〔短　報〕

芝草研究
J. Jpn. Soc. Turfgrass Sci.
39（2），148～153

自家蛍光観察法によるクリーピングベントグラス（*Agrostis stolonifera* L.）品種ペンクロスの気孔密度および気孔サイズの測定*1

宇　城　正　和*2・大　嶋　中　男*3

Masakazu J. USHILO*2 and Nakao OSHIMA*3 : Measurements of stomatal density and size of the creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera* L.) var. Penncross by autofluorescence observation method

Summary: We measured the density (*D*) and lengths of foliar stomata (*Ls*) and guard cells (*Lg*) of the creeping bentgrass (*A. stolonifera*) var. Penncross by the autofluorescence observation method. Based on *D*, *Ls*, and *Lg*, we calculated the maximum stomatal conductance to CO_2 (g_{cmax}). The upper (adaxial) side *D* of leaf blade (width≥1 mm) were 170–194 count mm^{-2}, significantly greater than the lower (abaxial) 78–116 count mm^{-2} ($p<0.01$ or $p<0.001$). The upper g_{cmax} was 0.416–0.616 mol m^{-2} S^{-1}, two times larger than the lower 0.197–0.314 mol m^{-2} S^{-1}. These results suggest the upper side of Penncross foliage has higher absorptivity of CO_2 and foliar fertilizers than the lower.

緒　言

芝草の広がりは，「心の植物」[19]として，人間に療法的効果をもたらすことが報告されている[7]。ゴルフ場芝草にあってもスポーツターフとしての物理的機能性とともに療法的機能性をも高めることを意識した芝草管理が今後，重要になってくると考えられる。そのためには，芝草が生来持っている活力を高める必要があり，肥培管理の観点からは，土壌施肥のみならず，葉面施肥をも併用した必要栄養素の適時適量施肥が有効な一手段であろう[8]。芝草に極少水量（30～40 ml/m^2）の葉面施肥を行う際，栄養素は気孔および孔辺細胞クチクラ層の極微小孔（cuticular aqueous pore）等から吸収されるものと推察される[3,4,12]。さらに，二酸化炭素（CO_2）の削減[1]や蒸散等に関わる芝草の気孔密度およびそのサイズを測定することは，植物生理学的立場からも重要な課題である。Shearman はクリーピングベントグラス（*Agrostis stolonifera* L.）の品種ペンクロスの気孔密度と水利用率に影響を与える生育および環境要因について先駆的な研究を行った[11]。さらに，多年生寒地型芝草12種の気孔密度[6]やゴルフ場パッティンググリーンおよびフェアウェイにおけるペンクロスの気孔密度についても測定されている[17]。しかし，我が国においてゴルフ場用芝草の気孔密度と同時にそのサイズを測定した研究は，筆者らの知る限り皆無である。気孔密度およびサイズの測定を行う際，合成樹脂によるレプリカ法[10]が広く用いられてきたが，煩雑で時間を要する。本研究では，前報と同様，簡便な自家蛍光観察法[16]を用いて，ゴルフ場グリーンの代表的芝品種ペンクロスの気孔密度および気孔サイズ（ここでは気孔長と孔辺細胞長）の測定を試みた。そして，芝草葉身の表裏や生育状況の違いにおける各平均値を統計的に比較するとともに，葉身表裏の CO_2 および水蒸気に対する気孔コンダクタンスを算出し，それらの差異を考察した。

