

**О ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛИЧИНОК
ANISAKIS SIMPLEX И *DIBOTHRIOCEPHALUS*
NIHONKAIENSIS ДЛЯ РАЗГРАНИЧЕНИЯ ЛОКАЛЬНЫХ
СТАД ГОРБУШИ ЮЖНОГО САХАЛИНА**

© 2023 г. **Е.В. Фролов** (spin: 5874-9180),
С.В. Новокрещенных (spin: 9381-1159)

Сахалинский филиал Всероссийского научно-исследовательского института
рыбного хозяйства и океанографии (СахНИРО), Россия, Южно-Сахалинск, 693023
E-mail: s.novokreshennyh@sakhniro.ru

Поступила в редакцию 20.03.2023 г.

В работе обозначена теоретическая возможность использования личинок *Anisakis simplex* и *Dibothriocephalus nihonkaiensis* в качестве биологических меток для разграничения локальных стад горбуши южного Сахалина. Установлены различия заражённости генераций горбуши чётных и нечётных лет. Выявлены различия заражённости япономорской и тихоокеанской локальных группировок рыб.

Ключевые слова: горбуша, *Oncorhynchus gorbuscha*, *Dibothriocephalus nihonkaiensis* pl., *Anisakis simplex* l., юго-восточный Сахалин, юго-западный Сахалин, Дальний Восток, япономорская локальная группировка, тихоокеанская локальная группировка.

ВВЕДЕНИЕ

Дифференциация локальных стад горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* Дальневосточного региона является одной из важнейших задач ихтиологических исследований. Для её реализации используются такие методы как морфобиологический (изучение биологических показателей (Антонов, 2005; Кириллова и др., 2018; Пустовойт, 2022)), анализ склеритограмм (Иванова, 2003; Каев и др., 2020), исследование структуры темпоральных группировок (Каев, 2012). Широко применяется молекулярно-генетический (Глубоковский и др., 1989; Животовский и др., 2013; Лапшина, 2023), методы отолитного маркирования (Стекольников 2015; Стекольников и др., 2018) и использование навесных меток (Каев, Рослый, 1987; Антонов и др., 2014). В качестве дополнительного метода для разграничения локальных

стад рыб используется и паразитологический метод. Для горбуши о. Сахалин подобные исследования предпринимались в 90-х гг. XX в. (Вялова и др., 1999). В результате исследований установлено, что между основными промысловыми районами южного Сахалина существуют различия в заражённости мускулатуры горбуши плероцеркоидами *Dibothriocephalus nihonkaiensis* и личинками *Anisakis simplex*. Для сравнения средних значений заражённости (И.О.) горбуши в основных рыбопромысловых районах юга Сахалина, авторы использовали параметрический критерий (коэффициент Стьюдента). Авторами, сделан вывод о том, что результаты исследований свидетельствуют в пользу концепции локальных стад горбуши.

В то же время, И.П. Муратов и Т.А. Семенова (1990) анализируя заражённость горбуши личинками *D. nihonkaiensis* в устье Амура и на севе-

ро-западном Сахалине, пришли к мнению, что эти плероцеркоиды не могут быть использованы в качестве индикаторов для разграничения локальных стад дальневосточных лососей.

Первой работой, в которой предприняты попытки использовать паразитов в качестве биологических меток, принято считать публикацию В. Херингтона (Herrington, 1939). Само понятие паразит-индикатор впервые фигурирует в работе Ю.Л. Мамаева с авторами (1959). В дальнейшем, идея о паразитах индикаторах широко поддерживается как отечественными (Мамаев и др., 1959; Ахмеров, 1963; Коновалов, 1967) так и зарубежными (Gibson, 1972; Moser, 1991; Mosquera et al., 2003; Mattiucci, 2006; Reed et al., 2012) исследователями и в течение XX в. формируется теория о паразитах индикаторах. Окончательно теория об использовании паразитов в качестве биологических меток формулируется к 2014 г. (Mackenzie et al., 2014) постулаты теории успешно применяются на практике (Бакай, 2021; Poblete et al., 2022).

Цель работы – оценить возможность использования *Dibothriocephalus nihonkaiensis* pl. и *Anisakis simplex* l. в качестве биологических меток для разграничения локальных стад горбуши Сахалина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе использованы материалы собранные сотрудниками лаборатории микробиологии паразитологии и генетики (ранее лаборатория болезней рыб). Использовались стандартные методы сбора и фиксации (Быховская-Павловская, 1985).

За период исследований с 1992 по 2022 гг. неполным паразитологическим вскрытием обследовано 7457 экз. горбуши (табл. 1) выловленной в устьях рек юго-западного (Невельский, Холмский, Углегорский р-ны) и юго-восточного

Таблица 1. Объём паразитологических исследований горбуши Сахалина

Год исследований	Район исследований/ количество рыб	
	юго-восточное побережье	юго-западное побережье
1992	247	100
1993	244	229
1994	300	193
1995	239	244
1996	100	198
1997	168	100
1998	200	100
1999	300	120
2000	295	270
2001	250	100
2002	100	150
2003	150	*
2004	150	100
2005	150	*
2006	100	*
2007	99	*
2008	100	*
2009	50	*
2010	50	*
2011	25	*
2012	30	*
2013	130	*
2014	100	*
2015	75	*
2016	25	*
2018	51	*
2019	200	*
2020	25	*
2021	100	*
2022	100	*

Примечание: * – вскрытие не проводилось.

