

文章编号:1000-0615(2013)02-0269-06

DOI:10.3724/SP.J.1231.2013.38035

人工饲料对刺参幼生长贡献的碳稳定同位素法分析

金波昌¹, 董双林^{1*}, 田相利¹, 王芳¹, 高勤峰¹, 林光辉², 管建洪³

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 中国科学院植物所生态与环境科学稳定同位素实验室, 北京 100093;

3. 镇江市生态修复与特色生物资源增值利用工程技术研究中心, 江苏 镇江 212125)

摘要:为了解不同养殖密度下刺参对人工饲料的吸收利用情况, 实验采用碳稳定同位素法研究人工饲料对刺参幼生长的食物贡献率。实验采用室内水族箱与刺参养殖池塘内围隔相结合的方法, 刺参幼参的初始体质量为(4.78 ± 0.58)g, 水族箱(100 cm × 60 cm × 60 cm)内10头幼参用人工饲料按5%刺参初始体质量(湿重)连续喂养60 d; 参池围隔(长8.0 m × 宽8.0 m × 高1.9 m)内, 投喂的实验组幼参在5、10、15、25和35 ind/m²的养殖密度下经人工饲料驯化后按5%刺参初始体质量(湿重)连续喂养6 d, 同时设不投饲的对照组, 各4个重复。结果显示, 水族箱内的刺参幼参的体质量经人工饲料饲喂60 d后均显著增加, 其特定生长率(SGR)为(2.73 ± 0.57)/d, 其稳定碳同位素比值($\delta^{13}\text{C}$ 值)由初始时的-18.63‰ ± 0.552‰显著变化为-19.46‰ ± 0.316‰($P = 0.032$)。围隔实验中, 实验组和对照组刺参的最终体质量都呈现不断减小的趋势, 但同一密度的实验组刺参最终体质量均高于对照组; 实验组刺参幼参的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随着养殖密度的增大由-13.262‰ ± 0.183‰减小为-15.102‰ ± 0.189‰, 人工饲料对幼参的食物贡献在最低密度5 ind/m²下为最小值3.78% ± 2.98%, 在最高密度35 ind/m²下达到最大值为29.48% ± 3.31%。研究表明, 利用碳稳定同位素法可有效分析刺参幼参的生长与摄食, 人工饲料对刺参生长的贡献率随着养殖密度的增大显著增大($P < 0.01$), 但比常见鱼虾等水产养殖品种要低得多, 这与刺参自身摄食生理学特点、饲料质量、养殖模式及环境等多种因素相关。

关键词:刺参; 人工饲料; 生长贡献率; 碳稳定同位素比率($\delta^{13}\text{C}$)

中图分类号:S 968.9

文献标志码:A

刺参(*Apostichopus japonicus*)属于棘皮动物门(Echinodermata)、海参纲(uroidea)、遁手目(Aspidochirota)、刺参科(Stichopodidae), 温带种, 主要分布于亚洲东北沿岸的西北太平洋浅海地区^[1]。中国约有海参140多种, 含可食用者20余种, 刺参是其中产量最大、营养价值最好、食用与药用价值很高的种类, 被誉为海产八珍之首^[2]。我国是海参最大的消费市场, 巨大的市场需求刺激我国北方刺参养殖规模不断增大, 山东和辽宁两省是主要的刺参养殖地区^[3]。2010年全国刺参养殖规模达到150 113 hm², 产量达

130 303 t^[4]。

在刺参增养殖实践中, 养殖户常投喂磨碎的鼠尾藻、马尾藻等作为天然饵料的营养补充, 近几年来, 海带、浒苔、龙须菜、鱼粉、虾粉、陆生植物蛋白及淀粉等更多的原料与人工配合饲料也逐渐被试验与开发利用^[5-6]。关于刺参的营养及投喂, 目前存在的问题主要是营养补充局限于基于个体经验的粗放式添加, 缺乏对天然饵料及补充成分相互作用及适宜比例的研究。随着我国刺参养殖规模不断增大, 定量研究人工饲料对刺参生长的贡献能合理确定饲料投入种类及用量, 最大程度

