10. ročník (2025/26)

IBIS

Interaktivní Biologický Seminář

1. sada

Autorské řešení

MUNI | RECETOX

MUNI SCI Ústav experimentální biologie

Níže naleznete řešení následujících úloh:

1. Buněčné (na)dělení (Eliška L. Frolová) 3

2. Trace the beat (Sisi Čechová) 8

3. Kdo, s kým a proč: příběh kladistiky a taxonomie (Martin Švejnoha, Dorota Víchová) 14

4. Biostatistický maraton I: Jak se dělá věda (Eliška Pirnosová a Martin Richter) 22

5. Testováno na zvířatech (Hana Slámová) 33

6. Burn, baby, burn! (Anežka Kováčiková) 40

Eliška L. Frolová (e-mail: eliska.l.frolova@gmail.com)

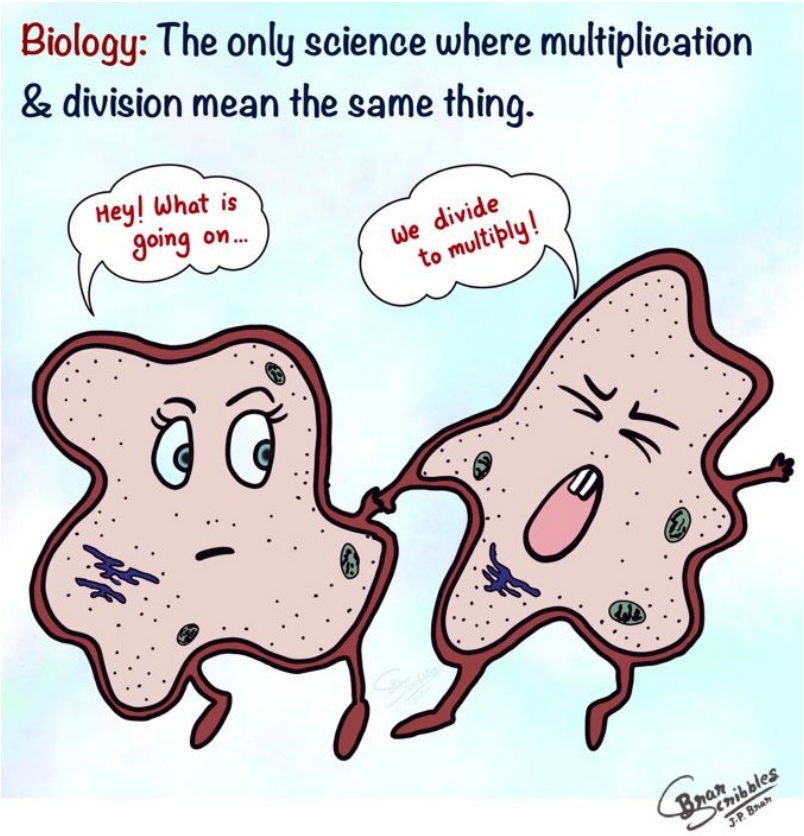
1. Buněčné (na)dělení

10 bodů

Při řešení semináře IBIS nezakazujeme využití generativní AI (např. ChatGPT). Veškeré odpovědi, které nám posíláš, by ale měly být psány Tvými slovy a měl bys jim rozumět. Naše plné stanovisko k AI můžeš číst na webu v sekci Jak Řešit.

Buněčné dělení je základní rutinní proces, který umožňuje navyšování počtu dceřiných buněk. Je základem růstu i rozmnožování živých organismů. Jedná o velmi podrobně prozkoumaný děj, který však není u všech organismů totožný. Liší se u prokaryot i eukaryot, a to velmi zásadně. U **jednobuněčných eukaryot** představuje způsob nepohlavního rozmnožování. U **mnohobuněčných eukaryot** je buněčné dělení nezbytné pro růst, vývoj i regeneraci tkání a specifický proces meiózy také pro rozmnožování, kdy se tvoří haploidní buňky (gamety), které dávají po jejich splynutí v diploidní zygotu a následném mnohočetném mitotickém dělení vznik novému jedinci.

U **prokaryot** probíhá rozmnožování/buněčné dělení formou tzv. **binárního dělení**. To využívají i jiné jednobuněčné organismy, např. některé kvasinky. Vznikají tímto způsobem geneticky totožné klony mateřské buňky, které umožňují vznik například nové bakterii. U prokaryot plní tedy buněčné dělení trochu odlišný účel než u eukaryot, například člověka.



Obrázek 1: zdroj: pinterest.com/pin/60657926223615898

„Omnis celulla e cellula“ – můžete zapátrat, co daný latinský termín znamená a kdo ho poprvé vyslovil. Tento vědec také aplikoval poznatky z buněčné biologie na patologické stavy a navrhl, že různé nemoci jsou důsledkem nějaké poruchy přímo v buňkách.

Tato úloha patří k těm základnějším, tak věřím, že se povede prázdninovým prachem zaprášené informace ze světa buněčné biologie nově vybavit, případně se dokonce něco nového dozvědět :).

1. Na začátek odpovězte na následující dotazy, které se týkají obecně buněčného dělení u prokaryot i eukaryot. [1,5 b]

   Prosté přiškrcení buňky v její polovině by rozhodně nestačilo ke vzniku buňky nové, geneticky identické s buňkou mateřskou. Jaké 2 další události jsou, kromě cytokineze (fyzického rozdělení cytoplazmy mateřské buňky), nutné k věrnému zachování genetického základu buňky při buněčném dělení?

   Replikace genetické informace, DNA a rovnoměrné rozestoupení chromozomu/ů k oběma pólům buňky, případně možno uznat karyokineze.

   Pokud se zaměříme na eukaryota, konkrétně mnohobuněčné organismy, u buněčného dělení rozlišujeme velmi známé procesy: **mitózu** a **meiózu**. Kriticky nastiňte, v čem se oba typy dělení liší. V tomto případě mě nezajímají jednotlivé názvy fází v průběhu, ale vyberte právě 3 charakteristiky (rozdíly), které byste zdůraznili jakožto jedny z nejdůležitějších při rozdílném popisu těchto procesů.

   příklady odpovědí:

   - výsledkem meiózy jsou 4 haploidní buňky, výsledkem mitózy 2 diploidní buňky (ve standardním případě)
   - u meiózy probíhá crossing over, který vede k rekombinaci a zvyšování genetické variability
   - meióza probíhá pouze u zárodečných buněk, mitóza u všech ostatních buněk (buněk somatických) s různou intenzitou
   - mitóza má 1 cyklus, meióza 2 cykly

   U některých organismů dochází k mitóze, aniž by u nich docházelo k cytokinezi. Následkem toho je:

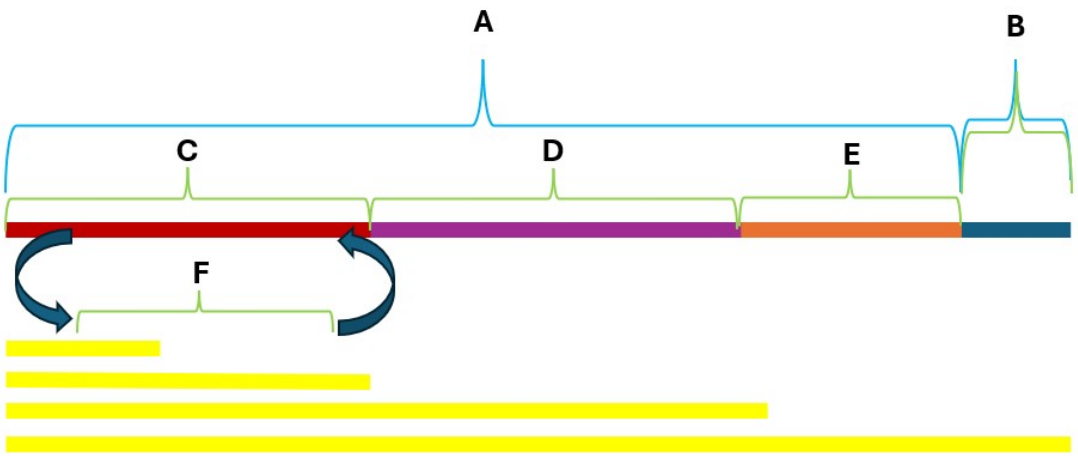
   Vícejaderná buňka, například syncytium – svalová vlákna, uznána je i buňka se zvýšenou ploidií

