



# Melanin

*resultater og utfordringer*

Turid Mørkøre

# HVA ER MELANIN?

- Pigmenter som finnes i fleste dyr og planter
- Kraftig antioksidant
- Gir mørk farge
- Naturlig del av laksens immunsystem

• UØNSKET I LAKSEFILET



Veterinærinstituttet  
National Veterinary Institute



FISKERI- OG HAVBRUKSNÆRINGENS  
FORSKNINGSFOND



marineharvest



## Mørke flekker i laksefilet 2012-2015

-Årsaker til forekomst og forebyggende tiltak

### Prosjektbeskrivelse

#### Sammendrag:

Det overordnede målet er å forhindre dannelse av mørke flekker i laksefilet. I dette ligger en søken etter årsaker til at flekkene oppstår for at kunne anbefale tiltak som kan bidra til å løse problemet. Aktivitetene i prosjektet er delt i fire arbeidspakker (AP): <sup>1</sup>Kartlegging, <sup>2</sup>Vaksine og helse, <sup>3</sup>Fôr og <sup>4</sup>Sortering og skade. Det vil være et nært samarbeid mellom AP1-4, som vil gå parallelt i perioden 2012 og ut 2014.

#### Går til:

Fiskeri og havbruksnæringens  
forskningsfond

Rutinemessig kartlegging av forekomst av mørke filetflekker utføres av kvalitetskontrollører ved filetanlegg med geografisk spredning. Registreringene danner grunnlag for etterrettelig statistikk samt dybdeanalyse for å avdekke årsakssammenhenger. To basispopulasjoner med PIT-tag merket uvaksinert og vaksinert (ulike regimer) laks produseres: nullårsmolt (BP0+) og ettårsmolt (BP1+). Etter vaksineringsundersøkes laksen jevnlig for mørke filetpigmenter frem til slakt. Produksjonsparametere, morfometri og blod analysees også. Mørke filetflekker undersøkes ved avbildende spektroskopi, foto, histologi, sammensetning og genuttrykk. Øvrige kvalitetsegenskaper undersøkes av utvalgt fisk. BP0+ vil i en 3 måneders periode for slakt få et slutfôr med og uten forhøyet sink, vitamin E eller førtoksiner (ulike vaksinereregimer blandet i merder). BP1+ vil undersøkes mht effekt av lavt sinknivå frem til vaksinerings samt fra sjøtsett til slakt. I



# Prosjektet

Registrering &  
statistikk

Vaksine & helse

«BLACK  
SPOTS»

Fôr & fôring

Stress & skade

## Melanin i bukvegg

- Registrert før vaksinerings

## Melanin i organer

- Registrert etter vaksinerings

## Melanin i filet

- Registrert i sjø
- *1/2 kg 5%, 1 kg 10%, men veldig små flekker*

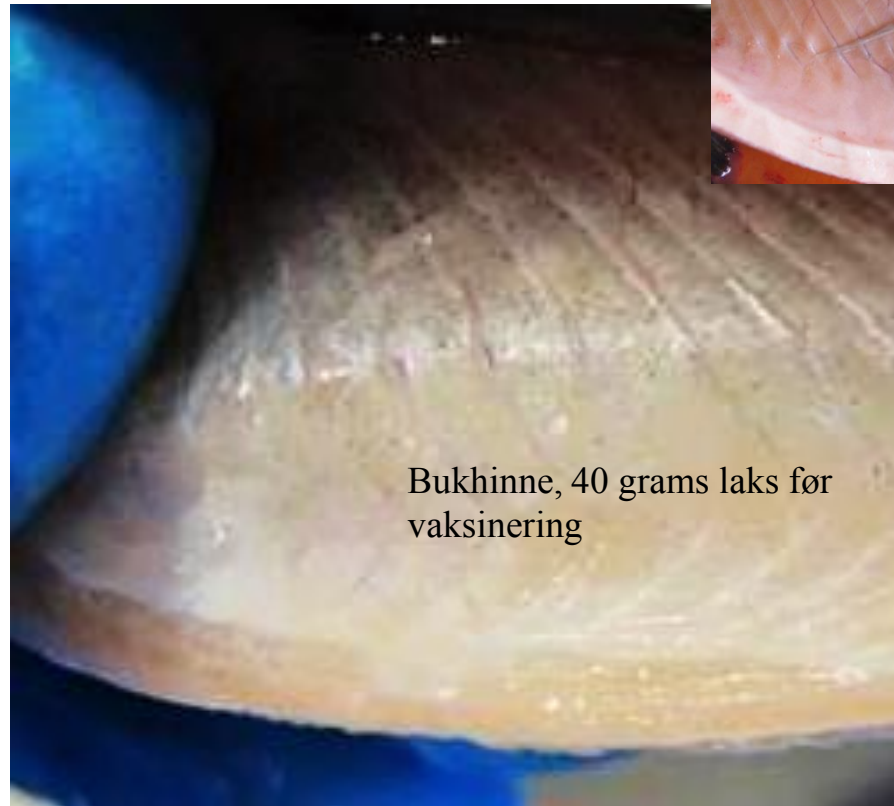


Ettåring, fulgt fra yngel til slakt

## Melanin i bukvegg forekommer i liten fisk før vaksinerings

Stress kan øke mørkpigmentering av bukhinnen

- Underfôring
- Trenging



Bukhinne, 40 grams laks før vaksinerings



Ettårring, fulgt fra yngel til slakt

## Melanin i filet

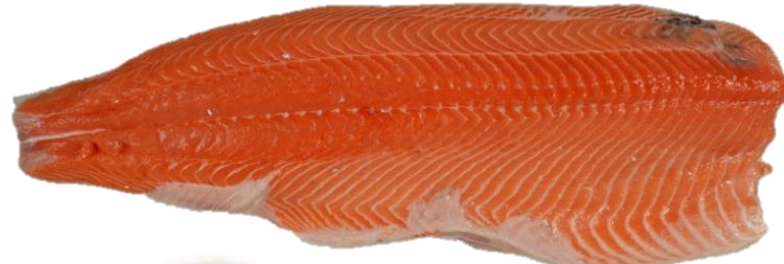
- $\frac{1}{2}$  kg 5%, 1 kg 10%, men veldig små flekker
- Flekker i både vaksinert og uvaksinert laks



