Organizace a kontrola pěstování GM plodin v ČR

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

Organizace a kontrola pěstování GM plodin v ČR

Vydalo: Ministerstvo zemědělství, odbor rostlinných komodit
s použitím podkladů mj. z ČIŽP, ISAAA, MŽP, SZPI, ÚKZÚZ a VÚRV.
Autor: Ing. Jana Trnková a kol.
Praha, 2019
IV. aktualizované vydání
Aktualizace: Mgr. Markéta Dvořáková

Internet: http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/gmo-geneticky-modifikovane-organismy/publikace-a-dokumenty/

ISBN 978-80-7434-535-7

Obsah

1. Úvod 2
Ing. Jana Trnková, aktualizace Mgr. Markéta Dvořáková

2. Přehled, vztahy a kompetence orgánů státní správy ČR a EK. 3
Ing. Jana Trnková, aktualizace Mgr. Markéta Dvořáková

3. Zákonný rámec. 4
JUDr. Jaroslav Hanák, Ing. Jana Trnková, aktualizace Mgr. Markéta Dvořáková

4. Povinnosti pro pěstitele GM kukuřice ČR 5
Ing. Marie Křístková, Ph.D., aktualizace Ing. Jana Trnková

5. Systém kontroly pěstování GM plodin 6
Ing. Marie Křístková, Ph.D., aktualizace Ing. Jana Trnková

6. Systém udělování sankcí. 9
JUDr. Jaroslav Hanák, Ing. Jana Trnková

7. Přehled hlavních úkolů v procesu kontroly pěstování GM plodin. 10
Ing. Jana Trnková

8. Kontaktní místa 12

9. Přílohy. 12

Použité zkratky

Bt	Bacillus thuringiensis
ČIŽP	Česká inspekce životního prostředí
ČK GMO při MŽP	Česká komise pro nakládání s GMO při Ministerstvu životního prostředí
ČR	Česká republika
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DPB	díl půdního bloku
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EK	Evropská komise
EU	Evropská unie
GM	geneticky modifikovaný
GMO	geneticky modifikovaný organismus
ISAAA	International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications
LPIS	registr půdy
MZe	Ministerstvo zemědělství
MŽP	Ministerstvo životního prostředí
NRL	Národní referenční laboratoř
PB	půdní blok
SRS	Státní rostlinolékařská správa
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce
SZIF	Státní zemědělský intervenční fond
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
VÚRV	Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

1. Úvod

Geneticky modifikované (dále jen „GM“) neboli transgenní rostliny jsou takové rostliny, u kterých byl změněn dědičný materiál pomocí genových technologií (genového inženýrství). GM rostliny se vyznačují různými specifickými vlastnostmi, mezi které patří zejména odolnost vůči škůdcům nebo tolerance k neselektivním herbicidům. Nově získané vlastnosti mají obecně přinášet přímé výhody především pro pěstitele.

V rámci EU je možno zkušenosti za dobu pěstování v ČR s GM plodinami označit za velmi pokročilé. Na území EU, tedy i v ČR, je pro komerční využití pěstována jediná GM plodina, kukuřice, označovaná též jako „Bt kukuřice“. Jedná se o GM plodinu s vloženým genem z půdní bakterie *Bacillus thuringiensis* (odtud Bt-kukuřice), který kukuřici propůjčuje odolnost proti škodlivému zavíječi kukuřičnému. Jiná takto pozměněná plodina nebyla v uplynulém období předložena do přísného a náročného schvalovacího procesu a současně i schválena. V roce 2010 byly poprvé také vysázeny GM brambory s určeným použitím mimo potravinářství, konkrétně odrůda Amflora, která se vyznačovala změněným složením škrobu (amylopektin na úkor amylózy). Tyto brambory byly pěstovány v kraji Vysočina celkem na 150 ha. V následujících letech již brambory Amflora na území ČR pěstovány nebyly. Množitelské plochy pro výrobu sadby GM brambor se nacházely ve Švédsku a v Německu. V roce 2012 společnost BASF celý projekt ukončila.

V polovině roku 2019 byla Evropskou komisí vydána následující povolení pro GM plodiny: GM karafiát (linie FLO-40685-2), GM bavlník (GHB614, LLCotton25, MON 15985), GM kukuřice (5307), GM kukuřice (4114), GM kukuřice (Bt11, MIR162,1507,GA21), GM kukuřice (MON 87403), GM kukuřice (MON 87411), GM kukuřice (MON87751), GM kukuřice (1507, NK603), GM řepka olejná (Ms8, Rf3 a Ms8, Rf3). Tato povolení jsou platná po dobu 10 let.

V celosvětovém měřítku jsou GM plodiny významnou složkou zemědělské výroby, podíl ploch v EU v rámci světa je však zanedbatelný a stále klesá. Nejinak je tomu i v České republice, kde se GM plodiny přestaly úplně pěstovat, počínaje rokem 2017. Za hlavní důvody poklesu zájmu o pěstování geneticky modifikovaných plodin považují pěstitelé, kteří se zabývají současně živočišnou výrobou, především problematický odbyt mléka, kdy řada mlékáren požaduje, aby dojnice nebyly krmeny geneticky modifikovanými plodinami. Mezi další důvody uváděnými pěstiteli se řadí administrativní zátěž, dodržování koexistenčních pravidel v praxi a problematický odbyt geneticky modifikované kukuřice. V neposlední řadě z ekonomického pohledu pěstitelé poukazují také na vyšší náklady na vstupech produkce (dražší osivo). Stále přetrvávají obavy a neochota odběratelů odkoupit produkty GM plodin, případně i zvířat, která takovými plodinami byla krmena. V současné době se také zvyšuje poptávka po produktech pocházejících z ekologického zemědělství.

Čeští pěstitelé spatřují výhody zejména v její užitné jednoduchosti a spolehlivosti ochrany proti zavíječi (porosty geneticky modifikované kukuřice vykazují téměř 100% účinnost proti škůdci), ve snížených vstupech do porostů (méně chemických prostředků a mechanizačních pojezdů po poli při výskytu zavíječe kukuřičného) a v kvalitní sklizni (nepolámané, nepoléhavé rostliny). Výsledkem jsou vyšší výnosy, než při pěstování pomocí tradičních forem, sklizený materiál je kvalitnější vzhledem k nižšímu zaplísnění houbami rodu *Fusarium*. Produkce GM kukuřice je ve většině případů využívána jako krmivo pro hospodářská zvířata, z menší části také jako surovina pro výrobu bioethanolu či bioplynu. Vypěstovaná GM kukuřice není v ČR užívána pro potravinářské účely.

I přesto, že se v České republice momentálně nepěstují GM plodiny, jsou stále prováděny příhraniční kontroly u pěstitelů kukuřice.

Vývoj ploch a počtu pěstitelů geneticky modifikované kukuřice od začátku pěstování v České republice:

Rok	Plocha (ha)	Počet pěstitelů
2005	**150**	**51**
2006	**1 290**	**82**
2007	**5 000**	**126**
2008	**8 380**	**167**
2009	**6 480**	**121**
2010	**4 680**	**82**
2011	**5 090**	**64**
2012	**3 050**	**41**
2013	**2 560**	**31**
2014	**1 754**	**18**
2015	**997**	**11**
2016	**75**	**1**
2017	**0**	**0**
2018	**0**	**0**
2019	**0**	**0**

Ve srovnání s jinými regiony světa EU přistupuje ke GM plodinám s vysokou mírou obezřetnosti, s principem předběžné opatrnosti a nevyužívá tedy GM plodiny v takové míře jako např. USA, kde „nové technologie“ nachází stále větší uplatnění. V červenci 2018 vzbudil rozruch rozsudek Soudního dvora EU ze dne 25. 7. 2018 (ve věci C-528/2016) ohledně genové editace, na kterou se od této chvíle pohlíží stejně jako na genetickou modifikaci. Rozsudek tak v podstatě zastavil další vývoj GM plodin. V roce 2018 ve světě bylo oseto více než 190 mil. hektarů GM plodinami ve 26 zemích. V Evropské unii se v minulém roce pěstovala pouze Bt kukuřice (Španělsko a Portugalsko).

Proces uvádění GM plodin do životního prostředí je dlouhý, finančně a administrativně náročný. Uplatnění GM plodin na trhu EU je velmi problematické dílem vyšší nákladovosti, dílem značné nedůvěry obyvatelstva. Lze předpokládat, že zájem českých pěstitelů o pěstování GM plodin, se bude vyvíjet úměrně s mírou tolerance GMO evropskými spotřebiteli, a s tím spojeným vývojem legislativy v EU. V ČR bude nadále existovat možnost výběru mezi pěstováním GM

kukuřice a konvenčním či ekologickým pěstováním. Pěstování GM plodin je tedy svobodnou volbou každého pěstitele.

Publikace je určena především všem kontrolním orgánům v ČR a EU (je vydána i v anglické verzi), dále zemědělským subjektům, odborné a zejména laické veřejnosti. Je souhrnným a komplexním přehledem zúčastněných orgánů státní správy, úkolů a pravidel, která jsou v ČR přijata a aplikována pro úspěšné zvládnutí kontroly pěstování GM plodin. Obsahuje všechny platné náležitosti, odkazy a postupy v jednotlivých částech kontroly pěstování GM plodin, zejména pak v kapitole č. 4 Povinnosti pro pěstitele, v kapitole č. 5 Metodický pokyn SZIF a v kapitole č. 9 metodické pokyny ÚKZÚZ a VÚRV, které jsou nedílnou součástí této publikace.

2. Přehled, vztahy a kompetence orgánů státní správy ČR a EK

2.1. Přehled orgánů a složek státní správy

Státní zemědělský intervenční fond
Česká inspekce životního prostředí
Ministerstvo zemědělství
Ministerstvo životního prostředí
Státní zemědělská a potravinářská inspekce
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. - Národní referenční laboratoř pro identifikaci GMO a DNA fingerprinting

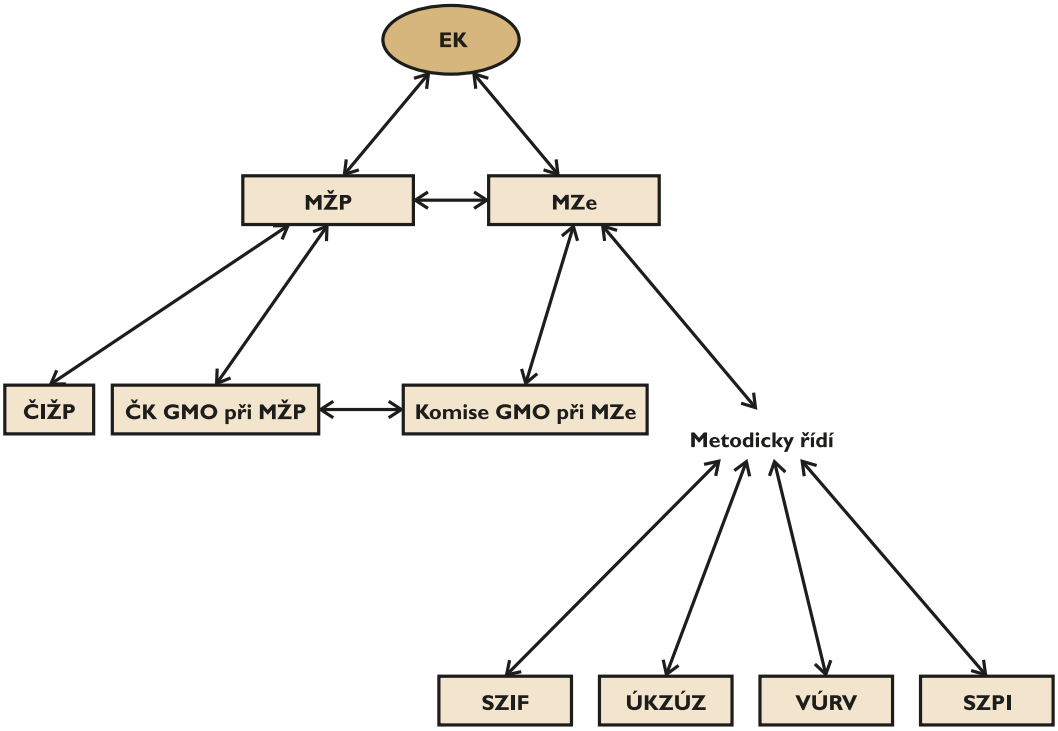
Součástí ÚKZÚZ jsou některé útvary, které do 31. 12. 2013 patřily pod SRS. Zodpovídají svým dílem za kontrolu pravidel pěstování - koexistenci. Provádí kontroly týkající se odolnosti Bt kukuřice vůči populacím zavíječe kukuřičného *(Ostrinia nubilalis)* a posouzení dopadu na pěstování a na životní prostředí. Terénní inspektoři oblastních odborů Sekce zemědělské inspekce v rámci ÚKZÚZ zodpovídají za kontroly prováděné na místě pěstování transgenních plodin. V publikaci je organizace SRS uváděna již pod novým názvem ÚKZÚZ.

Dále v souvislosti s legislativní změnou v rámci novely zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů, a dalších souvisejících zákonů, došlo od 1. 1. 2015 v oblasti kontroly pravidel pěstování geneticky modifikovaných plodin v České republice ke změně úřadu provádějícího předběžnou kontrolu nahlášených dat u pěstitele v terénu, z místně příslušných Krajských agentur pro zemědělství a venkov Ministerstva zemědělství na Státní zemědělský intervenční fond.

Poslední změnou v novele zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů (publikovanou ve Sbírce zákonů pod č. 208/2019 Sb.), došlo s účinností od 1. 9. 2019 k zakotvení možnosti udělení sankce za nesplnění daného rozsahu obsetí geneticky modifikované plodiny stejnou konvenční plodinou.

Z důvodu využití odborných kapacit Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského a také vzhledem k tomu, že kontrola pravidel pěstování není spojena s žádnou dotací a je pouze odbornou záležitostí, činnosti spojené s obsluhou databáze LPIS a fyzická předběžná kontrola nahlášených dat u pěstitele v terénu jsou převedeny z ministerstva na SZIF, avšak další odborné úkony kontroly provádí ÚKZÚZ. Z tohoto důvodu byla také provedena změna zákona o ÚKZÚZ.

