

海洋環境保全에 있어서의 微生物學的 研究

I. 群山 앞바다에 있어서의 Vitamin B₁₂, Thiamine 및 Biotin의 分布

金 鍾 冕 · 趙 仁 鎬 · 朴 忠 雄

全北大學校 農科大學

全北大學校 理科大學

Microbiological Study on the Preservation of Marine Environments

I. Distribution of vitamin B₁₂, thiamine and biotin in the sea water of Kunsan

Kim, Jong Myeon

Department of Veterinary, Jeonbug National University, Jeonju, 520 Korea

Cho, In Ho and Park, Chung Ung

Department of Chemistry, Jeonbug National University, Jeonju, 520 Korea

The concentrations of dissolved vitamin B₁₂, thiamine and biotin in the water of Gyokpo coast, were determined by microbiological assay methods. Also the relations between the distribution of B group vitamin and other environmental factors were studied. Vitamin B₁₂ was assayed with *Euglena gracilis* strain Z, thiamine with *Cryptococcus albidus* and biotin with *Achromo bacter* sp. yH-51.

It was found that the concentration of B group vitamin in the water of Gyokpo coast were normal level : vitaminB₁₂; 1.36-3.95 ng/l, thiamine ; u-0.4 ng/l and biotin; 1.40-14.60 ng/l. The concentration of B group vitamin was high in summer than in winter.

In the water of Gyokpo coast during summer, B group vitamin occurred slightly lower level than normal, the concentration sufficiently necessary for phytoplankton development.

The concentration of biotin was positively correlated with abundance of phytoplankton, but not aerobic heterotrophic bacteria.

It was suggested that the concentration of biotin in water might be much more influenced with the growth of phytoplankton and any environmental factors than bacteria and the other vitamin, especially.

緒 論

많은 植物 plankton은 無機物외에 補助的 生長因子로서 微量의 vitamin 類를 要求한다고 알려져 있다. 따라서, 海洋의 vitamin 類의 消長은 植物 plankton의 增加, 分布, 遷移 그리고 赤潮現象과도 密接하게 關聯되어 海洋의 生物生産에 重大한 影響을

준다고 생각되어 近年 vitamin 類의 生態學的 구설에 많은 注目を 하게 되었다.

植物 plankton에 의해서 要求되는 水溶性 vitamin類는 vitaminB₁₂, thiamine 및 biotin의 3種에 限定되며 單獨 혹은 2種 내지 3種의 組合으로 要求되고 있다. 植物 plankton 215種을 調査한 結果를 보

면 vitamin 을 要求하는 것은 147種(67%)으로서 vitamin 別로 보면, vitamin B₁₂ 122種(57%), thiamine 82種(38%), biotin 10種(5%)順으로 되어 있다(岩崎, 1968).

群山 앞 近海인 格포沿岸은 西海 特有的의 波浪의 影響을 많이 받을 뿐만 아니라 潮汐의 差가 크고 外洋水의 交流가 良好하여 多少 汚染의 原因이 存在한다 하더라도 問題視 될만한 生態系의 變化는 있을 것으로 생각되며, 오히려 貧營養狀態인 것으로 推測된다.

本 實驗은 過去 貝類의 斃死가 發生된 地域이며 現在는 海苔養殖 권장地域이고 自然産 貝類의 棲息處인 格포海峽을 대상으로 하여 海水中の vitamin B₁₂, thiamine 및 biotin의 分布와 이의 季節의 消長關係를 調査한 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

調査水域의 概況: 格포는 邊山半島의 바로 南쪽에 位置하고 砂場을 끼고있는 直徑 4 km의 조그마한 灣이다. 西쪽은 黃海와 障礙되는 것 없이 潮汐의 差가 심하며 淡水가 流入될 만한 河川도 없을 뿐만 아니라 廢水의 流入도 없다. 다만 몇년째 되는 海苔養殖이 한곳에 있고 장차 近海에 海苔養殖이 盛行될 展望이다.

