

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



David Dostál

Trofická struktura společenstev ryb v antropogenně ovlivněných řekách
Fish community trophic structure in anthropogenically perturbed rivers

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Petra Horká, Ph.D.

Praha, 2019

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem zadanou práci vypracoval samostatně pouze s použitím dostupných pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Tato práce ani žádná její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 11. 8. 2019

.....
David Dostál

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval své školitelce RNDr. Petře Horké Ph.D. za její důvěru, se kterou mi svěřila na vypracování tuto práci. Také jí děkuji za neskonalou toleranci, trpělivost a velkorysost. Poděkování patří i rodině a přátelům za podporu a motivaci při studiu. Nakonec děkuji Renatě Remiášové za její skvělý mentální koučink a nikdy nekončící optimismus.

Abstrakt

Využití stabilních izotopů pro hodnocení trofické struktury společenstev nabývá v posledních dekádách na popularitě a stává se tak stále více používaným nástrojem užívaným k výzkumu trofických pozic a potravních nik. V této práci jsou shrnuty základní principy, které se při práci se stabilními izotopy využívají, představeny mechanismy výměny tkání, izotopového routingu a diskriminačního faktoru, jejichž zanedbání může vést až ke znehodnocení nabytých poznatků. Dále jsou v práci představeny základní metody využití stabilních izotopů, jejich výhody a nevýhody, matematické modely zpracování dat a jejich uvedení do praxe pomocí praktické části, ve kterém bylo zkoumáno trofické postavení a niky kaprovitých ryb v antropogenně ovlivněných řekách.

Klíčová slova: Stabilní izotopy, trofická pozice, izotopová nika, ryby, kaprovité ryby, řeky

Abstract

Stable isotopes provides powerfull tools that are, now more than ever, used for estimation of trophic structures, food webs and isotopic niches. Basic principles, such as isotopic routing, discrimination factor and tissue turnover rates, whose misunderstanding can lead to biased results, are summarized in this bachelor thesis together with basic methods and mathematical models used for computing niches. They were practically used to evaluate trophic position and trophic niche width of fishes in anthropogenically impacted rivers.

Keywords: Stable isotopes, trophic position, izotopic niches, fishes, cyprinids, rivers

Obsah

Úvod	6
1 Stabilní izotopy	Chyba! Záložka není definována.
1.1 Izotopy a metody měření	7
1.2 Cirkulace izotopů v biosféře	10
2 Využití stabilních izotopů v potravní ekologii, aplikace	12
2.1 Zjištění potravních zdrojů	12
2.2 Izotopová nika	14
3 Antropogenní ovlivnění tekoucích vod	15
4 Metodika	18
4.1 Odlov ryb a zpracování v laboratoři	18
4.2 Statistické zpracování	18
5 Výsledky	19
5.1 Labe – Štětí, srpen 2015	19
5.2 Vltava – Štěchovice, srpen 2016	20
5.3 Sázava – Pikovice, červen 2016	21
5.4 Sázava – Pikovice, srpen 2016	23
6 Diskuze	25
7 Závěr	27
8 Zdroje literatury	28

Úvod

Využití stabilních izotopů v potravní ekologii umožňuje poznat trofické pozice jednotlivých druhů, ale i vztahy na mezidruhové úrovni (Jackson, 2013). Tato práce se zabývá aplikací stabilních izotopů při analýze trofických vztahů společenstev ryb v antropogenně ovlivněných řekách. Narozdíl od tradiční metody analyzování nestrávených zbytků v zaživačích ústrojích ryb (GCA – *gut content analysis*) nám analýza pomocí stabilních izotopů (SIA – *stable isotope analysis*) nabízí lépe interpretovatelnou, potenciálně nedestruktivní a časově efektivnější metodu. Využití SIA s sebou však nese i nevýhody, například nejednotné metodické postupy a špatnou interpretaci výstupů díky zanedbání dalších biologických faktorů, což v podstatě znemožňuje porovnání výsledků od různých autorů (Buitton & Busst, 2018; Layman et al., 2012). Mezi cíle této práce patří představení stabilních izotopů, především stabilních izotopů uhlíku a dusíku, jejich potenciálního využití a vyhodnocení trofických nik u vybraných druhů ryb.

1 Stabilní izotopy

1.1 Stabilní izotopy a metody měření

Soubory atomů mající stejné protonové, neutronové a nukleonové číslo označujeme jako nuklidy. Samotné chemické prvky se shodují v počtu protonů, jež určují jejich umístění v Mendělejevově tabulce prvků, ale liší se v množství neutronů obsažených v jádře (změna nukleonového čísla). Takto odlišné nuklidy náležející stejnému prvku označujeme jako izotopy, respektive izotopické nuklidy (West et al., 2006). Prvky se v přírodě vyskytují jako směs izotopů (nejběžněji 1 - 4). Různé množství neutronů způsobuje často labilitu jádra atomu, která vede k samovolnému radioaktivnímu rozpadu. Některé izotopy však tomuto rozpadu nepodléhají, a proto jsou označovány jako stabilní (DeNiro & Epstein, 1978). Tato stabilita se určuje pomocí tzv. poločasu rozpadu, který je delší než 10^{18} let, a množstvím stabilních izotopových nuklidů, lépe řečeno jejich poměrem. Ten však již od dob Velkého třesku, resp. formování planety Země, zůstává z celkového pohledu neměnný (West et al., 2006).

Izotopy jsou částice s unikátní atomovou hmotností. To je způsobené tím, že mají stejné množství protonů a elektronů, ale jiné množství neutronů. Stabilní izotopy jsou však pouze ty, které nepodléhají radioaktivnímu rozpadu (West et al., 2006). Díky tomu, že se stabilní izotopy nerozpadají, jsou jejich vzájemné poměry z globálního hlediska neměnné. U izotopů uhlíku a dusíku, kterým se věnuje tato práce, ale i u dalších prvků, jako je síra, kyslík a vodík, převažují lehčí izotopy nad těmi těžšími (de Niro & Epstein, 1978). Pro stabilní izotopy uhlíku, tj. izotopy ^{12}C a ^{13}C , je průměrné zastoupení 98,894 % pro ^{12}C a 1,106 % pro ^{13}C . U dusíku lehčí izotop ^{14}N zabírá 99,634 % a těžší 0,366 %. Poměry stabilních izotopů se v jednotlivých organismech, narozdíl z globálního pohledu, značně liší, čehož začala v sedmdesátých letech dvacátého století využívat potravní ekologie (de Niro & Epstein, 1978; Minagawa & Wada, 1984), jež předpokládá, že poměr izotopů v tělech konzumentů je ovlivněn poměry organismů jimi pozřené potravy (de Niro & Epstein, 1978), tj. že těla konzumentů inkorporují stabilní izotopy z potravy do svých tkání. K tomu je ale zapotřebí přesné měření poměrů izotopů, respektive měřící metoda schopná dané poměry změřit (de Niro & Epstein, 1978; Fry, 2006). Tuto metodu představuje hmotnostní spektroskopie.

Hmotnostní spektroskopie, také označována jako *isotope-mass ratio spectrometry* (IRMS), je metoda umožňující analyzování poměrů stabilních izotopů, lépe řečeno jejich

separaci a následnou kvantifikaci. Vzorek obsahující všechny možné látky je nutné nejdříve převést do plynného skupenství (Pella & Colombo, 1973; Hayes, 2002). Při SIA se nejčastěji pracuje s uhlíkem a dusíkem, které jsou převedeny na CO₂, respektive N₂. Po zplynování jsou částice CO₂ (N₂) ionizovány proudem elektronů, urychleny ve vakuové trubici a následně procházejí elektromagnetickým polem indukovaným elektromagnetem, jehož pole zakříví jejich dráhy (díky rozdílné hmotnosti), a tím dojde k rozdělení jednotlivých izotopů. Na konci trubice se nachází terč, kde dochází k automatizovanému počítání. Díky zvládnuté technologii je možné různé izotopy spolehlivě rozlišit s velmi vysokou přesností, což dává velmi přesný výsledný poměr izotopů (McKinney et al., 1950; Hayes, 2002). Aby bylo možné poměry izotopů vyhodnocovat a pracovat s nimi, vznikla zde nutnost unifikovat jejich zápis. Tento poměr tedy vztahujeme ke standardům (viz tabulka 1), respektive k rozdílu mezi vzorkem a standardem. Ten je vyjádřen za pomoci písmena δ (delta).

Pro výpočet δ využíváme rovnici:

$$\delta^{\text{HX}} = [(R_{\text{VZOREK}})/(R_{\text{STANDARD}}) - 1] * 1000; \quad (1)$$

kdy H index těžkého izotopu (C₁₃, N₁₅), X je daný prvek (C, N) a R je poměr těžšího a lehčího izotopu (O'Leary, 1988).

