

ÉL CÓDIGO DE LA MANCHA: PATRONES MOLECULARES ASOCIADOS A LA MELANOSIS EN EL FILETE DE SALMÓN



Rayen Collipal^{1, 2, 3}

¹ Centro Experimental Acuícola (CEA), Quillaípe, Chile.

² Departamento de I+D+i, Vitapro Chile.

³ Departamento de Feed Technology, Vitapro Chile.

INTRODUCCIÓN: DESARROLLO DE LA MELANOSIS

La melanosis en el salmón, específicamente manifestada como cambios focales melanizados (MFCs), también conocidos como "manchas negras" o "*blacks spots*", representa un problema de calidad significativo y una amenaza importante para la rentabilidad de la industria de la acuicultura del salmón del Atlántico en Chile (Aquabench, 2022).

Estas alteraciones generan grandes pérdidas económicas en Chile, mientras que en Noruega las pérdidas están estimadas entre 0.5 y 1 billón de coronas noruegas anualmente, afectando hasta el 20-30% de los filetes en la planta (Bjørger et al, 2025). La comprensión actual de la melanosis ha evolucionado significativamente a lo largo de más de dos décadas de investigación. Inicialmente, se creía que los MFCs eran el resultado de la vacunación, pero estudios posteriores revelaron que el salmón no vacunado bajo condiciones de cultivo también podía desarrollar estas manchas. Esto llevó a una búsqueda más profunda de otras causas etiológicas, incluyendo ingredientes dietéticos, agentes infecciosos y factores relacionados con el manejo (Bjørger et al, 2025; Bjørger et al, 2024, Wakamatsu, et al., 2023).

Las investigaciones más recientes han establecido que los MFCs son la etapa crónica de una condición inflamatoria que se inicia como cambios focales rojos (RFCs), a menudo denominados "manchas rojas" o "hemorragias" (Wakamatsu, et al., 2023). RFCs (manchas rojas), se caracterizan macroscópicamente por hemorragias y se presentan como lesiones rojizas en el filete. Histológicamente, los RFCs muestran necrosis muscular aguda, hemorragias y una respuesta inflamatoria aguda, sin la presencia general de melanomacrófagos ni granulomas organizados. La prevalencia de RFCs se mantiene relativamente estable, alrededor del 4%, durante el período de cría en agua de mar. Actualmente se ha descrito el proceso de "transición", es decir, se han identificado formas transitorias que exhiben características tanto de RFCs como de MFCs, lo que indica una clara progresión

de una manifestación aguda a una crónica (Bjørger et al, 2025; Bjørger et al, 2024).

MFCs representan la etapa crónica y avanzada de la condición. Histológicamente, los MFCs se caracterizan por una inflamación granulomatosa, fibrosis severa, destrucción del tejido y una acumulación abundante de melanomacrófagos (Agius & Roberts, 2003; Larsen et al., 2012). El pigmento responsable del color negro es la eumelanina derivada de DOPA (3,4-dihidroxifenilalanina). La eumelanina se produce localmente por las células pigmentadas dentro de las lesiones, a diferencia de ser simplemente fagocitada. Estas células, que se desarrollan a partir de células amelanóticas que expresan genes de la familia de la tirosinasa (como tirosinasa y *Tyrp1*), se melanizan a medida que la condición progresa (Wakamatsu, et al., 2023)

ETIOLOGÍA DE LA MELANOSIS

Se ha descrito que la melanosis focal (Figura 1.3), mancha negra definida, con un 70% de prevalencia en la zona crano-ventral en filete de salmónes, sobre todo en la especie del salmón del Atlántico (*Salmo salar*) con un 19% de presencia en planta de cosecha, mientras que para el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) la prevalencia reportada es de 5% y para la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es de 03%, en todos los casos es una condición compleja y de etiología multifactorial (Bjørger et al, 2024)

Es importante destacar que, en Chile, se ha reportado la presencia de melanosis extendida sobre todo en la región de los Aysén y Magallanes (Figura 1.2)

