解 説

エナメル質アパタイトを用いた炭素および酸素安定同位体比分析: 化石哺乳類の生態復元にむけて

鵜野 光*・米田 穣**・樽 創***・甲能直樹****
 *農業環境技術研究所・物質循環研究領域・**東京大学総合研究博物館放射性炭素年代測定室・***神奈川県立生命の星・地球博物館・
 ****国立科学博物館・地学・生命進化史研究室

Carbon and oxygen isotope analyses of bioapatite in dental enamel: Toward ecological restoration of fossil mammals

Hikaru Uno*, Minoru Yoneda**, Hajime Taru*** and Naoki Kohno****

*Carbon and Nutrient Cycles Division, National Institute for Agro-Environmental Sciences, Kannondai 3-1-3, Tsukuba, 305-8604, Japan (huno@affrc.go.jp); **Laboratory of Radiocarbon Dating, University Museum, University of Tokyo, Hongo 7-3-1, Bunkyo, Tokyo 113-0033, Japan; ***Kanagawa Prefectural Museum of Natural History, Iryuda 499, Odawara, Kanagawa 250-0031, Japan; ****Department of Geology and Paleontology, National Museum of Nature and Science, Amakubo 4-1-1, Tsukuba, 305-0005, Japan

はじめに

自然界における軽元素安定同位体組成(以下同位体比) は、さまざまな生物活動や物理化学的な作用を通して分 別を受ける.このため、動植物の体組織の同位体比は、 環境との相互作用の結果として記録される.食性や飲み 水の変化に伴う体内の同位体比の変化は比較的短時間で 起き、例えばヒトでは約10日から14日で飲み水由来の 同位体比が反映される(Sharp and Cerling, 1998).一方、 毛髪や歯のエナメル質のような、形成後に生物学的な変 化を受けない体組織では、その組織の形成時の体内情報 が保存されていることになる.

これを利用して、人類学や考古学の分野では、1970年 代の終わり頃から古代人の食性や生業の復元を目的に、 人骨の有機物を対象とした同位体分析が行われてきた. とくに、C₃植物とC₄植物とでは炭素同位体比が大きく異 なることや、栄養段階が高くなるにつれて窒素同位体比 が高くなることに基づいて、古代人の食性や生業の復元 が議論された (DeNiro and Epstein, 1978; Tieszen *et al.*, 1979; Sullivan and Krueger, 1981; van der Merwe, 1982; Vogel and van der Merwe, 1977; 米田ほか, 1996 など). しかし、古生物学が対象とする化石では、有機物が変質 せずに残っていることがほとんどないため、古脊椎動物 学の分野では骨や歯の主要構成物であるアパタイトの炭 素や酸素が同位体分析に用いられるようになった.

Sullivan and Krueger (1981) は食性を表すことが知ら れていたコラーゲンの炭素同位体比とバイオアパタイト (生物が作るアパタイト)の炭素同位体比との間に強い相 関関係があることを示し,バイオアパタイトの炭酸イオ ンの同位体比に基づく食性復元を初めて提案した. その 後,アパタイトの炭酸イオンの炭素,酸素を使った研究 が数多く試みられるようになり(Lee-Thorp *et al.*, 1989, Cerling *et al.*, 1993; MacFadden *et al.*, 1999 など),現在 では古食性,古生態,古環境などを復元するうえで,最 も有用な手段のひとつとして広く行われている(Ambrose and Krigbaum, 2003; Newsome *et al.*, 2010 など).

日本においては、1960年代に小西健二らによりサンゴ 骨格の同位体比の変化に基づいて海洋環境変動を推定し た先駆的研究が行われ(小西・高柳, 1969),その後も無 脊椎動物とくに軟体動物の硬組織(貝殻)やサンゴを用 いた生物学的あるいは古環境科学的研究が行われてきた (例えば, Miyaji *et al.*, 2007; 酒井・松久, 1996; Watanabe *et al*, 2010など).しかし,脊椎動物の古生態をテーマと した研究は,今のところ数える程しか行われていない(例 えば Uno, 2011).

そうしたことから、本稿では安定同位体分析に基づい て絶滅した脊椎動物の生息環境や食性をどのように復元 できるかについて解説することを目的として、まず脊椎 動物における安定同位体比の意味について概説し、その 後実際にモデルケースとして日本列島の現生哺乳類を材 料に分析の具体的な方法について紹介する.

エナメル質の炭素・酸素同位体比

歯や骨などの硬組織を構成する無機質は,主にハイド ロキシアパタイト $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ のリン酸イオン $(PO_4)^{3-}$)や水酸イオン (OH^-) が炭酸イオン $(CO_3)^{2-}$) によって3-5パーセント (wt) 置換されたもので,バイ オアパタイトと呼ばれている (LeGeros *et al.*, 1969; Rey et al., 1991; Kohn and Cerling, 2002; Nanci, 2007). この うち, 歯の表層を構成するエナメル質は象牙質や骨とは 異なり, 有機物がほとんど含まれていない (<1%). 結 晶の大きさもエナメル質のものは, 象牙質やセメント質 のものより比較的大きい. このため, エナメル質のバイ オアパタイトは, 象牙質やセメント質あるいは骨の結晶 に比べて続成作用を受けにくい (Lee-Thorp, 2000). ま た, 歯のエナメル質は, 一度形成されるとその後の生物 学的な改変が起こらないので, バイオアパタイト内の同 位体比は, エナメル質が形成された時の体内の同位体情 報を記録していることになる.

一般に, 脊椎動物を対象にした同位体分析においては, 多くの生体情報が読み出せる窒素を扱うことが多いが, 古脊椎動物学では, 一般に分析対象には有機物が保存さ れていないので, 主要な無機質であるバイオアパタイト の炭素と酸素の同位体が分析の主な対象核種となる. 以 下に, 炭素と酸素の同位体比から得られる情報について 述べる.

炭素同位体

炭素の同位体比は、動物の体内に取り込まれて固定される際に高くなるが、その値は1‰程度と小さい.それに比べて、その動物が所属する食物網の一次生産者における炭素同位体比の変動幅ははるかに大きいため、動物体内の同位体比は栄養段階に関わらず、一次生産者における炭素同位体比を大きく反映したものとなる.

