



COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO
Setoriais Vegetal/Ambiental
Dra. Maria José Vilaça de Vasconcelos

O Relator declara ter incluído Informação Confidencial no corpo deste Parecer?	
	SIM
X	NÃO

Processo SEI nº: 01245.003704/2021-67

Requerente: AquaBounty Participações Ltda

CQB: 496/20

Assunto: a Liberação Comercial para Consumo Humano e Animal do Salmão AquaAdvantage, um salmão do Atlântico (*Salmo salar*) transgênico para o hormônio do crescimento

Extrato Prévio: 7522/2021, publicado no Diário Oficial da União em 26/02/2021

Reunião: 241ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 06 de maio de 2021.

Decisão: DEFERIDO

1. FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA (de acordo com informações do demandante)

Ementa: O Responsável Legal da AquaBounty Brasil Participações Ltda., solicita parecer técnico da CTNBio para a Liberação Comercial para Consumo Humano e Animal do Salmão AquaAdvantage, um salmão do Atlântico (*Salmo salar*) transgênico para o hormônio do crescimento.

A AquaBounty Brasil Participações Ltda. esclarece que esta solicitação de liberação comercial refere-se à autorização para o consumo humano e animal e apresenta para tanto as evidências científicas e os resultados experimentais considerando os aspectos de biossegurança para consumo no Brasil. Portanto, este pedido de liberação comercial não engloba a liberação para produção do Salmão no Brasil.

Descrição do OGM

Classe de risco do OGM: Classe de risco I

Resumo

O salmão AquaAdvantage, objeto dessa avaliação de liberação comercial para consumo humano e animal é um salmão do Atlântico que foi geneticamente modificado com a construção gênica AquaAdvantage opAFP-GHc2, que compreende sequências regulatórias do gene da proteína anticongelante (AFP) do ocean pout (opAFP) e a sequencia codificadora do hormônio de crescimento (GH) do salmão Chinook.

O evento de transformação genética denominada de salmão AquaAdvantage(AAS), é um salmão geneticamente modificado triploide, hemizigótico, todos do sexo feminino, derivado de salmão do Atlântico (*Salmo salar*), caracterizado exclusivamente por possuir uma única cópia estável do transgene opAFP-GHc2(que contém somente genes de peixes) no locus α , formando a linhagem denominada EO-1 α

(forma α) que é previsivelmente herdável e confere um fenótipo de crescimento rápido durante o período inicial da vida, duas vezes mais rápido do que o salmão não transgênico e requer 20 a 25% menos ração.

O salmão AquAdvantage, grupo triploide coorte foi obtido submetendo metade dos ovos diploides fertilizados e combinados de cada cruzamento ao choque de pressão hidrostática. O cruzamento entre um AquAdvantage neomale hemizigótico e uma fêmea não transgênica gera uma população feminina composta por números iguais de animais transgênicos e não-transgênicos randomizados para os grupos Tratado (TX) ou Controle (SC) pelo status de herança genética.

Como o choque por pressão induz a retenção do segundo corpo polar do ovo, e o neomale é a única fonte do transgene, animais tratados, sejam diploide ou triploide, permanecem hemizigotos para EO-1 α .

A linhagem EO-1 α do AAS contém as sequências reguladoras 5'-(5'OP) e 3'-(3'OP) de um gene da proteína anticongelante tipo III (AFP) do 'Ocean Pout' (*Macrozoarces americanus*) e a sequência de codificação do hormônio de crescimento (GH) do salmão Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*). A modificação genética no AAS foi realizada através da micro-injeção da construção transgênica (opAFP-GHc2) que expressa o hormônio do crescimento do salmão chinook (GH) nos ovos de salmão do Atlântico selvagem, desenvolvendo então a linhagem comercial a partir de um único animal fundador (EO-1 ♀). Os animais foram derivados de ovos fertilizados e agrupados de uma série de cruzamentos entre nove neomales (são animais geneticamente fêmeas que foram masculinizadas por tratamento com andrógenos com o propósito de produzir populações monosssexuais) hemizigóticos do AquAdvantage e 20 fêmeas não-transgênicas derivadas de várias famílias de animais domesticados do rio St. John. O grupo triploide coorte foi obtido submetendo metade dos ovos diploides fertilizados e combinados de cada cruzamento ao choque de pressão hidrostática.

