

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Vít Inquort

Využití stabilních izotopů v potravní ekologii ryb

Use of stable isotopes in feeding ecology of fish

Bakalářská práce

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

Praha, 2016

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem zadanou práci napsal samostatně s využitím dostupné literatury a všechny použité literární zdroje jsem řádně citoval. Tištěná verze této práce je totožná s její elektronickou verzí uloženou v SIS. Tato práce ani žádná její podstatná část nebyla použita k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 19.5. 2016

.....
Vít Inquort

Poděkování:

Na prvním místě děkuji své školitelce Petře Horké, jejíž nápad stál u vzniku této práce. Mé poděkování jí patří za její čas, její rady a přístup. Dále děkuji Kateřině Jandové za zpětnou vazbu. Komu ještě. Životu za to, že mě naučil dotahovat věci do konce a nevzdávat se.

Abstrakt

Kaprovité ryby (*Cyprinidae*) jsou důležitou skupinou z ekologického i hospodářského hlediska. Jedním z elementárních předpokladů pro správný výklad ekologické funkce těchto ryb ve vodních ekosystémech je studium jejich potravy a zařazení poznatků do celkového obrazu o potravních vztazích mezi organismy v daném ekosystému. Jednou z metod, která může pomoci objasnit tyto vztahy, je analýza stabilních izotopů. V této práci jsou shrnuty metody a přístupy, které se v současné době při aplikaci této metody používají a které se liší mezi jednotlivými autory, jako například využití různých tkání ryb pro analýzu nebo extrakce lipidů a odstranění karbonátu ze vzorku před analýzou. Dále jsou nastíněny mechanismy a jevy, se kterými je nutné počítat a jejichž nesprávné pochopení nebo zanedbání může snižovat věrohodnost nabytých poznatků. Těmito jevy jsou především rozdílná rychlost výměny tkání ryb a *isotopic routing*, pro jejichž dokonalejší pochopení je zapotřebí další výzkum. V rámci této práce byly také shrnuty aktuální poznatky o zdrojích potravy, trofické úrovni a potravních nikách kaprovitých ryb získané pomocí analýzy stabilních izotopů ve sladkovodních ekosystémech. Ačkoli jsou zatím tyto poznatky neúplné a u řady druhů není potenciál, kterým analýza stabilních izotopů disponuje, plně využit, zůstává analýza stabilních izotopů vedle tradičních metod studia potravy ryb důležitou a užitečnou metodou.

Klíčová slova: analýza stabilních izotopů, potravní ekologie ryb, *Cyprinidae*, evropské sladkovodní ryby

Abstract

Cyprinidae is an important family of fish as far as ecological and economical aspects are considered. Studying feeding ecology of this family in aquatic ecosystems and integration of the findings into the overall image of trophic relationships are the fundamental prerequisite for the right interpretation of its ecological role. Stable isotope analysis is one of the methods capable of elucidating such relationships. In this thesis currently used methods and approaches in applications of stable isotope analysis in feeding ecology of fish are summarized. These vary among individual authors and

include sampling of different fish tissues and different methods of preparation of samples before analysis, *e.g.* lipid extraction or carbonate removal. Certain mechanisms and phenomena which need to be taken into account to avoid biased results are also outlined in this thesis, among all tissue turnover and isotopic routing in particular. In the thesis current findings on food resources, trophic level and trophic niche of cyprinid fishes in freshwater ecosystems based on stable isotope analysis were summarized as well. Despite such findings being partial to date and the potential of the method not yet being fully exploited in many species, stable isotope analysis provide an important and useful tool alongside traditional methods.

Keywords: stable isotope analysis, fish feeding ecology, *Cyprinidae*, european freshwater fishes

Obsah

Úvod	7
1. Stabilní izotopy a jejich měření	8
2. Mechanismy ovlivňující izotopové poměry v přírodě	10
2.1 Frakcionace a mísení	10
2.2 Výměna tkání (<i>tissue turnover</i>)	11
2.3 <i>Isotopic routing</i>	12
3. Tkáně používané pro SIA ryb	13
3.1 Destruktivně získávané tkáně	15
3.2 Nedestruktivně získávané tkáně	17
4. Metody úpravy vzorků před analýzou	19
4.1 Extrakce lipidů	19
4.2 Odstranění karbonátů – acidifikace vzorku	21
5. Využití SIA v potravní ekologii ryb	23
5.1 Zdroje potravy ryb	23
5.2 Trofická úroveň ryb	24
5.3 Potravní nika ryb	25
6. Aplikace SIA v potravní ekologii ryb	27
7. Diskuse	33
8. Seznam použité literatury	36
Příloha 1 – přehled ryb	41
Příloha 2 – tabulka izotopových hodnot evropských druhů kaprovitých ryb	42

Úvod

Analýza stabilních izotopů (SIA – *stable isotope analysis*) je užitečným nástrojem mnoha vědeckých disciplín a při studiu potravní ekologie živočichů se používá už více než třicet let (Fry, 2006). Tato práce se zabývá využitím stabilních izotopů uhlíku a dusíku při studiu potravní ekologie evropských sladkovodních druhů kaprovitých ryb. Zatímco tradiční metodou studia potravy ryb je analýza nestrávených zbytků v jejich zažívacích ústrojích (GCA/SCA – *gut content analysis/stomach content analysis*), SIA dnes představuje časově méně náročnou a potenciálně nedestruktivní alternativu. Z širokého spektra možných ekologických aplikací metody SIA je možné jmenovat tři hlavní, kterými se tato práce zabývá. Zaprvé určování poměrného zastoupení jednotlivých zdrojů v potravě ryb, zadruhé stanovení trofické úrovně ryb, tedy jejich postavení v potravních řetězcích, a zatřetí vymezení potravní niky ryb. Tato využití jsou v případě kaprovitých ryb otázkou především posledních cca deseti let. Aplikace SIA s sebou přináší jeden zásadní problém, kterým je nejednotnost v metodickém postupu různých autorů a z toho plynoucí obtížná srovnatelnost výsledků jednotlivých studií. Dále existuje řada přirozených faktorů, jejichž zanedbání může vést k chybné interpretaci výsledků (Boecklen et al., 2011). Cílem této práce je srovnat různé přístupy a metody, které se v rámci studia potravní ekologie ryb pomocí analýzy stabilních izotopů uhlíku a dusíku používají a vytvořit tak teoretický základ pro případný budoucí výzkum, a shrnout aktuální poznatky o společenstvech kaprovitých ryb založených na této analýze.

1. Stabilní izotopy a jejich měření

Atomy chemických prvků se v přírodě zpravidla vyskytují v několika různých formách označovaných jako izotopy. Izotopy mají stejné protonové číslo a navzájem se od sebe liší počtem neutronů v jádře a tudíž i hmotností. Zatímco některé izotopy jsou v důsledku nedostatku nebo nadbytku neutronů nestabilní a jejich jádra podléhají radioaktivnímu rozpadu, jiné už od okamžiku svého vzniku samovolným přeměnám nepodléhají. Tyto jsou označovány jako stabilní izotopy. Stabilní izotopy, stejně jako veškerá hmota na Zemi, pocházejí z exploze supernovy, ke které došlo přibližně před osmi miliardami let. Během formování Země (asi před 4,567 miliardami let) zachytila vznikající planeta z masы hmoty uvolněné po explozi malý podíl, který obsahoval směs prvků a jejich izotopů. Množství a poměr některých stabilních izotopů zůstaly z globálního hlediska dodnes zachovány. To platí například pro izotopy uhlíku ^{12}C a ^{13}C . Oba tyto izotopy jsou stabilní a zároveň nejsou produktem rozpadové řady žádného přirozeně se vyskytujícího radionuklidu, což by postupem času vedlo k relativnímu zvyšování množství jednoho izotopu oproti druhému. Zjednodušeně se dá říci, že žádný uhlík ^{12}C nebo ^{13}C na Zemi nevzniká ani nezaniká a celkový vzájemný poměr izotopů je pevný a neměnný. To samé platí i pro dusík a jeho izotopy ^{15}N a ^{14}N . Pro oba tyto prvky, kterým se věnuje tato práce, platí, že v přírodě převažuje lehčí z obou izotopů. Průměrné zastoupení ^{12}C je 98,89 %, v případě ^{14}N je to 99,63 % (West et al., 2006). Přestože v globálním měřítku je celkový poměr lehčích a těžších izotopů uhlíku a dusíku neměnný, liší se značně mezi zkoumanými subjekty. Těmito subjekty jsou v potravní ekologii živočišné-konzumenti a jejich zdroje potravy. Základním předpokladem pro využití SIA v potravní ekologii je, že poměry izotopů v tělech konzumentů jsou ovlivněny poměry izotopů jejich potravy podle určitých pravidel, která je možné poznat a kvantifikovat (DeNiro and Epstein, 1978; 1981; Minagawa and Wada, 1984). K tomu je nejprve nutné mít k dispozici metodu, pomocí které by bylo možné poměry izotopů změřit. Tato metoda existuje a je známá již dlouho. Je jí hmotnostní spektrometrie.

Metody hmotnostní spektrometrie používané k separaci a kvantifikaci izotopů se souhrnně označují jako *isotope-ratio mass spectrometry* (IRMS). Zkoumaný vzorek je nejprve nutné převést do plynného skupenství. Pro uhlík a dusík, obsažené v organickém materiálu se používá statická metoda, při které se veškerý uhlík ve vzorku přemění na CO_2 a veškerý dusík na N_2 (Hayes, 2002).

Jednotlivé částice plynu jsou poté ionizovány proudem elektronů. Vzniklé nabitě částice jsou urychleny ve vakuové trubici a v silném magnetickém poli, které je indukováno elektromagnetem, dochází k zakřivení jejich drah v závislosti na hmotnosti částic (lehčí částice jsou odchýleny ze své dráhy více než těžší). Zde sehraje svou roli rozdílný počet neutronů a dochází k oddělení jednotlivých izotopů. Na konci trubice jsou nárazy jednotlivých částic detekovány a výsledek je počítačově zpracován. Výstupem je poměr zkoumaných izotopů ve vzorku. Díky vysoké citlivosti hmotnostních spektrometrů je možné spolehlivě rozlišit jednotlivé izotopy natolik, že výsledný poměr je určen s vysokou přesností (Hayes, 2002), viz také Tab.1. Pro vyjádření podílu těžšího izotopu ve zkoumaném vzorku a porovnávání jednotlivých vzorků mezi sebou se nejčastěji používá zápis δ (delta). Tato veličina vyjadřuje odchylku poměru těžšího izotopu vůči lehčímu ve zkoumaném vzorku od mezinárodně platného standardu v jednotkách promile. Standardy pro uhlík a dusík ukazuje Tab. 1. U každého standardu byl přesně změřen poměr izotopů. Výpočet hodnoty δ je možné vyjádřit rovnicí:

$$\delta^H X = [(R_{\text{VZOREK}})/(R_{\text{STANDARD}}) - 1] * 1000 \text{ (Fry, 2006)}$$

V rovnici je δ určena pro určitý prvek ($X = \text{H, C, N, O}$ či S), index H představuje těžký izotop prvku (^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O , nebo ^{34}S), R je poměr těžšího izotopu vůči lehčímu (H/L), $^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$.

Pokud je hodnota δ kladná, obsahuje vzorek relativně víc těžšího izotopu než standard a naopak. Například hodnota vzorku $\delta = 10 \text{ ‰}$ znamená to, že vzorek obsahuje o 10 ‰ víc těžšího izotopu než standard. Zápis δ se používá pro převedení velmi malých relativních změn poměrů do přehledných čísel, se kterými se lépe pracuje. Navíc pro vzorky, u kterých se δ pohybuje v rozmezí -100 až 100 ‰, což je většina vzorků v přírodě, existuje téměř dokonalá lineární závislost mezi hodnotou δ a procentuálním zastoupením těžšího izotopu (Fry, 2006). Vzorky s vyšším zastoupením těžšího izotopu oproti standardu se označují jako obohacené (*enriched*), zatímco ty, u nichž je obsah těžšího izotopu nižší, se označují jako ochuzené (*depleted*).

standard	izotopy	poměr H/L *	H (%)	L (%)
PDB**	^{12}C , ^{13}C	0,011180	1,1056	98,8944
atmosférický dusík	^{14}N , ^{15}N	0,0036765	0,3663	99,6337

Tabulka 1 – Mezinárodní standardy pro stabilní izotopy uhlíku a dusíku a jejich izotopové složení (Fry, 2006); *H = heavy, L= light; **PDB – PeeDee Belemnite, fosilní vápenec ze schránky belemnita *Belemnitella americana* z Jižní Karolíny v USA.

2. Mechanismy ovlivňující izotopové poměry v přírodě

Jak bylo řečeno v předchozí kapitole, živočichové ve svých tělech integrují izotopové hodnoty své potravy, přičemž tento proces se řídí určitými pravidly, se kterými je v ekologických studiích využívajících SIA nutné počítat. Tato pravidla vycházejí z přirozených mechanismů, které způsobují, že lehčí a těžší izotopy nejsou v přírodě rozloženy rovnoměrně, ale jejich poměry se liší. Dva nejdůležitější mechanismy, které jsou zodpovědné za výsledné rozložení těžších a lehčích izotopů, se nazývají *frakcionace a mísení* (doslovný překlad anglického *fractionation* resp. *mixing*; Fry, 2006).

2.1 Frakcionace a mísení

Princip frakcionace je následující. Protože se od sebe jednotlivé izotopy liší pouze počtem neutronů, neliší se ve svých chemických vlastnostech, které jsou odvozeny od elektronového obalu. Vyšší hmotnost, kterou s sebou nese přítomnost většího počtu neutronů, však způsobuje rozdíl v rychlosti, jakou jednotlivé izotopy reagují. Vyšší hmotnost těžšího izotopu znamená jeho nutnost překonat vyšší energetickou bariéru, a proto lehčí izotop reaguje rychleji. Pokud je při reakci přebytek substrátu, je potom výsledkem to, že produkt je relativně ochuzen o těžší izotop, zatímco substrát je o něj relativně obohacen (Fry, 2006). K frakcionaci dochází tehdy, když se tvoří nebo zanikají vazby mezi atomy, tedy i při biochemických pochodech v tělech živočichů, například při zabudovávání uhlíku a dusíku z potravy do tkání, a také při respiraci a vylučování (Fry, 2006), což má za následek, že těla živočichů-konzumentů jsou obohacena nebo ochuzena o těžší izotop C nebo N oproti potravě, kterou konzumují. Toto obohacení nebo ochuzení se označuje pojmem *trophic fractionation*. Pokud se pracuje již přímo s jeho hodnotou, například v matematických modelech, nazývá se také *discrimination factor*, ale jedná se o totéž. V této práci jsou oba pojmy přeloženy doslova jako

trofická frakcionace a faktor diskriminace. Tato veličina se značí $\Delta \delta^{15}\text{N}$ nebo $\Delta \delta^{13}\text{C}$ (Minagawa and Wada, 1984; Vanderklift and Ponsard, 2003). Faktor diskriminace má v potravních studiích využívajících SIA klíčovou úlohu. V případě ^{13}C a ^{15}N se jeho hodnoty využívá při studiu zdrojů potravy ryb (Phillips and Gregg, 2003; Layman, 2007; Jackson et al., 2011) a v případě ^{15}N navíc také ke stanovení trofické úrovně ryb (Cabana and Rasmussen, 1996; Post, 2002). Mísení má v potravní ekologii stejně významnou roli jako frakcionace. K mísení dochází, pokud živočich konzumuje potravu z více zdrojů a každý zdroj má jiný izotopový poměr. Tyto poměry se potom v těle živočicha „smísí“ a celkový poměr je potom výslednicí všech zdrojů (Fry, 2006). Pojem mísení je nejčastěji zmiňován v souvislosti s matematickými modely – *mixing models* používanými k výpočtu relativního zastoupení jednotlivých zdrojů v potravě živočichů (Layman et al., 2011). K frakcionaci a mísení izotopů dochází v přírodě neustále a u některých procesů je již dobře popsáno, nakolik se při nich mění poměry izotopů. Dobře známá je například frakcionace izotopů uhlíku během fotosyntézy. Zatímco atmosférický uhlík ve formě CO_2 má hodnotu $\delta^{13}\text{C} = -8 \text{ ‰}$ (Peterson and Fry, 1987), u rostlin je tato hodnota nižší a pohybuje se okolo -27 ‰ u C_3 rostlin a -12 ‰ u C_4 rostlin (West et al., 2006), což souvisí s rozdílným způsobem tvorby cukrů při fotosyntéze (Ehrelinger and Cerling, 2002). Tyto poznatky potom například umožňují určit, zda uhlík v potravních řetězcích pochází z primární produkce C_3 nebo C_4 rostlin (Peterson and Fry, 1987). Frakcionace a mísení nejsou jedinými mechanismy zodpovědnými za výsledné rozložení těžších a lehčích izotopů v tkáních živočichů. Důležitou úlohu zde mají ještě další dva jevy. Zprvé růst a metabolismus tkání (*tissue turnover*) a zadruhé *isotopic routing*, což je pojem, který nemá český ekvivalent a souvisí s inkorporací různých komponentů potravy do tkání konzumenta (Martínez del Rio et al., 2009; Boecklen et al., 2011).

