

以 δc 分析有机粪肥养鱼池中 鱼类生长能源的初步研究*

郭贤桢 方映雪 王继坤 方秀珍 刘志云

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心)

提要 本文介绍了通过对鱼体、饵料、粪肥的 δc 值的分析来追踪碳元素的流向,从而研究施肥鱼池中鱼类生长能源的动力学过程的结果。研究表明,滤食性鱼类的生长能源主要来自自养生产系统;杂食性鱼类中的白鲫和鲤鱼,分别有三分之一以上和二分之一左右是来自自养生产系统,而其他部分的生长能源,则来自异养生产系统。

主题词 碳同位素、 δc 值、池塘动力学过程、鲤、白鲫、滤食性鱼类。

利用有机肥料养鱼是我国常见的养鱼方法之一。从肥料的投入到成鱼的收获,经历了粪肥——饵料——鱼类的过程,这是物质循环和能量转移的复杂过程,它可以被称为“池塘动力学过程”(pond dynamics process)。近年来,国内外学者通过不同途径和方法,正在开展探索和研究这个过程^[1~6],其中用碳同位素示踪分析方法,来考察鱼池能量的转移要比解剖鱼体消化道鉴别食物的传统方法更为准确可靠^[6]。

在自然界中,碳元素是生物能量转移的主要载体,也是有机体的主要组成物质。天然存在的碳元素中,均含有两种稳定形式的碳同位素:原子量为 13 的 ^{13}C ,其天然丰度约为 1%;原子量为 12 的 ^{12}C ,其天然丰度约为 99%。 ^{13}C 和 ^{12}C 又同是天然存在的碳示踪物,它们的比值($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)可以 δc 表示:

$$\delta c = \left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ 试验样品}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \text{ 标准样品}} - 1 \right) \cdot 1000 (\%)$$

(标准样品的 δc PDB 系美国南卡罗里纳的碳酸盐岩石)

天然存在的碳元素,它含有 ^{13}C 和 ^{12}C 两种稳定形态的同位素,直接以 $^{13}\text{CO}_2$ 和 $^{12}\text{CO}_2$ 存在于大气 CO_2 中。据测定,由于植物在光合作用时吸收大气中 CO_2 的速率不同,因而出现两种类型的光合作用途径: C_3 循环和 C_4 循环。两类不同光合作用途径的植物的 δc ,显然也是不同的^[7]。动物(如鱼类)通过摄食来吸收碳素,它不可能象植物那样对 ^{13}C 和 ^{12}C 有选择性,动物的 δc 是由它食物的 δc 决定的。所以存在于动物组织中的碳同位素与其食物中的碳同位素近似相等^[8,9]。也就是说,鱼体中 $\delta c \approx$ 其食物中 δc 。为此,我们在本试验中,采用质谱分析方法测定鱼体、饵料和粪肥等有机物的 δc 值,追踪碳元素的流向,对施肥鱼池中复杂的食物网络结构与鱼类生长能源的关系,进行定性分析研究。

* 本试验为 1984 年加拿大 IDRC 的科研项目之一。本文承中国水产科学研究院淡水渔业研究中心胡保同副主任,朱林庚副研究员以及单健同志审阅,特此致谢。承地质部无锡石油地质中心试验室测定样品,谨致谢意。

材料与方 法

1. 放养品种与配比

试验鱼池为土池,面积为666.7平方米。水深1.5—2.0米,水源为太湖。按45:10:30:15的比例混放白鲢、花鲢、白鲫和鲤鱼,共计1100条,均为二龄鱼种。

试验时间为1984年4月中旬放养,10月中旬结束,历时半年。有关放养和收获情况见(表1)。

表1 放养量和收获量*

Table 1 The amount of stocking and harvesting

种类 Species	放养尾数 No. of stocking	放养时平均体重 Mean body weight in stocking (Kg per fish)	采样时平均体重 Mean body weight in sampling (Kg per fish)	增重倍数 Increased times in weight	成活率 Survival rate (%)	收获量 Harvesting amount (Kg)
白 鲢 Silver carp	182 362	0.33 0.05	0.68 0.34	2.09 6.80	100 100	124.55 122.40
鳊 鱼 Big head carp	24 82	0.33 0.05	0.45 0.22	1.36 4.40	100 100	10.85 18.20
白 鲫 White crucian carp	300	0.02	0.15	6.00	100	47.50
鲤 鱼 Common carp	150	0.01	0.28	28.00	86	86.48

* 试验池面积为666.7平方米。The area of fish pond is 666.7 M².

