

질산염과 인산염 농도 변화에 따른 *Gymnodinium sanguineum*과 *Skeletonema costatum*의 성장과 생화학적 구성성분의 비교

이택건* · 박명환¹ · 신경순 · 장 만

한국해양연구소 해양환경기후본부 유독식물플랑크톤 연구사업단,

¹생명공학연구소 환경생물소재연구실

Comparison on Growth and Biochemical Composition of *Gymnodinium sanguineum* and *Skeletonema costatum* Grown in Different N, P Concentrations

Taek Kyun Lee, Myung-Whan Park¹, Kyoungsoon Shin and Man Chang

Harmful Algal Research Unit, Korean Ocean Research and Development Institute, Koje 656-830, Korea

¹Environmental Bioresources Laboratory, Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305-333, Korea

Abstract - Growth and biochemical composition were analyzed in *Gymnodinium sanguineum* and *Skeletonema costatum* grown in media containing various nitrate and phosphate concentrations. Concentrations of nitrate and phosphate in the growth media were 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 mM and 0, 15, 30, 45, 60 μM, respectively. Growth of *G. sanguineum* was suppressed in the low concentration of nitrate and phosphate (below N = 0.3 mM and P = 15 μM), whereas growth of *S. costatum* did not changed. At the low concentrations of nitrate and phosphate, amount of intracellular protein and carbohydrate in *G. sanguineum* cells were largely decreased, whereas content of carbohydrate in *S. costatum* cells was increased little. Amount of neutral lipid and phospholipid in *G. sanguineum* didn't changed, but concentration of glycolipid was largely decreased in the medium containing low concentrations of nitrate and phosphate. However the levels of TAG, glycolipid, and phospholipid did not changed in *S. costatum* cells. These results show that *S. costatum* is more adaptable than *G. sanguineum* in the low concentration of nitrate and phosphate.

Key words : Nitrate, Phosphate, Growth, Biochemical composition

서 론

질소와 인은 식물플랑크톤의 생물량과 성장에 영향을 미치는 중요한 요인 중의 하나이다. 질소원과 인산원은

해양에서 가장 보편적인 제한요소로 알려져 있으며, 식물플랑크톤은 질소와 인 농도 변화에 따라 성장 및 세포 형태에 매우 큰 변화를 보인다. 질소가 고갈되면 엽록소가 분해되거나, CO₂ 고정 효소 중의 하나인 Rubisco의 활성에 영향을 미친다(Plumley *et al.* 1989). 인이 고갈되면 질소고정 능력이 감소되며(Smith 1990), 질소와 인이 고갈되면 세포의 자가분해 (autolysis)를 유발하기

* Corresponding author: Taek Kyun Lee, Tel. 055-639-8748, Fax. 055-639-8746, E-mail. tklee@kordi.re.kr

도 한다(Brusgaard *et al.* 1997). 그러나 해양에서의 영양염류의 비율에 대한 반응은 식물플랑크톤 종에 따라 다르며, 그 결과 해양에서의 우점종이 결정되기도 한다(Sommer 1986). 따라서 식물플랑크톤 종에 따른 질소와 인에 대한 반응 연구는 적조와 같은 식물플랑크톤 대발생의 기작을 연구하는데 있어서 필수적이며, 최근에 들어 이에 관한 연구가 활발히 수행되어 왔다(Dortch *et al.* 1984; Balch 1985; Estrada *et al.* 1996).

본 연구는 질산염과 인산염의 농도가 다른 배지에서 와편모조류인 *G. sanguineum*과 규조류인 *S. costatum*을 배양하고, 두 종의 성장 및 세포내 구성성분의 변화를 관찰함으로써 저농도의 질산염 및 인산염에 대한 생리적 적응을 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 식물플랑크톤의 배양 및 성장측정

배지내의 질산염과 인산염의 농도를 조절하기 위하여 증류수에 영양염류를 첨가하여 인공해수를 제조하였다. 인공해수의 염도는 NaCl을 첨가하여 조정하였으며, 첨가된 영양염류는 Table 1과 같다. 식물플랑크톤의 성장에 필요한 vitamin은 cyanocobalamine, biotin, thiamine-HCl을 첨가하였고, 최종 인공해수의 pH는 7.8-8.0으로 맞추어 사용하였다.