陸上の主な一次生産者は、高等植物である.陸上高等 植物の炭素同位体比は、光合成に関わる酵素の違いに よって、潅木類や木本類、高緯度の草本類など現在の大 部分の高等植物であるC₃植物と、低緯度地域の乾燥と高 温に適応した草本類や雑穀類に見られるC₄植物、および 乾燥地に生息するCAM植物の三つに分けられる (O'Leary, 1988).このうち、CAM植物は生息地域が極端 な乾燥地に限定されるので、陸上哺乳類に関係する生態 系の一次生産者は、ほとんどの場合C₃植物とC₄植物で ある.

 C_3 植物の間では、炭素同位体比のバラツキが比較的大 きい(変動幅 – 35 から – 22 ‰. 平均 – 27 ‰). これは、 (1)同じ C_3 植物型の光合成の代謝経路を使っていても、 乾燥した環境では、気孔が閉じている時間が長くなるこ とで、大気との隔離が起きるため、炭酸同化に際しての 見かけの同位体分別が小さくなることで、有機物の同位 体比は – 22 ‰ くらいにまで高くなること(Cerling *et al.*, 1997),(2)樹冠で覆われているような大気との交換が少 ない閉鎖林内では、土壌から放出される同位体比の低い CO_2 が閉鎖林内の植物によって同化されるため、有機物 の同位体比は – 35 ‰ くらいにまで低くなる(van der Merwe and Medina, 1989)ことによる(図1).

C₄植物は、C₃植物に比べると高温・乾燥・強光環境に



図1. 植物食哺乳類と草本類の炭素同位体比. A. 大気の CO_2 と植物および植物食哺乳類の炭素同位体比の概略図. 大気の CO_2 の炭素同位体比($\delta^{13}C$) が -7.0%のとき, C_3 植物は平均で $\delta^{13}C = 27.0$ %, C_4 植物は $\delta^{13}C = -13$ %になる. 植物を素餌する哺乳類は, C_3 植物食で $\delta^{13}C = -13$ %, C_4 植物食で $\delta^{13}C = 1.0$ %になる(Koch, 1998; Kohn and Cerling, 2002).

同位体比は δ 記号を用いて以下のように示される.

 $\delta = \{(R_{sample} / R_{standard}) - 1\} \times 1000 \ (\%)$

 $R_{sample} \ge R_{standard}$ はそれぞれ試料と標準試料の同位体の比を表して いる (R_{sample} はサンプルの同位体比, $R_{standard}$ は標準試料の同位体 比).例えば,炭素であれば, $R_{sample} \ge R_{standard}$ は試料と標準試料 の炭素 12 と炭素 13 の比 (13 C/ 12 C) である.元素によって標準試 料が国際的に定まっており,例えば,炭素 と酸素の標準試料はサ ウスカロライナ州の白亜系 Pee Dee 層からの Belemnite 化石 (PDB) がしばしば用いられる.また,酸素は上述した PDB や海 水の標準試料 (SMOW) などが用いられる (Hoefs, 2009; 酒井・ 松久, 1996). B. 現在の世界の草本類の炭素同位体比とその種数. 餌となる植物とエナメル質の炭素同位体比の差は14‰程度にな る (Cerling *et al.*, 1997).

適応した光合成の仕組みを備えているが、 C_4 光合成にお ける炭素固定に関与する酵素には多様性があることが知 られている (Schulze *et al.*, 1996). このため炭素同位体 比には C_3 植物と同様に種間でバラツキが生じるが、 C_3 植 物に比べるとバラツキの幅は小さい ($-19 \sim -9$ ‰. 平 均 -13‰) (図1).

C₃植物とC₄植物の炭素同位体比の差は,植物を食べる 動物の体内の同位体比にも反映する.大型植物食哺乳類 であれば,一般的に餌となる植物の同位体比より約14%



図2. C₃-C₄植物の混合モデル. Cerling et al. (2003)を改変. 右の 縦軸はC₄植物とC₄植物食哺乳類のエナメル質の炭素同位体比. 左の縦軸はC₃植物とC₃植物食哺乳類のエナメル質の炭素同位体 比. 上の横軸は食物に占めるC₄植物の割合. 下の横軸は食物に 占めるC₃植物の割合. アフリカのトゥルカナ湖周辺地域のC₃植 物食とC₄植物食の同位体比の混合モデル. 斜線帯は食物全体に 占めるC₃とC₄植物の比の炭素同位体比. グレーの帯は, 植物を 食べるエナメル質の炭酸イオンの同位体比. C₃植物の同位体比 (δ^{13} C vs. PDB) は -27.2±1.5‰, C₄植物は -12.8±0.8‰で, 食 物とする植物とエナメル質の炭素同位体比の差は約14‰になる.

高い値となって歯のエナメル質に取り込まれて記録され ることが知られている(Koch, 1998; Cerling and Harris, 1999; Kohn and Cerling, 2002). したがって,炭素同位 体比が-27%の C_3 植物を100%摂っていればバイオアパ タイトの同位体比は約-13%になり,-12%の C_4 植物を 100%摂っていれば同位体比は約2%となる(DeNiro and Epstein, 1978; Koch, 1998; Cerling and Harris, 1999)(図 1).

また、 C_3 植物に属する植物は湿潤な環境で森林を構成 し、 C_4 植物は乾燥した環境では草原を構成するものが多 いので、化石哺乳類などの化石試料の同位体比から食性 に占める C_3 植物と C_4 植物の比を復元することで、古環 境を推測することもできる (Ehleringer *et al.*, 1991; Cerling *et al.*, 1997; Cerling *et al.*, 2003) (図2).