La evidencia científica más reciente sugiere que la hipoxia celular y la necrosis de la grasa. Las condiciones hipóxicas en los RFCs, probablemente causadas por hemorragias traumáticas, inducen una necrosis especializada del tejido adiposo (grasa). Esta necrosis grasa conduce a la liberación de material lipídico, la formación

de pseudoquistes y una reacción tipo mioesferulosis (una mezcla de lípidos y eritrocitos (Bjørngen et al, 2025; Bjørngen et al, 2024). Aunque PRV-1 no es la causa inicial de los RFCs, su presencia está consistentemente asociada con los MFCs de alto grado con inflamación granulomatosa (Malik et al., 2021). El virus se replica activamente dentro de macrófagos y melanomacróforos en estas lesiones, actuando como un desencadenante crónico de la inflamación y modulando la progresión y severidad de la condición. La infección por PRV-1 induce un ambiente proinflamatorio con macrófagos M1 que luego se polarizan a M2 en las MFCs crónicas (Bjørngen & Koppang, 2024; Malik et al., 2021; Larsson et al., 2012). Los daños mecánicos/traumas y manejos/baños/muestreos son muy probables durante el ciclo de cultivo, por lo que los traumas físicos, incluidos los asociados con fracturas de costillas o el manejo excesivo de los peces, sean una causa de aparición de los RFCs, ya que los movimientos vigorosos del salmón pueden causar microtraumas y hemorragias (Wakamatsu, et al., 2023). La composición del alimento, especialmente el alto contenido de grasa y el desequilibrio de ácidos grasos (Omega-6 vs Omega-3), pueden aumentar la susceptibilidad en la prevalencia y severidad de los MFCs, por lo que utilizar una dieta más magra y rica en proteínas podría ser beneficiosa. El problema es específico del cultivo del salmón, por lo que las mismas prevalencias no se han observado en el salmón salvaje, lo que sugiere que las condiciones de cultivo, como la densidad de la población y la saturación de oxígeno, pueden influir en su aparición. Además, la menor incidencia de MFCs en salmones coho y la trucha arcoíris, a pesar de condiciones de cría similares, podría deberse a diferencias en el metabolismo lipídico y la acumulación de carotenoides eritrocitos (Bjørngen et al, 2025; Lutfi et al., 2023; Mock et al., 2019).

ESTUDIO TRANSCRIPTÓMICO

Con la finalidad de obtener nuevos datos a los reportados mediante los enfoques de estudios tradicionales descritos por la literatura científica. Se realizó un estudio transcriptómico a muestras de músculo con melanosis focal, extendida e inducida y muestras de músculo control.

Las ventajas del análisis del transcriptoma son:

1. Identificación de procesos biológicos no descritos previamente
El análisis transcriptómico ha permitido descubrir rutas moleculares y procesos celulares involucrados en la melanosis que no habían sido reportados en estudios anteriores (Beemelmans et al., 2021).

2. Mayor resolución temporal y espacial

A diferencia de los estudios histológicos o bioquímicos clásicos, la transcriptómica permite observar cambios dinámicos en la expresión génica en distintas etapas del desarrollo de la melanosis, desde las lesiones iniciales (RFCs) hasta las fases crónicas (MFCs) (Bjørngen et al., 2024).

3. Detección temprana y biomarcadores

Este enfoque puede ayudar a identificar biomarcadores tempranos de la histopatología, lo que facilitaría estrategias de prevención o intervención más eficaces (Leal et al., 2023).

4. Comprensión integral del sistema

Permite analizar simultáneamente miles de genes, ofreciendo una visión sistémica del fenómeno o hallazgo, en lugar de centrarse en unos pocos genes o proteínas (Taylor et al., 2022).

5. Aplicabilidad práctica en la industria

Los conocimientos generados pueden ser utilizados para desarrollar soluciones nutricionales o de manejo en la producción acuícola, con impacto directo en la calidad del producto y la rentabilidad (Valenzuela-Muñoz, et al., 2023).

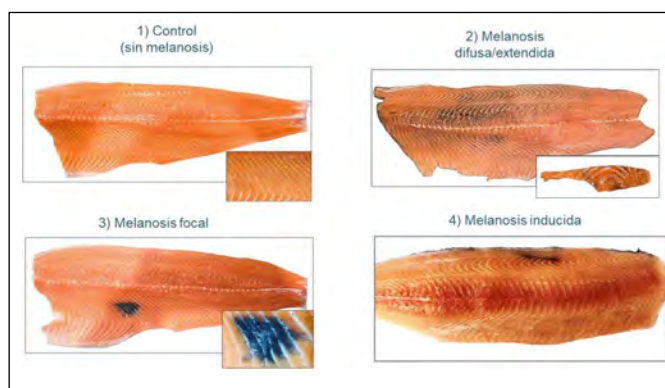


Figura 1: Fotografías de filetes de salmón del Atlántico con hallazgo de melanosis 2) Extendida, 3) Focal e 4) Inducida.

METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

Las muestras fueron obtenidas desde una planta de proceso de un productor de salmón de la región de Los Lagos, excepto la muestra correspondiente a la melanosis inducida, la cual fue obtenida desde el CEA (Centro Experimental Acuicola de Vitapro Chile), por medio de metodología estandarizada para producir

melanosis de manera controlada con un 96% de prevalencia. Para cada hallazgo se tomaron 6 muestras por grupo, a las cuales se les extrajo ARN mensajero total procurando la máxima pureza e integridad. Para luego ser enviadas a secuenciar a Corea del Sur con el apoyo técnico del laboratorio INNOVOGEN, Chile.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según el flujo de trabajo de un estudio transcriptómico, los resultados preliminares permiten obtener un análisis de componentes principales (PCA, en inglés), el cual permite visualizar agrupaciones o diferencias entre muestras (por ejemplo, entre músculo de salmones con y sin melanosis). La figura 2, presenta las comparaciones resultantes:

De la figura 2 se observan que los patrones de expresión de los genes diferencialmente expresados entre las comparaciones son distintos. A su vez, el patrón entre el gráfico 1) y el gráfico 2), son patrones similares, grupo control más cercano al PC2 y el grupo con melanosis cercano al PC1. A diferencia de la comparación del gráfico 2): Control vs Extendida, las muestras sin melanosis (control) y las muestras con melanosis, extendida si bien están agrupadas entre sí, los patrones de expresión resultaron más cercanos al PC2 y más lejanos del PC1, lo que indica que las diferencias entre grupos son más sutiles en esta comparación 2) que en las anteriores 1) y 3). Luego se identificaron la totalidad de genes diferencialmente expresados (figura 3)

De la figura 3 se observa que el orden de magnitud expresión de los Genes Diferencialmente Expresados (DEGs, sigla en inglés) del gráfico 1) y 3) son cercanos entre sí (104). Ya que para la comparación Control vs Focal resultaron 10.711 DEGs mientras para la comparación Control vs Inducida resultaron 11.220 DEGs. Mientras que para la comparación 2): Control vs Extendida la magnitud de DEGs fue 2.288 (103).

Con esta información y mediante un análisis de enriquecimiento se identificaron las rutas o procesos biológicos en los que intervienen los DEGs (figura 4).

De la figura 4, se observa en verde los procesos biológicos donde los genes que intervienen están sobreexpresados, ahí los procesos que destacan son los relacionados al sistema inmune, señales de transducción, a la organización de la matrix extracelular, apoptosis, mientras que los procesos subexpresados destacan la contracción muscular, metabolismo del ARN y el metabolismo en general.

Los procesos descritos son compartidos entre las muestras de músculo con melanosis focal y con melanosis inducida.

Mientras que las rutas biológicas que se sobreexpresan cuando se comparan las muestras sin melanosis con melanosis extendida son las señales de traducción (expresión génica), metabolismo de proteínas, metabolismo del ARN y el sistema inmune. Las rutas subexpresadas son el transporte de moléculas pequeñas y el ciclo celular sobre todo en su fase G2 (figura 4, 3). Solo al visualizar los resultados obtenidos por el Reactome, se infiere que tanto la noxa (daño o causa inicial) como su desarrollo en el músculo es diferente al origen y desarrollo de la melanosis focal.

PATRONES MOLECULARES ASOCIADOS A LA MELANOSIS FOCAL

Con la información obtenida de las comparaciones de las muestras control, sin melanosis y las muestras con melanosis focal e inducida. En la figura 5 se plantea un esquema con los potenciales patrones moleculares involucrados en el desarrollo de la melanosis focal.