식물플랑크톤을 500 rpm, 5분간 원심분리하여 세포를

Table 1. Chemical composition of artificial sea water

Nutrients		Amounts (L ⁻¹)
Macronutrients	KCl	0.7 g
	MgSO ₄	3.4 g
	MgCl ₂	1.9 g
	CaCl ₂	1.11 g
	NaNO ₃	0.1 g
	K ₂ HPO ₄	10 mg
	Na ₂ SiO ₃	65 mg
Micronutrients	Na ₂ EDTA	4.36 mg
	FeCl ₃ ·6H ₂ O	3.15 mg
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01 mg
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.022 mg
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.01 mg
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.18 mg
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.006 mg
	Vitamins	Cyanocobalamine
Biotin		1 µg
Thiamine-HCl		100 µg
NaCl		28 g
pH		7.8~8.0

농축한 후, 질산염은 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 mM, 인산염은 0, 15, 30, 45, 60 µM을 각각 첨가한 배지에서 배양하였다. 30.9‰, 50 µmol m⁻²s⁻¹, 20°C 조건에서 배양하였고, 명암 광주기는 14 h : 10 h로 설정하였다. 식물플랑크톤의 성장 측정을 위하여 계대배양한 후, 표시된 날짜 간격으로 1 ml의 시료를 취하여 Lugol 용액으로 고정된 후 광학현미경(Zeiss, Axiophot and color monitor SAM-14P) 하에서 Sedgewick-Rafter counting chamber를 사용하여 세포를 5회 반복 계수하였다.

2. 생화학적 구성성분 분석

각 실험 조건에서 성장하는 식물플랑크톤 세포를 4°C에서 30분간 3,200 rpm으로 원심분리(Sorvall RC 5C)하여 모았다. 모인 세포에 0.2N perchloric acid를 10 ml 첨가하여 세포내에 존재하는 수용성 탄수화물 및 아미노산 등을 제거하였고, 침전물은 지질, 탄수화물, 단백질 분석에 사용하였다(장 등 1998; 조 등 1998).

지질의 추출은 Bligh and Dyer (1959) 방법을 이용하였다. 즉, 수용성 탄수화물이 제거된 시료에 chloroform : methanol (2 : 1, v/v)를 첨가한 후 약 30분간 방치하여 지질을 추출하고, 동량의 증류수를 첨가한 다음, 원심분리(2,000 rpm, 10분)하여 하층의 chloroform층을 취하였다. 추출된 지질은 질소가스 하에서 건조시킨 후 다음 실험이 수행될 때까지 -20°C에서 저장하였다. 추출된 지질은 chloroform : acetic acid (100 : 1, v/v) 2 ml에 녹인 후 Sep-Pak cartridge (Waters)를 이용하여 중성지질, 당지질, 인지질로 분리하였다(Norman and John 1986). 중성지질의 분리를 위하여 10 ml의 chloroform:acetic acid (100 : 1, v/v)와 5 ml의 chloroform : acetone (80 : 20, v/v)을 연속하여 추출하였고, 당지질의 분리를 위하여 8 ml의 acetone과 8 ml의 acetone : acetic acid (100 : 1, v/v)를 연속 처리하였다. 인지질은 5 ml의 methanol : chloroform : water (100 : 50 : 40, v/v/v)를 처리하여 분리하였다.

중성지질, 당지질, 인지질의 정량은 Dittmer and Wells (1969)의 방법을 따랐다. 즉, 지질시료에 2 ml의 dichromate solution (2.5 g K₂Cr₂O₇, 1 L H₂SO₄)을 넣은 후 45분 동안 중탕한다. 실온에서 식힌 후 10 ml의 증류수를 첨가하여 발색되도록 하여 350 nm에서 흡광도를 측정하였고, 기준으로는 1 mg/ml의 palmitic acid를 사용하였다.

단백질의 정량은 Bio-Rad microassay kit를 사용하여 정량하였고, bovine serum albumin (BSA)을 기준으로 사용하였다.

탄수화물 정량은 phenol-sulfuric acid 방법(Dubois *et al.* 1956)을 이용하였다. 10 µl의 시료에 50 µl의 90%

phenol 용액을 첨가하여 섞어준 후, 5 ml의 황산용액을 첨가하여 30분간 실온에서 반응시키고 spectrophotometer (485 nm)를 이용하여 정량하였다. 기준으로는 0.05%의 glucose를 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 질산염 및 인산염 농도에 따른 *G. sanguineum*과 *S. costatum*의 성장

*G. sanguineum*과 *S. costatum*을 질산염과 인산염 농도가 다른 배지에서 배양하면서 두 종간의 성장을 비교 분석하였다. *G. sanguineum*은 질산염과 인산염이 각각 0.3 mM과 15 μ M 이하에서 성장하지 않았으며, 질산염과 인산염이 각각 0.6 mM과 30 μ M인 배지에서 배양하였을 때는 약 4일 이후 성장이 감소하였다 (Fig. 1A). 그러나 *S. costatum*은 질산염과 인산염이 공급되지 않는 배지에서도 실험기간 동안은 성장이 감소되지 않았다 (Fig. 1B). 따라서 *G. sanguineum*은 성장을 위하여 외부에서 공급되는 질산염과 인산염이 필수적임을 나타내는 반면, *S. costatum*은 적어도 실험기간 동안은 외부에서 공급되는 질산염과 인산염이 없어도 생존이 가능한 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 질산염을 세포내에 저장하는 규조류와 세포내에 저장하는 능력이 거의 없는 와편모조류의 특성차이에 기인하는 것으로 판단되며 (Dortch *et al.* 1984; Balch 1985), 인산염이 배지내에 충분할 때