2.2 Výměna tkání (*tissue turnover*)

Vliv metabolismu tkání na aplikaci SIA v potravní ekologii je takový, že různé tkáně integrují izotopové hodnoty potravy za různě dlouhá časová období v závislosti na růstu a katabolismu tkání. Metabolicky aktivnější tkáně obecně odrážejí izotopové hodnoty potravy za kratší časové období než méně aktivní (Hyodo, 2015). V případě ryb jsou nejaktivnějšími tkáněmi např. ploutve nebo játra (Heady and Moore, 2012; Madigan et al., 2012), zatímco méně aktivní jsou šupiny nebo svalovina (Heady and Moore, 2012), a rychlost výměny tkání bývá také nepřímě úměrná hmotnosti ryb, což souvisí s věkem a pomalejším metabolismem v dospělosti (Trudel et al., 2011). Studie, které u

různých tkání ryb zkoumají, za jak dlouhé období tyto tkáně integrují hodnoty izotopů v potravě používají uměle simulované podmínky, při kterých jsou ryby krmeny výhradně potravou o známém izotopovém složení. V určitou chvíli je tato potrava nahrazena jinou, která má odlišné, ale také známé izotopové složení. Poté se zkoumá, za jak dlouho dosáhnou izotopové hodnoty tkání rovnováhy s novou potravou a na základě výsledků se pro danou tkáň určuje specifický izotopový poločas (*isotopic half-life*), což je doba, za kterou dosáhne tkáň přesně průměru izotopových hodnot obou zdrojů potravy (Boecklen et al., 2011). Izotopové poločasy bývají různé pro ^{13}C a ^{15}N (Church et al., 2009). Řadě ekologických studií je dnes vytýkáno, že při aplikaci SIA nezhledňují fenomén *tissue turnover* a vycházejí z předpokladu, že tkáně ryb jsou z hlediska poměrů izotopů v rovnováze s potravou (Martínez del Rio et al., 2009).

2.3 Isotopic routing

Tento fenomén boří jednoduchou představu o tom, že veškerý uhlík a dusík z potravy se rovnoměrně inkorporují do těla konzumenta, protože by to znamenalo, že by potrava byla při trávení rozložena až na jednotlivé atomy a z těch by byly následně zpětně syntetizovány biomolekuly, což neplatí u žádných živočichů (Martínez del Rio et al., 2009). Naopak platí, že různé biochemické složky tkání konzumenta reflektují izotopové hodnoty těch složek potravy, které byly použity pro jejich syntézu. Bylo zjištěno, že například proteiny obsažené v potravě se inkorporují především do svaloviny konzumenta a naměřené hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ tomu odpovídají (Kellner and Schoeninger, 2007; Kelly and Martinez del Rio, 2010). To samé platí pro sacharidy v potravě a kosti konzumenta (Kellner and Schoeninger, 2007). Aktuální matematické modely používané při zkoumání zdrojů potravy živočichů včetně ryb jsou však založeny na předpokladu, že izotopy z potravy jsou v tělech konzumentů rozloženy rovnoměrně (Phillips and Gregg, 2003; Parnell et al., 2010), což v praxi představuje největší problém zejména u omnivorních druhů, u kterých mají lipidy, sacharidy a proteiny původ v různých zdrojích potravy (Kelly and Martínez del Rio, 2010). V tělech ryb převažují jako stavební prvky lipidy a proteiny. Hodnoty izotopů naměřené u rybích tkání tak víceméně reprezentují smíšené hodnoty proteinů a lipidů. U ryb bylo pozorováno, že uhlík z proteinové složky v potravě se ve větší míře zabudovává do svaloviny, než jak předpokládají modely. Rozdíl mezi skutečnou a modelovou mírou se zvyšuje se stoupajícím podílem proteinů v potravě a pouze u potravy velmi chudé na proteiny se blíží nule (Kelly and Martinez del Rio, 2010). Navzdory očekávání bylo také zjištěno, že lipidy v tělech ryb pocházejí z větší části z proteinů v

potravě, což může být způsobeno rozdílným zastoupením aminokyselin v potravě a tkáních ryb. Předpoklad je takový, že nadbytečné aminokyseliny jsou buď katabolizovány nebo využity pro syntézu lipidů (Kelly and Martinez del Rio, 2010), pro jeho podporu však chybí experimentální důkazy. Je otázkou nakolik různé modely, které neberou *isotopic routing* v potaz, podceňují nebo přeceňují zastoupení různých zdrojů v potravě ryb, a řada autorů vyzývá k provedení více experimentů, které by pomohly lépe pochopit a modelovat vliv tohoto jevu v ekologických studiích (Martinez del Rio et al., 2009; Boecklen et al., 2011). Je ještě nutné zmínit, že jev *isotopic routing* byl zatím studován pouze u svaloviny ryb, která ačkoli nejčastěji, není jedinou tkání používanou při studiu potravy ryb (Tronquart et al., 2012).

3. Tkáně používané pro SIA ryb

Při studiu potravy ryb se používají dva základní postupy, a sice GCA a SIA. Největší výhodou GCA je vysoká rozlišovací schopnost, která umožňuje poměrně přesně identifikovat nestrávenou potravu. U kaprovitých ryb přitom rozlišování komplikuje přítomnost požerákových zubů a jejich účinek, takže se někdy nepodaří potravu rozlišit ani na úrovni řádů nebo čeledí, ale teprve vyšších taxonomických skupin (Hayden et al., 2014). Naopak nevýhodami jsou nutnost usmrcení ryby a nepřesnosti, ke kterým může docházet kvůli rozdílům ve stravitelnosti různé potravy (DeNiro and Epstein, 1978). Identifikace potravy pomocí výplachu žaludku živých ryb nevyžaduje usmrcení ryb, je však použitelná pouze u některých jejich skupin, jako jsou např. lososovité ryby (Hyslop, 1980). Pro metodu GCA platí, že poskytuje krátkodobý obraz o potravě ryb v řádu dnů (Hayden et al., 2014), proto je často nutné zkoumat obsah žaludků ryb v dané lokalitě po delší časový úsek, takže je nutné usmrtit velký počet jedinců. Ryby se však často usmrcují i při aplikaci metody SIA, protože nejčastěji bývá pro analýzu používána svalovina ryb, jejíž vyříznutí bývá pro rybu smrtelné. Během posledních let se však začíná používat i nedestruktivní odběr šupin (Grey et al., 2009; Bašić and Britton, 2014), což je potenciální výhodou SIA. S tím souvisí možnost použití archivního materiálu, např. šupin, které byly odebrány v minulosti a zpětně tak získávat informace z různých časových období (Syväranta et al., 2008; Grey et al., 2009). Narozdíl od GCA poskytuje SIA náhled na složení potravy v dlouhodobějším časovém horizontu v závislosti na typu použité tkáně, což souvisí s rozdílnou rychlostí obnovy tkání (Heady and Moore, 2012). Analýza stabilních izotopů ^{13}C a ^{15}N je metoda, s jejíž pomocí je dnes možné nejen ověřit platnost již existujících teorií o potravních

vztazích a popsat velmi složité vzorce toků látek v potravních řetězcích (Post, 2002), nicméně pro dokonalejší pochopení vztahů mezi jednotlivými organismy se často obě metody kombinují (Davis et al., 2012; Hayden et al., 2014), přičemž GCA bývá používána pro identifikaci zdrojů potravy dané ryby.

Důležitou otázkou, kterou je potřeba zodpovědět před vlastním měřením stabilních izotopů, je, jakou tkáň pro analýzu použít. Zatímco rybí potěr se analyzuje vcelku stejně jako většina složek potravy ryb (zooplankton, bentos, řasy), u větších ryb nepřipadá analýza celých těl v úvahu. Teoreticky není problém použít jakoukoli tkáň a záleží pouze na kritériích, podle kterých zvolit některou z nich. Jedním z kritérií může být například již zmíněná destruktivnost. Toto hledisko má největší význam u chráněných druhů ryb a tkáně jsou podle něj rozděleny také v této práci. Dalším kritériem může být rozdílná rychlost metabolického obratu a s ní související časový rozsah do minulosti. Velmi důležitou veličinou, která charakterizuje danou tkáň, je její diskriminační faktor. Řada autorů poukázala na to, že hodnoty faktorů diskriminace jsou vysoce specifické a závisí na přijímané potravě (DeNiro and Epstein, 1978; 1981; Minagawa and Wada, 1984; Vander Zanden and Rasmussen, 1999; Vander Zanden and Rasmussen, 2001), živočišném druhu potažmo typu metabolismu, který nemusí být nutně specifický pro živočišný druh jako takový, ale spíše pro určité skupiny živočichů ať už z taxonomického (ryby, savci, ptáci etc.; Vanderkluft and Ponsard, 2003; Caut et al., 2009) nebo ekologického (herbivoři, karnivoři, omnivoři; DeNiro and Epstein, 1978) hlediska, dále na zkoumané tkáni (DeNiro and Epstein, 1978; Sweeting et al., 2007a; Sweeting et al., 2007b; Caut et al., 2009), což souvisí s tím, z jakých komponentů jsou tkáně tvořeny, přičemž roli zde hraje například rozdílný obsah lipidů (Post et al. 2007), karbonátů (Perga and Gerdeaux; 2003), polysacharidů (Kiljunen et al., 2006) nebo zastoupení aminokyselin v proteinech (Martínez del Rio et al., 2009). V praxi se při studiu potravy ryb ve sladkovodních ekosystémech pomocí SIA obecně pracuje s hodnotami $\Delta \delta^{13}\text{C} = \text{cca } 1 \text{ ‰}$ a $\Delta \delta^{15}\text{N} = \text{cca } 3,4 \text{ ‰}$. Tyto hodnoty odpovídají doporučeným hodnotám v řadě studií, které syntetizují experimentální poznatky o faktorech diskriminace v tkáních ryb. Je však nutné zdůraznit, že se jedná o průměrné hodnoty, do kterých jsou započítány vedle sebe i taxonomicky a ekologicky odlišné druhy ryb (např. sladkovodní a mořské). V současné době je vyzýváno k provedení více experimentů, zkoumajících faktory diskriminace u kaprovitých ryb (Busst et al., 2015).

3.1 Destruktivně získávané tkáně

Bílá svalovina

V současnosti nejpoužívanější referenční tkání pro SIA analýzu potravy ryb je bílá hřbetní svalovina. Původně byla tato tkáň navržena jako nejvhodnější především z důvodu nízkého obsahu lipidů (Pinnegar and Polunin, 1999) a dnes je nejčastější volbou pravděpodobně také z toho důvodu, že je nejlépe popsána v odborné literatuře z hlediska faktorů diskriminace ^{13}C a ^{15}N , metabolického obratu a *isotopic routing*. Pokud se týká faktoru diskriminace ^{13}C , data z dostupné literatury naznačují, že se jeho hodnoty u ryb liší od běžně používané hodnoty kolem 1 ‰ (DeNiro and Epstein, 1978; Vander Zanden and Rasmussen, 2001; Post, 2002) a jsou vyšší. Caut et al. (2009) se zabývali 41 různými hodnotami $\Delta \delta^{13}\text{C}$ naměřenými u ryb a dospěli k průměrné hodnotě 1,80 ‰ (Caut et al., 2009). Sweeting et al. (2007a) uvádí 17 různých hodnot a průměr 1,74 ‰ a dále rozlišují zda byly ze svaloviny před analýzou extrahovány lipidy, čímž se průměrná hodnota snižuje na 0,97 ‰ či nikoli, čímž se naopak zvyšuje na 2,27 ‰ (Sweeting et al., 2007a). Experimentální studii provedli Busst et al. (2015). Tato studie se zabývala šesti druhy kaprovitých ryb (*B. barbuis*, *C. auratus*, *C. carassius*, *C. carpio*, *P. promelas*, *S. cephalus*), byla provedena v laboratorních podmínkách a ryby byly krmeny umělou potravou. Extrakce lipidů nebyla provedena. Zjištěné hodnoty $\Delta \delta^{13}\text{C}$ se pohybovaly od $1,58 \pm 0,11$ ‰ (*C. auratus*) do $2,86 \pm 0,12$ ‰ (*P. promelas*) s průměrnou hodnotou všech druhů = 2,16 ‰ (Busst et al., 2015), přičemž tato hodnota je velmi blízká hodnotě 2,27 ‰ uvedené v Sweeting et al. (2007a).