Disse  
filetene er  
av 1,5kilos  
laks



# Mørk- pigmentering

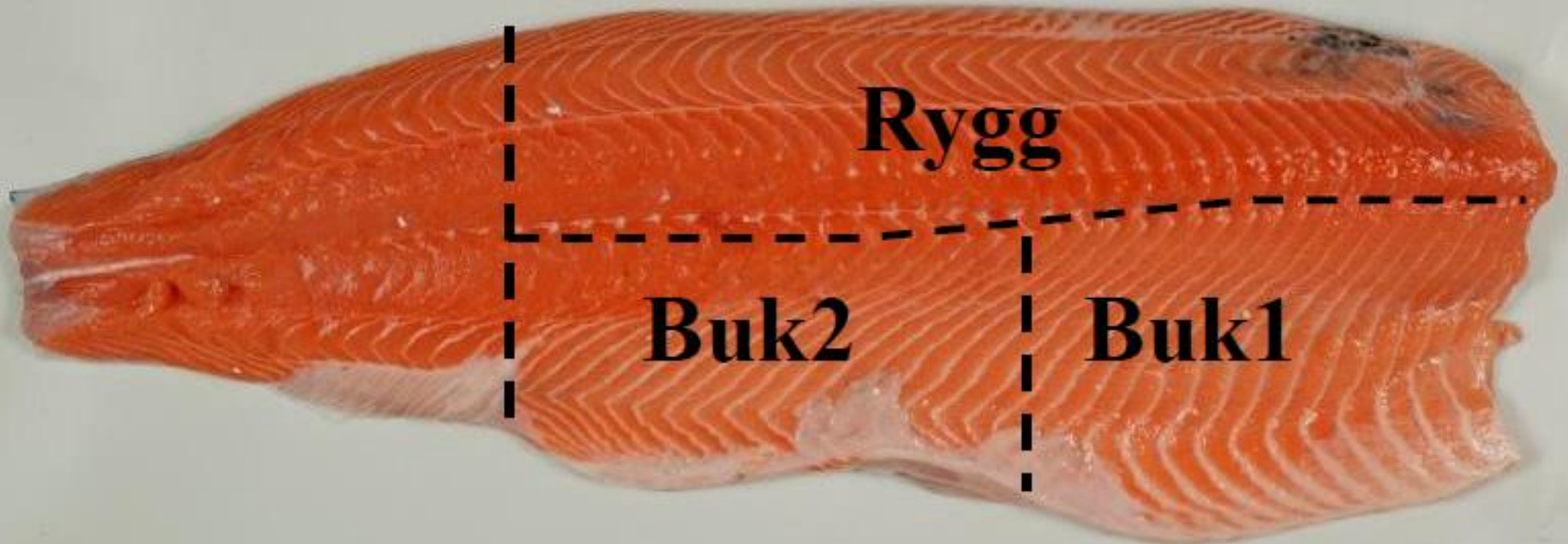






# Ekstreme tilfeller

# Registreringer




MELANINREGISTRERING revidert 062014.xlsx - Microsoft Excel

Fil | Hjem | Sett inn | Sideoppsett | Formler | Data | Se gjennom | Visning | Acrobat

Fra Access | Fra webområde | Fra tekst | Fra andre kilder | Eksisterende tilkoblinger | Oppdater alt | Tilkoblinger | Egenskaper | Rediger koblinger | Tilkoblinger | Sorter og filter | Avansert | Tekst til kolonner | Fjern duplikater | Datavalidering | Konsolider | Hva-skjer-hvis-analyse | Grupper | Del opp gruppe

M101

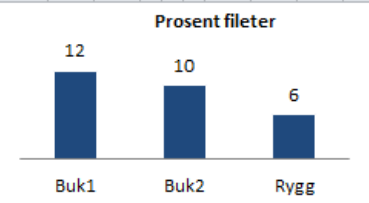
FLEKKER (poeng)			
Ingen misfarging	0	Flekk 3 - 6cm	4
Diffus flekk, alle størrelser	1	Område større enn 6cm	8
Flekk mindre enn 3cm	2	Gjennomsnitt	0.50



FLEKK (poeng)					Totalt %
1	2	4	8		
Buk1	5	4	3	0	12
Buk2	6	4	0	0	10
Rygg	3	2	1	0	6
<b>Total</b>	<b>14</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	

skjema sendes til [thomas.larsson@nofima.no](mailto:thomas.larsson@nofima.no)

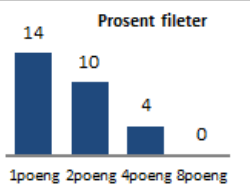
Prosent fileter



Antall (%) fileter med flekk(er)

**25**

Prosent fileter



F. eks. om det er fisk med flere flekker innenfor samme område eller avvik for partiet (bløt filet, brus, deformiteter e.l.)

