti. Příkladem může být transgenní kukuřice, u níž se k nám dováží transgenní hybridy, které jsou testovány v podmínkách jižní Evropy. Vzhledem k tomu, že v ČR není genofond místních výkonnějších hybridů, je v tomto případě socio-ekonomické riziko využívání genofondu nulové. Jiná však bude situace pro kukuřici pro oblasti Ruska, jihovýchodní Asii a další oblasti světa, ve kterých je zájem využívat místní adaptované hybridy. To souvisí s druhým přístupem využívání GM plodin, který je založen buď na vlastním vývoji transgenních rostlin (např. současná orientace v Číně) nebo na spolupráci s multinárodními společnostmi. Pro ČR jsou vzhledem k malé velikosti země (i zemědělství) a opožděnému nástupu výzkumu biotechnologií možnosti využití vlastních transgenních odrůd omezené, nehledě na možné problémy spojené s požadavky na regulace v rámci EU. Pro zabránění socio-ekonomických rizik nevyužití místního genofondu kulturních rostlin, je spolupráce s multinárodními společnostmi přínosná. V principu spočívá v zavedení již ověřeného transgenu do místních odrůd, obvykle metodou křížení. Přínosy mohou být tak pro pěstitele (i producenty osiv) vyšší než při dovozu cizí transgenní odrůdy. Například v Austrálii byly místní odrůdy bavlníku do kterých byl zaveden gen pro rezistenci vůči škůdcům výkonnější a vykazovaly vyšší odolnost než původní transgenní odrůdy bavlníku vyvinuté v Americe.

Ukazuje se, že základem pro hodnocení socio-ekonomických rizik GMO je princip posuzování rizik ve vztahu k nákladům a přínosům („risk-cost-benefit“). Vychází z předpokladu, že bezpečnost (přijatelnost) rizik těchto technologií je tehdy, jestliže očekávané přínosy převáží potenciální rizika. Současně tento princip zdůrazňuje potřebu při hodnocení rizik zvažovat také přínosy jednotlivých typů GMO. Z tohoto důvodu byly do předkládané studie zařazeny krátké přehledy o možných přínosech GMO. Metoda „risk-cost-benefit“ je příkladem málo restriktivního standardu pro stanovení bezpečnosti GMO. Více restriktivní přístupy k hodnocení rizik zahrnují jiné typy standardů, různé „prahové standardy“ „procedurální“ standardy, standard podstatné rovnocennosti (substantial equivalence) nebo dokonce „nulové riziko“.

Nová socio-ekonomická rizika se objevují v souvislosti s doporučením EU vypracovat a využívat v členských zemích tzv. zásady koexistence (Anonymus, 2004). Tyto jsou založeny na svobodné volbě pěstitele pěstovat GMO, nebo konvenční odrůdy nebo uplatňovat ekologické zemědělství. Jeden pěstitel by neměl omezovat jiného a měl by na základě vzájemné dohody se sousedem uplatňovat přijaté zásady koexistence. Uplatňování uvedených zásad může přinášet určitá rizika podnikatelsko-agronomická, která vyplývají zaprvé, ze vzájemného omezování jednotlivých podnikatelů (omezení pěstování některé plodiny na vlastním pozemku, izolační vzdálenosti mezi GMO a konvenčními odrůdami, atd.). Za druhé při nedodržování zásad koexistence je riziko poškození obchodních zájmů pěstitele, který využívá jiný pěstební systém. Ohrožen tak může být pěstitel v ekologickém zemědělství tím, že neprodá produkt kontaminovaný GMO. Tento pěstitel však může svou škodu soudně vyžadovat na pěstiteli GMO. Ohrožení tak mohou být pěstitelé v kterémkoliv pěstebním systému. Pro minimalizaci soudních sporů i rizik ekonomických ztrát u pěstitelů lze doporučit uzavřít vzájemné dohody mezi pěstiteli v daném regionu, ve kterých všichni přistoupí na stejný typ pěstebního systému.

### 6.3 Rizika obchodní

Na evropském trhu, zejména v síti obchodních řetězců se stává prodej produktů z GMO rizikový. Zatímco na základě direktiv EU není mimo povinnosti značení produktů z GMO trh nijak regulován, vyhlásila řada obchodních řetězců tzv. systém samozákazů, to je prodej pouze „GMO-free“ produktů. Při celkové nadprodukcí potravin v Evropě to může ohrozit odbyt GMO produktů. Od roku 2001 dokonce některé obchodní řetězce prohlásily, že všechny suroviny živočišného původu používané k výrobě potravin s příslušným „private label“ pocházejí ze zvířat, která nebyla krmena krmivem s obsahem GMO. Zákaz krmení hospodářských zvířat krmivem obsahujícím GMO jde nad rámec platné legislativy EU i ČR.

Na současné úrovni poznání nelze odlišit produkty zvířat krměných krmivem GMO od zvířat jenž tyto krmiva nepřijala. Požadavky na značení živočišných produktů garantujících, že k jejich výrobě nebylo použito krmiv z GMO, jsou prakticky těžko vynutitelné a jejich případné porušení prakticky nedokazatelné. Pouze na základě přímé kontroly krmiv, která je zvířatům překládána je možno zjistit příměsí produktů GMO v krmivech. Taková kontrola se dosud neprovádí, navíc je značně nákladná, takže producenti mohou tento zákaz snadno obcházet. Veškeré náklady na garanci „GMO-free“ produktů ponese prvovýrobci. To by v krátké budoucnosti mohlo vést k prudkému růstu cen „GMO-free“ produktů. V konečném důsledku by to mohlo vyvolat rozštěpení trhu s potravinami a krmivem. U produktů s příměsí GMO nebo masných produktů ze zvířat krměných krmivem s příměsí produktů GMO by převis nabídky mohl vést k poklesu cen. Další vývoj bude záležet na tom, nakolik podlehnou spotřebitelé kampaním proti GMO a kolik bude ochoten za „GMO-free“ potraviny zaplatit.