材料および方法

実験に用いた芝種はクリーピングベントグラスの品種ペンクロス（*A. stolonifera* L.）であった。試験区1および試験区2では，その種子をそれぞれ2008年春および2009年春，緑研（株）ゴルフグリーン実験用地（岐阜県可児市）に播種して，施肥を行い，草丈は5 mm 以下に維持し，それらの葉身を2010年3月に採取後，直ちに測定した（試験区1および試験区2の葉サンプルをそれぞれ Old および Young とする）。一方，試験区3では，2009年5月に千葉県某ゴルフ場グリーン（富津市）でカップ切りされた土壌付きペンクロスに約4カ月間灌水のみを行い，刈りこみを行わないで生育させた草丈30 mm 以上の葉身を採取し，直ちに測定した（ゴルフ場での生育期間が長いので，Old の範疇に区分）。いずれの試験区とも中央の幅が1 mm 以上の葉身を各1枚採取し，葉身向軸面（葉表，upper と略称）と背軸面（葉裏，lower と略称）の両面を観察して，それぞれの気孔密度（*D*）と気孔長（気孔長軸の距離，*Ls*）および孔辺細胞長（孔辺細胞長軸の距離，*Lg*）を測定した。得られたデータの平均値を算出し，Microsoft Office Excel を用いて分散分析（Anova）および *t* 検定を行った。

また，葉表裏の表面状態を知るために葉身を横断面方向に切断し，その切断面自家蛍光像を観察した。

*1 本稿は，日本芝草学会2010年度春季大会の研究発表「蛍光顕微鏡による芝草ペンクロスの気孔密度とサイズの測定」を基に構成したものである。
*2 アクション植物科学研究所
*3 緑研（株）

蛍光顕微鏡による測定

蛍光顕微鏡はライカ DM2500 を用い，デジタルカメラはライカ DFC310FX を，画像処理用ソフトウェアはライカ・アプリケーション・スイート（LAS）を，蛍光フィルターはライカ UV フィルター A（380±20 nm）を用いた。採取した葉の表裏を判別しにくい場合は，実体顕微鏡（ライカ M205C）を用いて確認した。サンプル葉身はスライドグラス上に滴下した低自家蛍光イマージョンオイル（ライカ）に浸漬し，カバーグラスをかけて，直ちに検鏡した。

（1）気孔密度の測定

葉身1枚の表裏を200倍で観察し（Fig. 1A），PC モニター上で視野内方形（0.125 mm^2）10区画の気孔数を計数後，1 mm^2 の気孔密度（*D*）に換算して，その平均値を算出した。

（2）気孔サイズの測定

気孔長（*Ls*）は気孔の長軸線分の距離を葉の表裏とも400倍で LAS を用いて計測した（Fig. 1B）。孔辺細胞長（*Lg*）は *Ls* を測定した同じ気孔を含む孔辺細胞の長軸距離を LAS により計測した。*Ls* および *Lg* は各試験区において，葉の表裏とも81個を測定した。

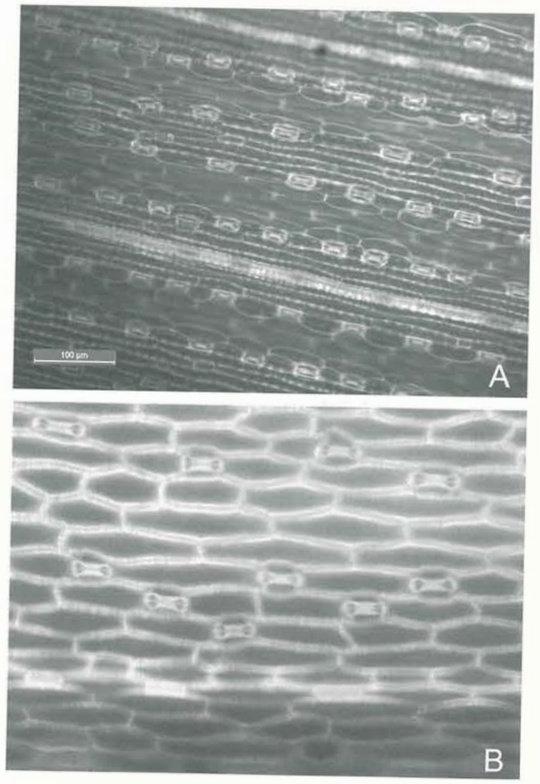

Fig. 1 Autofluorescence micrographs of foliar epidermis of the Penncross (*A. stolonifera*), A to measure the stomatal density, ×200 and B to measure the longitudinal length of closed stomata, × 400.

