

호염성세균, *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov.의 염류요구특성

손재학*

신라대학교, 해양바이오전공

호염성세균인 *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov.은 규조류인 *Skeletonema costatum*에 의한 적조발생동안 마산만의 표층수로부터 분리되었다. 본 균주는 숙성해수가 공급된 ZoBell 2216E 배지에서 성장이 가능하나 3% NaCl만이 공급된 동 배지에서는 성장하지 않았다. 13종의 주된 해수성분을 대상으로 한 염류 요구성 조사에서 Na^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 이온이 제한된 배지에서는 성장을 하지 않아, 성장을 위해 필수적으로 3조의 이온을 요구하였다. 3종의 이온을 대상으로 한 Kinetic 조사에서 Na^+ , Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 의 K_m 값은 각각 0.202 M, 0.089 mM, and 0.189 mM로 결정되었으며 $V_{\max}(\mu\text{max})$ 는 또한 0.442h, 0.411h 및 0.316h로 결정되었다. 혼미경적 관찰에서 *K. algicida*는 각 이온들을 제한하였을 때 2~8시간에 내에 빠른 사멸을 나타내었다. 이러한 결과로 *Kordia algicida*는 해양으로부터 유래된 전형적인 호염성세균임을 알 수 있었으며 해양유래 미생물의 분리 시 각별한 주의가 요구됨을 시사한다.

Key word □ algicidal bacterium, halophilic bacterium, *Kordia algicida*, salts requirement

담수 환경에 서식하는 전형적인 세균이 염분의 환경에 접할 경우 삼투현상에 따른 stress를 받게되어 물리화학적 또는 형태학적인 변형에 순응하지 못하여 사멸하게 되나 때로는 specific compatible organic osmolytes (glutamine, proline, glycine, betaine 등)를 합성함으로서 또는 무기염류(Na^+ , K^+ and Mg^{2+})를 축착함으로서 삼투조절에 의해 방어할 수 있다. 염분에 민감한 세균은 세포나 세포질의 변화에 따른 팽창, 연장 및 수축에 의한 형태적인 변화를 가져오게 된다(12). 이에 반하여 호염성 세균들은 2.5 ~4% (w/v) NaCl이 포함된 배지에서 가장 잘 성장하는 미생물이며 고염성 세균은 4~30% NaCl농도에서도 성장이 가능하다. 상대적으로 이들은 담수조건에서 형태적인 변화에 따라 성장하지 못하거나 매우 서서히 성장한다.

대부분의 해양세균은 세포막의 안정성, 효소활성, 능동수송 등을 위해 Na^+ 이온을 필수적으로 요구하는 것으로 알려져 있다. 한 예로, 해양세균인 *Vibrio*는 energy 생성을 위해 일차적인 Na^+ 펌프(primary Na^+ pump)를 소유하고 있어 Na^+ 이 공급하지 않을 경우 성장을 하지 못한다. 그러나 H^+ 펌프를 가지고 있는 일반적인 세균은 고농도의 Na^+ 을 공급지 않아도 잘 성장한다. 이러한 사실로부터 일차적인 Na^+ 펌프의 존재는 해양세균의 Na^+ 요구성과 깊은 관련이 있는 것으로 보인다(7). 해양으로부터 분리된 일부의 세균은 NaCl 만을 공급한 배지에서 성장을 하지 못하는 stenohaline 한 특성을 가지고 있어 추가적인 2가 양이온들(divalent cations)을 요구한다(2). 성장을 위하여 해양세균들은 Na^+ 이온 이외에도 한 쌍의 양이온으로 K^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 을 절대적으로 요구한다(3, 5). 이러한 특징 때문에 해양미생물을 분리

하고자 할 때 종류수대신 인공해수나 숙성해수를 배지 내에 필수적으로 공급하고 있다.