Za povšimnutí stojí, že delta je vyjadřována jako promile, ne procenta, a může dosáhnout kladných i záporných hodnot. Tyto hodnoty se nejčastěji vyskytují v rozmezí -100 až 100 ‰. Kladné hodnoty δ znamenají, že vzorek obsahuje více těžšího izotopu vůči standardu (ten označujeme jako obohacený – *enriched*), zatímco záporné hodnoty ukazují, že je vzorek o těžší izotopy ochuzen (*depleted*; Fry, 2006). Každý prvek má svůj vlastní, mezinárodně uznávaný standard, který je možné získat z IAEA (International Atomic Energy Agency) a využít ho ke kalibraci vlastních měřících přístrojů. Pro uhlík se jako standard používá Pee Dee Belemnite (PDB), neboli fosilní schránka vyhynulého hlavonožce *Belemnitella americana* z křídové formace Peedee v Jižní Karolíně. U dusíku je jako standard stanoven atmosférický vzduch, pro kyslík s vodíkem standardizovaná oceánská voda (SMOW – Standard Mean Ocean Water) a pro izotopy síry minerál troilit (konkrétně troilit z meteoritů nalezených v Ďáblově Kaňonu, CDT – Canyon Diablo Troilite) (West et al., 2006).

Prvek (standard)	Izotop	Zastoupení (v %)
Uhlík (PDB*)	¹² C	98,8944
	¹³ C	1,1056
Dusík (atmosférický vzduch)	¹⁴ N	99,6337
	¹⁵ N	0,3663
Kyslík (SMOW**)	¹⁶ O	99,759
	¹⁷ O	0,037
	¹⁸ O	0,204
Vodík (SMOW**)	¹ H	99,985
	² H	0,015
Síra (CDT***)	³² S	95,00
	³³ S	0,76
	³⁴ S	4,22
	³⁵ S	0,014

Obr. 1 – Průměrné zastoupení izotopů uhlíku a dusíku. Zpracováno dle West et al. (2006). *PDB (PeeDeeBelemnite) – standard z fosilních nálezů Belemnita amerického (*Belemnitella americana*) z formace Peedee v Jižní Karolíně. **SMOW (Standard Mean Ocean Water) – standardizovaná oceánská voda. ***CDT (Canyon Devil Troilite) – minerál sulfidu železnatého (troilitu) z nálezů v lokalitě Devil Canyon.

Při studiu potravní biologie se jako nejvhodnější k využití jeví prvky dusíku a uhlíku. Stabilní izotopy dusíku, respektive poměr izotopu ¹⁵N a ¹⁴N dává informaci o trofické úrovni konzumenta, tj. jeho trofické postavení. Izotopy uhlíku zase informují o složení potravy konzumenta podle nepsaného pravidla „Jsi to, co jíš.“ (de Niro & Epstein, 1978). Síru a její izotopy využijí především biochemikové sledující „uptake“ izotopů síry různými makrofyty a geochemikové datující sedimenty nejen na dně oceánů (Holmer, 2019; Rickard, 2012), případně může být využita v potravní ekologii jako tracer organické hmoty putující mezi oceánem a pevninou (Connolly et al, 2003). Kyslík, respektive jeho izotopy, má své uplatnění především v geologii, kde je dle poměrů ¹⁸O a ¹⁶O možné zjistit „paleoteplotu“ dané oblasti (Anderson & Arthur, 1983).

1.2 Cirkulace izotopů v biosféře

Jak je uvedeno výše, stabilní izotopy lze použít k výzkumu potravních vztahů v ekosystémech. Rozložení izotopových poměrů v přírodě je dáno několika mechanismy a k nim přidruženými pravidly. Za hlavní dva mechanismy jsou považovány mísení a frakcionace.

Mísení a frakcionaci izotopů lze chápat jako smíšení a rozdělení těžších a lehčích izotopů, které probíhá na základě odlišných vlastností izotopů. Těžší izotopy obecně váží více, tudíž při chemických reakcích jsou nuceni překonat vyšší energetickou bariéru, a reakce s nimi jsou díky tomu pomalejší. Díky této selekci dochází k nerovnováze poměrů izotopů v substrátu a produktu, čímž vzniká obohacení, respektive ochuzení tkání konzumentů o izotopy (Fry, 2006). Tato nerovnováha vzniká pomocí frakcionace při různých biochemických procesech, kterými jsou například respirace, zabudování izotopů z potravy do tkání či vylučování. Mísení naopak slouží ke komplexnější analýze potravních zdrojů, tj. kdy konzument využívá více potravních zdrojů s různými izotopovými poměry – izotopy se v těle smísí, a vznikne tak kombinovaná izotopová stopa, se kterou lze dále velmi přesně pracovat a tyto zdroje zpětně zjistit. Isotopic routing vysvětluje, jak se prvky nerovnoměrně inkorporují do tkání konzumenta, tj. různé tkáně se liší hodnotou stabilních izotopů podle toho, jaké složky potravy byly využity k jejich syntéze (Kelly & Martínez del Rio, 2010). Toho je možné docílit, aniž by byla využita analýza nestrávených zbytků v gastrointestiálním traktu, tj. v zažívacím ústrojí (De Niro & Epstein, 1978). Analýza zbytků (GCA – gut content analysis) je schopná poskytnout poměrně přesné informace o složení potravy, vyskytuje se zde však řada nevýhod. GCA poskytuje krátkodobé informace, díky kterým může docházet k velkému zkreslení výsledků z důvodu např. rojení hmyzu nebo kvůli změně v kvalitách vody. Aby k tomuto zkreslení nedocházelo, jsme nuceni GCA provádět na stejném úseku toku po delší časový úsek, je tedy potřeba zabít větší množství ryb (De Niro & Epstein, 1978). Vedle této nutnosti ryby usmrtit (až na možnost výplachu žaludků u určitých čeledí, např. u lososovitých) nám SIA poskytuje alternativní, (ne)destruktivní možnost výzkumu. U kaprovitých ryb, jež jsou hlavní čeledí, kterou se tato práce zabývá, je využití metody GCA značně poměrně složité, předžvýkání pomocí požerákových zubů analýzu značně ztěžuje (rozdrčenou potravu nejsme schopni zařadit do druhu, ale jen do některého z vyšších morfologických celků) (Hayden et al., 2014). Narozdíl od GCA nám SIA umožňuje pohled na dlouhodobější strukturu potravy, nabízí použití nedestruktivních metod (odběry šupin, ploutví), nebo svaloviny (destruktivní metoda). Pro co

nejpřesnější analýzu složení potravy a potravních vztahů je však nejlepší tyto metody kombinovat (Post, 2002). Při kombinaci těchto metod nám GCA identifikuje zdroje potravy, lze ji použít kvalitativně (obsah trávicího traktu více jedinců stejného druhu je velmi často takřka totožný, především u hejnových ryb) a kvantitativně odebrat pouze šupiny/ploutve pro následnou analýzu izotopů (Hayden et al., 2014).

2 Využití stabilních izotopů v potravní ekologii, aplikace

Analýza rozdílných poměrů stabilních izotopů v přírodě nám už od sedmdesátých let minulého století poskytuje úplně nový vhled do fungování ekosystémů, a to i u těch druhů/společenstev, o kterých toho do dnešní doby nebylo mnoho známo, ačkoliv se jedná o zcela běžné druhy živočichů (West et al., 2006). U nás jsou takovými organismy například kaprovité ryby (s výjimkou ekonomicky využívaných druhů jako je Kapr obecný *Cyprinus carpio*, či v poslední době u rybářů stále populárnější Amur bílý *Ctenopharygodon idella*), u nichž, přestože se vyskytují v téměř každém vodním tělese, není známo takřka nic z jejich potravních návyků a interakcí mezi nimi a jim příbuznými druhy.

