

Balık Larvalarının Beslenmesinde Kullanılan Mikropartikül Yemler ve Potansiyelleri

Umur Önal

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Çanakkale, Türkiye
*E mail: umuronal@yahoo.com

Abstract: *The dependence on the use of live feed organisms is a major drawback for the extensive use of microparticulate diets in the mass culture of marine fish larvae.* The major reason for this dependence is the lack of effective microparticulate diets that are comparable to live feed organisms. Major problems associated with artificial larval diets stem from physical characteristics such as size, color, density and hardness of the particles, the acceptability of diets by larvae and their digestibility. Water-soluble nutrients leach out of microbound particles and Cross-Linked Protein-Walled Capsules within couple of minutes. Lipid-Walled Microcapsules, on the other hand, retain water soluble nutrients such as amino acids effectively, but their physical properties are not suitable for larval feeding. The characterization of limitations and potentials of microparticulate diets may help to solve such problems and will be a major footstep towards developing novel microparticulate diets that would support the growth and survival of fish larvae.

Key Words: Microparticulate diets, Microbound particles, Cross-Linked Protein-Walled Capsules, Lipid-Walled Microcapsules.

Özet: Deniz balıkları üretiminde, larvaları canlı yemlerle besleme bağımlılığı, suni larva yemlerinin yaygın bir şekilde kullanımını engellemektedir. Bu bağımlılığın en önemli nedeni canlı yem kalitesinde formüle edilmiş bir mikropartikül yemin henüz geliştirilememiş olmasıdır. Mikropartikül yemler ile ilgili başlıca problemler yemlerin ebadı, rengi, yoğunluğu ve sertliği gibi fiziksel faktörlerden, içerdikleri besin maddelerinin suya sızmalarından, yemlerin balık larvaları tarafından kabul edilebilirliğinden ve sindirilebilirliğinden kaynaklanmaktadır. Mikrobağ partiküller ve Çapraz-Bağlı Protein-Duvarlı kapsüller, suda çözünen besin maddelerini çok kısa bir süre içerisinde suya sızdırırlar. Lipid Duvarlı Mikrokapsüller ise amino asitler gibi, düşük moleküler ağırlıklı besin maddelerini çok daha etkin bir şekilde tutabilirler ancak fiziksel özellikleri larval besleme için uygun değildir. Larval yemlerin üretimi sınırlayıcı özelliklerinin ve kapasitelerinin belirlenmesi, bu sorunların giderilmesini ve larvaların büyüme ve hayatta kalmalarını destekleyecek yeni mikropartikül yemlerin geliştirilmesini sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Mikropartikül yemler, Mikrobağ partiküller, Çapraz-Bağlı Protein-Duvarlı Kapsüller, Lipid-Duvarlı.

Giriş

Ticari balık üretiminde, özellikle metamorfoz öncesi dönemde larvaları canlı yemlerle besleme bağımlılığı, suni larva yemlerinin yaygın bir şekilde kullanımını engellemektedir. Bu bağımlılığın en önemli nedeni, mikropartikül yemler olarak bilinen suni larva yemleri üzerinde birçok çalışma yapılmış olmasına karşın, canlı yem kalitesinde formüle edilmiş bir yemin henüz geliştirilememiş olmasıdır. Sadece mikropartikül yemler ile besleme yapıldığında larval büyüme ve hayatta kalma oranları çok düşük kalmaktadır. Bununla birlikte, balık larvası yetiştiriciliğinde canlı yem kullanımı üretim maliyetlerini önemli ölçüde artırır. Örneğin, levrek (*Dicentrarchus labrax*) larva yetiştiriciliğinde ilk 45 günlük toplam üretim maliyetinin %79'u zooplankton kullanımına bağlı olduğu bildirilmiştir (Le Ruyet ve diğ. 1993). Ayrıca, Le Ruyet ve diğ. (1993), ilk 3 aylık dönemde tüketilen canlı yemin, kuru madde üzerinden sadece %1,6'ya karşılık gelmesine karşın, toplam yem maliyetinin %50'sini oluşturduğunu belirtmiştir. Üretim maliyetlerinin, formüle edilmiş suni larva yemleri kullanılması durumunda 5-50 kat azaltılabildiği belirtilmiştir (Kissil 1985). Bu nedenle, dünyada ve ülkemizdeki ticari kuluçkahanelerde