海洋環境では,光合成プランクトン,海藻,あるいは 海草が一次生産者である.それらの炭素同位体比は,炭 素固定に使用する溶存二酸化炭素(CO₂)や炭酸水素イ オン(HCO₃⁻)の濃度,その海域の一次生産者の多様性, 深層水の湧昇などの影響を受けて変化する.したがって, 一次生産者の炭素同位体比は遠洋域の低い同位体比 (δ¹³C = -22‰)から,沿岸域のケルプ林(δ¹³C = -17‰) や海草(δ¹³C = -11‰)に向かって高くなっている(Boutton, 1991; Kelly, 2000; Clementz and Koch, 2001). 実際に, 北太平洋の遠洋域で餌を摂るキタゾウアザラシと沿岸域 で餌を摂るキタオットセイやゴンドウクジラを比較する と, 索餌の場が遠洋域の種よりも沿岸域の種の炭素同位 体比の方が高いことが確認されている (Clementz and Koch, 2001) (図3).

淡水環境では、CO₂の溶存量や陸上からの有機物の混 入が関係するため、一次生産者の有機物の同位体比は -35%から-25%と大きな変動幅を示す(Osmond *et al.*, 1981; Fry and Sherr, 1984; Clementz and Koch, 2001)(図 3).

酸素同位体

バイオアパタイト中の酸素原子は、炭酸イオン(CO₃⁻) とリン酸イオン(PO₄³⁻)を構成している.リン酸イオ ンの酸素同位体を分析するには、まず、リン酸イオンを リン酸ビスマス(BiPO₄)やリン酸銀(Ag₃PO₄)などの 化合物にして取り出し、さらに、分析環境の大気中の分 子酸素からの混入がないよう嫌気条件下でPO₄から酸素 原子を取りだして測定する必要がある(LaPorte *et al.*, 2008). そこで、本論ではより簡便に抽出できる炭酸イ オンの酸素同位体比を分析例として扱うことにする.

バイオアパタイト内の酸素同位体比は固定されるとき の温度に影響される.これは、炭酸と水分子の酸素は素 早く交換されて平衡状態にあり、これが温度依存的に同 位体効果を持つからである.1kg以上の体サイズを持つ 真獣類では、一般的に体内温度が約37℃でほぼ一定であ る(Clarke and Rothery, 2008).したがって、バイオア パタイト内に取り込まれる炭酸イオンの酸素同位体比は、 体液の水分子の酸素同位体比の変動と一定の相関関係を 持つ(Koch, 1998).このため、バイオアパタイトの炭酸 イオンの酸素同位体比の変動は、その動物が取り込んだ 水や体内で燃焼に使われる分子酸素の同位体比の変動を 反映することになる.

陸上の植物食哺乳類の場合,体内に取り込まれる全酸 素のうち約25%が大気の分子酸素,45%が食物に含まれ る水分子の酸素,30%が飲み水の水分子の酸素である (Kohn, 1996; Kohn and Cerling, 2002).大気の分子酸素 の同位体比は地域による変動がほとんどないため影響を 考える必要はない.したがって,体内の酸素同位体比は, その動物が取り込んだ飲み水や食物中の水分子の酸素同 位体比を反映して変化する.例えば,植物の茎に含まれ る水は天水とほぼ同じ酸素同位体比であるが,葉の水は 蒸散の影響で酸素同位体比が高くなっている(Yakir, 1992).このため,葉食の動物は体液の酸素同位体比が 高くなり,結果としてバイオアパタイトの炭酸イオンの 酸素同位体比も高くなる(Bryant and Froelich, 1995).葉 での蒸散速度とそこにおける同位体分別は,大気の湿度 を反映して変化する.このため,同じような酸素同位体



図3. さまざまな食性と生息域の哺乳類の炭素と酸素の同位体比. a, 食性・生息域と炭素同 位体比. b, 食性・生息域と酸素同位体比 (Clementz and Koch, 2001).

比を持つ水環境下でも,蒸散による影響を強く受ける植物を摂取する種では,体内の酸素同位体比は,天水の酸素同位体比よりも大気の相対湿度を反映することになる (Luz and Kolodny, 1985; Ayliffe and Chivas, 1990; Levin *et al.*, 2006) (図4).

海生哺乳類の酸素同位体比は、陸生哺乳類とは大きく 異なり、ほぼ海水の酸素同位体比と相関する(Hui, 1981; Andersen and Nielsen, 1983; Clementz and Koch, 2001; Koch, 2007; Newsome *et al.*, 2010). また、海水は陸水 に比べて変動が小さいため、海生哺乳類の酸素同位体比 のバラツキは、淡水を摂取する哺乳類に比べて小さくな る(海生哺乳類1 $\sigma \le 0.3\%$;陸水依存型哺乳類, $1\sigma \ge 0.9\%$) (Clementz *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008).

古脊椎動物試料に特徴的な問題点

化石を使った化学分析では, 続成過程における変性作

用の影響がまず問題となる. 続成作用が同位体値に与え る影響は,バイオアパタイトの炭酸イオンを用いた同位 体分析が始められた当初から指摘されており、アパタイ トの同位体分析を古生物資料あるいは考古資料へ応用す ることについては否定的な見解も存在した(Schoeninger and DeNiro, 1982; Nelson et al., 1986). その後, (1) 同 一個体内でのバイオアパタイトとコラーゲンの同位体比 との間に強い相関が見られることと(Krueger and Sullivan, 1984; Lee-Thorp, 2000), (2) 栄養段階の違いに 対応したアパタイト中の炭素同位体比の変動が一致する ことが示された. さらに、歯のアパタイト結晶のXRD (X線回折)およびFT-IR (フーリエ変換型赤外分光)も 行われ、化石化したエナメル質であっても、バイオアパ タイトが他の鉱物に置き換わっていないことはもちろん, Ca/PやCO₃/PO₄などの組成にも変化がなく、分析対象に するCO₃に大きな影響がないことが示された(Krueger



図4. 天水と歯の酸素同位体比の相関図. 飲み水と歯の酸素同位体 比の相関関係を示す (Kohn and Cerling, 2002).

and Sullivan, 1984; Lee-Thorp, 2000). これらの知見を総 合すると, 化石のバイオアパタイト内に生存中の同位体 比が保存されていることは, ほぼ疑いのないものと結論 づけることができる. 今日では, 化石エナメル質の表層 が続成作用を受けている試料であっても, 適切な前処理 を行うことで, その影響を取り除くことができるとされ ている (Schoeninger and DeNiro, 1982; Sullivan and Krueger, 1981; Nelson *et al.*, 1986; Ambrose and Krigbaum, 2003). 以下に, 古脊椎動物の歯のエナメル質の同位体 分析で広く行われているKoch *et al.* (1997) と Garvie-Lok *et al.* (2004) に基づく一般的な前処理方法を紹介する.

