

Požadavky na protokoly:

1. Název skupiny, členové
2. Princip testu - Jednoduše popsat vlastními slovy princip testu – stačí pár vět
3. Výsledky - zpracovány v přehledné tabulce
4. Statistika – vyhodnocení dat, graf křivka dávka odpověď
5. Závěr – slovní zhodnocení, pokud něco nevyšlo, úvaha proč, kde se stal chyby, kde mohly nastat problémy, atd.

Počítání chvostoskoků:

- Stáhněte si tento program , je zdarma: Image tool.
- <http://compdent.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>
- pozor funguje pouze pod staršími Windows (nefunguje pod XP, 7 atd.)
- Našíst obrázek – new picture (F2)
- Poté počítadlo kliků v horní liště Count a tag – pokaždé když kliknete, zaznačí se vám červený bod a počítadlo započítá klik. Pozor ! Dvojklik vše zruší!

Statistické vyhodnocení

1) Vytvořte tabulku: Příklad pro test s roupicí *Enchytraeus crypticus*

| koncetrace mg/kg | Dospělci - počet přeživších | | Juvenilové - počet narozených | |
|---------------------|-----------------------------|---------|-------------------------------|---------|
| | opak. 1 | opak. 2 | opak. 1 | opak. 2 |
| 0 (kontrola) | 10 | 10 | 321 | 357 |
| 31 | 10 | 10 | 334 | 329 |
| 63 | 10 | 9 | 327 | 304 |
| 125 | 9 | 8 | 241 | 239 |
| 250 | 7 | 7 | 179 | 154 |
| 500 | 5 | 6 | 58 | 67 |
| 1000 | 2 | 2 | 47 | 40 |
| 2000 | 1 | 0 | 26 | 0 |
| 4000 | 0 | 0 | 0 | 0 |

U mortality zapište tzv. survival (= přežívání) počet živých organismů na konci testu.

- Důvodem je, že v této podobě parametr s narůstající koncentrací klesá, stejně jako u reprodukce.
- U reprodukce zapište počet juvenilů na konci testu.
- V programu MS Excel vypočítejte průměrnou hodnotu, směrodatnou odchylku (SD) a relativní směrodatnou odchylku (RSD, tj. koeficient variance, CV, SD dělená průměrem v procentech) pro každou koncentraci pro oba parametry.

GraphPad – výpočet LC50 a EC50

Před exportem do graphpadu, zlogaritmujte sloupec s hodnotami koncentrace – pro vytvoření sigmoidální odpovědi

Vytvořte si v excelu jednoduchou tabulku pro export dat:

(Vytvořte pro dospělé i pro juvenilily)

| koncentrace | počet juvenilů opak.1 | počet juvenilů opak. 2 |
|-------------|-----------------------|------------------------|
| 0 | 321 | 357 |
| 31 | 334 | 329 |
| 63 | 327 | 304 |
| 125 | 241 | 239 |
| 250 | 179 | 154 |
| 500 | 58 | 67 |
| 1000 | 47 | 40 |
| 2000 | 26 | 0 |
| 4000 | 0 | 0 |

V případě salátu, vypočtete pouze EC50

Tabulka bude vypadat takto: (hodnoty jsou fiktivní), nezapomeňte před analýzou zlogaritmovat osu x -tzn. Koncentrace!