규조류는 와편모조류에 비하여 인산염 흡수도가 매우 높고, 세포내에 저장하는 특징을 가지고 있으며, 인산염 고갈상태에서도 성장률이 높게 나타나기 때문인 것으로 판단된다 (Krom *et al.* 1991; Yamamoto and Tarutani 1996). 특히 *G. sanguineum*은 저농도의 질산염과 인산염이 공급된 배지에서 세포의 크기가 줄어들고 운동성을 상실하였으나, *S. costatum*은 실험기간 동안 형태적인 변화는 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 *G. sanguineum*이 질산염과 인산염이 결핍되었을 때 휴면세포 (resting cell)를 형성하였거나, 휴면세포를 형성하기 위한 과정에 있는 것으로 판단된다.

2. 질산염과 인산염 농도에 따른 *G. sanguineum*과 *S. costatum*의 세포 구성성분의 변화

위와 같이 *G. sanguineum*과 *S. costatum*의 경우 질산염과 인산염 농도가 변화하였을 때 다른 성장 곡선을 보이는 것은 세포활성도의 차이에 기인하는 것으로 추정되며, 성장이 활발한 약 5일 정도에 *G. sanguineum*과 *S. costatum* 세포를 모아 구성성분을 분석하였다 (Figs. 2-5).

*G. sanguineum*의 세포내 단백질 양은 질산염과 인산염 농도에 따라 크게 변화하였는데, 질산염과 인산염이 각각 0.6 mM과 30 μ M을 첨가한 배지에서 배양하였을 때 세포내 단백질의 양이 크게 줄었다 (Fig. 2A). 세포내 단백질의 양은 일반적으로 정상적인 세포의 경우 거의 유사하게 나타나는 것으로 알려져 있는데, *G. sanguineum*의 단백질 양이 변화한 것은 질산염과 인산염 농도가

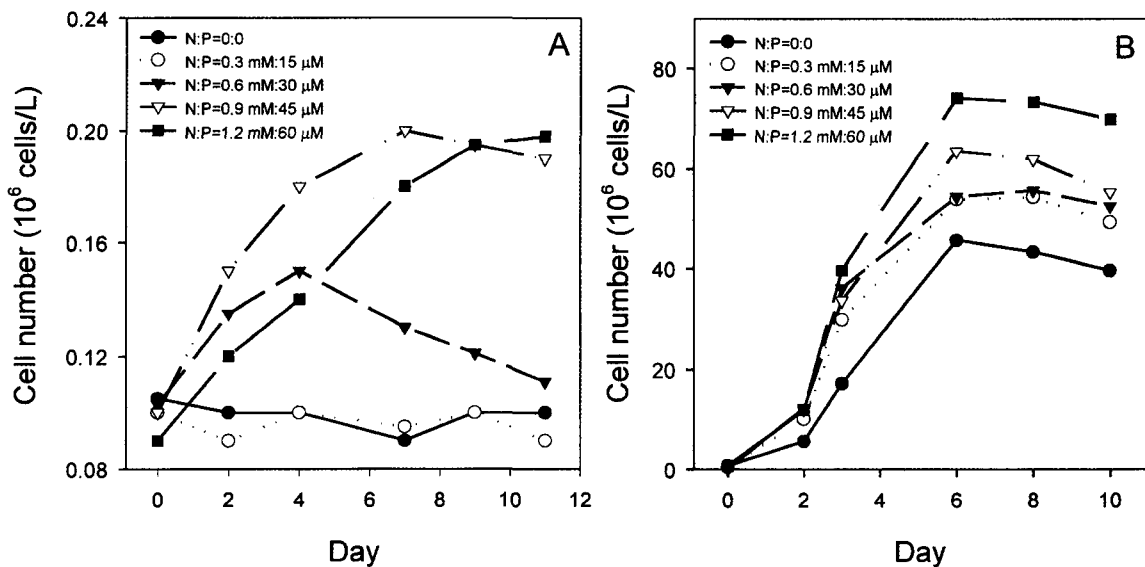


Fig. 1. Growth curves of *G. sanguineum* (A) and *S. costatum* (B) in the medium containing various concentrations of N and P. Phytoplanktons were grown in artificial sea water. Data represent the mean of five determinations.

