

桑沟湾常见温带海草叶绿素荧光特性的比较

唐 望^{1,2} 方建光^{2*} 高亚平² 邹 健² 吴 桃² 杜美荣²

(¹华东理工大学生物工程学院, 上海 200237)

(²农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘 要 2011 年 7~8 月在桑沟湾褚岛南岸东部海域, 利用水下调制脉冲式荧光仪(DIVING-PAM)原位测定了中国北方 3 种常见温带海草大叶藻、丛生大叶藻以及红纤维虾海藻的不同叶龄叶片的叶绿素荧光特性, 并确定了几种海草的吸光系数(AF)和叶片叶绿素含量, 计算出海草绝对电子传递速率。实验结果表明, 叶龄对海草的光合活性有较大影响, 同种海草的 AF 值和叶绿素含量都随叶龄增加而增加, 叶龄小的叶片明显具有较大的最大电子传递速率(ETR_{max}) (大叶藻: 叶 1=26.56, 叶 2=21.45, 叶 3=19.98; 红纤维虾海藻叶 1=22.31, 叶 2=19.23, 叶 3=17.06; 丛生叶藻: 叶 1=20.16, 叶 2=16.10; 叶 3=13.10)。相比于丛生大叶藻和红纤维虾形藻, 大叶藻具有最高的光合活性($ETR_{max}=22.67$), 这也与大叶藻在 3 种海草中所具有最高的初级生产力是相符合的。

关键词 叶绿素荧光特性 大叶藻 丛生大叶藻 红纤维虾海藻 桑沟湾

中图分类号 S917.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)06-0106-06

Chlorophyll fluorescence characteristics of common temperate seagrass species in Sanggou Bay

TANG Wang^{1,2} FANG Jian-guang^{2*} GAO Ya-ping²
ZOU Jian² WU Tao² DU Mei-rong

(¹College of Biology Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

(²Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The chlorophyll fluorescence of the blades of three common seagrass species (*Zostera marina*, *Z. caespitosa* and *Phyllospadix iwatensis*) in eastern waters of Chudao, south coast of Sanggou Bay, was determined using the pulse amplitude modulated (PAM) fluorometer. The absorbance factor (AF) of seagrass blades were also determined, and the absolute electron transport rates of the seagrass species were calculated. It was found that the photosynthetic activity of *Z. marina*, *Z. caespitosa* and *P. iwatensis*, was strongly influenced by leaf age. The chlorophyll content and the AF values increased with blade age in respective plants. Young blades showed higher electron transport rate than older ones (Zm: Leaf 1=26.56, Leaf

973 课题(2011CB409805)、国家科技支撑计划课题(2010BAC68B03)和山东省科技攻关计划项目(2010G0020505)共同资助

* 通讯作者。E-mail: fangjg@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85822957

收稿日期: 2011-11-02; 接受日期: 2012-07-29

作者简介: 唐 望(1987-), 男, 硕士研究生, 主要从事大叶藻生态生理学研究。E-mail: tangwang2009@yahoo.cn, Tel: (0532)85822957

2=16.3, Leaf 3=19.98; Pi: Leaf 1=22.31, Leaf 2=19.23, Leaf 3=17.06; and Zc: Leaf 1=20.16, Leaf 2=16.10, Leaf 3=13.10). Among three species, *Z. marina* showed the highest photosynthetic activity ($ETR_{max}=22.67$), in accordance with its highest productivity in the field compared with the other two species.

KEY WORDS Chlorophyll fluorescence characteristics *Zostera marina*
Phyllospadix iwatensis *Zostera caespitosa* Sanggou Bay

海草是一类生活在海洋环境中的沉水高等植物的总称,海草连片生长形成的海草床不仅对近海生态系统的初级生产力有重要贡献,还为大量的无脊椎动物和鱼类提供了栖息、繁衍生境,海草床与红树林、珊瑚礁一起,被认为是三大典型海洋生态系统(Costanza *et al.* 1997),在海洋生态中扮演着重要角色。近年来,由于沿海地带工业的发展所导致的近海岸富营养化以及其他多种因素的影响,近海岸生态系统受到破坏,海草床出现了严重退化消失(Orth *et al.* 2006),海草床生态系统的保护和海草的生理生态学因此成为国内外科学家研究的热点问题(黄小平等 2006;高亚平等 2010;Shafer *et al.* 2008)。