A única sequência codificante para uma proteína funcional no salmão AquaBounty é o GH regulado pelo promotor da proteína AFP. Os organismos doadores utilizados para esta construção gênica foram o salmão chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) ligado a sequência regulatória da AFP do peixe marinho ocean pout (*Macrozoarces americanus*).

O salmão AquAdvantage carrega uma única cópia estável do transgene opAFP-GHc2 (que contém somente genes de peixes) no locus α , formando a linhagem denominada EO-1 α (forma α) que é previsivelmente herdável e confere um fenótipo de crescimento rápido durante o período inicial da vida, duas vezes mais rápido do que o salmão não transgênico e requer 20 a 25% menos ração. A linhagem EO-1 α do AAS contém as sequências reguladoras 5'-(5'OP) e 3'-(3'OP) de um gene da proteína anticongelante tipo III (AFP) do 'Ocean Pout' (*Macrozoarces americanus*) e a sequência de codificação do hormônio de crescimento (GH) do salmão Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*).

O salmão chinook é consumido e cultivado como o salmão do atlântico e amplamente utilizado como alimento em vários países. O ocean pout é uma enguia da família Zoarcidae. Pode ser encontrada no noroeste do Oceano Atlântico, na costa da Nova Inglaterra e no leste do Canadá. O peixe possui proteínas anticongelantes no sangue, dando-lhe a capacidade de sobreviver em águas quase congelantes. Várias espécies de enguias são utilizadas como alimento em todo o mundo. Não havendo evidências de que estes dois genes podem causar qualquer problema a saúde humana ou animal.

A forma funcional e integrada do transgene no genoma do salmão AquAdvantage, chamado EO-1 α , confere um fenótipo hereditário caracterizado por um aumento de 4 – 6 vezes na taxa de crescimento no início da vida, beneficiando a produtividade e a economia da aquicultura comercial.

O Salmão AquAdvantage (AAS), geneticamente modificado, foi desenvolvido com o objetivo de proporcionar crescimento mais rápido dos animais, reduzindo significativamente o tempo de colocação do peixe no mercado, sendo capaz de crescer pelo menos 100 g em 2700°C-diaa mais do que os peixes não-transgênicos controles

I - INFORMAÇÕES RELATIVAS AO OGM

1 - Identificação do evento de transformação genética, objetivo e utilização do OGM e seus derivados

O evento de transformação genética denominada de salmão AquAdvantage® (AAS), de que se trata esta solicitação é um salmão geneticamente modificado triploide, hemizigótico, todos do sexo feminino, derivado de salmão do Atlântico (*Salmo salar*), caracterizado exclusivamente por possuir uma única cópia estável do transgene **opAFP-GHc2**, que contém somente genes de peixes no locus α , formando a linhagem denominada EO-1, que é previsivelmente herdável e confere um fenótipo de crescimento rápido durante o período inicial da vida, 2 vezes mais rápido do que o salmão não transgênico e requer 20 a 25% menos ração.

A linhagem EO-1 α do AAS contém as **sequências reguladoras 5'- (5'OP) e 3'- (3'OP) do um gene da proteína anticongelante tipo III (AFP) do 'Ocean Pout' (*Macrozoarces americanus*) e a sequência de codificação do hormônio de crescimento (GH) do salmão Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*).**

Devido ao declínio dos estoques naturais e à diminuição das capturas selvagens, a FAO estimou que uma produção anual adicional de ~30 M toneladas (~80 M toneladas total) pelas empresas de aquacultura serão necessárias até 2030 para manter o consumo per capita nos níveis atuais. A oferta e a demanda de salmão apresentam uma tendência muito semelhante: ~69% da produção mundial de salmão em 2006 foi derivada da aquicultura comercial, e ~99% do salmão do Atlântico consumido nos EUA entre 2000 e 2004 foi criado em fazendas de cultivo (Knapp et al., 2007).