**SPØRSMÅL SOM BESVARES FOR HVER GRUPPE FISK SOM BEDØMMES**  
**Sett gjerne ? der informasjon mangler**

Prosessanlegg navn/nr:		Kvalitetsklasse:	
Navn på bedømmer:		Superior	<input type="checkbox"/>
Lokalitetsnr (navn):		Ordinær	<input type="checkbox"/>
Dato ved slakt:		Produksjon	<input type="checkbox"/>
Dato ved måling:			
Vektklasse:			

**TILLEGGSINFORMASJON**

Smolt

Leverandør: \_\_\_\_\_

Utsett måned: \_\_\_\_\_ år: \_\_\_\_\_ Stamme: \_\_\_\_\_

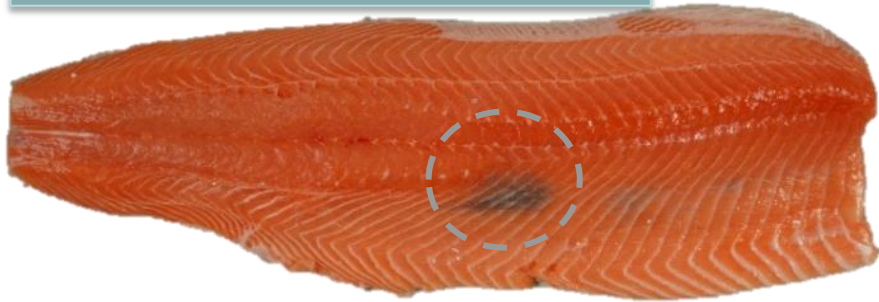
Klar



# Flekker

Statistikk

Mere vanlig i Sør/Midt-Norge



Mest vanlig  
(70% av alle flekker)



I 93% av tilfellene sitter flekken i ribbeinsområdet, 2-4cm nedenfor ryggbeinet

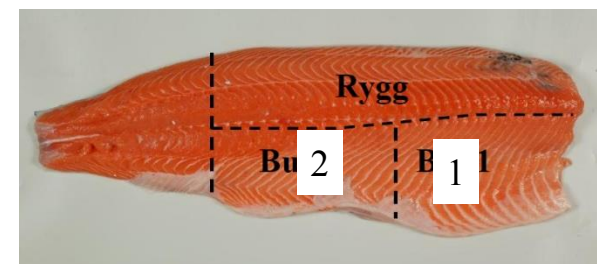
Spot 86%  
Diffus 6%  
Annet 8%



Mest  
problematisk

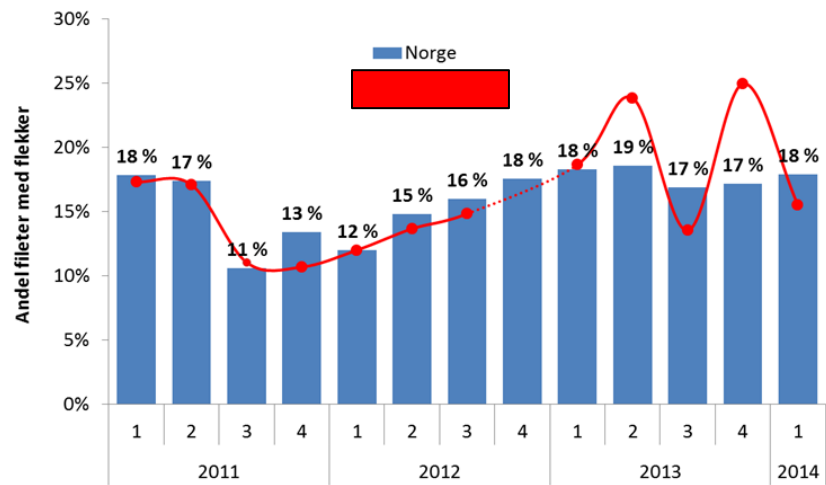
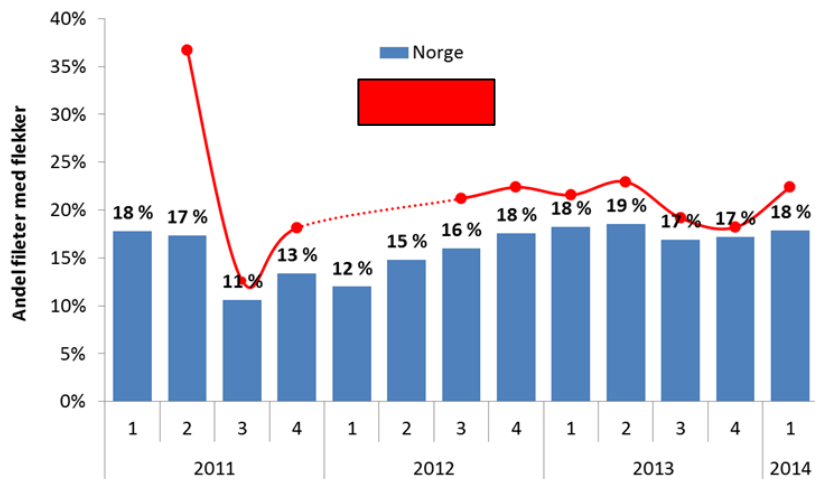
# Mørke flekker - utvikling

	Frekvens	Buk	Rygg	Antall reg.
2011	13.4%	12.6%	0.8%	35.000
2012	16.1%	15.3%	0.8%	25.000
2013	17%	16.1%	1.8%	40.000
2014	18%			