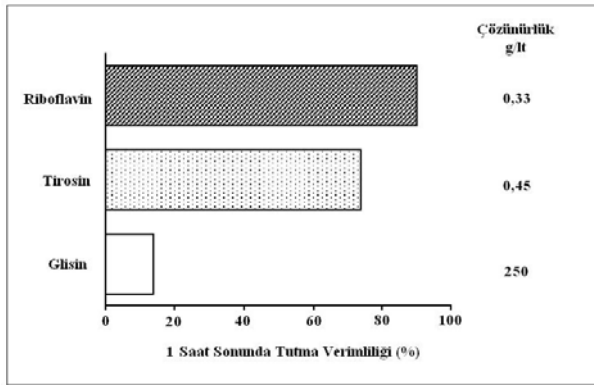
canlı yem kullanımının azaltıldığı ve kademeli bir geçiş dönemini takiben, yalnızca suni yemlerin kullanıldığı üretim protokolleri benimsenmiştir. Dolayısıyla, canlı yem kullanımını en aza indirecek kalitede formüle edilmiş bir suni yemin geliştirilmesi üretim maliyetlerinin azaltılması ve üretim standardizasyonu için son derece önemlidir.

Bu derlemede, öncelikle, dünyada ve ülkemizde balık larvası üretiminde kullanılan mikropartikül yemlerle ilgili başlıca sorunlar irdelenmiştir. Ayrıca çeşitli mikropartikül yemlerin üretim yöntemleri açıklanmış, üretim teknolojilerine bağlı sorunlar belirtilmiş ve bu sorunların çözülmesine yönelik yaklaşımlar sunulmuştur. Özellikle canlı yem zenginleştirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılan emülsiyonlar kapsam dışı tutulmuştur.

Mikropartikül Yemlerle İlgili Başlıca Sorunlar

Mikropartikül yemlerden ileri gelen başlıca problemlerin nedenleri spesifik olarak bilinmemekle beraber, öncelikle, içerdikleri besin maddelerinin suya sızması, yemlerin balık larvaları tarafından kabul edilebilirliği ve takiben sindirilebilirliği ile ilgili sorunlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. İdeal bir

mikropartikül, öncelikle, içerdği besin maddelerini suda asılı kaldığı sürede tutarak, bu maddeleri balık larvalarına etkin bir şekilde geçirebilmelidir. Buna karşın, suda çözünen besin maddelerinin suya sızmaları çok kısa bir zaman alabilir; örneğin, Lopez-Alvarado ve diğ. (1994), bağlayıcı olarak aljinat ve karajenan içeren mikrobağ partiküllerdeki serbest amino asitlerin %80'inin sadece 2 dakika sonra suya sızdığını bildirmiştir. Çapraz-Bağlı Protein-Duvarlı (ÇBPD) kapsüller, 2 dakika içerisinde içerdikleri amino asitlerin %40'ını kaybetmişlerdir (Lopez-Alvarado ve diğ. 1994). Benzer şekilde, Baskerville-Bridges ve Kling (2000), suyla teması takiben 1 dakika içerisinde karajenan ile bağlı mikropartiküllerdeki serbest amino asitlerin %60'nın suya sızdığını bildirmişlerdir. Önal ve Langdon (2005), alanin, glisin, lösin, serin ve tirozin karışımını içeren mikrobağ partiküllerin, 2 dakika içerisinde başlangıçtaki konsantrasyonun %87'sini sızdığını göstermişlerdir. Ayrıca, amino asitlerin suya sızma oranlarıyla suda çözünürlükleri arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (Önal ve Langdon 2005). Lipid-Sprey Kapsüllerin (LSK) glisin, tirozin ve riboflavin tutma verimlilikleri ile çözünürlükleri arasındaki ilişki Şekil 1'de verilmiştir. Bu veriler, günümüzde yaygın bir şekilde kullanılan mikropartikül yemlerin, suda çözünen besin maddelerini balık larvalarına aktarmada etkisiz kaldığının göstergesidir.