побережий Сахалина (Корсаковский, Долинский р-ны) (рис. 1).

При сравнении заражённости горбуши генерации чётных и нечётных лет объём обследованных рыб составил 3994 и 3463 особей соответственно.

Для разграничения япономорской и тихоокеанской локальных группировок горбуши сделано допущение, что вся рыба, выловленная с мая по середину июня, на юго-западном побережье острова является япономорской горбушей. Рыба, пойманная в июле-августе в зал. Мордвинова, относится к тихоокеанской локальной группировке (Гриценко, 1981; Каев, 2002).

При сравнении заражённости горбуши юго-западного и юго-восточного побережий использованы материалы, собранные с 1992 по 2004 гг., объём обследованных рыб составил 1904 и 4153 экз. соответственно (табл. 1).

Авторы принимали непосредственное участие в сборе и обработке материала с 2000 (Е.В. Фролов) и с 2018 (С.В. Новокрещённых) гг.

Для разграничения локальных группировок рыб с помощью биологических меток существует множество подходов: метод рандомизации (Manly, 1997), анализ частотного распределения (Rosza et al., 2000), непараметрический дискриминантный анализ (Henriquez et al., 2011), канонический многогранный анализ (Braicovich et al., 2012) и многие другие.

В нашей работе в соответствии с типом распределения (рис. 2), сравнивали средние значения с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни.

Аналогичный тип распределения характерен для личинок *A. simplex* и *D. nihonkaiensis* у горбуши во всех районах исследования.

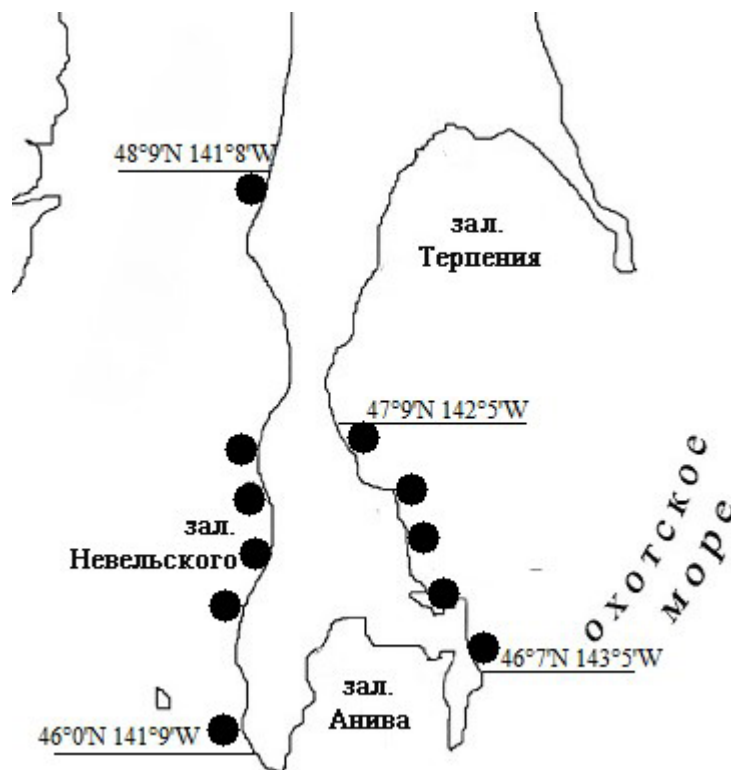


Рис. 1. Схема районов сбора материала в 1992–2022 гг.

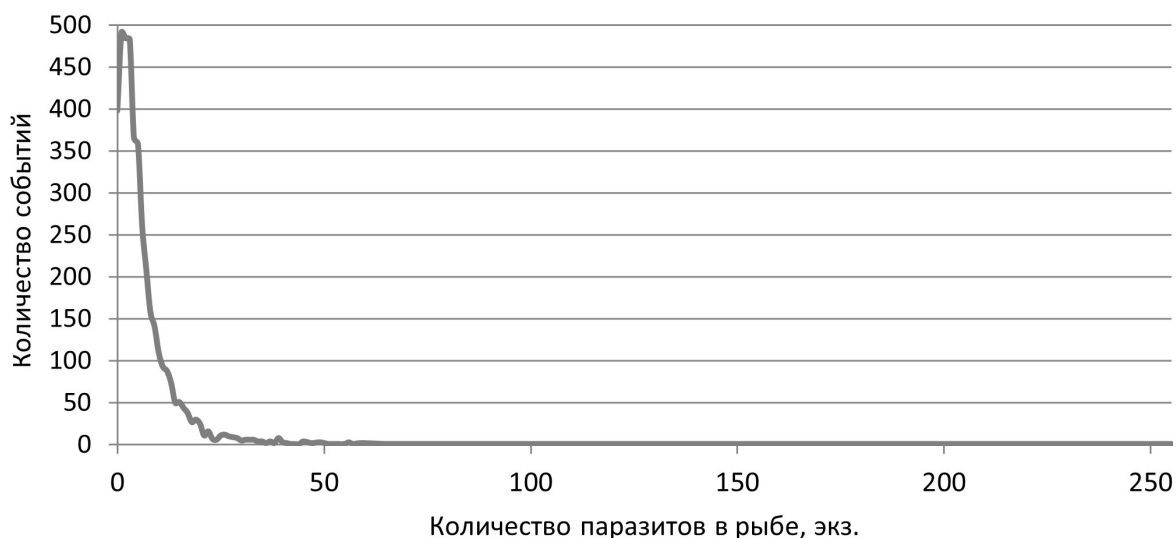


Рис. 2. Тип распределения *Anisakis simplex* l. за период исследований горбуши с 1992 по 2022 гг. на юго-восточном побережье (n=4153).