낮았을 때 성장이 억제되고 (Fig. 1A), 관찰된 살아있는 세포도 세포활성이 크게 떨어지고 있는 과정에 있는 세포이기 때문인 것으로 생각된다. 반면 *S. costatum*의 세포내 단백질 양은 질산염과 인산염 농도가 변화해도 거의 변화하지 않았다 (Fig. 2B). 이러한 결과는 *S. costatum*은 실험기간 동안 저농도의 질산염과 인산염에서도 정상적으로 활발하게 성장하는 것 (Fig. 1B)과 연관이 있다는 것을 나타내며, 인산염이 배지에서 고갈되면 단백질 양이 변화한다는 보고 (Rhee 1978)와도 일치된 결과를 보여주고 있다.

질산염과 인산염 농도가 다른 배지에서 배양하면서 세포내 구성성분 중 탄수화물 양의 변화를 측정하였는

데, *G. sanguineum*은 저농도의 질산염과 인산염 (각각 0.3 mM과 15 μ M 이하) 배지에서 탄수화물의 양이 크게 감소하였고, 질산염과 인산염이 각각 0.6 mM과 30 μ M이 첨가된 배지에서 성장하였을 때도 탄수화물의 양이 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 3A). 이 결과는 질산염과 인산염의 농도에 따라 *G. sanguineum*의 광합성율이나 세포활성이 감소되어 세포내 생존을 위해 요구하는 탄수화물의 공급을 위해 저장성 탄수화물을 사용하고 있음을 보여 주며, *G. sanguineum*이 휴면세포기로 들어가면서 sugar phosphate 양이 영양세포에 비해 줄어든 것으로 보인다 (Oku and Kamatari 1995). 그러나 *S. costatum*은 오히려 질산염과 인산염 농도가 낮을 때 세포내

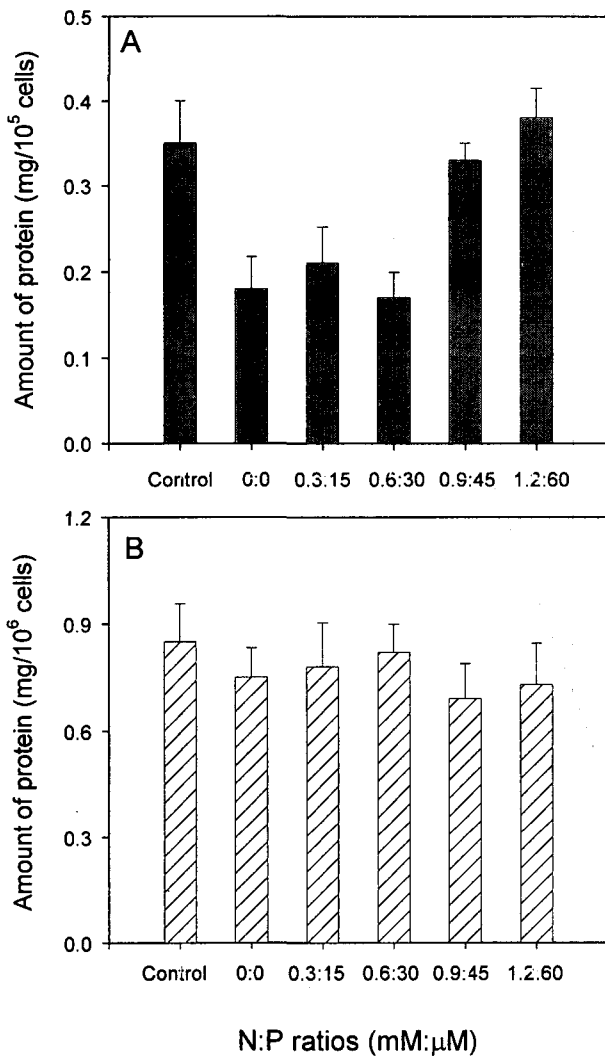


Fig. 2. Changes of protein concentration in *G. sanguineum* (A) and *S. costatum* (B) cells. Each value is a mean of three independent experiments with triplicate determinations. Bars represent standard deviations.

