ミズガヤツリ精油成分の地理的変異

駒井功一郎*・岩村淳一**・佐藤庄太郎*

Geographical Variation of Essential Oil in Water Nutgrass Tubers

Koichiro KOMAI,* Jun-ichi IWAMURA** and Shotaro SATO*

Synopsis

Seven sesquiterpenes were isolated from water nutgrass (*Cyperus serotinus* Rottb.) tubers and were identified as farnesol, methyl farnesate, farnesyl acetate, dimethyl-3, 7, 11-trimethyl-2, 6, 10-dodecatriene dioate (DTD), β-elemene, caryophyllene and β-selinene, respectively.

By determining 7 components of sesquiterpenes in tubers a classification was made to water nutgrass of 40 strains in paddy fields collected ranging from Akita to Okinawa in Japan.

(1) Dd-type ; DTD
(2) Df-type ; DTD, farnesol and methyl farnesate
(3) Dc-type ; DTD, β-elemene, caryophyllene and β-selinene,
(4) D-type ; ; β-elemene, caryophyllene and β-selinene
(5) F-type ; farnesol and methyl farnesate

Experiments were carried out with clonal material to show that sesquiterpenes variations are inherited and are not a result of enviromental responese. Distributional density of classified water nutgrass were decrease in following order within the limit of this experiment, Dd-type > Dc-type = F-type > Df-type > C-type. Geographical character was not found among strains cultivated for about 6 months in pot.

There were differences among classified each type in such ecological characters as tuber weight, seed weight and stem length.

I 緒　　言

ミズガヤツリ（*Cyperus serotinus* Rottb.）はカヤツリ草科の多年生草本で，水田の代表的な強害雑草として注目されている[1]。特に近年，除草剤の開発に伴い，1年生雑草の防除が容易になった反面，特にミズガヤツリのような多年性雑草の場合はその主な繁殖器官である塊茎が多産で，複雑な生理を持ち，しかも土中深く存在するため除草剤によって容易に防除出来ないのが現状である。そればかりでなく，1年生雑草の減少に伴なう〝雑草のせりあい現象〟[2,3]の低下，更には休耕田の増加もあって益々まん延化の傾向にあるといえる。ミズガヤツリ塊茎には数個の節があり，その節には発芽可能な芽を着生しているが，本塊茎は機械的耕耘によって節単に節ごとに細断され，水面に浮遊，移動してその伝播を早めることも報告されている[4]。これらのことは一度ミズガヤツリの浸入を許した水田ではその根絶が容易でないことを示唆するものである。

ところで，ミズガヤツリは日本全土に分布しているが，その生態はかならずしも一定ではなく，草丈

*農芸化学科，農薬化学研究室 (Lab. of Agricultural Chemical Dept. of Agricultural Chemistry, Kinki Univ., Higashiosaka, Osaka, 577, Japan)
**近畿大学理工学部応用化学科 (Dept. of Applied Chemistry, Faculty of Science and Engineering, Kinki Univ., Higashiosaka, Osaka, 577, Japan.)

葉幅，花穂の色，塊茎の形状，大きさなどの形質の他に，開花時期や塊茎形成時期などの生理にも差異があることが明らかにされている[5,6,7]。このようなミズガヤツリの生態分化は防除法確立の観点からは不都合な問題であり，十分な調査が必要と考える。一方，ミズガヤツリ塊茎にはデンプンを主体とした貯蔵養分の他に精油成分やポリフェノール成分の集積が認められ[8,9,10]，これら成分がミズガヤツリ塊茎の生理生態に関与していることが示唆されているが，上記のようにその生態にかなり明確な変異が生じているとすれば，これら生体成分にもその変異がおよんでいることが推察される。山岸[4]は千葉県内にも形質の異ったミズガヤツリが存在し，その差異は外観的なものだけではなく，塊茎のデンプン粒においても認められることを報告している。そこで本報では日本各地から採集したミズガヤツリ塊茎の精油成分に注目し，その変異状態とミズガヤツリの形質間との関連性について検討した結果について報告する。このことは単にミズガヤツリの生態分化を化学分類学的手法から考察することの他に，ミズガヤツリの地理的諸特性を把握し，生態分化の実態を明らかにして防除を確立させる上で意義深いものと考える。

実験を行うにあたり，日本各地の貴重なミズガヤツリ塊茎を分与頂いた農林省農事試験場，草薙得一博士に深謝致します。

Ⅱ 実験材料および方法

1．実験材料

ミズガヤツリ塊茎は秋田，山形，宮城，埼玉，千葉，新潟，富山，福井，京都，大阪，三重，兵庫，広島，高知，徳島，宮崎，沖縄の各府県から採集した40系統の塊茎を供試して精油成分の分析を行った。一方，塊茎の一部は1/5000aワグネルポットにポット当り3個体を植付け，6ヶ月間栽培して，ミズガヤツリの形態を観察するとともに形成された成熟塊茎について再度精油成分を分析した。