Şekil 1. Lipid-Sprey Kapsüllerin 1 saat sonunda glisin, tirozin ve riboflavin tutma verimlilikleri ve suda çözünürlükleri (Önal ve Langdon (2004a,b) uyarlanmıştır).

Mikropartikül yemlerle ilgili bir diğer önemli sorun sindirilebilmedir ve geliştirilen her formül larvalar tarafından sindirilemez. Örneğin, ÇBPD kapsüllerin çizgili levrek larvaları tarafından sindirilemediğini bildirmiştir (Walford ve diğ. 1991). Benzer şekilde tripalmitin içeren Lipid-Duvarlı Mikrokapsüllerin (LDM) balık larvaları tarafından sindirilemedikleri bildirilmiştir (Lopez-Alvarado ve diğ. 1994). Bunun başlıca nedeni, ticari larva üretiminde kullanılan mikropartikül yemlerin tamamına yakın bir bölümünün, yüksek moleküler ağırlıklı bir bağlayıcı ile bir arada tutulan, suda çözünürlüğü sınırlı, denatüre proteinler ve kompleks karbonhidratlar içermesidir (Langdon 2003).

Mikropartikül yemlerin yapımında kullanılan yöntemler, mikropartikül dietlerdeki besinsel maddelerin üretim sonrası konsantrasyonlarını etkileyen en önemli faktörlerden biridir.

Örneğin Lopez-Alvarado ve diğ. (1994), LDM'in en fazla %6 w/w amino asit içerebileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Yufera ve diğ. (2002), ÇBPD kapsüllerin, üretim sırasındaki yıkama aşamasına bağlı olarak sadece %5,98 oranında lisin içerdığını bildirmişlerdir. Bu mikropartikül yemlerin suda hiç sızdırmadıkları farz edilse bile, içerdikleri düşük besin maddeleri miktarının larvaların büyüme ve hayatta kalması üzerinde olumlu bir etki göstermesi beklenemez. Üretim teknolojisine bağlı bu kayıplar yaygın olarak kapsama verimliliği ile ifade edilir. Kapsama verimliliği, üretim sonrası mikropartikül yemdeki çekirdek madde miktarının, orijinal formüldeki çekirdek madde miktarına oranıdır. Ancak, mikropartikül yemlerin karakterizasyonunda kullanılan bu ve benzeri tanımların birçok çalışmada dikkate alınmaması, üretim yöntemlerine bağlı kayıpları değerlendirme olasılığını ortadan kaldırmaktadır. Bununla birlikte, kullanılan üretim yönteminin modifikasyonu ile kapsama verimliliğinin artırılabilirdiği gösterilmiştir. Buchal ve Langdon (1998), LDM üretiminde kullanılan klasik, çifte-emülsiyon yöntemine alternatif geliştirdikleri spray tekniği ile riboflavinin (vitamin B₂) kapsama verimliliğini %24,1'e çıkarmışlardır. Daha sonra bu oran, LDM'in üretiminde su ile yıkama aşaması tamamen elimine edilerek %91'e kadar çıkarılabildiği (Önal ve Langdon 2004a,b).