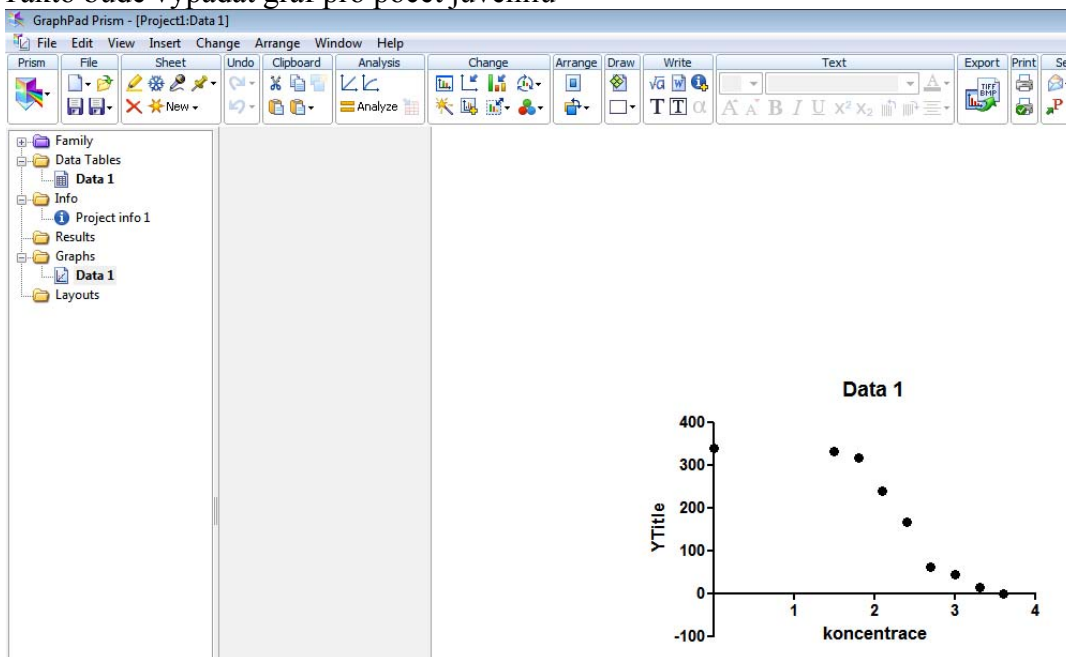
| koncentrace | průměrná délka kořínků v misce č.1 | průměrná délka kořínků v misce č.2 |
|-------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 0 | 31,33 | 25,6 |
| 63 | 24,67 | 25,27 |
| 250 | 10,6 | 11,6 |
| 2000 | 5 | 6 |
| 4000 | 0 | 0 |

Další analýzy jsou společné a stejné pro všechny případy – salát, roupice, chvostokoci (mortalita dospělců i počet juvenilů)