（3）気孔コンダクタンスの計算

ペンクロスの葉表および葉裏における CO_2 および水蒸気に対する最大気孔コンダクタンス（それぞれ，g_{cmax} および g_{wmax}，mol m^{-2} S^{-1}）は，以下の式を用いて求めた[5]。

$$g_{wmax} = \frac{d}{v} \cdot D \cdot a_{max} / \left(l + \frac{\pi}{2}\sqrt{a_{max}/\pi}\right) \quad (1)$$

$$g_{cmax} = g_{wmax}/1.6 \quad (2)$$

ここで，d：空気中への水蒸気拡散係数（24.2×10^{-6} m^{-2} s^{-1}，20℃），v：空気のモル体積（24×10^{-3} $m^3\cdot mol^{-1}$，20℃），a_{max}：気孔開口時の気孔最大面積（μm^2，$a_{max}=Ls^2/\pi$），l：気孔の深さ（$l=Lg/8$）である。

g_{cmax} および g_{wmax} は各試験区ごとの葉の表裏それぞれについて，平均気孔密度，平均気孔長および平均孔辺細胞長を基に算出した。

結果および考察

（1）気孔密度

各試験区における気孔平均密度は葉表で170～194個/mm^2，葉裏では78～116個/mm^2 の範囲にあり，葉表の平均値は葉裏のそれより，1.7～2.5倍高かった（Table 1）。分散分析（Anova）の結果から（Table 2），葉の表裏間でのみ有意な差が認められた（$p<0.001$）。また，交互作用（Interaction）の分散（MS＝1,873）に比べ，葉の表裏（B）の分散が非常に大きいため（MS＝130,667），B の単独の効果が大きいと言えよう。各試験区の葉表-葉裏間で *t* 検定を行ったところ，いずれの試験区においても葉表の気孔密度は葉裏のそれに比べ，有意に高かった（Table 1，$p<0.001$ または $p<0.01$）。以上の結果からペンクロス葉身の気孔密度は，常に葉裏より葉表の方が高く，遺伝的に固定されていることが示唆された。播種後1年の Young（試験区2）の気孔密度が葉表裏とも最も高いが，分散分析で試験区間（A）は，$p=0.06$ であったことから有意な差がうかがえるが，さらにデータ数を増やして分析する必要がある。Shearman はペンクロスの葉表と葉裏における気孔密度の混合平均値が光，温度，灌水頻度等の生育環境によって，72～125 個/mm^2 の範囲で変動し，葉表の気孔密度が葉裏のそれに比べ3倍程度高いことを報告している[11]。また，多年生寒地型芝草12種の気孔密度を測定した報告では，葉表68～203 個/mm^2 および葉裏0～100 個/mm^2 であり，葉表の方が気孔密度が2倍程度高い[6]。さらに，パッティンググリーン（刈高5 mm）のペンクロスの気孔密度は葉表156 個/mm^2 および葉裏93 個/mm^2，フェアウェイ（刈高15 mm）では葉表73 個/mm^2 および葉裏44 個/mm^2（以上，グラフより算出）との報告がある[17]。以上の気孔密度はすべて従来法の合成樹脂レプリカ法によって得られた測定値であるが，自家蛍光観察法を用いた本研究の測定値はこれらの値に近似している。一方，C_4 型芝草のヒメコウライ（*Zoysia matrella* L. Merr.）の気孔密度は，葉表207±44.7 個/mm^2 および葉裏250±48.7 個/mm^2（平均値±標準偏差，$n=10$）で，両者に有意な差は認めら

Table 1 Foliar stomatal density (*D*, mean ± S.D., mm^{-2}) of the Penncross (*A. stolonifera*) in Experiment I and II (Plant height, ≦5 mm), and Experiment III (Plant height, ≧30 mm) with same sample number (*n*=10)

	Leaf side		
	Upper (count mm^{-2})	Lower (count mm^{-2})	Rate (Upper/Lower)
Experiment I (Old)	170^{a*} ± 32.0	84^{b} ± 21.4	2.02
Experiment II (Young)	194^{a} ± 65.5	116^{c} ± 23.9	1.67
Experiment III (Old)	193^{a} ± 43.2	78^{b} ± 15.1	2.47

The plants in Exp. I (Old), Exp. II (Young), and Exp. III (Old) were seeded in spring of 2008, 2009, and in 2007 or more previous year, respectively. Central width of sampled foliar blade : ≧1 mm.
* The different letters represent statistical differences at $p<0.01$ by *t*-test.