2.2. Vztahy orgánů státní správy ČR a EK



2.3. Kompetence orgánů státní správy

Česká republika velmi úzce spolupracuje s EFSA. Současně, sama nepřejímá informace ze zahraničí bez toho, aby je nepodrobila svému vlastnímu přezkumu. Má k tomu zřízeny poradní a výkonné orgány a útvary, které jsou složeny z erudovaných odborníků pro danou oblast, a práce těchto orgánů a útvarů je podřízena pouze vědeckému základu práce v kombinaci s etickými normami.

Základním kompetentním orgánem pro GMO v České republice je MŽP, odborné posouzení provádí ČK GMO. Oblast produkčního pěstování GM plodin patří do kompetence MZe a jeho Komise GMO při MZe. Současně v propojení těchto úřadů pracují SZPI, ČIŽP, ÚKZÚZ, SZIF, VÚRV. Dohromady tak tvoří síť, která všechny informace o GMO zpracovává. GMO problematika je tak obšírně a dlouze hodnocena jak z pohledu legislativního, tak z oblasti rizik, zkoušení, uvádění do oběhu apod.

Ve vztahu k rozhodování v rámci EU byla schválena na vládní úrovni dne 9. ledna 2008 a aktualizována na vládní úrovni dne 22. února 2010 Rámcová pozice ČR ke geneticky modifikovaným organismům.

Schválením pozice ČR podporuje aplikace moderních biotechnologií pro účely výzkumu a průmyslové a zemědělské výroby za předpokladu zajištění vysokého stupně ochrany zdraví a životního prostředí na základě spolupráce se širokým okruhem odborníků a příslušnými správními úřady.

ČR při posuzování vědeckého hodnocení a při formulaci závěrů hodnocení nakládání s GMO vychází ze tří základních principů:
- přiměřeně uplatňuje princip předběžné opatrnosti,
- postupuje podle principu případ od případu,
- rozhodnutí o nakládání s GMO nepředstavuje narušování mezinárodního obchodu spojeného s možnými sankcemi vůči členským zemím EU.

3. Zákonný rámec

Problematika geneticky modifikovaných organismů a jejich produktů je součástí společné politiky EU, která má co se týče GMO jeden z nejpřísnějších právních rámců na světě. Česká republika bezpodmínečně vychází z platných právních předpisů EU.

Vlastní schvalovací proces nového GMO v EU je velmi důkladný: Po vlastním vývoji GMO a zpracování žádosti o jeho uvedení na trh je žádost administrativně posouzena příslušným úřadem členského státu, ve kterém byla žádost podána. Dále ji posuzuje odborný orgán EU, kterým je EFSA. Žádost je následně zveřejněna a připomínky k ní mohou vznášet členské státy a veřejnost. EK připraví návrh rozhodnutí, následuje hlasování o návrhu na úrovni členských států. Jestliže návrh nezíská kvalifikovanou většinu pro ani proti návrhu, je žádost postoupena tzv. Odvolacímu výboru (orgán EK). Pokud není opět dosažena kvalifikovaná většina pro ani proti návrhu o uvedení nového GMO na trh, následně rozhodne o předloženém návrhu EK.

Dne 11. března 2015 byla přijata směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 412/2015, která umožňuje členským státům EU omezit nebo zcela zakázat pěstování GM plodin na jejich území. O povolení k pěstování GM plodin v Evropské unii rozhodují všechny členské státy společně stejným postupem jako doposud, na základě vědeckého posouzení rizik EFSA. Povolení pro uvedení konkrétní GM plodiny na trh je v případě kladného rozhodnutí vydáno na úrovni EU. Přijatá změna původní směrnice č. 2001/18/ES dává členským státům na jejich území právní oporu a možnost následně omezit nebo zakázat pěstování těchto plodin, schválených pro pěstování v EU. V opačném případě žádný členský stát nemůže povolit pěstování GM plodin samostatně.

3.1. Stěžejní právní předpisy ČR

Zákon č. 371/2016 Sb., kterým se mění zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů:
- účinnost od 1. ledna 2017,
- implementace směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/412,
- hlavní kompetence má MŽP,
- MZe: navrhuje MŽP postupy hodnocení rizik spojených s nakládáním s GMO a genetickými produkty z hlediska zemědělství, vyjadřuje se z hlediska své působnosti k žádostem o uvedení GMO do oběhu (na trh) a do životního prostředí (polní pokusy s GM plodinami) a k oznámením o uzavřeném nakládání (laboratorní a skleníkové pokusy, uzavřená průmyslová výroba apod.).

Zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů (GMO řešeny v novelách publikovaných pod č. 441/2005 Sb. a č. 291/2009 Sb., č. 179/2014 a č. 208/2019 Sb.) - § 2i, §3a odst. 1, § 4a, § 5, § 5a.

Vyhláška č. 209/2004 Sb., o bližších podmínkách nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů - prováděcí vyhláška k zákonu č. 78/2004 Sb.

Vyhláška č. 392/2016 Sb., kterou se mění vyhláška č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy, ve znění vyhlášky č. 58/2010 Sb.:
- účinnost od 1. ledna 2017,
- prováděcí vyhláška k zákonu č. 252/1997 Sb., o zemědělství - k § 2i.

„Dohoda o vymezení kompetencí a způsobu spolupráce“ (mezi MZe a SZIF).

3.2. Stěžejní právní předpisy EU

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/ES o záměrném uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a o zrušení směrnice Rady 90/220/EHS, v platném znění.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/412, kterou se mění směrnice č. 2001/18/ES, pokud jde o možnost členských států omezit či zakázat pěstování geneticky modifikovaných organismů (GMO) na svém území.

Nařízení č. 1829/2003, o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech, v platném znění
- schvalování GM potravin a krmiv, ale i plodin pro účely pěstování,
- označování GM potravin a krmiv, hlavní kompetence má MZe (Odbor bezpečnosti potravin).

Nařízení č. 1830/2003, o sledovatelnosti a označování geneticky modifikovaných organismů a sledovatelnosti potravin a krmiv vyrobených z geneticky modifikovaných organismů a o změně směrnice č. 2001/18/ES, v platném znění
- systém označování a sledovatelnosti GMO, hlavní kompetence má MZe (Odbor bezpečnosti potravin).

Nařízení č. 1946/2003, o přeshraničních pohybech geneticky modifikovaných organismů
- problematika GMO ve vztahu k třetím zemím (dovozy a vývozy mimo EU).

4. Povinnosti pro pěstitele GM kukuřice v ČR

(s platností od 1. září 2019)

Pěstitelé GM kukuřice se řídí platnými právními předpisy. S účinností od 1. 1. 2014 došlo ke změně zákona č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů. Tímto se ruší duplicita hlášení o pěstování GM kukuřice na MZe a zároveň na MŽP. Zůstává tedy nově pouze ohlašovací povinnost pěstitelů na příslušná pracoviště SZIF.

V souvislosti s legislativní změnou v rámci novely zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů, a dalších souvisejících zákonů, došlo od 1. 1. 2015 v oblasti kontroly pravidel pěstování geneticky modifikovaných plodin v České republice ke změně úřadu provádějícího předběžnou kontrolu nahlášených dat u pěstitele v terénu, z místně příslušných KAZV MZe na SZIF.

Z důvodu využití odborných kapacit ÚKZÚZ a také vzhledem k tomu, že kontrola pravidel pěstování není spojena s žádnou dotací a je pouze odbornou záležitostí, činnosti spojené s obsluhou databáze LPIS a fyzická předběžná kontrola nahlášených dat u pěstitele v terénu jsou převedeny z MZe na SZIF, avšak další odborné úkony kontroly bude provádět ÚKZÚZ. Z tohoto důvodu byla také provedena změna zákona o ÚKZÚZ.

Dne 11. března 2015 byla přijata směrnice Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 412/2015. Jedná se o změnu původní směrnice č. 2001/18/ES, která dává členským státům na jejich území právní oporu a možnost následně omezit nebo zakázat pěstování těchto plodin, schválených pro pěstování v EU. V opačném případě žádný členský stát nemůže povolit pěstování GM plodin samostatně.

V souvislosti s přijetím výše uvedené směrnice mají členské státy následující možnosti a povinnosti.

Členské státy měly možnost od 2. dubna do 3. října 2015 požádat o úpravu zeměpisné působnosti podané žádosti nebo povolení, které bylo uděleno do 2. dubna 2015. Této možnosti se Česká republika rozhodla nevyužít (koordinace stanovisek ministra životního prostředí a ministra zemědělství).

Členské státy, které pěstují GM plodiny, mají od 3. dubna 2017 přijmout vhodná opatření v pohraničních oblastech svého území s cílem zabránit případné přeshraniční kontaminaci na území sousedních členských států, kde je pěstování těchto geneticky modifikovaných plodin zakázáno. Tato opatření se mají sdělit Evropské komisi.

Česká republika pěstuje GM kukuřici, jedinou ke komerčním účelům schválenou plodinu v Evropské unii, od povolení v roce 2005. Pro paralelní pěstování této formy kukuřice s formou konvenční má přijata pravidla tzv. koexistence. Současná pravidla koexistence v České republice s ohledem na přijatou směrnici musela projít odbornou diskusí a přezkumem. K tomu účelu byla na Ministerstvu zemědělství sestavena ad hoc odborná pracovní skupina z řad vědecké obce doplněná o zástupce pěstitelské praxe.

Odborná pracovní skupina navrhla minimální vzdálenost místa pěstování geneticky modifikované odrůdy od státní hranice České republiky 400 m, kde nelze pěstovat danou GM plodinu. Úprava vychází ze stávajících pravidel, konkrétně z hranice 400 m, kdy není nutné ohlašování pěstování sousednímu pěstiteli. Tento závěr také skupina formulovala pro Ministerstvo zemědělství, jehož odbor rostlinných komodit se s tímto závěrem ztotožnil.

Z důvodu technických tolerancí jako bezpečná rezerva i z důvodu možných úprav státních hranic v čase je v LPIS pro pěstitele vygenerováno podle státní hranice hraniční pásmo bez pěstování GM plodin o 50 m širší, tedy 450 m.

Z výše uvedených skutečností byla novelizována vyhláška č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy, ve znění vyhlášky č. 58/2010 Sb., s účinností od 1.1.2017. Za tím účelem byla přijata příslušná změna zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů, a to v rámci vládní novely zákona č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů, s účinností od 1.1.2017 - v gesci Ministerstva životního prostředí.

Poslední relevantní změna zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů, byla provedena novelizujícím zákonem č. 208/2019 Sb. Od účinnosti této novely (1. 9. 2019) je SZIF oprávněn udělovat sankce za absenci obsetí GM plodiny stejnou plodinou, která není geneticky modifikovaná.

Za jednu z klíčových povinností lze považovat ohlašovací povinnost vůči sousedním pěstitelům, která je aktuální v průběhu února. Každý, kdo se chystá v daném roce pěstovat GM kukuřici, musí svůj záměr ohlásit všem sousedním pěstitelům (bližší informace viz dále). Ohlašování může proběhnout pouze ústní formou, pokud se však pěstitel rozhodne informovat písemně, může k tomu využít předtištěný formulář MZe, který lze v elektronické podobě dohledat na internetových stránkách e-AGRI: (http://eagri.cz/public/web/mze/, sekce „Zemědělství“, položka „GM plodiny - Pěstování geneticky modifikovaných plodin“ a následně „Formuláře“).

Kompletní souhrn pravidel pro pěstitele GM kukuřice je následující - každý, kdo pěstuje (příp. hodlá pěstovat) Bt kukuřici musí:

1. Informovat nejpozději do 1. března o záměru vysetí GM kukuřice sousedního pěstitele (neplatí v případě, že od pozemku, kde bude pěstována GM kukuřice, leží do vzdálenosti 140 m pouze vlastní pozemky a zároveň se do 400 m nenachází žádný pozemek obhospodařovaný v režimu ekologického zemědělství). Ohlášení nemusí být písemné, ale v případě potřeby lze využít formulář *Ohlášení GM plodiny PŘED zahájením pěstování*.
2. Dodržet minimální vzdálenost 70 m mezi porostem GM kukuřice a jiným pozemkem s nemodifikovanou kukuřicí (popř. obsít klasickou kukuřicí, která se při sklizni považuje za GMO, podle schématu, kdy 1 řádek klasické kukuřice o min. šíři 70 cm kolem GM kukuřice nahrazuje 2 m minimální odstupné vzdálenosti - např. při těsně přiléhajících pozemcích s kukuřicí je nutné GM hybridy obsít min. 35 řadami konvenční odrůdou kukuřice).
3. Dodržet minimální vzdálenost 200 m mezi porostem GM kukuřice a jiným pozemkem s kukuřicí, která je pěstována v režimu ekologického zemědělství.
4. Dodržet minimální vzdálenost 400 m pěstování GM kukuřice od státní hranice České republiky. Pozn. Z důvodu technických tolerancí jako bezpečná rezerva i z důvodu možných úprav státních hranic v čase je v LPIS pro pěstitele vygenerováno podle státní hranice hraniční pásmo bez pěstování GM plodin o 50 m širší, tedy 450 m.
5. Informovat o vysetí GM kukuřice sousedního pěstitele do 15 dnů od zasetí (neplatí v případě, že od pozemku, kde je pěstována GM kukuřice, leží do vzdálenosti 140 m pouze vlastní pozemky a zároveň se do 400 m nenachází žádný pozemek obhospodařovaný v režimu ekologického zemědělství). Ohlášení nemusí být písemné, ale v případě potřeby lze využít formulář *Ohlášení GM plodiny PO zahájení pěstování*.
6. Písemně informovat o vysetí GM kukuřice příslušné pracoviště SZIF nejpozději do 30 dnů od zasetí (pro tyto účely vydává formulář SZIF).
7. Po sklizni označit produkt GM kukuřice jako „geneticky modifikovaný organismus“ včetně příslušného identifikačního kódu - u hybridů kukuřice typu MON810 je tímto kódem MON-ØØ81Ø-6 (tyto informace předat písemně odběrateli GM kukuřice). Stejným způsobem označit konvenční kukuřici, která tvořila obsev.
8. Živočišné produkty zvířat krmených GM kukuřicí není třeba označovat.
9. Evidovat údaje o nakládání s GM kukuřicí a uchovat je v podniku po dobu min. 5 let. Konkrétní požadované údaje jsou uvedeny ve vyhlášce č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy (resp. v její novele č. 58/2010 Sb.). Další informace o pěstování GM plodin v ČR lze dohledat na výše uvedených internetových stránkách portálu e-AGRI.