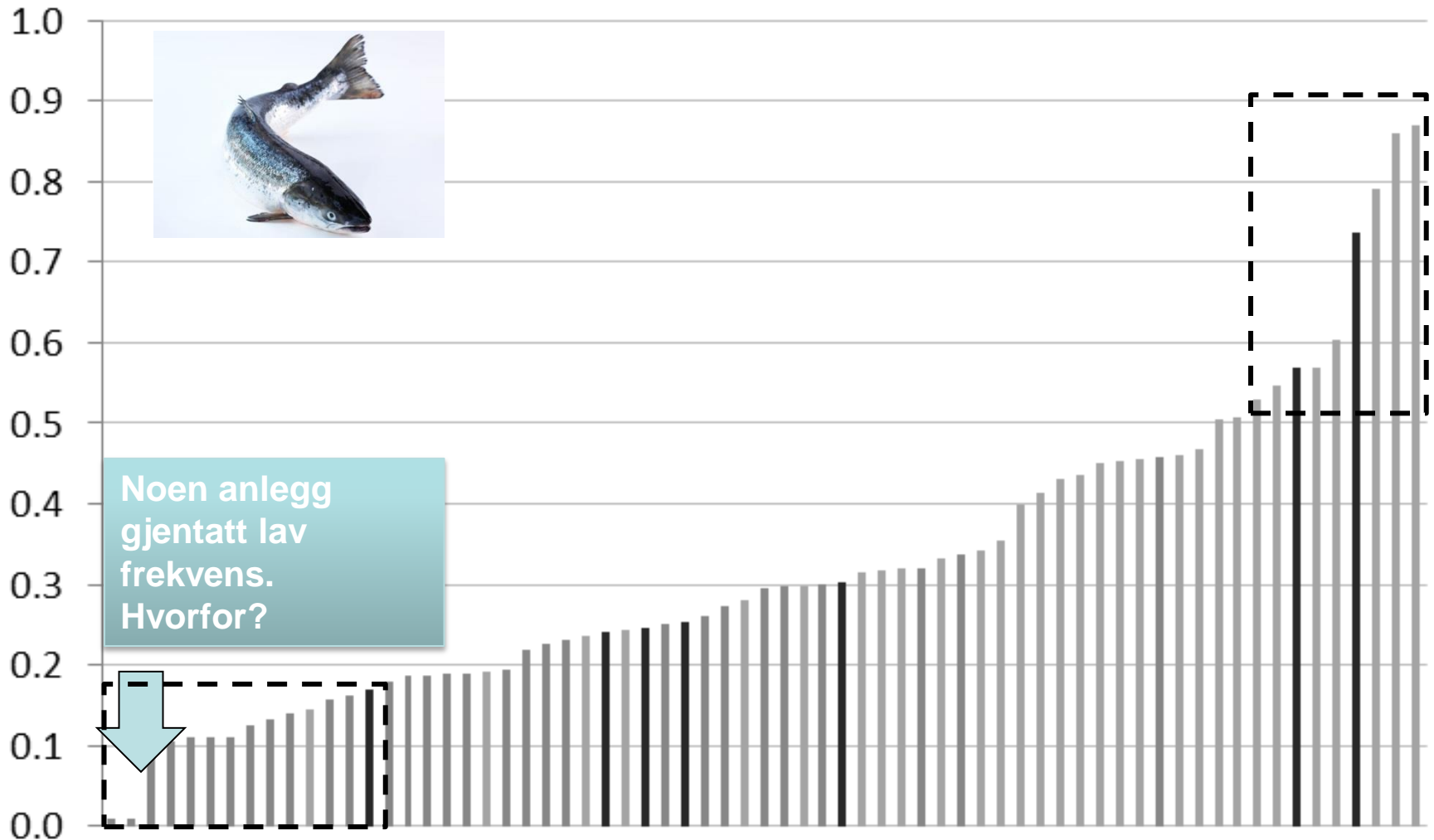




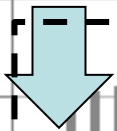
## Kvartalsrapporter



# Sjøanlegg



Noen anlegg  
gjentatt lav  
frekvens.  
Hvorfor?



All bakgrunnsinformasjon er anonymisert

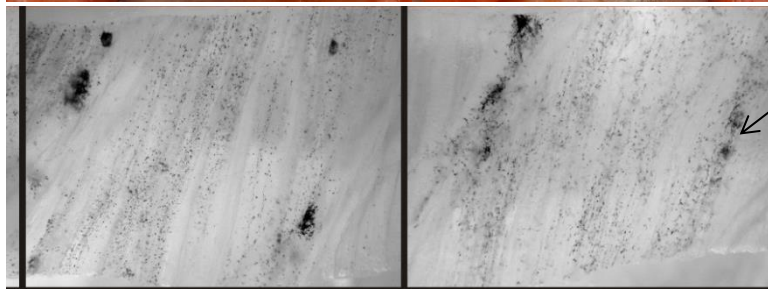
# Klemskader, 1 kg laks

- Kan gi blødninger i muskel
- Melanin synlig etter 3 mnd
- Borte etter 6 mnd
  
- Ytre slag- og trykkskader kan gi blødninger i kjernemuskulatur

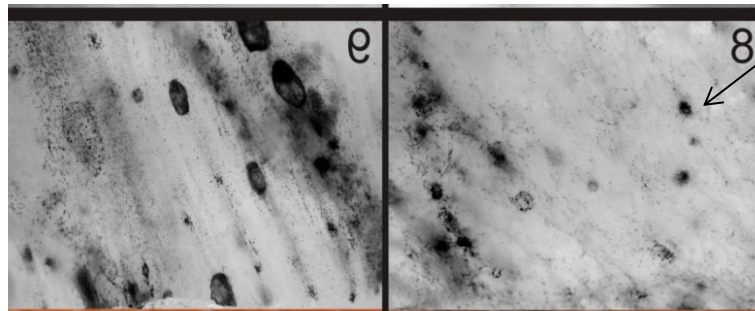
# Flekker i filet, generelt



- Flekker i bukveggen forårsakes av lokal betennelse i muskelen, som regel under bukhinnen
- Vevsendringene utvikles over lang tid (kronisk)
- Flekkene sitter i ribbeinsområdet, oftest 2-4 cm nedenfor ryggraden
- Utenfor flekkområdet har fileten normal sammensetning, farge og tekstur











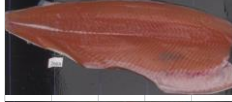
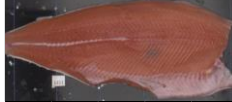