Foi desenvolvido o AAS, um salmão do Atlântico geneticamente modificado com fenótipo de crescimento rápido que visa criar benefícios reduzindo significativamente o tempo de colocação do peixe no mercado.

A modificação genética no AAS foi realizada através da micro-injeção da construção transgênica (opAFP-GHc2) que expressa o GH do salmão chinook nos ovos de salmão do Atlântico selvagem, desenvolvendo então a linhagem comercial a partir de um único animal fundador (EO-1♀).

2 - Classificação taxonômica, a partir de família, até o nível mais detalhado do organismo a ser liberado, incluindo, quando apropriado, subespécie, cultivar, patovar, estirpe e sorotipo

Nome taxonômico: ***Salmo salar* L.** [the Organism] (see, WoRMS, 2010)

Classificação: Dominio > *Biota*, Reino > *Animalia*, Phylum > *Chordata*, Subphylum > *Vertebrata*, Superclasse > *Gnathostomata*, Superclasse > *Pisces*, Classe > *Actinopterygii*, Ordem > *Salmoniformes*, Família > *Salmonidae*, Gênero > *Salmo*, Espécie > *salar*

Sinônimos da taxa:

- *Salmo brevipes* Smitt, 1882
- *Salmo salar brevipes* Smitt, 1882
- *Salmo caerulescens* Schmidt, 1795
- *Salmo salar brevipes natio relictus* Berg, 1932
- *Salmo goedenii* Bloch, 1784
- *Salmo salar europaeus* Payne et al., 1971
- *Salmo gracilis* Couch, 1865
- *Salmo salar lacustris* Hardin, 1862
- *Salmo hamatus* Cuvier, 1829
- *Salmo salar ouananiche* McCarthy, 1894
- *Salmo hardinii* Günther, 1866
- *Salmo salar saimensis* Seppovaara, 1962
- *Salmo nobilis* Olafsen, 1772
- *Salmo salar sebago* Girard, 1853
- *Salmo nobilis* Pallas, 1814
- *Salmo salmo* Valenciennes, 1848

- *Salmo ocla* Nilsson, 1832
- AquaBounty Brasil Salmão *AquAdvantage*
- *Salmo salmulus* Walbaum, 1792
- *Salmo renatus* Lacepède, 1803
- *Salmo sebago* Girard, 1853
- *Salmo rilla* Lacepède, 1803
- *Trutta relict*a Malmgren, 1863
- *Salmo salar biennis* Berg, 1912
- *Trutta salar* (Linnaeus, 1758)
- *Salmo salar* L. [the Organism] (WoRMS, 2010)

Ordem: Salmoniformes

Família: Salmonidae

Sub-família: Salmoniae

Gênero: *Salmo*

Espécie: *salar*

3 - Os Genes introduzidos, organismos de origem e suas funções específicas

Inserções de DNA recombinante de 3 fontes foram utilizadas para a obtenção da construção final **opAFP-GHc2**, detalhes da construção são encontrados na Figura 5 da solicitação. A construção gênica utilizada opAFP-GHc2 consiste do gene do GH obtido do salmão Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) sob controle da sequência regulatória da proteína AFP tipo III do peixe marinho ocean pout (*Macrozoarces americanus*).

De forma mais detalhada, conforme descrito na Figura 6 da solicitação, o transgene opAFP-GHc2 compreende 4 domínios principais e uma sequência "intragênica" não funcional, de três fontes, como segue:

- 1 domínio de codificação da proteína de 705 pb de um clone de cDNA (GH-4) do gene GH do salmão chinook;
- 1 domínio de terminação de transcrição e 1164 pb de λ OP5 compreendendo sinais determinação de transcrição e poliadenilação do gene AFP de Tipo III;
- 1 *polylinker* de 45 pb de pUC9 e pUC 8, que é um artefato da construção e integração plasmídeo-transgene; e,
- 1 domínio de modulação da transcrição de 1678 pb compreendendo o flanco 5' do promotor AFP.