POTENCIALES CAUSAS DE LA MELANOSIS FOCAL

Una de las interacciones con otras rutas ya comentadas a la apoptosis, fue la inflamación, la reparación del ADN, y la senescencia celular. En la figura 7, se observa que la ruta biológica descrita para la senescencia celular presentó la totalidad de los genes diferencialmente expresados.

Las rutas KEGG (del inglés *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*), ofrece una visión integrada y esquemática de los procesos que conducen a la senescencia. Los cuales incluye: 1) vías de señalización clave: *p53*, *p16^{INK4a}/Rb*, *MAPK*, *PI3K-Akt*; 2) factores desencadenantes: daño en el ADN, oncogenes, estrés oxidativo y 3) efectores celulares: detención del ciclo celular, secreción de *SASP* (fenotipo secretor asociado a senescencia).

La senescencia celular es un proceso en el que las células dejan de dividirse, pero no

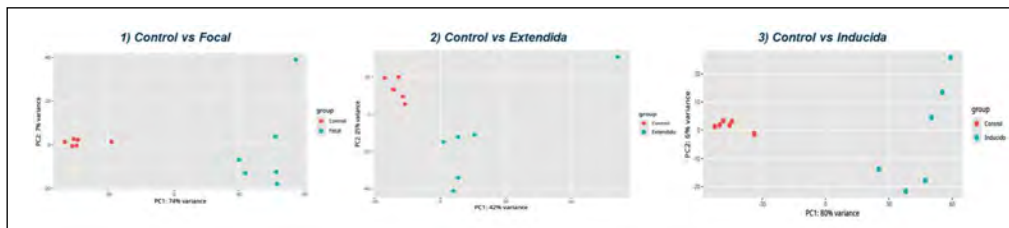


Figura 2: Gráficas resultantes del análisis de componentes principales para las comparaciones de interés: 1) Control vs Focal; 2) Control vs Extendida; 3) Control vs Inducida.

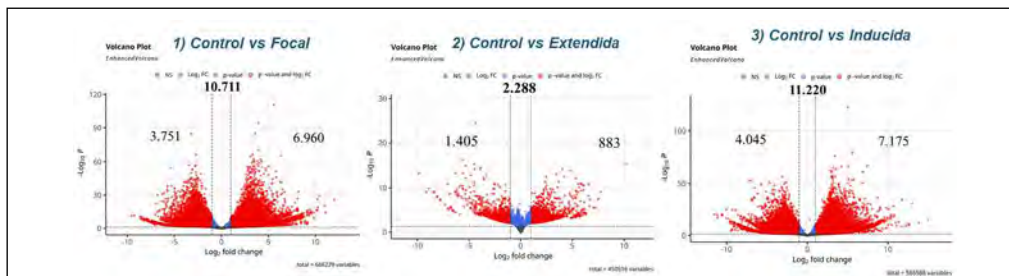


Figura 3: Gráfico de volcán para visualizar la relación entre el cambio de expresión (Log_2 fold change) y la significancia estadística ($-\log_{10}$ p-valor) de los genes diferencialmente expresados para: 1) Control vs Focal; 2) Control vs Extendida; 3) Control vs Inducida. Se observa en cada gráfica la cantidad total de genes diferencialmente expresados, a la izquierda los subexpresados y a la derecha sobreexpresados diferencialmente.

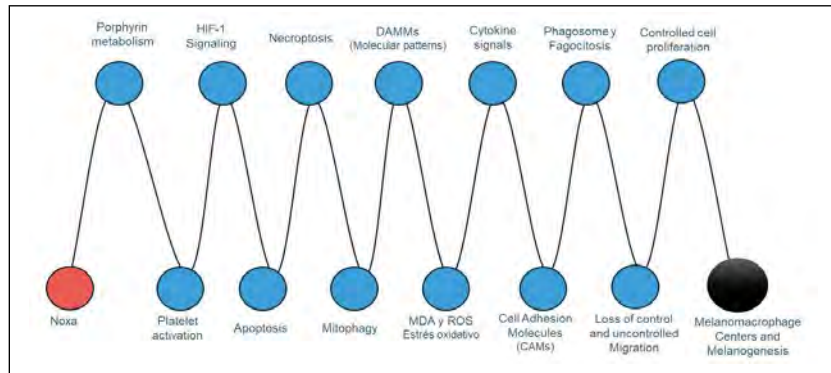


Figura 5: Esquema putativo sobre los patrones moleculares asociados a la melanosis focal. Se observa en rojo la noxa que desencadena la respuesta molecular involucrada en los RFCs (hemorragias) y la transición hacia los MFCs (melanosis).