叶绿素荧光技术具有快速和非破坏性的优点,因而在植物生理学研究中被广泛应用,被称为研究植物光合作用的快速、无损伤探针(Butler 1997),成为植物光合生理研究的重要技术手段。传统的光合-辐照度曲线(P-E曲线)通过测量 O_2 或 CO_2 气体交换量随光合有效辐照度(Photosynthetically Active Radiation, PAR)的变化,来描述植物光合器官对一系列光强的适应性(Falkowski *et al.* 1997)。而对叶绿素荧光进行测量可计算出光合作用单位光系统II(PSII)的光合电子传递速率(Electron Transport Rate, ETR),由于ETR与光合作用过程中 O_2 释放或 CO_2 消耗之间存在直接的关联(Beer *et al.* 1998a),因此用ETR对PAR作图得到的快速光曲线RLC可以提供对光合作用活性的可靠评估(Ralph *et al.* 2005),用于分析植物的光合活性。目前,荧光技术已广泛地应用于陆生高等植物,在国外也已经有对大型的海草和珊瑚的生理生态研究(Massa *et al.* 2009; Hagedorn *et al.* 2010),研究结果证明叶绿素荧光参数能够客观反映植物的光合特性及环境适应能力。但国内运用荧光技术对海草这类海洋高等植物进行光合生理研究的相关报道还很少(Gao *et al.* 2011)。本研究以桑沟湾楮岛南部海域3种常见海草大叶藻*Zostera marina*、丛生大叶藻*Zostera caespitosa*和红纤维虾海藻*Phyllospadix iwatensis*作为研究对象,原位测定了海草主要叶绿素荧光动力学参数,并将测量的几个荧光参数作为辐照度和叶龄的函数,比较了几种海草叶绿素荧光特征的种内与种间差异,以期对其所反映的海草的光合特性进行探究。

1 材料与方法

1.1 实验地点海区环境及海草生长状况

研究于2011年7~8月在桑沟湾楮岛海域进行。楮岛位于桑沟湾南岸最东端(37°02'N, 122°32'~122°33'E),年平均表层水温13.5℃,表层盐度31.77,沿岸为侵蚀崖岸。大叶藻枝条高度35~85 cm,叶宽0.35~0.55 cm,是潮间带到潮下带最低边缘之间的海草床的优势物种(0.5~+3 m);丛生大叶藻枝条高度25~65 cm,叶宽0.35~0.55 cm,主要分布在潮下带较深处(+2~+5m);红纤维虾海藻枝条高度50~100 cm,叶宽0.25~0.4 cm;主要分布在湾口浅水礁石地带。研究进行期间3种海草都处于有性繁殖阶段,种子均已成熟。采样点水质状况为:可溶性无机氮 0.182 ± 0.082 mg/L、可溶性无机磷 0.002 ± 0.001 mg/L、溶解氧 8.2 ± 0.62 mg/L、盐度 31.6 ± 0.12 、pH 8.1 ± 0.06 、海水透明度 1.5 ± 0.5 m。

1.2 海草样品的选取和采集

大叶藻采自潮间带,红纤维虾海藻和丛生大叶藻为退潮时由潮下带采得(0~1 m)。每一种海草随机选取10个枝条。所研究的几种海草每个主枝条上一般有4~5个叶片,由于多数情况下每个枝条只有4个叶片,最

老的叶片(叶4)的色素部分已经被破坏,故在本研究中每一枝条只考虑3个叶片。将每一枝条的叶片从最幼的到最老的按叶1、叶2、叶3分别编号进行吸光系数和荧光原位测定。测量之前所有的叶片(无论有无附生植物)表面均用软毛刷仔细清洗,以确保处理的一致性。原位测量之后将枝条采集,冷冻保存之后立即带回实验室进行叶绿素含量的测定。