2．精油成分の分離

ミズガヤツリ塊茎 100g を細片し，常法により水蒸気蒸留し，留出物をエーテルで抽出し精油を得た。収率は風乾物に対して0.01～0.03%で，d_4^{30} 1.036，n_D^{30} 1.4949，$[\alpha]_D^{24} \pm 0°$ ($C=0.9$, $CHCl_3$) の性状を示した。次に得られた精油のガスクロマトグラム (GLC) のパターンをFig.1に示す。Fig.1のように

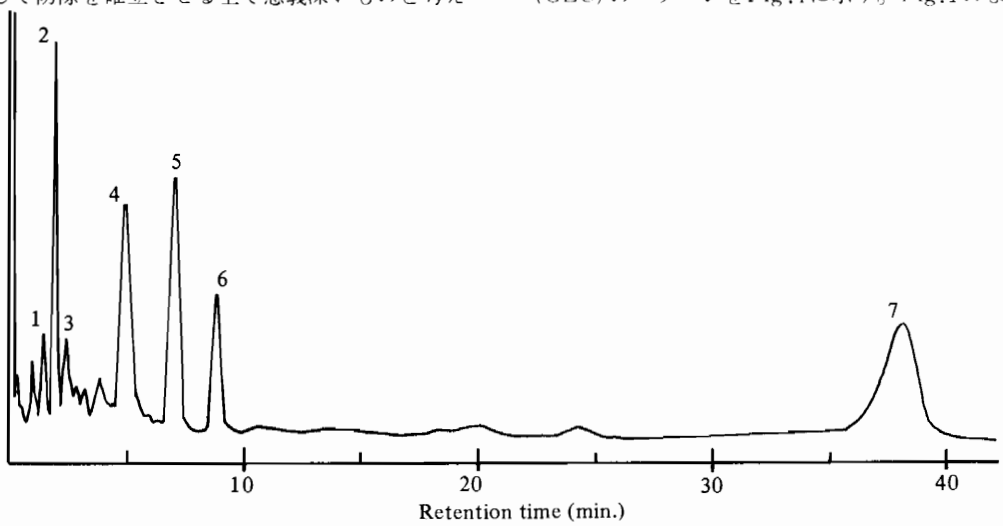


Fig. 1 Representative gas-chromatogram of essential oils in water nutgrass tubers.
column : 2%0V-17 (60-80 mesh) 2m, column temp. : 180°C,
inj. temp. : 200°C, detector : FID, carrier gas : N_2 (25ml/min.)

ミズガヤツリ塊茎精油には7～8成分のテルペンが主要成分として含有されていることが認められた。

そこで精油の100mgをアルミナ充てんのカラム(φ1.5cm×40cm) を用い，カラムクロマトグラフィー (CC) を行い，成分1～7の単離を実施した。溶媒としてn-ヘキサン，ベンゼン，エーテル，エタノールを用いこの順序に展開した。その結果，成分1，2，3は主としてn-ヘキサン溶出部分に，成分4，5はベンゼン溶出部分に，また成分6．7はベンゼン溶出部分からエタノール溶出部分に存在した。溶出液は分取し，溶媒を減圧留去後，GLCによって成分の溶出確認を行うとともに，必要に応じてGLC

分取を併用して溶出成分の単離を行い，以後の分析に供試した。

3．機器分析

GLCは柳本G—80および日立163形を用い，5%PEG 20M(60～80メッシュ) または2%OV-17(60～80メッシュ) を用い，カラム温度：昇温60～200°C (4°C/min)，定温 180°C で測定した。また精油中のセスキテルペン含量はGLC面積百分率法によって算出した。

紫外吸収スペクトル (UV) は日立紫外吸収スペクトルUV-323型を用い，エタノール溶液で測定した。

赤外吸収スペクトル (IR) は日本分光赤外吸光スペクトルIR-A2を用い，液膜法で測定した。

核磁気共鳴スペクトル (NMR) は日立核磁気共鳴スペクトルR-24型を用い，重クロロホルム中，TMSを内部標準として測定し，δ値 (*ppm*) で示した。

質量スペクトル (MS) は島津LKB—GC—MS 9000型を用い，加速電圧 3,500V，イオン化電圧20または70*eV*，10%PEG20M(chromosorb W，60～80メッシュ，ϕ3*mm*×2.0*m*，ガラス製) カラム，カラム温度100～160℃，He流速25*ml*/*min*. で測定した。