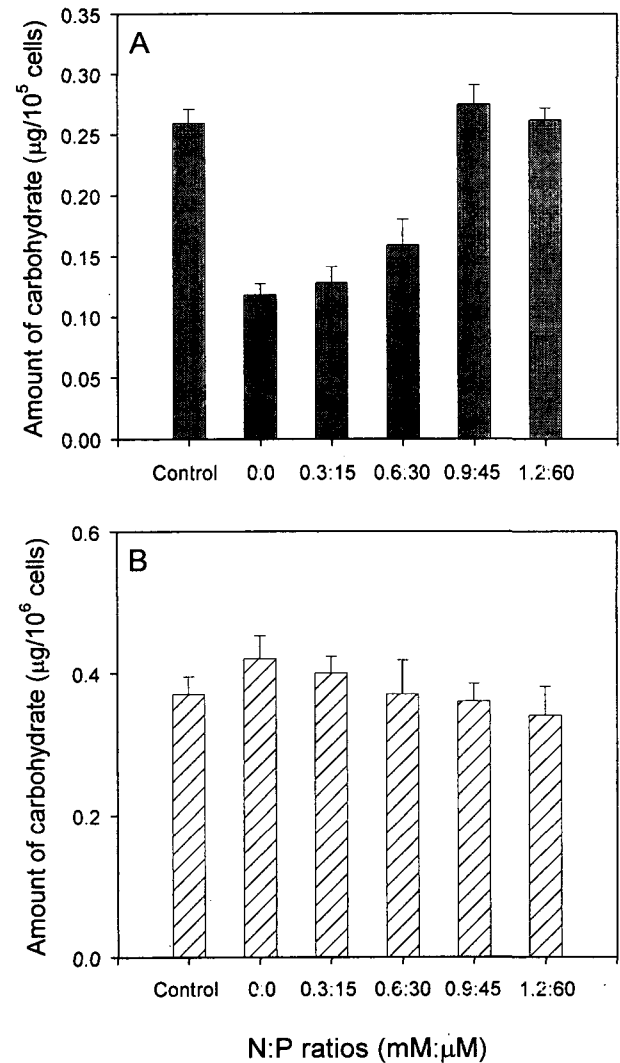


Fig. 3. Changes of carbohydrate concentration in *G. sanguineum* (A) and *S. costatum* (B) cells. Each value is a mean of three independent experiments with triplicate determinations. Bars represent standard deviations.

에 저장성 탄수화물의 양이 많이 관찰되었는데 (Fig. 3B), 이 결과는 공급되는 질산염과 인산염이 부족하기 때문에 단백질, 인지질 및 핵산의 합성과정에 참여하는 탄소원의 공급을 최소한으로 하고 잉여 탄수화물을 저장하는 것으로 판단된다.

세포내 지질 중 인지질, 당지질, 중성지질 양의 변화는 *G. sanguineum*과 *S. costatum* 두 종에서 종간의 차이를 보였다 (Figs. 4-5). 인지질과 당지질은 각각 세포막과 엽록체의 주요 구성성분이며, 중성지질은 일반적으로 미세조류의 생장이 저하되거나 (Parrish and Wangersky 1987; Sicko-Goad and Anderson 1991; Alonso *et al.* 1998), 휴면포자를 형성할 때 (Chapman *et al.* 1980; Timpano and Pfister 1985) 증가하는 것으로 알려져 있다. *G. sanguineum*은 저농도의 질산염과 인산염에서 중성지질의 양은 거의 변화가 없거나 조금 높게 나타났으며 (Fig. 4A), 당지질은 크게 감소하였고 (Fig. 4B), 인지질은 거의 변화를 보이지 않았다 (Fig. 4C). *S. costatum*은 질산염 및 인산염 농도가 변화하여도 인지질, 당지질, 중성지질 양의 변화가 거의 없었다 (Fig. 5). 저농도의 질산염 및 인산염에서 *G. sanguineum* 세포내 중성지질 양이 거의 변화가 없거나 조금 증가한 것은 저농도의 질산염 및 인산염 배지에서 성장하는 *G. sanguineum*의 생장이 저하되고 휴면세포를 형성하기 때문인 것으로 판단된다 (Chapman *et al.* 1980; Timpano and Pfister 1985). 당지질이 크게 감소한 것은 세포활성 저하의 결과 세포내 광합성 활성의 감소를 의미한다. 이러한 결과는 질산염 고갈 상태가 엽록체의 분해를 유도한 것이며, 이것은 자연적 또는 스트레스에 의해 유도되는 노화과정의 전형적인 특징이다 (Penarrubia and Moreno 1995). 특히 당지질 분해 결과 형성된 지방산은 β -oxidation과 glyoxylate cycle을 통하여 세포내에서 요구되는 대체탄소원으로 사용되었을 것 (Lee *et al.* 1998; Manoharan *et al.* 1999)으로 추정된다.

따라서 규조류인 *S. costatum*은 와편모조류인 *G. sanguineum*과는 달리 저농도의 질산염 및 인산염에서도 활발한 성장을 유지하고 세포내 구성성분의 변화가 거의 관찰되지 않았으며, *S. costatum*의 성장과 세포활성에 질산염과 인산염 농도는 실험기간 동안은 큰 영향을 미치지 못한다는 것을 보여준다.