1.3 吸光系数的原位测量

吸光系数(Absorbance Factor, AF)表示入射的 PAR 被叶片吸收的比例,本研究采用 Beer 等(2000)的方法对大叶藻、丛生大叶藻和红纤维虾海藻的所有叶片的 AF 值进行了测定。AF 值的测定方法:在野外观测现场,用待测叶片覆盖 DIVING-PAM 水下脉冲调制叶绿素荧光仪(德国 WALZ 公司)的外接光量子传感器(于每叶片中部位置),随后打开持续光化光照射模式,手持仪器的光纤贴近传感器,使入射平行光透过待测叶片垂直照射到传感器上,记录下此时的光合光量子通量密度(Photosynthetic Photon Flux Density, PPF)读数,即透过叶片的 PAR。移除海草并重复上述步骤测得入射 PAR 后,即可计算出叶片的 AF 值。每个叶片分别在基部、中部和顶端各测量 1 次,并取平均值。用该 AF 值代替仪器预置值 0.84(此值为植物 AF 的经验值),用于计算绝对电子传递速率(而非相对电子传递速率)(Beer *et al.*, 2000)。

1.4 荧光诱导快速光曲线的原位测定

在野外观测地点,利用 DIVING-PAM 分别对大叶藻、丛生大叶藻和红纤维虾海藻的叶 1、叶 2、叶 3 进行叶绿素 a 荧光诱导快速光曲线的原位测定。并用内置程序和人工 PPF 设置的 9 个光照梯度 0、30、61、148、191、326、486、663、1 046 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 下,测得快速光曲线(RLC)。

测定时用暗适应叶夹(WALZ 公司术语)使光纤的顶部与被测叶片近轴面垂直距离保持 10mm。每测量一次荧光 F 后打开饱和脉冲测得 F_m' ,则可变荧光 $\Delta F = F_m' - F$ 。电子传递速率 ETR 可通过下列公式计算出来:

$$\text{ETR} = Y \times \text{PAR} \times 0.5 \times \text{AF} \quad (\text{Beer } et \text{ al. } 1998\text{b})$$

式中, Y 代表 PS II 的实际量子产量 $\Delta F/F_m' = [F_m' - F]/F_m'$ (Genty *et al.*, 1989), PAR 为光合有效辐射(400~700 nm), 0.5 是基于入射光量子在两个光系统 PS I 和 PS II 之间平均分配的假设, AF 是指入射光量子被光合色素吸收的部分,即海草的吸光系数。

用 ETR 的值对 PAR 绘图得到快速光曲线 RLC,用 Platt 等(1980)提出的双指数衰减函数对实验数据进行拟合。快速光曲线的衍生基点(α 、 E_k 、 ETR_{max})作为参数可以用来对 RLC 进行定量比较:最大相对电子传递速率(ETR_{max}),反映植物潜在的最大光合作用能力;最小饱和辐照度(E_k),可表征光适应能力;以及光限制性光合效率(α)即快速光曲线的初始斜率,代表光能的利用效率。

1.5 叶绿素含量的测定

将采集的新鲜叶片样品用清水冲洗干净,剪取合适长度的叶段并确定其面积后剪碎研磨,用 80% 的丙酮萃取后于分光光度计下比色(Arnon 1949),测得单位面积叶绿素含量($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)。

1.6 数据分析

对每一种海草的不同叶龄叶片及基于平均值的不同海草间的 AF 值、RLC 图形参数和叶绿素含量进行单向方差分析(ANOVA),显著水平($P < 0.05$)。用 Tukey 多重比较测试确定有显著差异的处理。发现所有的数据系列都符合正态性假设和方差相等。所有的统计分析都用 SPSS, Inc. (V17.0)和 Excel 2010 软件完成。

2 结果与分析

2.1 吸光系数

从测量结果看出,3 种海草所测得的几种海草的吸光系数(AF)都低于 PAM 的预置值 0.84, AF 值随叶龄

的增加而增加,最老叶片(叶 3)具有最高的 AF 值,而最幼叶片(叶 1)具有最低的 AF 值。其中大叶藻幼叶显著低于叶 2、叶 3($n=10, P<0.01$),红纤维虾海藻和丛生大叶藻中,低值不显著。此外,由图 1 看出,相对于大叶藻和丛生大叶藻,红纤维虾海藻的不同叶龄叶片之间的 AF 值差异最小,这可能与其形态特征有关,因为红纤维虾海藻叶片细长,叶片之间的相互遮蔽比较少,这使得不同叶龄的海草接受的光照强度差别较小。不同物种同龄叶片之间的 AF 值以大叶藻最低,但分析并未发现显著差异($n=10, P>0.05$)。