收稿日期:2012-03-16 修回日期:2012-09-22

资助项目:国家“十二五”科技支撑计划(2011BAD13B03); 国家自然科学基金项目(31172426); 国家海洋公益性行业科研专项(200905020)

通信作者:董双林, E-mail:dongsl@ouc.edu.cn

<http://www.scxuebao.cn>

上节约饲料成本,增加养殖收益。分析刺参对上述饵料的吸收及利用时,传统的研究动物食性的胃含物分析法因刺参独特的沉积物食性难以有效地适用;而稳定同位素比率法则更准确、安全、简单,目前已广泛地见于各类摄食、营养、食物链等方面的应用报道^[7],所以可作为定量研究刺参食物来源以及营养利用等的适宜方法。

本实验利用碳稳定同位素比率法来研究人工饲料对刺参幼参生长的相对贡献,拟为探索刺参最佳养殖容量、研究与开发高效人工饲料提供摄食生态学上的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验设计

实验于2007年5月至11月在山东好当家海洋集团水产研究所的围堰养殖基地进行,参池面积约为 $3.34 \times 10^4 \text{ m}^2$,平均水深约1.8 m,内设置30个正方形围隔(长8.0 m×宽8.0 m×高1.9 m,由一端插入池底的竹竿框成,外围为网目为0.5 cm、底部埋于池底的网衣),相邻围隔间距8 m,边缘围隔距池塘边在10 m以上。各围隔内均置64个参礁(4个直径15 cm、长40 cm的聚氯乙烯空管的捆绑组合)。

实验开始时,将同批次、体质量为(4.78±0.58)g的刺参幼参自育苗车间分别转移至实验室和养殖池塘,室内实验中,将40头刺参幼参随机均分在4个水族箱(100 cm×60 cm×60 cm)内,用人工饲料(表1)每天8:00投喂,投饵量为5%刺参初始体质量(湿重),于5月20日开始连续喂养60 d。实验用海水均经砂滤塔处理,水温为18.2~20.8 °C,盐度29.2~31.6,溶解氧5.89~7.53 mg/L,pH值8.10~8.55,水深40 cm以上,日换水量50%,定期清除残饵。

表1 人工饲料成分表
Tab. 1 Analysis of ingredients for supplemental feed

成分 ingredient	含量/% content
粗蛋白 crude protein	15
粗脂肪 fat	2
灰分 ash	45
粗纤维 fiber	10
水分 moisture	11
其它 others	17

刺参幼参按5、10、15、25和35 ind/m²这5个密度在围隔内养殖。每个密度实验组投喂人工饲料,对照组不投饲,各设3个重复。不同养殖密度的刺参养殖围隔按随机散置原则分布于池塘中。实验开始时,用相同的人工饲料(表1)每天8:00投喂实验组围隔内的幼参,投饵量为5%刺参初始体质量(湿重),围隔内刺参幼参先经一周的饲料投喂驯化后,于5月20日开始持续投喂6 m。池塘纳、排水依潮汐进行。进、排水口有围网围护。一般日换水期量为30%。

刺参生长期,养殖池塘水体平均水温8.2~22.6 °C、盐度27.2~29.8、TN为1.7~3.4 mg/L、NH₄-N为58~82 μg/L、溶解氧5.69~8.03 mg/L。参池中浮游植物主要以硅藻为主,浮游植物平均生物量为 $16.92 \times 10^4 \text{ /L}$,水体叶绿素含量1.28~5.12 μg/L,池塘沉积物中叶绿素含量为0.58~1.73 μg/g,池塘沉积物中脱镁叶绿素含量为2.86~5.73 μg/g。