Table 2 Anova table for foliar stomatal density of the Penncross (*A. stolonifera*)

Source of variation	*SS*	*df*	*MS*	*Fs*	*Pi*
A (Exp. I, II, and III)	8320.00	2	4160.00	2.95	0.061
B (Leaf side upper and lower)	130666.67	1	130666.67	92.79	2.529E-13
Interaction (A×B)	3746.13	2	1873.07	1.33	0.273
Error	76044.80	54	1408.24		
Total	218777.60	59			

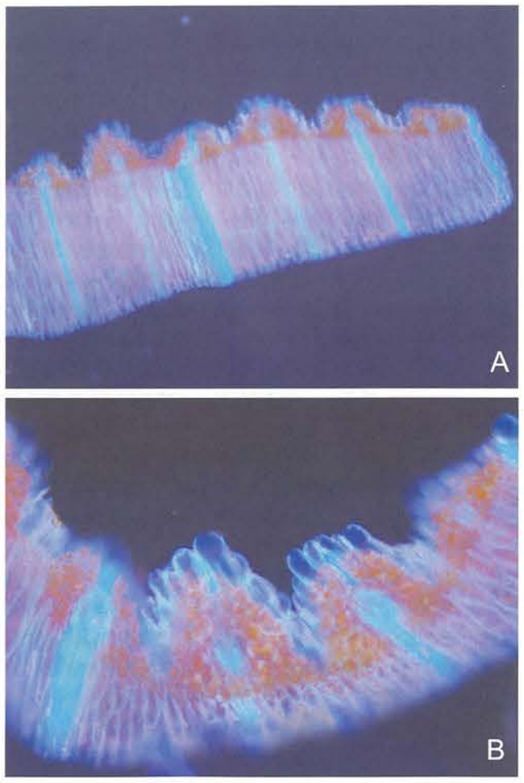

Fig. 2 Autofluorescence micrographs of the foliar cross section of the Penncross (*A. stolonifera*), A, ×100 and B, ×200, showing the undulate form of the upper (adaxial) side only.

れなかった[15]。暖地型（C_4型）芝草10種の気孔密度は，葉表で96～468個/mm^2，葉裏で84～348個/mm^{2}の範囲にあり[2]，総じてC_3型芝草より気孔密度が高い。通常の双子葉植物では，葉表に比べ葉裏の気孔密度の高いことが多いが，単子葉植物の芝草では葉の表裏とも多数の気孔が存在し，特に寒地型の場合，葉表の気孔密度の方が顕著に高い[6]。さらに，本研究で用いたペンクロスの葉身断面を観察すると，葉裏に比べ葉表の表皮は大きく波状に隆起し（Fig. 2），真の表面積は葉裏に比べ1.2～1.5倍大であった（画像中の葉表の波状曲線および葉裏の曲線を測定し，それらの計測値を補正後，比率を概算）。このことから，ペンクロス葉身表裏における気孔密度の有意差は，表裏における真の表面積の差も大きく関与していると言えよう。気孔密度とこれら真の表面積について言及した報告は筆者らの知る限り皆無であり，今後の研究課題である。葉裏に比べ葉表の方が真の表面積が大きい葉身形態の特徴は，クリーピングベントグラスに限らず，多くのC_3型芝種で認められるが，C_4型芝種では葉表裏で顕著な差が認められない種が多い[14]。一方，気孔は強光，二酸化炭素の低濃度および高湿度においてより多く形成されることが知られている[13]。以上のことから，寒地型C_3芝草のクリーピングベントグラスは暖地型C_4芝草に比べ，太陽光に面する葉表側（向軸面）を波状に隆起させ真の表面積や気孔密度を増大させ，光合成能を高めていることがうかがわれる。