적조발생동안 일부의 적조생물을 특이적으로 사멸시킬 수 있는 능력을 가지고 있는 살조세균으로 분리된 *Kordia algicida*는 3종의 양이온을 절대적으로 요구하는 특징을 가지고 있음을 확인하였다. 본 논문에서는 일차적인 연구로서 해양 살조세균인 *Kordia algicida*의 염류 요구성, 3종의 염류에 대한 Kinetics 및 이들의 제한에 따른 사멸과 형태적인 변화에 대하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균주 및 배지

본 실험에 사용한 균주는 해양성 세균인 *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov.이며 적조원인 생물인 *Skeletonema costatum*, *Heterosigma akashiwo*, *Cochlodinium polykrikoides*, *Thalassiosira* sp.을 선택적으로 살상하는 살조세균(Algicidal bacterium)으로 적조다발지역인 마산만 본류에서 분리·동정 되었다(9).

성장을 위한 배지는 ZoBell 2216E 고형배지(Bacto-peptone 5 g, Bacto-yeast extract 1 g, FePO₄ 0.01 g, Bacto-agar 15 g, 종류수 250 ml 및 숙성해수 750 ml; 14)이용하였으며 배양은 25°C에서 수행하였다. 염류의 요구성, 염류에 대한 kinetics 및 성장제한시험을 위해 사용된 배지는 ZoBell 2216E 배지를 변형한 M-ZoBell 2216E 배지(Bacto-peptone 5 g, Bacto-yeast extract 1 g, 종류수 1000 ml)를 이용하였으며 주된 해수성분인 13종의 염류들(NH_4Cl 0.002 g/L, H_3BO_3 0.027 g/L, CaCl_2 1.140 g/L, FePO_4 0.001 g/L, MgCl_2 5.143 g/L, KBr 0.1 g/L, KCl 0.690 g/L, NaHCO_3 0.2 g/L, NaF 0.003 g/L, Na_2SiO_3 0.002 g/L, Na_2SO_4

*To whom correspondence should be addressed.

Tel: 051-999-5629, Fax:
E-mail: jhsohn@silla.ac.kr

4.06 g/L, SrCl 0.026 g/L, NaCl 23.0 g/L)은 M-ZoBell 2216E 액체 배지를 이용하여 stock solution으로 만든 후 멸균하여 이용하였다.

균주의 준비

세포의 수확을 위하여 해양세균인 *K. algicida*는 200 ml ZoBell 2216E 액체배지에 접종한 후 25°C에서 24시간 동안 150 rpm에서 진탕배양 하였다. 배양액은 원심분리(16,000×g, 4°C)에 의해 세포를 수확하였으며 수확된 세포는 멸균된 50mM HEPES 완충용액(pH 7.2, Sigma) 50 ml에 부유한 후 원심분리에 2회 더 반복하여 세척하였으며 최종적으로 멸균된 HEPES 완충용액에 부유하여 준비하였다.

Salts 요구성

*Kordia algicida*는 해수가 공급된 ZoBell 2216E 고형배지에서 성장을 하였으나 해수의 첨가 없이 증류수를 공급한 배지에는 성장하지 않았다. 성장을 제한하는 해수성분의 조사는 해수를 구성하는 13종의 성분으로부터 한 성분씩 제거하는 omission techniques에 의해 수행하였다(4). *K. algicida*의 배양을 위한 배지는 50 ml용량의 삼각플라스크에 M-ZoBell 2216E액체 배지 9 ml씩 첨가한 후 동배지로 만들어진 13종의 염류를 조합하여 첨가하였으며 최종적으로 10 ml이 되도록 준비하였다. 세척된 *K. algicida*의 세포는 초기 흡광도가 0.01(A660)이 되도록 조절하여 접종하였다. 양성대조군은 ZoBell 2216E 배지를 음성대조군은 M-ZoBell 2216E배지를 사용하여 동일농도로 세척된 *K. algicida*를 접종하였다. 배양은 25°C, 150 rpm에서 수행하였으며 접종 후 1일과 2일째에 흡광광도계(Shimadz, Japan)를 이용하여 660 nm에서 배양액의 흡광도를 측정하였다.