2.1 Zjištění potravních zdrojů

SIA prostřednictvím využití stabilních izotopů dusíku a uhlíku umožňuje měření relativního zastoupení zdrojů potravy (Caut et al., 2009). Potravní zdroje lze zkoumat dle potřeby až k jednotlivým složkám potravy konzumentů, jako jsou například makrofyta, zooplankton a fytoplankton, bentos, suchozemský a vodní hmyz, ryby nebo drobní obratlovci (Ben-David & Schell, 2001; Berezina et al., 2018; Herlevi et al., 2018). Také je možné objasnit původ potravy a pouze určit, zda se jedná o litorální nebo pelagické, respektive alochtonní nebo autochtonní zdroje (Guo et al., 2014; Berezina et al., 2018; Deng et al., 2019). Pro použití SIA však potřebujeme dané zdroje kvantifikovat, k čemuž je nezbytné znát (alespoň odhadnout) zdroje potravy sledovaného druhu ryby a vědět, jaké množství a do jakých tkání ryba jakožto konzument inkorporuje izotopy (Vanden Zanden & Rasmussen, 1999; Post, 2002; Chen-Hua et al., 2018). Odhad, potažmo znalost, potravních zdrojů ryby je poměrně jednoduchý, poněvadž se dá zjistit pomocí GCA, z literatury, případně sběrem hmyzu, bentosu a planktonu v místě, kde je prováděn odlov ryb (Fry, 2006). Větší potíže přináší zjištění hodnoty inkorporace, respektive diskriminace potravních zdrojů a konzumenta, kdy je při rozsáhlejším výzkumu takřka nemožné určit přesné množství konzumentem inkorporovaných izotopů do tkání, jelikož by bylo nutné analyzovat faktor diskriminace u každého potravního zdroje a každé tkáně konzumenta, což je značně finančně i časově náročné (Caut et al., 2008; Busst et al., 2015; Britton & Busst, 2018). Proto se pro zjednodušení předpokládá, že se diskriminační faktor pro všechny tkáně i potravní zdroje přibližuje hodnotám pro dusík $\delta^{15}\text{N}$: $3.4 \pm 0.98 \%$ a uhlík $\delta^{13}\text{C}$: $0.39 \pm 1.3 \%$; jak uvedli ve svém výzkumu již Minagawa s Wadou (1984) a později i Post et al. (2002). Pokud jsou naplněny tyto požadavky, tak vyvstává další

problém a to, jak po vlastním měření izotopů převést výsledné hodnoty do vhodné podoby. Nejčastěji se u analýzy SIA využívají modely obsažené ve výpočetním modelovacím softwaru SIAR (*stable isotope analysis in R*), respektive jeho aktualizovaná verze SIBER (*Stable Isotopes Bayesian Ellipses in R*) (Jackson et al., 2011; Parnell et al., 2013) fungující díky programovacímu jazyku R a běžící na stejnojmenné platformě (Layman et al., 2012; Jackson et al., 2011). Po zpracování dat ve výše jmenovaných výpočetních softwarech jsou získány množiny bodů (poměry izotopů z těl konzumentů vynesené do grafické podoby), ke kterým můžeme po odečtení diskriminačního faktoru přiřadit daný potravní zdroj. Toto je však možné provést pouze za předpokladu, že konzument využíval jen jeden zdroj potravy, to se ale v přírodě stává zřídka. Proto se v potravní biologii pracuje s tzv. *mixing models*, tedy s modely, jež jsou schopné určit procentuální zastoupení jednotlivých potravních zdrojů (Phillips et al., 2001). V nejjednodušším případě, kdy jsou známy dva zdroje potravy, lze mixing model pro izotopový poměr např. uhlíku vyjádřit pomocí rovnice:

$$d^{13}C_{\text{mix}} = f_1 d^{13}C_1 + f_2 d^{13}C_2, \quad (2)$$

$$f_1 + f_2 = 1; \quad (3)$$

kdy: $d^{13}C_{\text{mix}}$ – hodnota ze tkáně konzumenta

$f_1 d^{13}C_1, f_2 d^{13}C_2$ – hodnoty ze tkání potravy

f_1, f_2 – poměrové zastoupení jednotlivých zdrojů.

Rovnice 2 vyjadřuje hodnotu $\delta^{13}C$ konzumenta jako kombinaci hodnot $\delta^{13}C$ dvou potravních zdrojů, které musejí dát dohromady hodnotu 1 (viz rovnice 3). K získání přesného poměru jednotlivých zdrojů je nicméně nutné vyřešit systém dvou rovnic se dvěma neznámými (f_1 a f_2). Proto je zapotřebí rovnice upravit tak, abychom byli schopni vypočítat poměrové zastoupení jednoho zdroje (rovnice 4). Druhý zdroj dopočítáme tak, že od jedné odečteme získanou hodnotu prvního potravního zdroje, viz rovnice 5.

$$f_1 = \frac{d^{13}C_{\text{mix}} - d^{13}C_2}{d^{13}C_{\text{mix}} - d^{13}C_2} \quad (4)$$

$$f_2 = 1 - f_1 \quad (5)$$

Takovéto modely jsou velmi silným nástrojem k analýze potravních zdrojů. Avšak ani s nimi nelze objasnit tak složité potravní vztahy, které panují v přirozených ekosystémech, v nichž

působí velký počet potenciálních potravních zdrojů. Proto se pracuje s komplikovanějšími modely, jako je izotopová nika a trofická úroveň (Layman et al., 2012; Phillips, 2012; Phillips et al., 2014).

2.2 Izotopová nika

Při analýze velkého množství konzumentů, jejich tkání, zdrojů potravy či při analýze jejich kombinace už jednoduché lineární *mixing models* nestačí, proto je nutné využít složitější koncepty, jež nabízejí podrobné informace nejen o potravních zdrojích, ale i o potravních vztazích celých společenstev, nejčastěji popisujících konkurenci (Post, 2002; Sanders et al., 2015). Izotopová nika je v podstatě trofická (potravní) nika vyjádřena za pomoci hodnot $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$. Ty jsou vyneseny na jednotlivé osy, zpravidla je $\delta^{13}\text{C}$ vyznačena na ose x a $\delta^{15}\text{N}$ na ose y, a ohraničují graf určený k vynášení jednotlivých hodnot (Laymann, 2012). Průsečík vnesených hodnot vytvoří bod, kde každý bod reprezentuje jednoho analyzovaného konzumenta (jedince). Takto zanesené body je zapotřebí dále zpracovat, nejlépe za použití softwaru SIBER (Sander et al., 2015; Jackson et al., 2011). Podle potřeb výzkumu je možné zpracovat data za pomoci několika metod. První možnost představuje takzvaná *total area* (TA), jež vymezí nejmenší možnou plochu vnesených bodů za podmínky, že všechny vnesené body leží uvnitř plochy. Díky zahrnutí všech bodů zde ale vznikají velké odchylky způsobené extrémními, vzdálenými hodnotami, což takřka znemožňuje relevantní využití této metody. Druhá metoda, tzv. *standard ellipse area* (SEA), vyjadřuje izotopovou niku za pomoci elipsy, která nemusí nutně zahrnovat všechny body a při velkém množství jedinců je to velmi spolehlivý nástroj pro vyjádření šířky potravních nik (Newsome et al., 2007). Náchylnost k extrémním bodům není tak velká jako u TA, je zde ovšem možnost zkresleného vnesení plochy elipsy z důvodu malého množství jedinců (pod 10) (Jackson et al. 2011). Aby se zabránilo těmto nepřesnostem, doporučuje se použití tzv. opravené hodnoty SEA, *Standard ellipse area, corrected* (SEAc) (Jackson et al, 2011; Syväranta, 2013). Míra potravní specializace je dána šířkou elipsy (rozpětím hodnot ^{13}C), čím je elipsa širší, tím více má daný druh potravních zdrojů. Obecně lze říci, že generalisté a omnivorní druhy ryb, jako například jelec tloušť *Squalius cephalus*, mají širší izotopovou niku. Pro vyjádření kompetičních vztahů mezi druhy se využívá překryv elips, tzv. *overlap*. Tento překryv je možno nejjednodušeji vypočítat jako procentuální podíl plochy sdílené dvěma či více elipsami a lze jej provést v softwaru SIBER (Jackson et al., 2011). Při 100 % překrytí dochází k absolutní kompetici, tj. dva nebo více druhů využívají úplně stejné zdroje potravy, naopak při nulovém, naopak při nulovém překryvu využívá každý druh jiné potravní zdroje a ke kompetici nedochází vůbec.

Překryvy nik jsou velmi podstatným zdrojem informací v potravní ekologii ryb, díky nim je možné sledovat, jak invazní druhy ovlivňují původní druhy ryb, mění jejich potravní zvyklosti nebo je dokonce vykompetují z jejich přirozeného prostředí (Jackson et al., 2012; Hayden et al., 2014; Gürkan & Özdilek, 2019).