III　実験結果および考察

1．精油成分の同定

GCおよびGLC分取によって単離した成分1～7について機器分析による同定を行った。成分1はMS (*m*/*e*)：M.⁺ 204(10)，189(40)，147(61)，107(71) 93(100)，81(99)，68(60) のフラグメントを示し，このフラグメントはβ-エレメンのマスフラグメントと一致し，またGLCの保持時間 (T_R) もβ-エレメン標品と一致することより，成分1をβ-エレメンと同定した。

成分2はMS(*m*/*e*)：M.⁺ 204，189(30)，161(50) 133(96)，121(58)，93(100)，69(88) のカリオフィレン標品と一致したフラグメントを示し，GLCのT_Rも一致することにより，成分2をカリオフィレンと同定した。

成分3はIR(cm^{-1})：3100，1650，890，NMR(δ)：0.75(3H, S)，1.75(3H, bs)，4.43，4.70(3H, bs) MS(*m*/*e*)：M.⁺ 204(100)，189(80)，161 (99)，105(53)，93(58) を示し，いずれもβ-セリネン標品と一致することより，成分3をβ-セリネンと同定した。

成分4はIR(cm^{-1})：3350，1010(ヒドロキシル基) 1670 (二重結合)，MS(*m*/*e*)：M.⁺ 222，69(Fig. 2)，NMR(δ)：1.58 (6H，Sオレフィンメチル)，1.68 (6H, S, オレフィンメチル) を示し，いずれもtrans，*trans*—ファルネゾール標品に一致することより，成分4を*trans*, *trans*—ファルネソールと同定した。

成分5はMS(*m*/*e*)：M⁺ 250，特徴的フラグメン

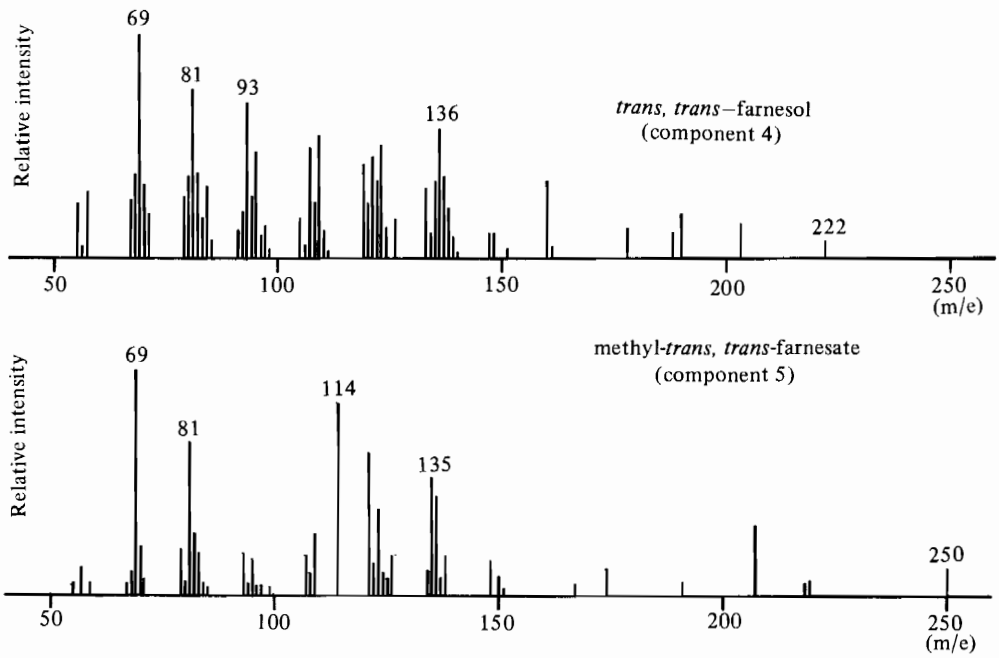


Fig. 2 Mass spectra of component 4 and component 5.