3종의 염류에 대한 kinetics 결정

필수적인 성장 요구물질인 Na^+ , Mg^{2+} 와 Ca^{2+} 의 kinetics를 결정하기 위해 다음과 같은 방법에 의해 수행하였다. M-ZoBell 2216E 액체배지를 이용한 인공 해수성분의 조성은 다음과 같다. Na^+ 을 위해서는 M-ZoBell 2216E 액체배지에 Na^+ 가 제외된 12 종의 인공해수 성분을 첨가하여 준비한 후 Na^+ 의 농도를 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.175, 0.2, 0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.5 mM이 되도록 조절하여 첨가하였다. 그리고 Ca^{2+} 을 위해서는 M-ZoBell 2216E 액체배지에 Ca^{2+} 가 제외된 12종의 인공해수 성분을 첨가하여 준비한 후 Ca^{2+} 의 농도를 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.5, 1.0 mM이 되도록 준비하였다. 마지막으로 Mg^{2+} 을 위해서는 M-ZoBell 2216E 액체배지에 Mg^{2+} 가 제외된 12종의 인공해수 성분을 첨가하여 준비한 후 Mg^{2+} (MgCl_2)의 농도를 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3, 0.5, 1.0 mM이 되도록 준비하였다. 각각의 농도에 따른 오차를 줄이기 위하여 각 농도마다 3개의 반복수를 갖도록 하였다. 세척된 OT-1 균주의 세포는 초기 흡광도가 0.01(A660)이 되도록 조절하여 접종하였으며 25°C, 150 rpm에서 진탕배양 하였다. 이후 시간별 성장도(specific growth rate, μ_{max})를 측정하여 Michaelis-Menten식에 의해 K_m , V_{max} 값을 결정하였다.

Salts의 제한에 따른 형태적 특성연구

성장요구물질인 3 종의 이온을 제한하였을 때 세포의 성장과 그에 따른 표면의 형태변화를 관찰하였다.

성장제한 실험: 기본배지는 M-ZoBell 2216E 액체배지를 이용하였고 성장제한을 위한 실험조합은 3 가지 이온 중 각각 한 성분씩을 제한한 3종의 조합과 3 가지 이온을 제한하지 않은 양성 대조군 그리고 마지막으로 3 가지 이온을 모두 제거한 음성 대조군로 총 5 가지의 조합으로 나누었다. 5종의 조합은 500 ml용량의 삼각플라스크에 100 ml씩 준비하였으며 3개의 반복수를 갖도록 하였다. 초기접종을 위한 OT-1균주의 세포는 초기 농도를 1.0(A660)이 되도록 조절하였다. 배양은 25°C, 150 rpm에서 진탕배양 하였으며 시간별로 시료의 일정량을 취하여 세포성장을 위하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였으며 일정시료는 4% glutaraldehyde 용액으로 고정하여 형광현미경 및 전자현미경관찰에 이용하였다.

현미경관찰: 기본적인 형태의 관찰은 DAPI를 이용하여 염색 후 형광현미경하에서 관찰하였으며(13), 전자현미경(Scanning electron microscopy)적 관찰은 Sohn 등(9)의 방법을 이용하였다.

결과 및 고찰

살조세균인 *Kordia algicida* OT-1의 염류 요구성

*Kordia algicida*는 해수가 포함된 ZoBell 2216E 고형배지에서 성장이 가능하나 2.5%(v/w)의 NaCl이 첨가된 ZoBell 2216E 고형배지에서는 성장하지 않았다. 따라서 *K. algicida*의 성장을 제한하는 해수성분을 알아보기 위하여 해수의 주된 염성분인 13종을 대상으로 한 성분씩을 제외함으로서 성장제한 인자를 추적하였으며 그 결과는 Fig. 1과 같다. *K. algicida*는 13종의 주된 해수 성분 중 Na^+ 이온 이외에 2가 양이온인 Mg^{2+} 과 Ca^{2+} 을 성장을 위해 필수적으로 요구한다는 사실을 알 수 있었으며 그 외 10종의 주된 염성분은 성장제한요인으로 작용하지 않았다. 해양 및 연안에서 분리된 해양성 세균은 용혈을 방지하기 위해 Na^+ ,