（2）気孔サイズ

各試験区における気孔長（*Ls*）平均値は，葉表で10.3～12.9 μm，葉裏では10.2～13.8 μmの範囲にあり，葉表の平均値は葉裏の平均値の0.81～1.1倍であった（Table 3）。分散分析の結果，試験区間（A），葉の表裏間（B）および交互作用（Interaction）のいずれにおいても有意な差が認められた（Table 4，$p<0.05$または$p<0.001$）。しかし，Interactionの分散が大きいので（MS=149），AやBの効果を単独で評価するのは不適切であろう。各試験区の葉表-葉裏間，各試験区間の葉表-葉表間および葉裏-葉裏間における*t*検定の結果，試験区Iの葉表-葉裏間以外で，いずれも有意な差が認められた（$p<0.05$または$p<0.001$）。

Table 3 Longitudinal lengths of foliar stomata (*Ls*, mean ± S.D., μm) and guard cells (*Lg*, mean ± S.D., μm) of the Penncross (*A. stolonifera*) in Experiment I and II (Plant height, ≦ 5 mm), and Experiment III (Plant height, ≧ 30 mm) with same sample number (*n*=81)

	Ls, Leaf side		Rate of *Ls*	*Lg*, Leaf side		Rate of *Lg*
	Upper (U, μm)	Lower (L, μm)	U/L	Upper (U, μm)	Lower (L, μm)	U/L
Experiment I (Old)	10.3^{a*} ± 2.00	10.2^{a} ± 1.77	1.01	29.0^{a} ± 2.67	31.1^{c} ± 2.36	0.932
Experiment II (Young)	12.9^{b} ± 2.61	11.7^{cd} ± 2.15	1.10	32.6^{b} ± 3.79	34.9^{d} ± 2.96	0.934
Experiment III (Old)	11.2^{c} ± 1.77	13.8^{e} ± 2.57	0.812	29.6^{a} ± 2.42	33.7^{b} ± 3.37	0.878

The plants in Exp. I (Old), Exp. II (Young), and Exp. III (Old) were seeded in spring of 2008, 2009, and in 2007 or more previous year, respectively. Central width of sampled foliar blade: ≧1 mm.
* The different letters represent statistical differences at $p<0.05$ by *t*-test.

Table 4 Anova table for foliar stomatal length of the Penncross (*A. stolonifera*)

Source of variation	*SS*	*df*	*MS*	*Fs*	*Pi*
A (Exp. I, II, and III)	485.41	2	242.71	51.50	5.461E-21
B (Leaf side upper and lower)	23.80	1	23.80	5.05	0.025
Interaction (A×B)	298.92	2	149.46	31.71	1.158E-13
Error	2262.09	480	4.71		
Total	3070.22	485			

Table 5 Anova table for foliar guard cell length of the Penncross (*A. stolonifera*)

Source of variation	*SS*	*df*	*MS*	*Fs*	*Pi*
A (Exp. I, II, and III)	1129.71	2	564.86	63.97	2.358E-25
B (Leaf side upper and lower)	964.29	1	964.29	109.20	3.616E-23
Interaction (A×B)	99.95	2	49.97	5.66	0.004
Error	4238.65	480	8.83		
Total	6432.60	485			