Pro prvovýrobce to znamená pro rozhodování o pěstování GM-plodin zvážit rizika prodeje těchto produktů. Např. zrno *Bt*-kukuřice bude zřejmě obtížněji exportovatelné do zemí EU než zrno konvenčních hybridů. Přitom paradoxně produkty *Bt*-kukuřice mohou mít významně nižší obsah mykotoxinů než produkty konvenčních hybridů a mohou mít tak příznivější vliv na zdravotní stav zvířat anebo jejich produkční výkonnost. Zvýšení produkce a zlepšení kvality produktu z *Bt*-kukuřice by mohlo zvýšit kvalitu krmných směsí pro hospodářská zvířata. V tomto případě by měl být znám odběratel živočišných produktů, který nevyžaduje garanci „GMO-free krmiv“ pro zvířata. Pěstování *Bt*-kukuřice pro krmiva a krmné směsi, které budou spotřebovány v daném regionu by mohlo být komparativní výhodou pro pěstitele i chovatele zvířat, zejména v případech, kdy se dohodnou na pěstování *Bt*-kukuřice v oblasti a nebudou požadovat „GMO-free krmiva“ pro zvířata.

## 7 Přínosy GM plodin

Propagátoři potravních biotechnologií zdůrazňují jejich význam pro zajištění dostatku potravin pro expandující světovou populaci. Argumentují, že GM plodiny mají větší produktivitu a budou mít větší schopnost adaptovat se na marginálních půdách a v marginálních oblastech a jejich produkty budou mít také vyšší výživovou kvalitu.

Čuba a Hurta (2004) odhadují pro ČR možné přínosy z GM kukuřice a řepky v rozsahu 1,5 miliardy Kč. Současně navrhují připravit a realizovat vládní program v ČR na podporu rozvoje moderních biotechnologií, včetně využití GMO, převážně v oblasti průmyslu. Také v předkládané studii je uvedena řada argumentů pro podporu vzniku takového programu. Nezbytná je také systémová podpora výzkumu na úseku moderních biotechnologií, které zahrnují jak vývoj GMO a vývoj technologií zpracování a využívání produktů GMO, tak hodnocení přínosů a rizik GMO již vyvinutých. V rámci Národního programu výzkumu I., který byl v ČR zahájen v roce 2001, byly poprvé definovány jako samostatné priority výzkumu moderní biotechnologie, a to jak pro oblast průmyslového využití, tak užití v zemědělství, zdravotnictví a dalších oblastech. Doporučuje se proto orgánům státní správy zařazovat prioritu výzkumu týkající se využívání produktů moderních biotechnologií včetně vývoje nových produktů a hodnocení přínosů a rizik GMO v zemědělsko-potravinářském komplexu do Národního programu výzkumu, případně do resortního programu výzkumu.

Přínosy GM plodin jsou u producentů GMO, u pěstitelů transgenních rostlin, a také u spotřebitelů produktů. Zisk u producentů je ze zvýšené ceny osiva transgenních odrůd oproti konvenčním odrůdám a závisí zejména na objemu trhu, tj. ploše pěstování transgenní odrůdy. U GM plodin tzv. první generace, kam patří všechny dosud pěstované transgenní plodiny využívané v ochraně proti škodlivým organismům, je hlavní zisk u producentů. Zavedením transgenních plodin se zvyšuje ekonomická efektivnost pěstování, což přispívá ke zvýšení konkurenceschopnosti zemědělství. Cílem zavádění transgenních plodin není zvýšit výnosy, ale zvýšit čistý zisk z hektaru. To v konečném důsledku vede k nižší ceně produktu a lepšímu uplatnění na světovém trhu. Pěstování řady transgenních plodin vede také ke zvýšení kvality produktů. Jedná se zejména o minimalizaci reziduí pesticidů a přírodních kontaminantů (mykotoxinů) v potravinových řetězcích. U většiny v současné době pěstovaných GM plodin dochází k minimalizaci nepříznivých vlivů technologií pěstování na životní prostředí, pokud je srovnáváme s negativním vlivem pesticidů v konvenčních systémech pěstování, který je nesrovnatelně vyšší než vliv GMO.

### 7.1 Přínosy GM plodin tolerantních k herbicidům

Výhodou v porostech GM plodin tolerantních k herbicidům je široké spektrum účinků jinak neselektivních herbicidů jak na jednoděložné tak dvouděložné plevely. Aplikace těchto herbicidů je možná v libovolné vývojové fázi plevelů. Je například možné ponechání plevelů do určité fáze vývoje plodin. To může mít pozitivní vliv pro ochranu půdy před erozí anebo pro lepší zadržování živin v půdě. V určitém období mohou být ponechané plevely zdrojem potravy pro indiferentní živočichy, na kterých mohou přežívat přirození nepřátelé škůdců. V transgenních plodinách lze také těmito herbicidy snadno hubit příměsi jiných odrůd a výdrol z předplodiny. Největšími agronomickými přínosy je vysoká účinnost, tj. téměř úplné zabránění ztrátám na výnosech vlivem plevelů.

Ve srovnání s konvenčními způsoby ochrany dochází u některých plodin, např. u cukrovky k výrazné úspoře nákladů za herbicidy. Výhodou používaných neselektivních herbicidů je úplné odbourání účinných látek v půdě a v rostlině, tedy velmi rychlá detoxikace účinné látky v prostředí. To znamená jak příznivý vliv pro životní prostředí oproti řadě konvenčních herbicidů tak přínos pro bezpečnost potravin, tj. bez rizika výskytu reziduí herbicidů v produktech.

## 7.2 Přínosy GM plodin rezistentních vůči hmyzím škůdcům

*Bt*-plodiny obvykle zvyšují ekonomickou efektivnost pěstování oproti konvenčním odrudám tím, že účinně zabraňují škodám působených cílovými druhy škůdců. U řady plodin, jako je například bavlník a brambory většinou významně snižují náklady na chemickou ochranu. Po zavedení takovýchto plodin na velké plochy dochází k redukci spotřeby syntetických pesticidů, což je významným přínosem pro ochranu životního prostředí.