Mikropartikül yemlerin performanslarını etkileyen diğer karakteristikler ebad, tekstür, densite, renk, koku, sertlik gibi fiziksel özellikleridir. Bu karakteristiklerin optimizasyonu, yetiştiriciliği yapılacak hedef türün biyolojik ve çevresel istekleri de göz önüne alınarak yapılmalıdır. Bu anlayışa paralel olarak, yemlerin kabul edilebilirliklerinin, yetiştiricilik ortamındaki ışık miktarı ve kalitesi, tank rengi ve akıntı gibi abiyotik faktörlerin optimizasyonu ile artırılabilirdiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Backhurst ve Harker 1988, Ostrowski 1989, Fernández-Díaz ve Yúfera 1994, Kolkovski ve diğ. 1997, Cahu ve diğ. 1998, Koven ve diğ. 2001). Bununla birlikte, bir yemin gerçek kalitesi, yukarıda ana hatlarıyla bahsedilen performans parametrelerinin tümü için elde edilen sonuçların bir yansımasıdır. Böyle bir yemi ticari açıdan başarılı kılabilecek kriterler ise larval büyüme ve hayatta kalma oranlarındaki artıştır.

Larval Yetiştiricilikte Kullanılan Mikropartikül Yemler Ve Üretim Yöntemleri

Mikrobağ Partiküller

İçerdikleri besinsel maddelerin polimer bir matris ile bağlanarak, su içerisinde stabiliteyi muhafaza ettikleri taşıma sistemleridir. Bağlayıcı olarak jelatin gibi proteinler ve aljinat, karajenin ve selüloz türevleri gibi karbonhidratlar yaygın şekilde kullanılır. Besin maddeleri bağlayıcı tarafından bir arada tutulduğu için mikropartikülün etrafını çevreleyen ve sızmayı engelleyen belirgin bir duvar bulunmaz. Dolayısıyla genellikle suda çözünen maddeler, mikrobağ partiküllerden çok kısa sürede suya sızar. İhtiyaç duyulan besinsel maddelerin balık larvalarına iletilmemesi, erken dönem larva yetiştiriciliğinde mikrobağ partiküllerin tek başlarına başarılı bir

şekilde kullanılamamasının en önemli nedenidir. Buna ek olarak, kullanılan bağlayıcı maddelerin yem içerisindeki oranı, besin değerlerinin az olması ve erken evredeki larvalar tarafından sindirilememesi nedeniyle %10-15 geçmemelidir. Mikrobağ partiküller, en basit anlamda yem içerikleri ve bağlayıcı maddenin jelleşme yolu ile bir araya getirilmesiyle yapılır. Daha sonra bu karışım kurutulur, istenilen boy aralığına ufalanabilir (Baskerville-Bridges ve Kling 2000). Gelişmiş yöntemlerde söz konusu yem içerikleri ve bağlayıcı, içerisinde jelleşmeyi sağlayacak madde (örn: CaCl₂) içeren bir hazneye atomizör ile basınçlı hava kullanılarak sprey edilir (Önal ve Langdon 2000). Oluşan partiküller istenilen boy aralığında elenerek, freze-dryer'da kurutulur.

Dünyada ve Türkiye'deki ticari larva yetiştiriciliğinde mikrobağ partiküller yaygın şekilde kullanılır. Bunun en önemli nedenleri, nispeten düşük maliyetleri ve rotifer ve Artemia gibi canlı yemlerle beraber kullanıldığında başarılı sonuçlar vermesidir. Canlı yemlerde bulunan serbest amino asitler, sindirim enzimleri ve diğer stimulantların, mikropartikül yemlerdeki besin maddelerinin larvalar tarafından daha etkin bir şekilde kullanılmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür (Kolkovski ve diğ. 1997, Koven ve diğ. 2001).

Çapraz-Bağlı Protein-Duvarlı (ÇBPD) Kapsüller

ÇBPD mikrokapsül üretiminde, bir proteinin kaynağının (örn: kazein) çözülerek yem içerikleri ile beraber emülsife edilmesi ve yem içeriklerinin, protein bir duvar içerisinde hapsedilmeleri sağlanır. Emülsifikasyon aşamasında oluşan mikrokapsülleri çevreleyen protein duvar, bir çapraz-bağlayıcı (cross-linker) aracılığı ile (örn: sebacoil chloride ve 1,3,5 benzenetricarbonyl trichloride) polimerize edilerek çözünürlüğü engellenir ve sertleşir. Böylece meydana gelen protein duvarlı kapsüller organik fazdan yıkama ile ayrılarak, freeze-dryer ile kurutulduktan sonra istenilen boy aralığında elenir.