2.3 Trofická úroveň

Se znalostí potravních zdrojů jednotlivých druhů ryb jsme schopni určit jejich pozici v potravním řetězci, přesněji jejich trofickou úroveň v daném ekosystému (Post, 2002; Kaymak et al., 2018; Deng et al., 2019), která je nezbytná k porozumění mezidruhových kompetičních vztahů v tekoucích vodách. Ke stanovení trofické úrovně postačí izotopový poměr dusíku, jelikož u uhlíku existuje větší míra nejistoty díky nejasnějšímu diskriminačnímu faktoru ^{13}C (Busst et al., 2015). Druh, jenž je více obohacen izotopem ^{15}N , se vyskytuje na vyšší trofické úrovni nežli druh méně obohacený (Bearhop et al., 2004). Rozdíl obohacení mezi těmito druhy se rovná diskriminačnímu faktoru ^{15}N (Post, 2002). Potřebné je rovněž stanovení „startovací čáry“, určení izotopové *baseline*, se kterou budeme počítat. Obecně se jako *baseline* doporučuje využít dlouho žijících konzumentů, jako například vodní mlže a plže (Post, 2002), abychom se vyvarovali výkyvům v hodnotách způsobených proměnlivostí prostředí (Vander Zanden & Rasmussen, 1999). Faktor diskriminace ^{15}N je stále podnětem mnoha sporů a nesrovnalostí, poněvadž se jedná o faktor závisející nejen na druhu konzumenta, ale i na použité tkáni (Vander Zanden & Rasmussen, 1999; Newsome et al., 2010). Již Minagawa s Wadou (1984) stanovili faktor diskriminace v rozmezí 3,0–5,1 ‰, pozdější autoři se však přiklánějí k rozmezí 3–4 ‰ (Cabana & Rasmussen, 1996; Post 2002; Sweeting et al., 2006).

Trofická úroveň je vypočítána pomocí rovnice:

$$\text{TP} = (\delta^{15}\text{N}_{\text{fish}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{mussel}}) / 3,4 + \text{baseline trophic position} \quad (6)$$

kdy: TP – trofická pozice, $\delta^{15}\text{N}$ consument – hodnota $\delta^{15}\text{N}$ konzumenta, $\delta^{15}\text{N}$ baseline – hodnota $\delta^{15}\text{N}$ baseline organismů, 3,4 – faktor diskriminace [‰], baseline trophic position – pozice, ze které pochází baseline organismy (1 – primární producenti, 2 – primární konzumenti, 3 – predátoři prvního řádu) (dle Cabana & Rasmussen, 1996; Post et al., 2002).

3 Antropogenní ovlivnění tekoucích vod

Lidé už od pravěku upravovali krajinu k svému obrazu. Nejdříve vypalovali lesy, aby měli kde zasadit zemědělské plodiny, nyní v době po průmyslové revoluci je antropogenní ovlivnění krajiny, a tím i tekoucích vod, tak velké, že ovlivňuje druhovou skladbu společenstev, jejich přežívání, početnost i potravní návyky. V této části popisují nejzásadnější vlivy lidské činnosti na tekoucí vody, a jejich dopad na společenstva vodních živočichů.

Přehrazování toků provádí lidstvo už tisíciletí, nejdříve za účelem chovu ryb, později pro zisk elektrické energie a zadržení vody v krajině. V roce 1996 bylo na Zemi více než 42 000 přehrad (vysokých více než 15 metrů) a minimálně 800 000 menších přehrazení toků. Tato čísla však v sobě nezahrnují přehrady a větší jezy na menších říčkách, Freeman (2003) uvádí, že pouze v USA se jich nachází přibližně 2,5 milionu. Přehradní nádrže přetvořily říční toky v kaskádu rezervoárů propojených pečlivě regulovaným množstvím vodní masy (Freeman, 2003; Dudgeon et al., 2005). Takovéto zásahy mají značný vliv na společenstva živočichů vázaných na tekoucí vody. Nejdříve je nutné konstatovat, že výstavba velké přehrady celkově přetvoří ráz krajiny, původní říční koryto i s původními druhy organismů mizí a vzniká téměř nový ekosystém. Otázkou však je, zda takto vytvořený ekosystém má stejnou hodnotu, především pokud se tento ekosystém využívá k intenzivnímu, až akvakulturnímu chovu ryb (Dudgeon et al., 2005; Cooper et al., 2015). Další problém přehrad představují regulace toku a její využití pro energetické a vodárenské účely. Ta je často provázena výkyvy v průtocích pod přehradou a upouštění spodní či horní vrstvy vody, která má jiné teplotní a kyslíkové charakteristiky. Důsledkem může být např. přísun vody s nízkou teplotou a koncentrací kyslíku, níže ležících částí řeky, zhoršení projevů eutrofizace, ale i například nezamrzání řeky v zimě, kdy jsou ryby vystavovány predáčnímu tlaku rybožravých ptáků. Vypouštění odpadních látek a tepla do toků je dalším významným negativem přehrazování toků. I kdybychom pominuli okamžitou hrozbu chemické katastrofy (únik toxických a zdraví nebezpečných látek), tak i nadále zůstává chemické znečištění jednou z velkých hrozeb pro společenstva ryb tekoucích vod (Dudgeon et al., 2005). Vypouštění odpadního tepla je poněkud neobvyklý pojem spojený s elektrárnami a průmyslovými závody, které vypouští sice nekontaminovanou, avšak i o několik stupňů teplejší vodu zpět do toku, což má za následek nárůst společenstva fytoplanktonu a změnu chování ryb. Vypouštění odpadních látek i tepla není problémem jen přehradních nádrží. Často dochází k výstavbě elektráren a průmyslových závodů strategicky v blízkém sousedství s vodní nádrží, jež je schopna zajistit konstantní přístup vody, jako např.

chladícího média (Gleick & White, 1995). Je zřejmé, že přehradní nádrže přímo ovlivňují říční kontinuum, ovšem odstranění přehradních nádrží je v současnosti aktuální zejména ve vyspělých zemích, kde jsou již v širším povědomí výhody přirozeného stavu toků. Častější je ale situace, kdy je odstranění přehradních nádrží považováno za nežádoucí, lidé si zvykli na jejich výhody, přeměněnou krajinu považují za původní, případně se jedná o historickou, či průmyslově důležitou stavbu (Fox et al., 2016). Při studiu potravní biologie je také podstatné brát v potaz změny chování rybích společenstev, ať už na individuální, tak na druhové úrovni. Změna říčního profilu vede až k lokálnímu vymizení druhů, u nás se to týká především ryb pstruhového a lipanového pásma. Přehrazení toku totiž vede ke změně obsahu kyslíku ve vodě, zpomalení proudu vody a zanesení dna sedimentem (bahnem) znemožňující tření (Freeman, 2003). Zanesení dna sedimenty rovněž způsobuje vymizení potravních zdrojů ryb, bentických organismů žijících v kamenitém dně. Fragmentace řeky též znemožňuje rybám migrovat, ať už jde o migraci diurnální, potravní nebo migraci za účelem tření (Costa et al., 2007; Cooper et al., 2015).

4 Metodika

4.1 Odlov ryb a zpracování v laboratoři

Ve své bakalářské práci jsem statisticky zpracoval hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ a $\delta^{13}\text{C}$, která mi byla poskytnuta mou školitelkou. Jedná se o vyhodnocení složení stabilních izotopů u ryb, které byly odloveny v průběhu roku 2015 a 2016, konkrétně v datech 31. 8. 2015, 30. 9. 2015, 23. 6. 2016 a 26. 8. 2016. Ryby byly roztříděny podle druhů, byla jim změřena standardní (SL, *standard length*, mm) a celková délka těla (TL – *total length*, mm) a stanoveny hodnoty stabilních izotopů ze svaloviny ryb. Z každého jedince byla analyzováno 0,5 mg sušiny a analyzovány pomocí hmotnostního spektrometru (IRMS). Naměřené hodnoty jsem využil ke stanovení trofické niky ryb.

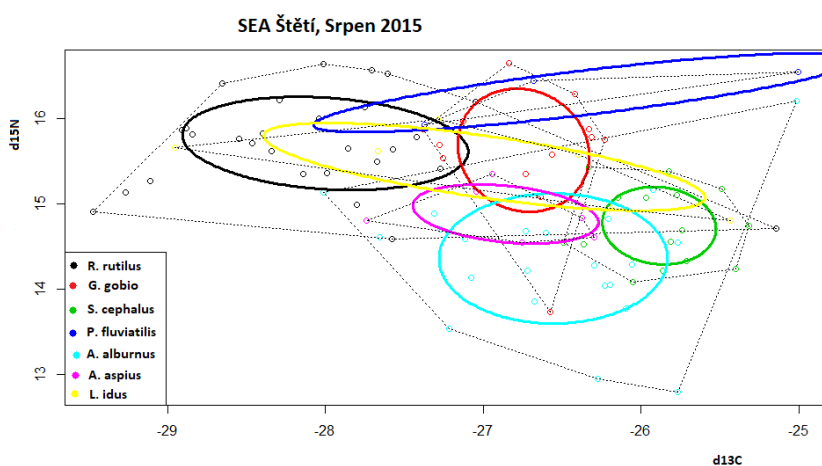
4.2 Statistické zpracování

Statistickému zpracování předcházelo roztřídění dat podle dne odlovu, seřazení dle druhu, přiřazení druhově specifické barvy pro snadnou orientaci v grafech, a správného naformátování dat v databázi. Data jsem pak statisticky vyhodnotil v programu R (www.r-project.org). Jako software byl zvolen balík SIBER (*Stable Isotopes Bayesian Ellipses in R*; www.cran.r-project.org/package=SIBER) (Jackson et al., 2011), pro modelaci izotopových nik zvoleny standardní elipsy (SEA), celková plocha (*total area*, TA). K modelování trofických úrovní byly využity Bayesian density Plots s následnou kontrolou remodelací grafů ze softwaru `tRophicPosition` (Quezada-Romegialli et al., 2018).