5. Systém kontroly pěstování GM plodin

5.1 Kontrola DPB, které sousedí s DPB s GM kukuřicí (SZIF)

Pracovníci pracovišť SZIF provedou předběžnou kontrolu dodržování stanovených podmínek tj. tzv. pravidel koexistence - viz následující Metodický pokyn pro provádění kontrol pěstování GM kukuřice určený pro SZIF:

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

Metodický pokyn pro provádění kontrol pěstování geneticky modifikované kukuřice určený pro pracoviště SZIF
(aktualizace k 1.1.2019)

Východiska a cíle kontroly
Kontroly pěstování geneticky modifikované kukuřice (dále jen „GM kukuřice“) se provádějí na základě § 4a odst. 10 zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „*zákon*“) a dále pak podle prováděcí vyhlášky č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy, ve znění vyhlášky č. 58/2010 Sb. (dále jen „*vyhláška*“).

Podle uvedených právních předpisů jsou pěstitelé GM kukuřice mj. povinni:

a) Dodržovat stanovenou minimální odstupnou vzdálenost - 70 m pěstování této GM kukuřice od místa pěstování odrůdy kukuřice, která se nachází na jiném DPB a není geneticky modifikována (§ 2i, odst. 2, písm. a) zákona).
b) Dodržovat stanovenou minimální odstupnou vzdálenost - 200 m pěstování této GM kukuřice, od místa pěstování odrůdy kukuřice v režimu ekologického zemědělství (§ 2i, odst. 2, písm. b) zákona).

Povinnost dodržovat stanovenou minimální odstupnou vzdálenost pěstování GM kukuřice může pěstitel splnit **obsetím** této GM kukuřice jinou kukuřicí, která není

geneticky modifikována, v rámci stejného DPB a v rozsahu stanoveném vyhláškou; kukuřice z obsevu se při sklizni považuje za geneticky modifikovanou (§ 2i, odst. 3 zákona).

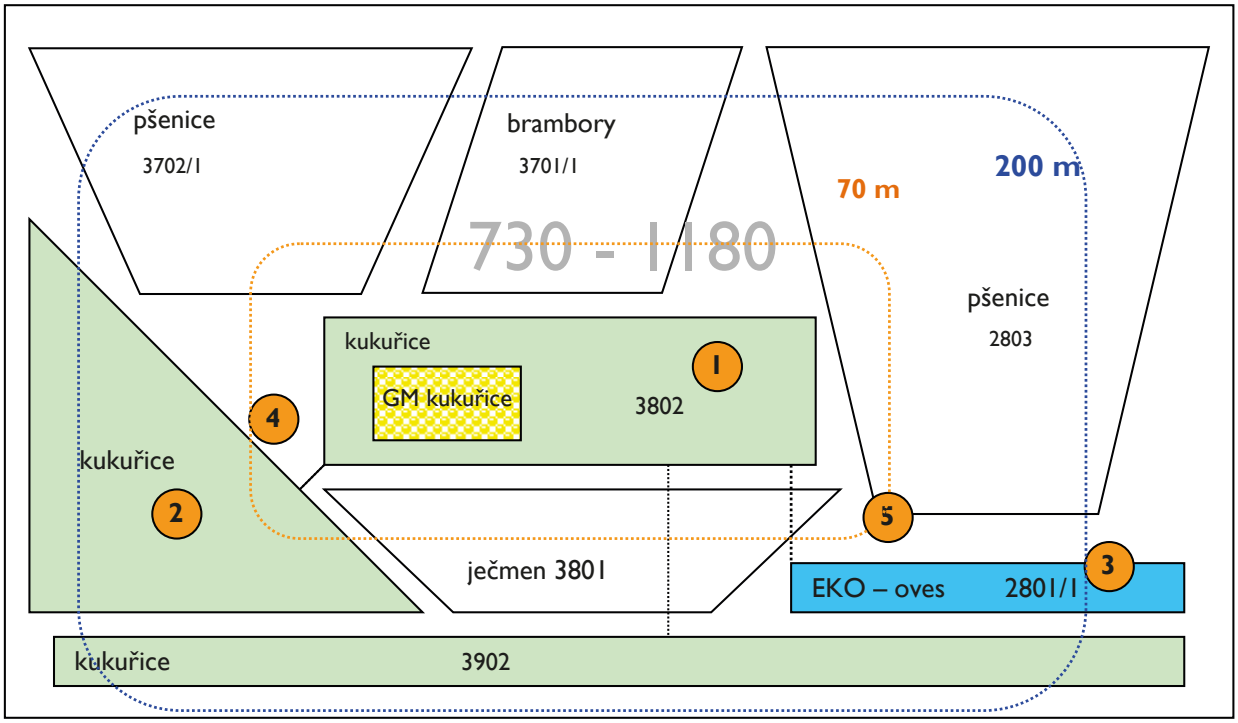
c) Dodržovat stanovenou minimální vzdálenost 400 m pěstování GM kukuřice od státní hranice České republiky (§ 2i, odst. 2, písm. f) zákona). (Pozn. Ustanovení písmene f) je vloženo novelou zákona).

Z důvodu technických tolerancí jako bezpečná rezerva i z důvodu možných úprav státních hranic v čase je v LPIS pro pěstitele vygenerováno podle státní hranice hraniční pásmo bez pěstování GM plodin o 50 m širší, tedy 450 m.

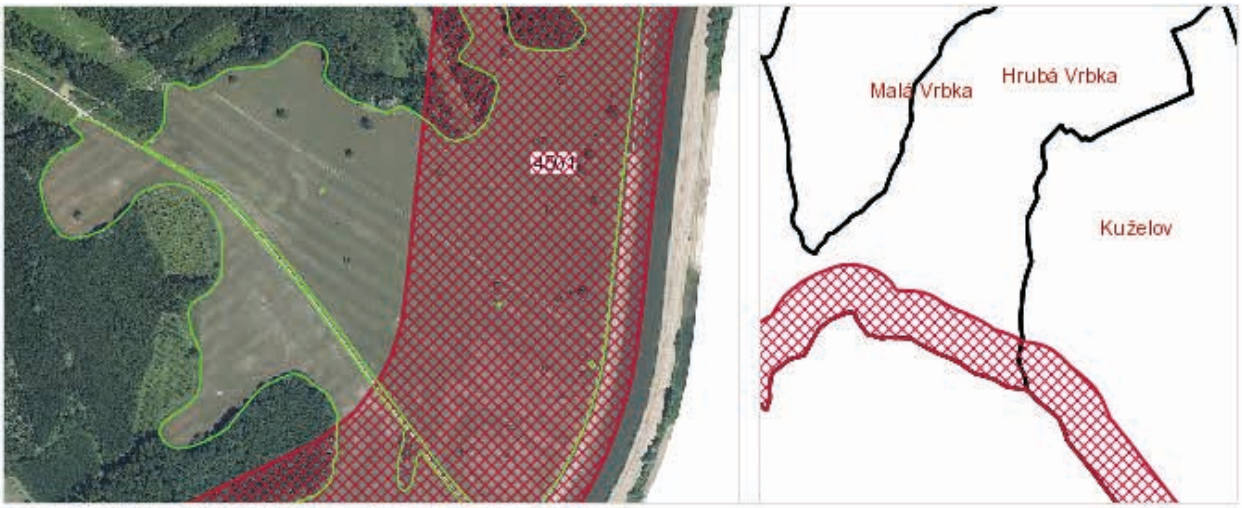
Cílem kontrol je ověřit, zda jsou dodržovány minimální odstupné vzdálenosti porostu GM kukuřice od jiného porostu s kukuřicí, která není geneticky modifikována, a která je zároveň obhospodařována jiným uživatelem. Z tohoto pohledu je nutné identifikovat pozemky, kde DPB s GM kukuřicí sousedí s jiným DPB osetým nemodifikovanou kukuřicí - provedou pracoviště SZIF u všech evidovaných porostů GM kukuřice.

V další fázi kontrol se pak na vybraných DPB ověřuje, zda kukuřice, která je deklarována jako obsev, je skutečně tvořena nemodifikovanou kukuřicí - odběry provádí ÚKZÚZ, analýzy a jejich intepretace VÚRV, v.v.i.

Obrázek č.1: Kontrola pěstování GM kukuřice



Obrázek č.2: Zobrazení hraničního pásma 450 m bez GM plodin v LPIS



Pozn. 1: Pokud se na kontrolovaném DPB vyskytuje kromě kukuřice (GM a ne-GM) **jiná plodina**, stěžejní pro kontrolu (identifikace okolních plodin a měření vzdáleností) je **hranice porostu kukuřice**, nikoliv celého DPB.

Pozn. 2: Pracovníci pracoviště SZIF nevstupují do porostu kukuřice.

Kontroly pěstování GM kukuřice probíhají ve třech krocích:
1) **zmapování DPB, které sousedí s DPB s GM kukuřicí (pracoviště SZIF),**
2) *odebrání vzorků z vytipovaných lokalit (ÚKZÚZ),*
3) *analýza odebraných vzorků (VÚRV, v.v.i.).*

Postup kontroly pro pracoviště SZIF (bod č. 1)
Pracoviště SZIF prověří pozemky nacházející se v okolí DPB, na kterých je evidováno pěstování GM kukuřice, a které spadají do jejich působnosti. Výstupem je protokol, který je vypracován k DPB s GM kukuřicí evidovanému v LPIS, který sousedí s DPB **jiného uživatele** a zároveň je na něm pěstována **nemodifikovaná kukuřice**. Protokol obsahuje následující informace (pro názornost lze připojit mapu vytištěnou z LPIS):
1) **identifikace kontrolovaného DPB** (evidenční číslo dle LPIS včetně čtverce), na kterém je pěstována GM kukuřice *(dle obrázku: 730-1180)*,
2) **seznam okolních DPB** (evidenční čísla LPIS), na kterých se vyskytuje kukuřice, která není geneticky modifikována (tedy není evidována v LPIS jako GMO) a zároveň tento DPB leží do vzdálenosti **70 m od vnější hranice DPB** s GM kukuřicí; popř. informace o tom, že se do 70 m nenachází žádný jiný porost s kukuřicí; v seznamu okolních DPB s kukuřicí uvést také **uživatele těchto DPB,**
3) **seznam okolních DPB** (evidenční čísla LPIS) s režimem **ekologického zemědělství**, které se nacházejí do vzdálenosti **200 m od vnější hranice DPB** s GM kukuřicí včetně určení druhu pěstované plodiny *(podle obrázku: DPB č. 280111, oves)*; popř. informace o tom, že se do 200 m žádný takový pozemek nenachází,
4) **vzdálenost** DPB s GM kukuřicí od okolních DPB uvedených v bodě č. 2 (tedy v rozmezí 0 - 70 m).
   Pozn.: Tato vzdálenost je měřena **od vnější hranice** DPB s GM kukuřicí, nikoliv od samotného porostu GM kukuřice *(podle obrázku: 45 m)*,
5) **vzdálenost** DPB s GM kukuřicí od okolních DPB uvedených v bodě č. 3 (tedy v rozmezí 0 - 200 m).
   Pozn.: Tato vzdálenost je měřena od vnější hranice DPB s GM kukuřicí, nikoliv od samotného porostu GM kukuřice *(podle obrázku: 100 m)*,
6) **informace** o tom, zda je kolem GM kukuřice v rámci dotčeného DPB deklarován pěstitelem **obsev** a v jaké šíři (podle údajů získaných od pěstitele při ohlašování).
7) **informace** o tom, zda je dodržena stanovená minimální vzdálenost 400 m pěstování GM kukuřice od státní hranice České republiky.

5.2 Analýza zaslaných protokolů o kontrole pracovišť SZIF prostřednictvím systému LPIS (ÚKZÚZ)

Příslušný zaměstnanec ÚKZÚZ provádí analýzu a kontrolu protokolů o kontrole zaslaných z pracovišť SZIF mj. prostřednictvím systému LPIS. Sleduje, zda jsou pěstiteli dodržena všechna pravidla koexistence. Z protokolů vybere lokality s pěstiteli, kde jsou indikována vybočení z pravidel. Následně na těchto lokalitách provede kontrolu terénními inspektory ÚKZÚZ, případně s MZe z hlediska metodického dozoru.

5.3 Odebrání vzorků z vytipovaných lokalit (ÚKZÚZ)

Metodický pokyn ÚKZÚZ určuje terénním inspektorům postup při odběru vzorků rostlin kukuřice z polních porostů pro stanovení přítomnosti GM kukuřice v obsevech jako součást kontroly dodržování pravidel koexistence, konkrétně povinných odstupných vzdáleností mezi porosty s geneticky modifikovanými (GM) a konvenčními (nemodifikovanými) hybridy kukuřice.

ÚKZÚZ provádí vzorkování, jenž má poskytnout materiál (vzorek) pro následné laboratorní testování na přítomnost GM kukuřice a jeho předání do zkušební laboratoře. Odebrané vzorky musí být pro kontrolovaný pozemek v maximální možné míře reprezentativní.

Výběr kontrolovaných pozemků, pověření zkušební laboratoře a sepsání závěrečného protokolu o kontrole s pěstitelem je v gesci ÚKZÚZ.

5.4 Analýza odebraných vzorků (NRL, VÚRV, v.v.i.)

NRL pro identifikaci GMO a DNA fingerprinting provádí analýzy vzorků (zkoušky) odebraných terénními inspektory ÚKZÚZ a vypracovává o těchto zkouškách příslušné závěry a zprávy.

V případě vzniku neshody ÚKZÚZ a kontrolovaného subjektu na řešení skutku na místě, je ÚKZÚZ oprávněn uložit úřední opatření a nebo mimořádné úřední opatření. Pokud není úřední opatření a nebo mimořádné úřední opatření uložené ÚKZÚZ splněno, vyčká ÚKZÚZ výsledků analýz odebraných vzorků z VÚRV a předá je spolu s ostatními podklady ve formě podnětu na SZIF, který zahájí s kontrolovaným subjektem správní řízení.

6. Systém udělování sankcí

SZIF provádí u fyzických a právnických osob kontrolu plnění povinností a podmínek při pěstování geneticky modifikovaných odrůd plodin, které jsou stanoveny na základě ustanovení § 2i zákona č. 252/1997, o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů.