トが*m/e* 136 ($C_{10}H_{16}$)$^+$, 114($C_6H_{10}O_2$)$^+$, 69 (C_5H_9) に出現した。(Fig.2) IR(cm^{-1}) ：1720, 1650, 1220, 1140, UV(*nm*)：λ_{max}^{EtOH}215 (*α,β*-不飽和酸エステル) を示し，いずれもCOREY[11]らの方法によって合成した*trans, trans*－ファネス酸メチルと一致することより，成分5を*trans, trans*－ファネス酸メチルと固定した。

成分6はMS(*m/e*)：M^+264, 136, 93, 81, 69を示し (Fig.3)，無水酢酸，ピリジンを用いて*trans, trans*－ファルネソールをアセチル化して合成した*trans, trans*－ファルネシルアセタートとマスフラグメントおよびGLCのTRが一致することより，成分を*tran, trans*－ファルネシルアセタートと同定した。

成分7はIR(cm^{-1})：1710, 1655, 1438, 1150, 940, UV(*nm*)：λ_{max}^{EtOH}119, MS(*m/e*)：M. 294, 149, 121, 114, 93, 73 (Fig.3), NMR(δ)：1.58(C_{14}－CH_3, S), 1.82(C_{13}－CH_3, S), 2.15($C_{4,5,8,9}$－C－CH_2CH_2, S), 2.17(C_{15}－CH_3, S), 3.70(C_{16}－OCH_3, S), 3.74(C_{17}－OCH_3, S), 5.13(C_6－C＝CH－, m), 5.69(C_2－C＝CH－b, S), 6.76(C_{10}－C＝CH－, t, J＝5.6*cps*) となり，これらの結果より成分7はdimethyl－3,7,11－trimethyl－*trans*－2, *trans*－6, *trans*－10, dodecatriendioate(以下DTDと略す) と同定した。

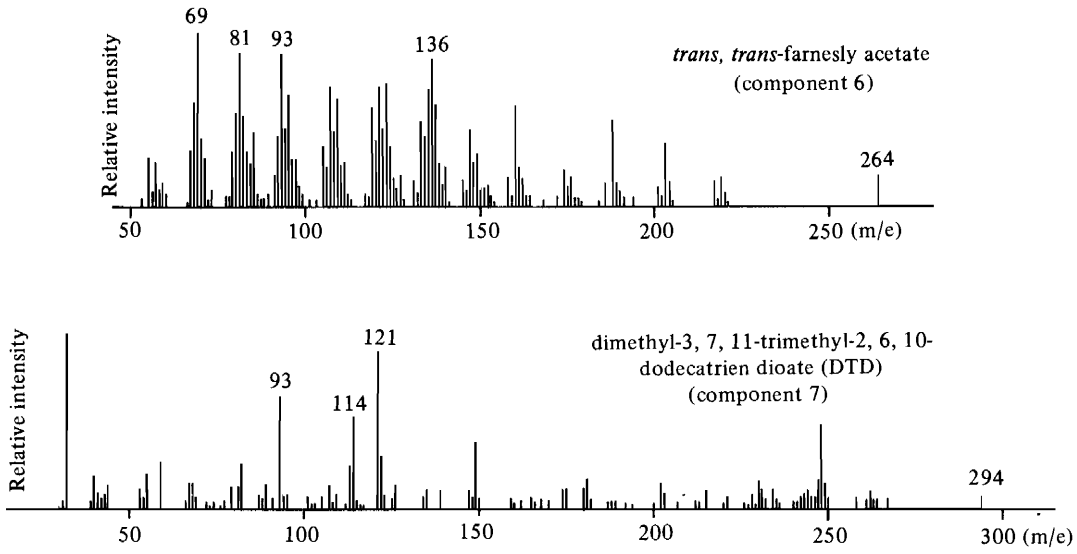


Fig. 3 Mass spectra of component 6 and component 7.

同定したミズガヤツリ塊茎精油成分の化学構造はFig.4に示すように，ファルネソール，ファルネス酸メチル，ファルネシルアセタート，DTDなどの鎖状セスキテルペンと*β*－エレメン，カリオフィレン，*β*－セリネンなどの単環性および双環性セスキテルペンが精油の主な成分であった。なおこの7成分のうち，成分5のファルネス酸メチル[10]と成分7のDTD[12]は著者らによって植物組織から最初に単離された新規化合物である。