一方，孔辺細胞長（*Lg*）の各試験区における平均値は，葉表で29.0～32.6 μmおよび葉裏では31.1～34.9 μmの範囲にあり，葉表の平均値は葉裏の平均値の0.88～0.93倍であった（Table 3）。分散分析の結果，*Ls*同様，試験区間（A），葉の表裏間（B）および交互作用（Interaction）のいずれにおいても有意な差が認められた（Table 5，$p<0.05$または$p<0.001$）。さらに，Interactionの分散（MS=50）に比べ，AやBの分散が非常に大きいので（各々，MS=565，964），孔辺細胞長の決定にはAやBの単独の効果が大きいと考えられる。*t*検定の結果，試験区I葉表-試験区III葉表間以外で，いずれも有意な差が認められた（$p<0.05$または$p<0.001$）。気孔長と異なり，孔辺細胞長では，いずれの試験区とも葉表より葉裏の方が有意に大であった。また，播種後1年Young（試験区2）の*Lg*が他の試験区に比べ有意に大であった（$p<0.05$または$p<0.001$）。気孔1つ当たりの気孔サイズとCO_2吸収能の間には正の相関が指摘されており[20]，これらの結果は，5 mmまでの草丈の場合，播種後2年の葉身に比べ播種後1年の葉身の方がよりCO_2吸収能が高いことを示唆している。

（3）気孔コンダクタンス

CO_2および水蒸気に対する最大気孔コンダクタンス（それぞれ，g_{cmax}およびg_{wmax}）は，葉表のg_{cmax}で，0.416～0.616 mol m^{-2} S^{-1}，葉裏では0.197～0.314 mol m^{-2} S^{-1}の範囲にあった（Table 6）。どの試験区においても葉表のg_{cmax}は，葉裏のg_{cmax}より2倍高い値となった（試験区1で2.11倍，試験区2および3で1.96倍）。g_{wmax}はg_{cmax}の1.6倍であるため[5]，葉表のg_{wmax}も，葉裏のg_{wmax}より2倍高い値となる。試験区間でみると，最大気孔コンダクタンス（g_{max}）は試験区2（播種後1年のYoung）において，葉の表裏とも最も高い値を示した（g_{cmax}で，葉表0.616 mol m^{-2} S^{-1}，葉裏0.314 mol m^{-2} S^{-1}）。気孔密度と気孔サイズを考慮したg_{max}は，直ちに芝草のCO_2吸収量や蒸散量を示すものではないが，少なくともペンクロスの葉身表裏におけるCO_2および水蒸気の通しやすさ（物理的理論値）を示している。したがって，播種後1年のYoungは他の試験区のOldに比べ，より高いCO_2吸収能および蒸散能を有し，生長量も大であることが予想される。

また，ペンクロス葉身の表裏における気孔密度，気孔サイズおよびg_{max}の違いから，ペンクロスの葉表は葉裏に比べ，CO_2吸収能および蒸散能が高いことが推定される。本実験で取り上げた草丈や播種後生育期間の違いによって葉身の*D*，*Ls*および*Lg*が変動するにもかかわらず，どの試験区においても葉表のg_{max}が葉裏のg_{max}の2倍になっていることは興味深い。近年，土壌からのCO_2放出（土壌呼吸）が光合成に大きな影響を与えることが報告されており[9]，土壌内の微生物，植物根の呼吸および炭酸カルシウム（$CaCO_3$）の分解等によってCO_2が放出されるので，地表面に接する空気のCO_2濃度は高い[18]。しかし，C_3型植物であるペンクロスはC_4型植物のようにCO_2濃縮機構を持たず，光量が増すとCO_2が光合成の大きな制限要因になる。葉裏に比べ葉表側で

Table 6 Calculation of maxmum stomatal (leaf diffusive) conductances to CO_2 (g_{cmax}) and water vapor (g_{wmax}) of the Penncross (*A. stolonifera*) in Experiment I and II (Plant height, ≦5 mm), and Experiment III (Plant height, ≧30 mm)

	Exp. I, Leaf side		Exp. II, Leaf side		Exp. III, Leaf side	
	Upper	Lower	Upper	Lower	Upper	Lower
D (count mm^{-2})	170	84	194	116	193	78
Ls (stomatal length, μm)	10.3	10.2	12.9	11.7	11.2	13.8
Lg (guard cell length, μm)	29.0	31.1	32.6	34.9	29.6	33.7
a_{max} (μm^{-2})	33.8	33.1	53.0	43.6	39.9	60.6
l (μm)	3.63	3.89	4.08	4.36	3.70	4.21
g_{cmax} (mol m^{-2} s^{-1})*	0.416	0.197	0.616	0.314	0.525	0.268
g_{wmax} (mol m^{-2} s^{-1})*	0.665	0.316	0.986	0.502	0.840	0.430
Ratio of g_{cmax} or g_{wmax} (Upper/Lower)	2.11		1.96		1.96	

Central width of sampled foliar blade: ≧ 1 mm.