U *Bt*-kukuřice se zvýšení výnosů pohybuje od 5 do 20 % oproti neošetřované konvenční odrudě v závislosti na regionu, ročníku pěstování a stupni výskytu zavíječe. Například v podmínkách ČR při středním až vysokém výskytu zavíječe byl nárůst výnosů u *Bt*-kukuřice o 8 až 20% oproti neošetřované konvenční odrudě kukuřice (Kocourek a Říha, 2004). U *Bt*-kukuřice se zvyšuje také kvalita produktu. Na *Bt*-kukuřici je vlivem vysoké rezistence k poškození fytofágními škůdci nižší napadení způsobené některými houbovými patogeny, které rostlinu infikují v místech poškození zavíječem (Betz a kol., 2000). Výskyt mykotoxinů v zru a v silážích poklesá o 80 až 90%. V řadě nezávislých studií byl u *Bt*-kukuřice prokázán snížený obsah celé řady mykotoxinů oproti netransgenní kukuřici (Tatli, 2002, Piva, 2002, Forget-Richard, 2002). Například ve studii prováděné v ČR obsahovalo zrno získané z palic *Bt*-kukuřice s insertem MON 810 pouze podprahové množství mykotoxinů detekovatelného pomocí ELISA testů. Naproti tomu v zru z netransgenní izoliny a tradičního hybridu pěstovaného v našich podmínkách byl v porovnání s *Bt*-kukuřicí podstatně vyšší obsah mykotoxinů (Kocourek a Říha, 2004).

Příkladem ekonomických přínosů může být zavedení *Bt*-plodin v USA. Od roku 1995 tam bylo dosud registrováno 10 různých modifikací s rezistencí vůči hmyzu u kukuřice, bavlníku a brambor založené na genech pro produkci delta toxinu z *Bacillus thuringiensis*. Již v roce 1999 se v USA pěstovalo: 7,9 mil. ha *Bt*-kukuřice, včetně sladké, 1,43 mil. ha *Bt*-bavlníku a 20 tis. ha *Bt*-brambor. To představovalo objem trhu u *Bt*-kukuřice 25,5%, u *Bt*-bavlníku 28% a *Bt*-brambor 4%. Celkový přímý čistý zisk u farmářů v roce 1999 byl z těchto plodin 112 mil. dolarů. Další zisk měli farmáři z úspor za náklady za pesticidy. Například u *Bt*-bavlníku došlo po zavedení těchto plodin k redukci ploch ošetřovaných pesticidy o 3 mil ha ročně, což představuje úspory na nákladech na chemickou ochranu v objemu 50 mil. dolarů ročně. Zejména u *Bt*-bavlníku měla redukce spotřeby pesticidů po jeho zavedení v USA pozitivní vliv na ochranu životního prostředí. V řadě tropických a subtropických zemí jsou ekonomické přínosy zavedení *Bt*-bavlníku mnohem vyšší. Mimo významné úspory za pesticidy se u *Bt*-bavlníku zvyšuje výnos často až o 100% oproti konvenčním odrudám. Obecně jsou tak přínosy transgenních plodin rezistentních vůči škůdcům vyšší v tropických a subtropických oblastech než v oblastech mírného pásma.



### **7.3 Přínosy GM plodin rezistentních vůči virovým chorobám**

U transgenních rostlin rezistentních vůči virů dochází ke zvýšení výnosů nebo ke zlepšení kvality produktů. U řady plodin, u kterých nejsou známe genové zdroje přirozené rezistence vůči určitým virům, se jedná o jedinou možnost ochrany. U některých plodin a virů někdy poklesne spotřeba chemických přípravků užívaných k regulaci populací hmyzích přenašečů. Omezení rozsahu chemické ochrany vůči přenašečům je také příspěvkem k ochraně životního prostředí.

## 8 Závěry

Při hodnocení geneticky modifikovaných organismů se zvažují rizika z uvedení do prostředí, tj. rizika poškození životního prostředí, snížení biologické rozmanitosti – diverzity, rizika pro zdraví člověka a zvířat. Dále se posuzují klady a zápory technologií využívající GMO ve srovnání s konvenční technologií pěstování, tj. posuzují se užitné vlastnosti GMO. Pokusy v jedné zemi probíhají obvykle na několika lokalitách v průběhu několika let. Přínosy z GMO strategie se mohou lišit mezi geografickými oblastmi, mezi regiony nebo i mezi jednotlivými ročníky na jedné lokalitě vlivem různého průběhu počasí. V zemích EU je transgenní rostlina povolena do oběhu, respektive pro pěstování, jestliže rizika jsou minimální a přínosy jsou prokazatelné ve srovnání s konvenční technologií.

Je evidentní, že hlavním faktorem, který ovlivňuje sociální přijatelnost potravních biotechnologií (GMO) je vnímání socio-ekonomických a politických vlivů rozrůstání těchto technologií, než pouze otázky rizik na zdraví a životního prostředí. Sociální přijatelnost (lépe nepřijatelnost), jak se ukázalo na přístupu evropských zemí v období 1999 až 2004, může být sama o sobě rizikem pro zavádění a využívání GMO. To se projevilo snížením konkurenceschopnosti některých komodit pěstovaných v Evropě na světových trzích. Po zrušení embarga na GMO v Evropě v roce 2004 se řada zemí EU ať už přímo nebo nepřímo orientuje na rozvoj a zavedení GMO v zemědělství. Pokud nebude v ČR zachycen tento trend mohla by se u některých komodit v krátkém období projevit snížená konkurenceschopnost zemědělství vůči ostatním zemím EU. Naopak při vládní podpoře rozvoje biotechnologií, ať už potravních nebo pro využití v průmyslu, by mohlo výrazně ovlivnit konkurenceschopnost ČR v řadě odvětví a současně přispět k rozvoji venkova a k řešení s tím spojených sociálních problémů. Tato oblast představuje ekonomická rizika, která podléhají více politickým vlivům.