В работе использованы следующие сокращения:

- l. – Larvae (личинка нематод)
- pl. – Pleroceroïd (личинка цестод)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Для использования паразита в качестве биологической метки в работе Маккензи (Mackenzie et al., 2014) обозначен ряд условий:

Паразит должен иметь значительно различающиеся уровни заражения хозяина в разных частях изучаемой территории (автор не указывает, об уровнях значимости различий цит.: The parasite should have significantly different levels of infection in the subject host in different parts of the study area).

Паразит должен сохраняться в хозяине в течение длительного периода времени, рекомендуется использовать паразитов с продолжительностью жизни более 1 года.

Рекомендуется использовать паразитов с жизненным циклом одного хозяина (рекомендация относится к половозрелым паразитам).

Уровень заражения должен оставаться достаточно постоянным из года в год. Пробы для исследования на наличие паразитов следует брать более чем за один сезон и в течение периода не менее 2 лет.

Паразит должен быть легко обнаружен и идентифицирован. Обследование хозяина должно включать минимальное рассечение, в противном случае время может стать ограничивающим фактором.

Следует избегать паразитов, которые являются серьёзными патогенами и/или влияют на поведение хозяина

Одним из наиболее важных требований, среди прочего, является пункт 4, постоянство регистрации биологических меток у хозяина. Цестоды *Dibothriocephalus nihonkaiensis* pl. и нематоды *Anisakis simplex* l. являются обычными паразитами лососевых рыб и регистрируются у горбуши ежегодно, на протяжении всего периода наблюдений. Динамика заражённости паразитами в разных районах исследования отличается (рис. 3, 3а, 4, 4а, 5, 5а, 6, 6а). Личин-

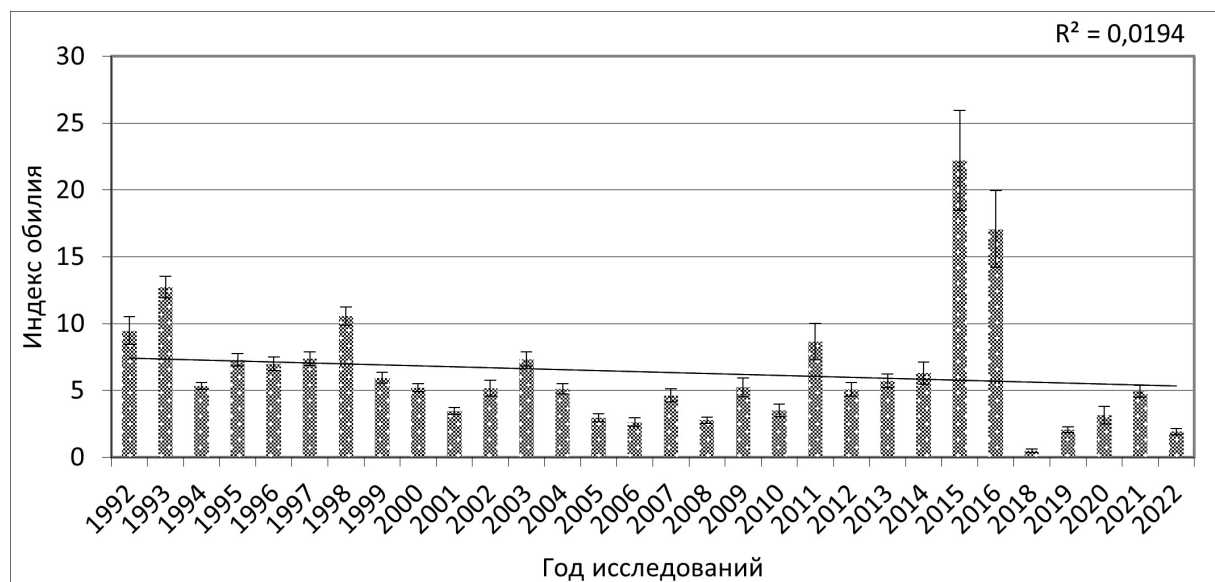


Рис. 3. Динамика заражённости горбуши юго-восточного побережья Сахалина личинками *A. simplex*.