A sequência de codificação de GH foi derivada de um clone de cDNA (GH-4) do gene GH de salmão de chinook (Hew et al., 1989), que é um dos dois genes de GH de chinook endógenos e compartilham ~ 95% de homologia com o sequência primária do GH do salmão do Atlântico.

A construção gênica foi obtida utilizando técnicas de engenharia genética que compreenderam o isolamento dos genes a partir das sequências de DNA e de cDNA do gene GH e da AFP Tipo III.

A sequência codificante do GH e a sequência regulatória do AFP foram integrados no vector plasmidial pUC18 para gerar uma família de construções opAFP-GH.

4 - Vetor utilizado e seu espectro de hospedeiros

Embora a porção plasmidial da construção de DNA recombinante não foi inserida no animal transgênico, um entendimento de quais plasmídeos foram utilizados para gerar vários intermediários na montagem das construções final de DNAr opAFPGHc2 é relatada aqui, como também quanto aos riscos potenciais associados aos plasmídeos bem como para a análise nas etapas subsequentes.

Durante a montagem da construção gênica opAFPGHc2 foram utilizados os seguintes vetores: **pUC9**, **pUC13** e **pUC18**. Todos estes vetores são muito similares e de uso padrão em *E. Coli* e rotineiramente utilizados para sub-clonagem e clonagem de genes.

O vetor pUC9 foi utilizado para o clone contendo a sequência regulatória AFP. O vetor pUC13 para o clone do GH. E o pUC18 para todos os outros plasmídeos recombinantes, incluindo as construções CAT. Detalhes sobre os plasmídeos e os mapas de restrição funcional dos vetores de clonagem dos plasmídeos são mostrados fornecidos na Figura 7 da solicitação.

pUC9 Cloning Vector (Gilbert, 1993)

Locus SYNPU9V 2665 bp DNA circular SYN 26-JUL-1993

Definition pUC9 cloning vector

Accession L09128

Version L09128.1 GI:310832

Source Synthetic constructo

Organism Synthetic construct, other sequences; artificial sequences

Parent Sources M13mp9, Lac operon, pBR322

Features ApR, β -lactamase, polylinker [HindIII-PstI-SalI-BamHI-SmaI-EcoRI]

pUC13 Cloning Vector (Gilbert et al., 2001)

Locus SYNPU13V 2680 bp DNA circular SYN 06-MAR-2001

Definition Cloning vector pUC13, complete sequence

Accession L09130

Version L09130.1 GI:310822

Source Cloning vector pUC13

Organism Cloning vector pUC13, other sequences; artificial sequences; vectors

Parent Sources M13mp11, Lac operon, pBR322

Features ApR, β -lactamase, polylinker [HindIII-PstI-SalI-XbaI-BamHI-SmaI-SacI-EcoRI]

pUC18 Cloning Vector (Norrander et al., 1993)

Locus SYNPU18V 2686 bp DNA circular SYN 27-APR-1993

Definition pUC18 cloning vector

Accession L08752

Version L08752.1 GI:209211

Source Synthetic constructo

Organism Synthetic construct, other sequences; artificial sequences

Parent Sources M13mp18, Lac operon, pBR322

Features ApR, β -lactamase, polylinker [EcoRI-SacI-KpnI-SmaI-BamHI-XbaI-SalIPstISphI-HindIII]

Não foram utilizadas sequências de vírus eucarióticos ou de bactérias, portanto nenhum vírus ou sequências virais podem ser transferidas ou propagadas no salmão AAS.

5 - O mapa genético utilizado no processo de transformação (transgene/vetor), indicando as regiões que especificam função - promotores, elementos reguladores em cis, genes marcadores de seleção e origem de replicação O mapa genético da construção é mostrado na Figura 10 da solicitação. A construção de opAFP-GHc2 possui **6.721 pares de bases (bp)** compreendendo 4.061 pb de DNA de peixe e 2660 pb de DNA de plasmídeo derivado principalmente de pUC18, com os elementos reguladores e suas origens de replicação, bem como a sequência de amino ácidos do GH expressa pela construção.