試料의 採取: 調査는 1982年 2月, 7月, 8月에 實施하였다. 海水試料는 Fig. 1에 表示한 바와 같이 5

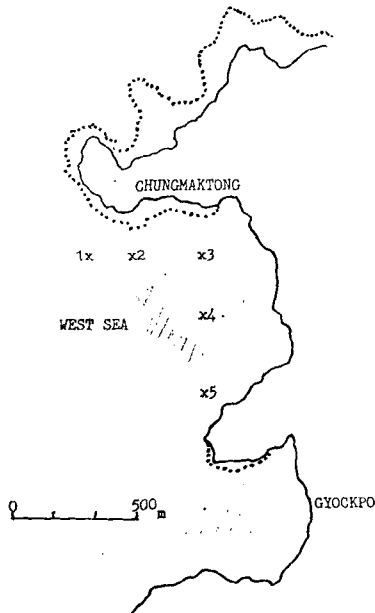


Fig. 1. Location of sampling station in GYOCKPO coast.
Fig. 1. Location of sampling station in Gyokpo coast

個地點을 選定하고 表層水에 限하여 採水即時 水冷하여 實驗室에 운반 처리하였다.

chlorophyll a의 定量海水試料를 glass micro-fiber 濾紙(Whatman paper Ltd. 製)로 濾過하여 이 濾紙를 mortar 로 90% acetone을 加하면서 磨碎하여 chlorophyll a를 抽出하였다. 이를 遠心分離한 후 上澄液을 比色하여 SCOR-UNESCO 作業委員會의 計算式에 의하여 chlorophyll a量을 算出하였다. 比色에는 UV. VIS. Spectrophotometer (Hitachi. M-100-30)를 사용하였다.

好氣性從屬營養菌細의 計數: ZoBell의 221-6E-多賀·關 改良培地(多賀 등, 1967)를 사용하여 MPN法에 의하여 計數하였다. 培養은 22°C에서 2週間行하였고 增殖의 有無는 培地의 混濁에 의해서 判定하였다.

vitamin 定量: 海水試料를 HA millipore filter (孔徑 0.45 μ)로 濾過하여 이 濾液을 가지고 定量하였다. 濾液은 分析直前까지 -20°C에 凍結保存하였다. vitamin의 定量은 微生物定量法에 의하여 定量하였으며 vitamin B₁₂에는 *Euglena gracilis* Z株(林·上久, 1966), thiamine에는 *Cryptococcus albidus* (Natarajan, 1966), biotin에는 *Acromobacter* sp. yH-51株 (Ohwada, 1972)를 각각 사용하였다.

結 果

群山 앞 近海 格포 海水分析의 結果는 Table 1과 같다. 또한 이 結果로부터 計算된 季節別 vitamin 및 chlorophyll a 含量의 平均値와 그 95% 信賴區間을 Table 2에 그리고 名 vitamin 含量과 chlorophyll a 含量 및 好氣性從屬營養菌細의 相關係數를 Table 3에 表示하였다.

水溫, 透明度 chlorophyll a 含量 및 好氣性從屬營養菌細數: 水溫은 冬季인 2月에는 4.5°C 이었고 夏季인 8月에는 23°C 로서 水溫의 年較差는 18.5°C 이었다. 透明度는 冬期에 1.5 m, 夏期에 2.1 m로서 큰 差가 없음을 알 수 있었다. 이 海域의 chlorophyll a 含量은 0.46~3.40 μ g/l의 범위에 있으며, Table 1에서 보는 바와 같이 8월에 다소 높았다. 好氣性從屬營養菌細數는 10⁵~10⁶ cells/ml의 範圍이며 夏季에 많고 冬季에는 적었다.

vitamin의 分布: 海水(表層水)의 vitamin B₁₂ 濃度는 1.36~3.95 ng/l 이었으나 station에 따르는

Table 1. Concentrations of B group vitamins and environmental factors in the water of Kunsan (Gyokpo)

Date	St.	Trans- parency m	Sampling depth m	Temp. °C	Chloro. a ug/l	Aerobic heterotrophs cells/ml	Vitamin B ₁₂ ng/l	Thia mine ng/l	Biotin ng/l
Feb. 19, 1982	1	1.5	0	4.5	1.07	3.5×10 ⁵	1.75	u*	1.6
	2	1.7	0	"	1.41	1.7×10 ⁵	2.40	"	2.5
	3		0	"	1.30	3.5×10 ⁵	2.13	"	2.4
	4		0	"	0.81	2.4×10 ⁵	1.36	"	1.4
	5		0	"	1.04	9.2×10 ⁵	1.50	"	1.5
July 18, 1982	1	1.5	0	21	0.46	2.4×10 ⁵	—	"	5.4
	2	2.1	0	"	1.08	5.4×10 ⁵	—	"	4.6
	3		0	"	0.70	9.2×10 ⁵	—	"	5.1
	4		0	"	0.23	2.8×10 ⁵	—	"	5.3
	5		0	"	1.13	1.8×10 ⁵	—	"	5.1
Aug. 16, 1982	1	1.5	0	23	3.40	1.6×10 ⁶	3.13	0.3	6.3
	2	2.	0	"	2.09	9.2×10 ⁵	3.95	0.4	4.5
	3		0	"	1.64	9.2×10 ⁵	3.13	0.3	6.0
	4		0	"	1.41	9.2×10 ⁵	3.88	0.2	5.1
	5		0	"	1.43	1.6×10 ⁶	3.20	0.2	5.0

*: represents undetectable amounts.