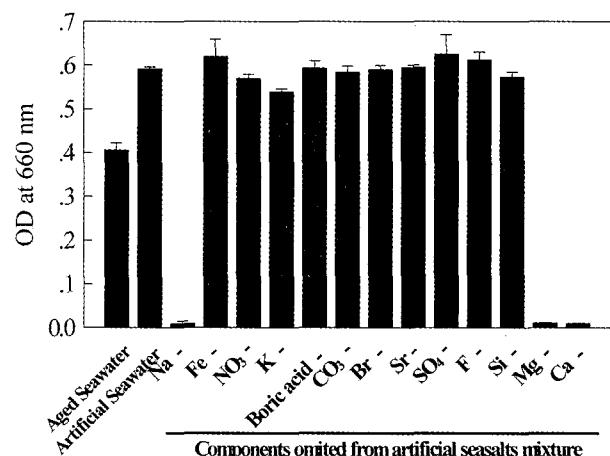


Fig. 1. The effects of sea-salt components on the growth of *Kordia algicida*.

Na^+ (또는 K^+)과 Mg^{2+} (5, 8), Na^+ (또는 K^+)와 Ca^{2+} (3)이온을 요구하는 것으로 알려져 있다. 그러나 *K. algicida*와 같이 3종의 이온을 모두 요구하는 좋은 보고 된 바 없다. 일반적으로 해양성 세균은 해수 내에서 생존을 하고 그들의 성장을 위해 Na^+ 을 요구하는 것으로 정의되어 있으며 이러한 Na^+ 이온은 막의 안정성과 효소활성, 능동적 수송 등을 위해 필수적으로 요구한다(6). 그러나 생리적인 역할에 대해서는 아직 명확하게 규명되어 있지 않으며 다만 많은 해양성 세균은 H^+ -ATP 합성효소와 호흡계에 couple된 proton pump대신에 일차적인 Na^+ -pump를 소유하고 있어 NADH oxidase의 최대 활성을 위해 Na^+ 을 요구하는 것으로 알려져 있다(10). 이러한 이온들에 대한 절대적인 요구성은 해양 환경에 순응하기 위해 장점일 수 있지만 제한된 환경에서는 이러한 장점이 단점으로 바뀔 수도 있다.

성장 가능한 NaCl 농도(%)는 1~5%로 나타났으며 최적성장을 위한 NaCl 농도는 3%로 나타났다. 또한 1% 이하 그리고 5% 이상의 NaCl 농도에서는 세포가 성장하지 않아 *K. algicida*는 성장을 위해 NaCl 을 절대적으로 요구하는 절대호염성이지만 고염성의 특징을 갖지 않은다는 사실을 알 수 있었다(Fig. 2).

3종의 염류에 대한 kinetics

*K. algicida*는 성장을 위해 필수적으로 3종의 이온인 Na^+ , Mg^{2+} 및 Ca^{2+} 을 요구한다는 사실을 알 수 있다. 이러한 3종의 이온에 대한 요구성을 비교하기 위하여 K_m 및 V_{max} 값을 결정하였다(Fig. 3). 그 결과 Na^+ , Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 이온의 K_m 값은 각각 0.202 M, 0.089 mM, 0.189 mM로, V_{max} (μmax)는 각각 0.442 h, 0.411 h 및 0.316 h로 결정되었다. 3가지 이온에 대한 *K. algicida*의 이온친화력은 Ca^{2+} 이 가장 높았으며, Mg^{2+} , Na^+ 의 순으로 나타났다. 35%의 표준해수성분(1)을 기준으로 한 3종의 이온농도(Na^+ , Ca^{2+} 및 Mg^{2+})는 465.5 mM, 10.5 mM, 53.9 mM로 나타나 *K. algicida*의 K_m 값보다 2.3, 117.4 및 285.1배로 존재함을 알 수 있었다. 이는 *K. algicida*가 해양환경에 제한적으로 서