Potenciální rizika geneticky modifikovaných rostlin lze členit na zemědělská, včetně ekonomicko-obchodních, na rizika pro životní prostředí a na rizika pro zdraví lidí a hospodářských zvířat. Ze zemědělských rizik je nejvýznamnější relativně rychlá selekce rezistentních populací škodlivých organismů, které překonají rezistenci. Tím by během několika let pěstování transgenní plodiny na velkých plochách mohlo dojít k částečné nebo úplné ztrátě účinnosti této technologie. Proto je nutné uplatňovat antirezistentní strategie, z nichž některé vyžadují zvýšené náklady nebo naopak způsobují významné ztráty na produkci. Významným agronomickým rizikem je také možnost znečištění osiv konvenčních odrůd, zejména u plodin kde dochází k šíření pylem. Toto riziko hrozí nejenom při pěstování osiv v blízkosti transgenních plodin, ale může dojít ke kontaminaci plodin a následně produktů v systémech organického pěstování. Za rizika ekonomicko-obchodní lze zejména v Evropě zařadit i ztížený prodej některých geneticky modifikovaných produktů. Žádná rizika pro zdraví člověka a hospodářských zvířat u všech v současné době pěstovaných geneticky modifikovaných rostlin a jejich produktů nebyla neprokázána. Naopak některé produkty transgenních rostlin mohou mít příznivější vlastnosti pro zdraví hospodářských zvířat, jako například transgenní kukuřice rezistentní vůči škůdcům může mít významně nižší obsah mykotoxinů než kukuřice konvenční. U každé GM plodiny, u které se očekává její masivní využívání v ČR, je proto třeba zajistit v předstihu výzkum, který zhodnotí její přínosy a rizika. Rizika na životní prostředí jsou u většiny současných transgenních plodin minimální. U každé plodiny a u každého transgenu, který podmiňuje změny jiné vlastnosti, je nutno posuzovat rizika individuálně.

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AAZIZ R., TEPFER M. Recombination between genomic RNAs of two cucumoviruses under conditions of minimal selection pressure. *Virology*, 1999a, vol. 262, p. 282.

AAZIZ R., TEPFER M. Recombination of RNA viruses and in virus-resistant transgenic plants. *J. Gen. Virol.*, 1999b, vol. 80, p. 1339.

ANONYMUS. Elements of Precaution: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada. An Expert Panel Report on the Future of Food Biotechnology and Health Aspects of Genetically Modified Foods; 28 Feb.- 1 March 2000 prepared by The Royal Society of Canada at the request of Health Canada Canadian Food Inspection Agency and Environment Canada, 2001, 265 p.

ANONYMUS. Pravidla pro využívání GM plodin v systému konvenčního a ekologického zemědělství v ČR (pravidla koexistence), Směrnice Mze ČR, 2004, 12pp.

BAUM J. A., JOHNSON T. B., CARLTON B. C. *Bacillus thuringiensis*: Natural and Recombinant Biopesticide Products. In: Hall F. R., Menn J. J. *Biopesticides: Use and Delivery*. Humana Press Totowa, NJ, p. 189-210.

BERGELSON J., PURRINGTON C.B., PALM C.J., LOPEZ-GUTIERREZ J.C. Costs of resistance: a test using transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Royal Soc. London B.*, 1996, 263: 1659–63

BERNHARD K., UTZ R. Production of *Bacillus thuringiensis* Insecticides for Experimental and Commercial Uses. In: Entwistle P. F., Cory J. S., Bailey, M. j., Hoggs S. *Bacillus thuringiensis*, An Environmental Biopesticide: Theory and Practice. John Wiley & Sons Chichester UK, 1993.

BETZ F.S., HAMMOND B. G., FUCHS R. L. Safety and advantages of *Bacillus Thuringiensis*-protected plants to control insect pests. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2000, vol. 32, p. 156.

BORJA M., RUBIO T., SCHOLTHOF H.B., JACKSON A.O. Restoration of wild-type virus by double recombination of tombusvirus mutants with a host transgene. *Mol. Plant Microb. Interact.*, 1999, vol. 12, p. 153.

CANDELIER-HARVEYOAT P., HULL R. Cucumber mosaic virus genome is encapsidated in alfalfa mosaic virus coat protein expressed in transgenic tobacco plants. *Transgenic Res.*, 1993, vol. 2, p. 277.

CANNON R. J. C: Prospects and Progress for *Bacillus thuringiensis* – Based Pesticides. *Pest. Sci.*, 1993, vol. 37, p. 331-335.

COMINS H. N. The development of insecticide resistance in the presence of migration. *J. Theor. Biol.*, 1977, vol. 64, p. 177-197.

CRAWLEY M.J., HAILS R.S., REES M., KOHN D., BUXTON J. Ecology of transgenic oil seed rape in natural habitats. *Nature*, 1993, vol. 363, p. 620–23.

CRAWLEY M.J. The ecology of genetically engineered organisms: assessing the environmental risks. In: Mooney, H.A., Bernardi G. (eds.). *Introduction of Genetically Modified Organisms into the Environment*. Chichester, UK: John Wiley & Sons. 1990, p. 133–50.

CREAMER R., FALC B.W. Direct detection of transcapsidated barley yellow dwarf luteoviruses in doubly infected plants, *J. Gen. Virol.*, 1990, vol. 71, p. 211.

CROFT B. A. Developing a philosophy and program of pesticide resistance management. In: Roush R. T., Tabashnik B. E. Pesticide Resistance in Arthropods. Chapman and Hall New York, 1990, p. 277-296.

ČUBA F., HURTA J. Biotechnologie: Jaké zisky přináší svět, co mohou přinášet nám?, Sborník abstraktů ze semináře „Biotechnologie“, 21.10.2004, Praha, p. 5-21.

DANIELL H., DATTA R., VARMA S., GRAY S., LEE S.B. Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome. Nat. Biotechnol., 1998, vol., 16, p. 345–48.

DENT D. Insect Pest Management, 2<sup>nd</sup> edition, CABI Publ., Wallingford, UK, p. 410.

DERKSEN D.A., WATSON P.R. Volunteer Crops: The Gift That Keeps on Giving. Poster, Expert Committee on Weeds. Ottawa: ECW, 1999

DOWNEY R.K. Gene flow and rape – the Canadian experience. In: Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops, Farnham, Surrey, UK, 1999, p. 109–16.