   Nyní se již více zaměříme na eukaryota. K popisu tzv. buněčného cyklu, vysoce regulovaného procesu s určitou hierarchií, využijeme trochu netradiční schéma:

2. **Mitóza** je pouze jednou z částí buněčného cyklu, který se skládá z několika fází a subfází. Do následujícího schématu doplňte k písmenům jednotlivé názvy fází a subfází a dále doplňte do tabulky (číslo) charakteristiku (sub)fáze, která se k jednotlivým názvům a písmenům nejlépe nabízí (jsou vypsané pod otázkou). Všímejte si i měřítka jednotlivých čar ve schématu, jejich délka není náhodná. [3 b]

PÍSMENO ZE SCHÉMATU	NÁZEV (SUB)FÁZE	ČÍSLO CHARAKTERISTIKY
A	interfáze	IV.
B	mitóza	III.
C	G1	II.
D	S	I.
E	G2	VI.
F	G0	V.

Řešení – Tabulka k otázce 2.



I. Zdvojení genetické informace

II. Růst, primárně řízeno vnějšími signály

III. Karyokineze + cytokineze

IV. Okolo 90 % délky buněčného cyklu

V. Možný „výsledek“ při nedostatku růstových faktorů

VI. Oprava poškozené DNA před dělením

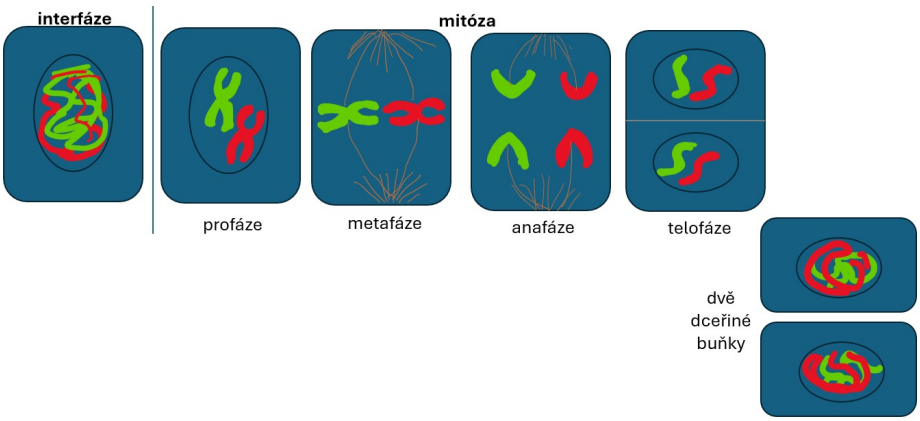
3. Popiště, co značí různá délka žlutých čar pod písmenem F. Zde se nejedná striktně o přesně zobrazené délky dané subfáze. [0,5 b]

Do G0 fáze může buňka vstoupit na chvíli nebo dlouhodobě, záleží na dostupnosti například růstových signálů

4. Jaký je průběh (sub)fáze B z otázky 2? Pojmenujte jednotlivé děje, jak jdou za sebou a u každého znázorněte vlastním jednoduchým schématem (ručně, na tabletu nebo např. v malování) a krátkým popiskem, jak u každé ze 4 pojmenovaných dějů, částí (sub)fáze B, vypadá živočišná buňka, respektive její chromozomy, a co klíčového se s nimi děje. [2 b]

   profáze – metafáze – anafáze – telofáze (pokud nezabíháme více do detailů, někdy se například vyčleňuje ještě prometafáze, v které zaniká jaderná membrána).

   Po interfázi následuje profáze, kde dochází ke kondenzaci chromozomů a rozpuštění jaderné membrány. Během metafáze se chromozomy seřadí v tzv. ekvatoriální rovině prostřednictvím mitotického vřeténka, v anafázi dochází pak rozchodu jednotlivých chromatid k opačným pólům buňky. Při telofázi se obnovuje jaderná membrána, chromozomy se postupně dekondenzují a buňka se na konci telofáze rozdělí na 2 buňky dceřinné.



5. Když se na první pohled podíváte na toto velmi minimalistické a neobvyklé schéma buněčného cyklu, napište, případně doplňte do schématu, které **body** buněčného cyklu chybí a na schématech se jinak často zobrazují. [1 b]

   Chybí kontrolní body, obzvláště tzv. bod restrikce v G1 fázi. Dále kontrolní bod v G2 fázi, který rozhoduje o vstupu do fáze M. Pak máme ještě kontrolní bod v anafázi, který rozhoduje o správně načasovaném rozestupu chromozomů od sebe.

   Ne všechny buňky, jak jste již možná pochopili, mají buněčný cyklus úplně stejně dlouhý a liší se i napříč různými skupinami organismů.

6. Na závěr zkuste u následujících typů (zralých) buněk odhadnout, jak moc, s jakou intenzitou se dělí – samozřejmě záleží na jejich funkci, místě, původu. Označte níže jmenované buněčné typy symboly +, ++, +++ a ++++, jak moc se dělí, kde + je nedělí se téměř vůbec a ++++ dělí se v podstatě neustále! Svůj výběr krátce okomentujte. Tolerance v podobě jednoho/dvou + je možná, záleží spíše na kontextu s ostatními buněčnými typy/buňkami. [2 b]

Neurony (u lidí)	+, v podstatě nedělící se buňky, pokud vznikají např. u člověka nové, tak z prekurzorů, nikoliv z buněk stávajících
Palisádový parenchym (u rostlin)	+, v podstatě nedělící se buňky plnící fotosyntetickou funkcii narozdíl například od meristému
Hematopoetické kmenové buňky (u lidí)	+++, velmi rychle se dělí, zdroj krevních elementů
Erytrocyty (u ptáků)	+, ačkoliv mají jádro, když erytrocyty dozrají, kolují v krevním řečišti, ale nedělí se
Bakterie *E. coli*	++++, dělí se v podstat každých 20 min, jejich počet se exponenciálně navyšuje a to velmi rychle
Trepka velká	+++, dělí se rychle, obvykle v řádech hodin

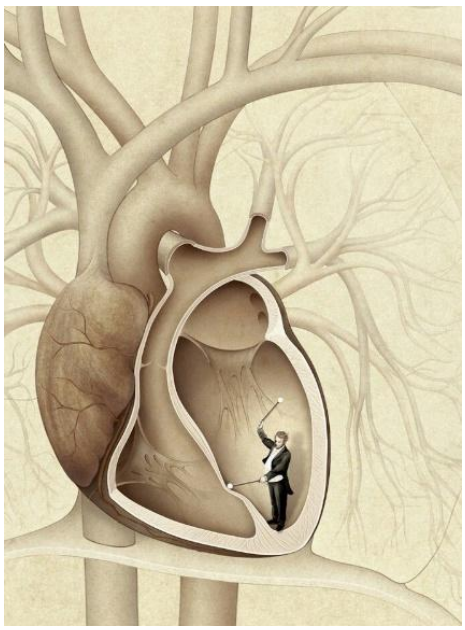
A to by pro tentokrát bylo ode mě vše, ale tento ročník se s největší pravděpodobností ještě potkáme a prozkoumáme svět buněčné biologie ještě více do hloubky… A třeba Vám pak bude více dávat smysl tento, no, řekněme, vtip:

Sisi Čechová (e-mail: cecile.cech@seznam.cz))

2. Trace the beat

10 points

A friendly reminder:
Your solution of this task is expected to be written in English.



A heartbeat may seem simple. Anybody can place their thumb on their wrist or neck and check for a pulse. Those who paid attention in biology class may recall it has something to do with closing valves and the alternating filling of atria and ventricles. However, not so many people realise each beat is much more than a simple thump – it has waves, phases and hidden rhythms. We could say it's like watching a choreographed dance or a secret code the heart created to keep itself working in perfect order. And only those who are willing to spend some time learning to read it will be lucky enough to truly appreciate this dance.

