

Zadání celosemestrálního projektu

Každá dvojice jste si na předminulém cvičení vylosovali látku, se kterou budete pracovat po zbytek semestru. Nyní si představte, že jste zaměstnání na pozici ekotoxikologa, ať už v soukromé nebo veřejné sféře, a dostali jste za úkol zpracovat kvalitní a nezávislý posudek o toxicitě a možných rizicích vaší chemické látky pro životní prostředí.

Práce na tomto semestrálním projektu zahrnuje následující části (podrobně popsáno níže):

1. Laboratorní testování + protokol
2. Sestavení modelu SSD pro danou látku
3. Rešerše základních informací o látce
4. Zpracování souhrnného dokumentu – posudku o toxicitě vaší látky
5. Prezentace a diskuze

Rozdělení skupin a látek

Skupina 1	Skupina 2	Skupina 3
1 Jana – CHLORPYRIFOS	Eva – PARAQUAT DICHLORID	Radim – DODINE
2 Jarka – CHLORPYRIFOS	Veronika – PARAQUAT DICHLORID	Libor – DODINE
3 Zuzka – CHLORID KADEMNATÝ	Jonáš – ALACHLOR	Amrita – TRICLOSAN
4 Anička – CHLORID KADEMNATÝ	Eliška – ALACHLOR	Marie – TRICLOSAN

1. Laboratorní testování

Ve dvojici provedete laboratorní testování vaší látky na 3 modelových organismech – na bakterii *Vibrio fischeri*, zelené řase *Raphidocelis subcapitata* a hrotnatce *Daphnia magna*. Zpracujete souhrnný protokol o laboratorním testování (toto bude důležitá část souhrnného posudku – bod 4), který bude ke každému biotestu obsahovat – stručný popis principu metody, přehledné tabulky s vámi naměřenými daty, výsledné grafy = křivky dávka-odpověď (jak z MS Excelu, tak z Graphpadu), výsledné hodnoty účinných koncentrací EC50, EC20, NOEC a LOEC. Součástí bude také vaše slovní hodnocení, kde interpretujete výsledky jednotlivých testů. Důležité je také uvést všechny okolnosti, zajímavosti a pozorování, které mohly nějakým způsobem ovlivnit vaše výsledky. Přesnou podobu protokolu o laboratorním testování budeme ještě diskutovat během bloku 3 a 4.

2. Sestavení modelu SSD pro vaši látku

TVORBA MODELŮ SSD A JEJICH SROVNÁNÍ S DATY ZÍSKANÝMI Z TESTŮ V LABORATOŘI

1) Pokud stále nerozumíte teorii SSD, pak si přečtěte přednášku o SSD a výukový materiál o SSD, který jste dostali.

2) Tvorba databáze pro SSD model

Postup je vlastně tentýž, jaký byl v domácím úkolu 1 pro karbofuran. Místo karbofuranu děláte databázi pro vaši vylosovanou látku. Postup níže uvedený je pro zopakování, ale je navíc doplněný o nějaké věci, ve kterých jste nejčastěji chybovali, takže bude dobré řídit se podle něho.



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Ekotoxikologické biotesty - cvičení (Bi5620c): Jarní semestr 2014

1) Vytvořte první tabulku v Excelu, kde budou všechna akvatická data získaná z databáze US-EPA ECOTOX (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>) a to pro vaši vylosovanou látku. Chceme pouze hodnoty EC50/IC50/LD50/ED50/LC50/ID50 (nevadí, když u nich bude hvězdička). Významy různých zkratk kontrolujte zde v **codelistu**: <http://cfpub.epa.gov/ecotox/blackbox/help/codelist.pdf>.

2) K tabulce si přidejte 4 nové sloupce: "změna jednotek", "čistota", "duplikáty", "poznámky". **Přidejte si je předtím, než použijete filtr!** Jinak se vám tyto sloupce do filtru nezahrnou a to bude později zdrojem chyb!