エナメル質の安定同位体比分析の実際

分析手法の詳細

1. 削り出し (サンプリング) (図5~7)

歯のエナメル質から同位体分析用試料を削り出すにあ たって、まず歯表面の汚れを蒸留水やアセトンで洗浄す る.洗浄後の作業は、実体顕微鏡下でジェットカーバイ トチップを装着した工具用ルーターを用いて行う.試料 のサンプリングを行う部位は、なるべく歯冠セメントが エナメル質を覆っておらず、咬合面の観察や歯の大きさ の計測に影響しない部分で行う.エナメル質の硬さや削 る範囲に合わせて、0.1 mmから1.0 mmの直径の先端チッ プを用いる.サンプリングしたい部分の表面を少し広め に薄く削り取り、新鮮な面を出した後にエナメル質だけ を5 mg程度削り取る.このとき、クリーニング時に出た 粉や象牙質やセメント質が入らないように注意する.間 隙を埋めるマトリックスなどが振動で剥離して試料に混 入する恐れがある場合は、隙間にコットンを詰めたりア ルミ箔などで全体を覆ったりして混入を防ぐ.削りだし た試料粉はアルミ箔か薬包紙に落としてサンプルバイア ル瓶(以下バイアル)に移動する.バイアルへの移動は、 細いナイロン筆を使ってもよい.筆を使う場合は前の試 料の混入がないよう洗浄を十分行う.また、粉体試料用 の風を起こさない静電気防止装置をあてて静電気を取り 除くと試料が筆から分離しやすい.

2. 有機物と非アパタイト鉱物の除去

試料はプラスチックの2.0 ml のバイアルに入れて,有 機物と非アパタイト成分を取り除くため以下の処理を行 う(Koch et al., 1997; Garvie-Lok et al., 2004)(図7).

 有機物を取り除くため3%の次亜塩素ナトリウムを 2.0ml入れ、6時間常温で反応させる.その後、純水 を加えて遠心分離機にかけ、上澄み液を廃棄する方法 で中性になるまで洗浄作業を行う.





図5. エナメル質の同位体分析に関連する器具と分析装置.1,サンプリングに使用する機器.A,バランスアーム付実体顕微鏡.
B,マイクロドリル.C,静電気用徐電器.2,質量分析計と前処理装置(国立科学博物館).A,炭酸塩自動前処理装置.B,安定同位体比質量分析計.



図6. 試料の削りだし作業の様子. 1, サンプリングする部位を表面洗浄した資料. 2, サンプリングする部位以外をアルミ箔で覆った資料. 3, 試料の削り出し. 4, 削り出した試料.

- 2) 酢酸と酢酸ナトリウムを混ぜてphが4.1程度に調整した酢酸緩衝液を入れ,室温で6時間反応させる.反応後,1)と同様の方法で遠心分離機を使って洗浄し,酸を取り除く.
- 3) バイアルを冷凍庫に入れて完全に凍結させて、凍結 乾燥器にかけて乾燥する.真空にする際にガラスフィ ルターで栓をするなどして、試料が飛び出すのを防い でおく.凍結乾燥作業を終えた試料は吸湿しやすいの で、デシケーター内で保管する.

以上の前処理を終えた試料を酸で溶解しCO₂を生成さ せて,質量分析計により同位体分析を行う.現在は,試 料をセットすると自動で酸が滴下され,CO₂が質量分析 計に導入されるシステムを組み込んだ分析計が各社から 販売されているので,これらを使用するのが効率的であ る.分析には試料とともに,補正のための同位体比が既 知の標準物質を入れてあわせて分析する.

実際の分析事例

ここでは、食性と生息地が既知の現生の哺乳動物を用

いて実際の分析事例を示すことで,酸素と炭素の安定同 位体比が対象動物の実際の食性や生息環境をよく反映し ていることを紹介する.

1. 材料

国立科学博物館に所蔵されている,長野県南信濃町で 採集された11個体のニホンイノシシ(Sus scrofa leucomystax),愛知県稲武町と設楽町で採集された5個体 のニホンカモシカ(Capricornis crispus),愛知県東部の 新城市や設楽町で採集された7個体のニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax),沖縄県西表島で採集された12 個体のリュウキュウイノシシ(Sus scrofa riukiuanus)を 用いた(表1).

ニホンイノシシは植物食が中心の雑食性で,さまざま な農作物や昆虫,タニシ,カエルなども摂る.主に里山 の藪などに生息する(愛知県環境部自然環境課,2007a; 長野県森林づくり推進課,2009).リュウキュウイノシシ も同様に植物食中心の雑食の傾向が強く,農作物も多く 摂るため,最近では農作物への食害を起こしている(石



図7. エナメル質の同位体分析の前処理法. 試料を削りだし(1), アルカリと弱酸を用いて洗浄する(2,3). 洗浄後, 十分に乾燥させ(4), リン酸と反応させて, CO₂に変換して質量分析計で分析する(5).

垣ほか,2007a,b). ニホンカモシカは木本類の葉や若芽, ササを選択的に摂餌し,落葉広葉樹林及び針広混交林か らなるやや深い森に生息する(愛知県環境部自然環境課, 2007b)(表1).

Ξŧ

缔

倒藏盆

1992~2002年の10年間の平均値では, ニホンイノシ シとニホンカモシカが採集された愛知県(鳳来町)は年 平均降水量が1918.3 mm, 平均気温が15.2℃, 長野県(稲 武市)は年平均降水量が1678.0 mm, 平均気温が13.3℃ であった.リュウキュウイノシシが捕られた西表島では, 降水量が2374 mm, 平均気温が23.7℃であった(気象 庁).