Melanin









	Akutt betennelse	Kronisk betennelse	Fibrøs	Granulom	Muskel degenerasjon	Muskel regenerasjon	Melanin	Akutt betennelse	Kronisk betennelse	Fibrøs	Granulom	Muskel degenerasjon	Muskel regenerasjon	Melanin
	0	0	0	0	1 (sparsom)	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	Mulig	Mulig	Mulig	0	Mulig	Mulig	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	1	1	Mulig	Mulig	Mulig	1	0	0	0	0	1	0	0
	0	1	1	Mulig	1	Mulig	1	na	na	na	na	na	na	na
	0	1	1	0	1	mulig	1	na	na	na	na	na	na	na
	0	1	1	1	1	mulig	1	na	na	na	na	na	na	na
	0	1	1	1	1	mulig	1	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	mulig	1	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0

## Microarray vist:

Samme profil, uavhengig av makro og mikroskopisk vurdering

Problemet har utviklet seg over lang tid

Apoptose

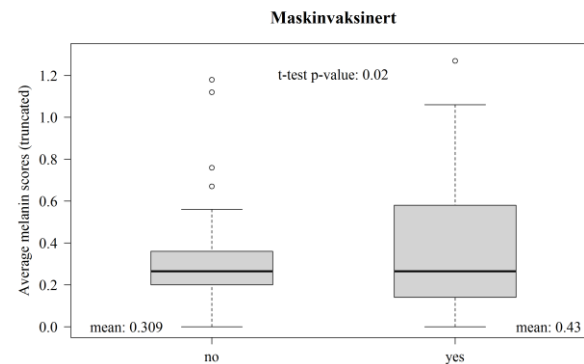
400 immungener oppregulert.  
Sterk oppregulering av T celle og B celle

Fluks av udiff lymfocytter  
Nedsatt/ ingen sirkulasjon i vevet

- Auto-immumreaksjon, dvs at kroppens immunsystem feilaktig angriper friske celler?

# Responsen på betennelsen i vevet påvirkes av

- Vaksinetype
- Vaksinerings
- Fôr
- Oppdrettsvilkår

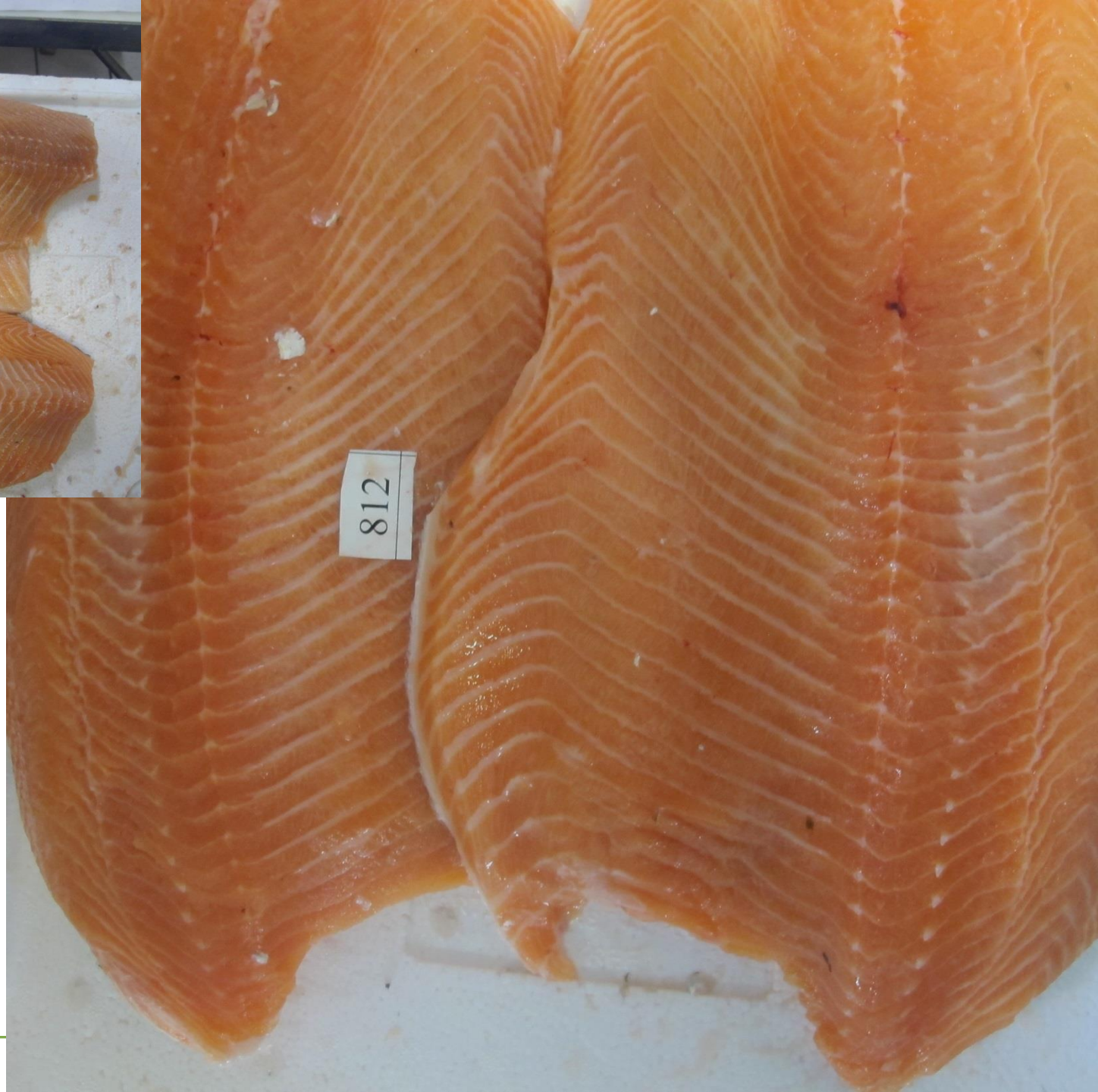


Men hva er primærsaken?