ÇBPD kapsüllerin amino asitleri sızıma oranlarının mikrobağ partiküllere oranla daha az olduğu bildirilmiştir (Lopez-Alvarado ve diğ. 1994). İlk kez Jones ve diğ. (1974) tarafından eklemeli larvalarında denenilen ÇBPD kapsüllerin günümüzde balık larvası yetiştiriciliğinde kullanımı çok sınırlıdır. Üretiminde çok aşamalı ve kullanılan organik çözücülerin pahalı olması ticari üretimdeki başlıca sorunlardır (Langdon 2003). Bu kapsül tipinin erken dönemdeki larvalar tarafından sindirilemediği bildirilmiştir (Kanazawa ve diğ., 1982; Walford ve diğ., 1991). Bununla birlikte, Yufera ve diğ. (2000), üretiminde jelatin kullanımına bağlı olarak elde edilen daha ince duvarlı kapsüller ile yaptığı çalışmada, 4 günlük rotifer beslemesini takiben, çipura (*Sparus aurata*) larvalarını sadece ÇBPD kapsüller ile büyütme başarılmıştır.

Lipid-Duvarlı Mikrokapsüller (LDM)

Akuakültürde kullanılan lipid bazlı taşıma sistemleri, yağ-su emülsiyonlarını, lipozomları ve lipid-duvarlı mikrokapsülleri içerir. Yağ-su emülsiyonlarının dünyada ve ülkemizde, rotifer ve Artemia gibi canlı yemlerin besin değerlerini yükseltme amacıyla çok yaygın bir kullanım alanı bulunmaktadır.

Lipozomlar, içerisinde sıvı bir çekirdek içeren ve bir veya daha fazla lipid tabakası ile çevrili, mikroskobik veya submikroskobik katı vesiküllerdir (Langdon 2003). Canlı yemlerin zenginleştirilmesinde ve balık larvalarının doğrudan beslenmesinde test edilmelerine karşın (Özkızılcık ve Chu 1994, Koven ve diğ. 1999) henüz akuakültürde kullanım alanı oluşmamıştır. Balık larvalarının beslenmesiyle ilgili çalışmalarda önemli bir araştırma olanağı sunmakla beraber, üretim maliyetlerinin fazla olması ve yüksek fosfolipid ve kolesterol içerikleri (Langdon 2003) üzerinde çalışılması gerekli konulardır.

LDM'in çifte-emülsiyon yöntemi ile üretiminde ilk önce erimiş lipid ile besin maddelerini içeren bir karışım emülsife edilir. Bu karışım, emülgatör içeren (örn: polyvinyl alcohol; PVA) başka bir solüsyon ile tekrar emülsife edilerek, lipidin içerisinde besin maddeleri içeren vesiküller oluşturulur. Söz konusu sıvı damlacıklar ani soğutma ile katılaştırılır ve oluşan lipid mikrokapsüller filtrasyon ile toplanır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda lipid kaynağı olarak tripalmitin, trilaurin ve kokonat yağı gibi trigliseridler ve metil palmitat ve spermaceiti gibi mumlar ile balık yağı ve bunların karışımları kullanılmıştır. Tripalmitin içeren LDM'in amino asitleri sızıma oranlarının çok az olmasına karşın Japon dilbalığı (*Paralichthys olivaceus*) larvaları tarafından sindirilemediği bildirilmiştir (Lopez-Alvarado ve diğ. 1994). Bu sorun, metil palmitat gibi erime noktası daha düşük lipidler kullanılarak çözülmüştür. Çifte-emülsiyon yönteminin önemli bir dezavantajı, katılaştırma esnasında %90'ları bulan besin maddesi kaybıdır. Besin maddesi kaybı, Lipid-Sprey Kapsüllerin (LSK) geliştirilmesiyle önlenmiştir. Bu yöntemde besin maddeleri ve erimiş lipid içeren primer emülsiyon, bir atomizör ile soğuk bir ortama sprey edilir. Damlacıklar halindeki karışım soğuk ortamda sertleşerek LSK meydana gelir. Bu yöntemle elde edilen LSK'in kapsama verimliliği %90'ın üzerine çıkmıştır (Önal ve Langdon 2004a,b).