적 요

질산염과 인산염의 농도가 다른 배지에서 *Gymnodinium sanguineum*과 *Skeletonema costatum*의 성장과 세포구성성분을 비교 분석하였다. 질산염은 0, 0.3, 0.6,

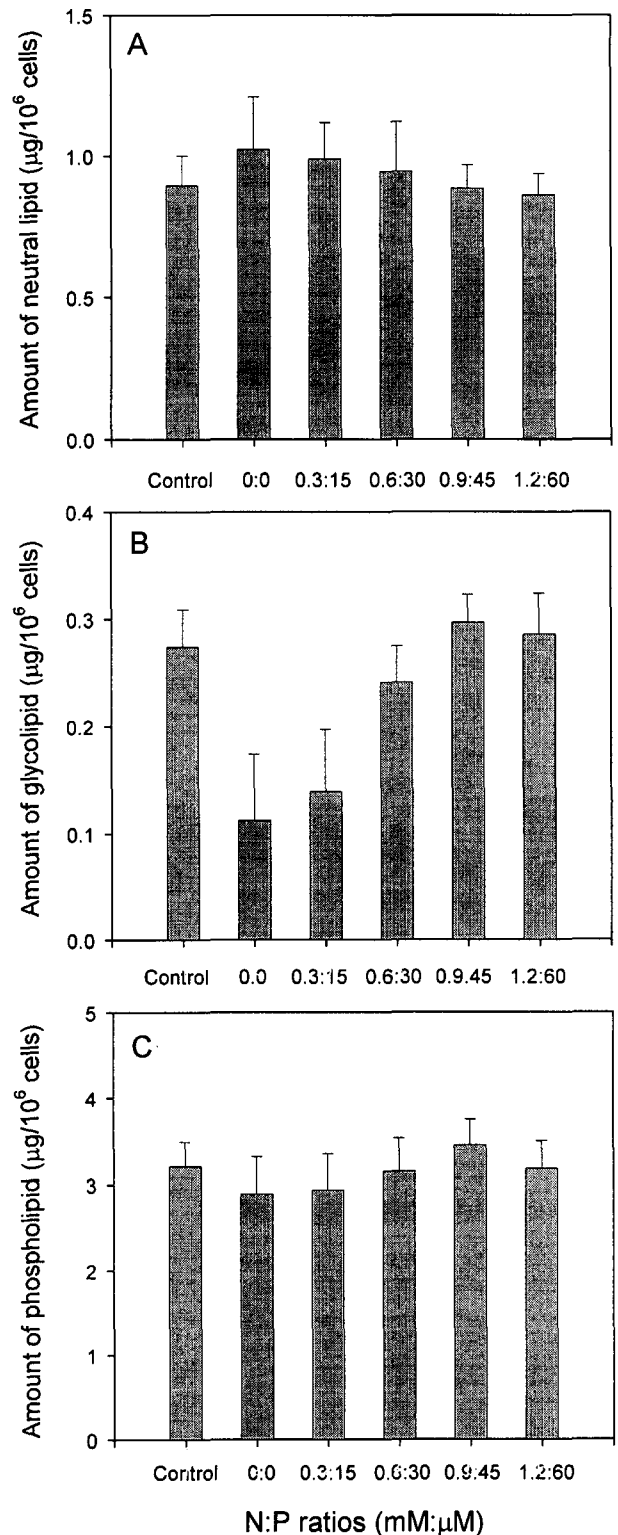


Fig. 4. Amount of neutral lipid (A), glycolipid (B), and phospholipid (C) in the *G. sanguineum* cells grown in the various N and P. Each value is a mean of three independent experiments with triplicate determinations. Bars represent standard deviations.