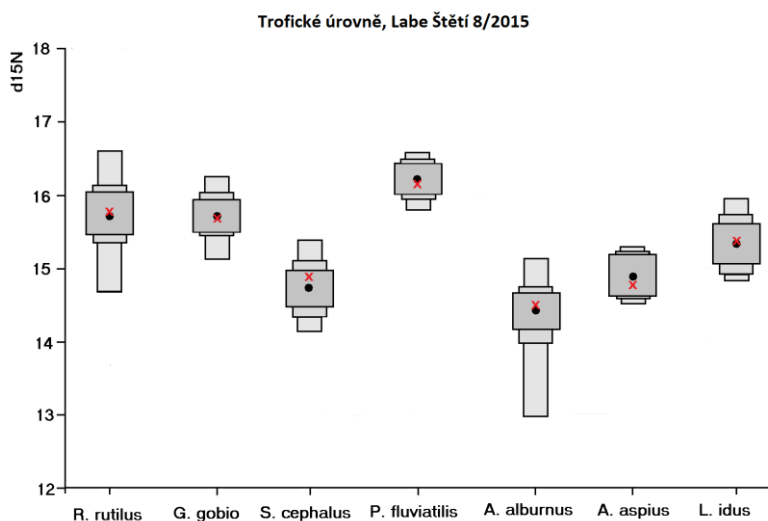
5 Výsledky

Celkový počet vzorků byl 36, jedná se o 13 druhů ryb a plůdek. Nejvíce zastoupenými druhy byla plotice obecná *Rutilus rutilus*, okoun říční *Perca fluviatilis*, jelec tloušť *Squalius cephalus*, jelec jesen *Leuciscus idus* a ouklej obecná *Alburnus alburnus*. Celkem byly zkoumány čtyři lokality, z toho byla opakovaně navštěvována lokalita Pikovice, kde byl proveden odlov ve dvou termínech. Jednalo se zejména o juvenilní jedince, průměrná délka ryb (SL) napříč druhy byla 83 ± 7 mm.

5.1 Lokalita Labe – Štětí, srpen 2015



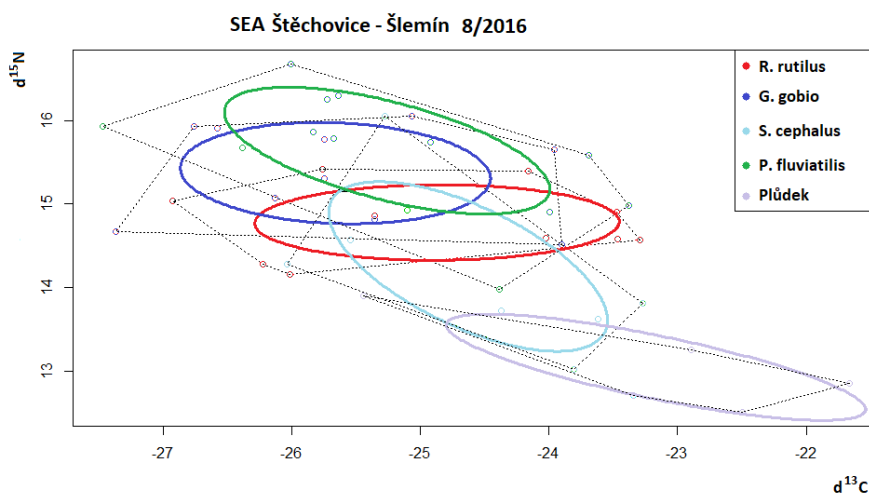
Obr. 2 – Standardní elipsy druhů ryb odlovených v řece Labi (lokalita Štětí) v srpnu 2015



Obr. 3 – Trofické úrovně druhů ryb odlovených v Labi (lokalita Štětí) v srpnu 2015

V této lokalitě, která se nachází na řece Labe, byly odloveno 126 jedinců 7 druhů ryb. Kromě ryb z řádu Cyprinidae zde byli odloveni i zástupci rodu Percidae, přesněji okoun říční, *P. fluviatilis*. Lze říci, že dominantní postavení měl okoun, kdy jeho hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ byly vyšší než 16 ‰ a šířka jeho niky byla více než 3 ‰ $\delta^{13}\text{C}$ (-25 ‰ až 28 ‰). U kaprovitých ryb byla se mimo trofické pozice ostatních ryb vyskytovala plotice obecná, *R. rutilus*, která jakožto velmi plastický druh nevyhledávající specifickou potravu zaujala niku, jež nebyla v podstatě obsazena ostatními druhy, jedinci však byli roztroušeni po celé nuce. Jediným konkurentem totiž byl jelec jesen, *L. idus*, který však v těchto velikostech (méně než 10 cm) zaměřuje zejména na zooplankton stejně jako některé juvenilní plotice, sběr hmyzu není příliš obvyklý. Bolen dravý, *A. aspius*, je naproti tomu schopný i v těchto velikostech lovit hmyz a případně plůdek, což reflektuje jeho postavení v grafu, kdy se nenachází na takové trofické úrovni jako okoun, ale kvalitou tkáně (určená pomocí obsahu $\delta^{13}\text{C}$) se mu vyrovnává. U ouklejí, *A. alburnus*, lze vidět jejich hejnové chování, kdy má většina ouklejí obdobnou hodnotu jak $\delta^{13}\text{C}$, tak i trofickou úroveň. Hrouzek obecný, *G. gobio* je konzumentem bentosu, přesto se jeho potravní nika z části shoduje i s dravými druhy ryb a je na vyšší trofické úrovni. To může souviset s jeho velikostí, kdy při přibližně 8 cm délky může jednat o dospělce. Jeho nika se s nikami ostatních druhů ryb překrývá v 83%.

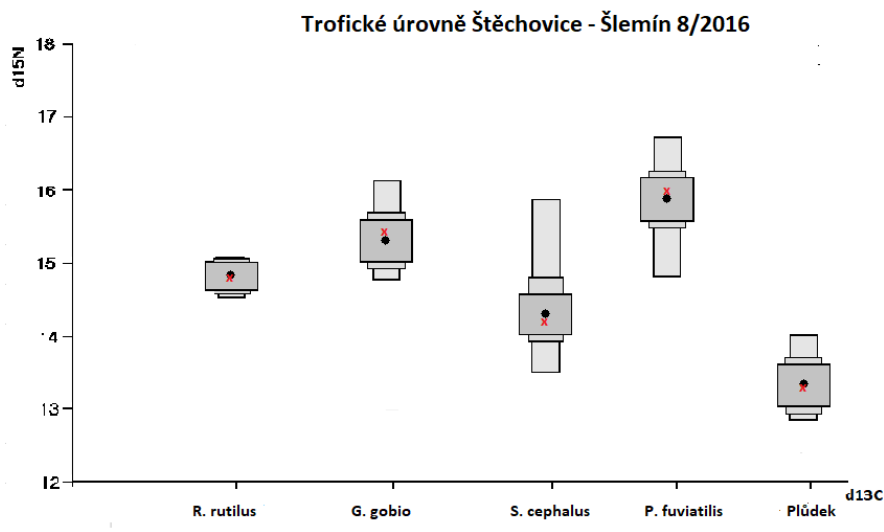
5.2 Vltava – Štěchovice, srpen 2016



Obr. 4 – Standardní elipsy vzorků odlovených ve Vltavě, v lokalitě Šlemín v srpnu 2016

Ve Štěchovicích na řece Vltava bylo zkoumáno celkem 45 jedinců 5 druhů ryb. Znovu zde byl odloven okoun říční, který se nacházel na nejvyšší trofické úrovni. Překryvy elips však ukazují, že docházelo ke kompetici s hrouzkem, tlušťem a částečně i s ploticí. Plotice překvapivě není

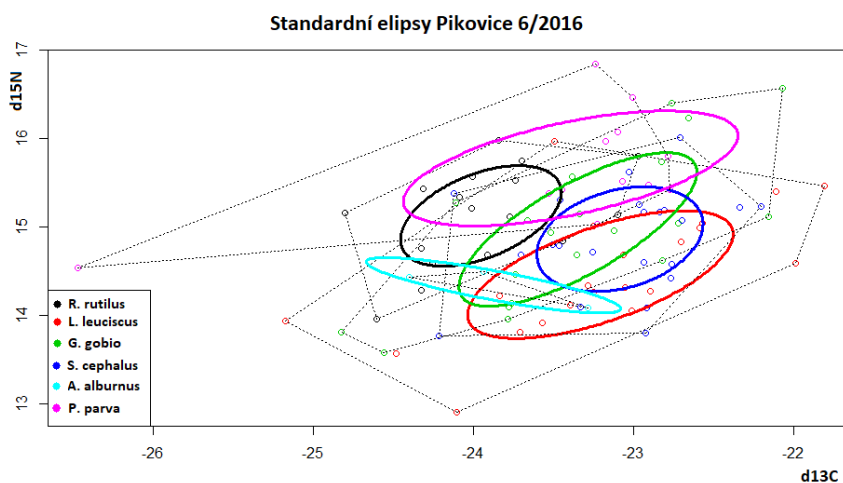
mimo niky ostatních, paradoxně soupeří o zdroje se všemi druhy zkoumaných ryb, překryv její niky s ostatními je 78 %, a je tedy silným konkurentem ostatních druhů ryb.