1.2 样品采集与分析

在实验的开始、中间及结束,分别于养殖围隔内随机选取的3个正方形的采样点(面积1 m²)、各水族箱内全部全部刺参计数,称重^[8]。用公式1计算幼参的特定生长率SGR,每个围隔随机抽取3个幼参样本用于测定刺参的稳定碳同位素比值δ¹³C。

$$SGR = \frac{100 \cdot (\ln W_f - \ln W_i)}{t} \quad (1)$$

式中,SGR为海参的特定增长率(%/d);W_i为初始体质量;W_f为海参最终体质量,t实验持续时间(d)。

在实验室,将刺参样本进行δ¹³C测定前的清洁、解剖^[9]、粉末化预处理、-70 °C下密封保存待测^[10]。

将已保存的刺参样品用1 mol/L稀盐酸浸泡,除去无机碳酸盐成分对δ¹³C的干扰,经上述预处理的刺参样品由稳定碳同位素质谱仪(Finnigan MAT Delta V advantage,测试精度为≤0.15‰,PDB标准)测δ¹³C值,以国际通用的δ标记法表示^[11]。本实验中,假设δ¹³C_i,δ¹³C_f,δ¹³C_g分别为实验前后刺参的δ¹³C值及生长期获得的初始δ¹³C值,W_i,W_f是实验前后刺参的体质质量,根据稳定碳元素¹³C质量守恒关系,则有下列等式^[12]:

$$\delta^{13}\text{C}_g (\%) = \frac{\delta^{13}\text{C}_f \cdot W_f - \delta^{13}\text{C}_i \cdot W_i}{W_f - W_i} \times 1000 \quad (2)$$

假如两种食物的碳稳定同位素值明显不同,根据下列公式可以计算出它们混合喂养时候对刺参生长的贡献比例^[13-14]:

$$R_a (\%) = \frac{\delta^{13}\text{C}_g - CF - \delta^{13}\text{C}_n}{\delta^{13}\text{C}_a - \delta^{13}\text{C}_n} \cdot 100 \quad (3)$$

式中, R_a 为人工饲料提供给刺参的碳源比例(%) ; $\delta^{13}\text{C}_g$ 是池塘养殖围隔内刺参获得的 $\delta^{13}\text{C}$ (‰) ; $\delta^{13}\text{C}_n$, $\delta^{13}\text{C}_a$ 分别是池塘自然食物和人工饲料的 $\delta^{13}\text{C}$ (‰), CF 是校正因子,由投喂人工饲料的室内实验确定:

$$CF = \delta^{13}\text{C}_g - \delta^{13}\text{C}_a \quad (4)$$

式中, $\delta^{13}\text{C}_g$ 是由投喂人工饲料的水族箱内刺参获得 $\delta^{13}\text{C}$ (‰)。

1.3 统计分析

数据以平均值 ± 标准差 (mean ± SD) 的形式表示,用 SPSS 13.0 (SPSS Inc.) 进行统计学处理, $\delta^{13}\text{C}$ 值在双因素方差分析的基础上,采用 Duncan 氏多重比较法检验组间差异 ($P < 0.05$)。评价饲料对刺参的生长贡献时,采用单元素双食物来源的稳定同位素混合模型^[8],每个营养级的稳定同位素值变化按平均 1‰ 的分馏度来矫正^[15]。

2 结果

2.1 室内实验

饲喂 60 d 后,水族箱内的幼参体质量由 (4.78 ± 0.58) g 显著增加至 (24.59 ± 4.38) g ($t = -8.969$, $df = 3.104$, $P = 0.03$),其 SGR 为 $(2.73 \pm 0.57)\% / d$;幼参的 $\delta^{13}\text{C}$ 值由初始时的 $-18.633\% \pm 0.552\%$ 显著减小为 $-19.466\% \pm 0.316\%$ ($t = -2.777$, $df = 6$, $P = 0.032$),并趋向于人工饲料的 $\delta^{13}\text{C}$ 值 $-21.051\% \pm 0.179\%$ 。