6 - A classificação de risco do organismo geneticamente modificado de acordo com a Resolução Normativa nº 18, de 23 de março de 2018. Em acordo com os critérios estabelecidos no Anexo 1 da Lei nº 11.105 de 2005, do Apêndice 2 das Normas de Biossegurança, e do capítulo IV, artigo 8º da Resolução Normativa nº 18, de 23 de março de 2018, o OGM descritos na solicitação é considerado como Classe de Risco 1 - “o OGM que contém sequências de ADN/ARN que não causem agravos à saúde humana e animal e efeitos adversos aos vegetais e ao meio ambiente”, e por se enquadrar no critério de não patogenicidade, resultando de organismos receptores ou parentais não patogênicos, classificados com baixo risco individual e baixo risco para a comunidade, e que não causarão doença ao homem ou animais.

7 - Os métodos utilizados para a modificação genética

O método utilizado para a obtenção do AAS foi o de microinjeção de ovos embrionados de salmão do Atlântico selvagem.

Ovos foram fertilizados por adição direta do esperma e depois lavados com uma solução de Ringer para retardar o enrijecimento devido à microinjeção. O transgene opAFP-GHc2 foi linearizado e liberado do seu plasmídeo para microinjeção por digestão com a enzima de restrição com Eco RI, submetido a extração com fenol/clorofórmio e precipitação com etanol; o co-precipitado do transgene e do vetor de DNA não foram purificados previamente a microinjeção, o precipitado foi seco e re-dissolvido em 1,0% NaCl.

Entre 2-3 horas após a fertilização, ~ 2-3 nL da solução de DNA (~ 106 cópias) foram microinjetados através do micrópila em 705 ovos individuais de salmão sob ampliação de 20X utilizando uma agulha de vidro de 5 µm (o.d.) acionada por um micro-manipulador; o volume injetado foi controlado via estimulador Grass 544 (Grass Instruments, Quincy, MA) utilizando rajadas de 100-1000 ms de nitrogênio gasoso a 200 kPa.

Após microinjeção e enrijecimento em água fresca, os ovos foram alojados em um sistema de incubação vertical em bandeja empilhadas. Filhotes jovens foram transferidos para tanques de cria na primeira alimentação.

8 - A caracterização molecular do inserto no organismo receptor, fornecendo informações relacionadas a: (1) número de cópias inseridas; (2) localização do inserto no genoma, 179 quando possível; (3) sequências flanqueadoras do gene; (4) sequência nucleotídica do transgene inserido no OGM, indicando os elementos reguladores presentes - promotores, elementos reguladores em cis, sítios de poliadenilação, introns e exons e região de terminação da transcrição

Múltiplos métodos foram utilizados para caracterizar o número de cópias e de sítios de inserção de construção gênica. Esses métodos de análise incluíram Southern Blot, amplificação por PCR e sequência de DNA.

A Figura 23b da solicitação mostram os detalhes de salmões AAS hemizigóticos F1 contendo uma única banda de hibridação de ~ 5 kb para a integração da construção opAFP-GHc2, designado EO-1α, enquanto o salmão selvagem não apresenta nenhuma banda distinta de hibridização com a sequência da sonda 5.

Uma vez que não existe nenhum sítio para a enzima de restrição Pst I na sonda 5 a presença de uma banda única de 5 kb indica **integração aleatória de uma única cópia da construção na linhagem denominada de EO-1 α** . A integração EO-1 α também foi representada por um banda única quando o DNA genômico foi digerido por Hind III e Bgl II e hibridizado com a sonda 5 e também quando o DNA digerido com Bgl II foi hibridizado com um fragmento Hpa I/Hind III de 1,2 kb (sonda 3') contendo toda a região de terminação opAFP 3'. Esses resultados indicaram a presença de uma única cópia da região do promotor opAFP 5' e da região 3' de terminação no sítio EO-1 α .