Kontroly pozemků s identifikovanými problémy z hlediska pravidel pěstování prováděla na místě do 31. 12. 2013 SRS, která se s účinností od 1. 1. 2014 sloučila s ÚKZÚZ. Od uvedeného data tak byla působnost SRS převedena pod ÚKZÚZ. Ten při výkonu kontroly postupuje vůči kontrolovaným osobám podle platného znění ustanovení § 4a zákona o zemědělství a podle zákona č. 255/2012 Sb., kontrolní řád. ÚKZÚZ na základě provedené kontroly vyhotoví protokol o kontrole (odběru vzorků), proti němuž může kontrolovaná osoba podat námitky (§ 13 a § 14 kontrolního řádu). Za porušení povinností vyplývajících z kontrolního řádu může být kontrolované osobě uložena pokuta až do výše 500 000 Kč (§ 15 až 17 kontrolního řádu).

Při postupu obou kontrolních orgánů vždy dochází k posouzení případ od případu, bere se v úvahu míra pochybení, na základě čehož se udělují sankce v příslušném právním rámci. SZIF/ÚKZÚZ při posuzování jednotlivých přestupků vychází zejména z toho, zda chybující pěstitel:

a) pochybil poprvé a spolupracuje při nápravě,
b) pochybil poprvé a nespolupracuje při nápravě,
c) pochybil vícekrát (nespolupracoval při nápravě).

Dále je posuzována míra škody způsobená chybou pěstitele, tj. ekonomické vyčíslení škody a její dopad na dotčené subjekty.

Z hlediska věcného řešení lokalit s identifikovanými problémy z hlediska pravidel pěstování se postupuje následovně:

1. stupeň
Jestliže je ÚKZÚZ kontrolou na místě zjištěno porušení podmínek koexistence vyplývajících z ustanovení § 2i zákona o zemědělství a jeho prováděcí vyhlášky č. 89/2006 Sb., je preferováno nejprve **smírčí řešení** vzniklé situace. To znamená, že s porostem stejné plodiny na sousedním pozemku, která není geneticky modifikovaná, ale nachází se v menší než minimální stanovené vzdálenosti od místa pěstování geneticky modifikované plodiny, musí být naloženo na náklady pěstitele geneticky modifikované plodiny, který stanovenou minimální vzdálenost nedodržel tak, že na základě písemné dohody pěstitel geneticky modifikované plodiny poskytne poškozenému vlastníkovi nebo nájemci sousedního pozemku odpovídající finanční kompenzaci, anebo mu poskytne přiměřené naturální plnění nahrazující odpovídající množství plodiny, vzhledem k rozdílům v možnostech odbytu a využití sklizně z daného porostu. Současně však bezpodmínečně platí, že porost stejné plodiny na sousedním pozemku, která není geneticky modifikovaná, musí být zpracován pěstitelem geneticky modifikované plodiny, tak jako by se jednalo o GM plodinu.

2. stupeň
Pokud k dohodě nedojde, ÚKZÚZ nařídí vlastníkovi nebo nájemci sousedního pozemku dotčený porost odstranit, přičemž se postupuje podle § 75 nebo § 76 zákona č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči, ve znění pozdějších předpisů. Uvedeným úředním postupem zároveň není dotčeno právo vlastníka nebo nájemce sousedního pozemku požadovat od pěstitele geneticky modifikované plodiny náhradu vzniklé škody soukromoprávní cestou.

3. stupeň
Pokud nedojde k nápravě ani po opatření ÚKZÚZ, jsou shromážděné skutečnosti, včetně výsledků analýz (zkoušek) z VÚRV předány SZIF, kterému je na základě platného znění § 5b odst. 5 písm. b) zákonem o zemědělství svěřena působnost projednat přestupek podle platného znění § 5 odst. 1 písm. d) nebo § 5a odst. 1 písm. e) téhož zákona.

Jakmile ÚKZÚZ předloží příslušné podklady na SZIF, je SZIF oprávněn zahájit s pěstitelem geneticky modifikované plodiny správní řízení o uložení pokuty za přestupek nebo správní delikt podle § 5, § 5a a § 5b zákona o zemědělství, ve znění pozdějších předpisů. Protože prakticky všichni pěstitelé geneticky modifikované plodiny jsou podnikatelé, bude mít zahájené řízení charakter řízení o správním deliktu, které se procesně řídí zákonem č. 500/2004 Sb., správní řád. Za spáchaný správní delikt může SZIF uložit pokutu až do výše 250 000 Kč. Při určení výše pokuty se přihlíží k závažnosti správního deliktu, zejména ke způsobu jeho spáchání, době trvání, k jeho následkům a okolnostem, za nichž byl správní delikt spáchán. Dotčená osoba se přitom své odpovědnosti za správní delikt může zprostit, jestliže prokáže, že vynaložila veškeré úsilí, které bylo možno požadovat, aby nesplnění nebo porušení právní povinnosti zabránila.

7. Přehled hlavních úkolů v procesu kontroly pěstování GM plodin

Měsíc	LEDEN – ÚNOR		
Název úkolu	Každoroční zaslání aktualit v pravidlech koexistence na SZIF	Aktualizace GM plodin povolených pro pěstování v EU, informace o aktuálních pravidlech pěstování GM plodin	Aktualizace celosvětové výměry ploch GM plodin za předcházející rok
Způsob provedení úkolu	Napsání dopisu ředitele Odboru rostlinných komodit MZe na ředitele Sekce řízení regionálních odborů, na vědomí řediteli Odboru LPIS a GIS, ohledně aktualit v pravidlech koexistence a se žádostí o případnou aplikaci do vnitřních směrnic SZIF a distribuci platných pravidel na příslušná pracoviště SZIF a pěstitele GM plodin (Průvodní dopis na pracoviště SZIF, vrcholová metodika MZe - Organizace a kontrola pěstování GM plodin v ČR, Povinnosti pro pěstitele)	Vydání stručného článku v médiu zaručujícím celostátní přístup (informace o aktuálních pravidlech pěstování GM plodin), na základě schválení a koordinace s Odborem komunikace	Aktualizace celosvětové výměry ploch GM plodin za předcházející rok dle mezinárodních zdrojů: např. www.transgen.cz, www.isaaa.org apod.
Provede organizace, útvar	MZe, odbor rostlinných komodit	MZe, odbor rostlinných komodit	MZe, odbor rostlinných komodit
Termín	v průběhu 2. dekády měsíce ledna	V průběhu měsíce února	V průběhu měsíce února

Měsíc	BŘEZEN
Název úkolu	Aktualizace údajů o pěstování GM plodin
Způsob provedení úkolu	Aktualizace informací pro média: Zelená zpráva, Zemědělství, atd.
Provede organizace, útvar	MZe, Odbor rostlinných komodit
Termín	V průběhu měsíce března

Měsíc	DUBEN – KVĚTEN
Název úkolu	Fyzická předběžná kontrola nahlášených dat u pěstitele v terénu
Způsob provedení úkolu	Pěstitel geneticky modifikované plodiny nahlašuje informace o pěstování na příslušné pracoviště SZIF, který následně vloží data do databáze LPIS a provede fyzickou předběžnou kontrolu nahlášených dat u pěstitele v terénu. Následně vyhotovené protokoly s poznatky z terénu SZIF zašle na ÚKZÚZ k sumarizaci informací, závěrečné kontrole dat a k vyhodnocení. MZe provádí metodický dohled a poskytuje konzultace ÚKZÚZ ve výběru daných lokalit a pěstitelů, kteří nesplnili pravidla koexistence. SZIF poskytne údaje z předběžné kontroly MZe podle aktuálního požadavku
Provede organizace, útvar	SZIF
Termín	V průběhu měsíce dubna až května v návaznosti na termín zasetí a ohlášení. Časový posun je možný s ohledem na klimatické podmínky roku

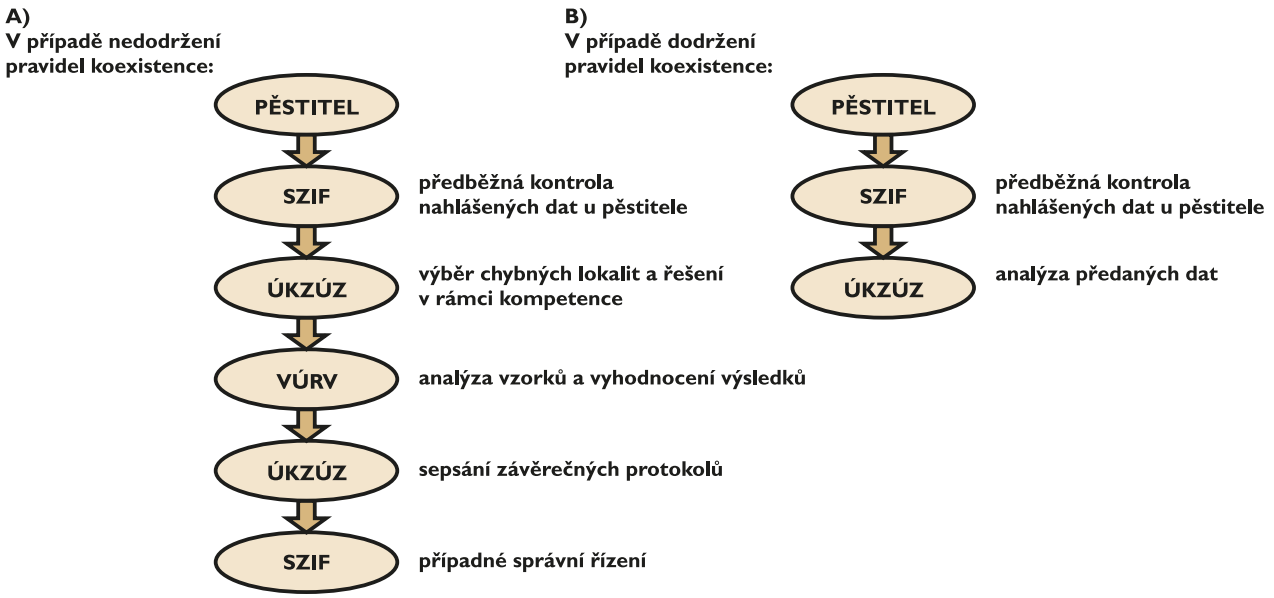
Měsíc	ČERVEN	
Název úkolu	Metodický dohled a konzultace ÚKZÚZ s MZe nad kontrolou dodržování pravidel koexistence na základě protokolů z předběžné kontroly pracovišť SZIF, které obdržel ÚKZÚZ od SZIF	Statistika pěstování GM plodin
Způsob provedení úkolu	Pracovník ÚKZÚZ, mající problematiku GMO na starosti vybere, na základě informací z předběžné kontroly údajů od SZIF, lokality s indikovanými vybočeními z pravidel a vyžádá si metodickou konzultaci s MZe	MZe zpracovává statistiku pěstování GM plodin za příslušný rok (celkové a průměrné plochy podle samosprávních jednotek, celé ČR a podle pěstitelů, případně další ukazatele) na základě předaných údajů o pěstování GM plodin za daný rok ze SZIF
Provede organizace, útvar	ÚKZÚZ a MZe (Odbor rostlinných komodit)	SZIF a MZe (Odbor rostlinných komodit)
Termín	V průběhu měsíce června	V průběhu měsíce června

Měsíc	ČERVENEC – SRPEN	
Název úkolu	Kontrola vybraných lokalit a odběr vzorků	Zveřejnění lokalit pěstování GM plodin
Způsob provedení úkolu	ÚKZÚZ provede terénní kontrolu pravidel se současným odběrem vzorků, které dopraví k analýze do zkušební laboratoře.	Sestavení tabulky lokalit pěstování GM plodin, na základě zaslaných údajů ze SZIF, a odeslání posléze z MZe na MŽP pro následné zveřejnění na webových stránkách MŽP
Provede organizace, útvar	ÚKZÚZ a VÚRV, v.v.i.	MZe a SZIF
Termín	V průběhu měsíce července	V průběhu měsíce července

Měsíc	SRPEN – ZÁŘÍ
Název úkolu	Tisková zpráva MZe
Způsob provedení úkolu	Vydání tiskové zprávy MZe o pěstování GM plodin v ČR za příslušný rok. Nutno uvést celkovou plochu GM plodin, které se v daný rok pěstovaly, počet pěstitelů, důvody poklesu, příp. nárůstu (lze zjistit přes pracoviště SZIF nebo oslovit přímo pěstitele)
Provede organizace, útvar	MZe, Odbor rostlinných komodit
Termín	V průběhu měsíce srpna

Měsíc	ŘÍJEN – PROSINEC	
Název úkolu	Ukončení kontrol na vybraných lokalitách GM kukuřice	Řešení podnětů z ÚKZÚZ s problematickými pěstiteli GM plodin
Způsob provedení úkolu	Ukončení kontrol s pěstiteli GM kukuřice (časově podle dodání analýz z laboratoře VÚRV, v.v.i), sepsání závěrečných protokolů a jejich podepsání u pěstitele. Předání věci na SZIF v případě nevyřešení v rámci kompetence ÚKZÚZ	Správní řízení
Provede organizace, útvar	ÚKZÚZ	SZIF
Termín	V průběhu měsíců listopad - prosinec	Návazně na dokončený proces na ÚKZÚZ

Postup kontroly dodržování pravidel koexistence



Pěstitel geneticky modifikované plodiny nahlašuje informace o pěstování na příslušné pracoviště SZIF, které provede fyzickou předběžnou kontrolu nahlášených dat u pěstitele v terénu a vloží získaná data do databáze LPIS. Následně vyhotovené protokoly s poznatky z terénu SZIF zašle na ÚKZÚZ k sumarizaci informací, závěrečné kontrole dat a k vyhodnocení. MZe provádí metodický dohled a poskytuje konzultace ÚKZÚZ ve výběru daných lokalit, kde je indikováno vybočení z pravidel koexistence. Poté ÚKZÚZ provede fyzickou kontrolu těchto lokalit, zjistí a řeší stav, eventuelně odebere vzorky a předá je k rozborům pro následnou analýzu a vyhodnocení výsledků zkoušek, kterou provádí Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.. ÚKZÚZ ukončí kontroly s pěstiteli GM kukuřice (časově podle dodání analýz z laboratoře VÚRV, v.v.i), vyhotoví závěrečné protokoly a předá je k podepsání pěstitelům. SZIF řeší podněty z ÚKZÚZ s problematickými pěstiteli GM plodin a má na starosti správní řízení. Dále ÚKZÚZ provádí rozbory na účinnost pěstované geneticky modifikované plodiny (povolena je pouze kukuřice) proti zavíječi kukuřičnému (neprovádí se proti němu žádný postřik).