Figura 4: Representación visual de Reactome® de los procesos biológicos donde intervienen los genes diferenciales sobrexpresados (verde) y subexpresados (rojo).

mueren (Antelo-Iglesias et al., 2021). Entran en un estado de reposo y liberan sustancias que pueden causar inflamación y daño a las células cercanas (Gems et al., 2021). Por lo tanto, es una célula que pierde estructura, por lo tanto, funcionalidad y se caracteriza por tener 1) morfología aplanada y agrandada; 2) actividad de la beta-galactosidasa asociada a la senescencia (*SA-b-gal*); 3) secreción de citoquinas inflamatorias, 4) factores de crecimiento y por presencia de metaloproteinasas de matriz, fenotipo secretor asociado a la senescencia (*SASP*).

CONCLUSIONES

La melanosis en el salmón atlántico bajo condiciones de cultivo intensivo es un problema complejo que se desarrolla a partir de hemorragias agudas (RFCs), que pueden ser iniciadas por trauma y condiciones hipóxicas celular que llevan a reacciones de necrosis de la grasa en el músculo. Estas lesiones iniciales pueden progresar hacia inflamaciones crónicas y melanizadas (MFCs), un proceso que es modulado y agravado por la persistencia y replicación del PRV-1.

La predisposición del filete a acumular grasa y las condiciones de cultivo también son factores clave en su desarrollo. Estudios transcriptómicos como el presente, que utilizan bases de datos biológicos como KEGG y Reactome, son herramientas poderosas para la investigación de rutas biológicas que están involucrados en el desarrollo de la melanosis en el músculo de salmónes como la senescencia celular, la cual no ha sido reportada en trabajos anteriores.

Determinar los genes diferencialmente expresados y posicionarlos en procesos biológicos permite una comprensión rápida y visual de los procesos implicados, además, de que ofrecen una exploración profunda de los mecanismos moleculares implicados. Su uso en conjunto enriquece significativamente el análisis de datos ómicos y la interpretación biológica de los genes identificados para aplicarlos en el diseño, validación e implementación de potenciales biomarcadores durante el ciclo del cultivo del salmón.

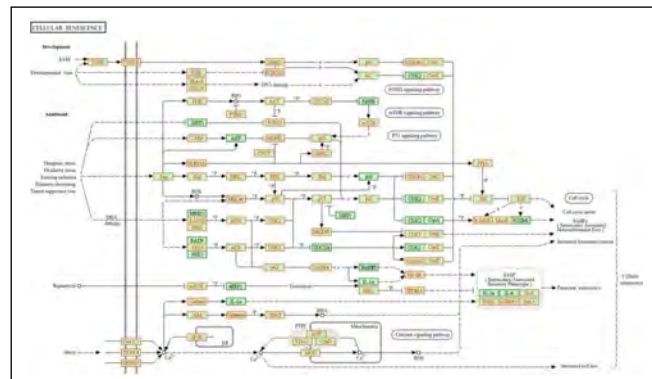


Figura 6: Ruta de senescencia celular en KEGG (map04218) presentada en función del estudio transcriptómico de melanosis focal e inducida.

BIBLIOGRAFIA

Aquabench Proyecto Melanosis:

<https://aquabench.com/en/2022/09/05/melanosis-project/>

Agius, C., & Roberts, R. J. (2003). Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *Journal of Fish Diseases*, 26(9), 499–509. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x>

Antelo-Iglesias, L., Picallos-Rabina, P., Estévez-Souto, V., Da Silva-Álvarez, S., & Collado, M. (2021). The role of cellular senescence in tissue repair and regeneration. *Mechanisms of Ageing and Development*, 198(111528), 111528. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111528>

Bjørgen, H., Brimsholm, M., Asserson, C. F., Skaar, K., Knutsen, G. M., Oaland, Ø., Haldorsen, R., Fjellidal, P. G., Hansen, T., Rimstad, E., Kleist, B. A., Lund-Iversen, M., Kowalewski, M. P., & Koppang, E. O. (2024). Deciphering the pathogenesis of melanized focal changes in the white skeletal muscle of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Fish Diseases*, 47(10), e13988. <https://doi.org/10.1111/jfd.13988>