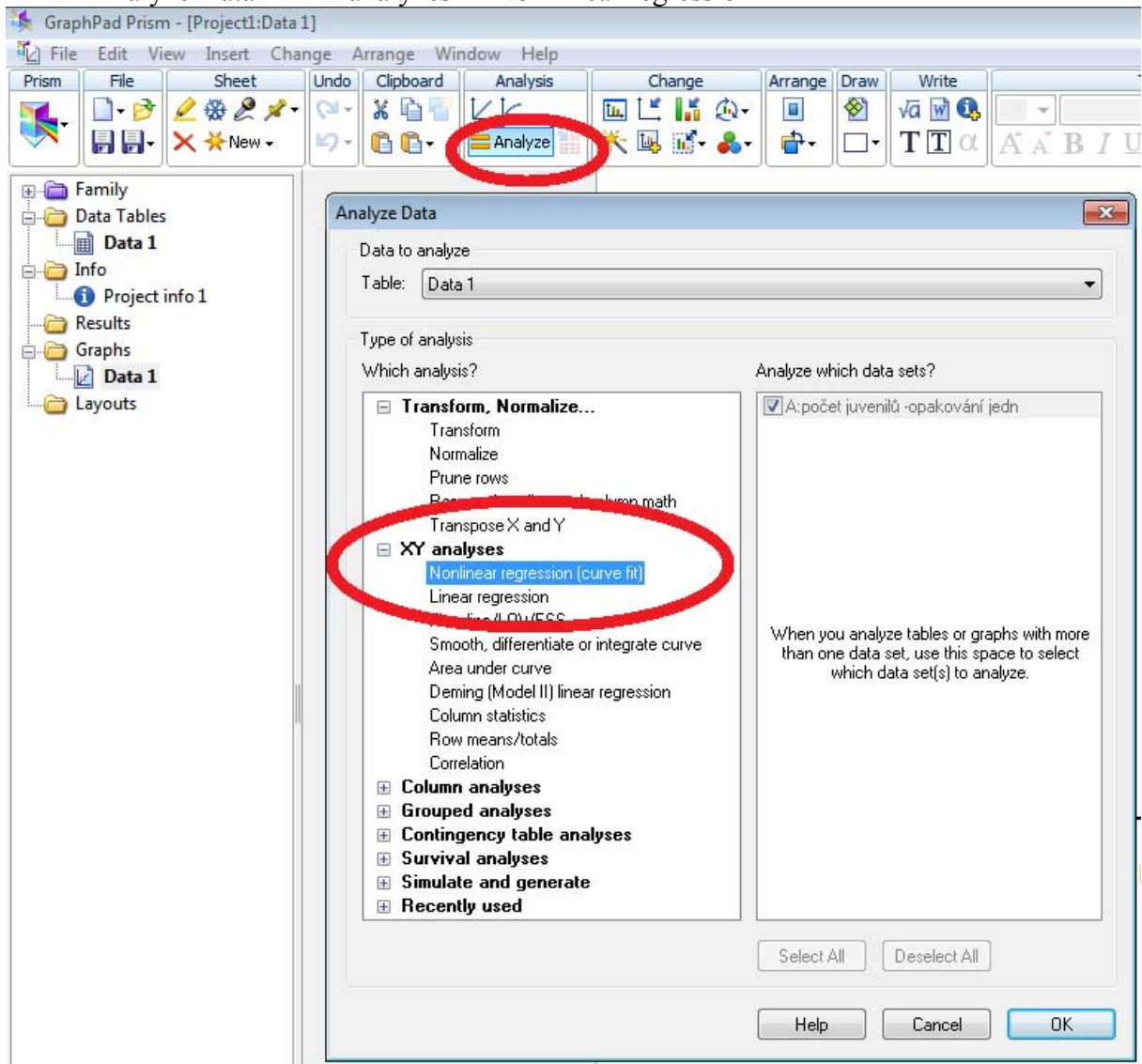
Nakopírujte data do Graphpadu aby jste vytvořili takovouto tabulku:

| Table format: XY | | X | A | | B | |
|------------------|-------|-------------|--------------------------------|------|-------|------|
| | | koncentrace | počet juvenilů -opakování jedn | | Title | |
| | | X | A:Y1 | A:Y2 | B:Y1 | B:Y2 |
| 1 | Title | 0.000000 | 321 | 357 | | |
| 2 | Title | 1.491362 | 334 | 329 | | |
| 3 | Title | 1.799341 | 327 | 304 | | |
| 4 | Title | 2.096910 | 241 | 239 | | |
| 5 | Title | 2.397940 | 179 | 154 | | |
| 6 | Title | 2.698970 | 58 | 67 | | |
| 7 | Title | 3.000000 | 47 | 40 | | |
| 8 | Title | 3.301030 | 26 | 0 | | |
| 9 | Title | 3.602060 | 0 | 0 | | |
| 10 | Title | | | | | |
| 11 | Title | | | | | |
| 12 | Title | | | | | |
| 13 | Title | | | | | |

Takto bude vypadat graf pro počet juvenilů



V liště nad grafem je ikonka Analyze – přejděte k výpočtu IC 50
Analyze Data -> XY analyses -> Non linear regression



Vyberte analýzu:

Dose-response –Inhibition

-log(inhibitor) vs. Response

= vašimi daty bude proložena křivka a v results bude v tabulce vypsána hodnota IC 50

- proveďte to samé i pro data na dospělých (roupice i chvostoskoci) a pro salát