8. Kontaktní místa

Ministerstvo zemědělství
Těšnov 65/17, 110 00 Praha 1
odbor rozvoje a projektového řízení IT
oddělení CPR (pro SZIF)
odbor zemědělských komodit (pro ostatní)
www.eagri.cz

Státní zemědělský intervenční fond
Ve Smečkách 33, 110 00 Praha 1
odbor LPIS a externích registrů IACS
www.szif.cz

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
Zemědělská 1a, 656 06 Brno
Oddělení metod integrované ochrany rostlin
www.ukzuz.cz

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Národní referenční laboratoř pro identifikaci GMO
a DNA fingerprinting
Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6 - Ruzyně
www.vurv.cz

9. Přílohy

Formulář ohlášení GM plodiny PŘED zahájením pěstování.

Formulář ohlášení GM plodiny PO zahájení pěstování.

Protokol o provedené předběžné kontrole pěstování geneticky modifikované odrůdy plodiny.

Metodický postup ÚKZÚZ: „Odběr vzorků pro účely stanovení geneticky modifikovaných rostlin v porostech kukuřice jako součást kontrol dodržování pravidel koexistence při pěstování geneticky modifikovaných odrůd kukuřice.“

Metodický postup VÚRV: „Detekce GMO v porostech kukuřice. Stanovení přítomnosti MON810“.

Formulář- Ohlášení GM plodiny PŘED zahájením pěstování

1. Údaje o pěstiteli

FO* ☐ → Jméno a příjmení nebo obchodní firma pěstitele (FO) → Adresa trvalého pobytu FO / Adresa sídla FO

PO* ☐ → Název (PO) → Adresa sídla u PO

2. Údaje o záměru pěstování geneticky modifikované (GM) plodiny

poř.č. pozemku	název plodiny	JIK GMO**	čtverec	kód půdního bloku popř. dílu půdního bloku							předpokládaná výměra	datum vysetí/sázení (den, měsíc, rok)			Provedete obsev?*** NE	ANO	počet řad
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						
								/			,						

Datum vypracování oznámení (den, měsíc, rok)

Podpis, příp. i razítko oznamovatele

* označte křížkem; FO = fyzická osoba, PO = právnická osoba
** JIK GMO = jednoznačný identifikační kód geneticky modifikovaného organismu (např. u kukuřice typu MON810 … MONØØ81Ø-6; u GM brambor Amflora … BPS-25271-9)
*** označte křížkem; NE - v případě, že neplánujete provést obsev GM plodiny plodinou nemodifikovanou, ANO – v případě, že plánujete provést obsev GM plodiny plodinou nemodifikovanou

Formulář – Ohlášení GM plodiny PO zahájení pěstování

1. Údaje o pěstiteli

Strana ☐☐ / ☐☐
(Strana / celkový počet stran)

Identifikační číslo (IČ)
☐☐☐☐☐☐☐☐

Registrační číslo uživatele podle evidence využití půdy podle uživatelských vztahů
☐☐☐☐☐☐

FO* ☐ → Jméno a příjmení nebo obchodní firma pěstitele (FO)

PO* ☐ → Název (PO)

→ Adresa trvalého pobytu FO

→ Adresa sídla FO

→ Adresa sídla u PO

2. Údaje o pěstování geneticky modifikované odrůdy (dále jen GM plodiny)

poř.č. pozemku	název plodiny	JIK GMO**	čtverec	kód dílu půdního bloku	výměra GM plodiny v ha (na 2 des.m.)	datum vysetí plodiny (den, měsíc, rok)	Provedli jste obsev GM plodiny?*** NE	ANO	počet řad
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				
				/	,				

Jsou k tomuto oznámení přiloženy mapy se zakreslením pěstování GM plodiny? NE ☐ ANO ☐ → Počet kusů:

Razítko místa příjmu oznámení****

Datum příjmu (den, měsíc, rok)****

Přijal (příjmení hůlkovým písmem, podpis)****

Datum vypracování oznámení (den, měsíc, rok)

Podpis oznamovatele

* označte křížkem; FO = fyzická osoba, PO = právnická osoba
** JIK GMO = jednoznačný identifikační kód geneticky modifikovaného organismu (např. u kukuřice typu MON810 … MONØØ81Ø-6; u GM brambor Amflora … BPS-25271-9)
*** označte křížkem; NE - v případě, že jste neprovedli obsev GM plodiny plodinou nemodifikovanou, ANO – v případě, že jste provedli obsev GM plodiny plodinou nemodifikovanou (uveďte rozsah)
**** oznamovatel nevyplňuje

SZIF
Státní zemědělský intervenční fond

Ve Smečkách 33, 110 00 Praha 1
tel.: +420 222 871 620
fax: +420 222 871 765
e-mail: info@szif.cz; www.szif.cz

Státní zemědělský intervenční fond
Oddělení příjmu žádostí a LPIS
Regionální odbor XY
Č.j.:
Sp.zn.:

PROTOKOL
o provedené předběžné kontrole pěstování geneticky modifikované odrůdy plodiny

Dle metodického pokynu .....ze dne ..... pro provádění kontrol pěstování geneticky modifikované plodiny byla dne: ..... provedena kontrola s následujícími výsledky:

Kontrolu provedl: .....

osobní číslo zaměstnance: .....

Kontrola byla provedena v době: od …… do …..

Kontrolovaná osoba:

Pěstitel GM odrůdy plodiny:
Sídlo:
IČO:
RČ:

GM plodina deklarovaná ve formuláři „Ohlášení GM plodiny PO zahájení pěstování“:
.....

Předmět kontroly:

Kontrolovány byly následující půdní díly půdních bloků DPB, vedené v evidenci půdy u kontrolované osoby jako pěstitele GM odrůdy plodiny a uživatele předmětných DPB.

1. Byla provedena fyzická kontrola na následujících DPB:

čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.
čtverec:..... DBP:..... celková výměra:..... ha výměra GM plodiny:..... ha.

SZIF
Státní zemědělský intervenční fond

Ve Smečkách 33, 110 00 Praha 1
tel.: +420 222 871 620
fax: +420 222 871 765
e-mail: info@szif.cz; www.szif.cz

Umístění této plochy souhlasí/nesouhlasí *(nehodící se škrtněte)* se zákresem v LPIS. (viz.přiložená mapka)

Kontrolou bylo zjištěno:

2. Ve vzdálenosti 400 m od vnější hranice DPB od státní hranice České republiky se vyskytují/nevyskytují *(nehodící se škrtněte)* **DPB, na nichž je pěstována GM plodina.** *(kolonky DPB GMO a DPB vyplňujte ve formátu čtverec kód DPB)*

DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… UŽIVATEL:……

3. Ve vzdálenosti 70m od vnější hranice DPB se vyskytují/nevyskytují *(nehodící se škrtněte)* **DPB na nichž je pěstována stejná plodina jako deklarovaná GM plodina, která však <u>není</u> geneticky modifikována.** *(kolonky DPB GMO a DPB vyplňujte ve formátu čtverec kód DPB)*

DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….…… DPB :……..……..UŽIVATEL:……

4. Ve vzdálenosti 200m od vnější hranice DPB se vyskytují/nevyskytují *(nehodící se škrtněte)* **DPB s režimem ekologického zemědělství.** *(kolonky DPB GMO a DPB EKO vyplňujte ve formátu čtverec kód DPB)*

DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..…UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……...UŽIVATEL:……..
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..……UŽIVATEL:……..
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..…UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……...UŽIVATEL:……..
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..……UŽIVATEL:……..
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..…UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..…UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..…UŽIVATEL:……
DPB GMO:…….…….. DPB EKO :…….……..PLODINA:……..…UŽIVATEL:……

5. Vzdálenost vnější hranice DPB s GM plodinou od DPB na nichž je pěstována stejná plodina jako deklarovaná GM plodina, která však <u>není</u> geneticky modifikována. *(kolonky DPB GMO a DPB vyplňujte ve formátu čtverec kód DPB)*

SZIF
Státní zemědělský intervenční fond

Ve Smečkách 33, 110 00 Praha 1
tel.: +420 222 871 620
fax: +420 222 871 765
e-mail: info@szif.cz; www.szif.cz

DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB :……VZDÁLENOST:……m

6. Vzdálenost vnější hranice DPB s GM plodinou od DPB na nichž je pěstována stejná plodina jako deklarovaná GM plodina, která však <u>není</u> geneticky modifikována a je pěstována v režimu ekologického zemědělství. *(kolonky DPB GMO a DPB EKO vyplňujte ve formátu čtverec kód DPB)*

DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m
DPB GMO:…… DPB EKO :…… VZDÁLENOST:……m

7. Obsev: Dle údajů pěstitele je obsev proveden osivem geneticky nemodifikované plodiny stejného druhu jako je plodina GM odrůdy. *(kolonky DPB GMO vyplňujte ve formátu čtverec kód DPB)*

DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m
DPB GMO:…… OBSEV:……řad ŠÍŘE OBSEVU:……m

8. Poznámka:

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Kontrolní protokol obsahuje ..…. stran a ...…… příloh.

V ……..... dne .....……..

SZIF
Státní zemědělský intervenční fond

Ve Smečkách 33, 110 00 Praha 1
tel.: +420 222 871 620
fax: +420 222 871 765
e-mail: info@szif.cz; www.szif.cz

vedoucí skupiny kontrolujících ……..

člen skupiny kontrolujících ……..…….

S protokolem byl seznámen dne:.....

pěstitel GM odrůdy plodiny: .....…….

---
podpis

Protokol byl vyhotoven ve 2 výtiscích
Výtisk č. 1 pro SZIF
Výtisk č. 2 pro SZIF
Výtisk č. 3 pro pěstitele GM odrůdy plodiny …….....

Předal: ……..

---
vedoucí skupiny kontrolujících

Převzal pěstitel GM odrůdy plodiny: ……..

---
podpis

Státní rostlinolékařská správa

Č. j.: SRS 036112/2010 V Praze, dne: 20. 9. 2010

Metodický postup SRS
A/OMIOR/3/2010

Odběr vzorků pro účely stanovení geneticky modifikovaných rostlin v porostech kukuřice jako součást kontrol dodržování pravidel koexistence při pěstování geneticky modifikovaných odrůd kukuřice

Účinnost od: 1. 10. 2010 Zpracoval: Ing. Rostislav Hrubý, CSc.,

Určeno: Sekci územních útvarů SRS
Sekci ochrany proti škodlivým organismům SRS

Na vědomí: MZe -odbor rostlinných komodit
Sekretariát ředitele SRS

Ing. Richard Ščerba
ředitel Státní rostlinolékařské správy

Ing. Dita Vrbová
vedoucí sekce ochrany proti škodlivým organismům

Přílohy: 1 - 6

Za správnost: Ing. Rostislav Hrubý, CSc.

Předmět metodického pokynu

Metodický pokyn určuje postup při odběru vzorků rostlin kukuřice z polních porostů pro stanovení přítomnosti GM kukuřice v obsevech jako součást kontroly dodržování pravidel koexistence, konkrétně povinných odstupných vzdáleností mezi porosty s geneticky modifikovanými (GM) a konvenčními (nemodifikovanými) hybridy kukuřice. Ostatní kontrolní činnosti spojené s pravidly koexistence provádí Ministerstvo zemědělství (MZe).
Státní rostlinolékařská správa provádí pouze vzorkování, jenž má poskytnout materiál (vzorek) pro následné laboratorní testování na přítomnost GM kukuřice a jeho předání do smluvní laboratoře. Odebrané vzorky musí být pro kontrolovaný pozemek v maximální možné míře reprezentativní.
Výběr kontrolovaných pozemků, pověření smluvní laboratoře včetně platby za rozbor vzorků, sepsání závěrečného protokolu o kontrole s pěstitelem a případné správní řízení zůstává v gesci odboru rostlinných komodit MZe.
Rozsah kontrol je stanoven na příslušný kalendářní rok dohodou mezi MZe a SRS.

Výchozí právní předpisy a související dokumenty

Zákon č. 252/1997 Sb., o zemědělství, v platném znění (§ 2i, odst. 3)
Zákon č. 255/2012 Sb., o kontrole (kontrolní řád)
Vyhláška č. 58/2010 Sb., (§7) kterou se mění vyhláška č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy.
Žádosti MZe, odboru rostlinných komodit o spolupráci při kontrolách dodržování pravidel koexistence při pěstování geneticky modifikovaných odrůd kukuřice (Č.j: 27061/2009-17220).

Použité termíny a definice

1. **vzorkovatel:** pracovník SRS, oprávněný k odběru vzorků,
2. **úřední vzorek:** každý vzorek odebraný a adjustovaný vzorkovatelem,
3. **dílčí vzorek:** malá, přibližně stejná množství rostlinného materiálu (cca 5 g), který se odebírá ze stanovených částí 1 vzorkované rostliny; Jedná se o 2 vzorky laboratorní, 1 rezervní a 1 archivní. (Z jedné rostliny jsou odebrány 4 dílčí vzorky označené A, B, R, Arch.)
4. **smluvní laboratoř:** akreditovaná laboratoř zabývající se detekcí GMO, která je MZe pověřená stanovením přítomnosti GMO v úředním vzorku,
5. **adjustace:** úkony zahrnující balení, uzavírání a označování vzorku.