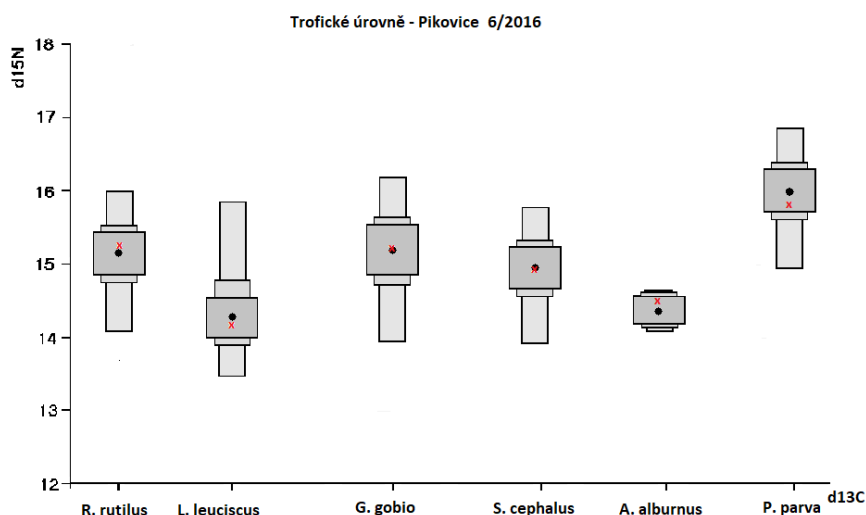
Obr. 5 – Trofické úrovně vzorků odlovených ve Štěchovicích – Šlemíně v srpnu 2016

Podobně jako u předchozí lokality se i u této hrouzek nachází na vyšší trofické úrovni.. Je možné, že to je způsobeno konzumací detritu, který nachází na dně toku. V této lokalitě byl odloven i plůdek, jenž je zajímavým dodatkem k tomuto výzkumu. Ukázalo se totiž, že ryby svůj plůdek „vybaví“ nejlepšími živinami, co mají.

5.3 Sázava – lokalita Pikovice, červen 2016



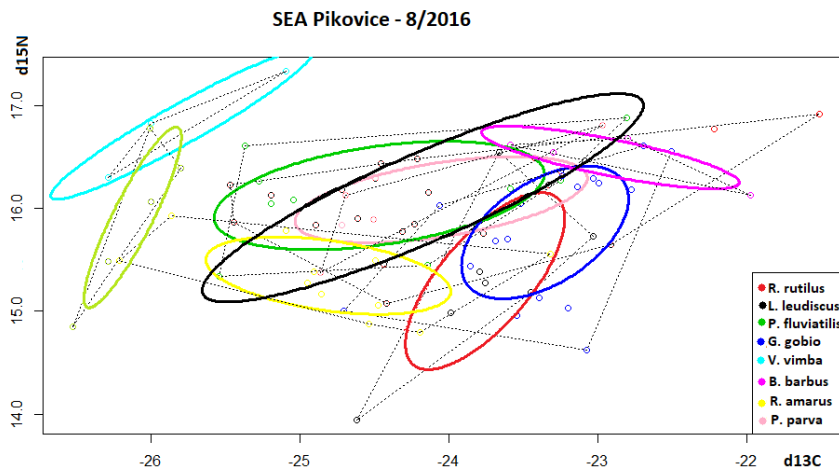
Obr. 6 – Standardní elipsy druhů ryb odlovených na Sázavě v Pikovicích v červnu 2016



Obr. 7 – Trofické úrovně zkoumaných ryb na lokalitě Pikovice v červnu 2016

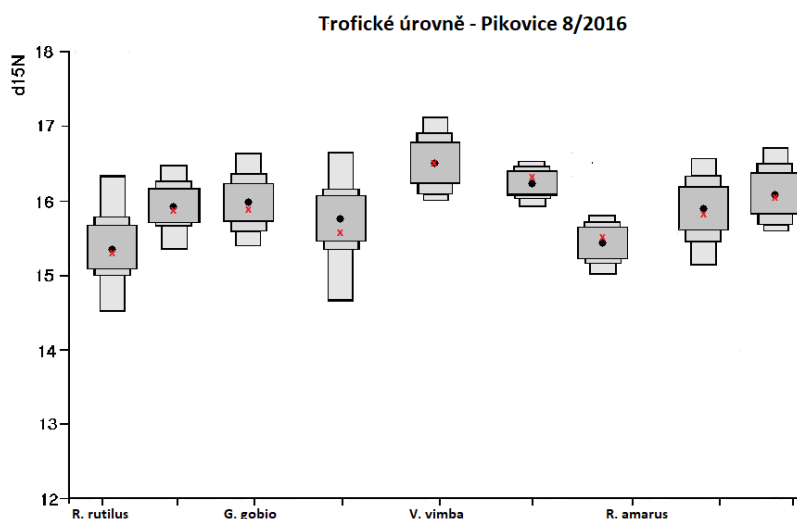
Lokalita Pikovice, ležící na řece Sázava, by měla reprezentovat člověkem méně ovlivněný říční tok. Celkem zde bylo zkoumáno 6 druhů ryb, celkem 98 jedinců. Ve vzorku se objevila invazní střevlička východní, *Pseudorasbora parva*, která k nám invaduje z východní Evropy. Střevlička východní, dle grafu vykazuje vlastnosti typické pro invazivní druh, tedy velmi široká nika, z hlediska $\delta^{13}\text{C}$, přičemž představuje nejvyšší trofickou úroveň daného společenstva. Střevlička zasahuje i do jinak téměř neobsazené niky plotice. Hrouzek zaujímá niku, jež je z více než 90% obsazena i ostatními druhy, pravděpodobně převládají druhy potravy získané z bentosu. Hrouzek je však velmi specializovaný, vyhledává jím preferovanou potravu, která se může lišit mezi jedinci. Oklejšek je i v této lokalitě na nejnižší trofické úrovni, potvrzuje trend hejnové ryby (jedinci mají podobné zdroje potravy), ačkoli zde má poněkud širší rozpětí $\delta^{13}\text{C}$ než v jiných lokalitách, což ale může být způsobeno menším počtem vzorků.

5.4 Sázava – Pikovice, srpen 2016



Obr. 8 – Standardní elipsy vzorků odlovených na Sázavě v Pikovicích v srpnu 2016

Poslední výzkumná lokalita je totožná s předešlou, další odlov byl prováděn o dva měsíce později. Celkem bylo odloveno 9 druhů ryb, s počtem 83 jedinců. Vzorek opět obsahoval střevličku východní, která zaujala nejvíce vytěžovanou niku, překryv s nikami ostatních druhů byl 99 %. To poukazuje na schopnost střevličky vměstnat se i do jinak obsazeného ekosystému a úspěšně využívat dané potravní zdroje. Dalším neobvyklým taxonem byla parma obecná, *Barbus barbus*, často nekrofágní (živící se odumřelými organismy) či bentofágní ryba byla velmi obohacena jednak ^{13}C , jednak $\delta^{15}\text{N}$. Oukleje, spolu s podouství říční, *Vimba vimba*, byly nejvíce $\delta^{13}\text{C}$ ochuzenými taxony, a to pravděpodobně díky konzumaci rostlinné potravy.



Obr. 9 - Trofické úrovně zkoumaných ryb na lokalitě Pikovice v srpnu 2016

Odloveny byly i hořavky duhové, *Rhodeus sericeus*, jejichž obsahy $\delta^{13}\text{C}$ odhalily konzumaci rostlinné složky a zooplanktonu. Za pozornost stojí kompetiční vztah mezi hořavkami a ploticemi, kdy plotice svou nikou překrývají více než polovinu niky hořavek. Kompetice probíhá také mezi jelci jeseny a tloušti, kteří díky 55% překryvu nik soupeří o zdroje potravy, nejpravděpodobněji o hmyz.