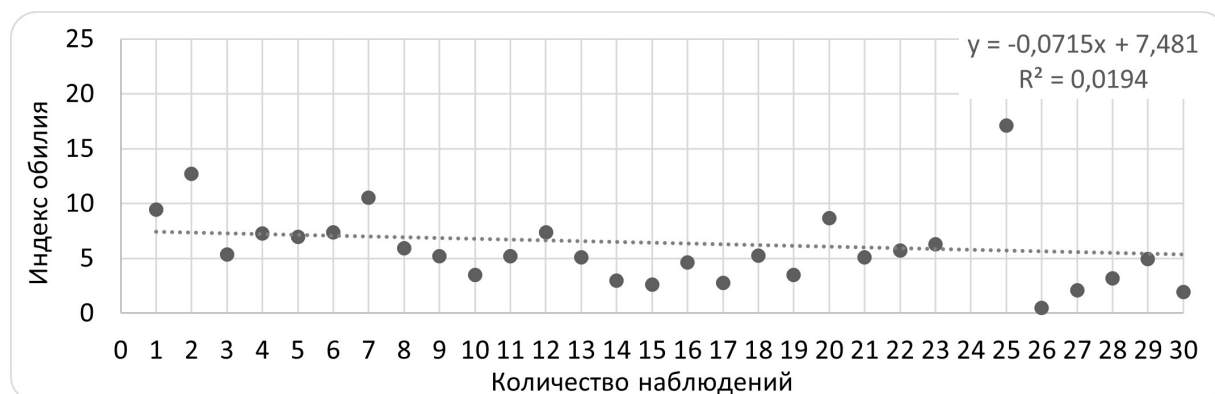


Рис. 3а. Автокорреляция заражённости горбуши юго-восточного побережья Сахалина личинками *A. simplex*.

ки сохраняются в хозяине на протяжении всего жизненного цикла, легко регистрируются, не являются серьёзными патогенами для горбуши и не влияют на поведение хозяина.

Личинки *A. simplex* D. и *nihonkaiensis*, удовлетворяют требованиям, предъявляемым к паразитам-индикаторам. Исследователи признают биологические различия для горбуши чётных и нечётных лет, а также наличие локальных стад нагуливающих в разных районах (япономор-

ская и тихоокеанская горбуша) (Гриценко, 1981; Каев, 2002; Каев, Животовский, 2016). Проверка теории о биологических метках осуществлялась, опираясь на указанные выше утверждения.

Для оценки возможности использования паразитов в качестве биологических меток было проведено сравнение заражённости (индексов обилия) горбуши для генерации чётных и нечётных лет (табл. 2). Заражённость горбуши чётных и нечётных лет достоверно различается (ве-

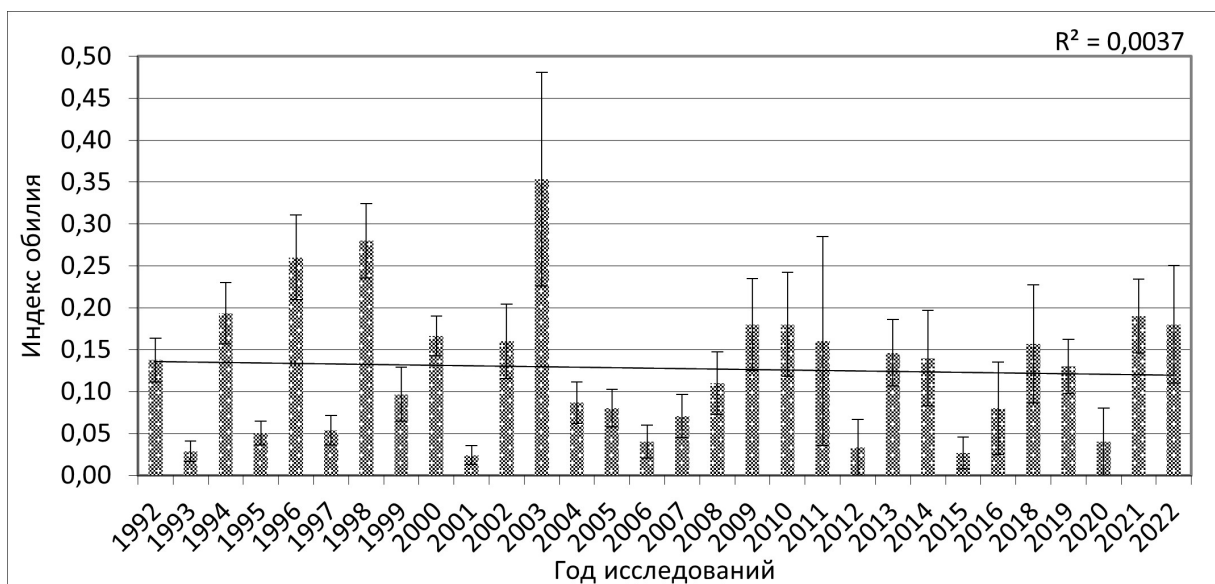


Рис. 4. Динамика заражённости горбуши юго-восточного побережья Сахалина плероцеркоидами *D. nihonkaiensis*.

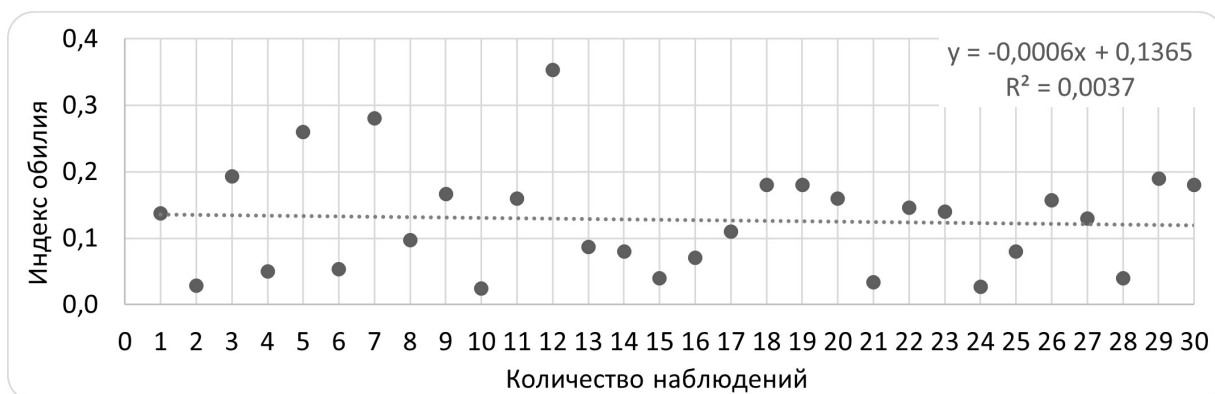


Рис. 4а. Автокорреляция заражённости горбуши юго-восточного побережья Сахалина плероцеркоидами *D. nihonkaiensis*.