Problematika diskriminačního faktoru ^{15}N je obecně velmi diskutované téma (Cabana and Rasmussen, 1996; Post, 2002; Busst et al., 2015). Minagawa and Wada (1984), kteří se tímto tématem zabývali jako jedni z prvních, uvádí u svaloviny ryb rozmezí hodnot 3,0 – 5,1 ‰ (Minagawa and Wada, 1984). Později bylo upozorněno na to, že v článku není dostatečně popsána potrava sledovaných organismů (Vander Zanden and Rasmussen, 2001), ale stejní autoři došli ve své vlastní studii k výsledkům, které podporují hodnotu 3,4 ‰ pro bílou svalovinu (Vander Zanden and Rasmussen, 1999; Vander Zanden and Rasmussen, 2001). Vanderklift and Ponsard (2003) ve své rešerši tvrdí, že se jim podařilo vysledovat vztah mezi metabolismem dusíku a faktorem diskriminace ^{15}N a rozdělují organismy podle formy vylučovaného dusíku do pěti skupin, přičemž ryby zařazují do skupiny amonotelních živočichů, kteří vylučují dusík ve formě NH_4^+ (Vanderklift and Ponsard, 2003). Průměrná hodnota $\Delta \delta^{15}\text{N}$ této skupiny je 2,00 ‰. To je nižší hodnota než 3,4 ‰. Do skupiny amonotelních živočichů v této rešerši však byly zařazeny nejen ryby, ale i korýši

nebo měkčí, což snižuje věrohodnost čísla 2,00 ‰. Sweeting et al. (2007b) uvádí jako průměrnou hodnotu sedmnácti dříve publikovaných experimentálních výsledků $3,15 \pm 1,28$ ‰, přičemž na této hodnotě se podílí osm výsledků pro svalovinu, která podstoupila extrakci lipidů (průměrná hodnota = $2,59 \pm 1,50$ ‰) a devět výsledků pro svalovinu bez předchozí extrakce (průměrná hodnota = $3,64 \pm 0,90$ ‰; Sweeting et al. 2007b). Experimentálně zjištěné hodnoty u kaprovitých ryb se pohybují od $2,35 \pm 0,08$ ‰ (*S. cephalus*) do $3,89 \pm 0,15$ ‰ (*C. carassius*) s průměrnou hodnotou všech druhů = 3,13 ‰. Tato hodnota se téměř neliší od hodnoty 3,15 ‰, kterou uvádějí Sweeting et al. (2007b). Bílá svalovina patří mezi tkáně s pomalým metabolickým obratem (Heady and Moore, 2012), ačkoli izotopové poločasy se liší mezi jednotlivými druhy a jejich hodnoty se zvyšují se stářím ryb (Trudel et al., 2011). Zatímco například u některých lososovitých ryb existují experimentálně zjištěné izotopové poločasy svaloviny, které se pohybují v rozmezí 76 – 122 dní pro ^{15}N a 105 – 193 dní pro ^{13}C (Church et al., 2009), pro kaprovité ryby zatím izotopové poločasy nebyly zjišťovány.

Játra

Játra v současnosti představují pouze modelovou tkáň, na které se zkoumá vliv extrakce lipidů na poměry izotopů nebo *tissue turnover* (Pinnegar and Polunin, 1999; Heady and Moore, 2012). Ačkoli byla tato tkáň zkoumána z hlediska potenciálního využití při SIA potravy ryb (Jardine et al., 2005), nebyla dosud použita v praxi. Oproti bílé svalovině obsahují játra ryb vyšší podíl lipidů (Logan et al., 2008), proto se doporučuje lipidy extrahovat (Post et al., 2007). Bylo zjištěno, že extrakce lipidů má značný vliv na faktor diskriminace ^{13}C jater ryb (Sweeting et al., 2007a). Pokud extrakce není provedena, dosahuje $\Delta \delta^{13}\text{C}$ v některých případech dokonce záporných hodnot, zatímco po extrakci je u všech zkoumaných ryb jeho hodnota vždy vyšší a vždy kladná (Pinnegar and Polunin, 1999; Sweeting et al., 2007a; Chen et al., 2012), což odpovídá zjištění, že lipidy jsou relativně ochuzené o izotop ^{13}C (DeNiro and Epstein, 1978). Hodnota faktoru diskriminace ^{15}N bývá v případě jater nižší než v případě bílé svaloviny (Pinnegar and Polunin, 1999; Sweeting et al., 2007b; Chen et al., 2012), ale experimentálních studií zabývajících se faktory diskriminace jater je velmi málo v porovnání s těmi, které se zabývají bílou svalovinou. Potenciální výhodou jater oproti bílé svalovině je, že játra jsou metabolicky aktivnější než bílá svalovina (Madigan et al., 2012; Heady and Moore, 2012) a hypoteticky by tak mohly být lepší volbou v případě studia potravy ryb za kratší časová období.

3.2 Nedestruktivně získávané tkáně

Destruktivní odběr tkání může představovat v případě chráněných druhů ryb problém (Cano-Rocabayera et al., 2014). Proto existuje v posledních letech snaha o vytvoření metody založené na analýze takových tkání, které je možné získat z živých jedinců bez nutnosti je usmrcovat. Konkrétně se jedná o sliz (Church et al., 2009), ploutve a šupiny (Tronquart et al., 2012; Cano-Rocabayera et al., 2014; Busst et al., 2015) a tukovou ploutvičku (Graham et al., 2013; Curry et al., 2013).

Sliz

Stejně jako játra je i epidermální sliz ryb tkání, která není využívána v praxi, přestože její potenciální využití existuje. Bylo zjištěno, že sliz velmi rychle reaguje na jednorázové změny izotopového složení potravy a mohl by tak být dobrým indikátorem změn potravních návyků ryb (Church et al., 2009). O faktorech diskriminace této tkáně je toho však známo velmi málo. Ve dvou experimentálních studiích, které se tímto tématem doposud zabývaly, jsou uvedeny hodnoty $\Delta \delta^{13}\text{C} = -0,6 \pm 0,4$; $\Delta \delta^{15}\text{N} = 1,9 \pm 0,7$ ‰ (Chen et al. 2009) a $\Delta \delta^{15}\text{N} = 1,3$ ‰ (Heady and Moore, 2012). V obou případech byl studovaným organismem *O. mykiss*. Tyto studie také, jako jediné dostupné, poskytují informace o izotopových poločasech slizu. Chen et al. (2009) uvádí poločasy pro ^{13}C (27 – 35 dní) a pro ^{15}N (32 – 42 dní), Heady and Moore (2012) pouze pro ^{15}N (35,7 dní).

Ploutve

Ploutve ryb jsou tkání, které je v odborné literatuře věnováno relativně hodně pozornosti. Podle řady autorů se jedná o tkáň, jejíž faktory diskriminace nejlépe korelují s faktory diskriminace bílé svaloviny jak u kaprovitých (Tronquart et al., 2012; Busst et al., 2015), tak u lososovitých ryb (Curry et al., 2013). Tato tkáň by tak mohla potenciálně bílou svalovinu nahradit (Tronquart et al., 2012), což souvisí s aktuální snahou ekologů studujících potravní ekologii ryb vytvořit metodu založenou na některé z nedestruktivně získávaných tkání (Cano-Rocabayera et al., 2014). Proti tomu lze argumentovat tím, že rychlost výměny ploutví je rychlejší než v případě bílé svaloviny a jedná se o tkáň, jejíž izotopový poločas ^{15}N má jednu z nejnižších hodnot (Heady and Moore, 2012; Matley et al., 2015). V tomto případě je zapotřebí opatrnost, protože ploutve ryb sestávají ze dvou odlišných součástí – membrány a paprsků, které se liší ve svých izotopových hodnotách (Hayden et al., 2015), což lze vysvětlit tím, že paprsky jsou součástí kostry ryb a jako takové obsahují také anorganický karbonát, který má proměnlivou hodnotu $\delta^{13}\text{C}$ (Graham et al., 2013). Dá se také předpokládat, že

anorganický uhlík v paprscích bude mnohem méně podléhat metabolické výměně a izotopové poločasy ^{13}C a ^{15}N se tak budou u celých ploutví lišit. Těmto problémům lze čelit například odebráním pouze koncových částí ploutví, které již paprsky téměř neobsahují (Hayden et al., 2015). Faktory diskriminace ploutví kaprovitých ryb se pohybují mezi $3,11 \pm 0,11$ (*C. auratus*) a $3,90 \pm 0,08$ (*C. carassius*) pro ^{13}C a od $2,09 \pm 0,07$ (*B. barbuis*) do $3,59 \pm 0,11$ (*C. carpio*) pro ^{15}N (Busst et al., 2015).

Šupiny

Rybí šupiny jsou zatím jedinou nedestruktivně získávanou tkání, která je při studiu potravní ekologie ryb aktivně využívána (Grey et al., 2009; Hayden et al., 2014). Stejně jako ploutve i šupiny ryb sestávají ze dvou složek, vrstev, z nichž vnější je silně mineralizovaná a může obsahovat anorganický karbonát, zatímco vnitřní je tvořena hlavně kolagenem (Dawson and Siegwolf, 2007). Vnější vrstva šupin je charakteristická tím, že přirůstá pravidelně v odstředivém směru a v tomto směru jsou rozpoznatelné jednotlivé přírůstky (annuly), které reprezentují vždy jeden rok života ryb, resp. jedno období růstu (jaro až podzim). To znamená, že annulus, který se nachází nejdál od středu je nejstarší. Pro vnitřní vrstvu platí, že nejvzdálenější sekce obsahuje pouze jednu lamelu kolagenu za poslední období růstu a směrem do středu se počet lamel postupně zvyšuje (Dawson and Siegwolf, 2007). Ať se proto zkoumá jakákoli část šupiny nebo celá šupina, vždy bude obsahovat izotopy uhlíku a dusíku z různých období života ryby, vyjma ryb do jednoho roku života. Jako nejvýhodnější se proto jeví analyzovat poslední annulus šupiny, který reprezentuje poslední období růstu (Dawson and Siegwolf, 2007), přičemž rušivý vliv karbonátů lze eliminovat acidifikací (viz kapitola 4.2). I v případě tohoto postupu je však nutné počítat s tím, že během období růstu, které trvá několik měsíců, podlehnou část kolagenní složky šupiny metabolické výměně. Izotopový poločas ^{15}N je v případě šupin 40,0 dní (Heady and Moore, 2012), pro ^{13}C kolagenní složky šupin nebyl zatím izotopový poločas stanovován. Experimentální studie, při které byly zjišťovány faktory diskriminace šupin, výše uvedený problém zčásti zohlednila a autoři použili pouze oddělenou vnější sekci šupin, neprovedli však acidifikaci (Busst et al., 2015). Zjištěné hodnoty $\Delta \delta^{13}\text{C}$ se pohybovaly od $3,50 \pm 0,11$ (*C. auratus*) do $4,90 \pm 0,09$ (*S. cephalus*), hodnoty $\Delta \delta^{15}\text{N}$ od $1,96 \pm 0,08$ (*S. cephalus*) do $2,96 \pm 0,11$ (*C. carpio*).

Tuková ploutvička

Tuková ploutvička je tkáň, která je strukturálně podobná ploutvím, ale není součástí kostry a tudíž neobsahuje anorganický karbonát (Graham et al., 2013). Její nevýhodou je, že se vyskytuje pouze u lososovitých ryb. Doposud provedené studie se zabývají předvídatelností izotopových hodnot bílé svaloviny podle izotopových hodnot tukové ploutvičky, ale jejich výsledky jsou protichůdné (Curry et al., 2013; Graham et al., 2013).

4. Metody úpravy vzorků před analýzou

4.1 Extrakce lipidů

Už první studie SIA jednotlivých tkání živočichů poukázala na to, že lipidy jsou relativně ochuzeny o ^{13}C a tudíž tkáň s vysokým obsahem lipidů vykazuje nižší $\delta^{13}\text{C}$, což bylo vysvětleno diskriminací ^{13}C během syntézy lipidů (DeNiro and Epstein, 1978). Celkový obsah lipidů v organismu stejně jako v jednotlivých typech tkání se u ryb liší nejen mezi druhy (Post et al., 2007), ale také mezi jednotlivými životními stádii ryb stejného druhu nebo mezi jednotlivými populacemi (Graham et al., 2013), což přináší komplikace při porovnávání výsledků různých studií. Proto se v některých případech doporučuje obsah lipidů normalizovat buď přímou chemickou extrakcí, nebo matematickou korekcí, která má za cíl předpovědět, jak by se změnila hodnota $\delta^{13}\text{C}$, kdyby byla chemická extrakce použita (Kiljunen et al., 2006; Post et al., 2007). Podle obecného doporučení Posta et al. (2007) není u vodních organismů normalizace nutná, pokud pro všechny vzorky platí, že celkový obsah lipidů je nižší než 5 % nebo poměr C:N je nižší než 3,5; a naopak by měla být použita, pokud se porovnávají organismy s velkým rozdílem v obsahu lipidů nebo v poměru C:N (Post et al., 2007). Při chemické extrakci lipidů se používá například různě modifikovaná metoda popsaná v Bligh and Dyer (1959), při které se využívá roztoku chloroformu a methanolu (Bligh and Dyer, 1959), ale používaných metod existuje více a metodika není standardizována (Gladyshev, 2009; Boecklen et al., 2011). Matematické korekce pracují s poměrem C:N v tělech živočichů, který je relativně vysoký u takových, kteří mají v organismu relativně velké množství lipidů vzhledem k proteinům, přičemž lipidy a proteiny zastupují většinu biochemických komponentů v tělech ryb. Podle zjištění Kiljunena et al. (2006), kteří zkoumali vliv chemické extrakce lipidů na poměr C:N a hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ u čtrnácti druhů ryb, je výsledný poměr C:N u všech ryb po provedení chemické extrakce víceméně stejný ($3,08 \pm 0,22$) bez ohledu na to, jaký podíl lipidů obsahovala tkáň před

extrakcí (Kiljunen et al., 2006). Autoři podle výsledků vytvořili dvě rovnice pro výpočet $\delta^{13}\text{C}$ tkáně, která podstoupila chemickou extrakci:

$$L = 93 / (1 + (0,246 * \text{C:N} - 0,775)^{-1})$$

$$\delta^{13}\text{C}^{\text{N}} = \delta^{13}\text{C} + D * (I + (3,90 / (1 + 287 / L)))$$

L – poměrný obsah lipidů ve vzorku, C:N – poměr uhlíku a dusíku ve vzorku,

$\delta^{13}\text{C}^{\text{N}}$ – normalizovaná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ (po chemické extrakci), I – konstanta = $0,048 \pm 0,013$; D – rozdíl v izotopovém složení proteinů a lipidů = $7,018 \pm 0,263$ (Kiljunen et al., 2006)

Hlavní nevýhodou tohoto modelu je, že byl vytvořen pouze pro svalovinu ryb (Kiljunen et al., 2006) a pro jiné tkáně, například játra, tak nemusí platit. Při použití rybích šupin pro SIA by extrakce lipidů neměla pravděpodobně smysl vzhledem k tomu, že rybí šupiny jakožto kožní deriváty jsou složeny především z kolagenu a lipidy téměř neobsahují. V případě ploutví a tukové ploutvičky se poměry C:N u různých autorů liší. Někteří uvádějí hodnoty nižší než 3,5 (Curry et al., 2013; DeVries et al., 2015), jiní vyšší (Graham et al., 2013), takže s ohledem na výše uvedené doporučení (Post et al., 2007) normalizace lipidů u těchto tkání alespoň v některých případech smysl má. Toto doporučení platí nejen pro ryby, ale také pro organismy, které slouží jako potrava ryb, např. zástupce vodních bezobratlých, jejichž obsah lipidů se může velmi lišit (Svřaranta and Rautio, 2010). V případě vodních bezobratlých je však situace komplikovanější. Pro tyto živočichy se model podle Kiljunena et al. (2006) ukázal jako málo platný a autoři za možnou příčinu označují to, že se tyto organismy při SIA analyzují vcelku a kromě lipidů tak na výsledné hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ mohou mít vliv i jiné biochemické komponenty jejich těl, například glykogen nebo chitin. O problematice chitinu u vodních bezobratlých se zmiňují také Logan et al. (2008). Doporučují však pouze u těchto živočichů provést přímou chemickou extrakci a následně také okyselení (4.2). Chemická extrakce může ovlivnit hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ vzorku, což je nežádoucí jev (Logan and Lutcavage, 2008). Někteří autoři uvádějí, že takto vyvolaná změna $\delta^{15}\text{N}$ je cca 0,25 a je tudíž v mezích analytické chyby, která bývá zpravidla 0,15 – 0,25 (Pinnegar and Polunin, 1999; Post et al., 2007). Podle jiných se rozdíl hodnot $\delta^{15}\text{N}$ extrahovaných a neextrahovaných vzorků pohybuje od -2,4 do 2,9 (Logan et al., 2008) a vliv má nejen extrakce samotná, ale také konkrétní použitá metoda (Boecklen et al., 2011). Někdy je proto doporučováno, pokud je to možné, analyzovat vždy dvě série vzorků, přičemž jedna série

podstoupila chemickou extrakci a druhá ne (Sweeting et al., 2006; Logan and Lutcavage, 2008). Tento přístup má dvě výhody. Zaprvé je možné extrahované vzorky použít jako zdroj dat ohledně $\delta^{13}\text{C}$ a neextrahované ohledně $\delta^{15}\text{N}$ a zadruhé tento přístup pomáhá pochopit vliv chemické extrakce na poměry izotopů dusíku. V současné době se vede debata o tom, kdy a za jakých podmínek některou z normalizačních metod použít a zda ji vůbec použít (Post et al., 2007; Gladyshev, 2009). Protože postup jednotlivých autorů nebyl dosud v tomto ohledu sjednocen a neexistuje žádný konsenzus, který by v každém konkrétním případě poskytoval jasnou odpověď (Boecklen et al., 2011), existují pouze jednotlivá dílčí doporučení, která však mohou být aplikována pouze v omezeném měřítku (Post et al., 2007; Logan et al., 2008).