6 Diskuze

SIA, jakožto metoda, prochází neustálým zdokonalováním, což umožňuje její využití i tam, kde to před několika lety nebylo dost dobře možné. Tato skutečnost nás ale zavazuje k zodpovězení otázek a vyřešení nedostatků, které SIA má. Velký problém je v nejednotnosti zpracování vzorků a jejich vyhodnocování, autoři by do budoucna chtěli udělat „archiv“ analyzovaných vzorků, o které by se mohli opírat při dalších výzkumech. To by ale znamenalo unifikovat všechny procedury a postupy, což je ale velmi těžko realizovatelné (Martínez del Rio et al., 2009; Wolf et al., 2009). Přes to všechno se stále jedná o uživatelsky příjemnou a robustně uchopitelnou metodu podávající skvělé výsledky napříč různými odvětvími. K popisu trofické struktury rybích společenstev byla využita metoda analýzy stabilních izotopů (SIA), která poskytla poměrně přesvědčivé výsledky o stavu rybích společenstev v tocích narušenými lidskou činností. V tomto výzkumu nebyla prováděna analýza nestrávených zbytků potravy, proto jsou potravní zdroje rozděleny spíše povrchně (bentos, makrofyta, hmyz, atd.). Lokality Šlemín a Štětí byly více ochuzené o $\delta^{13}\text{C}$, a to o 2 ‰ v porovnání s lokalitou Pikovice. To může být způsobeno přehrazením toku v případě Štěchovic a průmyslovým objektem elektrárny Mělník v případě Štětí.

Analýza izotopů u hrouzka nám potvrdila fakt, že jde o převážně bentofágní rybu, která je však schopna aktivního vyhledávání jedincem preferované potravy, tzv. specializace. U hrouzků se jednalo, narozdíl od ostatních ryb stále v juvenilních stádiích, o dospělé. Zajímavé však byla jeho kompetice s téměř se všemi druhy ryb (kromě planktonofágních ryb). To bylo v tomto výzkumu dáno dvěma důvody. První byl ten, že se jednalo o starší ryby, a druhým byla vysoká specializace jedinců, hrouzci měli obecně největší celkovou plochu niky. Trofická úroveň hrouzka byla ve všech případech blízká středním hodnotám dané lokality.

Omnivorní plotice je generalista, na lokalitách použití mixing models naznačilo konzumaci jak zooplanktonu, bentosu, tak i makrofyt. Její trofická úroveň však byla spíše nižší. V Pikovicích (srpen) byla schopna konkurovat střevličce východní. V některých oblastech, například jezera v Irsku, jsou dokonce ohrožena invazí naší plotice (Hayden et al., 2014).

Okoun, jakožto jediný zástupce z jiného rodu než kaprovitých, potvrdil svou pozici všežravého generalisty, jenž je schopný agresivně a aktivně vyhledávat potravu, což ho činí velmi konkurenceschopným. Pokud by se uchytil v USA, tak by byl dozajista schopný vytlačit tamního okouna žlutého, *Perca fluvescens* (Linzmaier et al., 2018). V tomto výzkumu však figurovali juvenilní okouni, preferující bentické druhy potravy (pravděpodobně především

blešivce a další korýše), dospělci by byli nepochybně více specializovaní, jelikož jsou obvykle piscivorní (Linzmaier et al., 2018).

U jelců (proudník, jesen i tloušť) se prokazovaly podobné potravní nároky a hodnoty stabilních izotopů $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$. To znamená, že je mezi nimi poměrně velká kompetice o zdroje (především o hmyz) (Yalcin Özdilek, 2017), ze které však nejlépe vycházejí tloušti, neboť jsou na nejvyšší trofické pozici ze tří výše jmenovaných.

Juvenilní boleni vykazovali obdobné niky s ploticemi a ouklejemi, což je způsobené jeho zapojením do hejna. Konzumovali tedy obdobné potravní zdroje, bentos a hmyz, důvodem může být že se často stávají součástí hejna ouklejí a plotic). Narozdíl od výše uvedených však nekonzumovali fytoplankton nebo zooplankton, čemuž nasvědčuje nízká hodnota $\delta^{13}\text{C}$, v průměru o 2 ‰. Dospělci jsou striktně piscivorní, což by při výzkumu vedlo k jejich diferenciaci od ostatních druhů kaprovitých ryb.

Oukleje, typické pelagiální ryby obývající svrchní vrstvy vodního sloupce, měly jednu z nejnižších trofických úrovní. Izotopové hodnoty byly až na několik extrémních hodnot velmi podobné, což nás utvrdilo v tom, že tento druh tvoří hejna. Potravu ouklejí představoval zejména zooplankton, který aktivně loví. Výjimkou byl srpnový odlov v Pikovicích, kdy oukleje konzumovaly především rostlinnou potravu. To ukazuje na využití odlišných zdrojů potravy v průběhu sezóny (Baruš & Oliva, 1995).

Tento výzkum poskytl alespoň základní vhled do problematiky potravní biologie našich kaprovitých ryb. Ukázalo se, že se jedná o velmi komplikovanou soustavu s mnoha vstupy a proměnnými. Konkurence o potravní zdroje je u některých druhů enormní, překryv jejich izotopových nik se blížil 100%. Zjištěné trofické charakteristiky jednotlivých druhů a lokalit také naznačují, že antropogenní změny prostředí mají vliv na trofickou strukturu společenstev ryb.

7 Závěr

Tato práce je jak souhrnem současných znalostí o analýze pomocí stabilních izotopů, tak i praktickou ukázkou jejího použití. Ukázalo se, že tato metoda je vhodná ke stanovení trofické struktury daných společenstev, i když je zde mnoho faktorů jež komplikují vyhodnocování dat. Jedním z nich je potřeba sběru hmyzu v den a místě odlovu, rozdílná hodnota diskriminačního faktoru, nebo používání různých tkání. Praktická část byla zaměřena na popis trofických vztahů ve společenstvu a stanovení trofické pozice ryb. Zároveň nastínila možnost dalšího rozšíření práce, a ukázala, že v antropogenně ovlivněných tocích může docházet ke změnám trofické struktury společenstev.

8 Zdroje literary

- Anderson T. F., Arthur M. A. (1983). Stable isotopes of oxygen and carbon and their application to sedimentologic and paleoenvironmental problem. *Stable isotopes in sedimentary geology* (1983), 1.1-1.151.
- Baruš, V. a Oliva, O. (1995). Mihulovci – Petromyzontes a ryby – Osteichtes 2. *Academia* (1995), 698
- Bastos R. F., Correa F., Winemiller K. O., Garcia A. M. (2017). Are you what you eat? Effects on trophic discrimination factors of food assimilation and trophic position with a new estimating method. *Ecological Indicators* 75 (2017), 234-241.
- Bearhop S., Adams E., Waldron S., Fuller R., Macleod H. (2004). Determining trophic niche width: a novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 73 (2004), 1007-1012.
- Ben-David M., Schell D. M. (2001). Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a response. *Oecologia* 127 (2001), 180-184.
- Berezina N., Strelnikova A., Maximov A. (2018). Benthos as the basis of vendace, *Coregonus albula*, and perch, *Perca fluviatilis*, diets in an oligotrophic sub-Arctic lake. *Polar Biology* 41 (2018), 1789-1799.
- Britton J. R., Busst G. M. A. (2018). Stable isotope discrimination factors of omnivorous fishes: influence of tissue type, temperature, diet composition and formulated feeds. *Hydrobiologia* 808 (2018), 219-234.
- Busst G. M. A, Bašić Tea, Britton J. R. (2015). Stable isotope signatures and trophic-step fractionation factors of fish tissues collected as non-lethal surrogates of dorsal muscle. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 29 (2015), 1535-1544.
- Cabana G., Rasmussen J. B. (1996). Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 (1996), 10844-10847.
- Caut S., Angulo E., Courchamp F. (2009). Variation in discrimination factors ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology* 46 (2009), 443-453.
- Connolly R. M., Guest M. A., Melville A. J., Oakes J. M. (2004). Sulfur stable isotopes separate producers in marine food-web analysis. *Oecologia* 138 (2004), 161-167.
- Cooper A. R., Infante D. M., Wehrly K. E., Wang L., Brenden O. T. (2016). Identifying indicators and quantifying large-scale effects of dams on fishes. *Ecological Indicators* 61 (2016), 646-657.