DUTTON A. D., ALESSANDRO M., ROMEIS J., BIGLER F. Assessing expression of Bt-toxin (*cry1Ab*) in transgenic maize under different environmental conditions, In: Book of abstracts from OBC/wprs working group meeting – Ecological Impact of Genetically Modified Organisms. 26-29 November 2003, Praha, Česká republika, p. 21.

DUTTON A., ROMEIS J., BIGLER F. Comparing the effects of *Bt*-maize and *Bt*-spray on non-target arthropods. Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt*. Maize forum”, Biarritz-Peyrehorade, September 2002.

EPA, Report, FIFRA Scientific Advisory Panel, Subpanel on Bacillus Thuringiensis (Bt) plant-pesticides and resistance management, February 9-10, 1998. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D. C., 1998. In: Edited by Letourneau D. L., Burrows B.E. Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects. CRC Press LLC, Washington, D.C., 2002, p. 109.

FALC B.W., BRUENING F. Will transgenic crops generate new viruses and new diseases? Science, 1994, vol. 263, p. 1395.

FARINELLI L., MALNOE P., COLLET G.F. Heterologous encapsidation of potato virus Y strain O (PVY<sub>O</sub>) with the transgenic coat protein of PVY strain N (PVY<sub>N</sub>) in Solanum tuberosum cv. Bintje, Bio-Technology, 1992, vol. 10, p. 1020.

FAWCETT R.S. Analysis of the YeldGard corn technology, Monsanto Company, 01 August 1998. In: Edited by Letourneau D. L., Burrows B.E. Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects. CRC Press LLC, Washington, D.C., 2002, p. 43.

FERNÁNDEZ-CUARTERO B., BURGYÁN J., ARANDA M.A., SALÁNKI K., MORIONES E., GARCÍA-ARENAL F.: Increase in the relative fitness of a plant virus RNA associated with its recombinant nature, Virology, 1994, vol. 203, p. 373.

FISCHHOFF D.A. Insect resistant crop plants. In: Persley G. J.: Biotechnology and integrated pest management. CAB International Wallingford UK, 1996, p. 214-227.

FREIER B., SCHORLING M., TRAUGOTT M., JUEN A., VOLKMAR CH. Results of 4-year plant survey and pitfall trapping in Bt-maize and conventional maize fields, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 24.

FREIER B. Field studies on arthropod communities in *Bt.* maize and not genetically modified maize in an ECB outbreak area in Germany, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt.* Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.

FROUZ J, ELHOTTOVÁ D., ŠOURKOVÁ M., KOCOUREK F. The effect of *Bt.*-corn on soil invertebrates and decomposition rates of corn post-harvest residues under field and laboratory conditions. *European Journal of Soil Biology* (in press)

FRUTOS R., RANG C. Royer M. Managing insect resistance to plants producing *Bacillus thuringiensis* toxins. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1999, vol. 19, p. 227-276.

FURLAN L. Maize pests in Italy and potential role of *Bt* hybrids, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt.* Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.

GATHMANN A., WIROOKS L., BÁRTECH D., SCHUPHAN I. Monitoring effects of growing *Bt.*-maize on non target Lepidoptera, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 25.

GIANESSI L. P., CARPENTER J. E. Agricultural biotechnology: insect control benefits, National Center for Food and Agricultural Policy, Washington D.C., July 1999, <http://www.ncfap.org/pub/biotech/insectcontrolbenefits.pdf>

GILL S. S., COWLES E. A., PIETANTONIO P. V. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annu. Rev. Entomol.*, 1992, vol. 37, p.615-636.

GOULD F., ANDERSON A., JONES A., SUMERFORD D., HECKEL D. G., LOPEZ J., MICINSKI S., LEONARD R., LASTER M. Initial frequencies of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, p. 3519-3523.

GRAY A.J., RAYBOULD A.F. Reducing transgene escape routes. *Nature*, 1998, vol. 392, 653–54.

GÜLLÜ M. Efficacy of *Bt* Corn to Target, non target and beneficial organisms, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt.* Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.

GUTHRIE W.D. Genetic engineering techniques for breeding maize for resistance to the European Corn Borer. *Proceeding of the XV-th Symposium of the IWGO Varna*, September 1988. In: Longauerová, J., Neštický, M., Bírová, H.: *Závěrečná zpráva P06-529-817-04-07. Slovosivo Výzkumný Ústav Kukurice*, k.p. Trnava, 1989.

HABUŠTOVÁ O., SEHNAL F., HUSSAIN H.M. Insect communities on maize expressing a *Bt* toxin, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 28.

HAMMOND J., DIENELT M.M. Encapsidation of potyviral RNA in various forms of transgene coat protein is not correlated with resistance in transgenic plants, *Mol. Plant Microb. Interact.*, 1997, vol. 10, p. 1023.

HAMMOND J., LECOQ H., RACCAH B.: Epidemiological risks from mixed virus infections and transgenic plants expressing viral genes, *Adv. Virus Res.*, 1999, vol. 54, p. 189.

HANSEN L.C., OBRYCKI J.J. Non-target effects of transgenic insecticidal corn – the monarch and beyond. In: „Ecology of Pesticides, Resistance and Toxicology“ *Abstract book of the XXI International congress of Entomology*, 2000, Brasil, p. 314.

HEADRICK J.: YieldGard® Overview, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt*. Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.

HEAP I.M.. International Survey of Herbicide Resistant Weeds, 4 Feb 1999, At: <http://www.weedscience.com>

HELLENAS K.E., BRANZELL C., JOHNSON H., SLANINA P. High levels of glycoalkaloids in the established Swedish potato variety “Magnum Bonum”. *J. Sci. Food Agric.* 1995, vol. 23, p. 520–23.

HÖFTE H., WHITELY H. R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiology, Rev.* 1989, vol. 53, p. 242-255.

HOLT C.A., BEACHY R.N. In vivo complementation of infectious transcripts from mutant tobacco mosaic virus cDNAs in transgenic plants, *Virology*, 1991, vol., 181, p. 109.