すなわち,この分析事例は,生息環境は大きく異なる が食性は比較的類似するモデルケースとして本州のニホ ンイノシシと西表島のリュウキュウイノシシを扱い,食 性は大きく異なるが生息環境は比較的類似するモデル ケースとして愛知県のニホンイノシシとニホンカモシカ を扱い,同位体の持つ意味を示すものである.

以上の試料は、前述の前処理を行ったうえで国立科学 博物館地学研究部に設置されているサーモフィッシャー 製キールデバイスオートサンプラー付き質量分析計 MAT253を用いて分析を行った(図7).試料500~600 µg をガラスバイアルに入れ、標準物質としてNBS19を試料 5個おきに入れて補正に用いた.NBS19は、アメリカ国 立標準技術研究所(National Institute of Standards and Technology:NIST)によって、炭素と酸素の同位体比が それぞれる¹³Cが1.95(PDB)とる¹⁸Oが-2.20(PDB)と 値が定められている標準試料である(Coplen *et al.*, 2006)。 炭酸塩の自動前処理装置であるキールデバイスに試料の 入ったバイアルをセットすれば、自動的に試料に酸が滴 下されて CO₂ ガスが生成し、質量分析計に導入される (Schimid *et al.*, 2012).キールデバイスでは、40個程度 の試料に対して自動で分析が行うことができ、同位体分 析が極めて効果的に行えるようになっている.

現生哺乳類の実際の安定同位体比

以上の前処理と分析から、炭素同位体比($\delta^{13}C_{PDB}$)は、 長野県のニホンイノシシが-13.5‰($1\sigma = 0.7$)、愛知県 のニホンイノシシが-13.8‰($1\sigma = 1.2$)、西表島のリュ ウキュウイノシシが-14.0‰($1\sigma = 0.8$)、愛知県のニホ ンカモシカは最も低く-16.1‰($1\sigma = 1.0$)であった.こ のように、食性の異なるニホンカモシカとニホンイノシ シでは同位体比の値も有意な差を示している(*t*検定、 表1. 今回の分析に使った標本リストとそれらの同位体比の測定値.

標本番号	種	採集地	歯種	δ ¹³ C (PDB)	δ ¹⁸ O (SMOW)	生息地	食性
NSMT-M10718	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-13.9	21.0	里山	雑食
NSMT-M11114	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-13.3	22.2	里山	雑食
NSMT-M11123	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-13.2	22.3	里山	雑食
NSMT-M11349	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-14.3	22.0	里山	雑食
NSMT-M13794	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-13.2	22.2	里山	雑食
NSMT-M14013	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-13.8	21.0	里山	雑食
NSMT-M14411	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-14.8	22.7	里山	雑食
NSMT-M14414	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-13.1	22.9	里山	雑食
NSMT-M14415	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-12.3	23.1	里山	雑食
NSMT-M14615	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-14.0	22.4	里山	雑食
NSMT-M16048	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	長野県南信濃村	下顎 第3臼歯	-12.8	22.0	里山	雑食
NSMT-M37135	ニホンカモシカ Capricornis crispus	愛知県大野山	下顎 第3臼歯	-16.7	25.7	広葉樹林	葉食
NSMT-M37137	ニホンカモシカ	愛知県設楽町	下顎 第3臼歯	-16.8	23.2	広葉樹林	葉食
	Cupricornis crispus						
NSMT-M37216	ニホンカモシカ Capricornis crispus	愛知県稲武町	下顎 第3臼歯	-16.1	24.0	広葉樹林	葉食
NSMT-M37218	ニホンカモシカ Capricornis crispus	愛知県稲武町	下顎 第3臼歯	-14.4	22.8	広葉樹林	葉食
NSMT-M37272	ニホンカモシカ Capricornis crispus	愛知県設楽町	下顎 第3臼歯	-16.7	22.6	広葉樹林	葉食
NSMT-M37064	ニホンイノシシ	受知道	下頸 第2日南	-13.9	24.3	甲山	雑食
NSMT_M37065	(Sus scrofa leucomystax) ニホンイノシシ	委知道設定町	下顎 第2日歯	-13.1	24.3	王山	推设
143141-14137003	(Sus scrofa leucomystax)	支州东政末町		-15.1	24.5	土山	和良
NSMT-M37070	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	愛知県設楽町	下顎 第2臼歯	-14.5	24.8	里山	雑食
NSMT-M37473	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	愛知県	下顎 第2臼歯	-11.7	24.0	里山	雑食
NSMT-M37474	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	愛知県設楽町	下顎 第2臼歯	-15.1	23.9	里山	雑食
NSMT-M37477	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	愛知県	下顎 第3臼歯	-15.1	22.5	里山	雑食
NSMT-M37480	ニホンイノシシ (Sus scrofa leucomystax)	愛知県設楽町	下顎 第1臼歯	-13.1	23.8	里山	雑食
NSMT-M31139	リュウキュウイノシシ (Sus scrofa riukiuanus)	西表島	下顎犬歯	-12.2	27.3	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31141	リュウキュウイノシシ (Sus scrofa rinkingnus)	西表島	下顎 第1臼歯	-14.3	26.8	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31142	Jュウキュウイノシシ	西表島	下顎犬歯	-13.8	25.8	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31143	リュウキュウイノシシ	西表島	下顎 第2臼歯	-13.1	28.2	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31148	(Jus scroja riukiuanus)	西表島	下顎犬歯	-14.2	26.0	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31153	(Jus scroja ruuxiuanus)	西表島	下顎 第4前臼歯	-12.5	27.8	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31155	(Sus scroja ruxtuanus)	西表島	下顎 第2臼歯	-14.9	26.5	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31156	(Sus scroja ruukiuanus)	西表島	下顎犬歯	-16.0	26.5	里山と周辺林	雑食
NSMT-M31158	(sus scroja ruukiuanus) リュウキュウイノシシ	西耒島	下顎 第2日南	-13.9	26.6	単山と周辺林	雑食
	(Sus scrofa riukiuanus)	- 20			_0.0		., a. 26.
NSMT-M31160	リユワキユワイノシシ (Sus scrofa riukiuanus)	西表島	下顎犬歯	-13.7	26.9	里山と周辺林	雑食