2.2 荧光参数

通过对不同叶龄叶片的快速光曲线的比较得知,3 种海草的同一 PAR 下的电子传递速率 ETR 都随叶龄的增加而增加。从图 3 看到,在所有海草中,最大电子传递速率 ETR_{max} 和最小饱和辐照度 E_k 的值都是从最幼到最老叶片逐渐减小,而快速光曲线的初始斜率 α 是从最幼叶片到最老叶片逐渐增加的。在大叶藻和丛生大叶藻中, α 值在不同叶龄叶片之间没有显著差异($n=10, P>0.05$),而在红纤维虾海藻中,不同叶龄的 α 值的差异达到显著水平($n=10, P<0.05$)。

对于所研究的 3 种海草,同一种海草中不同叶龄叶片之间的 ETR_{max} 和 E_k 都存在显著差异($n=10, P<0.05$)。另外,不同种类的海草的 ETR_{max} 、 E_k 值和 α 值也有明显的差别,大叶藻具有更高的 ETR_{max} 值和 E_k 值以及较小的 α 值,而红纤维虾海藻和丛生大叶藻则具有更低的 ETR_{max} 值和 E_k 值以及较大 α 值。

2.3 叶绿素

3 种海草不同叶龄叶片的叶绿素总含量都随叶龄的增加而增加(图 4),这与叶片 AF 值的变化是一致的(图 1),但这种差异并未达到显著水平($n=10, P>0.05$)。从图 4 看出,最老的叶片(叶 3)同时具有最高的叶绿素含量和叶绿素 a/b 值,最幼的叶片(叶 1)叶绿素含量和叶绿素 a/b 值最低。此外,海草的叶绿素含量存在种间差异,红纤维虾海藻和丛生大叶藻显示出明显较高的总叶绿素含量,而大叶藻的叶绿素含量最低($n=10, P<0.05$)。叶绿素 a/b 值在不同海草间没有检测到显著差异,其中大叶藻的叶绿素 a/b 值略低于红纤维虾海藻和丛生大叶藻。

3 讨论

为了计算绝对电子传递速率 ETR,本研究首先确定了叶片的 AF 值,从而实现了对 3 种海草快速光曲线更加精确的比较。在所分析的几种海草中,最幼叶片显示出最低的 AF 值,这与先前文献报道的海草对 PAR 吸收的种内差异是一致的(Durako *et al.* 2002)。另外,在本实验中大叶藻、红纤维虾海藻和丛生大叶藻对 PAR 吸收存在显著差异,文献中关于海草(*Z. marina*, *H. ovalis*, *H. wrightii*, *C. serrulata*)AF 值的数据(0.44~0.72)差异也证实了这一结果(Beer *et al.* 1998a, 2000; Schwarz *et al.* 2000),但本研究所得的数据要更高一些,与日本海草 AF 值比较接近(0.73~0.83)(Sasil-Orbita *et al.* 2006)。

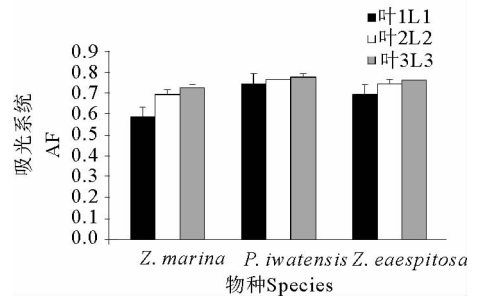


图 1 3 种海草不同叶龄叶片的吸光值

Fig. 1 Absorbance factor (AF) of blades at different ages in three seagrass species (Mean \pm SD)