HUANG F., BUSCHMAN L. L., HIGGINS R. A., MCGAUGHEY W. H. Inheritance of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European corn borer. *Science*, 1999, vol. 284, p. 965-967.

HUANG F., HIGGINS R. A., BUSCHMAN L. L. Heritability and stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Bulletin of Entomological Research*, 1999, vol. 89, p. 449-454.

IQBAL M., VERKERK R. H. J., FURLONG M. J., ONG P. C., RAHMAN S. A., WRIGHT D. J. Evidence for resistance to *Bacillus thuringiensis* (Bt) subsp. *Kurstaki* HD-1, Bt subsp. *Aizawai* and *Abamectin* in field populations of *Plutella xylostella* from Malaysia. *Pesticide Science*, 1996, vol. 48, pp. 89-97.

JAMES C. Global status of Commercialized Transgenic Crops: 2000, ISAAA Briefs No. 21: Preview, International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications, Ithaca, NY, 2000, [http://www.isaaa.org/publications/briefs/Brief\\_21.thm](http://www.isaaa.org/publications/briefs/Brief_21.thm).

JANSENS S., VAN VLIET A., DICKBURT C., BUYSSE L., PIENS C., SAEY B., DE WULF A., PAEZ A., GOBEL E., PEFFEROEN M. Field evaluation of transgenic corn expressing a *Cry9C* insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis*, protected from European corn borer. *Crop Science*, 1997, vol. 37, p. 1616-1624.

KALUSHKOV P., NEDVĚD O. Aphidophagous coccinellids in insecticides-free (Bt) and insecticide-treated potato fields in Bulgaria, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 33.

KAREIVA P.R., MORRIS W., JACOBI C.M. Studying and managing the risk of crossfertilization between transgenic crops and wild relatives. *Mol. Ecol.*, 1994, vol. 3, p. 15–21.

KIRK D.A. Potential Impacts of Biotechnology on Biodiversity and Ecosystem Health. Internal report to Environment Canada. Appendix 4. Report of the Environment Canada workshop on the potential ecosystem effects of genetically-modified organisms, 2000, p. 255–302.

KOCOUREK F., ŘÍHA K. Evaluation of efficacy of Bt-maize and *Trichogramma* wasp against European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) in field trial, In: Book of abstracts from IOBC/wprs working group meeting – Ecological Impact of Genetically Modified Organisms, 26-29 November 2003, Praha, Česká republika, p. 34.

KOCOUREK, F., ŘÍHA, K. Bt-maize & Trichogramma wasp – two compatible strategies in control of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*), Book of abstracts (CD-rom) from the XXII International Congress of Entomology, Brisbane, 15-21 August 2004.

KOSKELLA J., STOTZKY G. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after inoculation with microbes. *Appl. Environ. Microbiol.* 1997, vol. 63, p. 3561–68.

KOZIEL M. K., BELANG F. L., BOWMAN C., CAROZZI N. B., CRENSHAW R., CROSSLAND L., DAWSON J., DESAI N., HILL M., KADWELL S., LAUNIS K., LEWIS K., MADDOX D., MCPHERSON K., MEFHJI M. R., MERLIN E., RHODES R., WARREN G. W., WRIGHT M., EVOLA S. V. Field performance of elite transgenic maize plants expressing an insecticidal protein derived from *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnology*, 1993, vol. 11, p. 194-200.

KRATTIGER A. F. Insect Resistance in Crops: A Case study of *Bacillus thuringiensis* (Bt) and Its Transfer to Developing Countries, IsAAA Briefs No. 2, International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications, Ithaca, NY, 1997, [http://www.isaaa.org/publications/briefs/Brief\\_2.htm](http://www.isaaa.org/publications/briefs/Brief_2.htm).

KUNKEL T., NIU Q.W., CHAN Y.S., CHUA N.H. Inducible isopentenyl transferase as a high efficiency marker for plant transformation. *Nat. Biotechnol.* 1999, vol. 17, p. 916–19.

LANG A. Monitoring the effects of transgenic crops on non-targets: Bt maize and spiders as a case study, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt*. Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.

LAVIGNE E., KLEIN K., VALLEE P., PIERRE J., GODELLE B., RENARD M. A pollen-dispersal experiment with transgenic oil seed rape. Estimation of the average pollen dispersal of an individual plant within a field. *Theor. Appl. Genet.*, 1998, vol. 96, p. 886–896.

LECOQ H., RAVELONANDRO M., WIPF-SCHEIBEL C., MONSION M., RACCAH B., DUNEZ J. Aphid transmission of a non-aphid-transmissible strain of zucchini yellow mosaic potyvirus from transgenic plants expressing the coat protein of plum pox potyvirus, *Mol. Plant Microb. Interact.*, 1993, vol. 6, p. 403.

LETOURNEAU D. L., BURROWS B.E. Genetically engineered organisms: assessing environmental and human health effects. CRC Press LLC, Washington, D.C., 2002.

LIU Y. B., TABASHNIK B. E. Experimental evidence that refuges delay insect adaptation to *Bacillus thuringiensis*. *Proc. R. Soc. London*, 1997, vol. 264, p. 605-610.

LIU Y. B., TABASHNIK B. E., DENNEHY T. J., PATIN A. L., BARTLETT A. C. Development time and resistance to Bt crops. *Nature* 1999, vol. 40, p. 519.

LOSEY J.E., RAYOR L.S., CARTER M.E. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 1999, vol. 399, p. 6733.

LU F.C., SIELKEN R.L. JR., Sielken Inc. Assessment of safety/risk of chemicals: interception and evaluation of the ADI and dose-response modeling procedures. *Toxicol. Lett.* 1991 Dec. Vol. 51(1-3), p. 5-40.

LUDY C., LANG A. Trapped in a sticky web: Bt-maize and food web context of web-building spiders, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 35.

MALLET J., PORTER P. Preventing insect adaptation to insect-resistant crops: are seed mixtures or refugia the best strategy? *Proc. R. Soc. London B*, 1992, vol. 250, p. 165-169.