2.2 池塘实验

养殖密度、人工饲料对刺参幼参的 W_f 影响显著 ($F = 13.009$, $P < 0.01$; $F = 6.301$, $P = 0.018$),而养殖密度与人工饲料互作对 W_f 无显著影响 ($F = 0.174$, $P = 0.950$)。随着养殖密度的增大,刺参的体质量由 $5 \text{ ind}/\text{m}^2$ 的 (35.62 ± 3.5) g 降至 $35 \text{ ind}/\text{m}^2$ 的 (24.59 ± 4.38) g,而对照组刺参则由 (32.73 ± 3.28) g 降至 (23.22 ± 2.99) g。投喂组和对照组刺参的 W_f 都呈现不断减小的趋势,但同一密度的投喂组刺参 W_f 均高于对照组(图 1)。

人工饲料和养殖密度对刺参的最终 $\delta^{13}\text{C}$ 值

均有显著影响 ($F = 18.856$, $P < 0.01$; $F = 4.954$, $P = 0.003$)。幼参的 $\delta^{13}\text{C}$ 值随着养殖密度的增大由 $-13.262\% \pm 0.183\%$ 减小为 $-15.102\% \pm 0.189\%$ (图 2),这表明,随着养殖密度的不同,刺参的食物组成也随之发生变化,并最终对刺参的最终 $\delta^{13}\text{C}$ 值产生了影响。

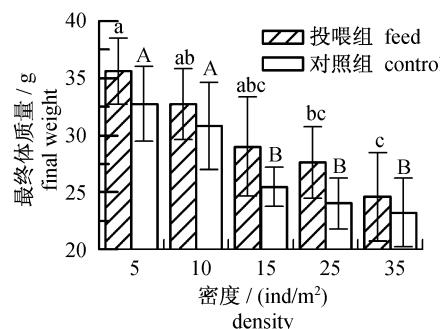


图 1 不同密度下饲料组及其对照组围隔内刺参幼参的最终体质量的变化情况

大小写字母表示不同组数据,同一组数据上不同上标字母代表有显著差异 ($P < 0.05$)。下图注释同此。

Fig. 1 The final weight of *A. japonicus* stocked at different densities in pond enclosures

Capitalization and lowercase letters represent different groups. Same letters on the bar denotes statistically no significant difference within a group and the different superscripts of the same column values are significantly different ($P < 0.05$)。

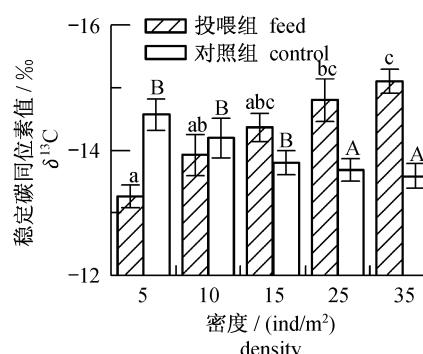


图 2 不同密度下饲料组及其对照组围隔内刺参幼参的碳稳定同位素比率($\delta^{13}\text{C}$)的变化情况

Fig. 2 The $\delta^{13}\text{C}$ values of *A. japonicus* stocked at different densities in pond enclosures

2.3 人工饲料的贡献

人工饲料对幼参的生长贡献随着养殖密度增大而增加,不同养殖密度下投喂人工饲料对幼生长的贡献差异极显著 ($F = 24.439$, $P < 0.01$)。人工饲料对幼参的食物贡献在最低密度 $5 \text{ ind}/\text{m}^2$ 下为最小值 $3.78\% \pm 2.98\%$,在最高密度 $35 \text{ ind}/\text{m}^2$

下达到最大值为 $29.48\% \pm 3.31\%$ (图3)。

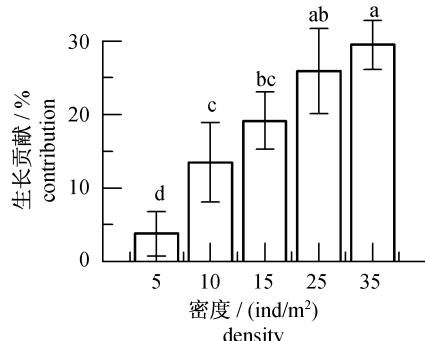


图3 不同密度围隔内人工饲料对刺参幼参生长贡献的变化情况

Fig. 3 Contributions of supplemental feed to the growth of *A. japonicus* stocked at different densities

