

Počítačové zpracování a archivace dat z biotestu

Computerized processing and archiving of data in a bioassay

Jana K v í d e r o v á

Botanický ústav AVČR, Dukelská 135, CZ-379 82 Třeboň

Abstract

Large amount of data are obtained during bioassays carried out in immunological plates. The data have to be processed and archived for future references. Our laboratory developed a new file for these purposes. The MS Binder file BIOTEST consists of sections, and the necessary types of sections are Concentration, Conversion, Data, Metal and Guide. The basic file is proposed for 10 successive measurements in one immunological plate with 10 samples (e.g. concentrations) with 6 replicates, for one alga and one metal. The section Data archives measured values, and individual sheets of the section are linked to corresponding section Metal where calculations and charts are made. The file can be easily changed according to the requirements of bioassays.

Úvod

Řasový biotest v sérologických destičkách je nyní běžně používaná metoda pro sledování přítomnosti toxických látek ve vodě a růstového potenciálu vod. Vzorek je dávkován do sérologické destičky a je měřen růst řasy za standardních podmínek. V každé destičce je možné testovat až 10 vzorků, každý se 6-ti opakováními (LUKAVSKÝ 1992).

Při testování dostáváme velké množství dat, která musí být statisticky vyhodnocena a uložena pro další srovnávání. Komerčně dostupné programy, které jsou zaměřeny hlavně na zpracování dat, nejsou jednoduše použitelné, u starších mohou nastat obtíže - počítač s nimi nekomunikuje tak, jak by měl - nebo je jejich cena příliš vysoká. Proto byl vytvořen nový soubor BIOTEST typu MS Binder, který má následující funkce: archivace původních dat, konverze na sušinu, vyloučení odlehlých hodnot pomocí K-statistiky, vytvoření grafů toxicity a růstové křivky, výpočet NOEC, EC_5 a EC_{50} pomocí probitové analýzy.

Struktura souboru

BIOTEST skládá z několika sekcí, nezbytné sekce pro výpočet jsou Koncentrace, Konverze, Data a Kov (obr. 1). Výchozí soubor je vytvořen pro 10 měření v imunologických destičkách se 6 opakováními pro jednu řasu a jeden

kov. Soubor je možné snadno upravovat podle požadavků pokusu, tj. přidávat či mazat sekce, listy a tabulky.

Návod - Sekce typu MS Word obsahuje podrobný popis souboru a jeho použití.

Koncentrace - Sekce je typu MS Excel. V tabulce jsou vypočteny molární koncentrace nejčastěji používaných kovů v některých jejich sloučeninách, jejich navážky a převody mezi jednotkami mol.l^{-1} , mmol.l^{-1} a $\mu\text{mol.l}^{-1}$. Je možné uvádět také koncentraci v mg.l^{-1} nebo zředovací řadu. Je nutné zachovat plán pokusu uvedený v tabulce, jinak by mohly nastat problémy pro výpočty NOEC, EC_5 a EC_{50} , rovněž by byly ovlivněny grafy růstové křivky a toxicity.

Konverze - V sekci typu MS Excel jsou shrnuty nejčastěji používané rovnice konverzních křivek pro nejčastěji používané sinice a řasy (tab. 1). Další nové organismy mohou být snadno doplněny. Křivky byly vypočítány pro 0,2 ml suspenze v jamkách sérologických destiček FB (9x12 cm), pro některé jsou uvedeny rovnice i pro jiná stanovení. Pro většinu testovaných organismů je možné zvolit přepočty na sušinu a na počet buněk v ml.

Data - Složka typu MS Excel je určena pro archivaci dat. Zadává se do ní organismus, sledovaný kov, datum a čas měření a naměřené hodnoty. Pro každý kov je určen zvláštní list, který je propojen s odpovídající sekci. Je tak umožněna aktualizace dat.