- MANACHINI B., LOZZIA G.C. Studies on the effects of Bt corn (event 176) expressing Cry1Ab on two parasitoids of *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lepidoptera Crambidae), Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 37.
- MARRONE P. G., MACINTOSH S. C. Resistance to *Bacillus thuringiensis* and Resistance Management. In: Entwistle P. F., Cory J. S., Bailey M. J., Higgs S. *Bacillus thuringiensis*, An Environmental Biopesticide: Theory and Practice. John Wiley & Sons Chichester UK, 1993, p. 221-235.
- MCGAUGHEY W. H., GOULD F., GELERNTER W. Bt resistance management. *Nat. Biotech.*, 1998, vol. 16, p.144-146.
- MEISSLE M., VOJTECH E., POPPY G.M. Bt maize and tritrophic interactions: about a herbivore, a parasitoid and a predator, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 38.
- MICHAUD D. Avoiding Protease - Mediated Resistance in Herbivorous Pests. *Trends Biotechnology*, 1997, vol. 15, p. 4-6.
- MILLER W.A., KOEV G., MOHAN B.R. Are there risks associated with transgenic resistance to luteoviruses? *Plant Dis.*, 1997, vol. 81, p. 700.
- MOYES C.L., DALE P.J.: Organic Farming and Gene Transfer from Genetically-modified Crops. MAFF Research Project OF0157. Norwich, UK: John Innes Centre, 1999.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). 2000. *GM Food Safety: Facts, Uncertainties, and Assessment*. The OECD Edinburgh Conference on the Scientific and Health Aspects of Genetically Modified Foods; 28 February – 1 March 2000. Chairman's Report.
- OPPERT B., KRAMER K. J., BEEMAN R. W., JOHNSON D., MCGAUGHEY W. H. Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *J. Biol. Chem.*, 1997, vol. 272, p. 23473-23476.
- OSBOURN J.K., SARKAR S., WILSON T.M.A. Complementation of coat protein-defective TMV mutants in transgenic tobacco plants expressing TMV coat protein, *Virology*, 1990, vol. 179, p. 921.
- PALM, C.J., K. DONEGAN, D. HARRIS, R.J. SEIDLER. Quantification in soil of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*-endotoxin from transgenic plants. *Mol. Ecol.*, 1994, vol. 3, p. 145–151.
- PEKRUN C., HEWITT J.D.J., HEWITT P.J.W. Cultural control of volunteer rape. *J. Agric. Sci.* 1998, vol. 130, p. 150–63.
- PERLAK F. J., DEATON R. W., ARMSTRONG T. A., FUCHS R. L., SIMS S. R., GREENPLATE J. R., FISCHHOFF D. A. Insect resistant cotton plants. *Biotechnology*, 1990, vol. 8, p. 939-943.
- PIMENTEL D., BURGESS M. Effects of Single Versus Combinations of Insecticides on the Development of Resistance. *Environmental Entomology*, 1985, vol. 14, p. 582-589.
- PIVA G. Bt corn & mycotoxins, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt*. Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.
- PONS X., LUMBIERRES B., LÓPEZ C., ALBAJES R. Effects of Bt maize on the development of *Orius majusculus*, Book of abstract from the IOBC/wprs working group



meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, 40.

POWER A.G., REMOLD S.K.: Incidence of barley yellow dwarf virus in wild grass populations: implications for biotechnology risk assessment, in Proceedings of the Biotechnology Risk Assessment Symposium, Levin M., Grim C., Angle S., Eds., University of Maryland, Gaithersburg, 1996, chap. 3.

RAYBOULD A.F., GRAY A.J. Will hybrids of genetically modified crops invade natural communities. *Trends Ecol. Evol.*, 1994, vol. 9, p. 85–89.

RIESEBERG L.H., KIM M.J., SEILER G.J. Introgression between the cultivated sunflower and a sympatric wild relative, *Helianthus petiolaris* (Asteraceae). *Int. J. Plant Sci.*, 1999, vol. 160, p. 102–08.

ROUSH R. T. Managing resistance to transgenic crops. In: Carozzi, N., Koziel, M.: *Advances in insect control: the role of transgenic plants*. Taylor and Francis London, 1997, p. 271-294.

ROUSH R. T., DALY J. C. The role of population genetics in resistance research and management. In: Roush, R. T., Tabashnick, B. E.: *Pesticide resistance in arthropods*. Chapman and Hall New York, 1990, p. 97-152.

ŘÍHA K., KOCOUREK F. Zavíječ kukuřičný – účinnost geneticky modifikované kukuřice v ochraně proti zavíječi kukuřičnému v ČR, *Agro 2004*, vol. 6(9), p. 18–21,

SAXENA D., FLORES S., STOTZKY G. Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature (London)* 1999, vol. 402, p. 480.

SEHNAL F., HABUŠTOVÁ O., SPITZER L., HUSSAIN H.M., RŮŽIČKA V. A biannual study on the environmental impact of Bt-maize, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 46.

SIEGFRIED B. D., ZOERB A. C., SPENCER T. Development of European corn borer larvae on Event 176 Bt corn: Influence on survival and fitness. *Entomologica Experimentalis et Applicata*, 2001, vol. 100, p. 15-20.

SNOW A.A., ANDERSEN B., JOEGENSEN R.B. Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Mol. Ecol.*, 1999, vol. 8, p. 605–15.

SNOW A.A., PALMA P.M. Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks. *BioScience* 1997, vol. 47, p. 86–96.

STEWART C.N. JR., ALL J.N., RAYMER P.L., RAMACHANDRAN S. Increased fitness of transgenic insecticidal rapeseed under insect selection pressure. *Mol. Ecol.*, 1997, vol. 6, p. 773–79.

SWEET J. Herbicide tolerant crops and botanical diversity, Book of abstract from the IOBC/wprs working group meeting „Ecological Impact of Genetically Modified Organisms“, 26-29 November 2003, Prague, p. 49.

TABASHNIK B. E. Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol.*, 1994, vol. 39, p. 47-79.