Of course, understanding the heartbeat is not only for curiosity's sake but it is essential for any cardiologist and valuable for anybody who wants to understand how the body works.

In this short assignment we won't be able to cover all the aspects of the heart function, but to give you a clear overview we will step by step set up a Wiggers diagram which will include: an ECG, a phonocardiogram, the pressures in the ventricles, atria and aorta and finally the blood volume in the chamber. It is important to first understand the normal physiological heart cycle, since this provides the foundation for recognizing how and why deviations occur in pathological conditions. You will then be able to interpret abnormal findings more easily and link them to underlying cardiovascular diseases.

To make sure our polygraph diagram is clear and easy to read, we first have to divide the heartbeat into phases. If we were beginners, we would settle for the two common phases that you have probably already heard about: diastole and systole. Systole is the phase of contraction, when the heart's chambers squeeze to pump blood out into the body's arteries. Diastole is the phase of relaxation, during which the heart chambers rest and refill with blood from veins, preparing for the next contraction. But we are already professional cardiologists :P, so we have to be more accurate. When looking at the ventricle, there are actually four phases, and the best way to understand them is to draw a p-V diagram – p for pressure and V for volume. You can either draw the whole graph on your own or use the baseline grid below and draw the diagram, but **simply copying a diagram from the internet will not be accepted**.

1. a) In the text below, name the four phases and match them with their correct definition. [0.5 pt]

   b) Complete the missing p-V diagram in the baseline grid [Figure 1] (draw the curve; copying and pasting it from the internet is not sufficient.) and indicate which part of the curve represents each of the four phases. Don't forget to add which point represents the closing/opening of which valve. [1 pt]

1. Isovolvumetric contraction – At the beginning of this phase, the ventricle is filled with blood. The mitral valve is already closed because the pressure in the ventricle is higher than in the atrium. The ventricular wall contracts, which increases the pressure, but since the aortic valve has not yet opened, blood cannot leave. As a result, the blood volume remains constant during this phase.

2. Ejection – When the pressure in the ventricle reaches and slightly exceeds the pressure in the aorta, the aortic valve opens. Blood now flows out of the ventricle. The pressure in the ventricle still rises for a short while but then begins to decrease as the ventricular wall relaxes.

3. Isovolvumetric relaxation – At the beginning of this phase, the pressure in the ventricle drops below the pressure in the aorta, which causes the aortic valve to close. The ventricular pressure continues to decrease, but since the mitral valve is not opened yet, the blood volume stays unchanged.

4. Ventricular filling – The ventricular pressure has now fallen below the pressure in the atrium, which causes the mitral valve to open. Blood can flow into the ventricle. This phase is often divided into three parts based on the speed of filling: rapid filling, diastasis (slow filling), and atrial systole.

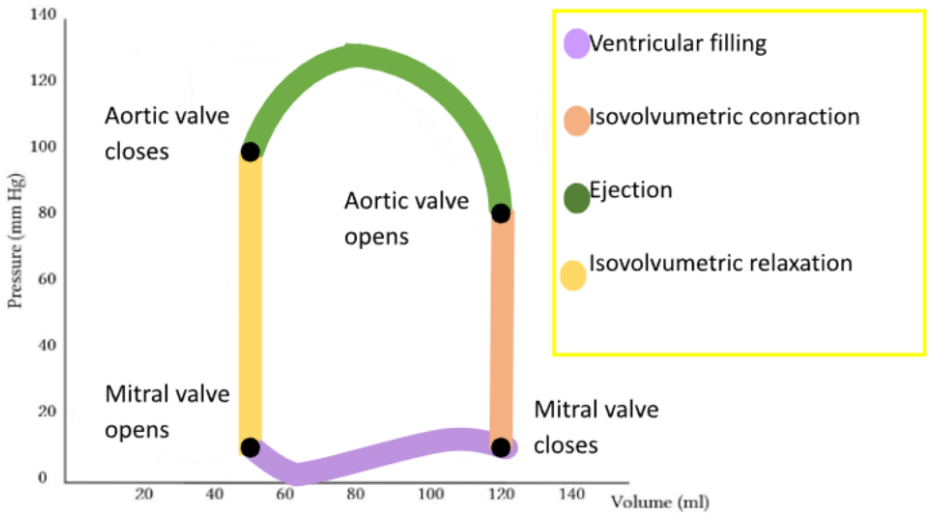


Figure 1: p–V diagram – solution

According to the numbers in exercise number 1, you can easily fill in the terms missing in the graph prepared below. We will now proceed to add, one by one, each of the elements I mentioned before. You can either draw the whole diagram on your own or use the baseline grid below [Figure 2] and draw the curves, but **simply copying a diagram from the internet will not be accepted**.

Step one, the gold standard in cardiology – the ECG. Since some of you already went through the meaning of the ECG in last year's assignment, we won't cover it in such detail. However, for those of you who would like to fully understand it, I recommend a rather long but very clear video from Ninja Nerd – ECG Basics | How to Read & Interpret ECGs: Updated Lecture. He also explains how we are able to detect heart function using simple electrodes, and why it is useful for us to have not just one lead, but several.

2. [1 pt]

a) Describe the ECG curve. Indicate which parts correspond to atrial and ventricular contraction/relaxation. Be specific – during the QRS complex, which parts of the ventricular walls contract?

ECG is a record of time difference in electric potential during hearth activity. It is one of the important physical exams that studies the electric activity of the myocardium. ECG can be divided into waves and their interval that correspond with certain mechanical processes in the hearth.

- P wave: atrial depolarization, causes atrial contraction
- PR interval: causes delay in AV node signal →allows atrial contraction to finish and ventricles to fill
- QRS complex: ventricular depolarization, causes ventricular contraction (contraction follows the signal)
  - Q wave: initiates usually left ventricle contraction, blood flows right through the interventricular septum (divider between ventricles)
  - R wave: initiates main contraction of the ventricular free walls and apex (muscle mass in the left ventricle)
  - S wave: initiates contraction of the basal portions of the ventricle
- ST interval: period when the ventricles are depolarized, ejection/ventricular contraction is sustained
- T wave: ventricular repolarization, causes ventricular relaxation
- (Atrial repolarization happens during QRS complex, but is hidden in ventricular signal)

b) Add the ECG curve in the diagram [2] (reminder: you have to draw the curve, copying it from the internet is not sufficient).