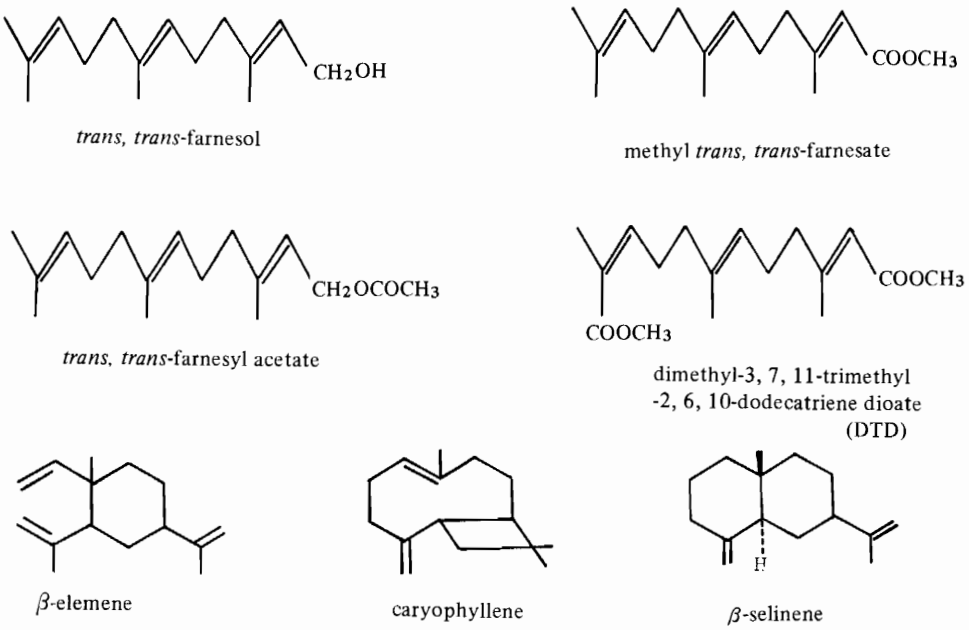


Fig. 4 Chemical structure of sesquiterpenes in water nutgrass tubers.

2．ミズガヤツリ精油成分の地理的差異

日本各地から採取したミズガヤツリ塊茎の精油成分について分析したところ，Table 1 .に示すように，同定された7成分の含有率の差異からミズガヤツリを次の5タイプに分類することが出来た。DTDを含むものをDタイプとし，その中でDTDのみを主要成分としているものをDdタイプ，DTDを含みその他にファルネソールやファルネス酸メチルを主要成分として含むものをDfタイプ，DTDを含みその他にβ—エレメン，カリオフィレン，β—セリネンなどの*cyclic*セスキテルペンを主要成分として含むものをDcタイプにそれぞれ分類した。またDTDを含まず，ファルネソールなどの鎖状テルペンの他にβ—エレメン，カリオフィレン，β—セリネンなどの*cyclic*セス

Table 1. Classification of water nutgrass from the constituents of essential oils.

habitat / type / major component in essential oil	Mie Owase	Kyoto Yawata	Nara	Kyoto Yamashiro	Kyoto Maizuru
type	D			C	F
	Dd	Df	Dc		
β-elemene	0.6%	4.5%	17.9%	21.0%	5.4%
caryophyllene	4.1	2.0	16.5	16.9	4.5
β-selinene	5.2	2.3	22.9	9.0	4.3
farnesol	6.0	28.5	4.3	7.5	9.7
methyl farnesate	5.3	7.1	3.5	10.1	35.3
farnesyl acetate	5.5	5.2	2.5	–	5.5
dimethyl-3, 7, 11-trimethyl -2, 6, 10-dodecatriene dioate (DTD)	47.7	9.5	12.8	–	–

キテルペンを主要成分とするものをCタイプ，DTDを含まず，ファルネソールやファルネス酸メチルの鎖状テルペンのみを主要成分とするものをFタイプとして分類した。なお採取した各地のミズガヤツリ塊茎を6ケ月間ポット栽培して形成された塊茎についてその精油組織を分析したところ，どの地区のものもそれぞれ栽培前の塊茎精油組成と大差なく，塊茎の精油組成は栽培環境条件によって影響されず，比較的安定な生合成経路が保持されていることを認めた。