Bjørgen, H., Haldorsen, R., Oaland, Ø., Kvellestad, A., Kannimuthu, D., Rimstad, E., & Koppang, E. O. (2019). Melanized focal changes in skeletal muscle in farmed Atlantic salmon after natural infection with Piscine orthoreovirus (PRV). *Journal of Fish Diseases*, 42(6), 935–945. <https://doi.org/10.1111/jfd.12995>

Bjørgen, H., Rimstad, E., & Koppang, E. O. (2025). Melanisation in Salmonid skeletal muscle: A review. *Journal of Fish Diseases*, 48(3), e14063. <https://doi.org/10.1111/jfd.14063>

Gems, D., Kern, C. C., Nour, J., & Ezcurra, M. (2021). Reproductive suicide: Similar mechanisms of aging in *C. elegans* and pacific salmon. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 688788. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.688788>

Krasnov, A., Moghadam, H., Larsson, T., Afanasyev, S., & Mørkøre, T. (2016). Gene expression profiling in melanised sites of Atlantic salmon fillets. *Fish & Shellfish Immunology*, 55, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.012>

Leal, Y., Valenzuela-Muñoz, V., Casuso, A., Benavente, B. P., & Gallardo-Escárate, C. (2023). Comparative Transcriptomics in Atlantic Salmon Head Kidney and SHK-1 Cell Line Exposed to the Sea Louse Cr-Cathepsin. *Genes*, 14(4), 905. Doi: 10.3390/genes14040905.

Larsen, H. A. S., Austbø, L., Mørkøre, T., Thorsen, J., Hordvik, I., Fischer, U., Jirillo, E., Rimstad, E., & Koppang, E. O. (2012). Pigment-producing granulomatous myopathy in Atlantic salmon: A novel inflammatory response. *Fish & Shellfish Immunology*, 33(2), 277–285. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.05.012>

Larsson, T., Mørkøre, T., Kolstad, K., Østbye, T.-K., Afanasyev, S., & Krasnov, A. (2012). Gene expression profiling of soft and firm Atlantic salmon fillet. *PLoS One*, 7(6), e39219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039219>

Lutfi, E., Berge, G. M., Bæverfjord, G., Sigholt, T., Bou, M., Larsson, T., Mørkøre, T., Evensen, Ø., Sissener, N. H., Rosenlund, G., Sveen, L., Østbye, T.-K., & Ruyter, B. (2023). Increasing dietary levels of the n-3 long-chain PUFA, EPA and DHA, improves the growth, welfare, robustness and fillet quality of Atlantic salmon in sea cages. *The British Journal of Nutrition*, 129(1), 10–28. <https://doi.org/10.1017/s0007114522000642>

Malik, M. S., Bjørgen, H., Nyman, I. B., Wessel, Ø., Koppang, E. O., Dahle, M. K., & Rimstad, E. (2021). PRV-1 infected macrophages in melanized focal changes in white muscle of Atlantic salmon (*Salmo salar*) correlates with a pro-inflammatory environment. *Frontiers in Immunology*, 12, 664624. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.664624>

Mock, T. S., Francis, D. S., Jago, M. K., Glencross, B. D., Smullen, R. P., Keast, R. S. J., & Turchini, G. M. (2019). The impact of dietary protein: lipid ratio on growth performance, fatty acid metabolism, product quality and waste output in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 501, 191–201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.012>

Valenzuela-Muñoz, V., Gallardo-Escárate, C., Valenzuela-Miranda, D., Nuñez-Acuña, G., Benavente, B. P., Alert, A., & Arevalo, M. (2023). Transcriptome Signatures of Atlantic Salmon—Resistant Phenotypes against Sea Lice Infestation Are Associated with Tissue Repair. *Genes*, 14(5), 986. <https://doi.org/10.3390/genes14050986>

Wakamatsu, K., Dijkstra, J. M., Mørkøre, T., & Ito, S. (2023). Eumelanin detection in melanized focal changes but not in red focal changes on Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23). <https://doi.org/10.3390/ijms242316797>