Table 2. Seasonal variation in the concentration of vitamins and chlorophyll a in the water of Kunsan (Gyokpo)

Date	Vitamin B ₁₂		Thiamine		Biotin		Chlorophyll a	
	Mean	Range*	Mean	Range*	Mean	Range*	Mean	Range*
Jan. 12, 1982	—	—	—	—	1.42	1.37-1.45	0.61	0.47-0.75
Feb. 19, 1982	1.83	1.29-2.37	u**	—	1.88	1.23-2.53	1.13	0.83-1.42
July 3, 1982	—	—	u**	—	5.10	4.72-5.48	—	—
Aug. 20, 1982	3.46	2.94-3.98	0.28	0.18-0.38	5.38	4.45-6.31	1.99	0.96-3.03

*Range represents the 95% confidence intervals

**u represents undetectable amounts

濃度の 差異는 冬季와 夏季 모두 큰 差異가 없었으나 Table 2에 나타난 바와 같이 季節平均에 의한 vitamin B₁₂ 含量의 比較値는 夏季의 含量이 冬季보다 2倍量이 많아졌음을 알 수 있었다(1.83~3.46 ng/l). Thiamine의 濃度は 極히 적어 冬季에는 檢出하기 어려울 程度의 量이었고 夏季에도 極히 적은 濃度로서 u-0.4 ng/l이었다. biotin 濃度は 1.5~6.3 ng/l로서 冬季와 夏季의 平均値의 差異는 3種의 vitamin 中 가장 크며 3倍 이상이나 되었으나 station에 따르는 差異가 없었던 것은 vitamin B₁₂와 같았다.

水質分析의 結果에서 計算된 vitamin 含量과 chlorophyll a 含量, 그리고 細菌數와의 相關關係를 보면 (Table 3), 격포의 海水中の biotin은 chlorophyll a와의 사이에 높은 正의 有意性이 認定되었으나 biotin 외의 2種 vitamin과는 相關關係를 찾

Table 3. Correlation coefficients between the concentration of B group vitamins and environmental factors in the water of Kunsan (Gyokpo)

Vitamins ng/l	Chlorophyll a ug/l	Aerobic heterotrophs log cells/ml
Vitamin B ₁₂	0.64	-0.52
Thiamine	0.49	-0.33
Biotin	0.73*	-0.23

* Significant at the 1% level

을 수 없었고 또한 vitamin 含量과 細菌數間에서도 같은 結果이었다.

考 察

群山 앞 近海 격포海域의 海洋學의 特性은 우리 나라

南海沿岸의 灣들과는 달리 潮汐의 差가 커서 西海의 外洋水의 영향을 많이 받아 그 交流가 잘 이루어질 뿐만 아니라 廢水根源이 될만한 工場이나 河川이 없는 것이 이 地域의 特性이라 할 수 있겠다.

本 調査 海域의 水溫은 海水交流가 不良한 南海沿岸 駕莫洋灣의 冬季水溫 1.6~2.8 °C 와 夏季水溫 25.5 °C~32.0 °C 에 비하여 4.5 °C~23 °C로서 18.5 °C 의 비교적 적은 年較差였다. 透明度에 있어서도 冬季와 夏季의 差異를 볼 수 없었고 透明度가 적어 混濁함에도 불구하고 細菌數나 chlorophyll a 含量 및 3種의 B群 vitamin 의 含量도 南海沿岸 駕莫洋灣에 비하여 적었다.

海水中の vitamin 의 分布에 관해서는 많은 報告가 있으며 日本의 內灣域과 世界各地에서 測定된 海水中 vitamin 含量을 Table 4 에 要約하였다. 海水中の B群 vitamin 은 微生物 定量法에 의해서 定量되지만 이에 사용되는 微生物의 種類 및 菌株에 따라 vitamin 類似化合物에 對한 反應特性에 差가 있기 때문에 相異한 菌株을 가지고 測定된 數值를 엄밀히 比較한다는 것은 困難한 일이지만 다음과 같이 概略할 수 있었다.