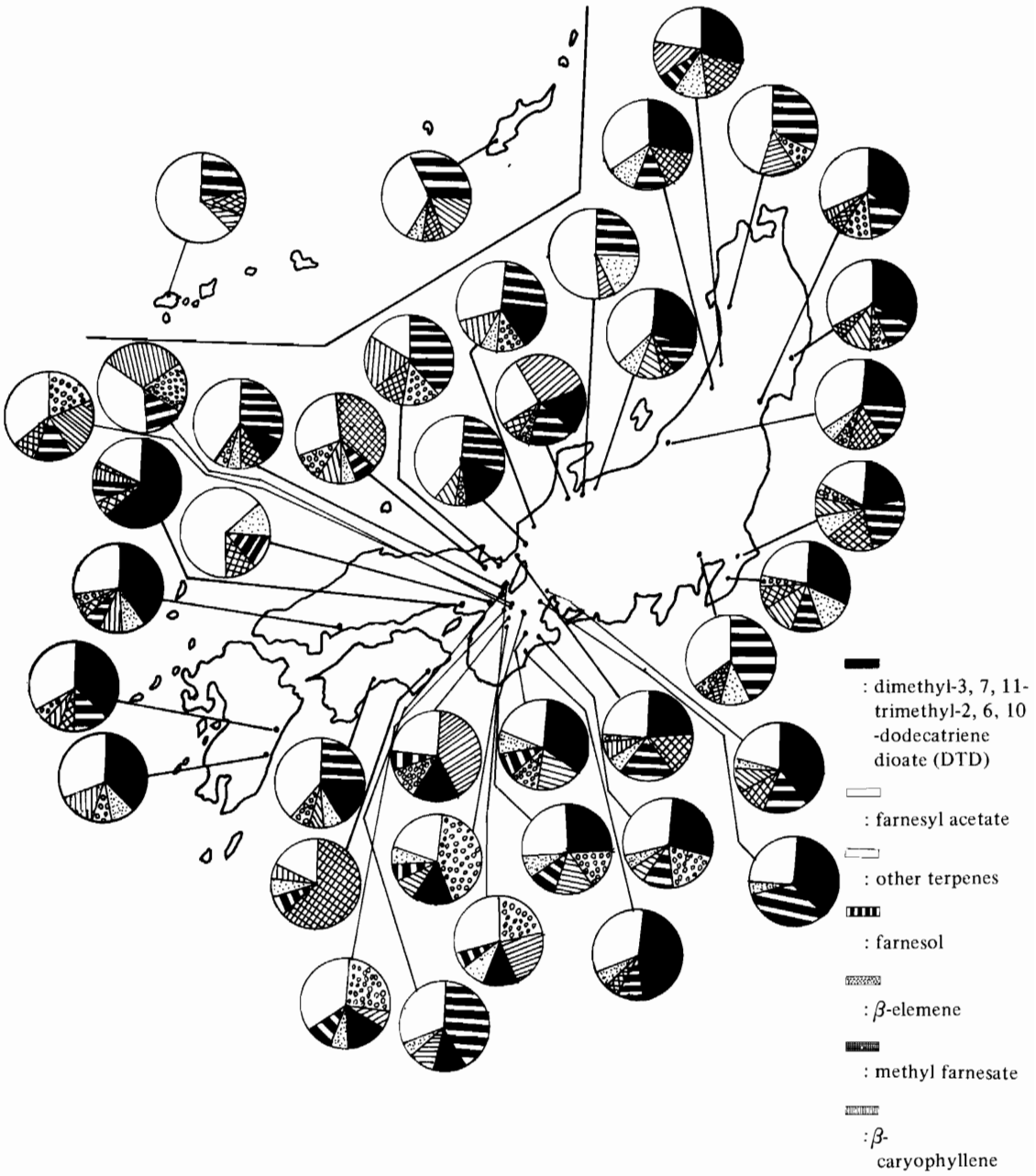


Fig. 5 Qualitative and quantitative variation in sesquiterpene of water nutgrass tubers.

Fig.5はミズガヤツリ塊茎を6ヶ月間栽培後，形成された塊茎の精油成分の地理的分布を示したものである。Dタイプは供試系統中29系統と最も多く，その中でDdタイプは兵庫，広島，宮崎，三重，千葉富山，宮城，岩手の各県で12系統，Dfタイプは高知，京都，福井，千葉，新潟で8系統，Dcタイプは京都，奈良，三重を中心に9系統が認められた。またFタイプは徳島，埼玉，秋田，富山，京都，大阪，沖縄の各県で9系統が認められたが，Cタイプは京都山城で2系統が存在するにすぎない。本実験では供試系統が少く，精油成分の変異を地域的特徴として詳細に把握することは出来ないが，本結果からではその精油組成は採取地域によって明確な差異があり，また*cyclic*セスキテルペンを主要成分とするCタイプや，Dcタイプでは京都，奈良，三重で集中的に存在し，その分布に僅かながらも地理的特徴が認められた。

一方，ミズガヤツリ塊茎におけるセスキテルペン生合成経路からその変異を考察すると，上記同定のセスキテルペン類はメバロン酸，ファルネソールピロホスフェートを経て，まず，ファルネソールが合成され，ファルネソールを基本物質として鎖状テルペンのファルネス酸メチル，ファルネシルアセタート，更にはDTDが生合成され，他方環状セスキテルペンのβ—エレメン，カリオフィレンおよびβ—セリネンもファルネソールピロホスフェートから閉環して生合成されるものと考えられている[13—16]。従って，Ddタイプ，DfタイプおよびFタイプは鎖状セスキテルペンの生合成系内での変異が主であり，その変異は小さいが，DcタイプやCタイプは鎖状セスキテルペン生合成系以外に環状テルペン生合成系が前者3タイプに比較して強く働いていると推察され，Dd，Df，Fの各タイプとDc，Cのタイプ間にはセスキテルペン生合成経路から考えてかなり明確な変異が生じているものと考える。