Kov - Přepočty na sušinu, vyloučení odlehlých hodnot a NOEC, EC_5 a EC_{50} probíhají v sekci Kov, také tato složka je typu MS Excel. Do sekce se vkládají koncentrace kovu a přes propojení i naměřené hodnoty. Přepočty jsou prováděny podle rovnic uvedených v Konverzi, rovnici je nutné zadat. Odlehlé hodnoty jsou testovány K-statistikou pro $\alpha = 0,05$ (LIKEŠ & LAGA 1978), statisticky průkazně odlehlé jsou vyznačeny k vyloučení. Pro sérii 6 měření se vypočítává průměr, směrodatná odchylka a variační koeficient. Hodnoty NOEC, EC_5 a EC_{50} jsou stanoveny probitovou analýzou (PŘIKRYL et al. 1983), zároveň se objeví informace o platnosti testu, kdy jsou potřebné alespoň 3 hodnoty v rozsahu 5 – 90% inhibice. V této sekci jsou také vytvářeny grafy růstové křivky a křivky toxicity pro daný kov a řasu (sinici).

Ověřování funkcí souboru

Funkčnost BIOTESTu jsme testovali na pokusu sledujícím vliv těžkých kovů na sinici *Microcystis* (LUKAVSKÝ unpublished data).

Další využití a vylepšování souboru

Soubor je možné využít pro jakékoliv měření se šesti opakováními, např. pro stanovení trofického potenciálu vody v sérologických destičkách, sledování závislosti růstové rychlosti na různých faktorech atd.

Pro snadnější komunikaci s uživatelem bude první verze dále upravována. Zautomatizuje se vylučování odlehlých hodnot a bude se spouštět po každé aktualizaci dat. Další plánované vylepšení se týká zadávání zvoleného kovu a jeho koncentrace do sekce Data. Při kliknutí na tlačítko kov by se měla objevit nabídka kovů a sloučenin, bylo by možné zvolit způsob zadání koncentrace a po schválení by byly hodnoty vloženy do daného listu. Připravuje se sekce Shrnutí typu MS Word, kde bude pro každý kov připraven list s výsledky testů toxicity a grafy růstové křivky a křivky toxicity. Budou odstraněny problémy s propojením jednotlivých složek souboru, které mohou nastat při přesunu na jiné místo na disku.

BIOTEST bude distribuován na CD, spolu s dalšími užitečnými soubory.

Poděkování

Děkuji J. Lukavskému a S. Furnadzievě za poskytnutí dat nezbytných pro testování funkcí souboru a náměty na jeho vylepšení.

Literatura

LIKEŠ, J. & LAGA, J. (1978): Základní statistické tabulky. – SNTL, Praha.

LUKAVSKÝ, J. (1992): The evaluation of algal growth potential (AGP) and toxicity of water by miniaturized growth bioassay. – Wat. Res. 26 (10): 1409-1413.

PŘIKRYL, I., SVOBODOVÁ, Z., HANZALOVÁ, J. (1983): Numerický postup stanovení LC_{50} a LC_5 v testech akutní toxicity. – Buletín VÚRH Vodňany 4: 25-30.

Tab. 1: Seznam sinic a řas, pro které jsou uvedeny konverzní křivky.

Tab. 1: List of strains of cyanobacteria and algae for which conversion curves are entered.

Sinice
<i>Anabaena</i> sp. kmen TAKÁČOVÁ 1984/1
<i>Microcystis</i> cf. <i>incerta</i> kmen HINDÁK 1965/17
<i>Synechococcus elongatus</i> kmen KOVROV 1972/8
<i>Synechococcus leopoliensis</i> kmen KRATZ-ALLEN/UTEX 625
Řasa
<i>Dunaliella tertiolecta</i>
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> kmen UTEX 2246- a 2247+
<i>Chlorella kesslerii</i> kmen LARG/2
<i>Chlorella minutissima</i> kmen LB 2341
<i>Isochrysis</i>
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> kmen CAUGHT
<i>Raphidocelis capricornutum</i> (<i>Selenastrum capricornutum</i>) kmen SKULBERG 1959/1
<i>Scenedesmus quadricauda</i> kmen GRIEFSWALD/15

Obr. 1: Struktura souboru BIOTEST.

Fig. 1: The structure of file BIOTEST

Microsoft Office Binder - Biotest

Návod

Koncentra

Konverze

Data

Kov

File

Edit

View

Insert

Format

Tools

Data

Go

Section

Help

<