図8. 西表島のリュウキュウイノシシ,愛知県のニホンカモシカ,長野県のニホンイノシシの 炭素と酸素の同位体比分析結果.

p<0.001) (表1) (図8). 酸素同位体比(δ¹⁸O_{SMOW})は, 長野県のニホンイノシシが22.2‰ (1σ=0.7), 愛知県の ニホンカモシカが23.7‰ (1σ=1.3), 愛知県のイノシシ が23.9‰ (1σ=0.7) で, 西表島のリュウキュウイノシ シは26.9‰ (1σ=0.8) であった (表1)(図8). これに は、本州のニホンイノシシとニホンカモシカの酸素同位 体比と西表島のリュウキュウイノシシの酸素同位体比で, 水環境の相違を反映して有意な差が示されている(t検 定, p<0.001). 一方, 西表島のリュウキュウイノシシと 長野県と愛知県のニホンイノシシの炭素同位体比で、水 環境は異なっていても食性に違いがないことを反映して、 有意な差は見られない(t検定, p=0.54). なお、日本の 閉鎖林内の低層では、大気と森林内の交換効率が低く、 土壌呼吸による同位体比の低いCO2が森林内の植物に再 利用されるため、森林内の低層の植物は炭素同位体比が 数‰低くなることが樹冠効果として知られている (Kondo et al., 2005; 小林ほか, 2006). やや深い森に生息してい るニホンカモシカは、このような樹冠効果の影響を受け ていると考えられ、実際に炭素同位体比はやや低い値を 示している.

以上のとおり,本州のニホンイノシシと西表島のリュ ウキュウイノシシのように生息環境は大きく異なってい ても食性が類似している場合,酸素同位体比は異なるも のの炭素同位体比は類似し,愛知県のニホンイノシシと ニホンカモシカのように同じ生息環境であっても食性が 異なる場合,酸素同位体比は類似するものの炭素同位体 比は異なることを明確に示している.このモデルケース からも,同位体分析が化石哺乳類の古生態学的研究や古 環境学的研究に極めて有用であるということは明らかで あろう.

化石哺乳類の生態復元にむけて

絶滅動物を対象にした同位体研究は、(1) 化石の形態 情報に基づいて独立に食性や生態が確実に復元できる動 物に対して、同位体比の情報からその動物の生息環境を 復元するか、(2) 形態だけからでは食性や生態がはっき りしない動物に対して,同位体比の情報からそれらを絞 り込むかのいずれかの場合が多い.いずれの場合でも, 同位体分析を古脊椎動物に応用するには、同位体比は生 息環境とその動物の生態との二つの要素が関わっている ことに常に注意を向けて,分析対象を十分精査する必要 がある、分析の対象となる動物の分類同定が正しく、か つ化石形態などからその生態が強く推定できるようであ れば、同位体の結果から動物の生息地の古環境を復元し たり動物の移動を議論したりすることは十分に可能であ る.また、対象動物の生態が未知の場合でも、共産する 他の動植物の同位体分析を通じて対象の動物が生息して いた古環境が推定できれば、対象動物の同位体比の結果 からその古生態を推測することも可能である.

同位体分析は,現在の古生物学にはなくてはならない 道具となりつつあるが,古脊椎動物への同位体分析の応 用例は日本では多くない.しかし,上述の通り食性と強 い相関関係を示す炭素同位体比と天水と湿度を反映する 酸素同位体比の情報は,これまで材料の不完全さに左右 されることの多かった古脊椎動物の古生態復元や古環境 (生息環境)復元に新たな観点からの議論を創出できる. 今後この分野にも広く同位体分析が適用されることを強 く期待する.

謝辞

本研究を進めるにあたって,遠藤秀紀博士(東大・博 物館),川田伸一郎博士・栗原 望博士・長岡浩子博士 (科博)には、 試料のサンプリング時にたいへんお世話に なった.本郷一美博士(総研大)には研究中の標本から のサンプリングを許可していただいた.鈴木 淳博士・ 箕島佳代博士・外西奈津美氏(産総研)には、同位体分 析について議論していただいた. 鈴木 亮氏(株式会社 環境研究センター),小林利行氏(伯東株式会社)には同 位体分析試料の前処理に際してご協力いただいた. 覚張 隆史氏,内藤裕一博士,蔦谷 匠氏 (東大·博物館),瀧 上 舞氏(山形大・人文)には試料の処理の際に便宜を 図っていただいた. 齋藤めぐみ博士・谷村好洋博士(科 博)には科博の質量分析計の使用に際してお世話になっ た. 宮地 鼓博士(北大)には,同位体分析に際して多 くの有用な助言とご協力をいただいた.論文を査読して いただいた立命館大学の柏山雄一郎博士と鹿児島大学の 仲谷英夫博士、および匿名の査読者のご指摘はたいへん 有益であった.以上の方々に心よりお礼申し上げる.

文献

- 愛知県県環境部自然環境課,2007a.特定鳥獣保護管理計画(イノ シシ).29p,,愛知県環境部自然環境課.
- 愛知県県環境部自然環境課,2007b.特定鳥獣保護管理計画(カモ シカ).36p.,愛知県.
- Ambrose, S. H. and Krigbaum, J., 2003. Bone chemistry and bioarchaeology, *Journal of Anthropological Archaeology*, 22, 193–199.
- Andersen, S. H. and Nielsen, E., 1983. Exchange of water between the harbor porpoise, Phocoena, and the environment. *Experimentia*, 39, 52–53.
- Ayliffe, L. K. and Chivas, A. R., 1990. Oxygen isotope composition of the bone phosphate of Australian kangaroos: Potential as a palaeoenvironmental recorder. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54, 2603–2609.
- Boutton, T. W., 1991. Stable isotope ratios of natural materials; II. Atmospheric, terrestrial, marine, and freshwater environments. In Coleman, D. C., Fry, B., Paul, E. A. and Melillo, J., eds., Carbon Isotope Techniques (Isotopic Techniques in Plant, Soil, and Aquatic Biology), 173–185. Academic Press, San Diego.
- Bryan, D. J. and Froelich, P. N., 1995. A model of oxygen isotope fractionation in body water of large mammals. *Geochica et Cosmoshimica Acta*, 59, 21, 4523–4537.
- Cerling, T. E. and Harris, J. M., 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia*, **120**, 347–363.
- Cerling, T. E., Harris, J. M., Leakey, M. G. and Mudida, N., 2003. Stable Isotope Ecology of Northern Kenya, with Emphasis on the Turkana Basin. *In* Leakey, M. G. and Harris, J. M., *eds., Lothagam: The Dawn of Humanity in Eastern Africa*, 583–603. Columbia University Press, New York.
- Cerling, T. E., Harris, J. M., M., MacFadden, B. J., Leakey, M. G., Quade, J., Eisenmann, V. and Ehleringer, J. R., 1997. Global vegetation change through the Miocene / Pliocene boundary. *Nature*, 389, 153–158.