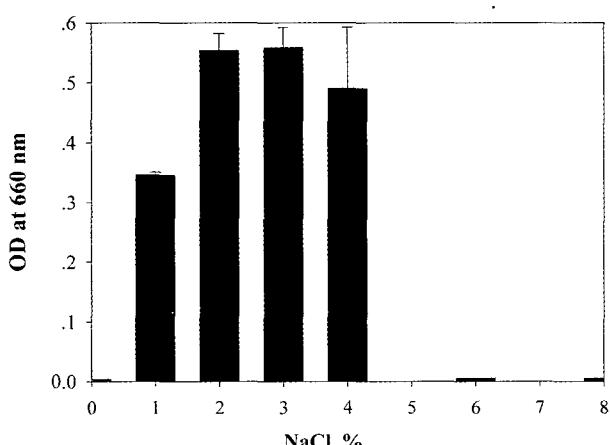


Fig. 2. Effects of NaCl concentration on the growth of *Kordia algicida*. Growth was measured after 2 days of incubation in ZoBell 2216e medium at 25°C.

식할 수 있는 해양성 세균임을 확증하는 결과이다.

3종의 염류 제한에 따른 사례

*K. algicida*의 필수 성장물질인 3종의 이온을 제한하였을 때 세포의 형태학적인 변화가 어떻게 진행되는지를 관찰하였다. 3종의 이온을 제한하였을 때 *K. algicida*의 성장변화를 Fig. 4에 기술하였다. 3종의 이온을 모두 제한하였을 때 세포의 흡광도는 초기 0.94에서 2시간 후 0.23으로 급격히 감소하였으며 이후 완만한 감소를 보였다(Fig. 4). 3종의 이온 중 Ca^{2+} 만을 제한하였을 경우, 세포의 흡광도는 초기 0.94에서 2시간째에 0.50으로 감소하였으며 이후 점진적으로 감소하여 8시간째에 0.26으로 나타났다. Mg^{2+} 만을 제한하였을 경우, 세포의 흡광도는 초기 0.94에서 2시간째에 0.68로 감소하였으며 이후 8시간째까지 0.29로 감소하였다. 또한 Na^+ 만을 제한하였을 경우, 세포의 흡광도는 8시간째 까지 0.57로 감소하여 Ca^{2+} 과 Mg^{2+} 보다 낮은 감소 속도를 나타