3) V této první tabulce pomocí filtru ponechte vybrané pouze:

- a) akutní testy toxicity ("Exposure duration" 1 až 7 dní)
- b) efekty, které mají přímý vliv na změnu abundance a složení společenství organismů jako "Effect": MORT, POP, GRO, ITX (vždy je nutné zkontrolovat ještě "Effect Measurement", jestli nejde o nějaký nechtěný efekt). Efekty REP a PHY musíme **VŽDY** posoudit podle "Effect Measurement". Je zde třeba trochu přemýšlet a používat **codelist** !
- c) Typ expozice environmentálně relevantní ("Exposure Type" tedy např. E, P, R, S, atd. **! ne** např. I, GV, ID, atd). Pokud zde narazíte na „NR“ nebo „NC“ údaj (tzn. že typ expozice není známý), pak jsou dvě možnosti. Pokud se jedná o rostlinu nebo bezobratlého, pak takový záznam bereme jako použitelný pro tvorbu SSD modelu a do databáze patří. Pokud se jedná o obratlovce, je potřeba najít článek, že kterého byl údaj převzatý a typ expozice zkontrolovat (a podle toho údaj buď vyřadit nebo ponechat).
- d) Čistota testované látky $\geq 90\%$ ("Conc 1 Type (ug/L)" tedy všechna A plus taková F (či „NR“ či „NC“), u kterých po kontrole na <http://cfpub.epa.gov/ecotox/> zjistíte čistotu alespoň 90 %). Pozor na data získaná testováním přípravků jako (v komentáři v online databázi je uveden nějaký název přípravku) - tato jsou nevhodná! Co znamenají zkratky v komentářích najdete v **Codelistu** (např. zkratky C, CO, FO, PU, TC, ...) - zkratka může znamenat, že látka je vhodná i nevhodná. Např. TC znamená technická kvalita a tento údaj se použít může, stejně jako CO či PU. Naopak např. C či FO je nevhodné. Názvy přípravků si můžete vygooglit – abyste věděli, o co se jedná. Čistotu dat, kterou jste kontrolovali, si poznamenejte do sloupce "čistota". Pokud jste čistotu nedohledali ani v online databázi a máte málo dat pro tvorbu SSD modelu (tj. méně než 15 druhů), tak vyhledejte původní článek a čistotu dohledejte v něm (podle selského rozumu zvažte, jestli hodnotu použít nebo ne).
- e) "Conc 1 (ug/L)" taková, aby to byly jasné hodnoty ("**Conc 1 Op (ug/L)**" **nesmí být "<" či ">"**). Pokud je "Conc 1 (ug/L)" uvedená jako NR, potom jí vypočítáme jako průměr minimální a maximální koncentrace ("Conc Min 1 (ug/L)" a "Conc Max 1 (ug/L)").
- f) Všechny jednotky ("Conc Units (ug/L)") převed'te správně na jednotky **ug/l** !!! Do speciálního sloupce "změna jednotek" si poznačte, že jste jednotky převedli (včetně původního nepřevedeného čísla).
- g) Hodnoty ve vzniklé databázi zkontrolujte a do sloupce "duplikáty" označte duplicitní hodnoty (tzn. hodnoty, které jsou úplně stejné pro stejný druh a pochází od stejného autora) a do sloupce "poznámky" podezřelé hodnoty (podezřele vysoké nebo nízké). Tyto hodnoty se také nebudou pro SSD model používat.

4) Vytvořte druhou tabulku (do nového listu), ve které budou zkopírovaná již data vhodná pro SSD model

5) Vytvořte třetí tabulku (opět v dalším listu), ve které již budou pouze tři sloupce:

1. sloupec: Druhový název organismu (latinsky)
2. sloupec: Taxonomická skupina, do které patří
3. sloupec: Geometrický průměr z hodnot EC50 (LD50, IC50 atd.) pro tento organismus (použijte excelovskou funkci "geomean" – **nezapomeňte však konečné hodnoty v tabulce uložit jako čísla, ne jako funkce**, jinak to později bude zlobit a nebude to fungovat).



3) Tvorba SSD modelu

Postup je stejný, jako jste si vyzkoušeli na cvičení. Jako výstup od vás požadujeme 4 modely SSD (**model pro všechny druhy, model pro primární producenty, model pro bezobratlé a model pro obratlovce**) včetně obrázků grafů, výsledků z testů normality, hodnot průměru a směrodatné odchylky a hodnot HC5. To vše uložené např. ve Wordu (můžete používat printscreen). Ke každému modelu také napište krátký komentář – jestli je rozložení dat normální (jednak podle testů normality a jednak podle pohledu na grafy) a pokud ne, tak možný důvod, jestli jsou zde nějaké zřetelně nejcitlivější taxonomické skupiny a pokud ano, tak jaké a proč (pokud ne, tak také možný důvod) a jestli je model založen na dostatečném množství dat.