* g_{cmax} and g_{wmax} are calculated by the equations as follows[5]: $g_{cmax}=g_{wmax}/1.6$, $g_{wmax}=\frac{d}{v}\cdot D\cdot a_{max}/(l+\frac{\pi}{2}\sqrt{a_{max}/\pi})$, where d is the diffusivity (diffusion coefficient) of water vapor in air (m^{-2} s^{-1}), v is the molar volume of air (m^3 mol^{-1}), D is the stomatal density, a_{max} is the maximum area of the open stomatal pore (Ls^2/π), and l is the stomatal pore depth ($Lg/8$).

受光量がより多いと仮定すると，芝草全体の光合成量を高めるためには，葉表側の葉肉細胞により多くのCO_2が供給されなければならない。このことが，葉表のg_{max}が葉裏のそれに比べ2倍も高い主な原因ではないかと考えられた。一方，最適化理論によれば[13]，気孔の最適な開口サイズは，蒸散量（投資量）に対するCO_2固定量（利益量）の割合（利益率）が最大になるように決まるとされている。気孔密度や気孔サイズの決定においてもこの最適化理論が適用できると仮定すると，蒸散量に気孔形成のための物質代謝量を加えた値（投資量）に対して，CO_2固定量（利益量）の割合（利益率）が最大になるよう気孔密度，気孔サイズが決定されることになる。ペンクロスは葉表側を波状隆起構造にして表面積を増やすとともに，g_{max}を高め，葉身全体の光合成能を高める適応戦略を取っていることが示唆された。このことは同時に，ペンクロスなどの陽生草本が非常に高いP/B比（生産-生物体量比）を持ち，CO_2削減に大きく貢献していること[1]を裏付けているように思える。

また，ペンクロスのような寒地型芝草では，葉裏より葉表の気孔密度が大であるため，上部から葉面散布を行う際，栄養素がより効率的に吸収され，施肥上有利であることが推察される。

小さな葉を持つ芝草の気孔を観察する際，自家蛍光観察法は，従来法に比べ簡便で有効であるが，葉身を平面に固定するための工夫をするなど，改良の余地が残されている。本実験では，自家蛍光観察法による芝草ペンクロスの気孔状態の観察を試みたが，g_{max}などの気孔情報をより詳細に論じるには，さらなるデータの集積が必要である。

謝　辞

統計分析等について多くの助言を与えてくださった、本論文の査読者に感謝します。蛍光顕微鏡の使用に際し，技術的援助を与えてくださったライカマイクロシステムズ（株）五郎部博史氏に感謝いたします。また，研究を常に援助していただいた（株）アクションコーポレーション社長田中晋一氏に深謝いたします。

摘　要

生育状況の異なる芝草ベントグラス（*Agrostis stolonifera*）品種ペンクロスの葉身向軸面（葉表）および背軸面（葉裏）の気孔密度（D）並びに気孔サイズ（気孔長Lsと孔辺細胞長Lg）を自家蛍光観察法を用いて測定し，CO_2および水蒸気に対する最大気孔コンダクタンス（それぞれ，g_{cmax}および$g_{wmax}=1.6\ g_{cmax}$）を算出した。Dは生育状況にかかわらず，葉表の方が葉裏に比べ有意に高かった（葉表170～194個/mm^2，葉裏78～116個/mm^2，$p<0.01$または$p<0.001$）。D，LsおよびLgに基づいて算出したg_{cmax}は，葉表で0.416～0.616 mol m^{-2} S^{-1}，葉裏で0.197～0.314 mol m^{-2} S^{-1}の範囲にあったが，生育状況にかかわらず葉表のg_{cmax}は葉裏のそれより2倍高い値であった。以上の結果から，ペンクロスは葉裏より葉表のCO_2吸収能および蒸散能を2倍にし，葉身全体の光合成能を高めていること，また，上部から葉面施肥を行う際，栄養素は葉裏に比べ葉表からより効率的に吸収され，施肥上有利であることが推察された。