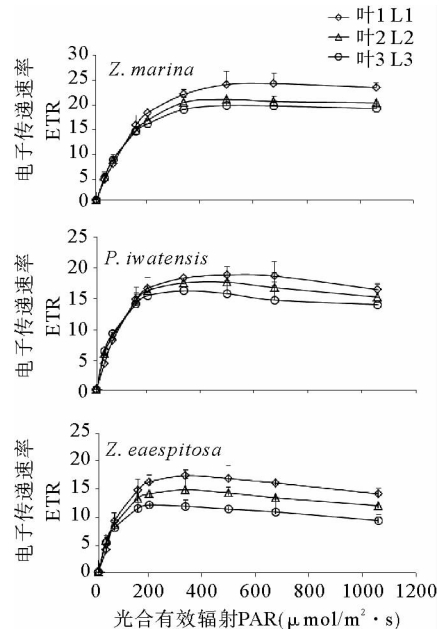


图 2 3 种海草不同叶龄叶片的快速光曲线(RLC)

Fig. 2 Rapid light curves (RLC) of blades at different ages of three seagrass species (Mean \pm SD)

各种海草枝条内部不同叶龄叶片之间的吸光系数和叶绿素含量的变化趋势是相似的,这证明了叶片对光的吸收量主要依赖于其色素含量(Beer *et al.* 2000)。通过对大叶藻、红纤维虾海藻和丛生大叶藻的种间比较也证明了AF值与叶绿素含量之间的正相关性,其中红纤维虾海藻显示了最高的叶绿素含量和最大的AF值。丛生大叶藻和红纤维虾海藻与大叶藻相比都具有更厚的叶片,因而显示出更高的叶绿素含量和PAR吸收能力。观察发现,附生植物在大叶藻、虾海藻和丛生大叶藻的最老叶片上非常丰富,因此对低光环境的长期适应可能也是老叶具有更高PAR吸收能力和叶绿素含量的重要原因。而从叶绿素组成来看,最老的叶片具有最高的叶绿素a/b比值,表明这些叶片适应更强的光照条件,这与它们在枝条上的生长位置是一致的。大叶藻的叶绿素a/b比值在3种海草中是最高的,这表明大叶藻比其他两种海草更加适应高光条件。

由于海洋环境的复杂性,海草的光合作用活性也表现出与环境以及自身形态学特征相适应的多变性。由于本研究的3种海草是在同一海域和深度采集的,可以假设它们所处的光环境以及其他环境条件是相似的,因而它们的荧光特征在同一时段内具有可比性。已有文献数据已经证明光合作用在同一叶片内是存在差别的(Ralph *et al.* 1999、2005; Durako *et al.* 2002; Enriquez *et al.* 2002)。本研究的结果表明光合作用在同一枝条的不同叶龄叶片中也是不一样的, ETR_{max} 在大叶藻不同叶片中的差异已有报道(Mazzella *et al.* 1986),其幼叶的最大光合速率大于老叶的最大光合速率。Alcoverro等(1998)观察到幼龄的(0~50d)的波喜荡属海草 *Posidonia oceanica* 与较老的海草相比有较大的最大光合速率。本研究所调查的3种海草都有与此相似的变化趋势,这表明这种差异在海草中具有普遍性。海草叶片冠层结构产生的光照梯度和附生植物产生的遮蔽是造成同一枝条内部的不同叶片的光合活性差异的重要原因,但叶龄也是一个起作用的因素,由于可获的光照量和叶片叶龄的不同而形成了叶绿素含量梯度。同一枝条内 α 值随叶龄增加而增加,而 E_k 值随叶龄增加而减少,则体现了光合活性变化与这种叶绿素含量梯度的关联性。