1. Činnosti před výjezdem na kontrolovaný pozemek

1. MZe dodá OMIOR mapové podklady a čísla pozemků, na nichž proběhne odběr vzorků. OMIOR zašle tyto podklady zainteresovaným OBO. (**MZe, SRS-OMIOR, OBO**)
2. Stanovení termínu odběru úředních vzorků. Zásadně lze odebírat vzorky rostlin před nástupem kvetení porostu a/nebo po ukončení kvetení, až do doby, kdy u listů jsou patrny výrazné ztráty chlorofylu v důsledku stárnutí. **(SRS-OMIOR)**
3. OMIOR požádá příslušné OBO o spolupráci při odběru vzorků. (**SRS-OMIOR, OBO**)
4. OBO zajistí kontakt s pěstitelem, dohodne termín kontroly a odběru úředního vzorku a zjistí údaje a podmínky potřebné pro relevantní odběr vzorků (termíny aplikace

agrochemikálií v porostu a vývojové stádium porostu dle stupnice BBCH). (**SRS-OBO**)

a) telefonické ověření, zda byl proveden obsev vůči sousednímu pozemku s nemodifikovanou kukuřicí (pokud pěstitel sdělí, že nedošlo k požadovanému obsetí GM kukuřice, OBO neprodleně kontaktuje OMIOR, které informuje MZe; v takovém případě nebude probíhat odběr vzorků),
b) aplikace agrochemikálií v porostu (dohodnut termín odběru vzorků tak, aby bezprostředně před odběrem nedošlo k postřiku porostu),
c) vývojové stádium porostu (pokud se porost nachází ve fázi kvetení, odběr vzorku nebude probíhat, odloží se na dobu po odkvětu),
d) odrůda kukuřice použitá v obsevu.

5. Zajištění kontaktu se smluvní laboratoří za účelem dohodnutí postupu a přesného termínu předání úředního vzorku. (**SRS - OMIOR**)
6. Příprava podkladů nutných pro provedení kontroly na konkrétní lokalitě:
   a) mapa s vyznačením kontrolovaného pozemku - umístění a rozměry pozemku, přístupy k pozemku, zakreslený deklarovaný obsev a místo kontroly - část pozemku přiléhající k sousednímu pozemku s nemodifikovanou kukuřicí (příloha č. 1). (**SRS – OMIOR, podklady dodá MZe**),
   b) vzorkovací plán – schéma odběru dílčích vzorků. Upřesnění (doplnění vzdáleností) se provede při samotné kontrole. (příloha č. 1). (**SRS - OMIOR**)
7. Příprava pomůcek potřebných pro odběr vzorků (příloha č. 2). (**SRS -OBO**)
8. Příprava vzorkovnic a obalů na vzorkovnice (příloha č. 3). (**SRS –OBO**)
9. Příprava úředních dokumentů:
   a) protokol o odběru vzorků ve 3 kopiích (náležitosti protokolu v příloze č. 5). (**SRS -OBO**),
   b) protokol o předání vzorků ve 3 kopiích (náležitosti protokolu v příloze č. 6). (**SRS – OMIOR),**
   c) protokol o kontrole vygenerovaný v IS-monitoring / dozor a kontrola ve 3 kopiích. (**SRS-OBO**)

2. Činnosti na místě kontroly a odběru vzorků

1. Kontrolu provádí současně zástupce **OMIOR a OBO**.
2. Ověření správnosti kontrolovaného subjektu, identifikace pozemku pomocí letecké fotografie nebo GPS přístroje. (**SRS-OMIOR**)
3. Posouzení stavu porostu z pohledu proveditelnosti kontroly. Zjistí-li vzorkovatel, že porost byl vystaven účinkům takové události, která by evidentně ovlivnila výsledek laboratorních zkoušek (např. **porost v době kvetení**, poškozený porost, **nedávná aplikace agrochemikálií**), neprodleně informuje OMIOR a ten s MZe – odbor rostlinných komodit - dohodne další postup. (**SRS-OMIOR-OBO**)
   Kontaktní osoba za MZe: ing. Daniel Froněk, tel.: +420 221 812 612
4. Určení vegetační fáze porostu dle stupnice BBCH. (**SRS-OBO**)
5. Přeměření odstupné vzdálenosti mezi okrajem kontrolovaného pozemku a okrajem sousedního pozemku s kukuřicí pomocí měřícího pásma a výpočet kontrolovaných řádků -podrobně viz příloha č. 1- (**SRS-OBO**)
6. Doplnění vzdáleností mezi odběrnými místy a orientačními body do vzorkovacího plánu. Upřesnění vzorkovacího plánu podle reálných vzdáleností naměřených při kontrole. (Viz příloha č.1) (**SRS - OMIOR**)

7. Odběr dílčích vzorků: (**SRS-OBO**)
   a) Odběr je proveden podle vzorkovacího plánu (viz příloha č.1) z 20 rostlin z kontrolovaného porostu (obsevu), z něhož jsou vyloučeny rostliny, u kterých je patrné větší poškození nebo ztráta chlorofylu.
      i. u rostlin před kvetením z plně vyvinutých listů horních pater,
      ii. u rostlin po odkvětu z listů středních pater.
   b) Z každé vzorkované rostliny se odstřihnou 4 listové čepele, odstraní se centrální nerv, bazální a vrcholová část listu. Všechny 4 odstřižené listové čepele se položí na sebe a rozstřihnou na 4 stejně velké díly, tzv. dílčí vzorky (viz příloha č. 4).
   c) Dílčí vzorky obsahující ¼ z každé ze 4 odebraných listových čepelí se vloží do vzorkovnice a označí A, B, R a Arch**. Všechny 4 dílčí vzorky musí pocházet z 1 rostliny!** (viz příloha č. 3).
   d) Velikost dílčích vzorků je minimálně 5x5 cm (cca 5g).
8. Mezi odběry dílčích vzorků z jednotlivých rostlin vyčistí vzorkovatel odběrové nůžky 60% alkoholem (není potřebné používat čistý líh) a destilovanou vodou.
9. Umístění uzavřených označených vzorkovnic do připravených obalů, adjustace, zaplombování (příloha č. 3). (**SRS-OBO**)
10. Zaznamenání času a doby trvání vzorkování (započetí a ukončení odběrů).
    Vyplnění protokolu o odběru vzorků, protokolu o kontrole a jeho potvrzení/podepsání pěstitelem, vzorkovatelem (OBO) a zástupcem (OMIOR). Protokoly budou OBO, OMIOR a pěstitelem archivovány pro případ další potřeby. (vzor protokolu viz příloha č. 5). (**SRS - OBO – OMIOR – Pěstitel**)

3. Činnosti po provedení kontroly a odběru vzorků

1. Co nejrychlejší předání (dopravení) vzorků do smluvní laboratoře pověřené rozborem vzorků. (**SRS-OMIOR**). Vzorky musí být uchovávány a transportovány v suchém prostředí při teplotě do 25 °C, mimo přímé sluneční světlo, a předány smluvní laboratoři do 12 hodin po odebrání. V opodstatněných případech (pozdní konec odběru) mohou být vzorky před předáním do laboratoře krátkodobě uchovávány (do 24 hod od odběru) při teplotě 0 – 10 °C.
2. Doplnění potřebných údajů do protokolu o předání vzorků (příloha č. 6) a jeho potvrzení/podepsání předávajícím zástupcem SRS a zástupcem smluvní laboratoře provádějící rozbor vzorků. (**SRS-OMIOR – smluvní laboratoř**)

4. Zápis do IS – monitoring

Kontroly se zapisují do modulu dozor a kontrola shodně jako při jiných kontrolách.
Protokol se vyhotoví ve 3 kopiích

Stav protokolu – předán

Kontrolovaný subjekt – vybere se z připraveného číselníku

Vyplní se datum zahájení a ukončení kontroly – ten samý den

Zadavatel – zástupce OBO

Poučení subjektu – vybere se z číselníku položka PS01 - Proti protokolu může kontrolovaná osoba podat písemné a zdůvodněné námitky do 15 dnů ode dne seznámení se s protokolem stvrzeným jejím podpisem, a to podáním u kontrolního

pracovníka. S obsahem protokolu i výše uvedeným poučením byla kontrolovaná osoba seznámena (byly kontrolované osoby seznámeny), a jeho převzetí potvrzuje (potvrzují) svým podpisem.

Název objektu – vyplní se název objektu

Druh – z. pozemek

Číslo – číslo kontrolovaného pozemku (na základě materiálů dodaných MZe)

Katastr – vybere se z číselníku

Druh Kontroly – vybere se z číselníku – 7000 - Kontrola v oblasti pěstování geneticky modifikovaných odrůd (pro MZe) podle § 72 odst. 12 z.č. 326/2004 Sb. ve spojení 2 § 2i zákona o zemědělství č. 252/1997 Sb.

Předmět kontroly – Vepíše se „Odběr vzorků pro účely stanovení geneticky modifikovaných rostlin v porostech kukuřice jako součást kontrol dodržování pravidel koexistence při pěstování geneticky modifikovaných odrůd kukuřice vyplývající z vyhlášky č. 58/2010 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy."

Kontrolní zjištění – Vepíše se „Odebrané vzorky byly předány smluvní laboratoři, která je MZe pověřená stanovením přítomnosti GMO v úředním vzorku. Výsledky kontroly budou subjektu oficiálně předány přímo prostřednictvím MZe."

Druh výsledku – Vepíše se „Kompletní výsledky kontroly dodržování pravidel koexistence vyplívající z vyhlášky č. 58/2010 budou kontrolovanému subjektu sděleny přímo MZe".

Účastníci – Zadají se jména osob, které se budou účastnit odběru a zástupce kontrolovaného subjektu.

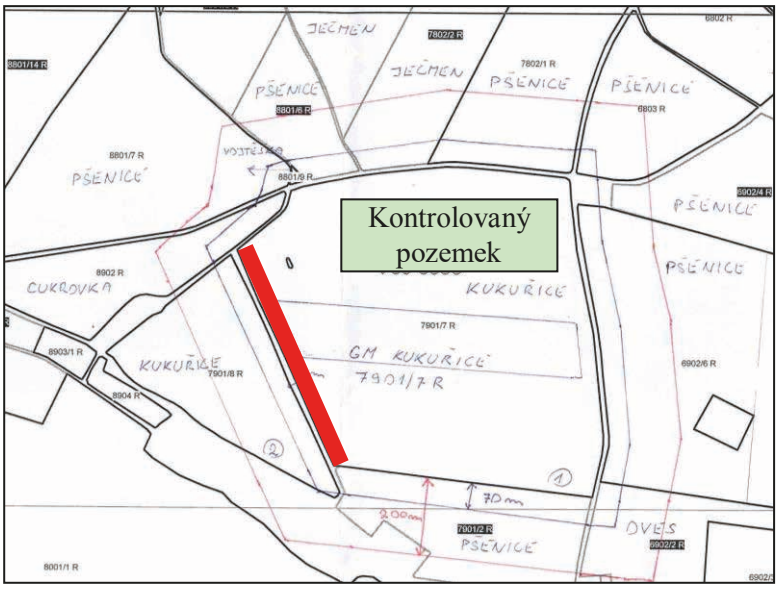
Distribuce – OMIOR, příslušné OBO, kontrolovaný subjekt.

Přílohy MP

Příloha č. 1 – Mapové podklady a vzorkovací plán
Příloha č. 2 – Seznam přístrojů a pomůcek k odběru vzorků
Příloha č. 3 – Vzorkovnice
Příloha č. 4 – Postup vzorkování
Příloha č. 5 – Protokol o odběru vzorků
Příloha č. 6 – Protokol o předání vzorků

Příloha č. 1
Mapa s vyznačením kontrolovaného pozemku
- dle podkladů MZe (resp. regionálních agentur pro zemědělství a venkov)

Kontrolovaná část pozemku



Vzorkovací plán
Vzorkovacím plánem rozumíme schéma odběru dílčích vzorků/odběrová místa navržená pro konkrétní kontrolovanou lokalitu. Vzorkovací plán vychází z mapových podkladů MZe a map v LPIS. Výběr odběrových míst je proveden na základě vyhodnocení tvaru a velikosti pozemku, resp. jeho kontrolované části (přiléhající k sousednímu pozemku s nemodifikovanou kukuřicí), a počtu řádků obsevu nezbytných pro dodržení ustanovení zákona č. 252/1997 Sb., o zemědělství, v platném znění (§ 2i, odst. 3) a prováděcí vyhlášky č. 89/2006 Sb., o bližších podmínkách pěstování geneticky modifikované odrůdy, v platném znění (s tolerancí 2 řádků).

Povinná odstupná vzdálenost mezi GM a nemodifikovanou kukuřicí je vyhláškou stanovena na 70 m, resp. 200 m (vůči kukuřici pěstované v režimu ekologického zemědělství), přičemž odstupné vzdálenosti mohou být nahrazeny odpovídajícím počtem řádků obsevu, tvořeným nemodifikovanou kukuřicí.

Nahrazení odstupné vzdálenosti obsevem probíhá dle schématu, kdy 1 řádek obsevu (o šíři minimálně 70 cm) nahrazuje 2 m odstupné vzdálenosti. V případě těsně přiléhajících pozemků je tedy nutné provést obsev o šířce minimálně 35 řádků. Kontrola (odběr vzorků) tedy probíhá na 1. až 33. řádku. Pokud se kontrolovaný pozemek nachází např. 10 m od sousedního pole s nemodifikovanou kukuřicí (nutnost obsevu o šíři minimálně 30 řádků), kontrola probíhá na 1. až 28. řádku obsevu, atd.

Na kontrolované části pozemku (obsevu) jsou odebírány vzorky z celkem 20 rostlin v pravidelných intervalech. Odhaduje se interval a linie přesunu napříč řádky podle schématu ve tvaru písmene V. Odběrová místa jsou stanovena např. po přibližně 10 – 20 m po 3 řádcích na diagonální linii odběru.

Příloha č. 2
Seznam přístrojů a pomůcek k odběru vzorků

- Přenosné boxy pro přepravu odebraných vzorků do smluvní laboratoře s dostatečnou zásobou vychlazených vložek.
- Polyethylenový pytel (cca 40x80 cm) na spotřebovaný materiál

- Vzorkovnice - PE nebo mikrotenové sáčky (cca 15x10cm, nejlépe uzavíratelné zipem)
- Obaly na vzorkovnice - PE sáčky (větší rozměr, cca pro 20 vzorkovnic)

- Nůžky nerez (2ks)

- Čisté buničité pleny (cca 20x20 cm) na otírání odběrových nůžek - 40 ks,

- Střička s destilovanou vodou, zásoba destilované vody (cca 1 l)
- Střička s 60% roztokem alkoholu (není potřebné používat čistý líh), zásoba 60% roztoku alkoholu (cca 1 l)

- Nálepky (příp. závěsné štítky) na označení obalu na vzorkovnice
- Permanentní fixy pro popis vzorků
- Úřední razítko SRS
- Průhledná páska pro ochranu nálepky
- Gumičky (provázky) pro uzavírání pytlů
- Páska na zapečetění obalů na vzorkovnice
- GPS pro ověření polohy pozemku
- Měřící pásmo

- Další (nepovinné) pomůcky - např. fotografický přístroj

Příloha č. 3
Vzorkovnice

Vzorkovnice musí být stále uzavřeny, a to i před jejich použitím, skladovány a přepravovány v čistém prostředí tak, aby bylo možno vyloučit jejich kontaminaci. Vzorkovnice určené pro odběr vzorků musí být zabezpečeny v autorizovaných (zaplombovaných) uzavřených přepravních obalech pod stálým dohledem vzorkovatele až do doby jejich předání do smluvní laboratoře.
Vzorkovnice musí být předem zkontrolovány, zda jsou nepoškozené a vyhovují výše uvedeným kritériím.