3．ミズガヤツリの精油成分からの分類型と2，3の形態との関係

ミズガヤツリ塊茎精油成分の組成の差異から分別された5タイプの分類型における2，3の形質につ

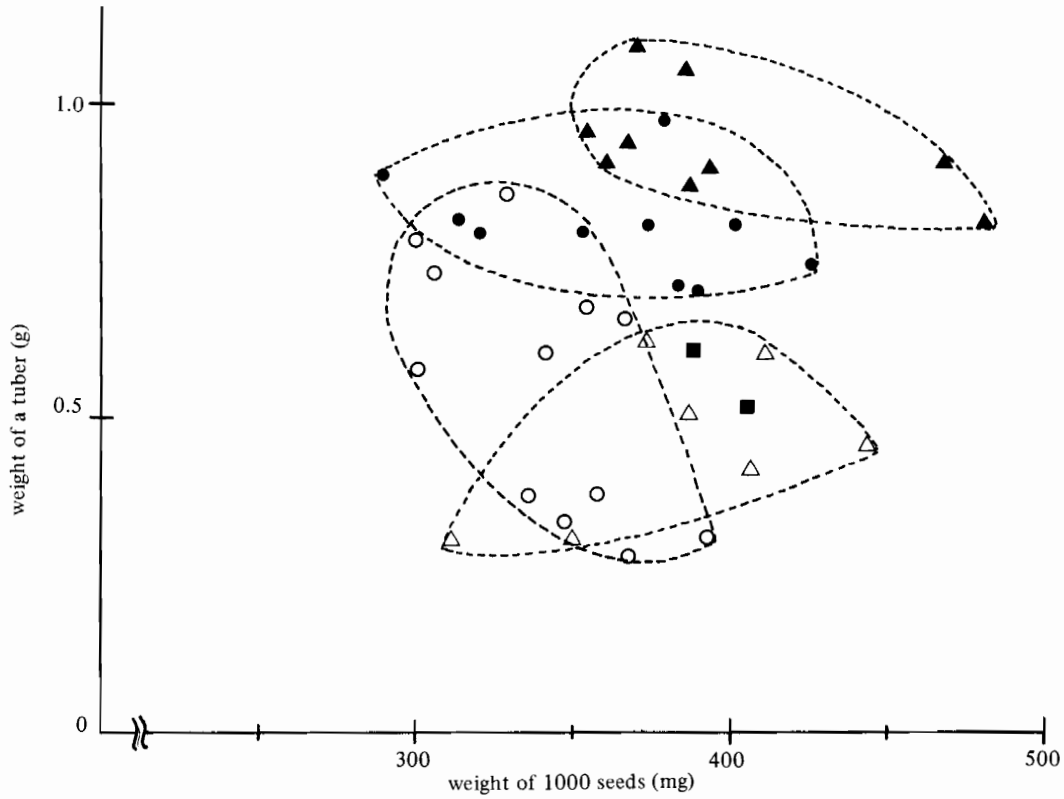


Fig. 6 The correlation between tuber weights and seed weights of the water nutgrass collected in Japan.
■ : C-type,　▲ : F-type,　● : Df-type,　○ : Dd-type,　△ : Dc-type

いて検討した。Fig.6には塊茎重量と種子重量の関係を示した。Fig.6によれば，種子1,000粒重は280*mg*～482*mg*にあり，Ddタイプ，Dcタイプ，Dfタイプの3タイプ間では僅んど差は認められないが，Fタイプは重く，Ddタイプ間とは明らかな差が認められた。一方，一塊茎重量は0.28*g* ～1.09*g* の範囲にあり，タイプによって特異的で，特にFタイプは重く，Dタイプ間とは明確な差異が認められた。Fig.7には稈長と第1苞葉長の関係を示した。Fig.7によれば，稈長は33*cm*から80.5*cm*の範囲にあり，Ddタイプでは長く，逆にDcタイプでは短い傾向にあり，両タイプ間では差異があるが，他のタイプ間では大差は認められない。また第1苞葉長は16*cm*～38*cm*にあり，Dfタイプではかなり分散した形をとるが他のタイプはほぼ一定で，タイプ間にも差異はなかった。

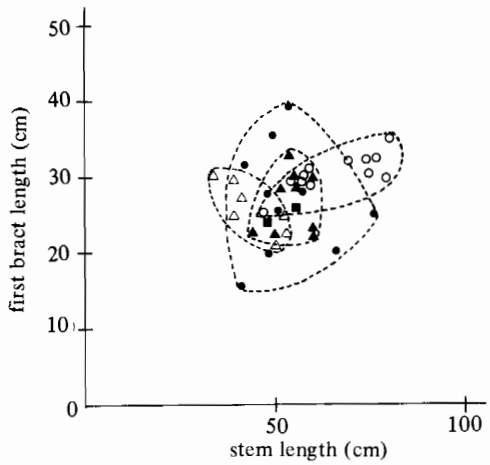


Fig. 7 The correlation between stem length and first bract length of the water nutgrass collected in Japan.