## Andre karakteristika

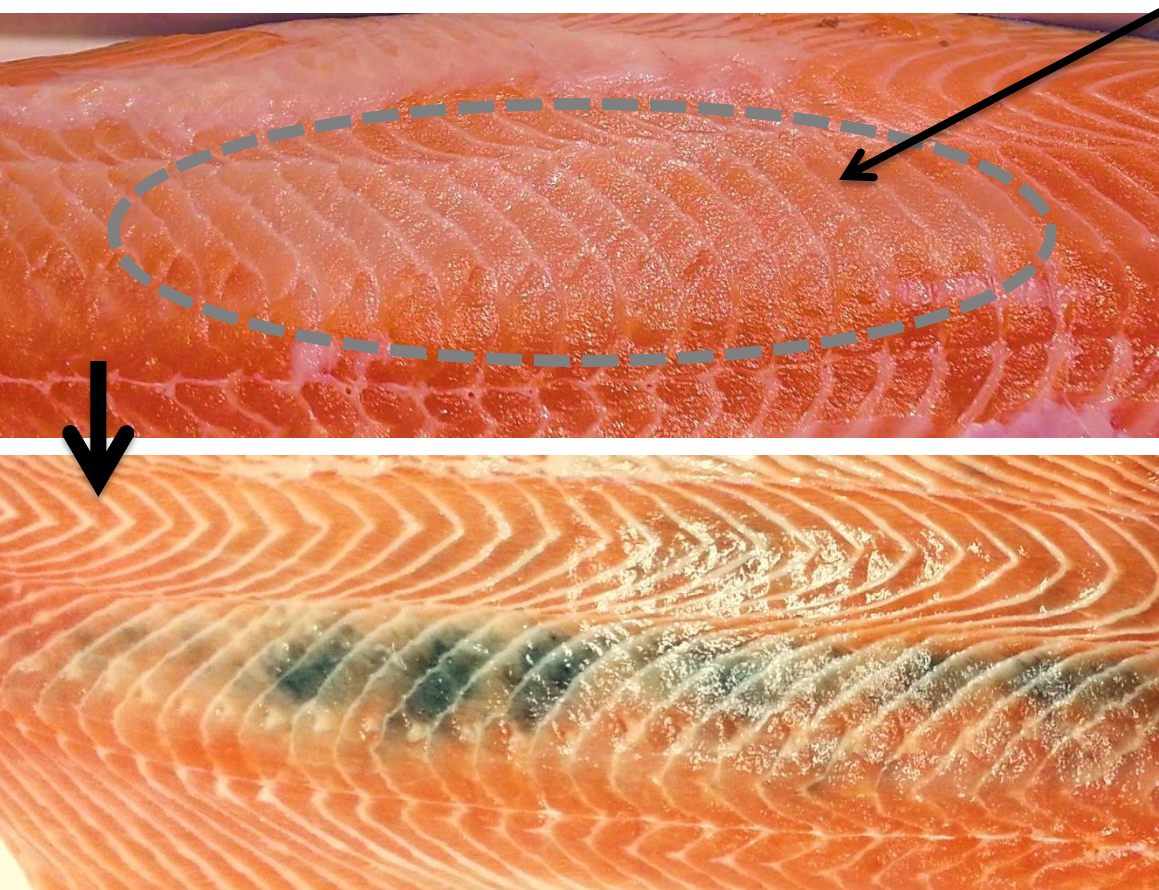
Høyere nivå i vev fra mørk flekk ( $P < 0.05$ )

- Zn, P, Se, K, Mg, Fe
- pH
- bindevev
- Hard muskel
  
- Ingen «farlige» komponenter funnet
- Ikke forskjell mellom høyre og venstre side