Označení vzorkovnic
Každý dílčí vzorek musí být označen tak, aby byla zřejmá souvislost mezi kontrolovaným porostem, rostlinou a vzorkem. **Jednoznačné označení se provádí ve tvaru:**
pořadí vzorkované rostliny a dílčí vzorek / rok odběru / první 3 písmena z názvu lokality. Např.: 3B/10/Mik
Vzorkovnice je vhodné připravit a nadepsat s předstihem před provedením kontroly.
Poznámka: Z každé vzorkované rostliny se odebírají přibližně rovnocenné části do 4 vzorkovnic označených A, B, R, Arch, což znamená celkem 80 vzorkovnic (při 20 odběrových místech – rostlinách).

Obaly na vzorkovnice
Vzorkovnice s dílčími vzorky se umístí do vhodného obalu na vzorkovnice tak, že jsou společně zabaleny vždy všechny dílčí vzorky označené A, odebrané z 1 kontrolované lokality (20 rostlin). Obdobně jsou uloženy i další dílčí vzorky označené B, R a Arch. (Z jedné lokality jsou 4 obaly s dílčími vzorky.) Obaly s dílčími vzorky musí být zapečetěny (zaplombovány) vzorkovatelem a viditelně opatřeny etiketou.

Na etiketě obalů musí být uvedeny následující údaje:
a) identifikační číslo vzorkovnic v obalu, př. A Mik, B Mik
b) počet vzorkovnic,
c) identifikace vzorkovatele – razítko, podpis,
d) datum odběru vzorků.

Identická etiketa se umístí před uzavřením dovnitř obalu.

Jestliže se používají pro značení obalů na vzorkovnice papírové etikety, musí jejich kvalita odpovídat danému účelu. Okraje otvoru (očka) etikety musí být zesílené a etiketa připevněna k obalu na vzorkovnice pečetí (razítko a podpis) vzorkovatele. Údaje uvedené na etiketě musí být zapsány nesmazatelným způsobem.

Příloha č. 4
Postup vzorkování

Z každé testované rostliny na odběrném bodu se odebírají minimálně 4 rovnocenné dílčí vzorky do 4 vzorkovnic ze segmentů 4 listových čepelí (viz obr.):

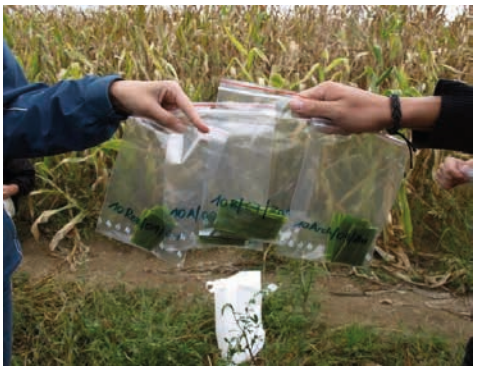
- laboratorní vzorek A
- laboratorní vzorek B
- rezervní vzorek (R)
- archivní vzorek (Arch)

Každý dílčí vzorek (A, B, R a Arch) obsahuje ¼ ze 4 odebíraných listových čepelí.
A a B vzorky jsou určeny pro zkoušky (stanovení genetické modifikace) v laboratoři.
R a Arch vzorky jsou použity v případě vyžádání opakování laboratorních zkoušek.
Po každém odebraném vzorku je potřeba nůžky vydezinfikovat v 60% alkoholu.

odstříhněte 4 listové čepele z 1 rostliny

listové čepele položte na sebe

rozstřihněte na 4 díly (dílčí vzorky) a odstraňte středovou žilku



každý dílčí vzorek vložte do označené vzorkovnice

Příloha č. 5

Protokol o odběru vzorků

Identifikace pěstitele:
(Jméno a IČO pěstitele).

Identifikace kontrolovaného pozemku:
(číslo PB/DPB a číslo čtverce)

Identifikační kód Bt. kukuřice:

Počet řad obsevu potřebný ke splnění podmínek § 7 vyhlášky č. 58/2010 Sb:

Popis vzorků: Segmenty listové čepele kukuřice, zaplombované vzorky,
odrůda …….

Údaje o odebraných dílčích vzorcích:
Množství: ……ks po cca 5g.

Datum a čas odběru: ……

Označení vzorků:
(jednoznačné označení uvedené na vzorkovnicích)

Vzorky byly odebrány dle přiloženého vzorkovacího schématu a bylo s nimi nakládáno v souladu s metodickým pokynem **A/OMIOR/3/2010**. Vzorky byly odebrány pro účely stanovení přítomnosti rostlin Bt kukuřice. Odebrané vzorky byly zapečetěny a budou neprodleně předány zástupci smluvní laboratoře.

Vzorkovatelé:
(jméno a podpis osob odebírajících vzorky)

Pěstitel:
(jméno a podpis, případně razítko)

Tento protokol byl vyhotoven v ……dne…….

Příloha č. 1: Vzorkovací schéma

Příloha č. 6

Protokol o předání odebraných vzorků

Předmět předání: Segmenty listové čepele kukuřice, zaplombované vzorky, odrůda …….

Údaje o předávaném materiálu:
Množství: ……ks po cca 5g.
Datum a čas odběru: ……
Datum a čas předání:……

Odebírající osoba(y):
(jméno osob účastnících se odběru)

Označení vzorků:
(jednoznačné označení uvedené na vzorkovnicích)

Se vzorky bude dále nakládáno dle pokynů uvedených v metodickém pokynu MZe č.j.: 31105/2007-17220.

Předávající:
(jméno, adresa a podpis předávajícího)

Přebírající:
(jméno, adresa a podpis přebírajícího)

Tento protokol byl vyhotoven v ……dne……..

Detekce GMO v porostech kukuřice
Stanovení přítomnosti MON810 (MON-ØØ81Ø-6)

Obsah:

I. Příjem vzorků 2
II. Příprava vzorku 2
III. Izolace DNA z čerstvých a mražených listových vzorků 3
IV. Detekce sekvencí specifických pro kukuřici a GMO 4
V. Vyhodnocení 8

I. Příjem vzorků

Pro zajištění ochrany zkušebních vzorků jsou dodržovány tyto zásady:

1. Vzorky jsou skladovány v souladu s požadavky na uchování vzorku, uvedenými v závazných postupech pro jednotlivé zkoušky (Standardní operační postupy)

2. Pracoviště má odpovídající vybavení zabraňující znehodnocení, ztrátě nebo poškození vzorku v průběhu skladování

3. Označení vzorku jednoznačně identifikuje vzorek po celou dobu jeho setrvání v laboratoři

4. Zkoušky se provádí podle platných zkušebních postupů (SOP)

5. K provádění jednotlivých zkoušek jsou určeni pracovníci splňující požadovanou kvalifikaci

6. Příprava vzorku ke zkoušení (získání zkušebního podílu, homogenizace) je prováděna v souladu s příslušnými zkušebními postupy tak, aby nebyly ovlivněny vlastnosti vzorku

7. Každá činnost spojená se zkušebním vzorkem (příjem, označení, tvorba protokolů, analýza, vyhodnocení) je dokumentována. Veškerá dokumentace spojená s odběrem, převzetím zkušebního vzorku a jeho analýzou je archivována.

Každý vzorek, který je dodán k analýze (poštou, kurýrní službou, zákazníkem), je zaevidován v Knize příjmu vzorků a přidělí se mu přijímajícím pracovníkem evidenční číslo, které je rovněž čitelně napsáno na obal vzorku.
Přijímající pracovník zkontroluje údaje na objednávce, neporušenost obalu vzorku, vzorek zváží a vyplní Průvodku vzorku.
V případě požadavku zákazníka je mu vyhotovena a předána kopie Průvodky vzorku.
Poté je vzorek uskladněn při cca -80°C.
Pokud jsou při příjmu vzorku zjištěny odchylky od stanovených závazných postupů nebo existuje-li pochybnost o vhodnosti vzorku pro zamýšlené zkoušení, jsou tyto okolnosti přijímajícím pracovníkem do Průvodky vzorku zaznamenány

II. Příprava vzorku

A. Před zkouškou na přítomnost sekvencí specifických pro GMO u souboru vzorků jednotlivých kontrolovaných rostlin odebraných z jednoho místa kontroly (například z **DPB -** díl půdního bloku) je v první fázi vytvořen směsný vzorek z částí segmentů listů odebraných ze vzorkovnic označených A všech individuálních vzorků kontrolovaných rostlin (maximálně 25), o přibližné hmotnosti odebraných částí individuálních segmentů 0.1g.
B. U směsného vzorku je provedena zkouška na přítomnost sekvencí pocházejících z GM podle postupu III. až V.
C. V případě kladného výsledku zkoušky na přítomnost GM u směsného vzorku jsou následně provedeny zkoušky u všech individuálních vzorků kontrolovaných rostlin ze vzorkovnic označených A podle postupu III. až V.

III. Izolace DNA z čerstvých nebo mražených listových vzorků

Izolace DNA se provádí metodou založenou na selektivní precipitaci v prostředí CTAB.
Ke každé sérii vzorků zařazujeme extrakční kontrolu (vzorek bez přídavku zkoušené matrice zpracovaný stejně jako vzorek zkušební).

Příprava pracovního prostoru

1. UV lampou vysvítit místnost
2. Otřít pracovní plochy 20% roztokem SAVA (čerstvě připravený)
3. Otřít pracovní plochy 70% roztokem etanolu

Kontrola pracovních pomůcek

1. třecí misky a tloučky (sterilní, uchovávané za laboratorní teploty)
2. tekutý dusík
3. nádoba na tekutý dusík
4. sterilní špachtle
5. sterilní skalpel
6. rukavice
7. pipeta 100 – 1000 µl
8. pipeta 0,5 – 10 µl
9. vodní lázeň předehřát na 65°C
10. centrifuga
11. vortex
12. třepačka
13. sterilní špičky pro pipetu 100 – 1000 µl
14. sterilní špičky pro pipetu 0,5 – 10 µl
15. sterilní pinzeta
16. kličky
17. sterilní zkumavky Falcon, 15 ml (oranžová víčka)
18. sterilní mikrozkumavky 1,5ml
19. Parafilm proužky cca1x4cm

Kontrola roztoků:

1. sterilní H2O
2. extrakční pufr netřepat-pění, předehřát na 65°C
3. RNAsa
4. Proteinasa K
5. 1,2 M NaCl
6. Chloroform:IAA 24:1
7. Precipitační pufr CTAB netřepat-pění, v případě zákalu nebo krystalů ohřát a mírným převracením lahve promíchat
8. 99,8% 2-propanol
9. 70% etanol
10. TE pufr

POSTUP IZOLACE:

1. Do stojánku připravit zkumavky Falkon 15ml a přemístit do digestoře
2. Do každé zkumavky Falcon, 15 ml, přidat 5 ml CTAB pufru
3. Do každé zkumavky Falkon 15ml přidat 10 µl 2-merkaptoethanolu
4. Třecí misku předchladit tekutým dusíkem
5. 1g čerstvých nebo v tekutém dusíku zmražených listů (segmentů listů) homogenizovat v předchlazené třecí misce

Homogenizace

1. Do nádoby s tekutým N_2 se opatrně vloží vzorek pletiva rostliny nebo část vzorku (např. po nastřihání sterilními nůžkami nebo po rozřezání sterilním skalpelem)
2. Cca 1g rostlinného materiálu se tloučkem opatrně tře v prostředí tekutého N2 v předem vymražené sterilní třecí misce
3. Když se dusík odpaří, přilije se do misky nový a znova se tře tloučkem (opakuje se podle potřeby), až vznikne velice jemný prášek.
4. Vychlazenou sterilní skalpelovou čepelkou nebo ocelovou špachtlí se obsah třecí misky kvantitativně převede do zkumavky o objemu 15ml s obsahem směsi pro extrakci DNA.

6. Směs důkladně promíchat kličkou a na vortexu
7. inkubovat ve vodní lázni 1 hod. při teplotě 60°C, během inkubace 2-3x promíchat převracením zkumavky a následně vortexem
8. Po inkubaci přemístit vzorky do nádoby s ledem a inkubovat 5 min. na ledu
9. Pipetou přidat 1x objem (cca. 5,5 ml) směsi chloroform: isoamylalkohol = 24:1
10. promíchávat 30 minut při laboratorní teplotě, poté 30 min. centrifugovat v odstředivce (iič.35) při 4500 ot./min. do oddělení fází
11. pipetou ihned odebrat svrchní vodnou fázi do nové sterilní 15 ml zkumavky, znovu přidat 1x objem směsi chloroform : isoamylalkohol = 24:1
12. promíchávat 10 min., poté centrifugovat v odstředivce 10 min. při 4500 ot./min.
13. mikropipetou ihned odebrat svrchní fázi do nové sterilní 15 ml zkumavky Falcon popsané shodně s originální zkumavkouz, přidat 1x objem vychlazeného (-20°C) 2-propanolu a ponechat srážet 30 min. při 4°C na ledu
14. Organickou fázi odlít do příslušné odpadní nádoby v digestoři
15. DNA namotat na sterilní skleněný háček a přemístit do nové sterilní zkumavky s 2 ml 70% ethanolu
16. ponechat 1hod. při 4°C na ledu, poté ethanol vylít a doplnit znovu na 2 ml 70% ethanolem, nechat přes noc v chladničce.
17. háček s DNA opatrně vyjmout, otočit a nechat DNA oschnout. Pozn. Pokud DNA spadne z háčku, je třeba ji znovu namotat a o stěnu zkumavky „vyždímat“
18. DNA na háčku se nechá cca 5 min. oschnout
19. Připraví se 1,5 ml mikrozkumavky označené podle názvu vzorku
20. DNA opatrně přemístit do sterilní 1,5 ml mikrozkumavky se 500 µl TE pufru
21. Po rozpuštění přidat 15 µl RNázy A, promíchat převracením zkumavky a nechat inkubovat v blokové lázni 30 min. při 37°C
22. Mikrozkumavky s DNA se přemístí do ledničky, 4°C.