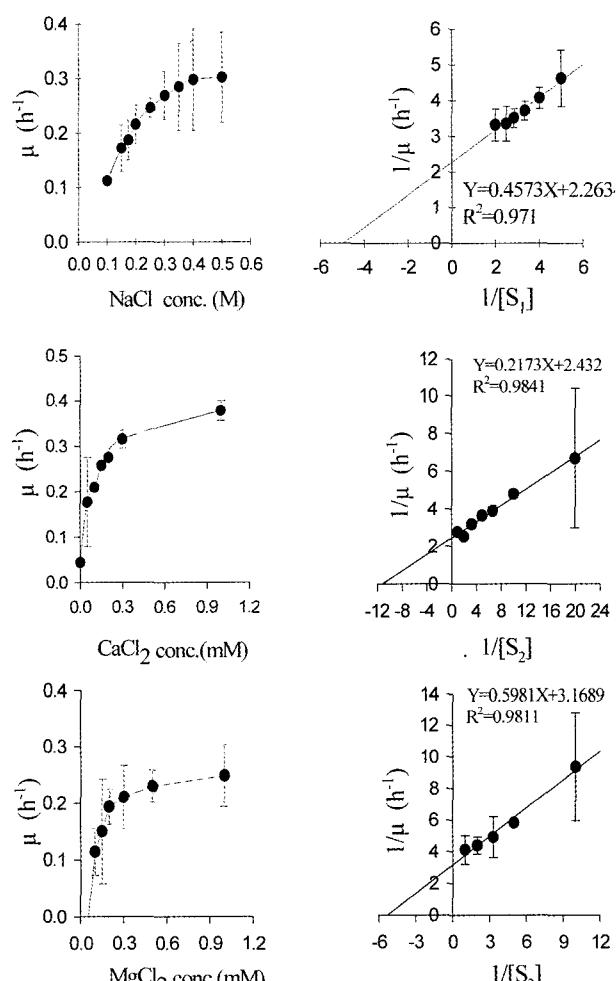


Fig. 3. Relationships between the ion concentration and the specific growth rate of *Kordia algicida* represented by Michaelis-Menten equation and Lineweaver-Burk plot. $[S_1]$: NaCl (M), $[S_2]$: CaCl_2 (mM), $[S_3]$: MgCl_2 (mM)

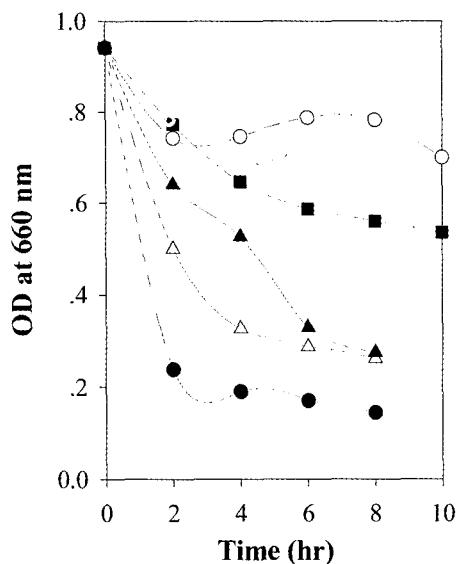


Fig. 4. Lysis of *Kordia algicida* in the limitation of cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} and Na^+). Exponential-phase cultures of *K. algicida* washed with marine 2216e broth lacking each cation. Cells were incubated under the condition of cation limitation. Symbols: ○, Ca^{2+} , Mg^{2+} and Na^+ ion were not limited as control; ●, All cations were limited; △, Ca^{2+} was limited; ▲, Mg^{2+} was limited; ■, Na^+ was limited.

내었다. 결과적으로 3종의 이온 중 한 성분씩을 제한하였을 때 흡광도의 감소는 Fig. 4에서 보는 바와 같이 Ca^{2+} , Mg^{2+} 그리고 Na^+ 의 순서로 나타났다. 이는 K_m 값이 낮을수록 즉 친화력이 높을수록 세포의 사멸이 더 빨리 진행되어 친화력과 사멸사이에 밀접한 연관성이 있음을 시사한다.

세균의 흡광도감소에 따른 세포의 형태적 변화는 DAPI염색을 통한 형광현미경 및 전자현미경사진을 통한 결과에서 서로 일치한다는 사실을 알 수 있었다. 가장 낮은 사멸속도를 나타낸 Na^+ -제한조건의 세포는 정상인 세포에 비하여 풍선처럼 부풀어진 형태로 변형되었음을 알 수 있었다(Fig. 5). 이러한 사실은 Na^+ 의 제한에 따른 hypotonic reaction으로 여겨진다. 반면에 Mg^{2+} -제한 조건의 세포는 Na^+ -제한 조건에서와는 달리 세포의 폭이 얇고 길이가 다양한 형태로 변화하는 것이 관찰되었다. 또한 DNA에 특이적으로 염색되는 DAPI 형광염료의 강도가 약하게 나타나 세포질용액이 세포 밖으로 방출되었거나 세포의 길이의 연장에 따른 영향으로 판단된다(Fig. 6). 이는 해양세균인 *Pseudomonad*에서 Mg^{2+} 가 peptidoglycane과 밀접한 상호관계를 가지고 있어 세포용혈을 방지하기 위해 1 mM MgSO_4 를 요구한다는 결과와 일치 한다(8, 11). 또한 Ca^{2+} -제한 조건의 세포 또한 Mg^{2+} -제한은 치명적인 세포막의 물리화학적인 변화에 의하여 세포의 형태변화와 사멸을 유도한 것으로 판단된다. 그러므로 이온이 세포에 미치는 영향을 형태학적으로 어떻게 진행되는가를 알기 위해, 사멸되는 세포의 단면을 통하여 세포벽과 막사이의 구조적인 변화의 관찰이 필요하며 향후 화학적인 변화까지 규명할 수 있는 기초 자료를 위한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 이러한 증