2. 施肥数量与方式

在整个试验期间,除施用鸡粪外,不再投入其他饵料。施肥量每日按鱼种重量3%(以干粪计),一周分2~3次均匀遍撒全池。定期检查鱼的生长度,根据鱼重及时调整施肥量。

3. δc 样品采集与制备

为了使样品具有充分的代表性,得到精确测定,我们参考国内外文献资料,通过一系列预备性试验,自行设计、确定了下列 δc 样品采集与制备方法:

鸡粪: 选用不夹杂饲料的新鲜鸡粪,90~100°C烘干10小时,充分研碎随机取2~5克左右装入玻璃指管内,备测。

鸡饲料: 将喂鸡所用的配合饲料、玉米粉、豆饼和大麦粉等拌匀取样,90~100°C烘干10小时,充分研碎。再如上装管取样备测。

细菌: 在试验池不同部位,设8~10个取样点,采集水样100ml,经20 μ 沙芯漏斗抽滤去除浮游生物。在无菌条件下,将过滤的水样适量加于以鸡粪浸出液为唯一碳源的琼

脂平板上。经 25°C 培养 48 小时,然后刮取菌苔,再如上随机取样装管备测。

有机碎屑:以浮游动物网在试验池不同部位反复捕集,使沉淀物水样为 100ml。水样静置数小时,弃去上清液,沉渣不断以蒸馏水漂洗,直至镜检无浮游生物为止,再如上取样备测。

浮游生物:在试验池不同方位,提取池水数十升经 120 μ 和 50 μ 滤材过滤,分级收集滤物,再分别经 4000~5000 转/分离离心机离心 10 分钟,刮出沉淀物。再如上取样备测。

石块粘着物:试验结束干池时,及时在池塘四边 8~10 处,在刚露出水面的石块上刮取粘着物,如上制备。

池底沉积物:在试验池不同部位,取 8~10 个取样点,以自制水样采集器,吸取水底淤泥表层沉积物。静置数小时,弃去上清液,收集沉积物,加浓 H_3PO_4 至 pH 1~2, 去除 CO_3^{2-} 。再如上取样备测。

淤泥:试验结束干池后,及时在池底不同部位 8~10 处,刮取淤泥并加浓 H_3PO_4 使 pH 为 1~2, 除去 CO_3^{2-} 。

鱼种:放养前,从鱼种池随机取白鲢、花鲢、鲫鱼和鲤鱼各 3 尾,刮去鱼鳞,剥开表皮,在背部和尾柄处剪取面积为 $1cm^2$, 厚度为 0.5cm 大小的肌肉块。如沾有血水,则以蒸馏水洗去。另剪取部分背鳍和尾鳍,如上制备样品。

成鱼:试验结束时,随机取每种试验鱼各 3 尾,按上法取样制备。

4. δc 样品纯化与测定

上述样品每份任意取 5~10mg,放入石英小舟内,通入氧气在 850°C 的密闭电炉中灼烧。样品所产生的 CO_2 等气体,在低真空系统中流经 -50°C 的冷凝管和 -196°C 液氮冷凝分离器,使 CO_2 凝固,而与其它气体如多余的氧气分开,接着在高真空系统中,使 CO_2 温度回升到 -50°C,成为气态,进一步与其它可能残留的凝点较高的杂质气体分离。 CO_2 得到净化后于收集器内又经过 -196°C 冷却成固态。在室温下即呈纯净的 CO_2 气体,经 MAT 250 型同位素质谱仪测定,取得各种样品的 δc 值。

结果与讨论

通过对试验池中鱼体、天然饵料和鸡粪及鸡饵料等样品的 δc 测定,有关数值分别列于表 2、表 3 和表 4 内。这些结果表明:(1) 所测样品的 δc 值范围在 -13.83% 和 -28.76% 之间,试验池中生物有机体生长的 δc 值范围则在 -19.38% 和 -28.76% 之间,各种有机体在生长过程中其碳的组成,根据 δc 值是可以清楚地加以区别。另外,部分样品经抽测所得的重复数据,其误差仅在 $\pm 0.01 \sim 0.20\%$ 范围,较国外文献所报导的许可误差 $\pm 1.0\%$ 要小得多^[6,9],这反映本试验中 δc 测定的精确性。同时,也证实我们自行设计的 δc 样品采集与制备方法是可行的。

(2) 从表 2 可见,四种试验鱼的鱼种,其鱼鳍的 δc 值同鱼肉的 δc 值比较,相差 1% 左右;四种鱼种其鱼肉 δc 值也较成鱼肉的 δc 值相差 4—5%,这与国外文献报导的结果是一致的^[6,9]。试验前这四种鱼都饲养在同一鱼种池里,主要投喂豆浆、豆渣和豆饼,所