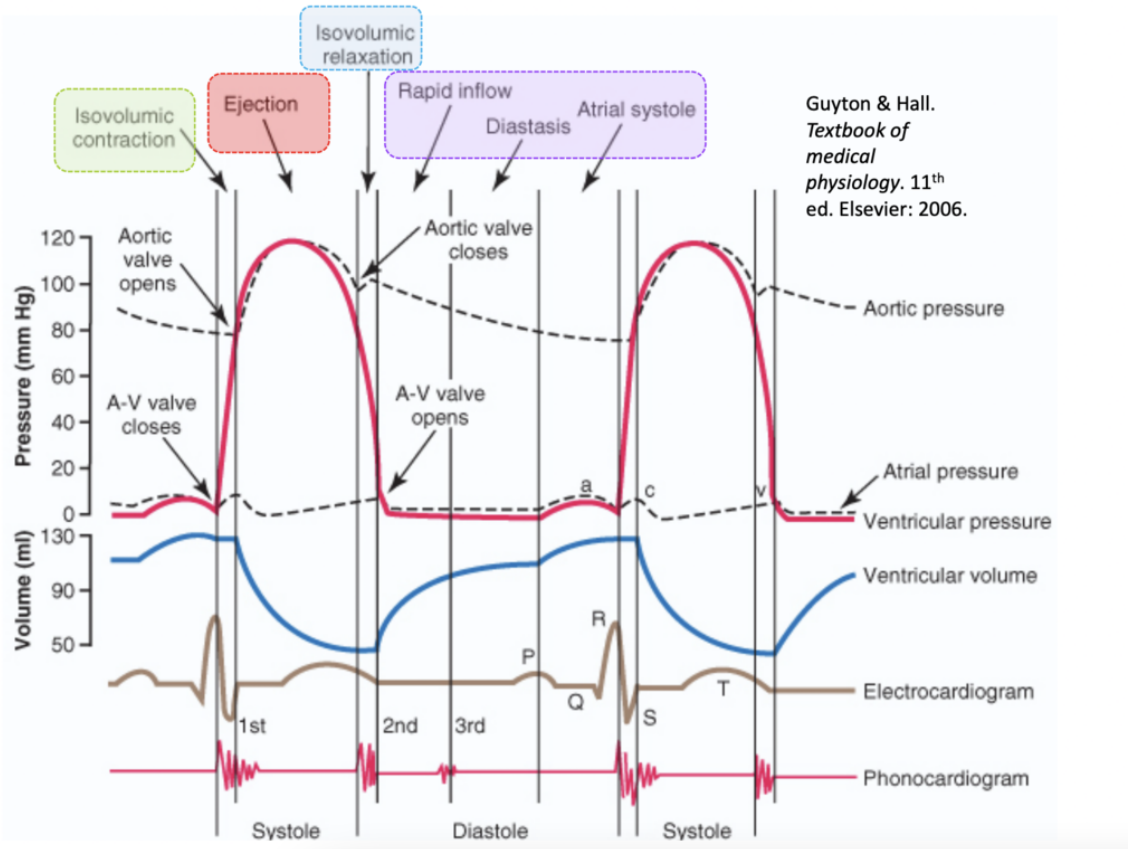


Figure 2: Wiggers diagram (for Questions 2–7)

We have already explained how the pressure fluctuates in the ventricle in question 1, so it should not be difficult to add a curve representing it.

3. Add the ventricular pressure curve to the diagram and, in a few sentences, explain how the fluctuations in ventricular pressure relate to the ECG curve. [1 pt]

   We can clearly see the connection of the start of growth of the ventricular pressure with the R wave in ECG. The release of the pressure is corresponding with T wave. The P wave initiates the whole pressure growth process including the small pressure 'jump' before the actual growth.

4. a) Now draw the atrial pressure curve. You will notice that this curve has three waves. Explain what causes each wave and what we call them. [1.5 pt]

   - a wave: caused by atrial contraction, pushes blood into the ventricles
   - c wave: caused by bulging of the mitral valve into the atrium during isovolumetric contraction
   - v wave, caused by passive atrial filling when the AV valves (mitral and tricuspid) are closed

b) In your diagram, indicate the moment the mitral valve opens and closes and explain why these events occur at those exact times. [0.5 pt]

- mitral valve opens right after the v wave peak, left atrial pressure exceeds the left ventricular pressure
- mitral valve closes between the end of a wave and start the c wave, left atrial pressure is lower than left ventricular

5. a) Now add the aortic pressure curve. In a few sentences, explain how the fluctuations in aortic pressure relate to the ventricular pressure. [1.5 pt]

   Although the aortic pressure is overall higher than ventricular, they meet each other's peak approximately at 120 mmHg. After that it's lowering with the ventricular pressure.

   b) Again, indicate the moments the aortic valve opens and closes and explain why these events occur at those exact times. [0.5 pt]

   - aortic valve opens early in ventricular systole, when left ventricular pressure slightly exceeds the aortic pressure
   - aortic valve closes at the and of ventricular systole, when the ventricular pressure is lower than aortic, (marked by a brief rise in the aortic pressure)

6. Now add the ventricular volume curve to the diagram. In your own words, explain why it fluctuates in this way. [1 pt]

   The ventricular volume changes because the ventricle fills with blood during diastole and then empties during systole. It rises when the AV valves are open and blood flows in, stays constant during the isovolumetric phases, and drops sharply when the semilunar valves open and the ventricle ejects blood

   To make sure our Wiggers diagram is complete, there is one last curve we have to draw: the phonocardiogram. It records the sounds and murmurs produced by the heart. These heart sounds are generated when the valves snap shut, and the vibrations spread through the body's tissues to the surface.

7. Add the first and second heart sound to your diagram and specify which sound is generated by which valve. When looking for the first and second sound you may have noticed there is also a third and fourth sound. Explain their origin, indicate whether they are physiological or not, and describe in which patients you would not be concerned about one of them. [1.5 pt]

   The first heart sound (S1) is generated by the closing of the atrioventricular valves (mitral and tricuspid), and the second heart sound (S2) by the closing of the semilunar valves (aortic and pulmonary). The third heart sound (S3) occurs during rapid ventricular filling; it is physiological in children and young adults but may indicate heart failure in older adults. The fourth heart sound (S4) occurs during atrial contraction against a stiff ventricle and is always pathological, even in older patients.

By now you should have built a complete Wiggers diagram step by step: the ECG, the atrial, ventricular and aortic pressures, the changes in ventricular volume, and finally the phonocardiogram with the heart sounds. All these curves may seem complicated when studied separately, but when you put them together, the picture becomes much clearer. If you can read and explain this diagram, you already have the basis for interpreting cardiac function and recognizing its key physiological events.

For example, in mitral regurgitation the Wiggers diagram is altered, as blood flows back into the left atrium during systole. This leads to an abnormal rise in atrial pressure, changes in ventricular filling, and modified heart sounds we call murmurs. Because you already understand the phases of the cardiac cycle and the associated pressure and volume changes, you can now use the diagram to identify and interpret these pathological patterns.

Martin Švejnoha, Dorota Víchová (e-mail: svejnoha.ma@seznam.cz)
(e-mail: dorota.vichova@seznam.cz)

3. Kdo, s kým a proč: příběh kladistiky a taxonomie

20 bodů

Rozmanitost přírody je obrovská, pro lidskou mysl by se dalo říct i nepojmutelná. Lidé mají odpradávna potřebu třídit a pojmenovávat. Pro poznání je ale pojmenování nutností. Dát organismům kolem nás jména a třídit je do skupin nám umožňuje komunikaci o nich a tedy i případně je zkoumat a své objevy sdílet. Proto existují vědní obory Taxonomie a Systematika. Tato dvě vědní odvětví jsou spolu velmi propletená ale přesto rozdílná.

1. Definujte Taxonomi a Systematiku, každou do krátkého odstavce a vysvětlete rozdíl mezi nimi. [1 b]

Taxonomie – teorie a praxe určování (identifikace), popisování (deskripce), pojmenovávání a zařazování (klasifikace) skupin organismů (taxonů) do biologického systému, jejím cílem je inventarizace veškeré biodiverzity, její klasifikace a tvorba sbírek.

Systematika ve smyslu – biologická systematika (biological systematics) je vědecké studium biologické diverzit a jedna z disciplín srovnávací biologie. Jejím cílem je: rozpoznávání základních jednotek v přírodě, jejich klasifikace a uvedení informace o nich a jejich klasifikaci do širšího kontextu

Primitivním příkladem je například lidová taxonomie. Přírodní národy často mají svůj vlastní systém který do jisté míry odpovídá tomu našemu taxonomickému systému. Takový systém se často vyznačuje nízkým počtem uspořádaných kategorií a je založen na morfologické podobnosti.

2. Napište příklad názvu lidové taxonomie a z jaké kultury pochází a doplňte k tomu ekvivalent z našeho systému. [1 b]

lidovou taxonomií je zde myšleno, jak si organismy kolem sebe třídí lidí na základě pouhé morfologii a jejich vnímání, nikoli na základě výzkumu

např. kmen Kalam z nové Guinei, systémy se téměř celé shodují (udává se 5% rozdíl), ale například ptáky a netopýry dávají do stejné skupiny zvané *yakt*

Prvním významným taxonomem, který projevil snahu organismy systematicky řadit do skupiny, byl Aristoteles. V jeho díle *Historia animalium* dělil zvířata například na dvě velké skupiny živočichové s krví a živočichové bez krve, což v podstatě odpovídá našim obratlovcům a bezobratlím. Některá jeho pojmenování nižších skupin se používají dodnes.