- Cerling, T. E., Wang, Y. and Quade, J., 1993. Expansion of C4 ecosystem as an indicator of global ecological change in the Late Miocene. *Nature*, 361, 344–345.
- Clarke, A. and Rothery, P., 2008. Scaling of body temperature in mammals and birds. *Functional Ecology*, **22**, 58–67.
- Clementz, M. T., Halroyd, P. A., and Koch, P. L., 2008. Identifying aquatic habitats of herbivorous mammals through stable isotope analysis. *Palaios*, 23, 574–585.
- Clementz, M. T. and Koch, P. L., 2001. Differentiating aquatic mammal habitat and foraging ecology with stable isotopes in tooth enamel. *Oecologia*, **129**, 461–472.
- Coplen, T. B., Brand, W. A., Gehre, M., Gröning, M., Meijer, A. J., Toman, B. and Verkouteren, R. M., 2006. New Guidelines for δ¹³C Measurements. *Analytical chemistry*, **78**, 2439–2441.
- DeNiro, M. J. and Epstein, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42, 495–506.
- Ehleringer, J. R., Sage, R. F., Flanagan, L. B. and Percy, R. W., 1991. Climate Change and the Evolution of C₄ Photosynthesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 6, 95–99.
- Fry, B. and Sherr, E. B., 1984. δ¹³C measurements as indicators of carbon flow on marine and freshwater ecosystem. *Contributions in Marine Science*, **27**, 13–47.
- Garvie-Lok, S. J., Varney, T. L., and Katzenberg, A. M., 2004. Preparation of bone carbonate for stable isotope analysis: the effects of treatment time and acid concentration. *Journal of Archaeological Science*, **31**, 763–776.
- Hoefs, J., 2009. *Stable Isotope Geochemistry*. 288p., Springer, Berlin Heidelberg.
- Hui, C., 1981. Seawater consumption and water flux in the common Delphinus delphis. Physical Zoology, 54, 430–440.
- 石垣長健・新里孝和・安里練雄・新本光孝・呉 立潮, 2007a. 西 表島における森林植物とイノシシ猟について. 九州森林研究, 60, 51-54.
- 石垣長健・新里孝和・新本光孝・呉 立潮, 2007b. 西表島におけ るリュウキュウイノシシの餌植物と解体利用. 琉球大学農学部学 術報告, 54, 23-27.
- Kelly, J.F., 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology*, 78, 1–27.
- 気象庁,気象統計情報,過去の気象データ検索. http://www.data. jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php 2012年9月閲覧
- 小林 均・河合伸太郎・劉 衛・森泉 純・山澤弘美・飯田孝夫, 2006. 炭素同位体を用いた山地森林キャノピー内二酸化炭素輸 送の研究. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書. 17, 149–154.
- Koch, P. L., 1998. Isotopic reconstruction of past continental environments, *Annual review of earth and planetary sciences*, **26**, 573–613.
- Koch, P. L., 2007. Isotopic study of the biology of modern and fossil vertebrates. In Michener, R. and Lajtha, K., eds., Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science. Blackwell, Oxford. 99–154.
- Koch, P. L., Tuross, N. and Fogel, M. L., 1997. The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbonate in biogenic hydroxyapatite, *Journal of Archaeological Science*, 24, 417–429.
- Kohn, M. J., 1996. Predicting animal δ¹⁸O: Accounting for diet and physiological adaptation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **60**, 4811–4829.
- Kohn, M. J., and Cerling, T. E., 2002. Stable isotope compositions of biological apatite. In Kohn, M. J., Rakovan, J. and Hughes, J. M., eds., Phosphates, Geochemical, Geobiological and Materials Importance, Reviews in Mineralogy and Geochemistry Volume 48, 455–488. Mineralogical Society of America, Chantilly.
- Kondo, M., Muraoka, H., Uchida, M., Yazaki, Y, and Koizumi, H., 2005. Refixation of respired CO₂ by understory vegetation in a

cool-temperature deciduous forest in Japan. Agricultural and Forest Meteorology, 134, 110-121.