不同的物种之间的光合活性也表现出显著的差异,尽管大叶藻叶绿素含量和AF值在3种海草中

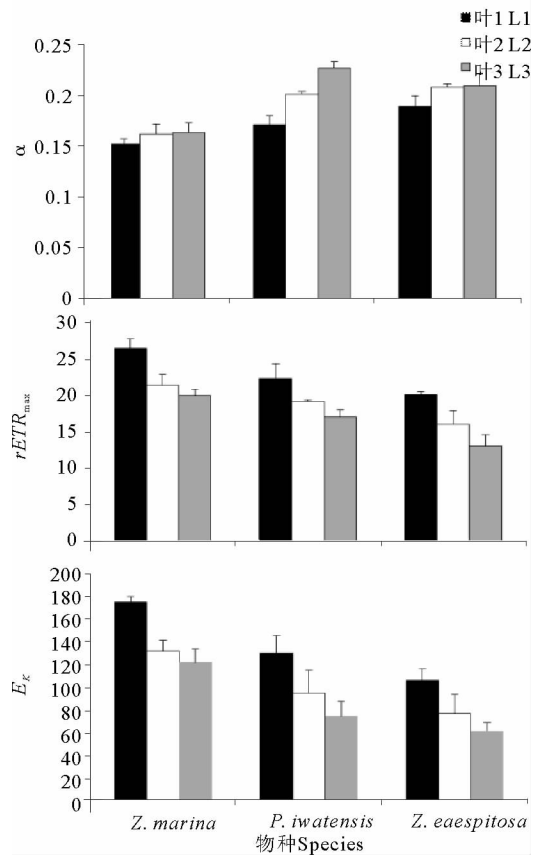


图3 3种海草不同叶龄叶片的快速光曲线参数(α 、 ETR_{max} 、 E_k)

Fig. 3 Photosynthetic parameters of blades at different ages in three seagrass species (mean \pm SD)

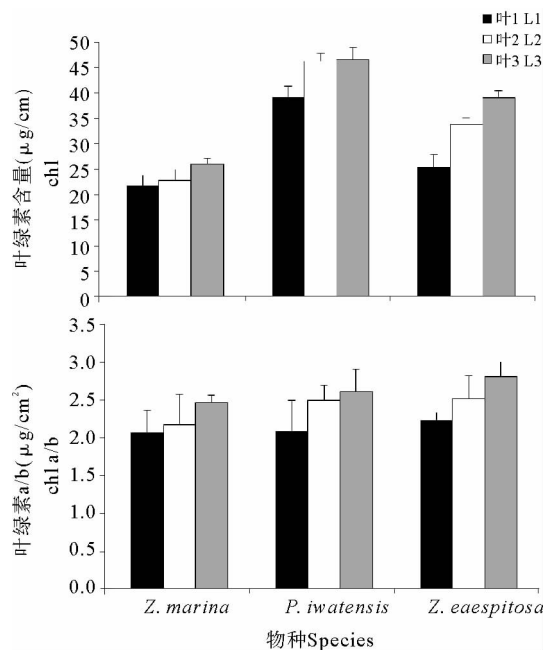


图4 3种海草不同叶龄叶片的叶绿素含量及叶绿素a/b比值

Fig. 4 Chlorophyll content and chlorophyll a/b of blades at different ages in three seagrass species (mean \pm SD)

最低,但其最大电子传递速率 ETR_{max} 和最小饱和辐照度 E_k 却是3种海草中最大的,这表明物种间在光合生理上存在内在差异性。大叶藻是山东近岸丰度最大的海草种类,大叶藻较高的光合活性可能是重要原因之一。相比之下,红纤维虾海藻的 ETR_{max} 较低,它的较大的枝条密度与高的氮盐积累(Hasegawa *et al.*, 2005)和其他相关因素有着更密切的联系。与大叶藻同属丛生大叶藻可能也有着不同的生长繁殖策略(Lee *et al.*, 2006)。与大叶藻相比,丛生大叶藻和红纤维虾海藻都有着较小的最小饱和辐照度(E_k)和较大的光限制性光合效率(α),这表明后二者可能更适应低光照条件,而大叶藻更适应高光照条件。