今般 調査된 西海沿岸 各海域의 3種의 B群 vitamin 濃度は 赤潮가 多發하는 東京灣·瀬戶内海의 各海域과 顯著한 差異가 있었다. 즉 東京灣의 vitamin B₁₂ 濃度 23.2~73.2 ng/l (Ohwada, 1973) 에 비하여 各海域은 冬季에 1.83 ug/l, 夏季에 3.46 ng/l이었고 瀬戶内海의 Bingo Nada 海域의 0.20~9.32 ng/l (Nishijima et. al., 1977)에 비교하면 1/3 정도에 不過하였으며 南海駕莫洋灣의 1.90~5.

75 ng/l (趙 등, 1982)에 비하여서도 夏季의 경우 1/2 정도 밖에 미치지 못하였다. 한편 Subarctic Pacific Ocean 의 0~3.39 ng/l (Natarajan, 1970)와 Northeast Pacific Ocean 의 0.43~4.14 ng/l (Carlucci, 1966)에 비하면 거의 同程度이었다. biotin 含量은 南東 Alaska 海域 (Natarajan, 1968) 보다는 약간 높은 편이었다.

植物 plankton 의 補助的인 發育因子로서 增殖에 必要한 B群 vitamin 의 量은 極히 微量임이 알려져 있다. Droop (1957)의 報告에 의하면 vitamin B₁₂ 0.1 pg 當 植物 plankton 의 增殖量은 *Skeletonema costatum* 에 있어서 2.5×10⁴ 細胞이고 *Monochrysis lutheri* 에서 8×10⁴ 細胞이다 Guillard 등(1963)은 7種의 海産珪藻의 vitamin B₁₂ 1 pg 當 增殖量은 1.3×10⁴~4.8×10⁵ 細胞이었다고 報告하고 있다. 또한 岩崎(1972)는 7種의 赤潮鞭毛藻의 增殖好適 vitamin B₁₂ 濃度は 10 ng/l 또는 20 ng/l 이었다고 報告하고 있다. Tokuda (1966)는 *Nitzschia closterium* 은 0.1 ng/l 의 thiamine 으로 6.9×10⁵ cells/ml 까지 增殖하였다고 報告하였으며 岡市(1972)는 *Eutreptiella* sp. 는 0.5 ng/l 의 thiamine 으로 6×10⁴ cells/ml까지 增殖할 수 있다고 하였다. 또한 Carlucci 등(1969)에 의하면 植物 plankton 의 光合成活性에 의한 vitamin 의 MICHAELIS 定數는 vitamin B₁₂ 2.9 ng/l (*Cyclotella nana*, Clone 13-1), thiamine 125 ng/l (*M. lutheri*), biotin 4.0 ng/l (*Amphidinium carterae*)이었다.

이와 같이 植物 plankton 의 vitamin 要求量은 種類에 따라 다르지만 以上の 報告에 의한 이들 vita-

Table 4. Vitamin concentrations in the coastal waters of Japan and in the sea water of the other dsitric of world

Region	Vitamin B ₁₂ (ng/l)	Thiamin (ng/l)	Biotin (ng/l)	Authors
Tokyo Bay	23.2~73.2	71~912		Ohwada (1973)
Sagami Bay	0~14.3	0~142	0~17.3	Ohwada (1972)
Suruga Bay		0~71	0~3.4	Ohwada (1971)
Kagoshima Bay	0~15			Kashiwada et al. (1957)
		11~227		Kashiwada et al. (1964)
	0~28.73			Inoue (1978)
Seto Inland Sea				
Hiuchi-Nada District	0.68~8.52	0~424	0.2~26.4	Nishijima et al. (1977)
Bingo-Nada District	0.20~9.32	44~516	0.5~60.0	Nishijima et al. (1977)
Subarctic Pacific Ocean	0~3.39	0~445		Natarajan (1970)
Southeast Alaska		0~200	0~3.1	Natarajan (1968)
Northeast Pacific Ocean	0.43~4.14			Carlucci (1966)
Gamag yang (Korea)	1.90~5.75	u~0.48	2.4~14.6	Cho et al. (1982) unpublished

min 要求量은 vitamin B₁₂, 1~10 ng/l; thiamine, 100~500ng/l 및 biotin, 數 ng/l 정도임을 생각할 수 있다. 이들 濃度를 各海 域의 vitamin 濃度와 比較하면 thiamine 을 除外하고는 夏季의 높은 數值 일지라도 1/3 程度에 불과했으나 biotin 量은 충분한 정도이었다.