表2 鱼体的 δc 值*
Table 2 The δc values of fishes

种 类 Species		样 品 Samples	δc 值 δc Values (%)
白 鲢 Silver carp	鱼种 Fingerling	鳍 Fin	-26.41
		肌肉 Muscle	-27.63
	成鱼 Harvested fish	肌肉 Muscle	-23.56
鳙 鱼 Big head carp	鱼种 Fingerling	鳍 Fin	-28.03
		肌肉 Muscle	-28.76
	成鱼 Harvested fish	肌肉 Muscle	-24.26, -24.23, -24.20
白 鲫 White crucian carp	鱼种 Fingerling	鳍 Fin	-25.65
		肌肉 Muscle	-26.42
	成鱼 Harvested fish	肌肉 Muscle	-20.89
鲤 鱼 Common carp	鱼种 Fingerling	鳍 Fin	-24.69
		肌肉 Muscle	-25.18
	成鱼 Harvested fish	肌肉 Muscle	-19.43

* 鱼种取样在试验放养之前,成鱼取样在试验结束时进行。下同。

The sample of fingerlings were collected before stocking and the sample of harvested fishes collected at harvesting, the same below.

表3 浮游生物、细菌、有机碎屑和试验池其他物质的 δc 值
Table 3 The δc values of plankton, bacteria, organic bits and other substances in pond

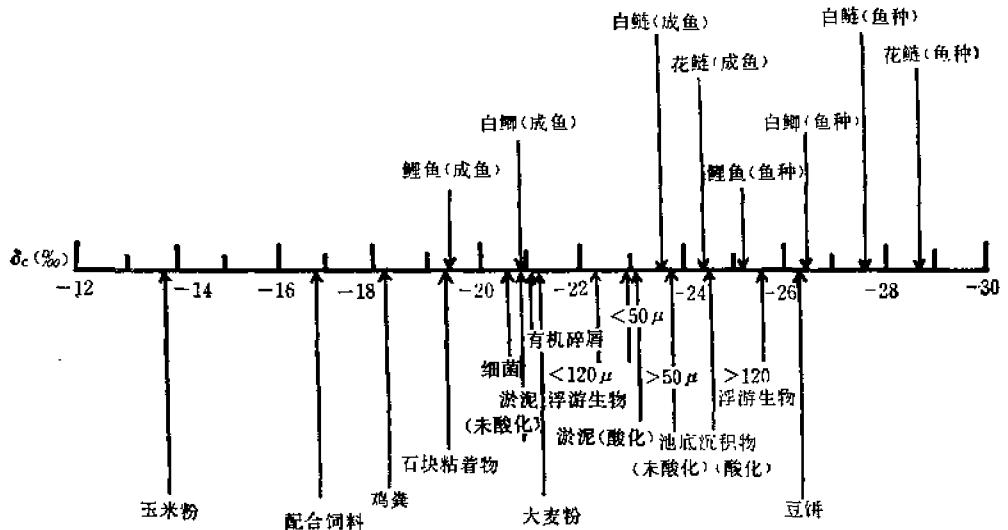
样 品 Samples	δc 值 δc Values (%)	备 注 Notes
浮游生物 >120 μ Plankton <120 μ >50 μ <50 μ	-25.63, -25.73 -22.36 -23.02	试验结束前取样 Sampling before the end of experiment.
有机碎屑 Organic bits	-21.12	同上。Ditto.
细菌 Bacteria	-20.62	试验中取样,经培养测定。Sampling in exp.
石块粘着物 Adhesive substances stone	-19.38	试验结束干池取样。Sampling at end.
池底沉积物(未酸化) Sediments (unacidulated)	-25.55	放养前取样, Sampling before stocking.
池底沉积物(酸化) Sediments (acidulated)	-26.31	同上。Ditto.
池底沉积物(未酸化) Sediments (unacidulated)	-23.86	试验结束前取样。 Sampling before the end of exp.
池底沉积物(酸化) Sediments (acidulated)	-24.62, -24.42	同上。Ditto.
淤泥(未酸化) Silt mud (unacidulated)	-20.51	试验结束干池取样 Sampling at end.
淤泥(酸化) Silt mud (acidulated)	-23.13	同上。Ditto.