A amplificação por PCR da construção inserida também foi utilizada para análise nos peixes de geração F2, seguida pela digestão enzimática dos produtos de PCR. O PCR foi um segundo método utilizado para determinar a inserção e o número de cópias do transgene no genoma do salmão. As figuras 20 a 22 da solicitação mostram os detalhes da PCR. Ademais, a referida sessão mostra que as regiões genômicas flanqueadoras recuperadas compreenderam sequências repetidas de 35 pb, das quais a solicitante infere que a integração do transgene não prejudicou a integridade estrutural de nenhum domínio de codificação endógeno no genoma do salmão do Atlântico.

A Figura 33 da solicitação apresenta os domínios estrutural-funcionais do transgene inserido e os elementos moleculares utilizados na análise de diagnóstico e sequenciamento da construção gênica microinjetada nos ovos de salmão do Atlântico para gerar a linhagem AAS.

9 - O produto da expressão do gene inserido, alterado ou deletado, no organismo receptor, descrito em detalhes A Figura 38 da solicitação, bem como a sessão específica, apresenta a análise da expressão de GH em animais transgênicos da linhagem EO-1 α . É mostrado (A) a estrutura da construção opAFP-GHc2 que foi injetado nos ovos de salmão do Atlântico para produzir a linhagem EO-1 α do salmão do Atlântico transgênico; (B) o esquema demonstrando o transgene EO-1 α genomicamente integrado; (C) o Northern blot contendo a análise da expressão em diferentes tecidos do salmão EO-1 α ; e (D, E) as análises de RT-PCR do salmão EO-1 α .

10 - As técnicas de detecção gerais e específicas do OGM, apresentando metodologia pertinente

A presença da inserção EO-1 α foi verificada através de diferentes testes, incluindo PCR, PCR em tempo real (qPCR), análise de sequência e análise por Southern blot. A PCR multiplex tem sido usada para discriminar entre os salmões que possuem o inserto funcional EO-1 α , AAS, e os peixes que não possuem a construção gênica, salmão do Atlântico selvagem.

A análise por PCR é capaz de detectar as regiões flanqueadoras upstream and downstream do inserto, bem como o segmento do GH da inserção. No entanto, devido à **alta homologia do transgene com o gene do hormônio do crescimento endógeno**, foram observadas amplificações de bandas de DNA não esperadas (chamadas bandas fantasmas) na PCR. Portanto, um método de PCR modificado foi desenvolvido para detectar eficientemente o integrante EO-1 α para discriminar AAS de salmão do Atlântico de tipo selvagem, sem amplificação não específica dos segmentos de DNA.

Para validar o ensaio de PCR, o tecido muscular do salmão foi amplificado utilizando três pares de primers projetados para detectar as regiões flanqueadoras downstream e upstream e o segmento do GH da sequência de DNA EO-1 α integrada. Os detalhes e primers construídos são mostrados na Figura 39 da solicitação.

11 - O padrão de herança genética dos genes inseridos

O padrão de herança genética está descrito na sessão específica da solicitação e apresentam dados desde a origem da obtenção da linhagem em 1992 passando por várias gerações (F). Os detalhes são mostrados nas Tabelas 10 e 11 e nas Figuras 43 a 48.

Os dados demonstram herança Mendeliana estável de uma inserção única. Quando indivíduos hemizigotos EO-1 α foram cruzados com indivíduos hemizigotos EO-1 α aproximadamente 75% (ou seja, $73 \pm 1\%$; Média \pm Erro Padrão) dos filhos foram positivos para o transgene (Tabela 11). Quando indivíduos

transgênicos homocigotos foram cruzados com indivíduos transgênicos homocigotos ou com indivíduos do tipo selvagem, 100% da prole foram positivos para o transgene. Os dados referentes a estes cruzamentos apoiam a adesão às Leis Mendelianas de herança para o transgene EO-1 α .

12 - A descrição dos efeitos pleiotrópicos e epistáticos dos genes inseridos, quando observados Não foram observados efeitos pleiotrópicos ou epistáticos no AAS. Diferenças significativas na composição e na morfologia do AAS não foram encontradas quando comparada com o salmão do Atlântico, exceto pela sua capacidade de crescimento mais elevado na fase inicial, chegando ao mercado um peixe maior do que o salmão convencional também produzido por aquicultura.