특히 이들 3種의 vitamin 含量과 chlorophyll a 含量과의 相關關係에 있어서 biotin 만이 正의 有意性 있는 相關關係를 나타 내었다. 이같은 事實은 各海 域의 海水中的 biotin 은 植物 plankton 의 增殖에 積極 關與하고 있는 것으로 해석되며 기타 vitamin 보다는 그 영향에 있어 근소한 정도이었음을 알 수 있었다. 이 結果는 chlorophyll a 와 vitamin B₁₂ 및 thiamine 그리고 細菌數와의 相關關係가 희박한 特徵의 水域임을 알 수 있다.

海水中에 存在하는 B 群 vitamin 의 起源으로서는 各種의 細菌類나 植物 plankton 에 의한 生産 외에 海 域에 流入되는 各種의 廢水나 底土 및 懸濁物質로부터의 溶出 등이라고 말하고 있다. 住居人들이 적고 有機物과 廢水의 流入이 거의 없으며 海苔養殖場 한 곳만을 끼고 있는 各海 域의 海水는 오히려 貧營養 狀態라고 말할 수 있었다. 同年에 調査된 麗水 駕莫洋灣과의 比較(趙 등, 1982)에서도 나타난 바와 같이 (Table 4) 그 數值에 훨씬 미달됨을 알 수 있었다.

海洋細菌의 많은 種類가 B 群 vitamin 을 生産한다는 것은 이미 다수의 研究者에 의해서 밝혀졌으며 (Burkholder, 1959; 倉田 등, 1968), 近年에 와서는 植物 plankton 도 生長因子로서 vitamin 類를 要求하는 한편 增殖에 따라서 다른 vitamin 을 生産하여 細胞外에 分泌한다는 사실도 밝혀져 (Carlucci, 1974) 海水中的 vitamin 供給源으로서의 植物 plankton 이 중요한 位置를 차지하고 있음을 알 수 있다.

今般 調査結果는 海水中的 細菌數와 vitamin 의 含量과는 相關關係를 認定하기 어려워 好氣性從屬營養 細菌에 의한 영향이라기 보다 植物性 plankton 에 의한 것이 그 意味가 컸음을 이 海 域에서 알 수 있다.

要 約

海苔의 養殖이 권장되고 있고 貝類養殖이 盛行되던 西海 群山 앞 近海인 各海 域에 있어서 植物 plankton 의 增殖에 必要한 3種의 B 群 vitamin - vitamin B₁₂, thiamine 및 biotin 에 관하여 海水中的 分布와 그 量的 消長을 調査하여 他的 環境要因

과 比較 檢討하였다.

1. 本 調査海 域은 南海沿岸灣들과는 달리 潮汐의 차가 커서 西海의 外洋水와의 交流가 잘 이루어 질 뿐만 아니라 廢水根源이 될만한 河川이나 工場등이 없어 比較的 正常이라고 말할 수 있다.

2. 各海 域의 海水中的 vitamin B₁₂, thiamine 및 biotin 의 濃度는 각각 1.36~3.95 ng/l, u~0.4 ng/l, 1.4~6.3 ng/l 이었다. 試料採取地點에 따르는 差異가 없었으나 夏季의 量은 冬季보다 2倍量이나 높았다.

3. 이 海 域의 海水中的 vitamin 量은 南海沿岸 駕莫洋의 것에 비하여 vitamin B₁₂, biotin 의 경우 1/2 에 不過하였다.

4. Chlorophyll a 含量과 vitamin B₁₂ 및 thiamine 과는 相關關係가 없었으나, biotin 의 경우는 正의 有意한 相關關係가 있었다.

5. vitamin 含量과 好氣性 從屬營養細菌數와는 相關關係를 나타내고 있지 않아 이 海 域에 있어서 vitamin 生産은 細菌에 의한다기 보다는 植物 plankton 및 기타 原因에 더 큰 意義가 存在할 것으로 思料된다.

謝 辭

Vitamin B₁₂, thiamine 및 biotin 의 定量에 있어서 菌株의 分讓과 分析法을 指導해 주신 日本 高知大學 農學部 畑 幸彦博士와 西島 敏隆博士에 대하여 感謝의 뜻을 表하며 分析의 一部를 分擔한 李 鴻 君과 試料採取에 協助해 준 在學生 崔 民 君과 姜 明 君에도 感謝한다. 끝으로 이 實驗을 遂行하기 위한 研究費를 支援해 주신 韓國科學財團에 深甚한 謝意를 表한다.