- 小西健二・高柳洋吉,1969.コロキアム:化石硬組織内の同位体. 化石,増刊号,67.
- Krueger, H. W. and Sullivan C. H., 1984. Models for carbon isotope fractionation between diet and bone. In Judith R. Turnlund, J. R. and Johnson, P. E., eds., Stable Isotopes in Nutrition: Based on a Symposium Sponsored by the Division of Agricultural and Food Chemistry at the 186th Meeting of the American Chemical Society, 205-222. American Chemical Society, Washington, D. C.
- LaPorte, D. F., Holmden, C., Patterson, W. P., Prokopiuk, T. and Eglington, B. M., 2008. Oxygen isotope analysis of phosphate: Improved precision using TC/EA CF-IRMS. *Journal of Mass* Spectrometry, 44, 879–890.
- Lee-Thorp, J.A., 2000. Preservation of biogenic carbon isotopic signals in Plio-Pleistocene bone and tooth mineral. *In* Ambrose, S. H. and Katzenberg, M. A., *eds., Biochemical Approaches to Paleodietary Analysis*, 89–115. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York.
- Lee-Thorp, J. A., van der Merwe, N. J. and Brain, C. K., 1989. Isotopic evidence for dietary differences between two extinct baboon species from Swartkrans. *Journal of Human Evolution*, 18, 183–190.
- LeGeros, R. Z., Trautz, O. R., Klein, E. and LeGeros, J. P., 1969. Two types of carbonate substitution in the apatite structure. *Experientia*, 25, 5–7.
- Levin, N. E., Cerling T. E., Passy, B. H., Harris, J. M. and Ehleringer, J. R., 2006. A stable isotope aridity index for terrestrial environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 25, 11201–11205.
- Liu, A. G. S. C., Seiffert, E. R. and Simons, E. L., 2008. Stable isotope evidence for an amphibious phase in early proboscidean evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 5786–5791.
- Luz, B. and Kolodny, Y., 1985. Oxygen isotope variations in phosphate of biogenic apatites, IV. Mammal teeth and bones. *Earth and Planetary Science letters*, **75**, 29–36.
- MacFadden, B. J., Solonias, N. and Cerling, T. E., 1999. Ancient Diets, Ecology, and Extinction of 5-Million-Year-old Horses from Florida. *Science*, 283, 824–827.
- Miyaji, T., Tanabe, K. and Schöne R. B., 2007. Environmental controls on daily shell growth of Phacosoma japonicum (Bivalvia: Veneridae) from Japan. *Marine Ecology Progress Series*, **336**, 141–150.
- 長野県森林づくり推進課,2009.特定鳥獣保護管理計画(イノシ シ).22p.,長野県林務部 森林づくり推進課野生鳥獣対策室.
- Nanci, A., 2007. Enamel: Composition, formation, and structure. In Nanci, A., ed., Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure, and Function 7th Edition, 141–190. Mosby, Philadelphia.
- Nelson, B. K., DeNiro, M. J., Schoeninger, M. J., DePaolo, D. J. and Hare, P. E., 1986. Effects of diagenesis on strontium, carbon, nitrogen and oxygen concentration and isotopic composition of bone. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **50**, 1941–1949.
- Newsome, S. D., Clementz, T. C. and Koch, P. L., 2010. Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Marine Mammal Science*, 26, 509–572.
- Ohdachi, S. D., Ishibashi, Y., Iwase, M. A. and Saito, T., 2009. *The Wild Mammals of Japan.* 544p., Shoukadoh, Kyoto.
- O'Leary, M. J., 1988. Carbon isotopes in photosynthesis. *BioScience*, **38**, 328–336.
- Osmond, C. B., Valaane, N, Haslam, S. M., Uotila, P. and Roksandic,

Z., 1981. Comparisons of δ^{13} C values in leaves of aquatic macrophytes from different habitats in Britain and Finland; some implications for photosynthetic processes in aquatic plants. *Oecologia*, **50**, 117–124.

- Rey, C., Renugopalakrishnan, V., Shimizu, M., Collins, B., and Giimcher, M. J., 1991. A resolution-enhanced fourier transform infrared spectroscopic study of the environment of the CO₃²⁻ ion in the mineral phase of enamel during its formation and maturation. *Calcified Tissue International*, **49**, 259–268.
- 酒井 均・松久幸敬, 1996. 安定同位体地球化学. 403p., 東京大 学出版, 東京.
- Schoeninger, M. J., DeNiro, M. J., 1982. Carbon isotope ratios of apatite from bone cannot be used to reconstruct diets of animals. *Nature*, 297, 577–578.
- Sharp, Z. D. and Cerling, T. E., 1998. Fossil isotope records seasonal climate and ecology: straight from the horse's mouth. *Geology*, 26, 219–222.
- Schmid, T. W., Radke, J and Bernascorni, S. M., 2012. Clumped-Isotope Measurements on Small Carbonate Samples with a Kiel IV Carbonate Device and a MAT 253 Mass Spectrometer. *Thermo Fisher Scientific Application Note 30233*. https://static. thermoscientific.com/images/D20658~.pdf.
- Schulze, E.-D., Ellis, R., Schulze, W. and Trimborn, P., 1996. Diversity, metabolic types and δ^{13} C carbon isotope ratios in the grass flora of Namibia in relation to growth form, precipitation and habitat conditions. *Oecologia*, **106**, 352–369.
- Sullivan, C. H. and Krueger, H. W., 1981. Carbon isotope analysis of separate chemical phases in modern and fossil bone. *Nature*, 292, 333–335.
- Tieszen, L. L., Senyimba, M. M., Imbamba, S. K., Troughton, J. H., 1979. The distribution of C₃ and C₄ grasses and carbon isotope discrimination along an altitudinal and moisture gradient in Kenya. *Oecologia*, **37**, 337–350.
- Uno, H., 2011. Evaluation of diagenetic effect using fourier transform infrared spectroscopy: Possibility of application to enamel of Cretaceous marine reptiles. *Paleontological Research*, **15**, 106–111.
- van der Merwe, N. J., 1982. Carbon isototopes, photosynthesis, and archaeology. *American Scientist*, **70**, 596–606.
- van der Merwe, N. J. and Medina, E., 1989. Photosynthesis and ¹³C/¹²C ratios in Amazonian rain forest. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **53**, 1091–1094.
- Vogel, J. C. and van der Merwe, N. J., 1977. Isotopic evidence for early maize cultivation in New York. *American Antiquity*, **42**, 238–242.
- Watanabe, T., Suzuki, A., Minobe, A., Kawashima, T., Kameo, K., Minoshima, K., Aguilar, M. Y., Wani, R., Kawahata, H., Sowa, K., Nagai, T. and Kase, T., 2010. Permanent El Niño during the Pliocene warm period not supported by coral evidence. *Nature*, 471, 209–211.
- Yakir, D., 1992. Variations in the natural abundance of oxygen-18 and deuterium in plant carbohydrates. *Plant, Cell and Environment*, 15, 1005–1020.
- 米田 穣・吉田邦夫・吉永 篤・森田昌敏・赤沢 威, 1996. 長 野県出土人骨試料における炭素・窒素安定同位体比および微量元 素に基づく古食性の復元. 第四紀研究, **35**, 293–303.

(2012年9月5日受付, 2013年6月17日受理)