引用文献

1) 縣　和一（2008）：大気の浄化と温暖化防止に寄与するゴルフ場，芝草研究 37(1)，18-26
2) Casnoff, D. M., R. L. Green and J. B. Beard (1989) : Leaf blade stomatal densities of ten warm-season perennial grasses and their evapotranspiration rates, pp. 129–131. In: Proceedings of the sixth international turfgrass research conference (Takatoh H. ed.), Tokyo: International Turfgrass Society and Japanese Society of Turfgrass Science.
3) Eichert, T., H. E. Goldbach and J. Burkhardt (1998) : Evidence for the uptake of large anions through stomatal pores, Bot. Acta 111, 461-466
4) Eichert, T. and J. Burkhardt (2001) : Quantification of stomatal uptake of ionic solutes using a new model system, J. Exp. Bot. 52(357), 771-781
5) Franks, P. J. and D. J. Beerling (2009) : Maximum leaf conductance driven by CO_2 effects on stomatal size and density over geologic time, PNAS 106(25), 10343-10347
6) Green, R.L., J.B. Beard, and D.M. Casnoff (1990) : Leaf blade stomatal characterizations and evapotranspiration rates of 12 cool-season perennial grasses. HortScience 25, 760-761
7) 岩崎　寛（2010）：芝生地が保有する療法的効果，芝草研究 39(別1)，2-7
8) Liu, H., C. M. Baldwin, F. W. Totten and L. B. McCarty, (2008) : Foliar fertilization for turfgrasses. Acta Hort. (ISHS) 783, 323-332. Online article only. http://www.actahort.org/books/783/783_34.htm
9) Norman, J. M., R. Garcia and S. B. Verma (1992) : Soil surface CO_2 fluxes and the carbon budget of a grassland, J. Geophys. Res. 97: 18845-18853
10) Rice, J. S., E. M. Glenn and V. L. Quinsenberry (1979) : A rapid method for obtaining leaf impressions in grasses, Agron. J. 71, 984-986
11) Shearman, R. C. (1971) : Cultural and environmental factors influencing the stomatal density and water use rate of Penncross creeping bentgrass. A thesis submitted to Michigan State Univ. Department of Crop and Soil Sciences, Master of Science
12) Schönherr, J. (2006) : Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes, J. Exp. Bot. 57(11), 2471-2491
13) Swarthout, D. (2008) : Stomata, In: Encyclopedia of Earth (Cleveland C.J. ed.), (Washington, D.C.: Environmental Information Coalition, National Council for Science and the Environment). http://www.eoearth.org/article/Stomata
14) タージョン，A. J.（2009）：ターフグラスマネジメント 8thエディション，ゴルフダイジェスト社（東京），120-127 (Turgeon, A. J. 2007. Turfgrass Management 8th, Prentice Hall)
15) 宇城正和（2009）：未発表
16) 宇城正和（2010）：蛍光顕微鏡による芝草葉部自家蛍光の観察，芝草研究 38(2)，156-161
17) Williams, D. W. and M. S. Harrell (2005) : Leaf surface morphology among Agrostis species and cultivars and correlation with dollar spot severity, USGA Turfgrass and Environmental Research Online 4(10), 1-6
18) Yasuda, Y., Y. Ohtani, Y. Mizoguchi, T. Nakamura and H. Miyahara (2008) : Development of a CO_2 gas analyzer for monitoring soil CO_2 concentrations, J. For. Res. 13, 320-325
19) 米山勝美（2009）：芝草学を想う，2009年度日本芝草学会春季大会シンポジウム
20) Yoshida, T. (1978) : On the stomatal frequency in barley. V. The effect of stomatal size on transpiration and photosynthetic rate, Japan. J. Breed. 28(2), 87-96