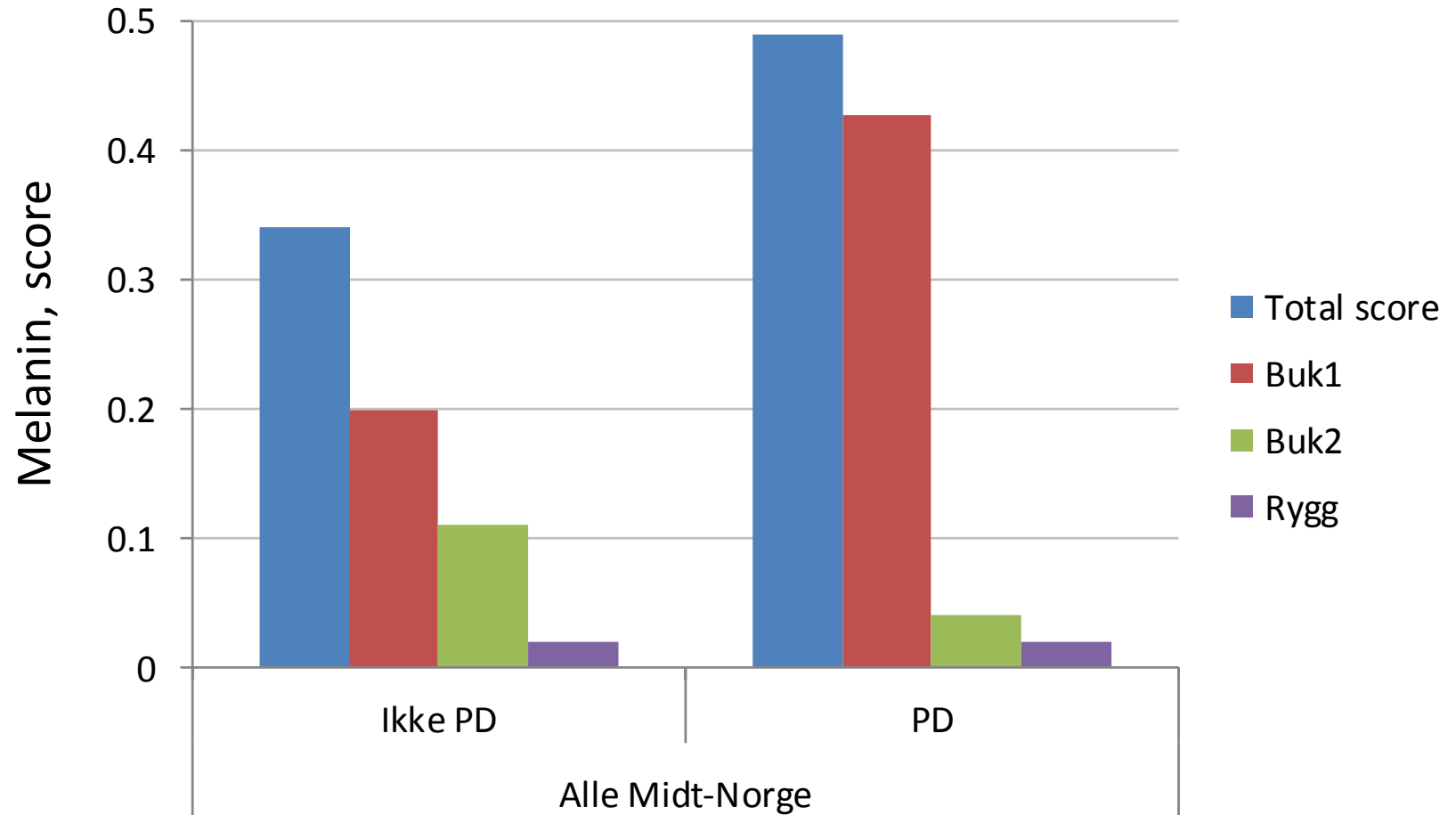


**Inflammatory condition, dorsal muscle**  
**- no pathogens detected**



**Økt frekvens observert ved brå temperaturøkning i sjø, stress/  
trenging i forbindelse med slakting av laks med avfarget muskel**  
**Observerer tilsvarende tilstand etter PD utbrudd**

# Økt forekomst etter PD utbrudd Andre sykdommer?

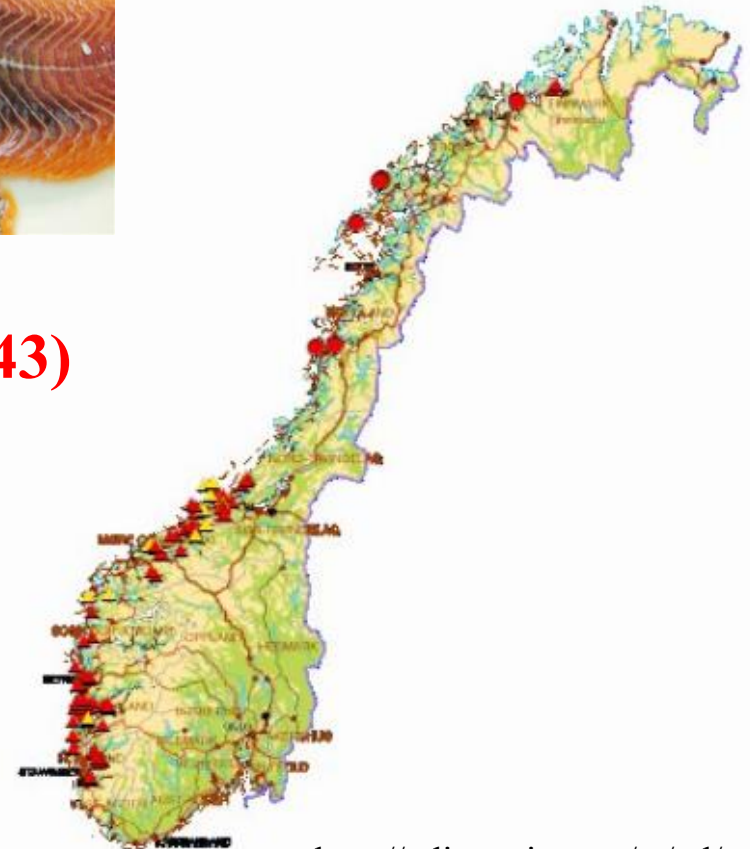


# Melanin under skinnet - en utfordring



2011  
2012

89 (8 tilfeller SAV 2)  
113 (SAV3 96, **SAV2 43**)



# AVL & GENETIKK, indikasjoner

Arvelig komponent inne i bildet

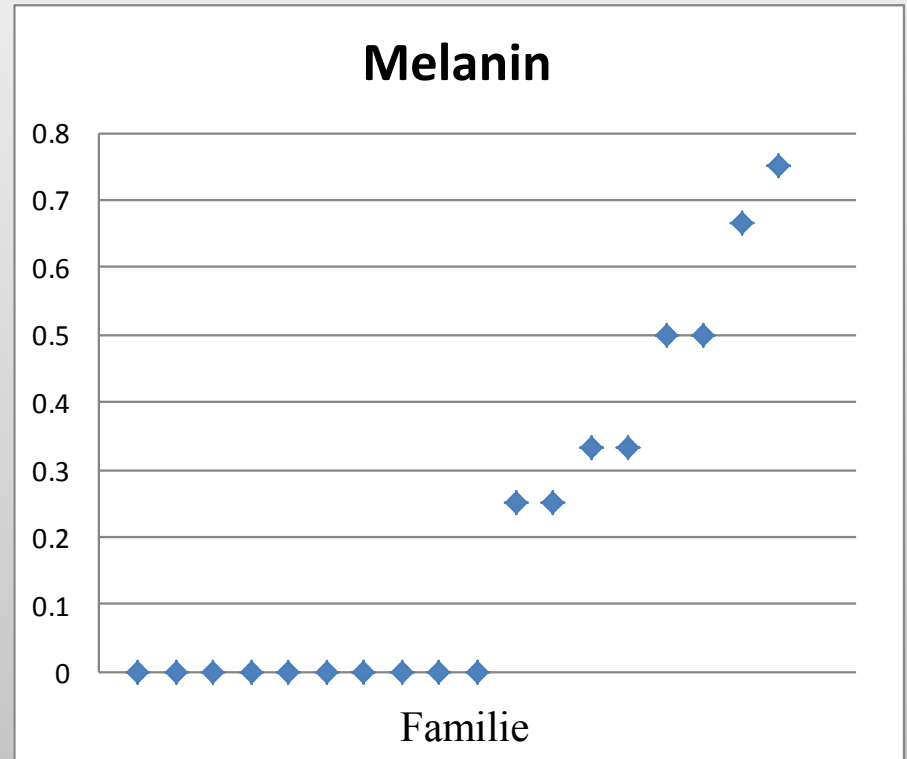
Familier med høy IPN overlevelse har mer melanin i filet