文 獻

- Burkholder, P.R. 1959. Vitamin-producing bacteria in the sea. Preprints Int. Oceanogr. Congr. 912~913.
- Carlucci, A.F. and Silbernagel, S.B. 1966. Bioassay of sea water. III Distribution of vitamin B₁₂ in the Northeast Pacific Ocean. Limnol. Oceanogr. 11, 642~646.
- Carlucci, A.F. and Silbernagel, S.B. 1968. Effect of vitamin concentrations on gro-

- wth and development of vitamin-requiring algae. *J. Phycol.* 5, 64~67.
- Carlucci, A.F. 1974. Production and utilization of dissolved vitamins by marine phytoplankton. In "Effect of the Ocean Environment on Microbial Activities" ed. by Colwell, R.R. and Morita, R.Y., p. 449~456.
- 趙仁鎬・朴忠雄・金鍾晁, 1982. 海洋環境保全에 있어서의 微生物的 研究. II 麗水 앞바다에 있어서의 vitamin B₁₂, Thiamine 및 Biotin 의 分布 未發表.
- Droop, M.R. 1957. Vitamin B₁₂ in marine ecology, *Nature* 180, 1041~1042.
- Guillard, R.R.L. and Cassie, V. 1963. Minimum cyanocobalamin requirements of some marine centric diatoms. *Limnol. Oceanogr.* 8, 161~165.
- 林 光則・上久保正, 1966. *Euglena gracilis* Z 株による海洋資源中ビタミン B₁₂の定量法, 醸工44, 640~645.
- 井上晃男, 1978. 鹿児島湾海水中のビタミン B₁₂ 含量について, 鹿児島湾赤潮発生原因調査研究報告書, 昭和52年 6月發生の Hornellia赤潮, p. 49~52.
- 岩崎英雄, 1968. 微小藻類のビタミン要求, 水産増殖 16, 171~176.
- 岩崎英雄, 1972. 赤潮鞭毛藻の生理生態. 内湾赤潮の発生機構, p. 77~98, 日本水産資源保護協會, 東京.
- 柏田研一・柿本大壹・川越一徳, 1957. 海水のビタミンに関する研究一Ⅱ, B₁₂の 日時的變動及び湖水における B₁₂含量の垂直分布, 日本誌, 23, 450~453.
- 柏田研一・金澤昭夫, 1964. 海洋の微量有機成分に関する研究一Ⅱ, 海水中のビタミン B₁₂について. 日本水産學會秋季大會講演要旨, p. 57.
- 倉田 亮・大俣正夫, 1968. 海洋性ビタミン B₁₂生産菌に関する研究(第1報), 海洋性ビタミンB₁₂生産菌の分布とビタミン B₁₂生産について, 京大食研報告 31, 26~34.
- Natarajan, K.V. and Dugdale, R.C 1966. Bioassay and distribution of thiamine in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 11, 621~629.
- Natarajan, K.V. 1968. Distribution of thiamine, biotin and niacin in the sea. *Appl. Microbiol.* p. 366~369.
- Natarajan, K.V. 1970. Distribution and significance of vitamin B₁₂ and thiamine in the Subarctic Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.* 15, 655~659.
- 西島敏隆・畑 幸彦, 1977. 沿岸海域におけるB群ビタミンの消長と微生物, 瀬戸内海の汚染と指標生物の動態に関する研究, 昭和 51年度, p. 120~131.
- 岡市友利, 1972. 浅海の汚染と赤潮の發生. 内湾赤潮の發生機構. p. 58~76, 日本水産資源保護協會, 東京.
- 大和田紘一, 1971. 海水中のビタミン類, 海洋科學 3, 516~520.
- Ohwada, K. 1972. Bioassay of biotin and its distribution in the sea. *Mar. Bio.* 14, 10~17.
- 大和田紘一, 1973. 微生物を用ひる海水中の微量成分に関する研究, 海洋科學 5, 112~117.
- Ohwada, K. and Taga, N. 1973. Distribution and seasonal variation of vitamin B₁₂, thiamine and biotin in the sea. *Mar. Chem.* 1, 61~73.
- 多賀信夫・關斌, 1967. 海水中の有機營養細菌群のバイオマスならびに有機物分解力の測定法, 海洋生物群の總合的研究 41年度 研究業績報告, p. 87~90.
- Tokuda, H. 1966. Studies on the growth of a marine diatom, *Nitzschia closterium* I. Its requirement for thiamine. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 32, 565~567.