Таблица 2. Среднемноголетняя заражённость горбуши *A. simplex* l. и *D. nihonkaiensis* pl. чётных и нечётных лет в районах исследований

Район исследований	юго-западное побережье				юго-восточное побережье			
	<i>A. simplex</i> l.		<i>D. nihonkaiensis</i> pl.		<i>A. simplex</i> l.		<i>D. nihonkaiensis</i> pl.	
Заражённость	И.О.*	m**	И.О.	m	И.О.	m	И.О.	m
Чётные годы	3,40	0,12	0,32	0,03	5,92	0,19	0,16	0,01
Нечётные годы	4,23	0,16	0,31	0,04	6,53	0,21	0,10	0,01
p***	0,01		0,01		0,01		0,01	

Примечание: *И.О. – среднее значение (индекс обилия); **m – стандартная ошибка; ***p – уровень значимости.

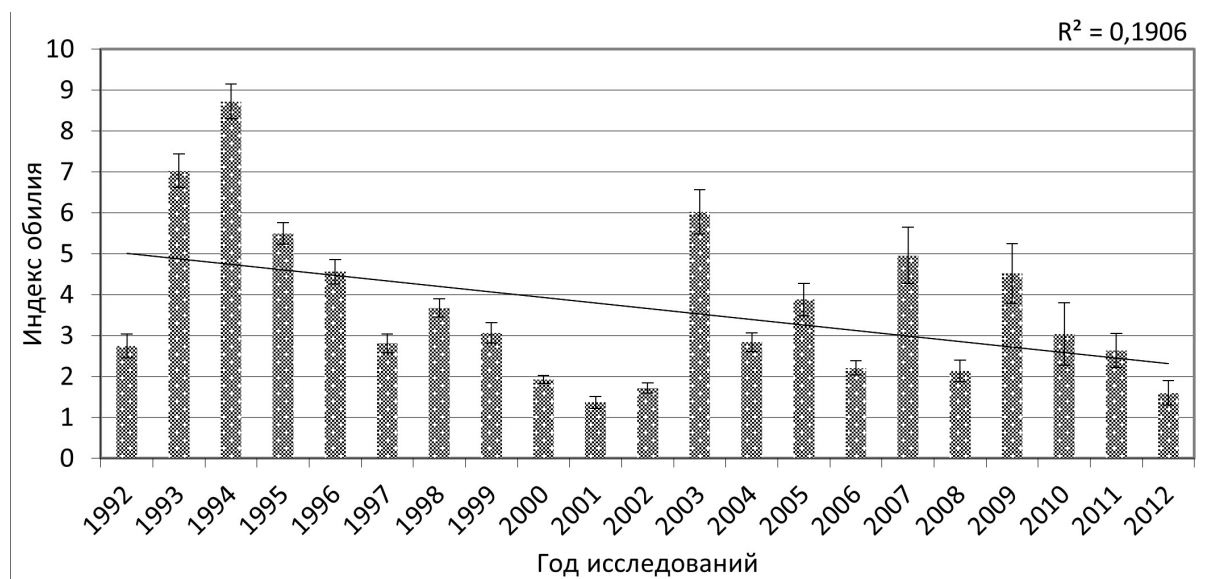


Рис. 5. Динамика заражённости горбуши юго-западного побережья Сахалина личинками *A. simplex*.

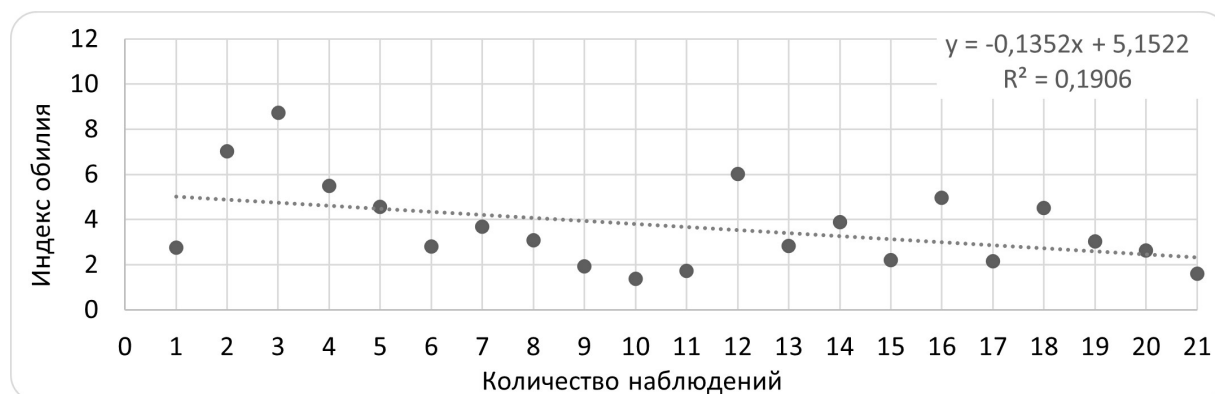


Рис. 5а. Автокорреляция заражённости горбуши юго-восточного побережья Сахалина личинками *A. simplex*.