表 4 鸡粪及鸡饲料的 δc 值Table 4 The δc values of excrement and food of chicken

样 品 Samples	δc values (%)
鸡粪 Chicken excrement	-18.22
玉米粉 Corn powder	-13.83
豆饼 Beancake	-26.36
大麦粉 Barley powder	-21.32
配合饲料 Compound food	-16.87, -16.68

以它们的 δc 值为 -25.13—-28.76%，与豆饼的 δc 值 -26.36% 近似。它们放养在试验池的 180 天中，由于饵料较前有了很大变化，这些鱼在成长过程中食性也随之改变，体重增加了许多倍（表 1），它们在成鱼期所同化积累的碳源与鱼种期的原初碳源也完全不同，所以反映在两者的 δc 值出现较大的差距。这事实本身也表明了成鱼池动力学变化的客观动态。

(3) 鱼池中施用有机粪肥是碳源输入的主要形式。此外，尚有绿色藻类利用太阳光能固定大气中的 CO_2 ，为鱼池增添碳源。肥料经大量水生细菌分解、矿化成营养盐类被浮游植物所利用。在此基础上，经过一系列的异养活动和自养活动，逐渐形成了以细菌为主的异养生产系统和以藻类为主的自养生产系统，两者交叉发展，相互促进，相互影响，使整个鱼池形成了一个复杂的食物网络结构，繁育了多种多样的饵料生物，使鱼类不断获得生长能源。通过 δc 测定分析，可了解各种饵料与有关鱼类的对应关系（图 1）。滤食性鱼类白鲢和鳙鱼滤食浮游植物和浮游动物，因其滤食对象不同， δc 值也有区别。它们的 δc 值分别为 -23.56% 和 -24.25%。同浮游生物的 δc 值基本接近（表 3）。白鲢主要滤食 δc 值为 -23.02% 个体小于 50μ 的浮游生物，白鲢和这种小个体浮游生物的 δc 值之间相

图 1 四种鱼与有关饵料 δc 值的对应关系fig. 1 Relation between the δc Values of food and selected fishes

差不到1%。鳙鱼似乎主要滤食 δc 值为 -22.36% 个体小于 120μ 大于 50μ 的浮游生物。鳙鱼和它的饵料浮游生物的 δc 值之间相差不到2%。这些情况与组织解剖学上研究的结果也是一致的。鲫鱼和鲤鱼都是典型的杂食性鱼类。试验结果表明,它们的 δc 值分别为 -20.89% 和 -19.43% ,两者比较近似。但它们的生活方式和索食特点各异,食性也有所差别。鲫鱼多在池水中层活动,常吞食细菌群聚体、有机碎屑和粪肥残渣等。本试验放养品种为日本白鲫,喜食浮游生物。 δc 值测定表明,鲫鱼的 δc 值同细菌、有机碎屑和粪肥的 δc 值相当接近(表3、4)、(图1),它们之间仅相差 $0.3 \sim 1.5\%$ 。它与细菌 δc 值 -20.62% ,仅差 0.27% ;与有机碎屑、部分浮游生物和鸡粪等也相近。鲤鱼同其饵料之间的 δc 值比较,反映了鲤鱼平时生活在池水下层,挖掘寻找池底、石块上和淤泥中的底栖生物和沉淀物质为食物的觅食特点。

(4) 通过上述对四种鱼类与饵料的 δc 值分析,可了解到它们的食物往往由两种以上的饵料组成,我们可以根据其不同的 δc 值,运用下列方程式进行平衡、计算,从而进一步查明这些饵料在鱼类生长过程中所提供的碳源及其作用和贡献。

如果食物由两种不同 δc 值的饵料组成,设 δc 值较重的(即数值较大的)为 X , δc 值较轻的(即数值较小的)为 $(1 - X)$,可以列出如下方程式:

$$X(\delta c_{重}) + (1 - X)(\delta c_{轻}) = (\delta c_{鱼} - 1) \quad (1)$$

已知: 鲫鱼 $\delta c = -20.89$; 细菌 $\delta c = -20.62$; 有机碎屑 $\delta c = -21.12$; 浮游生物 $\delta c_{平均值} = -24.19$ 。代入(1)式得:

$$X(-20.62) + (1 - X)(-24.19) = (-20.89 - 1) \quad (2)$$

$$X = 0.64 \quad (3)$$

$$\text{又: } X(-21.12) + (1 - X)(-24.19) = (-20.89 - 1) \quad (4)$$

$$X = 0.74 \quad (5)$$

可以估算出: 施肥池中,在鲫鱼生长过程中大约有 $60 \sim 70\%$ 的碳源来自于细菌开始的异养生产;大约有 $30 \sim 40\%$ 的碳源来自于浮游生物自养生产。