4.2 Odstranění karbonátů – acidifikace vzorku

V souvislosti s rozmáhající se tendencí využívat pro SIA tkáň, získávané nedestruktivním způsobem, je zapotřebí zmínit metodu okyselení vzorků před analýzou. Tato metoda se týká tkání, které mohou obsahovat anorganické karbonáty, což jsou právě ploutve a šupiny. Anorganické karbonáty v tělech ryb mohou mít různý původ. Mohou pocházet z potravy nebo z DIC (*dissolved inorganic carbon*), což znamená, že jejich hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ se mohou značně lišit (Perga and Gerdeaux, 2003; Fry, 2006) a tím pádem stejně jako lipidy komplikovat porovnávání různých výsledků. Karbonáty se z tkání odstraňují pomocí HCl. Podle doporučení se zpravidla používá HCl o koncentraci kolem 1M, ve které se vzorek buďto ponechá po dobu nutnou k rozpuštění veškerých karbonátů, která se odvíjí od celkové mineralizace tkáňe – doporučuje se alespoň 6 minut (Ventura and Jeppesen, 2010), a nebo se HCl nechá na vzorek kapat tak dlouho, dokud je pozorován vývoj CO_2 (Jacob et al., 2005). Dále se doporučuje vzorek rovnou vysušit a analyzovat, aby se zamezilo ztrátám rozpuštěné organické hmoty (Jacob et al., 2005), někteří autoři však před samotnou analýzou ještě omývají vzorky destilovanou vodou (Grey et al., 2009). Stejně jako v případě extrakce lipidů není přístup k okyselení vzorků jednotný a o vlivu této metody na naměřené izotopové poměry se vedou diskuse (Ventura and Jeppesen, 2010). Jacob et al. (2005) se zaměřili na mořské ryby a zjistili, že u svaloviny, která karbonáty neobsahuje, má okyselení pouze minimální vliv na izotopové hodnoty. Konkrétně v případě $\delta^{13}\text{C}$ byla u okyselené tkáňe naměřena v průměru hodnota o 0,117 (\pm 0,037) nižší. Rozmezí přesnosti analytické metody přitom bylo \pm 0,15. V případě $\delta^{15}\text{N}$ byla naměřená hodnota v průměru o 0,320 (\pm 0,044) nižší (Jacob et al., 2005). Perga and Gerdeaux (2003) zkoumali vliv okyselení na izotopové hodnoty naměřené u šupin *C. lavaretus* a zjistili, že

okyselené šupiny vykazují v průměru o 1,3 vyšší hodnotu jak pro $\delta^{13}\text{C}$ ($\pm 0,6$), tak pro $\delta^{15}\text{N}$ ($\pm 0,3$) (Perga and Gerdeaux, 2003). Pinnegar and Polunin (1999), kteří analyzovali juvenilní stadia *O. mykiss* vcelku, zjistili, že okyselení těchto vzorků má za následek pouze zanedbatelnou změnu $\delta^{13}\text{C}$ a malé zvýšení hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ o 0,55 (Pinnegar and Polunin, 1999). Vliv okyselení vzorků na $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$ však nebyl hlavní náplní této studie, proto chybí detaily jako např. počet jedinců použitých pro analýzu. Studii zaměřenou na šupiny kaprovitých ryb provedli Ventura and Jeppesen (2010). Podle jejich výsledků jsou u všech sledovaných ryb rozdíly v hodnotách δ mezi neokyselenými a okyselenými vzorky šupin velmi malé. Výsledky ukazuje tab. 2.

druh	počet jedinců	$\delta^{13}\text{C}_{\text{NEOKYSELENÉ - OKYSELENÉ}}$	$\delta^{15}\text{N}_{\text{NEOKYSELENÉ - OKYSELENÉ}}$
<i>R. rutilus</i>	35	0,274 \pm 0,337	- 0,297 \pm 0,255
<i>S. erythrophthalmus</i>	24	0,074 \pm 0,679	- 0,114 \pm 0,410
<i>A. brama</i>	11	0,179 \pm 0,184	- 0,518 \pm 0,230
<i>T. tinca</i>	5	0,024 \pm 0,235	0,162 \pm 0,801

Tabulka 2 – rozdíly mezi průměrnými hodnotami $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$ neokyselených a okyselených vzorků šupin u čtyř druhů kaprovitých ryb (Ventura and Jeppesen, 2010)

Syväranta et al. (2008) došli k závěru, že v případě šupin *R. rutilus* způsobuje okyselení zvýšení hodnot $\delta^{13}\text{C}$ o 0,14 \pm 0,16 a $\delta^{15}\text{N}$ o 0,38 \pm 0,10 (Syväranta et al., 2008). Ačkoli většina výsledků výše uvedených studií je konzistentní v tom, že změny v hodnotách $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$ způsobené okyselením vzorků jsou relativně malé, některé výsledky naznačují opak (Perga and Gerdeaux, 2003), proto pravděpodobně není možné vliv okyselení generalizovat, protože závisí na řadě faktorů, což může být například rozdílná mineralizace šupin a především rozdílný podíl karbonátů u různých druhů ryb. Ventura and Jeppesen (2010) vysledovali, že vliv okyselení roste podle očekávání se zvyšujícím se podílem karbonátů v šupinách (Ventura and Jeppesen, 2010). Pokud je tedy k dispozici dostatek šupin, je možné podle návodu těchto autorů nejprve určit mineralizaci a podíl karbonátů v šupinách a na základě toho se rozhodnout, zda je účelné provést okyselení či nikoli. Pokud se týká vlivu okyselení na naměřené izotopové hodnoty u rybích ploutví, nebyla nalezena žádná studie, která by se tímto tématem zabývala ve smyslu přímého měření a porovnání hodnot okyselených a neokyselených ploutví. Je však důvod se domnívat, že se vliv okyselení může projevit u ploutví stejně jako u šupin, pokud jsou součástí vzorku paprsky ploutví.

5. Využití SIA v potravní ekologii ryb

5.1 Zdroje potravy ryb

Důležitým využitím stabilních izotopů uhlíku a dusíku je měření relativního zastoupení různých zdrojů potravy ve stravě ryb. Jako zdroje je možné uvést například autochtonní vs. alochtonní (Weidel et al., 2008; Medeiros and Arthington, 2010), litorální vs. pelagické (Visconti et al., 2014) nebo přímo jednotlivé složky potravy ryb – fytoplankton, vodní makrofyta, pobřežní vegetace, zooplankton, vodní hmyz, bentos, jiné ryby etc. podle potřeby dané studie (Guo et al., 2014; Dromard et al., 2015). Aby bylo možné zastoupení zdrojů kvantifikovat, je nutné splnit dva základní předpoklady:

- 1) zdroje potravy sledované ryby jsou předem známé
- 2) jsou známé faktory diskriminace mezi těmito zdroji a sledovanou rybou

První předpoklad je možné naplnit v zásadě třemi způsoby. Jednak je možné předem identifikovat různé složky v potravě ryby pomocí metody GCA nebo tyto zdroje odhadnout na základě již nabytých poznatků nebo předem analyzovat všechny možné zdroje, které jsou na dané lokalitě pro rybu k dispozici. Naplnit druhý předpoklad úplně není v podstatě možné, protože by to znamenalo změřit u každého jednotlivého druhu ryb a u konkrétní tkáně, nakolik frakcionuje ^{13}C z každého konkrétního zdroje potravy, což by bylo pro potřeby jedné studie neúměrně nákladné a komplikované. Faktory diskriminace jednotlivých tkání, především nejčastěji používané bílé svaloviny, jsou popsány v kapitole 3. Dalším krokem po naplnění obou předpokladů je vlastní měření izotopových poměrů konzumenta a zdrojů potravy a aplikace vybrané matematické metody na vyhodnocení výsledků. Zvolená metoda by měla odpovídat množství a kvalitě vstupních dat, složitosti sledovaného systému a nárokům dané studie (Layman et al., 2011). U jednoduchých systémů, ve kterých je malé množství různých zdrojů potravy, stačí použít lineární modely, z nichž nejčastěji používaný je ten, který vyvinul Phillips (2001). Tento model umožňuje přesně určit procentuální zastoupení $n+1$ zdrojů potravy při znalosti n izotopových poměrů každého zdroje. Při analýze uhlíku a dusíku, tedy dvou prvků ($n = 2$) je proto tímto způsobem možné určit přesné zastoupení nanejvýš tří zdrojů potravy. Na tomto základu funguje počítačový software *IsoSource* používající programovací jazyk *Visual Basic* (Phillips and Gregg, 2003), který se hojně využíval v

minulosti a i dnes v případě jednodušších systémů postačuje (Layman et al., 2011). V současnosti se však pro studium složitějších systémů, kde počet zdrojů výrazně převyšuje počet jejich známých izotopových poměrů, používají sofistikovanější modely, které jsou součástí softwaru *SIAR (Stable isotope analysis in R)* používající programovací jazyk *R* a metody Bayesovské statistiky (Parnell et al., 2010; Layman et al., 2011).

5.2 Trofická úroveň ryb

Jak už bylo zmíněno, má analýza stabilních izotopů dusíku v potravních studiích důležité využití při stanovování trofické úrovně organismů v daném ekosystému (Cabana and Rasmussen, 1996; Post, 2002). Trofická úroveň byla organismům tradičně přisuzována podle jejich postavení v konkrétním potravním řetězci (zpravidla 1 pro primární producenty, 2 pro primární konzumenty – herbivory, 3 pro predátory primárních konzumentů etc.). Zároveň se pro popis toku energie mezi organismy používaly lineární potravní řetězce, které nebyly schopné zachytit jevy jako např. všežravost, nebo potravní sítě, které selhávaly při popisu relativní důležitosti různých zdrojů potravy. SIA toto vše umožňuje (Vander Zanden et al., 1997; Gladyshev, 2009). Pro stanovení trofické úrovně se využívají pouze izotopy dusíku. Teoreticky by sice bylo možné používat i izotopy uhlíku, ale dusík je v tomto případě výhodnější, protože faktor diskriminace ^{13}C standardně využívané bílé svaloviny je diskutabilnější než v případě ^{15}N (Busst et al., 2015). Poznatek, kterého se využívá, je, že vyšší postavení v potravním řetězci znamená vyšší relativní obohacení o ^{15}N . Každý jednotlivý krok směrem nahoru v potravním řetězci tak odpovídá určitému obohacení, které se rovná faktoru diskriminace ^{15}N mezi potravou a konzumentem. Měření trofické úrovně musí vždy vycházet z konkrétního základu, který je reprezentován organismy, stojícími na základně pomyslné potravní pyramidy (Post, 2002). Tento základ se označuje anglickým slovem *baseline*. Protože hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ primárních zdrojů (perifyton, detrit) se značně liší v čase, používají se jako *baseline* primární konzumenti, kteří v sobě integrují hodnoty primárních zdrojů (Cabana and Rasmussen, 1996; Post, 2002; Rybczynski et al., 2008), což předpokládá, že žijí dostatečně dlouho, aby se minimalizoval vliv časové variability. Například Post (2002) používá jako *baseline* vodní plže a mlže (Post, 2002). Samotná trofická úroveň se počítá například podle rovnice:

$$TP = (\delta^{15}N_{\text{consumer}} - \delta^{15}N_{\text{baseline}}) / 3,4 + 2 \text{ (Cabana and Rasmussen, 1996; Post, 2002)}$$

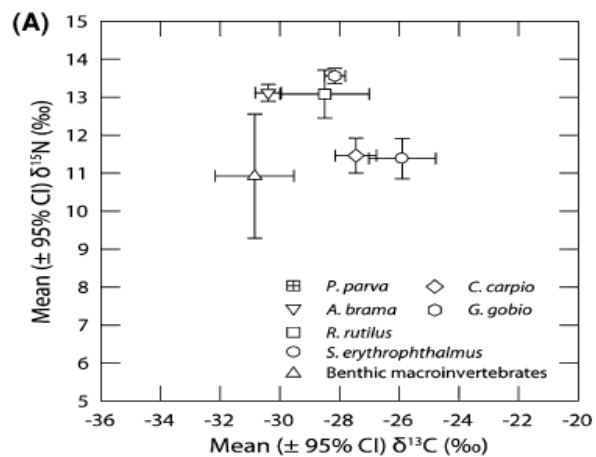
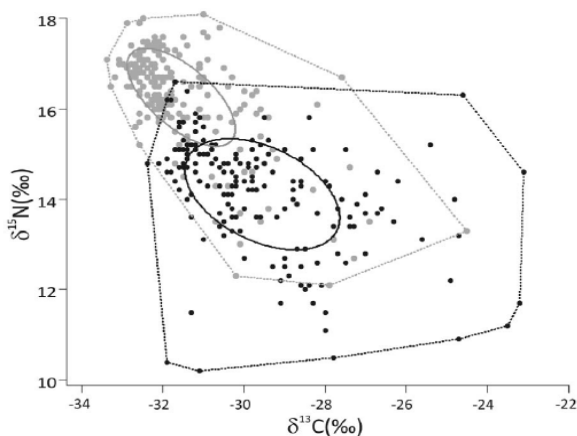
TP – trofická úroveň (*trophic position*), $\delta^{15}N_{\text{consumer}}$ – naměřená hodnota $\delta^{15}N$ u sledovaného organismu – ryby, $\delta^{15}N$ – naměřená hodnota $\delta^{15}N$ u primárních konzumentů, použitých jako *baseline*, 3,4 – faktor diskriminace ^{15}N , 2 – trofická úroveň *baseline* (hodnota 2 je použita proto, že se jedná již o konzumenty).

V současné době se použitý faktor diskriminace ^{15}N liší mezi jednotlivými autory. Například Guo et al. (2014) nebo Inger et al. (2010) použili hodnotu 3,3; zatímco Cresson et al. (2014) se drželi hodnoty 3,4. Zpravidla však, až na výjimky (Hayden et al., 2014), použitá hodnota nevybočuje z doporučeného rozmezí 3,0 – 3,4 (Sweeting et al., 2007b). Trofickou úroveň ryb lze určovat také pomocí metod založených na GCA, přičemž výsledky se významně neliší od SIA (Rybczynski et al., 2008).