3. Napište dva takové názvy a pro které skupiny živočichů se používají. [1 b]

Ichtyes – ryby, *Mollusca* – měkkýš

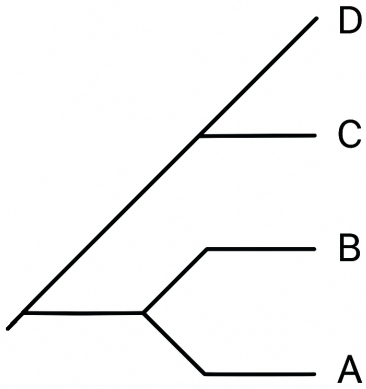
Aristoteles používal ve svém díle přístup „*definitio fit per genus proximum et differentiam specificam*“. V podstatě to znamená připodobnit daný druh jemu nejbližšímu a následně definovat jejich odlišnosti. Stejný přístup použil o tisíc let později jeden významný taxonom.

4. Kdo to byl? A jak se nazývá jeho dílo? [0,5 b]

Carl Linnaeus, Systema naturae

Dále se vnímání druhů měnilo přes přesvědčení, že druhy jsou neměnné, k poznatkům například Charlese Darwina a jeho O původu druhů. Systematické snahy se opíraly o mnoho vědních oborů od morfologie, přes embryologii, fylogenetiku, paleontologii. V první polovině 20. století došlo k syntéze genetických poznatků spolu s dosavadními poznatky a statistikou.

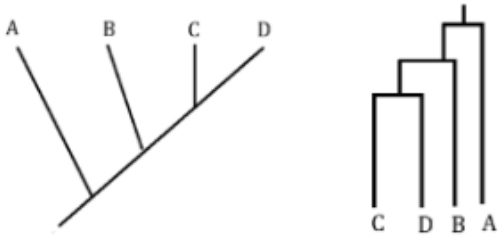
Základním způsobem, jak zobrazit příbuznost organismů je skrze kladogram, tedy jakýsi strom, jehož větvení představuje odštěpování jednotlivých linií, viz obr. 1. Oproti fylogenetickému stromu ale nezobrazuje míru evoluční změny.



Obrázek 1: Jednoduchý kladogram se čtyřmi terminálními taxony.

Na tvaru a orientaci kladogramu nezáleží, můžeme jej jakkoliv otáčet nebo dokonce prohazovat větve, pokud tak neměníme celkovou topologii větvení.

5. Nakresli alespoň 2 kladogramy, které jsou topologicky identické, ale na první pohled vypadají velice odlišně. [1 b]



Kladogramům se věnuje celý vědní obor, kladistika, jejímž cílem je hierarchicky uspořádávat taxony podle jejich příbuznosti, k čemuž nám slouží znaky. Jako znak si můžeme představit téměř jakoukoliv vlastnost organismu, kterou můžeme pozorovat a která vykazuje variabilitu. Ne každý znak se nám ale hodí – abychom evoluční větvení zrekonstruovali co možná nejsprávněji, potřebujeme znaky výhradně homologické. To znamená, že vznikly u společného předka, od kterého byly zděděny (představme si jakési kopie jednoho originálu).

6. Uveď alespoň 2 znaky, které homologické nejsou. [0,5 b]

Třeba ploutve kapra a delfína nebo komorové oko člověka a sépie.

Vedle snadno představitelných morfologických znaků existují také znaky molekulární, které do zoologie začaly promlouvat relativně nedávno a mnohé dlouho udržované představy obrátily vzhůru nohama. Teoreticky můžeme každé písmenko genetické informace využít jako znak, což nám přináší mnoho výhod ale také určitá úskalí

7. Zkus velice stručně shrnout jaké jsou výhody a nevýhody molekulárních znaků oproti těm mofologickým. [1 b]

Výhodou je velký počet znaků, které jsou kvalitativní a vzájemně nezávislé. Můžeme také srovnávat i velice nepříbuzné organismy, což u morfologických znaků příliš nejde. Ty ale zase můžeme využít i při studiu fosilních záznamů a jejich použití je (zatím) levnější.

Ke konstrukci kladogramů se používají matice znaků s, nejčastěji, binárním kódováním. Funguje to potom tak, že 0 nám kóduje absenci znaku a 1 jeho přítomnost. Kódovat ale můžeme třeba i počet – přítomnost dvou ocelli můžeme označit jako „0“ a čtyři jako „1“. Vzhledem k tomu, že důkazem příbuznosti jsou pouze synapomofie (sdílené evoluční novinky), je zásadní jejich správné rozeznání. K tomu používáme mimoskupinové srovnávání. Vybereme si taxon, který do naší do naší studované skupiny nepatří (říká se mu outgroup) a uvažujeme, že stav znaku, který se vyskytuje u outgroup je původní (= pleziomorfní). Pro lepší pochopení se podívejme na tabulku níže.

	znak 1	znak 2	znak 3	znak 4	znak 5	znak 6	znak 7
outgroup	0	0	0	0	0	0	0
taxon A	0	0	1	0	1	1	1
taxon B	0	1	1	0	1	1	1
taxon C	1	0	0	0	1	0	0
taxon D	0	0	0	0	0	1	1
taxon E	0	1	1	0	1	1	1
taxon F	0	0	0	0	1	1	0
taxon G	1	0	0	0	1	0	0

Vidíme, že u outgroup sledované znaky chybí (v tabulce je nula). To nám říká, že původním stavem byla nepřítomnost znaku, naopak jeho přítomnost je naše hledaná apomorfie, na základě které postavíme strom.

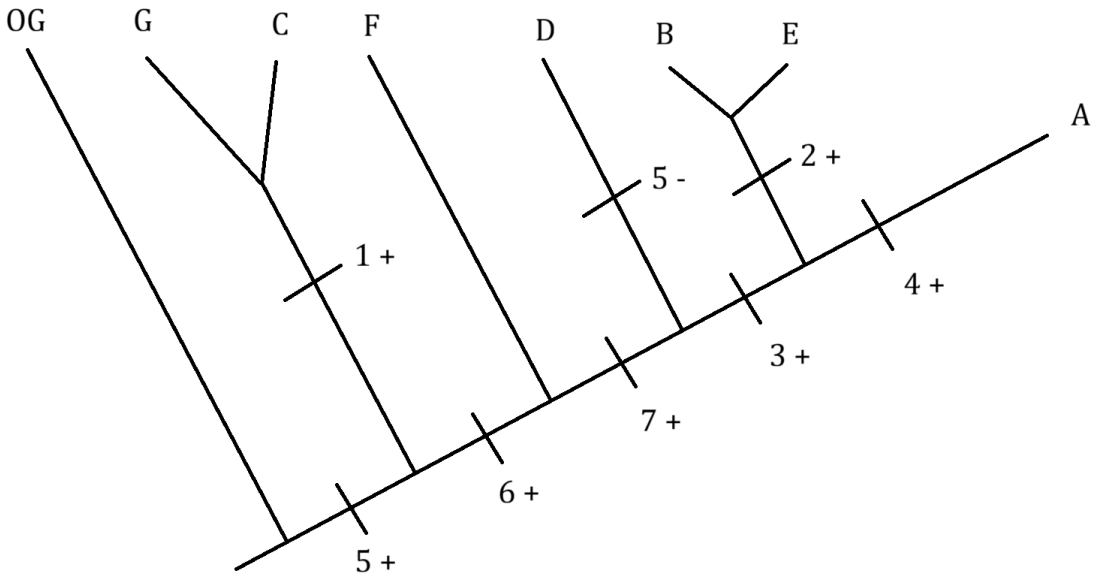
Matici znaků máme hotovou a trochu už rozumíme kladistice, tak si pojďme společně zkusit sestrojit kladogram.

Kladogram můžete kreslit mnoha způsoby, běžné je ale začít v levém dolním rohu a vést linii směrem k pravému hornímu rohu. Odštěpující se linie vedeme kolmo na základní linii. Do kladogramu také zakreslujeme znaky a to přesně v místech, kde se objevují, nebo naopak ztrácejí (například jako „znak 3 +“ a „znak 3 -“).