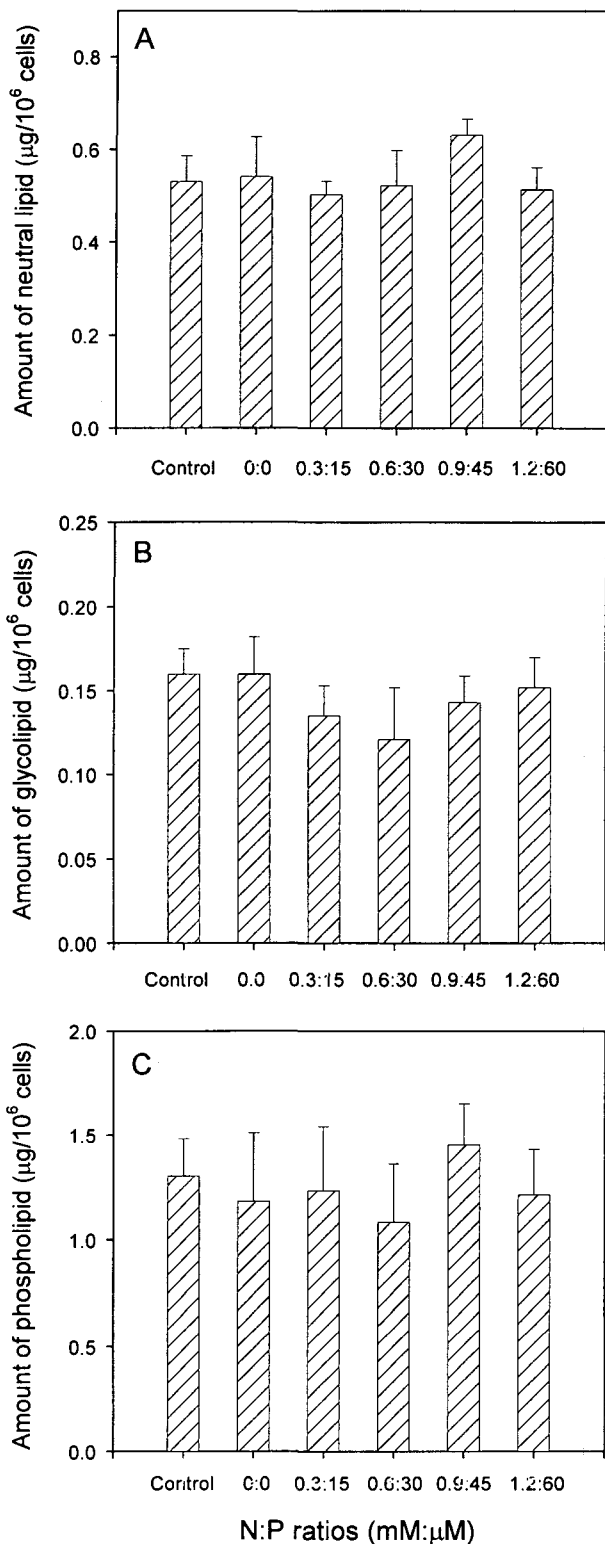


Fig. 5. Amount of neutral lipid (A), glycolipid (B), and phospholipid (C) in the *S. costatum* cells grown in the various N and P. Each value is a mean of three independent experiments with triplicate determinations. Bars represent standard deviations.

0.9, 1.2 mM, 인산염은 0, 15, 30, 45, 60 μM 을 각각 첨가한 배지에서 배양하였을 때, 저농도의 질산염 및 인산염 배지에서 *G. sanguineum*의 성장은 억제되었으나, *S. costatum*은 성장에 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 저농도의 질산염과 인산염 배지에서 *G. sanguineum*의 세포내 단백질 및 탄수화물의 양은 감소하였으나, *S. costatum*은 탄수화물의 양이 조금 증가하는 경향을 보였다. 세포내 지질은 *G. sanguineum*의 경우 중성지질과 인지질은 변화가 거의 없는 반면, 당지질은 저농도의 질산염 및 인산염에서 크게 감소하였다. 그러나 *S. costatum* 세포내의 세 종류의 지질의 양은 변화를 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 저농도의 질산염 및 인산염 배지에서 와편모조류인 *G. sanguineum* 보다 규조류인 *S. costatum*이 더 잘 적응할 수 있다는 것을 보여준다.

사 사

본 연구는 과기부가 지원하는 국가지정연구실 사업의 일부 연구비 지원에 의해 수행되었음.

인 용 문 헌

- 장 만, 조진하, 신경순, 이우성, 이택건. 1998. 적조원인종인 *Prorocentrum minimum*의 온도에 따른 생화학적 조성의 변화. 한국환경생물학회지. 16:397-401.
- 조진하, 이택건, 신경순, 이우성, 장 만. 1998. 적조원인종인 *Prorocentrum minimum*의 광도에 따른 생화학적 조성의 변화. 한국환경생물학회지. 16:391-396.
- Alonso DL, EH Belarbi, J Rodrigura and A Gimenez. 1998. Acyl lipids of the three microalgae. *Phytochem.* 47: 1473-1481.
- Balch WM. 1985. Differences between dinoflagellates and diatoms in the uptake of $^{36}\text{Cl}-\text{ClO}_3$, an analogue of NO_3 . pp. 121-124. In Proceedings of the third International Conference on Toxic Dinoflagellates (Anderson DM, AW White and DG Baden eds.). Elsevier Publishing Co. New York.
- Bligh EG and WJ Dyer. 1959. A rapid method for total lipid extraction and publication. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Brussaard CPD, AMM Noordeloos and R Riegman. 1997. Autolysis kinetics of the marine diatom *Dictyulum brightwell* II (Bacillariophyceae) under nitrogen and phosphorus limitation and starvation. *J. Phycol.* 33:980-987.
- Chapman DV, JD Dodge and SI Heaney. 1980. Light and electron microscope observations on cysts and cyst formation in *Ceratium hirundinella*. *Br. J. Phycol.* 15:193.