5.3 Potravní nika ryb

Jako poslední je v souvislosti s využitím stabilních izotopů uhlíku a dusíku v potravních studiích zapotřebí zmínit koncept izotopové niky (*isotopic niche*). Izotopová nika je v tomto kontextu potravní (trofická) nika daného organismu vyjádřená pomocí hodnot $\delta^{13}C$ a $\delta^{15}N$. Šířka izotopové niky se standardně vyjadřuje dvěma způsoby. Základem obou způsobů je vynesení naměřených hodnot jako bodů v rovině, přičemž osy x a y reprezentují $\delta^{13}C$ a $\delta^{15}N$ (Layman et al. 2007; Jackson et al., 2011). Počet vnesených bodů se rovná počtu analyzovaných jedinců. První způsob je vymezení plochu pomocí vzniklých bodů tak, aby měla co nejmenší povrch a zároveň aby všechny body ležely uvnitř. Tato plocha, která zároveň vyjadřuje šířku izotopové niky daného organismu se nazývá *convex hull area* nebo také *total area* a podle toho se značí TA (Layman et al., 2007). Druhou možností je použít k vyjádření šířky izotopové niky plochu elipsy, přičemž tato plocha se potom označuje jako *standard ellipse area* a značí se SEA (Jackson et al., 2011). Zatímco první způsob je poměrně jednoduchý, pro výpočet elipsy je zapotřebí specializovaný software, zpravidla SIBER (*Stable isotope Bayesian ellipses in R*). První způsob pomocí *total area* je velmi citlivý na extrémní hodnoty, proto se za přesnější považuje druhý způsob, ovšem i ten je poměrně nepřesný zejména při malém počtu analyzovaných jedinců, proto se někdy používá upravená hodnota SEA (*standard ellipse area, corrected*), která se značí SEA_c a která se používá tehdy, pokud je počet analyzovaných

jedinců příliš nízký (Jackson et al., 2012). Zatímco Jackson et al. (2012) doporučují při použití SEA_C analyzovat vždy nejméně deset jedinců, Syväranta et al. (2013) doporučují nejméně třicet, aby byly parametry výsledné niky dostatečně robustní (Jackson et al., 2012; Syväranta et al., 2013). Izotopovou niku je možné kromě dvou uvedených způsobů vyjádřit v soustavě souřadnic také jednoduše pomocí dvou úseček, které reprezentují rozpětí izotopových hodnot C a N daného organismu. Tento způsob je dobrý jako ukazatel rozpětí izotopových hodnot mezi jedinci v dané populaci, nicméně pro výpočet šířky niky se nepoužívá. Všechny tři způsoby ilustrují pro lepší představu obr. 1 a 2. Šířka izotopové niky může pomoci určit míru potravní specializace daného druhu, přičemž nejširší potravní niky mívají zpravidla omnivorní druhy jako např. plotice obecná, *R. rutilus* (Young et al., 2015). Je patrné, že pokud se potravní nika popisuje pomocí TA nebo SEA, nezávisí její charakter jen na šířce, ale také na tvaru a orientaci. Pro interpretaci potravních vztahů mezi více druhy je důležitý také překryv (*overlap*). Překryv nik různých druhů ryb je možné vypočítat více způsoby, ale v případě SEA se vyjadřuje pro dva druhy ryb jako procentuální podíl celkové plochy niky, který jeden druh sdílí s druhým (Jackson and Britton., 2013; Bašić and Britton, 2014). Míra překryvu bývá zřetelná také z grafického zobrazení, viz obr. 1. Pokud se niky vzájemně vůbec nepřekrývají, značí to, že dané ryby využívají odlišné zdroje potravy, a naopak čím větší je vzájemný překryv nik, tím větší podíl zdrojů ryby sdílejí (Bašić and Britton, 2014). Těchto poznatků se využívá především v invazní ekologii ryb, kde se pomocí izotopových nik zkoumají potravní vztahy mezi původními a nepůvodními druhy, zejména potravní kompetice (Britton et al., 2009; Tran et al., 2015).



Obr. 1 (vlevo) – Grafické zobrazení potravní niky pomocí TA (polygony) a SEA (elipsy; přejato ze Syväranta et al., 2013). **Obr. 2** (vpravo) – Jednoduché grafické zobrazení potravní niky pomocí rozmezí izotopových hodnot (přejato z Britton et al., 2009).

6. Aplikace SIA v potravní ekologii ryb

Tato část se zabývá vybranými ekologickými studiemi, ve kterých byly zkoumány zdroje potravy evropských kaprovitých ryb, jejich trofická úroveň a potravní nika pomocí SIA. Je nutné dodat, že toto rozdělení není v ekologických studiích striktní a jejich cílem nebývá pouze určit, jaké jsou zdroje potravy dané ryby nebo jak je její potravní nika široká, ale spíše to, jak získané poznatky pomáhají pochopit např. vlivy invazí na potravní vztahy v ekosystému (Britton et al., 2009) nebo časovou proměnlivost zdrojů potravy ryb (Visconti et al., 2014; Nguetseng et al., 2015). Potravní nika ryb nebývá nikdy měřena u jediného druhu, ale zpravidla v kombinaci s jinými druhy s cílem zjistit, jak se niky překrývají (Jackson and Britton, 2013; Tran et al., 2015). V současnosti panuje značná nerovnováha v množství poznatků u jednotlivých druhů a typů ekosystémů. Například konkrétní zdroje potravy ve stojatých vodách byly doposud pomocí SIA zkoumány pouze u *R. rutilus* a naopak v tekoucích vodách nebyly u tohoto druhu zkoumány vůbec. Obecně platí, že studií využívajících SIA, zaměřených na zdroje potravy kaprovitých ryb je velmi málo a všechny pocházejí z období posledních max. deseti let. Studií zabývajících se trofickou úrovní kaprovitých ryb je také pouze několik. Navíc se samotným výpočtem trofické úrovně ryb je možné se setkat pouze u některých autorů, nicméně pokud se porovnává více druhů ve stejném ekosystému, stačí u jednotlivých druhů znát jejich hodnoty $\delta^{15}\text{N}$, protože *baseline* je pro všechny ryby stejný a rozdíl v hodnotě $\delta^{15}\text{N}$ cca 3,4 ‰ znamená trofickou úroveň o 1 vyšší nebo nižší (Post, 2002). Naopak hodnoty *baseline* je zapotřebí znát, pokud se porovnávají ryby z různých ekosystémů, protože v takovém případě se tyto hodnoty budou velmi pravděpodobně lišit. Stejně tak i u potravní niky je možné si udělat alespoň základní obraz z pouhého rozptylu izotopových hodnot, viz obr. 2, nicméně pro kvantifikaci šířky niky nebo překryvu u různých druhů je zapotřebí použít výpočtu pomocí TA nebo SEA. V příloze 2 jsou formou tabulky uvedeny hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$ evropských druhů kaprovitých ryb, které naměřili různí autoři.

Zdroje potravy kaprovitých ryb ve stojatých vodách

Hayden et al. (2014) zkoumali potravu *R. rutilus* ve čtyřech eutrofních a čtyřech mezotrofních jezerech v Irsku. Autoři této studie ověřovali platnost těchto hypotéz:

1) *R. rutilus* využívá nejvíce takové zdroje potravy, které vykazují nejvyšší produktivitu

2) *R. rutilus* mění zdroje potravy v závislosti na ročním období (autoři se omezili na jaro a léto)

První hypotéza předpokládala, že *R. rutilus* se bude v mezotrofních jezerech živit převážně v litorálu, který je v těchto ekosystémech nejproduktivnější a oproti tomu v eutrofních jezerech se bude převážně živit potravou pelagického původu. Tato hypotéza se ukázala jako neplatná. Podle analýzy SIA dominovaly ve třech ze čtyř eutrofních jezer ve složení potravy spíše zdroje litorálního původu a naopak ve všech čtyřech mezotrofních jezerech se *R. rutilus* živila převážně potravou pelagického původu. Pokud se týká druhé hypotézy, byly podle metody GCA změny v potravě v závislosti na ročním období evidentní, zatímco analýza SIA ukázala vyšší variabilitu v potravě mezi jednotlivými jezery než mezi ročními obdobími, což značí, že *R. rutilus* se na různých lokalitách „drží“ svých zdrojů potravy – pelagických nebo litorálních a v rámci těchto zdrojů konzumuje různé živočichy podle dostupnosti na jaře a v létě (Hayden et al., 2014). Na šupinách *R. rutilus* se pomocí SIA podařilo dokumentovat změnu v dynamice izotopů uhlíku a dusíku v eutrofním jezeře, ve kterém byl cíleně odstraněn sediment v rámci biomanipulace (Grey et al., 2009). V období eutrofizace před biomanipulací byly pravidelně měřeny vyšší hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ a nižší hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ než po odstranění sedimentu, a to jak u *R. rutilus*, tak u zooplanktonu. Předpokládalo se, že vybraní jedinci, jejichž šupiny byly analyzovány, se živili právě zooplanktonem, protože se jednalo o juvenilní ryby mezi prvním a druhým rokem života (1+) a podle *tissue turnover* šupin bylo odhadnuto, že tyto šupiny v sobě integrují izotopové poměry potravy, kterou ryby konzumovaly, když byly staré do jednoho roku a byly při výběru potravy výrazně limitované její velikostí. Autoři z výsledků vyvozují, že *R. rutilus* nepřešla po biomanipulaci jezera na jinou potravu, ale odstranění sedimentu bohatého na fosfáty s sebou přineslo pokles produkce fytoplanktonu a relativní zvýšení podílu respirace na bilanci CO_2 , což způsobilo snížení naměřených hodnot $\delta^{13}\text{C}$, protože respirovaný CO_2 je relativně ochuzený vzhledem k CO_2 z atmosféry. Izotopové hodnoty *R. rutilus* a zooplanktonu před a po biomanipulaci spolu dobře korespondovaly (Grey et al., 2009). Tvrzení, že se juvenilní stadia *R. rutilus* živí převážně zooplanktonem podporují i zjištění Agasild et al. (2013), kteří se zabývali eutrofním jezerem v Estonsku. Převaha zooplanktonu byla zřejmá při použití obou metod SIA i GCA (Agasild et al., 2013). Visconti et al. (2014) zkoumali zastoupení pelagických zdrojů v potravě *R. rutilus* v oligotrofním subalpinském jezeře Maggiore v Itálii v průběhu roku. Podle SIA analýzy se *R. rutilus* živí potravou pelagického původu nejvíc v srpnu, kdy byl určen podíl pelagické potravy 96 %, méně potom v červenci (64 %) a v listopadu (46 %), což podporuje

tvrzení, že *R. rutilus* je oportunista, schopný využívat různé zdroje podle potřeby (Visconti et al., 2014). Výsledky SIA analýzy použité v této studii korespondují s dříve publikovanými výsledky GCA analýzy, podle kterých se *R. rutilus* v jezeře Maggiore žíví v letních měsících převážně zooplanktonem a v zimních měsících řasami, bentickými bezobratlými a detritem (Volta and Jepsen, 2008). V oligotrofním jezeře v Mongolsku byla vysledována tendence *R. rutilus* měnit zdroje potravy v průběhu ontogeneze (Young et al., 2015). Bylo zjištěno, že malí jedinci se žíví převážně pelagickými zdroji – zooplanktonem a s rostoucí délkou těla roste podíl bentické potravy, která u dospělých jedinců o velikosti kolem 40 cm převažuje. Spolehlivost vysledované regresní závislosti byla velmi malá ($R^2 = 0,2$) a rozptyl hodnot vysoký, což naznačuje, že *R. rutilus* je po celý život omnivorní a nespécializuje se na jediný zdroj potravy.

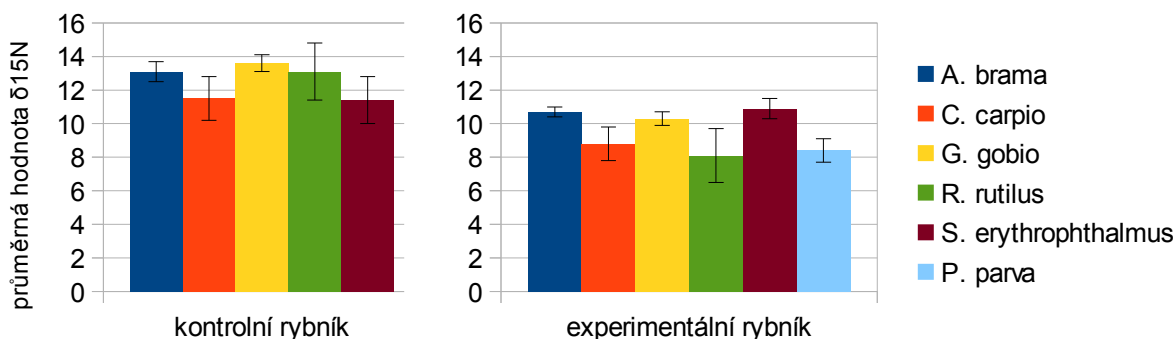
Zdroje potravy kaprovitých ryb v tekoucích vodách

Bašić et al. (2014) se zabývali zdroji potravy *B. barbus* ve čtyřech anglických řekách, u kterých se předpokládalo, že určitou část potravy ryb budou tvořit kromě přirozených zdrojů také granule, určené k dokrmování ryb pro sportovní rybolov. Autoři jako referenční tkáň použili šupiny, ale pro lepší porovnatelnost převedli hodnoty šupin na hodnoty svaloviny podle regresní rovnice, protože hodnoty šupin u kaprovitých ryb často dobře korelují s hodnotami svaloviny (Tronquart et al., 2012; Cano-Rocabayera et al., 2014). Bylo překvapivě zjištěno, že umělé granule představují převážnou část stravy *B. barbus*, ve které jsou dále zastoupeny také malé ryby a členovci včetně například raka signálního (*Pacifastacus leniusculus*), pokud se na daných lokalitách vyskytoval (Bašić et al., 2014).

Trofická úroveň kaprovitých ryb ve stojatých vodách

Na příkladu *P. parva* bylo poukázáno na to, jak může nepůvodní druh ovlivnit potravní vztahy ve společenstvech kaprovitých ryb v rybnících. Britton et al. (2009) se zaměřili na dva rybníky v Anglii. V prvním z nich (kontrolní rybník) se *P. parva* nevyskytovala a ve druhém (experimentální rybník) představovala více než 99 % veškerých přítomných ryb. Zároveň se v obou rybnících vyskytovaly populace *R. rutilus*, *S. erythrophthalmus*, *G. gobio*, *A. brama* a *C. Carpio*. V experimentálním rybníku byly u všech druhů naměřeny vyšší hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ a zároveň u všech druhů s výjimkou *S. erythrophthalmus* výrazně nižší hodnoty $\delta^{15}\text{N}$, což by odpovídalo absenci jednoho celého kroku v potravním řetězci oproti kontrolnímu rybníku. Také trofické úrovně vyjádřené pomocí $\delta^{15}\text{N}$ byly v obou rybnících odlišné. Výsledky ukazují obr. 3. Rozdílné výsledky v obou

rybnících vysvětlují autoři tak, že ve druhém rybníku mohl tlak vyvíjený na zooplankton jeho konzumací dominantní populací *P. parva* být tak velký, že vyvolal relativní zmenšení zástupců zooplanktonu, kteří proto nemohli konzumovat sinice, které se tak mohly stát dominantními, pokud se týká primární produkce. Odpovídalo by to změně hodnot $\delta^{13}\text{C}$ a $\delta^{15}\text{N}$, protože sinice jsou relativně ochuzené o $\delta^{15}\text{N}$ díky schopnosti fixovat vzdušný dusík a relativně obohacené o $\delta^{13}\text{C}$ (Britton et al., 2009). Relativně vyšší trofická úroveň *S. erythrophthalmus* ve druhém rybníku mohla být podle autorů způsobená přímou konzumací *P. parva* tímto druhem (Britton et al., 2009).