3 讨论

生物体稳定碳同位素的富集同时受到食性、环境、饵料质量等多因素的影响^[16-17]。在水族箱实验中,刺参幼参长期吸收利用人工饲料的¹²C,使得自身的¹³C受到稀释,令幼参的 $\delta^{13}\text{C}$ 值显著地变化为 $-19.466\% \pm 0.316\%$,这与 Fry 等^[18]假定食物对机体组织 $\delta^{13}\text{C}$ 值的稀释作用在幼小及快速生长的机体中占主导地位相符合。在围隔实验中,投喂组的刺参幼参的 $\delta^{13}\text{C}$ 值在 $-13.262\% \pm 10.183\%$ 到 $-15.102\% \pm 0.189\%$ 的范围内(图2),与水族箱内幼参 $\delta^{13}\text{C}$ 值不同,表明除人工饲料外,参池中天然食物来源的¹²C对刺参幼参的¹³C也有稀释作用,这两大类食物来源的碳源共同影响了幼参 $\delta^{13}\text{C}$ 值。

本研究中,同密度下幼参的 W_f 投喂组显著高于对照组,表明人工饲料扩大了刺参的食物来源,为刺参幼参的快速生长提供了必要的营养补充。人工饲料对刺参生长的贡献率为 $3.78\% \pm 2.98\%$ 到 $29.48\% \pm 3.31\%$,与人工饲料对鱼虾等水生动物的生长 $23.0\% \sim 61.6\%$ 的贡献率比较相对较低^[11,14,19-21],原因可能主要有四个:

第一,刺参摄食行为有其特殊性。其消化系统简单,主要依靠触手扫或抓,其在摄食过程中,通常将附着面上松散的无机物、有机碎屑、藻类等一并吞食^[5],相对于具有明显的摄食选择性、主动性的鱼虾等,其摄食机制仍较为原始与不加选择,所以人工饲料驯化效应较弱。

第二,与饲料质量及养殖模式、养殖密度、养

殖技术水平等因素相关。刺参饲料中粗蛋白含量对刺参的生长、饲料系数都有明显影响、对刺参肠道结构也有一定的影响^[22]。周玮等^[23]的研究表明,幼参对饲料蛋白质的需求量为 $16.70\% \sim 20.34\%$,要低于鱼、虾、蟹约 $28\% \sim 60\%$ 的水平。当饲料蛋白水平为 19.48% 时,幼参的特定生长率和饲料转化效率均达到最高水平、生长能的比例最大,故海参饲料的粗蛋白一般 20% 左右,而本实验用人工饲料 15% 的蛋白含量偏低,也导致其贡献率偏低。拥挤效应影响刺参的消化、吸收及代谢,进而影响到刺参的快速生长及存活^[24],本研究中刺参在高密度下生长亦表现出减缓,说明养殖密度也能够影响刺参的摄食生长。

第三,与刺参种类、苗种质量、发育阶段相关。例如不同发育阶段刺参蛋白酶的活性存在较大差异,且蛋白酶活性与淀粉酶活性的比值反映出其食性的转换^[22]。

第四,受参池环境因素(如水温、生物饵料、盐度、底质、气候等)的影响。实验参池在黄海靖海湾,水体浮游植物浮游植物共有7门44属62种,以硅藻为主,平均生物量为 $17.52 \times 10^4/\text{L}$,多样性指数较高但生物量较低^[25],参池中的生物饵料作为食物来源,其组成及数量及其沉降速率极大制约着对照组幼参的摄食及营养。对投喂组的幼参亦有一定影响。较低的生物量减少了幼参的食物来源,导致其生长放缓。此外,高密度海参养殖,人工饲料的损失、残饵及代谢废物累积等也可能影响到刺参生长的池塘的水质及底质环境,从而间接地影响到刺参摄食吸收及生存状态^[26]。