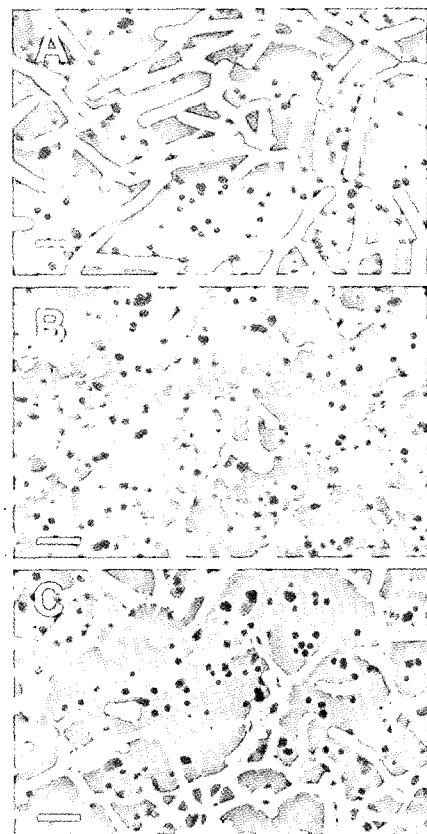


Fig. 5. Scanning electron micrographs of *Kordia algicida* cells cultured in the condition of cation limitation. (A) Control cells before cation limitation. (B) Cells limited with Na^+ ion for 2h. (C) Cells limited with Ca^{2+} & Mg^{2+} ion for 2h. (D) Cells limited with Mg^{2+} ion for 2h. Bars = 1 μm .

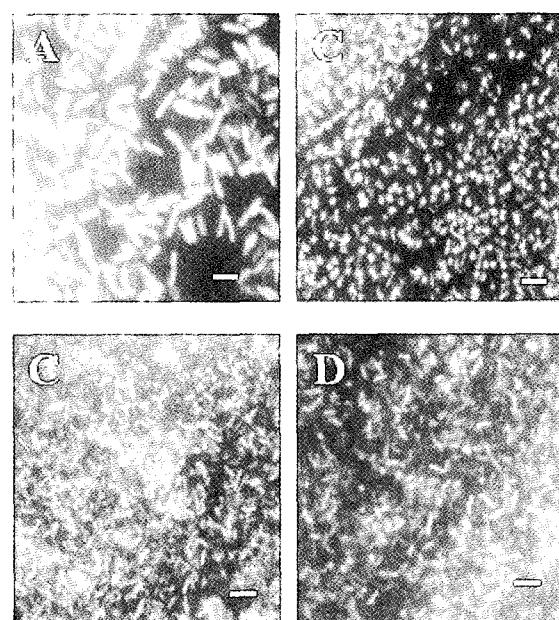


Fig. 6. Fluorescence micrographs of *Kordia algicida* cells cultured in cation limitation. (A) Control cells before cation limitation. (B) Cells limited with Na^+ ion for 2h. (C) Cells limited with Ca^{2+} ion for 2h. (D) Cells limited with Mg^{2+} ion for 2h. Bars = 2 μm .

명은 해양생태계에서 환경변화에 따른 세균군집의 생존과 사멸에 대한 이해를 돋는데 중요한 자료가 될 것으로 여겨진다.