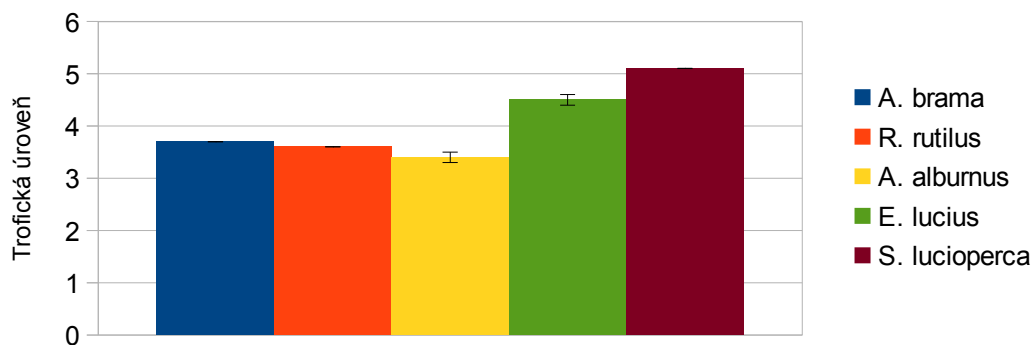
Obr. 3 – Relativní trofické úrovně kaprovitých ryb vyjádřené pomocí $\delta^{15}\text{N}$ v rybníku bez výskytu *P. parva* (vlevo) a s výskytem *P. parva* (vpravo). Chybové úsečky jsou směrodatné odchylky (Britton et al., 2009).

Uvedená směrodatná odchylka může také naznačovat potravní specializaci v rámci druhu. Například *R. rutilus*, u které jsou její hodnoty v obou rybnících relativně vysoké, je považována za omnivorní druh a vysoký rozptyl hodnot $\delta^{15}\text{N}$ tomu skutečně odpovídá. Rozptyl hodnot $\delta^{15}\text{N}$ *S. erythrophthalmus* je nižší v experimentálním rybníku, což značí užší potravní spektrum a podporuje hypotézu o možné konzumaci *P. parva*. Otázku, zda se některé původní druhy ryb „brání“ invazi *P. parva* její přímou konzumací, vznesl také Britton (2012) v případě *C. carpio*. Další srovnání trofické úrovně kaprovitých ryb v rybnících poskytuje studie Tran et al. (2015), kteří již použili výpočet trofické úrovně s použitím faktoru diskriminace $\Delta \delta^{15}\text{N} = 3,4 \text{ ‰}$. Byly porovnávány trofické úrovně původního druhu *T. tinca* a nepůvodní *P. parva*. Podle výsledků okupuje *P. parva* nižší trofickou úroveň. Ve čtyřech sledovaných rybnících se trofická úroveň této ryby pohybovala od $2,40 \pm 0,05$ do $3,15 \pm 0,05$; zatímco v případě *T. tinca* se hodnota pohybovala od $3,06 \pm 0,06$ do $3,96 \pm 0,04$ (Tran et al., 2015), což odpovídá zjištění Brittona et al. (2009), kteří také zaznamenali relativně nízkou trofickou úroveň *P. parva*, která může být dána její malou velikostí, která ji potravně limituje. Studie

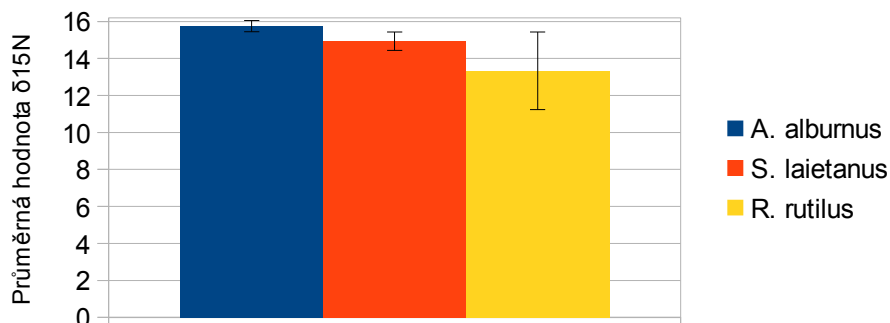
Young et al. (2015) nabízí porovnání trofické úrovně *R. rutilus* a predátora *P. fluviatilis* v oligotrofním jezeře. S použitím faktoru diskriminace $\Delta \delta^{15}\text{N} = 3,4 \text{ ‰}$ autoři vypočítali trofickou úroveň $3,4 \pm 0,3$ pro *R. rutilus* a $3,7 \pm 0,3$ pro *P. fluviatilis*. Zároveň byl pozorován pokles trofické úrovně *R. rutilus* s rostoucí velikostí jedinců. Tento trend však vykazoval velmi nízkou spolehlivost vzhledem k relativně vysokému rozptylu izotopových hodnot *R. rutilus* (Young et al., 2015). Vysoký rozptyl izotopových hodnot značí schopnost *R. rutilus* využívat relativně široké spektrum zdrojů.

Trofická úroveň kaprovitých ryb v tekoucích vodách

Syväranta et al. (2010) se zaměřili na společenstvo ryb v řece Tarn v jihozápadní Francii a vypočítali trofickou úroveň některých kaprovitých ryb za použití faktoru diskriminace $\Delta \delta^{15}\text{N} = 3 \text{ ‰}$. Obr. 4 ukazuje výsledky pro kaprovité ryby a také pro vrcholové predátory *E. lucius* a *S. lucioperca*. Z výsledků vyplývá, že přítomné kaprovité ryby jsou na podobné trofické úrovni a pravděpodobně slouží jako potrava pro predátory, jejichž vyšší trofická úroveň podle SIA odpovídá jednomu a více krokům v potravním řetězci. Cano-Rocabayera et al. (2014) poskytují data o izotopových hodnotách některých kaprovitých ryb v řekách, která napovídají relativní trofickou úroveň těchto ryb, ačkoli autoři sami výpočet trofické úrovně neprovedli. Výsledky ukazuje obr. 5 a je patrné, že *A. alburnus* a *S. laietanus* nemají trofickou úroveň tak proměnlivou jako *R. rutilus*. Toto zjištění odpovídá omnivorní povaze *R. rutilus* a koresponduje s údaji ze stojatých vod (Britton et al., 2009; Young et al., 2015).



Obr. 4 – Trofické úrovně vybraných druhů ryb v řece Tarn. Chybové úsečky jsou střední chyby průměru (Syväranta et al., 2010).



Obr. 5 – Relativní trofické úrovně kaprovitých ryb z řek v severovýchodním Španělsku vyjádřené pomocí $\delta^{15}\text{N}$. Chybové úsečky jsou směrodatné odchylky (Cano-Rocabayera et al., 2014).

Potravní nika kaprovitých ryb ve stojatých vodách

Potravní nika vyjádřená pomocí SIA poskytuje dva typy informací. Zaprvé míru potravní specializace daného druhu v daném ekosystému, přičemž užší nika znamená vyšší specializaci, protože rozptyl izotopových hodnot a tedy i množství různých zdrojů je nižší, a zadruhé míru potravní kompetice různých druhů porovnáním překryvů jejich nik. S druhým zmíněným využitím je možné se v současné době setkat nejčastěji v souvislosti s invazí *P. parva* a vztahů tohoto druhu s původními druhy kaprovitých ryb. Ve stojatých vodách mají obecně relativně úzkou niku druhy jako např. *S. erythrophthalmus* nebo *A. brama*, a to jak v případě, že se vyskytují na dané lokalitě pouze tyto dva druhy (Jackson and Britton, 2013), tak tehdy, kdy se vedle nich společně vyskytují i jiné druhy, např. *P. parva*, *R. rutilus*, *C. carpio* nebo *G. gobio* (Britton et al., 2009; Jackson and Britton, 2013). Podle Brittona et al. (2009) měl ve dvou studovaných rybnících nejužší niku ze všech přítomných druhů *G. gobio*, viz také obr. 3, jiní autoři se však tomuto druhu ve stojatých vodách nevěnují. Naopak nejširší niku obsazuje zpravidla *R. rutilus*, a to jak v rybnících (Britton et al., 2009), tak v eutrofních (Sharma et al., 2008) nebo oligotrofních (Young et al., 2015) jezerech. Nejširší potravní nika *R. rutilus* však není všeobecně platným pravidlem a existují také lokality, na kterých obsazuje tento druh niku velmi úzkou, zejména pokud se vyskytuje společně s *P. parva*, jejíž nika se s nikou *R. rutilus* z velké části překrývá (Jackson and Britton, 2013). Tento jev je možné vysvětlit tak, že všichni analyzovaní jedinci *R. rutilus* na těchto lokalitách byli velmi malí (max. 8,6 cm, spíše méně) a byli limitováni velikostí potravy (viz také Britton et al., 2009). Naopak jedinci *P. parva*, kteří byli velikostně srovnatelní s jedinci *R. rutilus* obsazovali neobvykle širokou niku

(Jackson and Britton, 2013). Je tedy možné, že populace *R. rutilus* byla lépe schopná využívat jeden zdroj potravy (nejspíše zooplankton) a populace *P. parva* byla nucena se uchýlit také k jiným zdrojům. Proměnlivá šířka niky *P. parva* byla pozorována také na lokalitách, kde se tento druh vyskytoval společně s *T. tinca*, přičemž potravní niky těchto druhů se vzájemně nepřekrývaly vůbec (Tran et al., 2015). Zatímco šířka niky *T. tinca* byla na všech lokalitách podobná, v případě *P. parva* se značně lišila (Tran et al., 2015). Tato zjištění napovídají, že *P. parva* je schopná využívat široké spektrum zdrojů, nicméně preferuje pouze některé. Kromě *R. rutilus* se potravní nika *P. parva* překrývá také s nikou *S. erythrophthalmus*, a to až z 90 % nebo *C. carpio* (49 %), a velmi málo s *A. brama* (max. 10 %; Jackson and Britton, 2013).

Potravní nika kaprovitých ryb v tekoucích vodách

Údaje o potravních nikách kaprovitých ryb v řekách jsou velmi omezené počtem druhů, u kterých byla dosud tato problematika studována. Také v řekách se potvrzuje, že nejužší niku mívá ve společenstvech kaprovitých ryb *A. brama* (Syväřanta et al., 2010; Bašić and Britton, 2014), avšak údaje ohledně *S. erythrophthalmus* ve vztahu k ostatním evropským kaprovitým rybám nejsou známy a tento druh je studován jako invazní především v USA (Guinan et al., 2015). Dalším druhem s velmi úzkou nikou je *A. alburnus* (Syväřanta et al., 2010; Cano-Rocabayera et al., 2014) a také *R. rutilus* mívá v řekách užší niku než ve stojatých vodách (Syväřanta et al., 2010; Cano-Rocabayera et al., 2014), což může být způsobeno tím, že v řekách se zooplankton vyskytuje v menší míře a tento zdroj potravy *R. rutilus* není využíván. Nejširší niky naopak obsazují zástupci rodu *Squalius* popř. *Leuciscus*, jako jsou např. *S. laietanus* ve Španělsku (Cano-Rocabayera et al., 2014) nebo *S. cephalus* a *L. leuciscus* na některých lokalitách v Anglii, ačkoli šířky nik se výrazně liší mezi lokalitami (Bašić and Britton, 2014).

7. Diskuse

SIA je metoda, která se neustále vyvíjí a zdokonaluje, zároveň však vyvstávají nejrůznější otázky, které je potřeba zodpovědět. První otázkou je využití tkání. Je zřejmé, že zdaleka nejlépe popsané je využití svaloviny, není proto důvod přestat tuto tkáň využívat i nadále, zvláště u ryb, které již byly usmrceny za jiným účelem, například u těch, u kterých byla provedena analýza GCA. Obě metody se v tomto případě dají kombinovat, což umožňuje detailnější pohled na jejich potravní chování. V

případě svaloviny je užitečné odebrat dvě sady vzorků (od každého jedince jeden) a u jedné sady provést extrakci lipidů nebo matematickou korekci a tuto sadu použít jako zdroj dat ohledně $\delta^{13}\text{C}$, a druhou sadu bez extrakce pro $\delta^{15}\text{N}$ (Sweeting et al. 2006). Kromě svaloviny je vhodné odebrat také vzorky ploutví a šupin, protože tyto tkáně poskytují náhled na jiná časová období než svalovina (Heady and Moore, 2012). Vzorky ploutví nebo šupin je možné odebírat také rutinně z živých jedinců. U těchto vzorků je opět vhodné odebrat dvě sady a u jedné odstranit karbonáty pomocí HCl a použít okyselenou sadu jako zdroj dat ohledně $\delta^{13}\text{C}$ a neokyselenou pro $\delta^{15}\text{N}$ (Ventura and Jeppesen, 2010). Okyselení a extrakce lipidů částečně kompenzují vliv *isotopic routing*, protože po extrakci resp. okyselení zůstává ve tkáni převážně proteinová složka, zvláště u šupin (Ventura and Jeppesen, 2010). S otázkou tkání souvisí otázka diskriminačních faktorů. Je na místě zvážit, jaké faktory diskriminace používat v případě kaprovitých ryb a zda by měly být kromě tkání, což je zřejmé, být specifické také pro konkrétní druhy, když experimentální studie ukazují, že druhově specifické skutečně jsou (Busst et al., 2015). V případě ploutví a šupin je možné použít hodnoty $\Delta \delta^{15}\text{N}$ podle Busst et al. (2015), tato studie však neposkytuje údaje o $\Delta \delta^{13}\text{C}$ těchto tkání po okyselení. Hodnoty $\Delta \delta^{13}\text{C}$ okyselených šupin je možné vypočítat upravením hodnot podle Busst et al. (2015) pomocí hodnot v tab. 2 podle Ventura and Jeppesen (2010). Zatím však není znám vliv okyselení na izotopové hodnoty ploutví kaprovitých ryb a tato oblast zasluhuje další výzkum. Diskriminační faktory $\Delta \delta^{15}\text{N}$ svaloviny je také možné použít podle Busst et al. (2015), nicméně tito autoři neuvádí hodnoty $\Delta \delta^{13}\text{C}$ pro svalovinu po extrakci lipidů. Jako nejvhodnější se tak zatím jeví hodnota 0,97 podle Sweeting et al. (2007a). Pro přesnější stanovení trofické úrovně ryb stojí za zvážení v budoucnu zohlednit faktory diskriminace $\Delta \delta^{15}\text{N}$ specifické pro zkoumané druhy popř. použité tkáně zejména v případě krátkých potravních řetězců, kde se hodnoty $\delta^{15}\text{N}$ *baseline* a rybích konzumentů liší jen málo. Vzhledem k tomu, že všichni autoři, kteří se trofickou úrovní ryb zabývají, uvádějí hodnotu $\Delta \delta^{15}\text{N}$ použitou pro její výpočet, je možné výsledky zpětně přehodnotit. Pro výpočet relativního zastoupení různých zdrojů v potravě ryb pomocí SIA je možné použít řadu modelů (Layman et al., 2011), většina autorů však v posledních letech používá software SIAR (Bašić et al., 2014; Hayden et al., 2014; Özdilek and Jones, 2014), jehož součástí SIBER je zároveň nejpoužívanějším nástrojem při vyhodnocování potravních nik ryb a jejich vzájemných překryvů (Jackson and Britton, 2013; Bašić and Britton, 2014; Tran et al., 2015). SIA představuje moderní nástroj, který je, pokud je používán obezřetně, vhodný ke zkoumání zdrojů a využití potravy na různých trofických úrovních a poznání funkčního uspořádání potravních sítí. Narozdíl od klasické

analýzy potravních zdrojů umožňuje tato metoda vysledovat širší souvislosti probíhající ve vodních ekosystémech, jako je např. vliv invazních druhů. SIA zároveň na rozdíl od klasické metody GCA poskytuje údaje o složení potravy a trofické pozici druhů z širšího časového hlediska a poskytuje tak odlišný náhled na potravní ekologii sledovaných druhů, a umožňuje získat poznatky o potravních vztazích ohrožených či chráněných druhů, u kterých nelze získat vzorky jejich potravy. K výhodám využití SIA lze přičíst i možnost využít starší uchované vzorky pro analýzu a vztáhnout zjištěné údaje k recentnímu stavu. Přestože SIA bývá používána při studiu potravy ryb i samotná, je vhodné odchytnout vždy ještě alespoň několik jedinců pro analýzu GCA, pokud je to možné, protože tato metoda stále zůstává jedinou, která umožňuje přesně identifikovat potravu ryb.