致谢:感谢荣成褚岛水产有限公司王君威总经理、王森林主任等在实验过程中给予的支持与帮助。

参 考 文 献

- 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会编. 1999. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 95
- 高亚平,方建光,张继红,李 峰,毛玉泽,杜美荣. 2010. 桑沟湾大叶藻附着生物的季节变化. 渔业科学进展, 31(4): 59~62
- 黄小平,黄良民,李颖虹,许战洲,方静威,黄道建,韩秋影,黄 晖,谭焯辉,刘 胜. 2006. 华南沿海主要海草床及其生境威胁. 科学通报, S3: 114~119
- Alcoverro, T., Manzanera, M., and Romero, J. 1998. Seasonal and age-dependent variability of *Posidonia oceanica* (L.) Delile photosynthetic parameters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 230(1): 1~13
- Baker, N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 89~113
- Beer, S., and Björk, M. 2000. Measuring rates of photosynthesis by pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry. *Aquatic Botany*, 66(1): 69~76
- Beer, S., Vilenkin, B., Weil, A., Veste, M., Susel, L., and Eshel, A. 1998a. Measuring photosynthetic rates in seagrasses by pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry. *Marine Ecology Progress Series*, 174: 293~300
- Beer, S., and Ilan, M. 1998b. In situ measurements of photosynthetic irradiance responses of two Red Sea sponges growing under dim light conditions. *Marine Biology*, 131: 613~617
- Costanza, R., d'Arge, R., De Groot, R. *et al.* 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387: 253~260
- Durako, M. J., and Kunzelman, J. I. 2002. Photosynthetic characteristics of *Thalassia testudinum* measured in situ by pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry: methodological and scale-based considerations. *Aquatic Botany*, 73(2): 173~185
- Enriquez, S., Merino, M., and Iglesias-Prieto, R. 2002. Variations in the photosynthetic performance along the leaves of the tropical seagrass *Thalassia testudinum*. *Marine Biology*, 140: 891~900
- Falkowski, P. G., and Raven, J. A. 1997. *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell, Oxford, 375
- Hasegawa, N., Iizumi, H., and Mukai, H. 2005. Nitrogen dynamics of the surfgrass *Phyllospadix iwataensis*. *Marine Ecology Progress Series*, 293: 59~68
- Hagedorn, M., Cartera, V. L., Leong, J. C., and Kleinhanse, F. W. 2010. Physiology and cryosensitivity of coral endosymbiotic algae (*Symbiodinium*). *Cryobiology*, 60(2): 147~152
- Lee, S. Y., Choi, C. I., Suh, Y., and Mukai, H., 2005. Seasonal variation in morphology, growth and reproduction of *Zostera caespitosa* on the southern coast of Korea. *Aquatic Botany*, 83(4): 250~262
- Massa, S. I., Arnaud-Haond, S., Pearson, G. A., and Serrão, E. A. 2009. Temperature tolerance and survival of intertidal populations of the seagrass *Zostera noltii* (Hornemann) in Southern Europe (Ria Formosa, Portugal). *Hydrobiologia*, 691(1): 195~201
- Mazzella, L., and Alberte, R. 1986. Light adaptation and the role of autotrophic epiphytes in primary production of the temperate seagrass, *Zostera marina* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 100(1-3): 165~180
- Orth, R. J., and Carruthers, T. J. B., Dennison, W. C., Duarte, C. M., Fourqurean, J. W., Heck, J. R. K. L., Hughes, A. R., Kendrick, G. A., Kenworthy, W. J., Olyarnik, S., Short, F. T., Waycott, M., and Williams, S. L. 2006. A global crisis for seagrass ecosystems. *BioScience*, 56(12): 987~996
- Ralph, P. J., and Gademann, R. 1999. Photosynthesis of the seagrass *Posidonia australis* Hook and associated epiphytes, measured by in situ fluorescence analysis. In: Walker D. I., Wells F. E. (Eds). *The Seagrass Flora and Fauna of Rottnest Island, Western Australia*. Western Australia Museum, Perth: 63~71
- Ralph, P. J., Macinnis-Ng, C. M. O., and Frankart, C. 2005. Fluorescence imaging application: effect of leaf age on seagrass photokinetics. *Aquatic Botany*, 81(1), 69~84
- Sasil-Orbita, M. L., and Mukai, H. 2006. A comparative study of the photosynthetic activity among three temperate seagrass species in Northern Japan. *Marine Ecology*, 27(4): 388~396
- Schwarz, A. M., Björk, M., and Buluda, T. 2000. Photosynthetic utilization of carbon and light by two tropical seagrass species as measured in situ. *Marine Biology*, 137: 755~761
- Shafer, D. J., and Bergstrom, P. 2010. An introduction to a special issue on large-scale submerged aquatic vegetation restoration research in the Chesapeake Bay: 2003~2008. *Restoration Ecology*, 18(4): 481~489