- Costa J. L., Domings I., Assis C. A., Almeida P. R., Moreira F., Feunteun E., Costa M. J. (2007). Comparative ecology of the European eel, *Anquilla anguilla* (L., 1758), in a large Iberian river. *Environ Biol Fish* 81 (2008), 421-434.
- Deng H. T., Liu M. D., Wang J. H., Chen D. Q., Duan X. B., Liu S. P., Li Y. (2019). Responses of trophic structure variation in fish assemblage to hydrologic regulation in a tributary of the Three Gorges reservoir, China. *Applied ecology and environmental research* 17(2) (2019), 2085-2104.
- DeNiro, M. and Epstein, S. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42(5) (1978), 495-506.
- Dudgeon D., Arthington A. H., Gessner M. O., Kawabata Z-I., Knowler D. J., Leveque Ch., Naiman R. J., Prieur-Richard A-H., Soto D., Stiassny M. L. J., Sullivan C. A. (2005). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biol. Rev.* 81 (2006), 163-182.
- Fox C. A., Magilligan F. J., Sneddon Ch. S. (2016). „You kill the dam, you are killing a part of me“: Dam removal and the environmental politics of river restoration. *Geoforum* 70 (2016), 93-104.
- Freeman M. C. (2003). Ecosystem-Level consequences of migratory faunal depletion caused by dams. *American Fisheries Society Symposium* 35 (2003), 255-266.
- Fry B. (2006). *Stable Isotope Ecology*. New York: Springer.
- Gleick P. H, White G. F. (1993). *Water in Crisis; A guide to the World's Fresh Water Resources*. New York: Oxford University Press.
- Guo, Z., Liu, J., Lek, S., Li, Z., Zhu, F., Tang, J. and Cucherousset, J. (2014). Trophic niche differences between two congeneric goby species: evidence for ontogenetic diet shift and habitat use. *Aquatic Biology*, 20(1) (2014), 23-33.
- Gürkan S. E., Yalcin Özdilek S. (2019). The effects of trout culture on diet and food availability of native freshwater fish populations. *Aquaculture Research* (2019) 50, 1212–1219.
- Hayden B., Massa-Gallucci A., Harrod C., O'Grady M., Caffrey J., Kelly-Quinn M. (2014). Trophic flexibility by roach *Rutilus rutilus* in novel habitats facilitates rapid growth and invasion success. *Journal of Fish Biology* (2014) 84, 1099–1116.
- Hayes, J. (2002) *Practice and principles of isotopic measurements in organic geochemistry. Organic geochemistry of contemporaneous and ancient sediments*. Bloomington, Ind.: Great Lakes Section, Society of Economic Paleontologists and Mineralogists.

Hayes, J. (2002) Practice and principles of isotopic measurements in organic geochemistry (second revision). Organic geochemistry of contemporaneous and ancient sediments. Bloomington, Ind.: Great Lakes Section, Society of Economic Paleontologists and Mineralogists.

Herlevi H., Aarnio K., Puntila-Dodd R., Bonsdorff E. (2018). The food web positioning and trophic niche of the non-indigenous round goby: a comparison between two Baltic Sea populations. *Hydrobiologia* (2018) 822, 111–128.

Holmer M. (2019). Productivity and Biogeochemical Cycling in Seagrass Ecosystems. *Coastal Wetlands (Second Edition)* 2019, 443-477.

Hyodo, F. (2015). Use of stable carbon and nitrogen isotopes in insect trophic ecology. *Entomological Science*, 18(3) (2015), 295-312.

Chen-Hua L., Roth J. D., Detwilder J. T. (2018). Isotopic turnover rates and diet-tissue discrimination depend on feeding habits of freshwater snails. *PLoS ONE* 13 (7) (2018): e0199713

Jackson, A., Inger, R., Parnell, A. and Bearhop, S. (2011). Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, 80(3) (2011), 595-602.

Jackson, M., Donohue, I., Jackson, A., Britton, J., Harper, D. and Grey, J. (2012). Population-Level Metrics of Trophic Structure Based on Stable Isotopes and Their Application to Invasion Ecology. *PLoS ONE*, 7(2) (2012), e31757.

Jackson, M. and Britton, J. (2013). Variation in the trophic overlap of invasive *Pseudorasbora parva* and sympatric cyprinid fishes. *Ecology of Freshwater Fish*, 22(4) (2013), 654-657.

Kaymak N., Winemiller K. O., Akin S., Altuner Z., Polar F., Dal T. (2018). Marine and freshwater research 49 (2018), 1453-1471.

Kelly, L. and Martínez del Rio, C. (2010). The Fate of Carbon in Growing Fish: An Experimental Study of Isotopic Routing. *Physiological and Biochemical Zoology*, 83(3) (2010), 473-480.

Layman C. A., Araujo M. S., Boucek R., Hammerschlag-Peyer C. M., Harrison E., Jud Z. R., Matich P., Rosenblatt A. E., Vaudo J. J., Yeager L. A., Post D. M., Bearhop S. (2012). Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tool. *Biol. Rev.* 87 (2012), 545–562.

Martínez del Rio, C., Wolf, N., Carleton, S. and Gannes, L. (2009). Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews*, 84(1) (2009), 91-111.

McKinney C. R., McCrea J. M., Epstein S., Allen H. A., Urey H. C. (1950). Improvements in Mass Spectrometers for the Measurement of Small Differences in Isotope Abundance Ratios. *Review of Scientific Instruments* 21 (1950), 724-730.

- Minagawa, M. and Wada, E. (1984). Stepwise enrichment of ^{15}N along food chains: Further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(5) (1984), 1135-1140.
- Newsome S. D., Martinez del Rio C., Bearhop S., Phillips D. L. (2007). A niche for isotopic ecology. *Front Ecol Environment* 5(8) (2007), 429-436.
- Newsome S D., Bentall G. B., Tinker T. M., Oftedal O. T., Ralls K., Estes J. A., Fogel M. L. (2010). Variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ diet-vibrissae trophic discrimination factors in a wild population of California sea otter. *Ecological Applications* 20(6) (2010), 1744-1752.
- O'Leary M. (1988). Carbon Isotopes in Photosynthesis: Fractionation techniques may reveal new aspects of carbon dynamic in plants. *BioScience* 38(5) 1988, 328-336.
- Parnell A. C., Phillips D. L., Bearhop S., Semmens B. X., Ward E. J., Moore J. W., Jackson A. L., Grey J., Kelly D. J., Inger R. (2013). Bayesian stable isotope mixing models. *Environmetrics* 24 (2013), 387-399.
- Pella E., Colombo B. (1973). Study of carbon, hydrogen and nitrogen determination by combustion-gas chromatography. *Mikrochimica Acta* (1973), 697-719.
- Phillips D. L. (2001). Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia* 127 (2001), 166-170.
- Phillips D. L. (2012). Converting isotope values to diet composition: the use of mixing models. *Journal of Mammalogy* 93(2) (2012), 342-352.
- Phillips D. L., Inger R., Bearhop S., Jackson A. J., Moore J. W., Parnell A. C., Semmens B. X., Ward E. J. (2014). Best practices for use of stable isotope mixing models in food-web studies. *Can. J. Zool.* 92 (2014), 823-835.
- Post, D. (2002). Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. *Ecology*, 83(3) (2002), 703-718.
- Quezada-Romegialli C., Jackson A. J., Hayden B., Kahilainen K. K., Lopes Ch., Harrod Ch. (2018). *tRophicPosition*, an R package for the Bayesian estimation of trophic position from consumer stable isotope ratios. *Methods. Ecol. Evol.* 9 (2018), 1592-1599.
- Rickard D. (2012). Sulfidic sediments and sedimentary rocks. *Development in sedimentology* 65 (2012).
- Sanders D., Vogel E., Knop E. (2015). Individual and species-specific traits explain niche size and functional role in spiders as generalist predators. *Journal of Animal Ecology* 84(2015), 134-142
- Syväranta, J., Lensu, A., Marjomäki, T., Oksanen, S. and Jones, R. (2013). An Empirical Evaluation of the Utility of Convex Hull and Standard Ellipse Areas for Assessing Population Niche Widths from Stable Isotope Data. *PLoS ONE*, 8(2) (2013), e56094.

West, J., Bowen, G., Cerling, T. and Ehleringer, J. (2006). Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(7), 408-414.

Wolf N., Carleton S. A., Martinez del Rio C. (2009). Ten years of experimental animal isotopic ecology. *Functional Ecology* 23 (2009), 17-26.

Yalcin Özdilek S. (2016). Seasonal and ontogenetic diet shift of two sympatric cyprinid fish species from the temperate Karamenderes Rive, Canakkale, Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 41 (2017), 67-81

Vander Zanden M. J., Rasmussen J. B. (1999). Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. *Ecology* 80 (4) (1999), 1395-1404.