TABASHNIK B. E., LIU Y., FINSON N., MASSON L., HECKEL D. G. One gene in diamondback moth confers resistance to four *Bacillus thuringiensis* toxins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, p. 1640-1644.

- TAPP H., STOTZKY G.. Persistence of the insecticidal toxin from Bt subsp. kurstaki in soil. *Soil. Biol. Biochem.* 1998, vol. 30, p. 471–76.
- TATLI F. Identification of the reaction of Bt corn (MON 810) to some mycotoxins in Turkey, Book of abstracts (CD-rom) from the “*Bt*. Maize forum”, September 2002, Biarritz-Peyrehorade.
- TEPFER M., BALAZS E. *Virus-resistant Transgenic Plants: Potential Ecological Impact*, Springer-Verlag, Berlin, 1997, p. 126.
- THOMAS P.E., HASSAN S., KANIEWSKI W.K., LAWSON E.C., ZALEWSKI J.C. A search for evidence of virus/transgene interactions in potatoes transformed with potato leafroll virus replicase and coat protein genes, *Mol., Breed.*, 1998, vol. 4, p. 407.
- THRESH J.M. The origin and epidemiology of some important virus diseases, *Appl. Biol.*, 1980, vol. 5, p. 1.
- TOPINKA K., HUFFMAN J., HALL L. Pollen flow between herbicide tolerant canola (*Brassica napus*) is the cause of multiple resistant canola volunteers. Poster, Expert Committee on Weeds, ECW, Ottawa, 1999.
- TRUMBLE J.T., DERCKS W., QUIROS C.F., BEIER R.C. Host plant resistance and linear furanocoumarin content of *Apium* accessions. *J. Econ. Entomol.* 1990, vol. 83, p. 519–25.
- US National Academy of Sciences. National Research Council. *Risk Assessment in the Federal Government*. Washington, DC: National Academy Press, 1983..
- VAN FRANKENHUYZEN K. The challenge of *Bacillus thuringiensis*. In: Entwistle P. F., Cory J. S., Bailey M. j., Hoggs S. *Bacillus thuringiensis, An Environmental Biopesticide: Theory and Practice*. John Wiley & Sons Chichester UK, 1993.
- VAN RIE J., MCGAUGHEY W. H., JOHNSON D. E., BARNETT B. D., VAN MELLAERT H. Mechanism of insect resistance to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Science*, 1990, vol. 247, p. 72-74.
- VAN RIE J., VAN MELLAERT H., PEFFEROEN M. Mechanism of insect resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plodia interpunctella* and *Plutella xylostella*. In: Mullin, C. A., Scott, J. G.: *Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance: Diversity Among Insects*. American Chemical Society, Washington DS, 1992.
- WARWICK S.I., SMALL E.: Invasive plant species: evolutionary risks from transgenic crops. In L.W.D. van Raams donk, J.C.M. den Nijs (eds.), *Plant Evolution in Man-Made Habitats*, 1998, 235–56. Proceedings of the VIIth International Symposium of the International Organization of Plant Biosystematists. University of Amsterdam, Hugo de Vries Laboratory.
- WATKINSON A.R., FRECKLETON R.P., ROBINSON R.A., SUTHERLAND W.J. Predictions of biodiversity response to genetically modified herbicide-tolerant crops. *Science*, 2000, vol. 289, p. 1554–57.
- WEARING C. H., HOKKANEN H. M. T. Pest Resistance to *Bacillus thuringiensis*: Ecological Crop Assessment for Bt Gene Incorporation and Strategies of Resistance Management. In: Hokkanen, H. M. T., Lynch, J. M.: *Biological Control: Benefits and Risks*, Cambridge University Pres, Cambridge, UK, 1995, p. 236-252.
- WEB 2004. AgBiosafety, University of Nebraska - Lincoln: the web version [online]. MON 810 Environmental Risk Assessment.[cit. 2004]. <http://64.26.172.90/unl2/cstudies.php?book=ESA&ev=MON810&chapter=Expressed#>

WEN F., LISTER R.M., FATTOUH F.A. Cross-protection among strains of barley yellow dwarf virus, *J. Gen. Virol.*, 1991, vol. 72, p. 791.

WEN F., LISTER R.M.: Heterologous encapsidation in mixed infections among four isolates of barley yellow dwarf virus, *J. Gen. Virol.*, 1991, 72, 2217

WHALON M. E., MCGAUGHEY W. H. *Bacillus thuringiensis*: Use and Resistance Management. In: Ishaaya, I., Degheele, D.: *Insecticides with novel modes of action: mechanism and application*, Springer Berlin, 1998, p. 106-137.

WHO 2000a. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. Walker R., Topic 6: Safety Testing of Food Additives and Contaminants and the Long Term Evaluation of Foods Produced by Biotechnology.

WHO 2000b. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. Pederson, J., *Topic 2: Application of Substantial Equivalence Data Collection and Analysis*.

WHO. 2000c. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Food and Agricultural Organization of the United Nations/World Health Organization. Ow, D., *Topic 12: Marker Genes*.

WINTERMANTEL W.M., SCHOELZ J.E. Isolation of recombinant viruses between cauliflower mosaic virus and a viral gene in transgenic plants under conditions of moderate selection pressure, *Virology*, 1996, vol. 223, p. 156.

WOOD R. J. Strategies for Conserving Susceptibility to Insecticides. *Parasitology*, 1981, vol. 82, p.69-80.

ZITNAK A., JOHNSTON G.R.. Glycoalkaloid content of B5141-6 potatoes. *Am. Potato J.* 1970, vol. 47, p. 256–60.

ZUBKO E., SCUTT C., MEYER P. Intrachromosomal recombination between attP regions as a tool to remove selectable marker genes from tobacco transgenes. *Nat. Biotechnol.* 2000, vol. 18, p. 442– 45.

ZUO J, CHUA NH. Chemical-inducible systems for regulated expression of plant genes. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2000, vol. 11, p. 146–51.

ZVÁRA J. A KOL.: Fytofarmacie. In: Landa, Z.: *Biopreparáty*. Jihočeská Univerzita České Budějovice, 1998, p.107-108.