Začneme u outgroup, který se zákonitě musí odštěpit jako první. Postupujeme dál (už to bude jenom složitější) – znaky které se vyskytují pouze u jednoho druhu můžeme zatím ignorovat, protože nám toho zatím příliš nevypovídají. Nejlepší je zaměřit se na znaky, které sdružují více druhů do jakési skupiny – řídíme se principem parsimonie, tedy „nejjednodušší vysvětlení je nejlepší“ – pokud se nám u tří druhů objevuje znak, je pravděpodobnější, že tyto druhy společně zdědily evoluční novinku, než že jedna stejná apomorfie vznikla třikrát nezávisle na sobě. Podívejme se třeba na znak 5. Všechny taxony vyjma outgroup a taxonu D sdružuje do jedné skupiny – mohli bychom si tedy myslet, že se jako druhý odštěpí právě taxon D, ale podíváme-li se na znaky 6 a 7, vidíme že taxon D musí být „zanořen“ v kladogramu hlouběji. Je pravděpodobnější, že taxon D ztratil znak 2, než že nezávisle na ostatních získal znak 6. a 7.

Postupujeme dál a všimneme si, že taxony G a C sdílí znak 1. a zároveň nenesou žádné další znaky (znak 5. už jsme do kladogramu zakreslili a proto ho nyní můžeme ignorovat). Můžeme tedy předpokládat, že se odštěpily hned po outgroup. Všechny zbývající taxony nesou znak 6., tak jej můžeme rovnou zakreslit do kladogramu. Logickým uvažování také dojdeme k tomu, že dalším taxonem, který je potřeba do stromu vynést bude F…

8. Zbývají nám 4 taxony, jejichž přesnou pozici v kladogramu snad již nebude příliš těžké vypozorovat. Celý kladogram dokreslete (nezapomeňte zaznačit i místa vzniku či ztráty znaku. [4 b]



Obrázek 2: Kompletní kladogram pro otázku 8.

9. Teď si samostatně zkusíte celý proces tvorby kladogramu. Představte si, že jste taxonomové průzkumníci. V rámci průzkumu pozůstalosti jednoho sběratele jste dostali ke zpracování jeho sbírky. V nich jste narazili na starou kroniku popisující bestie terorizující vesnice a města. Je celkem poničená, ale dá se z ní dostat popis několika příbuzných skupin příšer. Na základě popisu se pokuste vytvořit fylogenetický strom těchto skupin. Obludy si pojmenujte. Z popisu si vypište 5 konkrétních znaků na jejichž základě vytvořte matici znaků. Při tvorbě matice vycházejte pouze ze zmíněných znaků. Matici uveďte do řešení a s její pomocí nakreslete kladogram. Skupiny pojmenujte. [5 b]

pozn.: kladogramy můžete kreslit ručně, v malování nebo třeba v powerpointu. Pokud byste chtěli nějaký sofistikovanější způsob, existuje paleta použitelných softwarů online

A) ... A bestie letěla od spáleného města a vypadala spokojeně. Potřásaje svou rohatou hlavou zmizela v lesích na úbočí hory. Dřevorubci toho večera roztřeseně zapíjeli v hospodě zážitky. Potom co se trochu vzpamatovali, rozpovídali se o hnízdě obludy, a žlutozelených třpytících se vejcích v něm. Hnízdo chvíli pozorovali, uvažujíce, že by si vejce odnesli, ale obluda se vrátila a oni se zalekli obrovských zubů a drápů na jejích dvou tlapách ...

B) ... v klášteře toho roku přijali mnoho uprchlíků jejichž domovy byly zničeny a rodiny vyvražděny vzteklou příšerou. Děti s vytřeštěnýma očima povídaly útržkovitě o zvířeti které se rychlostí blesku na čtyřech nohách prohánělo vesnicemi a kradlo nejen dobytek, ale i jejich kamarády. Potom co se obludě narodila mláďata, teror se stupňoval a při jedné bitvě došlo v rámci obrany i k podpálení vesnice ....

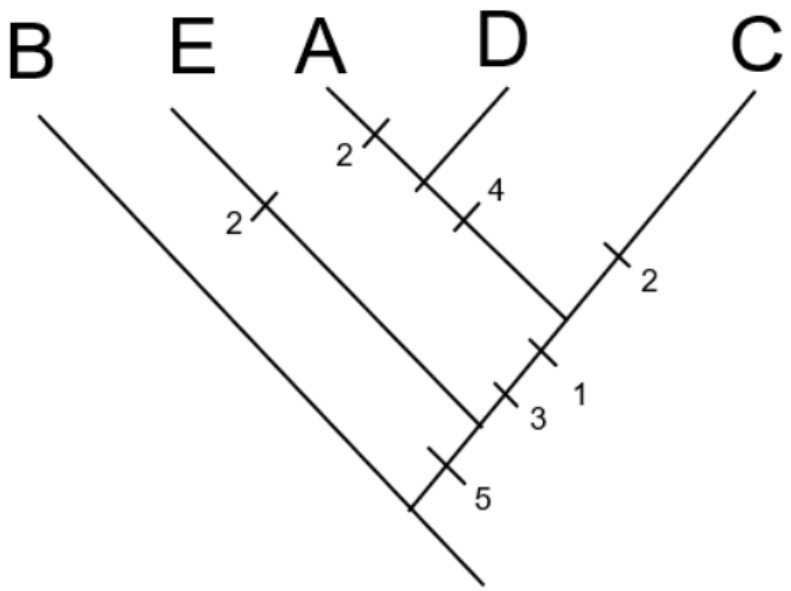
C) ... z vejce se vylíhlo zvířátko s malými plamínky v doutnajících nozdrách. Drápy na zadních nohách se mu zlatavě leskly. Snažilo se rozhýbat svá křídla, přičemž ztrácelo na svých dvou zadních rovnováhu. Zklamaní vojáci, do té chvíle doufajíce, že je vejce drahým kamenem, zvíře zabili a upekli. Ještě že tak, kdo ví, co by z toho vyrostlo ...

D) ... dvounohá obluda ... 8 vajec... odporné šupinaté cosi na zádech, co možná kdysi bylo křídly ... běhá jako člověk ... byla u mě jako blesk ... asi se bála o své mladé; To byla poslední slova popáleného nešťastníka, které ho našel hajný a dotáhl do vesnice. Ten člověk měl v očích hrůzu a šílenství ...

E) z dálky to vypadalo jako pasoucí se kůň, obvyklá čtyřnohá silueta, dokud se nepřišlo blíže a nebylo vidět, že se nepase trávou ale mrtvolou srnčí, a na hřbetě měl složená křídla to bylo podezřelé... poté myslivci našli v lese doupě velké jako stáj a skořápky od vajec, ze kterých se snad vylíhl kůň...

A – Rohatka, B – Bleskoštěr, C – Popelík, D – Plíživá smrt, E – Okřídlená spoušť

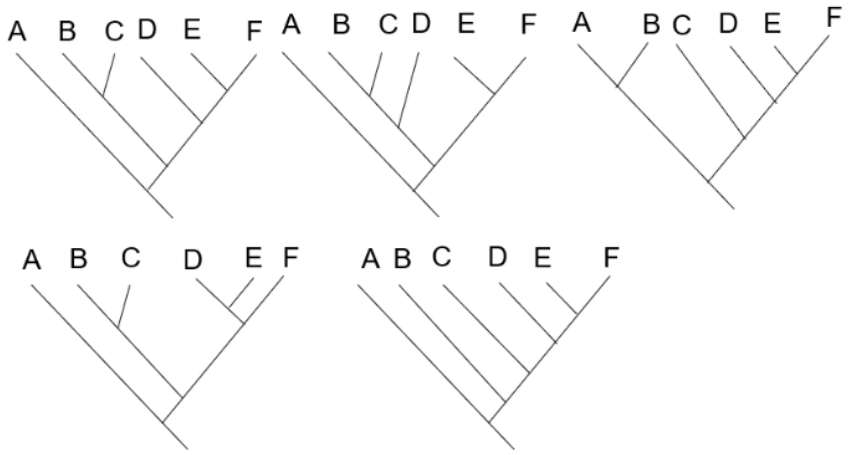
	B(OG)	E	A	D	C
1 končetiny	4	4	2	2	2
2 křídla	ne	ano	ano	(už) ne	ano
3 schopnost plivat oheň	ne	ne	ano	ano	ano
4 rohy	ne	ne	ano	ano	ano
5 rozmnožování	živé ml.	vejce	vejce	vejce	vejce



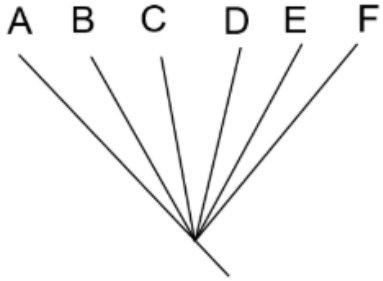
10. Díky existenci homoplázií (podobnosti taxonů, které ale nejsou podložené společným vývojem) může nastat situace, kdy neznáme pozice všech taxonů na stromu. Tedy máme více úsporných možností jak naši kladistickou situaci vyřešit. K finálnímu stromu potom dojdeme tzv konsensem. Existují různé konsensy.

