

UNIVERSITY OF SOUTH BOHEMIA
FACULTY OF SCIENCE

České Budějovice 2008



RNDr. thesis

**Direct detection of digestive enzymes in planktonic rotifers using
enzyme-labelled fluorescence (ELF)**

Martina Štrojsová

Supervisor: Doc. RNDr. Jaroslav Vrba, CSc.
University of South Bohemia, Faculty of Science and Biology Centre AS CR, v.v.i.,
Institute of Hydrobiology

Štrojsová, M., 2008: Direct detection of digestive enzymes in planktonic rotifers using enzyme-labelled fluorescence (ELF). RNDr. thesis, in English. – 7 pp., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation

The study focuses on localization of activities of phosphatases, β -N-acetylhexosaminidases and lipases, which were investigated in planktonic rotifers from natural assemblages from a eutrophic reservoir. Activities of all studied enzymes were regularly inspected using the ELF technique that allowed the localization of enzyme activities in the intact rotifer bodies during two seasons.

Financial support

The study was supported by the Grant Agency of AS CR (project A6017202 awarded to J. Vrba).

Prohlašuji, že jsem svoji rigorózní práci vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své rigorózní práce, a to v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích, 15. září 2008

Martina Štrojsová

Štrojsová, M. and Vrba, J. (2005) **Direct detection of digestive enzymes in planktonic rotifers using enzyme-labelled fluorescence (ELF)**. *Marine and Freshwater Research*, 56 (2): 189–195.

M. Štrojsová^{A,C} and J. Vrba^{B,A}

^AUniversity of South Bohemia, Faculty of Biological Sciences, Branišovská 31, CZ-37005 České Budějovice, Czech Republic.

^BHydrobiological Institute of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Na Sádkách 7, CZ-37005 Č. Budějovice, Czech Republic.

^CCorresponding author. Email: martina.strojsova@seznam.cz

Abstract

A novel enzyme-labelled-fluorescence (ELF) method was applied to natural populations of planktonic rotifers from a eutrophic reservoir. Direct visualisation of rotifers by this new method provided new information about enzymatic activities *in situ*, including detection and location of enzyme activities. Three fluorogenic substrates were used for the enzyme assay in concentrated (20–60×) samples of the rotifers. After a short (1–3 h) incubation in test tubes, samples were filtered and the rotifers on polycarbonate filters were examined using an epifluorescence microscope. Activity of phosphatases, β -*N*-acetylhexosaminidases and lipases were detected in some species that were regularly inspected during two seasons – most frequently in the stomach area, at the corona and, less often, in the mastax area. The results suggest that most of the detected enzymes are connected with the digestive tracts of rotifers. Also, autofluorescence of chlorophyll *a* enabled visualisation of the digestive tracts of the rotifers and provided additional information on the food (phytoplankton). Enzyme expression did not show any clear seasonal trend. Detection of specific enzymes varied considerably between species of rotifers and between individuals. This variability could be a result of change of feeding behaviour of rotifers in the concentrated samples and also could reflect individual differences among the rotifers in a population, such as feeding activity, age or life stage.

Extra keywords: β -*N*-acetylhexosaminidase, lipase, phosphatase.

Souhrn

V této práci byla použita „enzyme labelled fluorescence“ (ELF) metoda vizualizace enzymové aktivity na populaci planktonních vířníků z eutrofní údolní nádrže. Metoda poskytla informace o enzymové aktivitě u vířníků v *in situ* podmínkách. Tato metoda umožňuje přímou detekci enzymových aktivit. Pro analýzu enzymů byly použity tři fluorescenční substráty v koncentrovaném (20–60×) vzorku s vířníky. Po krátké (1–3 h) inkubaci ve zkumavkách byly vzorky zfiltrvány a vířníci zachycení na filtrech byli prohlédnuti v epifluorescenčním mikroskopu. Během dvou sezón bylo u několika taxonů vířníků detekována fosfatázová, β -*N*-acetylhexosaminidázová a lipázová aktivita. Nejčastějším místem aktivity byla oblast žaludku a vířivého aparátu, méně často oblast mastaxu. Výsledky naznačují, že většina pozorované enzymové aktivity měla souvislost se zažívacím traktem vířníků. Expresie enzymů v planktonních vířnících neměla jasný sezónní trend. Variabilita v sezónní expresi enzymů může být vysvětlena různým stavem zkoumaných jedinců (odlišná aktivita v příjmu potravy, věk nebo životní fáze).