在规模化海参养殖实践中,保持适当的人工饲料投喂量,合理增大换水频率、换水量,采取综合措施增加浮游植物生物量及沉降,能为海参提供更多的食物来源及营养补充。在本实验基础上继续利用双稳定同位素或脂肪酸标记等营养学方法研究刺参的摄食生理,既有助于研发强诱食性、高利用率的配合饲料,又能为深入理解刺参、食物来源及环境三者的相互关系提供基础的生物学资料。

参考文献:

- [1] 廖玉麟.中国动物志:棘皮动物门.海参纲[M].北京:科学出版社,1997;148-152.
- [2] 刘小芳,薛长湖,王玉明,等.乳山刺参体壁和内脏营养成分比较分析[J].水产学报,2011,35(4):587-593.

- [3] 杨嘉龙,周丽,绳秀珍,等.养殖刺参溃疡病病原菌rh2的鉴定及其生物学特性分析[J].水产学报,2007,31(4):504-511.
- [4] 农业部渔业局.2011中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2011:1-129.
- [5] 常亚青,丁君,宋坚,等.海参,海胆生物学研究与养殖[M].北京:海洋出版社,2004:1-364.
- [6] Gao Q F, Wang Y, Dong S, et al. Absorption of different food sources by sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) (Echinodermata: Holothuroidea): Evidence from carbon stable isotope[J]. Aquaculture, 2011, 319(1-2):272-276.
- [7] Fry B. Stable Isotope Ecology[M]. Berlin: Springer, 2006:1-320.
- [8] Zhou Y, Yang H S, Liu S L, et al. Feeding and growth on bivalve biodeposits by the deposit feeder *Stichopus japonicus* Selenka (Echinodermata: Holothuroidea) co-cultured in lantern nets [J]. Aquaculture, 2006, 256(1-4):510-520.
- [9] Hudson I R, Wigham B D, Billett D M, et al. Seasonality and selectivity in the feeding ecology and reproductive biology of deep-sea bathyal holothurians [J]. Progress in Oceanography, 2003, 59 (4): 381-407.
- [10] Gao Q F, Shin P K S, Lin G H, et al. Stable isotope and fatty acid evidence for uptake of organic waste by green-lipped mussels *Perna viridis* in a polyculture fish farm system [J]. Marine Ecology Progress Series(Halstenbek), 2006, 317:273-283.
- [11] Craig H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1957, 12(1-2):133-149.
- [12] Anderson R K, Parker P L, Lawrence A L. A ¹³C/¹²C tracer study of the utilization of presented feed by a commercially important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growout system 1[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1987, 18(3):148-155.
- [13] Parker P L, Anderson R K, Lawrence A L. Stable isotope methodology for evaluation of nutritional requirements of shrimp [J]. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, 1991 (22): 157-171.
- [14] 张硕,董双林,王芳.人工配合饲料与天然饵料对中国对虾生长贡献的研究[J].中国水产科学,2001,8(3):54-58.
- [15] McClelland J W, Valiela I. Changes in food web structure under the influence of increased anthropogenic nitrogen inputs to estuaries[J]. Marine Ecology Progress Series, 1998, 168:259-271.
- [16] Post D. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions [J]. Ecology, 2002, 83(3):703-718.
- [17] McCutchan J R J, Lewis J R W, Kendall C, et al. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulfur [J]. Oikos, 2003, 102(2):378-390.
- [18] Fry B, Arnold C. Rapid ¹³C/¹²C turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*) [J]. Oecologia, 1982, 54(2):200-204.
- [19] Lochmann R, Phillips H. Stable isotopic evaluation of the relative assimilation of natural and artificial foods by golden shiners *Notemigonus crysoleucas* in ponds [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 1996, 27(2):168-177.
- [20] Nunes A J, Gesteira T C, Goddard S. Food ingestion and assimilation by the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil [J]. Aquaculture, 1997, 149 (1-2): 121-136.
- [21] Julian G D, Pedro C J, Ricardo Z R, et al. Natural carbon stable isotope ratios as indicators of the relative contribution of live and inert diets to growth in larval Senegalese sole (*Solea senegalensis*) [J]. Aquaculture, 2008, 280(1-4):190-197.
- [22] 吴永恒,王秋月,冯政夫,等.饲料粗蛋白含量对刺参消化酶及消化道结构的影响[J].海洋科学,2012,36(1):36-41.
- [23] 周玮,张慧君,李赞东,等.不同饲料蛋白水平对仿刺参生长的影响[J].大连水产学院学报,2010,25(4):359-364.
- [24] Qin C, Dong S, Tan F, et al. Optimization of stocking density for the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka, under feed-supplement and non-feed-supplement regimes in pond culture [J]. Journal of Ocean University of China (English Edition), 2009, 8(3):296-302.
- [25] 任贻超,王芳,董双林,等.荣成靖海湾海参养殖池塘初级生产力季节变化特征[J].中国海洋大学学报:自然科学版,2010,(3):24-28.
- [26] Zheng Z, Dong S, Tian X, et al. Sediment-water fluxes of nutrients and dissolved organic carbon in extensive sea cucumber culture ponds[J]. Clean-Soil Air Water, 2009, 37(3):218-224.