8. Seznam použité literatury

- Agasild, H., Zingel, P., Tuvikene, L., Tuvikene, A., Timm, H., Feldmann, T., Salujõe, J., Toming, K., Jones, R. and Nõges, T. (2013). Biogenic methane contributes to the food web of a large, shallow lake. *Freshwater Biology*, 59(2), pp.272-285.
- Bašić, T. and Britton, J. (2014). Utility of fish scales from stock assessment surveys in stable isotope analysis for initial assessments of trophic relationships in riverine fish communities. *Journal of Applied Ichthyology*, 31(2), pp.296-300.
- Bašić, T., Britton, J., Jackson, M., Reading, P. and Grey, J. (2014). Angling baits and invasive crayfish as important trophic subsidies for a large cyprinid fish. *Aquatic Sciences*, 77(1), pp.153-160.
- Bligh, E. and Dyer, W. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), pp.911-917.
- Boecklen, W., Yarnes, C., Cook, B. and James, A. (2011). On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 42(1), pp.411-440.
- Britton, J. (2012). Testing Strength of Biotic Resistance against an Introduced Fish: Inter-Specific Competition or Predation through Facultative Piscivory? *PLoS ONE*, 7(2), p.e31707.
- Britton, J., Davies, G. and Harrod, C. (2009). Trophic interactions and consequent impacts of the invasive fish *Pseudorasbora parva* in a native aquatic foodweb: a field investigation in the UK. *Biological Invasions*, 12(6), pp.1533-1542.
- Busst, G., Bašić, T. and Britton, J. (2015). Stable isotope signatures and trophic-step fractionation factors of fish tissues collected as non-lethal surrogates of dorsal muscle. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 29(16), pp.1535-1544.
- Cabana, G. and Rasmussen, J. (1996). Comparison of aquatic food chains using nitrogen isotopes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(20), pp.10844-10847.
- Cano-Rocabayera, O., Maceda-Veiga, A. and de Sostoa, A. (2014). Fish fins and scales as non-lethally sampled tissues for stable isotope analysis in five fish species of north – eastern Spain. *Environmental Biology of Fishes*, 98(3), pp.925-932.
- Caut, S., Angulo, E. and 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(2), pp.443-453.
- Chen, G., Zhou, H., Ji, D. and Gu, B. (2012). Stable isotope enrichment in muscle, liver, and whole fish tissues of brown-marbled groupers (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Ecological Processes*, 1(1), p.7.
- Church, M., Ebersole, J., Rensmeyer, K., Couture, R., Barrows, F. and Noakes, D. (2009). Mucus: a new tissue fraction for rapid determination of fish diet switching using stable isotope analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 66(1), pp.1-5.
- Cresson, P., Ruitton, S., Ourgaud, M. and Harmelin-Vivien, M. (2014). Contrasting perception of fish trophic level from stomach content and stable isotope analyses: A Mediterranean artificial reef experience. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 452, pp.54-62.
- Curry, R., Gautreau, M. and Culp, J. (2013). Fin tissues as surrogates of white muscle when assessing carbon and nitrogen stable isotope levels for Arctic and brook charr. *Environmental Biology of Fishes*, 97(6), pp.627-633.
- Davis, A., Blanchette, M., Pussy, B., Jardine, T. and Pearson, R. (2012). Gut content and stable isotope analyses provide complementary understanding of ontogenetic dietary shifts and trophic

- relationships among fishes in a tropical river. *Freshwater Biology*, 57(10), pp.2156-2172.
- Dawson, T. and Siegwolf, R. (2007). Stable isotopes as indicators of ecological change, pp.146-159. Elsevier Inc.
- DeNiro, M. and Epstein, S. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42(5), pp.495-506.
- DeVries, R. and Schramm, H. (2015). Similarities and differences in ^{13}C and ^{15}N stable isotope ratios in two non-lethal tissue types from shovelnose sturgeon *Scaphirhynchus platyrhynchus* (Rafinesque, 1820). *Journal of Applied Ichthyology*, 31(3), pp.474-478.
- Dromard, C., Bouchon-Navaro, Y., Harmelin-Vivien, M. and Bouchon, C. (2015). Diversity of trophic niches among herbivorous fishes on a Caribbean reef (Guadeloupe, Lesser Antilles), evidenced by stable isotope and gut content analyses. *Journal of Sea Research*, 95, pp.124-131.
- Ehrelinger, J. and Cerling T. (2002). C_3 and C_4 photosynthesis. *Encyclopedia of Global Environmental Change*, Vol. 2, The Earth system: biological and ecological dimensions, pp 186-190. Chichester: Wiley
- Fry, B. (2006). *Stable isotope ecology*. New York: Springer.
- Gladyshev, M. (2009) Stable Isotope Analyses in Aquatic Ecology (a review). *Journal of Siberian Federal University. Biology*: 4, pp.381-402
- Graham, C., Harrison, S. and Harrod, C. (2013). Development of non-lethal sampling of carbon and nitrogen stable isotope ratios in salmonids: effects of lipid and inorganic components of fins. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, 49(4), pp.555-566.
- Grey, J., Graham, C., Britton, J. and Harrod, C. (2009). Stable isotope analysis of archived roach (*Rutilus rutilus*) scales for retrospective study of shallow lake responses to nutrient reduction. *Freshwater Biology*, 54(8), pp.1663-1670.
- Guinan, M., Kapuscinski, K. and Teece, M. (2015). Seasonal diet shifts and trophic position of an invasive cyprinid, the rudd *Scardinius erythrophthalmus* (Linnaeus, 1758), in the upper Niagara River. *Aquatic Invasions*, 10(2), pp.217-225.
- 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), pp.23-33.
- Hayden, B., Massa-Gallucci, A., Caffrey, J., Harrod, C., Mariani, S., O'grady, M. and Kelly-Quinn, M. (2011). Trophic dynamics within a hybrid zone - interactions between an abundant cyprinid hybrid and sympatric parental species. *Freshwater Biology*, 56(9), pp.1723-1735.
- Hayden, B., Massa-gallucci, A., Harrod, C., O'grady, M., Caffrey, J. and Kelly-quinn, M. (2014). Trophic flexibility by roach *Rutilus rutilus* in novel habitats facilitates rapid growth and invasion success. *Journal of Fish Biology*, 84(4), pp.1099-1116.
- Hayden, B., Soto, D., Jardine, T., Graham, B., Cunjak, R., Romakkaniemi, A. and Linnansaari, T. (2015). Small Tails Tell Tall Tales – Intra-Individual Variation in the Stable Isotope Values of Fish Fin. *PLOS ONE*, 10(12), p.e0145154.
- 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.
- Heady, W. and Moore, J. (2012). Tissue turnover and stable isotope clocks to quantify resource shifts in anadromous rainbow trout. *Oecologia*, 172(1), pp.21-34.
- Hyodo, F. (2015). Use of stable carbon and nitrogen isotopes in insect trophic ecology. *Entomological Science*, 18(3), pp.295-312.
- Hyslop, E. (1980). Stomach contents analysis-a review of methods and their application. *Journal of Fish Biology*, 17(4), pp.411-429.

- Inger, R., McDonald, R., Rogowski, D., Jackson, A., Parnell, A., Jane Preston, S., Harrod, C., Goodwin, C., Griffiths, D., Dick, J., Elwood, R., Newton, J. and Bearhop, S. (2010). Do non-native invasive fish support elevated lamprey populations?. *Journal of Applied Ecology*, 47(1), pp.121-129.
- 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), pp.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), p.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), pp.654-657.
- Jacob, U., Mintenbeck, K., Brey, T., Knust, R. and Beyer, K. (2005). Stable isotope food web studies: a case for standardized sample treatment. *Marine Ecology Progress Series*, 287, pp.251-253.
- Jardine, T., Gray, M., McWilliam, S. and Cunjak, R. (2005). Stable Isotope Variability in Tissues of Temperate Stream Fishes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 134(5), pp.1103-1110.
- Kellner, C. and Schoeninger, M. (2007). A simple carbon isotope model for reconstructing prehistoric human diet. *American Journal of Physical Anthropology*, 133(4), pp.1112-1127.
- 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), pp.473-480.
- Kiljunen, M., Grey, J., Sinisalo, T., Harrod, C., Immonen, H. and Jones, R. (2006). A revised model for lipid-normalizing $\delta^{13}\text{C}$ values from aquatic organisms, with implications for isotope mixing models. *Journal of Applied Ecology*, 43(6), pp.1213-1222.
- Layman, C., Arrington, D., Montaña, C. and Post, D. (2007). Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure?. *Ecology*, 88(1), pp.42-48.
- Layman, C., Araujo, M., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C., Harrison, E., Jud, Z., Matich, P., Rosenblatt, A., Vaudo, J., Yeager, L., Post, D. and Bearhop, S. (2011). Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 87(3), pp.545-562.
- Logan, J. and Lutcavage, M. (2008). A comparison of carbon and nitrogen stable isotope ratios of fish tissues following lipid extractions with non-polar and traditional chloroform/methanol solvent systems. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 22(7), pp.1081-1086.
- Logan, J., Jardine, T., Miller, T., Bunn, S., Cunjak, R. and Lutcavage, M. (2008). Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. *Journal of Animal Ecology*, 77(4), pp.838-846.
- Madigan, D., Litvin, S., Popp, B., Carlisle, A., Farwell, C. and Block, B. (2012). Tissue Turnover Rates and Isotopic Trophic Discrimination Factors in the Endothermic Teleost, Pacific Bluefin Tuna; (*Thunnus orientalis*). *PLoS ONE*, 7(11), p.e49220.
- 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), pp.91-111.
- Matley, J., Fisk, A., Tobin, A., Heupel, M. and Simpfendorfer, C. (2015). Diet-tissue discrimination factors and turnover of carbon and nitrogen stable isotopes in tissues of an adult predatory coral reef fish, *Plectropomus leopardus*. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 30(1), pp.29-44.
- Medeiros, E. and Arthington, A. (2010). Allochthonous and autochthonous carbon sources for fish in floodplain lagoons of an Australian dryland river. *Environmental Biology of Fishes*, 90(1), pp.1-17.

- 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), pp.1135-1140.
- Nguetseng, R., Fliedner, A., Knopf, B., Lebreton, B., Quack, M. and Rüdell, H. (2015). Retrospective monitoring of mercury in fish from selected European freshwater and estuary sites. *Chemosphere*, 134, pp.427-434.
- Özdilek, S. and Jones, R. (2014). The Diet Composition and Trophic Position of Introduced Prussian Carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) and Native Fish Species in a Turkish River. *Turkish journal of fisheries and aquatic sciences*, 14, pp.769-776.
- Parnell, A., Inger, R., Bearhop, S. and Jackson, A. (2010). Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation. *PLoS ONE*, 5(3), p.e9672.
- Perga, M. and Gerdeaux, D. (2003). Using the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of whitefish scales for retrospective ecological studies: changes in isotope signatures during the restoration of Lake Geneva, 1980-2001. *Journal of Fish Biology*, 63(5), pp.1197-1207.
- Phillips, D. (2001). Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. *Oecologia*, 127(2), pp.166-170.
- Phillips, D. and Gregg, J. (2003). Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia*, 136(2), pp.261-269.
- Pinnegar, J. and Polunin N. (1999). Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. *Functional Ecology*, 13, pp.225-231.
- Post, D. (2002). Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. *Ecology*, 83(3), p.703.
- Post, D., Layman, C., Arrington, D., Takimoto, G., Quattrochi, J. and Montaña, C. (2007). Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia*, 152(1), pp.179-189.
- Rybczynski, S., Walters, D., Fritz, K. and Johnson, B. (2008). Comparing trophic position of stream fishes using stable isotope and gut contents analyses. *Ecology of Freshwater Fish*, 17(2), pp.199-206.
- Sharma, C., Borgström, R., Huitfeldt, J. and Rosseland, B. (2008). Selective exploitation of large pike *Esox lucius* – Effects on mercury concentrations in fish populations. *Science of The Total Environment*, 399(1-3), pp.33-40.
- Sweeting, C., Polunin, N. and Jennings, S. (2006). Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20(4), pp.595-601.
- Sweeting, C., Barry, J., Polunin, N. and Jennings, S. (2007a). Effects of body size and environment on diet-tissue $\delta^{13}\text{C}$ fractionation in fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 352(1), pp.165-176.
- Sweeting, C., Barry, J., Barnes, C., Polunin, N. and Jennings, S. (2007b). Effects of body size and environment on diet-tissue $\delta^{15}\text{N}$ fractionation in fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 340(1), pp.1-10.
- Syväranta, J., Vesala, S., Rask, M., Ruuhijärvi, J. and Jones, R. (2008). Evaluating the utility of stable isotope analyses of archived freshwater sample materials. *Hydrobiologia*, 600(1), pp.121-130.
- Syväranta, J. and Rautio, M. (2010). Zooplankton, lipids and stable isotopes: importance of seasonal, latitudinal, and taxonomic differences. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 67(11), pp.1721-1729.
- Syväranta, J., Cucherousset, J., Kopp, D., Crivelli, A., Céréghino, R. and Santoul, F. (2010). Dietary