Ny studie, august 2014

Undersøkt ca 2000 laks  
fra 100 familier i august (SB)

Resultatene er under  
prosessering

Fiskematerialet er tilstrekkelig  
stort til å kunne avsløre  
arvelighet







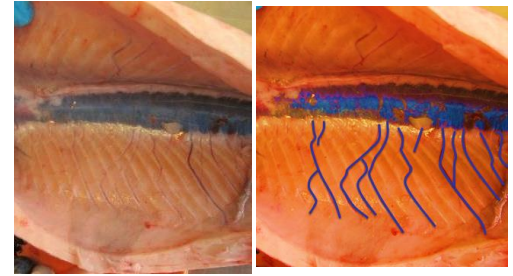


# Tiltak

- Begrense stikkskader ved vaksinerings
- PD
- Ikke presse nullårringen – skånsomt temperaturregime



# Utfordringer



- **Hvorfor** oppstår den lokale betennelsen?
  - Mer kunnskap om anatomien og fysiologien
- I praktisk oppdrett varierer mange faktorer samtidig
  - Fiskematerialet, fôr, miljøforhold, helsetilstand.  
Nyttig å kombinere overvåking av praktisk oppdrett med forsøk under kontrollerte betingelser

# FAQ, frequently asked questions (www.fhf.no)

Updated December 2015

## MELANIN DEPOSITION IN SALMON FILLETS

### Frequently asked questions

Dark discoloration of salmon fillets is mainly due to the deposition of melanin pigments. The discoloration may have different manifestations, from localized spots to more diffuse and widespread melanisation on the fillet side or under the skin/subcutaneously. Dark stained fillets cannot be sold as high quality products and therefore represent a significant economic problem for the salmon farming and processing industry



### What is melanin?

- Melanin is a group of natural pigments found in most plants and animals
- Melanin is a powerful natural antioxidant
- In humans, melanin (eupigment) is the primary determinant of skin colour

### What causes melanin deposition in salmon fillets?

- Melanin pigments are deposited as a response to tissue damage or local inflammatory conditions
- Melanin deposition is a natural part of a fish's immune system
- Dark discoloration of salmon fillets is mainly due to melanin deposition, but dark spots can also contain blood pigments and scar tissue or a combination of melanin, blood and scar tissue.
- The causality is complex, and not related to one single cause.

### Is it safe to consume fillets with melanin deposits

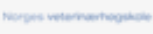
- Melanin is a safe and natural antioxidant
- Melanin can be used as a natural antioxidant in the food, cosmetic and pharmaceutical industries
- Dark pigments in various foods, such as oysters, are additives.

The information given in the FAQ is derived by the partners in the FHF project

"Dark spots in salmon fillets: Causes and preventive measures"

For further information, please contact:

Turid Markare e-mail [turid.markare@nofima.no](mailto:turid.markare@nofima.no) or Kristian Gjøvre e-mail [kristian.gjovre@tvf.no](mailto:kristian.gjovre@tvf.no)



Updated December 2015

## Occurrence of melanin spots in salmon fillets

- Approximately 12% of Norwegian salmon fillets have lightly stained spots smaller than 5cm in diameter and 2% of the fillets have darker spots larger than 5cm on average.
- Most spots (70%) are located in the front part of the abdomen
- Dark spots are also observed in wild living salmon, hence it is not likely that the phenomenon will disappear completely

## What is being done to reduce the presence of dark fillet spots

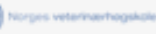
- The Norwegian Seafood Research Fund (NHF), on behalf of the farming industry, has supported research on dark fillet spots since 2008 to reveal causes, provide reliable statistics and to define measures to reduce the problem. The research within this area was intensified in 2012, involving several industrial stakeholders and research communities.
- Reliable statistics require good, consistent, continuous and comprehensive recording of dark fillet spots. Therefore unified registrations at filleting plants along the Norwegian coast have been developed and implemented. Registrations of frequency and severity together with background data (genetics, vaccines/fish health, food, rearing, harvesting etc.) is collected in a database to provide reliable and updated statistics. Information on fish origin is used to search for causes to the problem. However, such an epidemiological approach requires patience as the results evolve on a long-term basis. Updated statistics on the frequency of dark spots are published continuously.
- Specific ongoing research projects (apart from the registrations/ epidemiological study)
  - o Vaccine and vaccination
  - o Food composition
  - o Environmental rearing conditions
  - o The importance of physical trauma and stress
  - o In depth characterization of fillets with dark pigmentation to improve our ability to define causes

The information given in the FAQ is derived by the partners in the FHF project

"Dark spots in salmon fillets: Causes and preventive measures"

For further information, please contact:

Turid Markare e-mail [turid.markare@nofima.no](mailto:turid.markare@nofima.no) or Kristian Gjøvre e-mail [kristian.gjovre@tvf.no](mailto:kristian.gjovre@tvf.no)





**ТАКК!**