    Každý z nich má své výhody a nevýhody. Vyberte si dva přístupy, popište jejich vlastnosti a princip a vyřešte následující situaci. Aplikujte dva vámi vybrané konsensy a nakreslete 2 různé výsledné konsensuální stromy. [2 b]

    Omlouváme se všem řešitelům, kteří se pokusili úkol č. 10 řešit. Vlivem chyby v procesu tvorby zadání část tohoto úkolu chyběla, proto nešel vyřešit pořádně. Rozhodli jsme se jej proto vůbec nehodnotit a body za něj nikomu nepřičítat. Nicméně, takto měla úloha vypadat a být vyřešená:

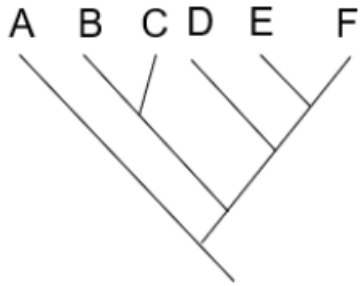


Přísný konsensus – zachovává jen ty skupiny u kterých jsme si jistí – tedy ty které nám ve stromě vyšly pokaždé, má ale tím pádem dost malé rozlišení



Addamsův konsensus – skupinu s nejasnou pozicí umístí do kořenu stromu – odstraní tím jeden problematický taxon, můžou tímto způsobem vznikat skupiny, které nemají ale žádné fylogenetické opodstatnění

Většinový konsensus – zachová tu variantu, která se vyskytne více než ve stanoveném procentu možných stromů, vybírá tedy tu pravděpodobnější variantu, ale může tímto být ztracena menšinová informace



S taxonomií je také neoddělitelně spjata nomenklatura, tedy soubor pravidel, podle kterých organismy pojmenováváme. Její základy položil Carl Linné svojí svědomitou prací a zejména dílem Systema Naturae z roku 1735. Podle 10. vydání tohoto díla z roku 1758 byl jako výchozí bod zoologické nomenklatury stanoven 1. leden tohoto roku. Tedy žádná pojmenování z dob dřívějších do systému nomenklatury nevstupují.

11. Botanická nomenklatura má mírně odlišná pravidla a také jiný „startovní bod“. Zjisti jaký – a podle kterého díla byl zvolen. [1 b]

Species Plantarum (1753)

Nomenklatura se řídí mnoha pravidly – jde o jakýsi zákoník s mnoha paragrafy a výjimkami. Rozhodující slovo má vždy Mezinárodní komise pro zoologickou Nomenklaturu, která vydává oficiální pravidla.

Pro naše potřeby se ale zaměříme jen na ty nejzákladnější principy, které by měl každý biolog ovládat.

1) Nomenklatura je binominální, tedy označení druhu je složenina rodového a druhového jména. Rodové jméno píšeme s velkým počátečním písmenem, celý binomen je v kurzívě.

2) Jméno druhu je vždy unikátní. V případě že dva druhy nesou stejné jméno, je platné to starší z nich (tzv. princip priority), mladší popis musí být přejmenován

3) Všechny kategorie vyšší než rod jsou jednoslovné a kurzívou je nepíšeme.

4) Binomen následuje jméno autora a rok původního popisu druhu. Je dobrým zvykem tyto informace uvádět, zejména pokud nějaký druh v textu zmiňujeme poprvé.

České názvosloví stojí samostatně a není oficiálně nijak kodifikované, vychází z tradice jednotlivých skupin. Znamená to, že některé druhy mohou mít několik „platných“ jmen současně.

12. Zkuste najít dva příklady takových druhů a uveďte jejich jména. [0,5 b]

Např. píďalka doubravní/zubočárník plotní; píďalka mokřadní/zubočárník vřesový

Jméno autora a rok popisu se v případě, že došlo k přesunu druhu do jiného rodu, než byl původní popis, píše v závorce. Například babočka admirál, *Vanessa atalanta*, byla původně popsána jako *Papilio atalanta*. Správný plný zápis je tedy se závorkami – *Vanessa atalanta* (Linnaeus, 1758). Vzhledem k tomu, že většina druhů byla popsána již před několika staletími, spousta z nich byla také (často i mnohokrát) přesunuta do jiného rodu.

13. Závěrem zkuste jména následujících smyšlených taxonů upravit podle výše uvedených pravidel (příjmení autorů vymyslete vlastní, případně použijte neoriginálně „Linnaeus“). [1,5 b]

arenacea isturgia – popsána roku 1775 v rodě Idaea, poté přesunuta

arenacea murinaria – popsána roku 1776 v rodě Idaea, poté přesunuta

cespita tholeris – popsána roku 1761

decima tholeris – popsána roku 1760

Arenacea isturgia (Linnaeus, 1775)

Arenacea murinaria (Linnaeus, 1776)

Cespita X Linnaeus, 1761 – je nutné vytvořit nové druhové jméno

Decima tholeris Linnaeus, 1760 – starší kombinace zůstane zachována

Eliška Pirnosová a Martin Richter (e-mail: epirnosova@mail.muni.cz)
(e-mail: martinri@email.cz)

4. Biostatistický maraton I: Jak se dělá věda

20 bodů

Tato úloha je první z našeho třídílného maratonu zaměřeného na biostatistiku. Řešení této úlohy, nebo alespoň čtení průvodního textu, pro Vás může být při řešení dalších úloh výhodou, není ale nezbytné pro jejich úspěšné vyřešení.

V první úloze se zaměříme na to, k čemu je biostatistika dobrá a na co všechno musíme myslet, když chceme začít s vlastním vědeckým bádáním. ***Poslední část úlohy je praktická****, doporučujeme si na ni nechat dostatek času (tj. alespoň 2 dny) a neřešit ji na poslední chvíli.*

Když nás napadne nějaká zajímavá vědecká otázka, je dobré si nad ní sednout a pořádně se rozmyslet, co vlastně chceme dělat. Jak otázku správně položit, jaké experimenty/měření udělat a jaké z toho chceme vyvodit závěry. Tento proces vymýšlení výzkumu, „study design“, je nedílnou součástí vědy. Pokud mu nevěnujeme dostatečnou pozornost, můžeme přijít o spoustu času a peněz, pokud nám pak výslednou studii odmítnou publikovat a nebo, což je možná ještě horší, studii publikujeme a vypustíme tak mezi (odbornou) veřejnost myšlenky, teorie a závěry, které vůbec nemusí reflektovat realitu.

V této úloze se proto zaměříme právě na „study design“ a formulaci hypotéz. Znalosti, které se někdy také označují jako „vědecké myšlení“.

Nejprve se zaměříme na to, jaké typy otázek vlastně biostatistika může zodpovědět a s jakými typy studií se tak nejčastěji setkáváme.
Typy úloh, které řeší statistika obecně, jsou:

- **Popis cílové populace** – odhad různých charakteristik specifické populace (ať už se jedná o živočišný druh v konkrétní geografické oblasti, populaci s konkrétní variantou nějakého genu, nebo o populaci pacientů s nějakým onemocněním)

- **Srovnávání skupin** – oblast nejvíce spojená s testováním hypotéz. Věnuje se porovnávání jak se liší skupiny, které jsou v jiném prostředí, jinak se chovají, mají jiné geny nebo třeba byly léčeny jinou metodou

- **Regresní analýza** – je soubor metod, který se snaží určit hodnotu jedné charakteristiky v závislosti na ostatních. Hledá jak spolu souvisí různé charakteristiky a zda se dá některá predikovat/odhadnout z hodnot jiných.