IV. Detekce sekvencí specifických pro kukuřici a GMO

Podstatou zkoušky je amplifikace PCR produktu cílové sekvence transgenní DNA odpovídající sekvenci pro terminátor nopalin syntázy *Agrobacterium tumefaciens* a jeho elektroforetického dělení na agarózovém gelu, kdy se identifikuje amplifikovaná část genu na základě **přítomnosti produktu o předem dané velikosti,** který se projeví v UV světle.

Příprava pracovního prostoru:

1. UV lampou
2. 20% roztokem SAVA
3. 70% roztokem etanolu

Kontrola pracovních pomůcek:

1. pipeta 100 – 1000 µl
2. pipeta 20 – 200 µl
3. pipeta 10 – 100 µl
4. pipeta 2 – 20 µl
5. pipeta 2 – 20 µl
6. pipeta 0,5 – 10 µl
7. pipeta 0,1 – 2 µl
8. minicentrifuga
9. vortex
10. špičky na pipety se sterilní s filtrem
11. sterilní mikrozkumavky 0,2 ml
12. sterilní mikrozkumavky 0,5 ml
13. sterilní mikrozkumavky 1,5 ml
14. sterilní mikrozkumavky 2 ml
15. rukavice
16. nádoba na led
17. stojánky na mikrozkumavky

Kontrola roztoků:

1. Ultra Pure H_2O pro PCR,
2. AmpliTaqGold Polymeráza– vyjmout z mrazícího boxu, lehce stočit na centrifuze, umístit do ledu
3. 10x PCR Gold pufr– vyjmout z mrazícího boxu, rozmrazit, umístit do ledu, před použitím promíchat vortexem a ihned lehce stočit na centrifuze
4. $MgCl_2$ pro ApliTaqGold– vyjmout z mrazícího boxu, rozmrazit, umístit do ledu, před použitím promíchat vortexem a ihned lehce stočit na centrifuze
5. Směs 10mM dNTP– vyjmout z mrazícího boxu, rozmrazit, umístit do ledu, před použitím promíchat vortexem a ihned lehce stočit na minicentrifuze
6. Analyzované DNA o koncentraci 20 ng/µl (je-li koncentrace nižší, zaznamená se to do Protokolu stanovení vnitřního genu označením „!C!“)
7. Primery pro daný amplikon F (10pmol/µl), R (10pmol/µl) – vyjmout z mrazícího boxu, rozmrazit, umístit do ledu, před použitím promíchat vortexem a ihned lehce stočit na minicentrifuze

Tabulka používaných primerů

amplikon	Primer F	Primer R	Délka produktu
invertáza	5´- ggC Cgg ATC gTC ATg CTC TAC A- 3´	5´- TTg gCg TCC gAC TTg ACC CAC T - 3´	122 bp
CaMV _ 35S promotor	5´- CCg ACA gTg gTC CCA AAg ATg gAC -3´	5´- ATA TAg Agg AAg ggT CTT gCg AAg g - 3´,	162 bp
T-NOS	5´- gCA TgA CgT TAT TTA TgA gAT ggg-3´	5´-gAC ACC gCg CgC gAT AAT TTA TCC-3´	118 bp
MON810	5‘- TCg Aag gAC gAA ggA CTC TAA Cg-3´	5‘- TCC ATC TTT ggg ACC ACT gTC g-3´	170 bp

Příprava reakční směsi

Provádí se na ledu.

- Připraví se potřebný počet mikrozkumavek
- Mikrozkumavky se uzavřou a označí v plánovaném pořadí podle protokolu
- Připraví se potřebný objem mastermixu. Nedoporučuje se připravovat v jedné mikrozkumavce 1,5 ml více než 500 µl mastermixu neboť nelze zajistit dobré promíchání.

Reakční množství pro jeden vzorek je 25 µl (20 µl reakční směsi a 5 µl analyzované DNA). Celkový připravený objem reakční směsi $V = V_1 . (n+1)$, kde V_1 je objem reakční směsi potřebný pro 1 vzorek, n je počet všech vzorků, včetně kontrol a jeden objem pro 1 vzorek navíc se přidává na chybu pipetování. Jeden vzorek navíc při přípravě reakční směsi se přidá rovněž na každých 10 analyzovaných vzorků.

1. do mikrozkumavky pipetovat jednotlivé složky v tomto pořadí: Ultra Pure PCR voda , PCR pufr, roztok $MgCl_2$, dNTP, primery a Gold polymerázu
2. MasterMix důkladně promíchat převracením mikrozkumavky a vortexem nebo špičkou mikropipety
3. rozpipetovat po 20 µl do 0,2 ml PCR reakčních mikrozkumavek

---

V každé sérii vzorků pro PCR reakci musí být následující kontroly:

- **Pozitivní kontrola u transgenu** – obsahuje mastermix a modifikovanou DNA (0,1% a 1% IRMM nebo referenční DNA). Musí být **pozitivní** v dané pozici, aby se potvrdila vhodnost PCR a ověřila funkčnost všech kroků procesu
- **Negativní kontrola u transgenu** – obsahuje mastermix a 0% IRMM. Musí být **negativní**.
- **Extrakční kontrola CTRL-ex** – obsahuje pouze mastermix, extrakční činidla a pufry používané při izolaci DNA. Neobsahuje templátovou DNA, musí být **negativní**, jinak došlo během extrakce ke kontaminaci.
- **Mastermixová kontrola** (MM kontrola a MM-o) – obsahuje jen mastermix a neobsahuje templátovou DNA – ta je nahrazena vodou. MM kontrola se zařazuje 2x (jedna mikrozkumavka s mastermixem zůstává otevřena po celou dobu pipetování vzorků a monitoruje prostředí laboratoře). MM kontroly musí být **negativní**, jinak došlo ke kontaminaci mastermixu nebo prostředí laboratoře při jeho přípravě a rozpipetování.

Pořadí vzorků při pipetování:

- MM kontrola – o — doplnit 5µl H_2O
- MM kontrola — doplnit 5µl H_2O
- CTRL-ex — doplnit 5µl extrakční kontroly
- vzorky — doplnit 5µl DNA vzorku
- kontrola 0% — doplnit 5µl DNA IRMM 0%
- kontrola 0,1% — doplnit 5µl DNA IRMM 0,1%
- kontrola 1% — doplnit 5µl DNA IRMM 1%

DNA o vyšší koncentraci se ředí předem vodou pro PCR na koncentraci 20 ng/µl.

1. přidat templátovou DNA mikropipetou, zkumavku pečlivě uzavřít, promíchat na vortexu, stočit na minicentrifuze a vložit do termocykleru
2. spustit program pro amplifikaci specifické sekvence DNA (viz Příloha 1)
3. po ukončení amplifikace mikrozkumavky opět stočit na minicentrifuze, aby nedošlo k uvolnění aerosolu

Program pro amplifikaci PCR produktu Invertáza o velikosti 122bp

Aktivace AmpliTaq Gold polymerasy	95°C 12 min.
Amplifikace – 40 cyklů Denaturace Annealing Extenze	 95°C 30 s 70°C 1 min. 72°C 30 s
Konečná extenze	72°C 10 min.

Program pro amplifikaci PCR produktu T- NOS o velikosti 118bp

Aktivace AmpliTaq Gold polymerázy	95°C 10 min.
Amplifikace - 50 cyklů Denaturace Annealing Extenze	 95°C 15 s 60°C 15 s 72°C 15 s
Konečná extenze	72°C 7 min.

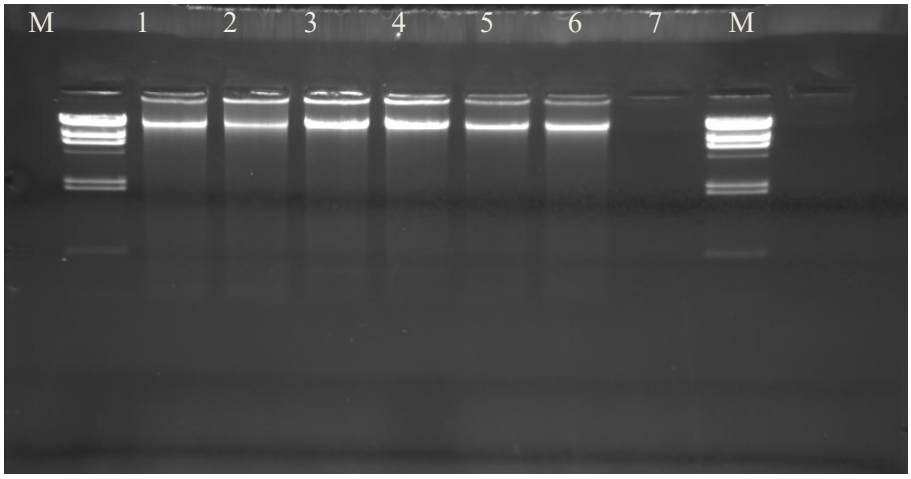
Program pro amplifikaci PCR produktu CaMV _ 35S promotor o velikosti 162 bp

Aktivace AmpliTaq Gold polymerasy	95°C 12 min.
Amplifikace – 40 cyklů Denaturace Annealing Extenze	 95°C 30 s 66°C 30 s 72°C 30 s
Konečná extenze	72°C 10 min.

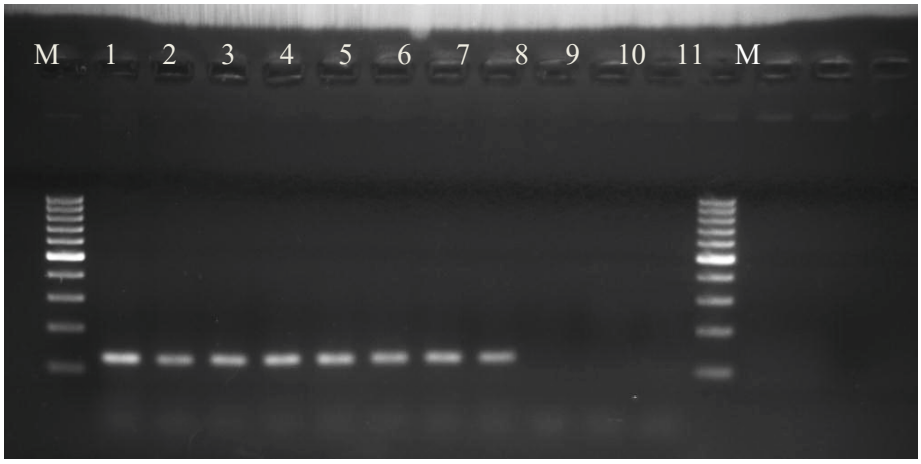
Program pro amplifikaci PCR produktu MON810 o velikosti 170 bp

Aktivace AmpliTaq Gold polymerasy	95°C 12 min
Denaturace Amplifikace – 40 cyklů Annealing Extenze	95°C 30 s 63,4°C 30 s 72°C 30 s
Konečná extenze	72°C 10 min.

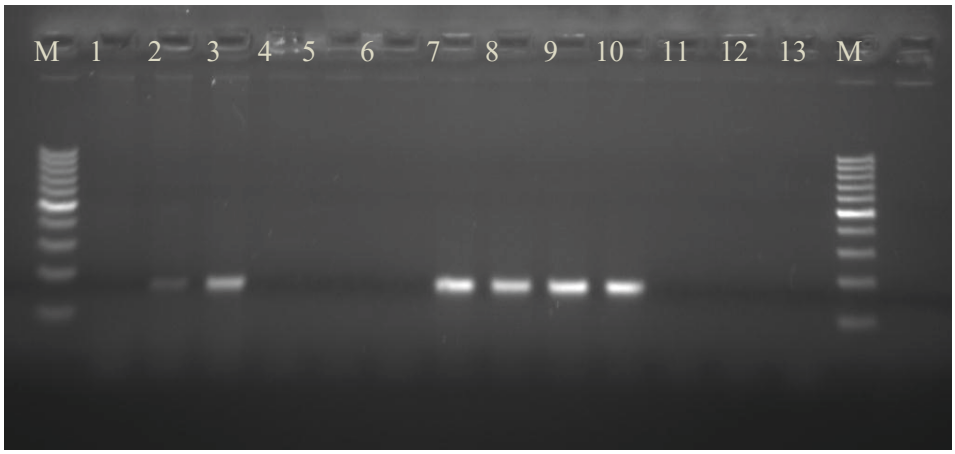
V. Vyhodnocení



Obr. 1: DNA izolovaná z listů kukuřice.
M – velikostní marker (Hind III), dráha č. 1 – 6: vzorky kukuřic, č. 7: extrakční kontrola.



Obr. 2: Amplifikace vnitřního genu kukuřice – invertáza
M – velikostní marker (100 bp ladder), dráha č. 1: 0,1% NK603, č. 2: konvenční kukuřice, č. 3 – 8: vzorky kukuřic, č. 9 – 11: kontroly.



Obr. 3: Amplifikace transgenu kukuřice – MON810
M – velikostní marker (100 bp ladder), dráha č. 1: 0 % MON810, č. 2: 0,1 % MON810, č. 3: 1 % MON810, č. 4: konvenční kukuřice, č. 5 – 10: vzorky kukuřic, č. 11 – 13: kontroly.

V případě potřeby lze zařadit skríning a zkoušky na přítomnost jiných transgenních událostí v rámci rozsahu akreditace NRL GMO VÚRV, v.v.i.

Zpracoval: ing. V. Pouchová a Ing. L. Tomková
Aktualizace: Ing. Ladislav Kučera, CSc.

Kontroloval a schválil: doc. RNDr. Jaroslava Ovesná, CSc.

Národní referenční laboratoř pro identifikaci GMO a DNA fingeprirnitng

Poznámky

Poznámky

MINISTERSTVO ZEMĚDĚLSTVÍ

Vydalo Ministerstvo zemědělství
Těšnov 17, 110 00 Praha 1
www.eagri.cz, info@mze.cz
+420 221 811 111

Praha 2019

ISBN 978-80-7434-535-7