13 - O grau de estabilidade genotípica e o número de gerações avaliadas, especificando a metodologia utilizada e as gerações avaliadas

O transgene inserido apresenta um **padrão de segregação Mendeliana** condizente com a inserção estável em um único sítio. A herdabilidade previsível do transgenótipo EO-1 α e a penetração total do fenótipo de crescimento rápido do salmão AquAdvantage foram determinados pelos métodos baseados na PCR na análise Southern blot que foram utilizados como meio de genotipagem, de acordo com a determinação da identidade, função, herdabilidade e estabilidade do inserto, os mais importantes sendo os descritos e ilustrados da Figura 49 a 57 e Tabela 14 a 23 da solicitação.

A estabilidade genotípica e fenotípica do AAS vem sendo constantemente avaliada, em todas as gerações, utilizando várias abordagens incluindo análise de sequência de DNA, análise por Southern blot e a construção gênica opAFP-GHc2 permanece inalterado e mantém-se estável no locus α por pelo menos **12 gerações** (F2 a F12) nas linhagens do AAS.

14 - As modificações genéticas incluídas no OGM que podem alterar sua capacidade de reprodução, sobrevivência, disseminação ou transferência de genes inseridos para outros organismos

Devido à sua maior taxa de crescimento, pode-se esperar que a ninhada de AAS diplóide atinja a maturidade reprodutiva em um período de tempo mais curto do que seus irmãos não-transgênicos.

As pesquisas realizadas até o momento pela solicitante sobre o AAS, particularmente sob condições naturais simuladas, geralmente **não indicam que esses peixes tenham uma vantagem reprodutiva** em comparação com seus pares não-GM.

De fato, estudos com dois fenótipos reprodutivos masculinos alternativos para o salmão do Atlântico (ou seja, grandes adultos anádromos que migraram para o mar e retornaram aos seus fluxos natais, e um pequeno par precocial que amadureceu em água doce, nunca esteve no mar) indica que o salmão transgênico GH reduziu o desempenho reprodutivo em relação aos selvagens. Entretanto, estas características parecem estar associadas ao ambiente e não à introdução de uma modificação genética.

15 - A performance obtida com o uso proposto para o OGM, baseado nos dados coletados pela requerente

De acordo com a requerente, o salmão transgênico para o hormônio do crescimento produzido para o consumo como animais triploides femininos, comercialmente conhecido como salmão AquAdvantage (AAS), são uma alternativa reprodutivamente estéril ao salmão diploide convencional cultivado que atinge o peso corporal alvo em aproximadamente metade do tempo suas contrapartes não-transgênicos e demonstram menores taxas de conversão alimentar e maior eficiência de retenção de nitrogênio quando criados em sistema de escoamento de água doce a aproximadamente 10°C. Enquanto mais ração é consumida diariamente em comparação com os animais não-transgênicos, eles precisam de 25% menos ração para atingir o mesmo peso alvo devido ao ciclo de produção mais curto.

A inserção EO-1 α confere um fenótipo hereditário caracterizado por uma especificidade uniformemente alta da taxa específica de crescimento (SGR, specific growth rate) no início da vida que normaliza durante o estágio da vida adulta. Populações de salmões jovens AquAdvantage atingem pesos e proporções

médios de corpo de animais com mais de 100 g significativamente maiores do que os obtidos pelos controles não-transgênicos.

II - CONSIDERAÇÕES PARA AVALIAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA E ANIMAL

1 - O histórico de uso na alimentação, no Brasil e em outros países do organismo parental ou doador, indicando o nível de consumo, o processamento anterior ao consumo e as espécies animais que se alimentam destes organismos

O salmão é uma comida popular em vários países. Classificado como peixe oleoso o salmão é considerado saudável devido à alta proteína do peixe, altos níveis de ácidos graxos ômega-3 e alto teor de vitamina D.