роятность события 95%) в районах исследования.

Различие заражённости горбуши личинками *A. simplex* и *D. nihonkaiensis* чётных и нечётных лет позволяет перейти к сравнению индексов обилия инвазии (И.О.) рыб нагуливающихся в Японском море и Тихом океане (табл. 2). Так, заражённость япономорской горбуши личинками *A. simplex* составила 3,4 для генерации чётных лет и 4,23 для генерации нечётных лет против 5,29 и 6,53 соответственно (табл. 2). Значение *U* –

критерия $2,08 \times 10^{-32}$ и $3,44 \times 10^{-15}$ соответственно. Аналогичные различия наблюдались и в заражённости горбуши личинками *Dibothriocephalus nihonkaiensis*. Заражённость япономорской горбуши личинками *D. nihonkaiensis* pl. составила 0,32 для генерации чётных лет и 0,16 для генерации нечётных лет против 0,31 и 0,21 соответственно (табл. 2). Значение *U* – критерия $7,45 \times 10^{-5}$ и $2,61 \times 10^{-6}$. Заражённость этих локальных группировок по паразитологическим показателям также достоверно ($p=0,01$) различается.

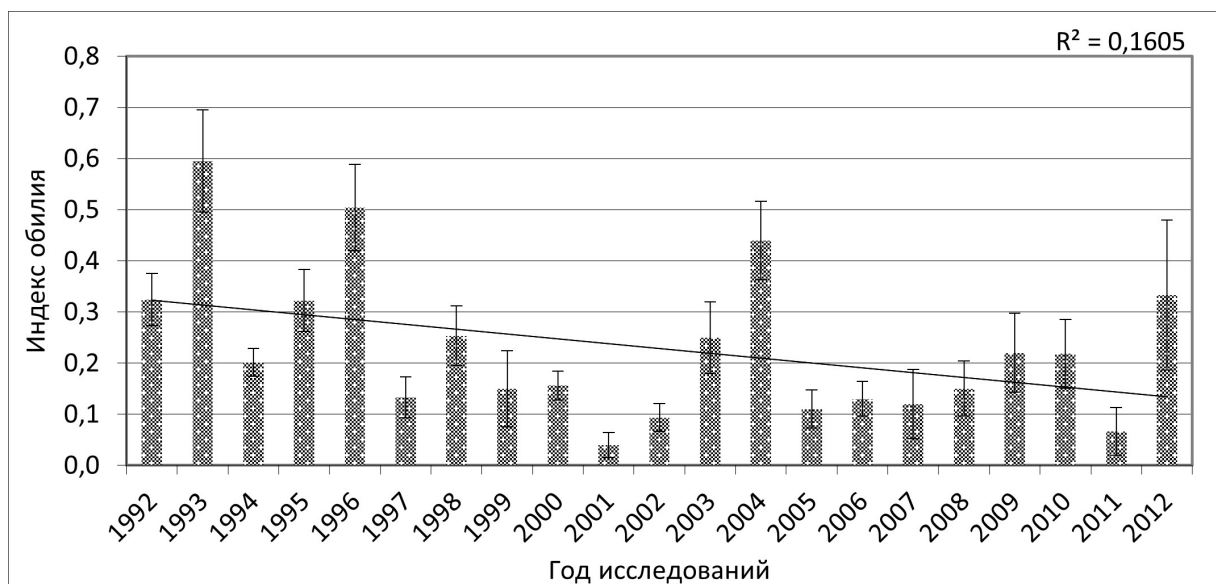


Рис. 6. Динамика заражённости горбуши юго-западного побережья Сахалина плероцеркоидами *D. nihonkaiensis*.

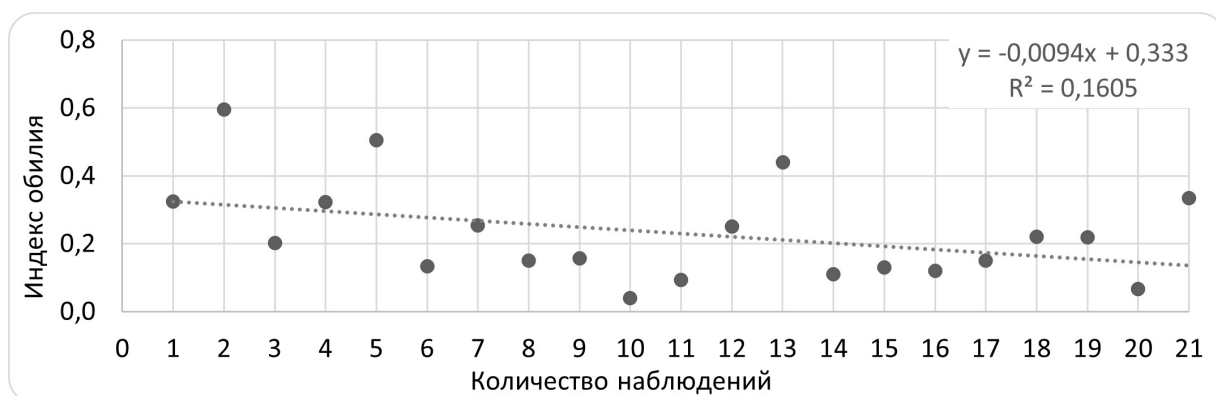


Рис. 6а. Автокорреляция заражённости горбуши юго-западного побережья Сахалина плероцеркоидами *D. nihonkaiensis*.