同样,我们通过计算可以得出其他鱼类从饵料获得碳源的情况(表5)。

表5 鱼类生长能源的来源(%)

Table 5 The sources of energy for fishes growing (%)

种类 Species	浮游生物 Plankton			细菌、有机碎屑、 鸡粪残渣 Bacteria, organic bits, chicken excrements	石块附着物 Adhesions on stone	淤泥、沉积物、细 菌、鸡粪残渣 Silt, sediments, bacteria, chicken excrements
	$<50\mu$	$<120\mu > 50\mu$	$>120\mu$			
白鲢 Silver carp	80	20				
花鲢 Big head carp	50	50				
白鲫 White crucian carp		30—40		60—70		
鲤鱼 common carp					50—60	40—50

此外,我们从鸡粪的 δc 值 -18.22% ,可以看出它比较接近于配合饲料的 δc 值 -16.87% ,两者仅差 1.35% 。我们根据鸡粪与鸡饲料成分的 δc 值,应用上述 δc 平衡方程式,可以分析这些成分在鸡饲料中占有的比例: 配合饲料约占 60% ; 其它饲料成分约

占 40% (其中玉米粉 43%；豆并 10%)。这与我们在养鸡场实地调查了解的情况也基本符合。

结 语

同位素示踪质谱分析技术,已广泛地应用于地质、土壤、生物和医学等学科之中,但在水产养殖中应用,在我国刚刚开始。本试验通过测定稳定性碳同位素 δc 值的方法,对施肥鱼池中饵料与鱼体之间物质和能量传递关系作了初步分析研究,它向我们揭示了在有机粪肥养鱼池中滤食性鱼类的生长能源基本上来自自养生产系统。杂食性鱼类白鲫约有三分之一以上来自自养生产系统;近三分之二来自异养生产系统。杂食性的鲤鱼,则有一半以上来自自养生产系统;另将近一半来自异养生产系统。了解这些情况,对探索池塘动力学规律和改进养殖技术有一定实际意义。

参 考 文 献

- [1] 胡保同,1983. 池塘施肥混养多品种鱼生态学基础. 生态学杂志 3:17—21.
- [2] 李元善,1983. 养鱼池塘生态系统及白鲢的作用初探. 淡水渔业 3:8—11.
- [3] 郭贤桢等,1984. 动物粪肥养鱼池中细菌区系分析及其消长规律初步研究. 淡水渔业 1:31—35.
- [4] Wohlfarth, G., 1978. *Utilization of manure in fish farming*. In: C. pastakia (Editor), Proc. Fish-farming and Wastes Conf. University College, London, 78—95.
- [5] Schroeder, G., 1978. Autotrophic and heterotrophic production of microorganisms in intensely manured fish ponds and related fish yields. *Aquaculture*, 14:303—325.
- [6] —, 1983. Stable isotope ratios as naturally occurring tracers in the aquaculture food web. *Aquaculture*, 30:203—210.
- [7] Smith, B. and, Epstein, S. 1971. Two categories of $^{13}C/^{12}C$ ratios for higher plants. *Plant physiol.*, 47:380—384
- [8] DeNiro, M., and Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim., Acta*, 42:495—506.
- [9] Schroeder, G., 1983. Sources of fish and prawn growth in polyculture ponds as indicated by δc analysis. *Aquaculture*, 35:29—42.

A PRELIMINARY STUDY ON DYNAMICS OF ENERGY RESOURCES IN MANURED FISH PONDS AS INDICATED BY DELTA C ANALYSIS

Guo Xianzhen, Fang Yingxue, Wang Jikun, Fang Xiuzhen and Liu Zhiyun

(Freshwater Fisheries Research Center)

ABSTRACT In manured fish ponds, the conversion of manure—feeds—fish undergoes a complicated process of pond dynamics. In order to well understanding and manipulation of this process so as to improve farming productivity, we introduced carbon isotope analysis into the experiment. We accurately measured Delta C in

organic matters such as fish body, fish feeds and manure. The orientation of carbon was traced by means of mass spectrometer and the interactions of fish growth and complicated food web texture in manured pond were analyzed and studied. The results showed that the species of filtering and omnivorous food habits in manured pond obtain carbon from both autotrophic and heterotrophic resources. Obviously, it is of practical significance in organising aquacultural activities and making clear the pond dynamics.

KEY WORDS Carbon isotope, Delta C(δ), Pond dynamics process, Common carp, White crucian carp, Filtering fish