Pokud pro některý z modelů nebudete mít žádná data nebo tak málo, že software ETX vám jej odmítne vytvořit, napište pouze komentář bez modelu.

- 1) Stáhněte si ETX 2.0 z http://www.rivm.nl/rvs/Risicobeoordeling/Modellen_voor_risicobeoordeling/ETX_2_0
- 2) Otevřete si ETX 2.0
- 3) Otevřete si vaši vytvořenou databázi v excelu (budete používat třetí – finální tabulku).
- 4) Zkopírujte do "Input toxicity data" (v ETX softwaru) vaše hodnoty a vytvořte základní **model pro všechny druhy**. Je výhodné si jednotlivé hodnoty do sloupce „label“ označit podle taxonů (např. „PP“ pro primární producenty, „B“ pro bezobratlé a „O“ pro obratlovce) a v *Tools* → *Labels* nastavit barevné odlišení taxonů v grafu. Výstupy modelu si uložte (graf, výsledky testů normality, hodnoty průměru, směrodatné odchylky a HC5) do wordu a okomentujte.
- 5) Vytvořte si další tři SSD modely pro:
 - a) **Řasy a rostliny (tj. primární producenti)**
 - b) **Bezobratlé**
 - c) **Obratlovce**Opět si výstupy modelů uložte (graf, výsledky testů normality, hodnoty průměru, směrodatné odchylky a HC5) do wordu a okomentujte.
- 6) Porovnejte tyto různé SSD modely:
 - a) Jaká taxonomická skupina je nejcitlivější? Pokud jsou všechny citlivé podobně, tak proč?
 - b) Je ve všech taxonomických skupinách dostatek hodnot pro tvorbu SSD modelu?
 - c) Jsou data ve skupinách normálně rozložena (splnila testy normality)? A proč?
 - d) Jsou testy normality ve skupinách lepší než testy normality pro celý soubor? Proč?

4) Srovnání dat získaných z laboratorních cvičení a vašimi vytvořenými SSD modely

Jako poslední část úkolu srovnajte vaše hodnoty získané z laboratorních testů s modely SSD, které jste vytvořili:

Jsou vaše naměřené EC50 hodnoty srovnatelné s SSD modely? (Např. Je hodnota EC50 pro řasy podobná hodnotám pro primární producenty v SSD?) Pokud ne (např. o hodně vyšší nebo nižší), tak čím to může být způsobeno? Věříte víc vašim výsledkům nebo výsledkům z databáze a SSD modelu? A proč? Zkuste se trochu rozepsat o možných nejistotách jak vašich laboratorních testů tak SSD modelů.

Vyšel vám v laboratorních testech jako nejvíce citlivý (nejmenší hodnota EC50) organismus, který má být nejvíce citlivý (např. primární producent pro herbicid a bezobratlý pro insekticid)? Pokud ne, tak zkuste napsat, proč.

3. Rešerše informací o látce

Využijte internet k dohledání základních informací o vaší látce. K čemu se používá, jaký je její současný legislativní status, v jakých koncentracích se může vyskytovat v životním prostředí, jaké jsou případné toxikologické účinky látky pro člověka a jiné organismy i nejrůznější zajímavosti.



Ekotoxikologické biotesty - cvičení (Bi5620c): Jarní semester 2014

Tato část slouží především pro váš vlastní přehled a závěrečnou prezentaci. Informace, které dohledáte, vám také pomohou při interpretaci vašich vlastních výsledků. Budete-li uvádět jakékoli dohledané informace o látce ve vašem závěrečném posudku, nezapomeňte zdroje řádně citovat.

4. Zpracování souhrnného dokumentu – posudku toxicity vaší látky

Výsledkem vaší práce na všech součástech projektu bude souhrnný dokument – posudek toxicity vaší látky. V tomto dokumentu uvedete:

- základní dohledané informace o vaší látce včetně citací – úvod do problému (viz bod 3)
 - protokol o laboratorních testech (viz bod 1)
 - výstupy z tvorby SSD modelu (viz bod 2)
 - souhrnná interpretace/diskuze vašich výsledků a poznatků (viz bod 1, 2 a 3)
-

5. Prezentace a diskuze

Na konci semestru proběhne dvouhodinová s prezentacemi výsledků vašeho projektu a diskuzí. Na každou dvojici budeme mít 15 minut – přičemž 10 minut bude na vaši prezentaci (MS Powerpoint nebo cokoli jiného) a 5 minut na diskuzi s ostatními studenty a vyučujícími.



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