Using carbon stable isotope ratio($\delta^{13}\text{C}$) to evaluate contribution of artificial feeds to growth of pond cultured juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)

JIN Bochang¹, DONG Shuanglin^{1*}, TIAN Xiangli¹, WANG Fang¹,
GAO Qinfeng¹, LIN Guanghui², GUAN Jianhong³

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;
2. Stable Isotope Lab for Ecological and Environmental Research, Beijing 100093, China;
3. Zhenjiang Engineering Research Center of Ecological Remediation and Bio-resources Farming and Breeding, Zhenjiang 212125, China)

Abstract: Sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) is a typical deposit-feeder, that is, food came from some organic matter in sediment such as bacteria, protists, benthic microalgae and detritus of macroalgae. Artificial feeds are applied in some areas for sea cucumber farming to increase production of the pond cultured sea cucumbers, however, to what extent the artificial feed contributes to their growth is still unclear. Study on the food sources by a traditional way of direct gut content analysis has limitations. Stable isotope is a predictable method to evaluate food sources of *A. japonicus*. The present experiments were conducted to estimate contribution of artificial feed to growth of sea cucumber at five different stocking densities (5, 10, 15, 25 and 35 ind/m²) using a stable carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) tracer. Sea cucumbers with an average weight of (4.78 ± 0.58) g were randomly assigned to the enclosures. The animals were fed with artificial feed at 8:00 every day, at a feeding rate of about 5% wet weight. There were 5 treatments and 3 replicates in the experiment that lasted for 6 months. The control treatments without feed were set simultaneously. A lab experiment with four plastic aquaria (100 cm × 60 cm × 60 cm) was conducted and feeding time and ration were the same as the pond experiment. The results showed that the final weight and $\delta^{13}\text{C}$ value of sea cucumbers were affected markedly by both artificial feed and stocking density ($P < 0.05$). With stocking density increasing, final weight of the animals decreased from (35.62 ± 3.50) g to (24.59 ± 4.38) g, and with stocking density increasing from 5 ind/m² to 35 ind/m², the $\delta^{13}\text{C}$ values of sea cucumbers decreased from -13.262‰ to -15.102‰ ($P < 0.05$). Contributions of artificial feed to the growth of the sea cucumbers increased with increasing of stocking density, only 3.78% ± 2.98% at 5 ind/m² to 29.48% ± 3.31% at 35 ind/m². Previous studies showed that artificial feed contributed 23.0% – 61.6% to the growth of shrimp and fish, which is higher than that to *A. japonicus*. This was caused by quality of artificial feed and the physiological characteristics of feeding behavior of sea cucumbers.

Key words: *Apostichopus japonicus*; artificial feeds; growth contribution; carbon stable isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$)

Corresponding author: DONG Shuanglin. E-mail: dongs1@ouc.edu.cn