Как отмечено рецензентом, статистический критерий Манна Уитни подвержен такому явлению как размер эффекта (effect size) – чем больше размеры выборок, тем проще найти между ними значимые различия. Данное обстоятельство подразумевает использование более сложных методов анализа (Manly, 1997; Rosza et al., 2000; Henriquez et al., 2011; Braicovich et al., 2012; Шипунов и др., 2012). В рамках настоящей работы обозначена теоретическая возможность использования личинок *Anisakis simplex*

и *Dibothriocephalus nihonkaiensis* в качестве биологических меток для разграничения локальных стад горбуши южного Сахалина.

ВЫВОДЫ

Проведённый анализ заражённости горбуши южного Сахалина личинками *Anisakis simplex* и *Dibothriocephalus nihonkaiensis* позволяет утверждать, что, не смотря на статистические значимые различия заражённости горбуши южного Сахалина биологическими

метками их использование для разграничения локальных стад горбуши южного Сахалина, носит теоретический характер и требует дальнейшего анализа, более сложными статистическими методами.

Благодарности

Авторы выражают благодарность всем сотрудникам лаборатории микробиологии, паразитологии и генетики (ранее лаборатория болезней рыб), которые участвовали в сборе материала. А также глубокую признательность Вяловой Галине Петровне за проведение мониторинговых ихтиопатологических исследований лососей и создание базы данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антонов А.А. Биология и динамика численности горбуши зал. Анива (о. Сахалин): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: ТИНРО-центр, 2005. 23 с.
- Антонов А.А., Буслов А.В., Брагина И.Ю. и др. Результаты мечения горбуши у юго-восточного побережья острова Сахалин в 2014 г. // Бюл. № 9 изучения тихоокеанских лососей на Дальнем Востоке. Владивосток. ТИНРО-центр. 2014. С. 154–157.
- Ахмеров А.Х. Гельминты как биологический индикатор локальных стад амурских проходных лососей (*Oncorhynchus*) // Вопр. ихтиологии, 1963. Т. 3. С. 536–555.
- Бакай А.И. Сообщества паразитов как индикаторы экологии, внутривидовой и надвидовой структуры морских окуней рода *Sebastes* (Scorpaeniformes: Sebastidae) Атлантического и Северного Ледовитого океанов: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва: ВНИРО, 2021. 48 с.
- Быховская-Павловская И.Е. Паразиты рыб. Руководство по изучению. М.: Наука, 1985. 121 с.
- Вялова Г.П., Иванова И.М., Стексова В.В. и др. Горбуша Сахалино-Курильского региона: дифференциация и популяционный состав морских скоплений // Сб. тр. СахНИРО. 1999. Т. 2. С. 52–58.
- Глубоковский М.К., Животовский Л.А., Викторовский Р.М. Популяционная организация горбуши // Генетика. 1989. Т. 25. № 7. С. 1275–1285.
- Гриценко О.Ф. О популяционной структуре горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb) // Вопр. ихтиологии, 1981. Т. 21. Вып. 5. С. 787–799.
- Животовский Л.А., Шайхаев Е.Г., Шитова М.В. Идентификация биологических образцов лососевых рыб по микросателлитным маркерам с использованием идентичного набора ПЦР-праймеров // Биол. моря, 2013. Т. 39. № 6. С. 459–466.
- Иванова И.М. Видовой состав, биологическая структура и динамика уловов лососей рода *Oncorhynchus* в прибрежье юго-западного Сахалина // Труды СахНИРО. 2003. Т. 5. С. 64–84.
- Каев А.М., Рослый Ю.С. Мечение осенней кеты в лимане реки Амур // Рыбн. хозяйство. 1987. № 2. С. 21–23.
- Каев А.М. Временная структура миграционного потока горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* в Охотское море // Изв. ТИНРО. 2002. Т. 130. № 3. С. 904–920.
- Каев А.М. Темпоральная структура и некоторые вопросы динамики стада горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Salmonidae) // Вопр. ихтиологии, 2012. Т. 52. № 1. С. 62–71.
- Каев А.М., Животовский Л.А. Новые данные к дискуссии о локальных и флюктуирующих стадах горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* // Изв. ТИНРО. 2016. Т. 187. С. 122–144.
- Каев А.М., Ромасенко Л.В., Каев Д.А. Сравнительная характеристика роста чешуи у горбуши из возвратов на острова Сахалин (юго-восточное побережье) и Итуруп в 2017 и 2018 гг. // Изв. ТИНРО. 2020. Т. 200. № 4. С. 809–818.
- Кириллова Е.А., Кириллов П.А., Кузицин К.В. и др. Морфобиологическая разнокачественность и особенности воспроизводства горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* из двух рек

северо-востока острова Сахалин // Вопр. ихтиологии, 2018. Т. 58. № 6. С. 670–683.

Коновалов. С.М. Об использовании паразитологических данных для разграничения локальных стад дальневосточных лососей // Паразитологический сб. ЗИН АН СССР. 1967. Т. 23. С. 236–249.

