

### 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://cme.msu.edu/cmeias/gatewayyes.shtml#yes>
- 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 запиšte 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 запиšte 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 juvenilů)

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!

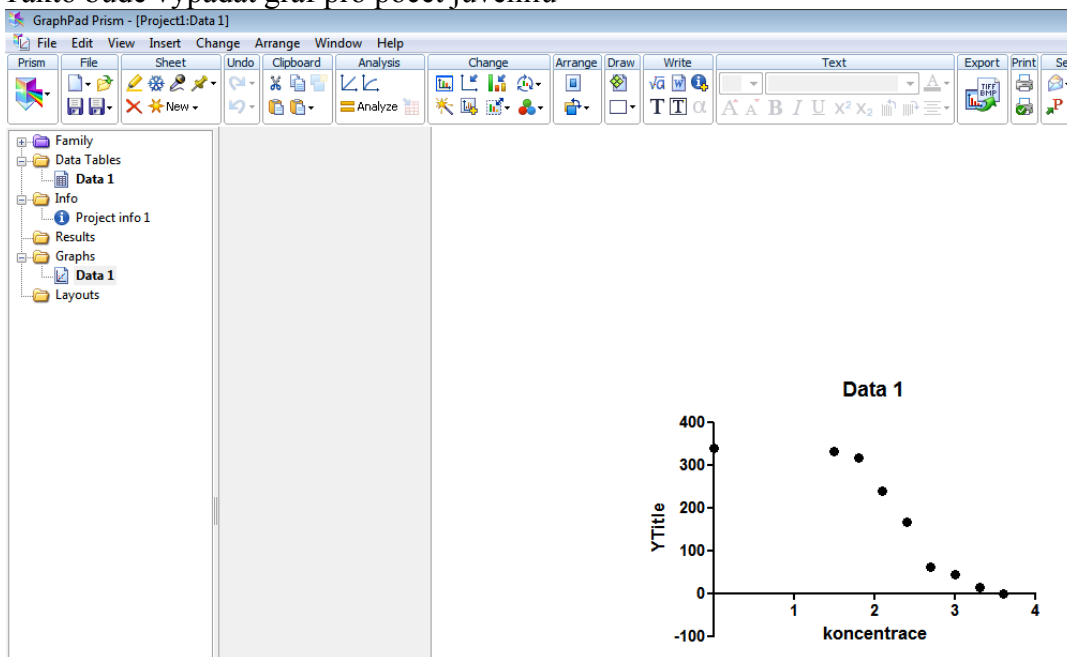
koncentrace	průměrná délka kořínků v misce č.1	průměrná délka kořínků v misce č.2
0	31,33	25,6
63	24,67	25,27
250	10,6	11,6
2000	5	6
4000	0	0

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

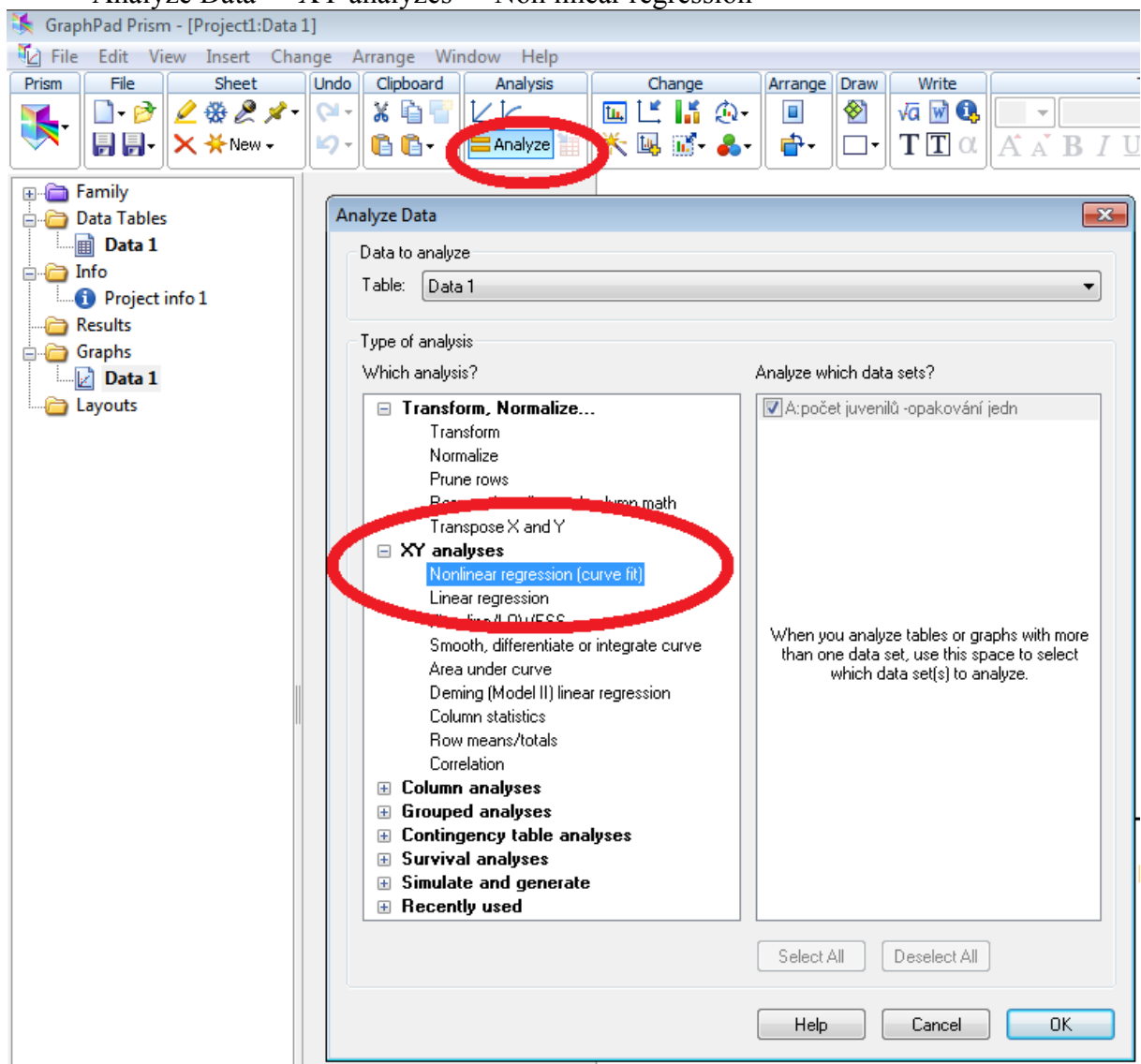
Nakopírujte data do Graphpadu aby jste vytvořili takovouto tabulku:

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