■ : C-type, ▲ : F-type, ● : Df-type,
○ : Dd-type, △ : Dc-type

このようにミズガヤツリ塊茎精油成分の組成の差異から分類されたミズガヤツリは種子重，塊茎重あるいは稈長にも差異が認められたが，本結果は形態の一部を測定したにすぎず，防除の基礎資料とするためには塊茎の発芽性，開花，出穂時期あるいは薬剤に対する抵抗性等の生理について更に調査する必要があると考える。

Ⅳ 要 約

日本各地域から採取した40系統のミズガヤツリ塊茎の精油成分について分析し，精油組成の差異からその変異状態を化学分類学的に考察した。

(1) ミズガヤツリ塊茎の精油成分として鎖状セスキテルペンのファルネソール，ファルネス酸メチル，ファルネシルアセートおよびdimethyl-3,7,11-trimethyl *trans*-2, *trans*-6, *trans*-10, dodecatrien dioate(DTD) と環状セスキテンペンのβ—エレメン，カリオフィレンおよびβ—セリネンの7成分が同定された。

(2) ミズガヤツリ塊茎精油成分の主要成分の含有率は採取地によって異なり，その成分組成の差異からミズガヤツリを次の5タイプに分類した。

Ddタイプ：DTDのみを主要成分とするもの

Dfタイプ：DTDを含みその他にファルネソールやファルネス酸メチルなどの鎖状テルペンを主要成分として含むもの

Dcタイプ：DTDを含みその他にβ—エレメン，カリオフィレン，β—セリネンなどの環状セスキテルペンを主要成分として含むもの

Cタイプ：DTDを含まず，ファルネソールなどの鎖状テルペンの他にβ—エレメン，カリオフィレン，β—セリネンなどの環状テルペンを主要成分とするもの

F：DTDを含まず，ファルネソール，ファルネス酸メチルなどの鎖状テルペンを主要成分とするもの

(3) 各系統の精油組成は6ヶ月間同一条件下で栽培して形成された塊茎を供試して分析した場合でも変化はなく，精油の生合成経路は比較的安定した形で保持されていることが認められた。

(4) ミズガヤツリ各タイプの地理的分布には地域的特性は，DcやCタイプが京都，奈良，三重に集中的に存在した事以外にはほとんど認められなかった。

(5)精油組成の差異から分類された5タイプのミズガヤツリは種子重や塊茎重にも差異が存在した。

引 用 文 献

1) 堀 親郎：雑草研究，**4**，49～52（1965）
2) S.R.RADOSEVICH：*Weed Sci.*，**25**，316～318（1970）
3) G.F.RYAN：*Weed Sci.*，**18**，614～616（1977）

4）山岸　淳：雑草とその防除，**48**，11，47～54（1974）
5）中川恭二郎：日作記，**41別号**，137～138（1972）
6）草薙得一：水田多年性雑草防除試験成績概要，19～21（1976）
7）菅　洋・草薙得一・服部金次郎：雑草研究，**20**，27～30（1975）
8）植木邦和・曽我　実・駒井功一郎：雑草研究，**17**，20～24（1974）
9）駒井功一郎・植木邦和：*Proc. Asian—Pacific Weed Sci. Soc.*，74（1975）
10）岩村淳一・亀田　稔・駒井功一郎・平尾子之吉：日化誌，**7**，1019（1977）
11）E.J.COREY，N.W.GILMAN and B.E.GANEM：*J. Am. Chem.*，**90**，5616（1968）
12）岩村淳一，小牧恭介，駒井功一郎，平尾子之吉：日化誌，投稿中
13）F.LYENEN，B.W.AGRANOFF，H.EGGERER，U.HENNING and E.M.MOSLEIN：Angew Chem.，**71**（1959）
14）G.POPJAK，P.W.HOLLOWAY and J.M.BARON：*Biochem.*，*J.*，**111**，325（1969）
15）HENDRICKSON：*Tetrahedron*，**7**，82（1959）

（昭和53年10月16日受理）