LDM ve LSK ile ilgili en önemli sorun partiküllerin hidrofobik olmasıdır. Su içerisinde iyi bir dağılım gösteremeyen ve birleşerek kümelenen mikropartiküllerin larvalar tarafından kabul edilebilirliği azalır. Bu sorun, lipid duvarın çevresinin hidrofilik bir matriks ile kaplanmasıyla aşılmıştır (Villamar ve Langdon 1994, Önal ve Langdon 2005). Bu yöntemle hazırlanan mikropartiküllerin (kompleks partiküller) amino asitleri tutma verimliliklerinin, mikrobağ partiküllere oranla daha iyi olduğu bildirilmiştir (Önal ve Langdon 2005) ancak balık larvalarının büyüme ve hayatta kalmaları üzerinde çalışmalar henüz gerçekleştirilmemiştir.

Sonuçlar

Larvaların besinsel ihtiyaçlarının formüle edilmiş suni bir yem ile karşılanabilmesine yönelik çalışmalar uzun yıllardan bu yana yoğun şekilde devam etmektedir. Buna karşılık, günümüzde kullanılan mikropartikül yemler, yumurtadan yeni çıkmış larvaların henüz gelişmemiş sindirim sistemlerindeki son derece sınırlı enzimatik aktivite ile parçalanamayan, denatüre olmuş protein ve karbonhidrat gibi kompleks besin

elementlerini içermektedir. Mikropartikül yemlerin, suda çözünebilir besin maddelerini içerse bile, bunları larvalara iletmeye yetersiz kaldığı gösterilmiştir. Buna karşın, larvaların hayatta kalma ve büyümelerini desteleyecek bir mikropartikül yemin özellikle amino asitler gibi, suda çözünebilir ve moleküler ağırlığı az olan besin maddelerini yeterli bir süre sızdırmadan tutması gereklidir. Sertlik, yoğunluk, ebat gibi fiziksel faktörler hedef türün ihtiyaçlarına cevap verebilmelidir. Ayrıca, larvalar tarafından yutulan partiküller, sınırlı enzim aktivitesi ile parçalanarak sindirilebilmelidir. Bu niteliklere sahip "ideal" bir yem ancak, söz konusu performans parametreleriyle ilgili sorunları çözecek üretim yöntemlerinin geliştirilmesiyle üretilebilir. Böylece, larval balık yetiştiriciliğinde maliyetlerin azaltılması ve üretimin standardizasyonu yönünde önemli bir adım atılabilir.