참고문헌

1. 이광우, 양한섭. 1998. 화학해양학. 청문각. p. 17.
2. Bowman, J.P., S.A. MacCammon, J.L. Brown, P.D. Nichols, and T.A. McMeekin. 1997. *Psychroserpens burtonensis* gen. nov., and *Gelidibacter algens* gen. nov., sp. nov., Psychrophilic bacteria isolated from Antarctic Lacustrine and sea ice habitats. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47, 670-677.
3. Gow, J.A., R.A. MacLeod, M. Goodbody, D. Frank, and D. DeVoe L. 1981. Growth characteristics at low Na⁺ concentration and the stability of the Na⁺ requirement of a marine bacterium. *Can. J. Microbiol.* 27, 350-357.
4. Grobben, G.J., I. Chin-Joe, V.A. Kitzen, I.C. Boels, F. Boer, J. Sikkema, M.R. Smith, and J.A.M. De Bont. 1998. Enhancement of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* sub sp. *bulgaricus* NCFB 2772 with a simplified defined medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 1333-1337.
5. Laddaga, R.A. and R.A. MacLeod. 1982. Factors affecting the lytic susceptibility of some marine and terrestrial bacteria. *Can. J. Microbiol.* 28, 414-424.
6. MacLeod, R.A. 1968. On the role of inorganic ions in the physiology of marine bacteria, p. 95-126. In M.R. Droop and E.J.F. Wood (ed.), Advances in microbiology of the sea. vol. 1. Academic Press, Inc.(London), LTD., London
7. Oh, S., K. Kogure, K. Ohwada, and U. Simidu. 1991. Correlation between possession of a respiration-dependent Na⁺ pump and Na⁺ requirement for growth of marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 1844-1846.
8. Rayman M.K. and R.A. MacLeod. 1975. Interaction of Mg²⁺ with peptidoglycan and its relation to the prevention of lysis of a marine *Pseudomonad*. *J. Bacteriol.* 122, 650-659.
9. Sohn, J.H., J.H. Lee, H. Yi, J. Chun, K.S. Bae, T-Y. Ahn, and S-J. Kim. 2004. *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov., an algicida bacterium isolated from red tide. *Int. J. Syst. Evol. Bacteriol.* 54, 675-680.
10. Tokuda, H. and T. Unemoto. 1984. Na⁺ is translocated at NADH: quinone oxidoreductase segment in the respiratory chain of *Vibrio alginolyticus*. *J. Biol. Chem.* 259, 7785-7790.
11. Unemoto, T. and R.A. Macleod. 1975. Capacity of the outer membrane of a gram-positive marine bacterium in the presence of cations to prevent lysis by Triton X-100. *J. Bacteriol.* 121, 800-806.
12. Zahran, H.H. 1997. Diversity, adaptation and activity of the bacterial flora in saline environments. *Biol. Feril. Soils.* 25, 211-223.
13. Zimmerman, R. 1977. Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy, p. 103-120. In G. Rheinheimer(ed.), Microbial ecology of a brackish water environment. Springer-Verlag, Berlin.
14. Zobell, C.E. 1946. Marine microbiology. Chronica Botanica Co., Waltham. Mass.

(Received April 18, 2005/Accepted June 10, 2005)

ABSTRACT : Salts Requirement of Moderately Halophilic Bacterium, *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov.

Jae Hak Sohn* (Major in Marine Biotechnology, Silla University, Busan 617-736, Korea)

Moderately halophilic bacterium, *Kordia algicida* gen. nov., sp. nov. was isolated from seawater of Masan Bay, Korea, during algal blooming caused by *Skeletonema costatum*. This bacterium was grown on the ZoBell 2216e medium supplied aged seawater, but not grown the medium supplied 3% NaCl. This bacterium showed absolute requirements for mono and divalent cations such as Na⁺, Mg²⁺ and Ca²⁺, since no growth was observed in the medium, which is not supplemented with one of Na⁺, Mg²⁺ and Ca²⁺ ions. In kinetic studies for three kinds of cation, Km values of Na⁺, Ca²⁺ and Mg²⁺ were determined to 0.202 M, 0.089 mM, and 0.189 mM, respectively. Also, V_{max}(μmax) was 0.442 h, 0.411 h and 0.316 h. The bacterial cells were quickly lysed in the condition limited by the cations. This result should be suggested that *Kordia algicida* originated from marine.