- breadth and trophic position of introduced European catfish *Silurus glanis* in the River Tarn (Garonne River basin), southwest France. *Aquatic Biology*, 8, pp.137-144.
- 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), p.e56094.
- Tran, T., Jackson, M., Sheath, D., Verreycken, H. and Britton, J. (2015). Patterns of trophic niche divergence between invasive and native fishes in wild communities are predictable from mesocosm studies. *Journal of Animal Ecology*, 84(4), pp.1071-1080.
- Tronquart, N., Mazeas, L., Reuilly-Manenti, L., Zahm, A. and Belliard, J. (2012). Fish fins as non-lethal surrogates for muscle tissues in freshwater food web studies using stable isotopes. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26(14), pp.1603-1608.
- Trudel, M., Weidel, B., Carpenter, S., Kitchell, J. and Vander Zanden, M. (2011). Rates and components of carbon turnover in fish muscle: insights from bioenergetics models and a whole-lake ¹³C addition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68(3), pp.387-399.
- Vanderklift, M. and Ponsard, S. (2003). Sources of variation in consumer-diet ¹⁵N enrichment: a meta-analysis. *Oecologia*, 136(2), pp.169-182.
- Vander Zanden, M., Cabana, G. and Rasmussen, J. (1997). Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54(5), pp.1142-1158.
- Vander Zanden, M., Casselman, J. and Rasmussen, J. (1999). Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature*, 401, pp.464-467.
- Vander Zanden, M. and Rasmussen, J. (2001). Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography*, 46(8), pp.2061-2066. p.e0116182.
- Ventura, M. and Jeppesen, E. (2010). Evaluating the need for acid treatment prior to $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis of freshwater fish scales: effects of varying scale mineral content, lake productivity and CO_2 concentration. *Hydrobiologia*, 644(1), pp.245-259.
- Visconti, A., Volta, P., Fadda, A., Di Guardo, A., Manca, M. and Smith, R. (2014). Seasonality, littoral versus pelagic carbon sources, and stepwise ¹⁵N-enrichment of pelagic food web in a deep subalpine lake: the role of planktivorous fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 71(3), pp.436-446.
- Volta, P. and Jepsen, N. (2008). The recent invasion of *Rutilus rutilus* (L.) (Pisces: Cyprinidae) in a large South-Alpine lake: Lago Maggiore. *Journal of Limnology*, 67(2), p.163.
- Weidel, B., Carpenter, S., Cole, J., Hodgson, J., Kitchell, J., Pace, M. and Solomon, C. (2008). Carbon sources supporting fish growth in a north temperate lake. *Aquatic Sciences*, 70(4), pp.446-458.
- 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), pp.408-414.
- Young, T., Jensen, O., Weidel, B. and Chandra, S. (2015). Natural trophic variability in a large, oligotrophic, near-pristine lake. *Journal of Great Lakes Research*, 41(2), pp.463-472.

Příloha 1 - Přehled ryb

V této práci je často zmiňována řada kaprovitých, ale i jiných druhů ryb. Pro přehlednost jsou zde proto v abecedním pořadí seřazeny všechny tyto druhy a uvedeny jejich latinské a české názvy.

latinský název	český název
<i>Abramis brama</i>	cejn velký
<i>Alburnus alburnus</i>	ouklej obecná
<i>Barbus barbus</i>	parma obecná
<i>Carassius auratus</i>	karas zlatý
<i>Carassius carassius</i>	karas obecný
<i>Coregonus lavaretus</i>	síh severní-maréna
<i>Cyprinus carpio</i>	kapr obecný
<i>Esox lucius</i>	štika obecná
<i>Gobio gobio</i>	hrouzek obecný
<i>Leuciscus leuciscus</i>	jelec proudník
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	pstruh duhový
<i>Perca fluviatilis</i>	okoun říční
<i>Pimephales promelas</i>	střevle potoční
<i>Pseudorasbora parva</i>	střevlička východní
<i>Rutilus rutilus</i>	plotice obecná
<i>Sander lucioperca</i>	candát obecný
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	perlín ostrobřichý
<i>Squalius cephalus</i>	jelec tloušť
<i>Squalius laietanus</i>	jelec katalánský
<i>Tinca tinca</i>	lín obecný

Příloha 2 – tabulka izotopových hodnot evropských druhů kaprovitých ryb

	druh	habitat / ekolog. skupina	lokality	typ ekosystému	doba odběru	počet jedinců
1	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Neagh (Irsko)	eutrofní jezero	Léto 2007	60
2	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Leixlip Reservoir (Irsko)	eutrofní jezero	Léto 2007	29
3	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Ramor (Irsko)	eutrofní jezero	Jaro 2007	20
4	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Conn (Irsko)	eutrofní jezero	Jaro 2007	42
5	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Ennell (Irsko)	mezotrofní jezero	Léto 2007	29
6	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Cullin (Irsko)	mezotrofní jezero	Léto 2007	44
7	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Ross Lake (Irsko)	mezotrofní jezero	Jaro 2007	28
8	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Corrib (Irsko)	mezotrofní jezero	Jaro 2007	28
9	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	12
10	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	12
11	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	12
12	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Barton Broad (Anglie)	jezero (před biomanipulací)	podzim jaro 1984	8
13	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Barton Broad (Anglie)	jezero (před biomanipulací)	podzim jaro 1987	10
14	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Barton Broad (Anglie)	jezero (před biomanipulací)	podzim jaro 1995	10
15	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Barton Broad (Anglie)	jezero (po biomanipulaci)	podzim jaro 1999	9
16	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Barton Broad (Anglie)	jezero (po biomanipulaci)	podzim jaro 2000	10
17	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Barton Broad (Anglie)	jezero (po biomanipulaci)	podzim jaro 2001	9
18	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Maggiore (severní Itálie)	Subalpínské jezero	leden – prosinec 2008	3
19	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Jyväsjärvi (Finsko)	eutrofní jezero	Léto – podzim 2003	29
20	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Jyväsjärvi (Finsko)	eutrofní jezero	Léto – podzim 2004	90
21	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Jyväsjärvi (Finsko)	eutrofní jezero	Léto – podzim 2005	121
22	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Jyväsjärvi (Finsko)	eutrofní jezero	Léto – podzim 2006	82
23	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Leixlip Reservoir (Irsko)	eutrofní jezero	duben a srpen 2006	61
24	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Ramor (Irsko)	eutrofní jezero	duben a srpen 2007	50
25	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Ross Lake (Irsko)	mezotrofní jezero	duben a srpen 2006	72
26	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Lough Corrib (Irsko)	mezotrofní jezero	duben a srpen 2006	39
27	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Worcestershire (Anglie)	rybník	Srpen 2005 – leden 2006	29
28	<i>R. rutilus</i>	pelagický / omnivorní	Mongolsko	oligotrofní jezero	Červenec 2006, 2009, 2011-13	69
29	<i>G. gobio</i>	bentický / bentofágní	Worcestershire (Anglie)	rybník	Srpen 2005 – leden 2006	30
30	<i>A. alburnus</i>	povrchová voda / omnivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	25
31	<i>A. alburnus</i>	povrchová voda / omnivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	25
32	<i>A. alburnus</i>	povrchová voda / omnivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	25
33	<i>S. laietanus</i>	pelagický / omnivorní – piscivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	27
34	<i>S. laietanus</i>	pelagický / omnivorní – piscivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	27
35	<i>S. laietanus</i>	pelagický / omnivorní – piscivorní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	27
36	<i>S. erythrophthalmus</i>	pelagický / omnivorní	Worcestershire (Anglie)	rybník	Srpen 2005 – leden 2006	30
37	<i>A. brama</i>	bentický / bentofágní, planktonofágní	Teme (Anglie)	řeka	srpen a září 2012	19
38	<i>A. brama</i>	bentický / bentofágní, planktonofágní	Avon (Anglie)	řeka	srpen a září 2012	9
39	<i>A. brama</i>	bentický / bentofágní, planktonofágní	Kennet (Anglie)	řeka	srpen a září 2012	9
40	<i>A. brama</i>	bentický / bentofágní, planktonofágní	Lee (Anglie)	řeka	srpen a září 2012	9
41	<i>A. brama</i>	bentický / bentofágní, planktonofágní	Worcestershire (Anglie)	rybník	Srpen 2005 – leden 2006	30
42	<i>C. carpio</i>	bentický / omnivorní	Belgie	rybník	Březen 2013	10
43	<i>C. carpio</i>	bentický / omnivorní	Worcestershire (Anglie)	rybník	Srpen 2005 – leden 2006	32
44	<i>B. haasi</i>	bentický / bentofágní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	10
45	<i>B. haasi</i>	bentický / bentofágní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	10
46	<i>B. haasi</i>	bentický / bentofágní	SV Španělsko	řeka	Září 2008	10
47	<i>T. tinca</i>	bentický / omnivorní	Wales	rybník	Březen 2013	12
48	<i>P. parva</i>	omnivorní	Belgie	rybník	Březen 2013	10
49	<i>P. parva</i>	omnivorní	Belgie	rybník	Březen 2013	10
50	<i>P. parva</i>	omnivorní	Wales	rybník	Březen 2013	20

druh	průměrná délka	Průměrná hodnota $\delta^{13}\text{C}$	Průměrná hodnota $\delta^{15}\text{N}$	zkoumaná tkáň	extrakce lipidů	okyselení vzorků	zdroj	
1	<i>R. rutilus</i>	130	-27,9	18,9 ± 0,7	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
2	<i>R. rutilus</i>	184	-28,8 ± 0,8	15,0 ± 0,5	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
3	<i>R. rutilus</i>	175	-28,8 ± 0,3	14,6 ± 0,5	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
4	<i>R. rutilus</i>	181	-27,8 ± 1,8	14,0 ± 0,9	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
5	<i>R. rutilus</i>	284	-29,0 ± 0,2	17,3 ± 0,3	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
6	<i>R. rutilus</i>	170	-25,6 ± 2,0	13,4 ± 0,9	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
7	<i>R. rutilus</i>	170	-32,1 ± 1,6	12,6 ± 0,8	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
8	<i>R. rutilus</i>	139	-28,0 ± 1,2	13,0 ± 0,4	svalovina	ano	ne	Hayden et al., 2014
9	<i>R. rutilus</i>	124	-25,96 ± 0,58	13,33 ± 0,71	svalovina	ano	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
10	<i>R. rutilus</i>	124	-23,25 ± 0,68	11,38 ± 0,81	šupiny	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
11	<i>R. rutilus</i>	124	-25,36 ± 0,92	12,85 ± 0,77	ocasní ploutev	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
12	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-27,0 ± 0,7	16,5 ± 0,7	šupiny	ne	ano	Grey et al., 2009
13	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-28,0 ± 0,5	17,0 ± 0,4	šupiny	ne	ano	Grey et al., 2009
14	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-27,3 ± 0,7	17,9 ± 0,6	šupiny	ne	ano	Grey et al., 2009
15	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-30,1 ± 0,6	18,9 ± 0,8	šupiny	ne	ano	Grey et al., 2009
16	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-30,1 ± 0,7	18,1 ± 0,7	šupiny	ne	ano	Grey et al., 2009
17	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-30,6 ± 0,3	18,0 ± 0,5	šupiny	ne	ano	Grey et al., 2009
18	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-25,3 ± 0,2	8,59 ± 0,3	svalovina	ne	ne	Visconti et al., 2014
19	<i>R. rutilus</i>	147	nevedeno	nevedeno	svalovina	ne	ne	Syväranta et al., 2008
20	<i>R. rutilus</i>	175	nevedeno	nevedeno	svalovina	ne	ne	Syväranta et al., 2008
21	<i>R. rutilus</i>	188	nevedeno	nevedeno	svalovina	ne	ne	Syväranta et al., 2008
22	<i>R. rutilus</i>	154	nevedeno	nevedeno	svalovina	ne	ne	Syväranta et al., 2008
23	<i>R. rutilus</i>	202	-28,6 ± 0,9	15,3 ± 0,7	svalovina	MK	ne	Hayden et al., 2011
24	<i>R. rutilus</i>	184	-28,4 ± 0,6	14,3 ± 0,6	svalovina	MK	ne	Hayden et al., 2011
25	<i>R. rutilus</i>	201	-27,9 ± 1,3	12,5 ± 1	svalovina	MK	ne	Hayden et al., 2011
26	<i>R. rutilus</i>	158	-31,8 ± 1,5	12,4 ± 0,8	svalovina	MK	ne	Hayden et al., 2011
27	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-28,3 ± 3,9	13,1 ± 1,66	svalovina	MK	ne	Britton et al., 2009
28	<i>R. rutilus</i>	nevedeno	-26,6 ± 3,5	8,2 ± 0,9	svalovina	MK	ne	Young et al., 2015
29	<i>G. gobio</i>	nevedeno	-28,2 ± 0,9	13,6 ± 0,54	svalovina	MK	ne	Britton et al., 2009
30	<i>A. alburnus</i>	103	-24,19 ± 0,36	15,75 ± 0,54	svalovina	ano	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
31	<i>A. alburnus</i>	103	-23,61 ± 0,65	16,22 ± 0,90	ocasní ploutev	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
32	<i>A. alburnus</i>	103	-21,98 ± 0,37	13,26 ± 0,76	šupiny	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
33	<i>S. laietanus</i>	139	-29,74 ± 3,18	14,94 ± 2,08	svalovina	ano	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
34	<i>S. laietanus</i>	139	-30,54 ± 3,20	14,16 ± 2,19	ocasní ploutev	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
35	<i>S. laietanus</i>	139	-27,85 ± 3,25	13,54 ± 2,18	šupiny	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
36	<i>S. erythrophthalmus</i>	nevedeno	-25,9 ± 3	11,4 ± 1,4	svalovina	MK	ne	Britton et al., 2009
37	<i>A. brama</i>	680	-27,28 ± 1,33	11,51 ± 1,27	šupiny	ne	ne	Bašić et al., 2014
38	<i>A. brama</i>	556	-25,52 ± 2,02	11,81 ± 0,96	šupiny	ne	ne	Bašić et al., 2014
39	<i>A. brama</i>	631	-25,02 ± 2,33	11,34 ± 0,92	šupiny	ne	ne	Bašić et al., 2014
40	<i>A. brama</i>	534	-27,23 ± 1,45	18,16 ± 1,46	šupiny	ne	ne	Bašić et al., 2014
41	<i>A. brama</i>	nevedeno	-30,4 ± 1,2	13,1 ± 0,6	svalovina	MK	ne	Britton et al., 2009
42	<i>C. carpio</i>	70	-34,99 ± 0,35	nevedeno	svalovina	ne	ne	Tran et al., 2015
43	<i>C. carpio</i>	nevedeno	-27,5 ± 1,9	11,5 ± 1,27	svalovina	MK	ne	Britton et al., 2009
44	<i>B. haasi</i>	120	-25,84 ± 0,29	6,15 ± 0,32	svalovina	ano	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
45	<i>B. haasi</i>	120	-25,18 ± 0,46	5,86 ± 0,40	ocasní ploutev	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
46	<i>B. haasi</i>	120	-23,19 ± 0,60	4,77 ± 0,33	šupiny	ne	ne	Cano-Rocabayera et al., 2015
47	<i>T. tinca</i>	96	-27,01 ± 0,57	nevedeno	svalovina	ne	ne	Tran et al., 2015
48	<i>P. parva</i>	74	-38,58 ± 0,13	nevedeno	svalovina	ne	ne	Tran et al., 2015
49	<i>P. parva</i>	72	-35,84 ± 0,41	nevedeno	svalovina	ne	ne	Tran et al., 2015
50	<i>P. parva</i>	63	-25,51 ± 0,12	nevedeno	svalovina	ne	ne	Tran et al., 2015

Tabulka izotopových hodnot evropských druhů kaprovitých ryb v různých sladkovodních ekosystémech. MK – matematická korekce.