Kaynakça

- Backhurst, J.R., Harker, J.H. 1988. The settling rates of larval feeds. *Aquacultural Engineering*, 7: 363-366.
- Baskerville-Bridges, B., Kling, L. J. 2000. Development and evaluation of microparticulate diets for early weaning of Atlantic cod, *Gadus morhua*, larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6: 171-182.
- Buchal, M. A., Langdon, C. J. 1998. Evaluation of lipid spray beads for the delivery of water-soluble materials to a marine suspension-feeder, the Manila clam, *Tapes philippinarum* (Deshayes 1853). *Aquaculture Nutrition*, 4: 263-274.
- Cahu, C. L., J.L. Zambonino Infante, A. Peres, P. Quazuguel, and M.M. Le Gall, 1998. Algal addition in seabass, *Dicentrarchus labrax*, larvae rearing: effect on digestive enzymes. *Aquaculture*, 161: 109-119.
- Fernandez-Diaz, C., E. Pascual, and M. Yufera. 1994. Feeding behavior and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae fed on inert and live food. *Marine Biology*, 118: 323-328.
- Jones, D.A., J.G., Munford, and P.A. Gabbott, 1974. Microcapsules as artificial food particles for aquatic filter feeders. *Nature*, 247: 233-235.
- Kanazawa, A., S. Teshima, S. Inamori, S. Sumida, and T. Iwashita. 1982. Rearing of larval red sea bream and ayu with artificial diets. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima University*, 31: 185-192.
- Kissil, W. G. 1985. Overview: rearing larval stages of marine fish on artificial diets. *Israel Journal of Zoology*, 13: 154-160.
- Kolkovski, S., W. Koven, and A. Tandler. 1997. The mode of action of Artemia in enhancing utilization of microdiet by gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae. *Aquaculture*, 155: 193-205.
- Koven, W., Y. Barr, E. Hadas, I. Ben-Atia, Y. Chen, R. Weiss, and A. Tandler. 1999. The potential of liposomes as a nutrient supplement in first-feeding marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 5: 251-256.
- Koven, W., S. Kolkovski, E. Hadas, K. Gamsiz, and A. Tandler. 2001. Advances in the development of microdiets for gilthead seabream, *Sparus aurata*: a review. *Aquaculture*, 194: 107-121.
- Langdon, C.J. 2003. Microparticle types for delivering nutrients to marine fish larvae. *Aquaculture*, 227: 259-275.
- Le Ruyet, J.P., J.C. Alexandre, L. Thebaud, and C. Mugnier. 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. World Aquaculture Soc.*, 24: 211-224.
- López-Alvarado, J., C.J. Langdon, S. Teshima, and A. Kanazawa. 1994. Effects of coating and encapsulation of crystalline amino acids on leaching in larval feeds. *Aquaculture*, 122: 335-346.
- Ostrowski, A.C. 1989. Effect of rearing tank background color on early survival of dolphin larvae. *Prog. Fish-Cult.*, 51: 161-163.
- Önal, U., Langdon, C. 2000. Characterization of Two Microparticle Types for Delivery of Food to Altricial Fish Larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6: 159-170.
- Önal, U., Langdon, C. 2004a. Lipid Spray Beads for Delivery of Riboflavin to First Feeding Fish Larvae. *Aquaculture*, 233:477-493.
- Önal, U., Langdon, C. 2004b. Characterization of Lipid Spray Beads for Delivery of Glycine and Tyrosine to Early Marine Fish Larvae. *Aquaculture*, 233: 494-511.
- Önal, U., Langdon, C. 2005. Development and characterization of complex particles for delivery of amino acids to early fish larvae. *Marine Biology*, 146: 1031-1038.
- Özkızılcık, S., Chu, F.E. 1994. Uptake and metabolism of liposomes by *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 128: 131-141.
- Villamar, D.F., Langdon, C.J. 1994. Delivery of dietary components to larval shrimp (*Penaeus vannamei*) by means of complex particles. *Mar. Biol.*, 115: 635-642.
- Walford, J., T.M. Lim, T.J. Lam. 1991. Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass (*Lates calcarifer*) larvae: do the larva ingest and digest protein-membrane microcapsules? *Aquaculture*, 92: 225-235.
- Yufera, M., S. Kolkovski, C. Fernandez-Diaz, K. Dabrowski. 2002. Free amino acid leaching from a protein-walled microencapsulated diet for fish larvae. *Aquaculture*, 214: 273-287.
- Yufera, M., K. Fernandez-Diaz, E. Pascual, M.C. Sarasquete, F.J. Moyano, M. Diaz, F.J. Alarcon, M. Garcia-Gallego, G. Parra. 2000. Towards an inert diet for first-feeding gilthead seabream *Sparus aurata* L. larvae. *Aquaculture Nutrition*, 6: 143-152.