- Dittmer JC and MA Wells. 1969. Quantitative and qualitative analysis of lipids and lipid components. *Method Enzymol.* 14:482-531.
- Dortch Q, JR Clayton, SS Thoresen and SI Ahmed. 1984. Species differences in accumulation of nitrogen pools in phytoplankton. *Mar. Biol.* 81:237-250.
- Dubois M, KA Gilles, JK Hamilton, PA Rebers and F Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- Estrada M, E Berlalet, C Marasse, L Alin and M McLean. 1996. Effect of different nutrient combinations on phytoplankton development in microcosms. pp. 297-300. In *Harmful and Toxic Algal Blooms* (Yasumoto T, Y Oshima and Y Fukuyo eds). Sendai Kyodo Printing Co. Kyodo.
- Guillard RRL and JH Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve.) Gran. *Can. J. Microbiol.* 9:229-239.
- Iwasaki H. 1967. Nutritional studies of the edible seaweed *Porphyra tenera*. II. Nutrition of concholis. *J. Phycol.* 3: 30-34.
- Krom MD, N Kress, S Brenner and LI Gordon. 1991. Phosphorus limitation of primary productivity in the eastern Mediterranean Sea. *Limnol. Oceanogr.* 36:424-432.
- Lee SH, HS Chae, TK Lee, SH Shin, BH Cho SH Cho BG Kang and WS Lee. 1998. Ethylene-mediated phospholipid catabolic pathway in glucose-starved carrot suspension cells. *Plant Physiol.* 116:223-229.
- Manoharan K, TK Lee, JM Cha, JH Kim, WS Lee, M Chang, CW Park and JH Cho. 1999. Acclimation of *Prorocentrum minimum* (Dinophyceae) to prolonged darkness by use of an alternative carbon source from triacylglycerides and galactolipids. *J. Phycol.* 35:287-292.
- Normann HA and JBS John. 1986. Metabolism of unsaturated monogalactosyl diacylglycerol molecular species in *Arabidopsis thaliana* reveals different sites and substrate for linolenic acid synthesis. *Plant Physiol.* 81:731-736.
- Oku O and A Kamatari. 1995. Resting spore formation and phosphorus composition of the marine diatom *Chaetocerus pseudocurvisetus* under various nutrient conditions. *Mar. Biol.* 123:393-399.
- Parrish CC and PJ Wangersky. 1987. Particulate and dissolved lipid classes in cultures of *Phaeodactylum tricorutum* grown in cage culture tubidostats with a range of nitrogen supply. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 35:119-128.
- Penarrubia L and J Moreno. 1995. Senescence in plants and crops. pp. 461-481. In *Handbook of Plant and Crop Physiology* (Pessarakli M ed). Plenum Press. New York.
- Plumley FG, SE Douglas, AB Switzer and GW Schmidt. 1989. Nitrogen-dependent biogenesis of chlorophyll-protein complexes. pp. 311-329. In *Photosynthesis* (Briggs WS ed.). Alan R Liss. New York.
- Provasoli L. 1963. Growing marine seaweeds. In *Proc. Int. Seaweed Symposium* (Devirville D and J Feldmann eds.). Pergamon Press. Oxford. 4:9-17.
- Rhee GY. 1978. Effect of N/P atomic ratios and nitrate limitation on algal growth, cell composition, and nitrate uptake: a study of dual nutrient limitation. *Limnol. Oceanogr.* 23:10-25.
- Sicko-Goad L and NA Anderson. 1991. Effect of growth and light/dark cycles on diatom lipid content and composition. *J. Phycol.* 27:710-718.
- Smith VH. 1990. Nitrogen, phosphorus, and nitrogen fixation in lacustrine and estuarine ecosystems. *Limnol. Oceanogr.* 35:1852-1859.
- Sommer U. 1986. Phytoplankton competition along a gradient of dilution rates. *Oecologia.* 68:503-506.
- Timpano P and LA Pfiester. 1985. Ultrastructural observations of germinating hypnozygotes of *Peridinium*. *J. Phycol.* 21 (Suppl.):17 [Abstract]
- Yamamoto T and K Tarutani. 1996. Growth and phosphate uptake kinetics of *Alexandrium tamarense* from Mikawa Bay, Japan. pp. 293-296. In *Harmful and Toxic Algal Blooms* (Yasumoto T, Y Oshima and Y Fukuyo eds). Sendai Kyodo Printing Co. Kyodo.

(Received 10 November 2000, accepted 13 December 2000)