O salmão é nativo dos afluentes do Atlântico Norte (gênero *Salmo*) e do Oceano Pacífico (gênero *Oncorhynchus*). Muitas espécies de salmão foram introduzidas em ambientes não nativos, como os Grandes Lagos da América do Norte e Patagônia na América do Sul.

A produção mundial atual de salmão do Atlântico de criação ultrapassa 1.000.000 toneladas. O salmão do Atlântico de criação constitui > 90% do mercado de salmão cultivado e > 70% do mercado global total de salmão. Os principais mercados de salmão do Atlântico de criação são o Japão, a União Europeia e a América do Norte.

Quase todo o salmão consumido no Brasil vem de cultivos marinhos do Chile. Em 2019, de janeiro a dezembro, as exportações chilenas de salmões e trutas ao Brasil chegaram à cifra de US\$ 590,9 milhões, um crescimento de 3,46%, em relação ao ano de 2018.

Em água doce, o salmão do Atlântico compete com outros animais, como a truta, carpas, darters, poleiros e peixes similares.

Os predadores do salmão juvenil em água doce incluem pássaros, répteis, mamíferos e outros peixes (incluindo salmão e truta), predadores em estuários, águas costeiras e no mar incluem pássaros, peixes e mamíferos. Na água doce, o salmão juvenil é um predador oportunista de invertebrados, especialmente os que flutuam na superfície (incluindo moscas-da-índia, moscas-da-pedra, moscas-cadd, moscas e besouros). Salmões juvenis maiores comem peixes (incluindo trutas e salmões menores) e seus ovos. Nas águas marinhas, os juvenis menores se alimentam principalmente de pequenos peixes e crustáceos como euphausiids (krill), anfípodes (scud), copépodes e larvas de caranguejo. Os juvenis grandes atacam principalmente peixes.

2 - Comparações quanto a composição química e nutricional entre o alimento oriundo do OGM não modificado, in natura ou após processamento e a existência de equivalência substancial entre o OGM e seu organismo parental, incluindo a análise de anti-nutrientes, se houver

Foi realizado um estudo cego, controle-amostra, objetivando a análise da composição nutricional e hormonal do músculo-pele de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) diplóides e triploides modificado geneticamente, AAS.

Foram avaliados os valores médios determinados para cinco características, nove vitaminas, 10 minerais, 20 aminoácidos, e 28 ácidos graxos.

A composição hormonal-nutricional da pele-músculo do salmão AquAdvantage foi comparada com a do salmão controle não-transgênico utilizando uma análise de variância estatisticamente robusta e à do salmão cultivado comercialmente, utilizando meios qualitativos mais descritivos.

Com base nas questões de risco colocadas nas outras etapas deste documento (caracterização molecular da construção, caracterização molecular da construção na linhagem animal GM e avaliação fenotípica), nenhum risco indireto foi identificado.

2. PARECER:

Após a avaliação dos dados apresentados nesse dossiê de Liberação Comercial para Consumo Humano e Animal do Salmão AquaAdvantage, um salmão do Atlântico (*Salmo salar*) transgênico para o hormônio do crescimento apresentado pela empresa AquaBounty Participações Ltda e no âmbito das competências que lhe são atribuídas pelo Art. 14 da Lei 11.105/05, bem como o disposto na Resolução Normativa 24, pela análise das informações contidas na documentação que instrui esse pedido concluímos que este pedido atende ao disposto na Resolução Normativa 24 da CTNBio e que atendidas as recomendações e as medidas de biossegurança contidas no processo, considero que o pedido atende às normas e as legislações, sendo que essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou prejudicial à saúde humana.

Data: 04/05/2021

Dra. Maria José Vilaça de Vasconcelos

Membro CTNBio

Assessoria: Karime Iannini



Documento assinado eletronicamente por **Maria José Vilaça de Vasconcelos, Membro da CTNBio, representante do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações**, em 05/05/2021, às 11:33 (horário oficial de Brasília), com fundamento no art. 6º do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <http://sei.mctic.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **6941005** e o código CRC **66D28026**.