Лапшина А.Е. Генетические исследования тихоокеанских лососей в Сахалинской области: перспективы, приоритеты, разработки. / Отчет о НИР, СахНИРО, 2023. 70 с.

Мамаев Ю.Л., Парухин А.М., Баева О.М. и др. Гельминтофауна дальневосточных лососей в связи с вопросом о локальных стадах и путях миграции этих рыб // Владивосток: Примориздат, 1959. 74 с.

Муратов И.В., Семенова И.В. Дифиллоботриоз на Дальнем Востоке СССР // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1990. Вып. 6. С. 54–58.

Пустовойт С.П. Морфометрическое изучение пространственной структуры азиатских популяций горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) // Рыбоводство и рыбное хозяйство, 2022. № 2. С. 124–137.

Стекольников М.Ю. Некоторые результаты мониторинга заводских стад горбуши зал. Анива (о. Сахалин) // Изв. ТИНРО. 2015. Т. 183. С. 51–60.

Стекольников М.Ю., Акиничева Е.Г., Костюченко К.М. Отолитное маркирование как инструмент изучения тихоокеанских лососей и управления их запасами // Тез. докл. науч. конф. г. Южно-Сахалинск, 2018. С. 32.

Шипунов А.Б., Балдин Е.М., Волкова П.А. и др. Наглядная статистика. Используем R. ДМК Пресс, 2012. 298 с.

Bishop Y., Margolis L. A statistical examination of *Anisakis* larvae (Nematoda) in herring (*Clupea harengus*) of the British Columbia coast // J. Fish. Res. Board Can. 1955. V. 12. P. 571–592.

Braicovich P.E., Luque J.L., Timi J.T. Geographical patterns of parasite infracommunities in the rough scad, *Trachurus lathami* Nichols, in the southwestern Atlantic Ocean // J. Parasitol. 2012. V. 98. № 4. P. 768–777.

Gibson D.I. Flounder Parasites as Biological Tags. // J. Fish Biology. 1972. V. 4. № 1. P. 1–9.

Herrington W. Observations on the life history, occurrence and distribution of the redfish parasite *Sphyrion lumpi* // U. S. Dept. Commer. Bur. Fish. 1939. № 7855. P. 1–12.

Henriquez V.P., Gonzalez M.T., Licandeo R. et al. Metazoan parasite communities of rock cod *Eleginops maclovinus* along southern Chilean coast and their use as biological tags at a local spatial scale // J. Fish Biol. 2011. V. 79. № 7. P. 1851–1865.

MacKenzie K., Abaunza P. Parasites as Biological Tags. Stock Identification Methods // Amsterdam: Elsevier Academic Press, 2014. P. 185–203.

Manly B.F.J. Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology, second ed. London: Chapman & Hall, 1997. 424 p.

Moser M. Parasites as biological tags. // Parasitology Today. 1991. V. 7. № 7. P. 182–185.

Mosquera J., Decastro M., Gómez-Gesteira M. Parasites as Biological Tags of Fish Populations: Advantages and Limitations // Theoretical Biology. 2003. V. 8. № 1. P. 69–91.

Mattiucci S. Parasites as biological tags in population studies of demersal and pelagic fish species // Parasitologia. 2006. V. 48. P. 23–25.

Niklitschek E.J., Secor D.H., Toledo P. et al. Segregation of SE Pacific and SW Atlantic southern blue whiting stocks: integrating evidence from complementary otolith microchemistry and parasite assemblage approaches // Environ. Biol. Fishes. 2010. V. 89. P. 399–413.

Poblete L.G., Saavedra J.C., Céspedes R. et al. Parasites of *Merluccius australis* as biological tags to determine the hake ecological stocks in the sea channels of Chilean Patagonia // Estuarine, Coastal and Shelf Science. 2022. V. 278. P. 108–117.

Reed C., Mackenzie K., Van der Lingen C.D. Parasites of South African sardines, *Sardinops sagax*, and an assessment of their potential as biological tags // Bulletin-European Association of Fish Pathologists. 2012. V. 32. № 2. P. 41–48.

Rosza L., Reiczigel J., Majoros G. Quantifying parasites in samples of hosts. J. Parasitol. 2000. V. 86. № 2. P. 228–232.

POPULATION BIOLOGY

**ON THE POSSIBILITY OF USING THE LARVAE
OF *DIBOTHRIOCEPHALUS NIHONKAIENSIS* AND *ANISAKIS
SIMPLEX* TO DIFFERENTIATE LOCAL UNIT OF STOCK
OF PINK SALMON OF SOUTHERN SAKHALIN**

© 2023 г. E.V. Frolov, S.V. Novokrestennykh

*Sakhalin branch of the Russian Federal Research Institute of Fisheries
and Oceanography, Russia, Yuzhno-Sakhalinsk, 693023*

The paper identifies the theoretical possibility of using larvae of *Anisakis simplex* and *Dibothriocephalus nihonkaiensis* as biological tags for distinguishing local pink salmon herds of southern Sakhalin. Differences in the infestation of pink salmon generations of even and odd years have been established. The differences in the infection of the Japanese-Sea and Pacific local groups of fish were revealed.

Keywords: pink salmon, *Oncorhynchus gorbuscha*, *Dibothriocephalus nihonkaiensis* pl., *Anisakis simplex* l., southeastern Sakhalin, southwestern Sakhalin, Far East, Japanese-Sea local grouping, Pacific local grouping.