- **Predikce a klasifikace** – modelování chování nebo charakteristik populace, klasifikace se snaží zařadit nový vzorek/jedince/měření do jedné z předem stanovených kategorií

1. Pro každý typ úlohy/vědecké otázky zmíněné výše vymyslete konkrétní příklad z biologie, chemie nebo medicíny.

   Dále se pro každou ze svých odpovědí pokuste zjistit, jestli už se takovou otázkou někdo zabýval, případně se pokuste obhájit v čem by byl takový výzkum přínosný a proč bychom jej měli dělat. [4 b]

- Popis cílové populace: Jaký typ rakoviny je v Čr nejčastější? Na základě takových informací je možné dělat osvětu a nebo plánovat a doporučovat konkrétní preventivní a screeningové programy. Tyto informace sdružují různé zdravotnické ústavy a instituce. Studie: OECD/European Commission (2025). „Onkologický profil země: Česko 2025“, Profily zemí EU v oblasti rakoviny, OECD Publishing, https://doi.org/10.1787/cc0dba0f-cs.
- Srovnávání skupin: Má pasterizace mléka vliv na jeho chuť a aroma? Testování/ochutnávání a hodnocení různě ne-/pasterizovaných mlék. Jedná se o informaci hodnotnou zejména pro prodej nebo „food science“
  Studie: Gandy, April Lynne, et al. (2008) „The effect of pasteurization temperature on consumer acceptability, sensory characteristics, volatile compound composition, and shelf-life of fluid milk.“ Journal of dairy science 91(5), https://doi.org/10.3168/jds.2007-0833
- Regresní analýza: Jak věk, hmotnost nebo životní styl ovlivňují srdeční činnost? Potenciálně zajímavý/důležitý ukazatel z hlediska rizika kardiovaskulárních onemocnění v populaci.
  Studie: Fagard, Robert H., Karel Pardaens, and Jan A. Staessen (1999). „Influence of demographic, anthropometric and lifestyle characteristics on heart rate and its variability in the population.“ Journal of hypertension 17(11)
- Predikce a klasifikace: Predikce vlastností proteinů jako je termostabilita nebo rozpustnost na základě sekvence aminokyselin. Tento výzkum má opět široké uplatnění a to zejména v biochemickém průmyslu.
  Studie: Khurana, Sameer, et al. (2018) „DeepSol: a deep learning framework for sequence-based protein solubility prediction.“ Bioinformatics 34(15), https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty166

Hyp, hyp, hurá!

Ano, základem každé vědecké studie je dobrá a správně formulovaná hypotéza. Pokud se vám to podaří, je to skutečně důvod k oslavě.

Hypotéza je přesně formulovaná vědecká otázka, o které můžeme na základě statistického testu rozhodnout, zda je pravdivá či nikoliv a stanovit tak statistickou významnost výsledku. Díky hypotézám se můžeme od popisu cílové populace (což bude téma příští úlohy), přesunout ke srovnávání. Od otázek: „Co mám? Co se stalo?“ se dostáváme k otázkám: „Znamená to něco? Změnilo se něco? Je to důležité?“

Původní formulovanou hypotézou je tzv. **nulová hypotéza** (H0), což je tvrzení o neznámých vlastnostech sledovaných v cílové populaci. Konkrétně toto tvrzení/předpoklad

vznášíme na tzv. rozdělení pravděpodobnosti[1] dané vlastnosti v cílové populaci. Úplně nejjednodušší předpoklad, který můžeme o populaci mít je jestli se průměrná hodnota nějaké vlastnosti (třeba výšky) rovná našemu odhadu. Proti nulové hypotéze stojí **alternativní hypotéza** (H1), která se s H0 navzájem vylučuje.
Nulová hypotéza musí mít následující vlastnosti:

1) Je jasně (číselně) definovaná, aby bylo možné s ní matematicky pracovat

2) Je vyvratitelná, tedy je formulována jako tvrzení, které lze vyvrátit.

3) Typicky ji formulujeme jako **negativní** „rozdíl mezi skupinami není“, „změna není statisticky významná“.

[1] Rozdělení pravděpodobnosti, velmi jednoduše řečeno, přiřazuje každé možné hodnotě dané charakteristiky její pravděpodobnost výskytu. Pokud přesně známe rozdělení pravděpodobnosti, můžeme dělat velmi přesné statistické závěry a odhady, protože víme, jak celá populace vypadá/jak se chová.

Informační okénko: Co je vyvratitelné tvrzení?
Představte si, že se ve zprávách objeví informace o tom, že někde na louce byla spatřena fialová kráva. Jak byste se k takovému tvrzení postavili jako vědci? Varianty nulové hypotézy jsou dvě:

1. **Fialové krávy existují.**
   Vydáte se do terénu a zapisujete si do deníčku, jakou barvu mají krávy, které jste potkali. Zapíšete si jich 100 a pořád mezi nimi není žádná fialová. Zapíšete si jich 1000 a pořád mezi nimi není žádná fialová. . . a tak dále a tak dále.

   Výzkum končí, pokud:

   a) Najdete **fialovou krávu**.
   b) S naprostou jistotou zdokumentujete **úplně všechny krávy ve vesmíru** a mezi nimi nebude ani jedna fialová.

   Tato hypotéza se nedá vyvrátit, ale jen potvrdit. Proč? Protože není v našich silách zdokumentovat úplně všechny krávy ve Vesmíru. **Pokud nenajdete fialovou krávu, je vědecké poznání stále ve stejném bodě, ve kterém bylo před vaším výzkumem.**

2. **Fialové krávy neexistují.**
   Zase se vydáte s deníčkem do terénu, ale tentokrát máte o něco lehčí hlavu, protože jste si formulovali správnou nulovou hypotézu.

   Co se může stát:

   a) Najdete **fialovou krávu**.
   b) Po prostudování **velkého počtu krav** se vám nepodařilo najít fialovou krávu.

   Pokud platí možnost a), máte jednoznačnou odpověď na svou otázku, **zamítáte nulovou hypotézu** a rozhodnete se přijmout hypotézu alternativní, která říká: „Někde ve vesmíru existuje alespoň jedna fialová kráva“.

   V případě, kdy platí možnost b) nastává situace, kdy **nulovou hypotézu nezamítáte**. Nemůžete ji však zcela přijmout. Důvodem je, jak bylo zmíněno výše, že si nejste jistí, že ve vesmíru nikde žádná fialová kráva není. Podstatné je, že jste prostudovali dostatečně velký vzorek populace a žádnou fialovou krávu jste nenašli. Můžete tak tiše žít v tomto předpokladu, protože pokud existují fialové krávy, jedná se o tak vzácný a málo pravděpodobný příklad, že to ve velkém měřítku neovlivní vaši další studii krav.

Proč je nutné formulovat nulovou hypotézu jako negativní a vyvratitelnou ukazuje i velmi známý a zažitý postup zvaný **presumpce neviny**. Sepíšeme si všechny možné situace do přehledné tabulky:

Rozhodnutí soudu *Realita*	**Bude propuštěn**	**Bude odsouzen**
Je nevinný	Hurá, uvědomili jsme si, že jsme zadrželi nevinného a tak bude propuštěn	Velký špatný, odsoudili jsme k trestu nevinného člověka
Je vinný	Ups, propustili jsme na svobodu zločince	Hurá, zadrželi jsme pachatele a ten dostane trest

Obecný společenský konsenzus je ten, že je mnohem větší chyba zadržet a trestat nevinného člověka, než propustit někoho, kdo spáchal trestný čin. Proto je lepší z předpokladu neviny při rozhodování vycházet.

2. Po vzoru tabulky o presumpci neviny vyplňte vlastní tabulku, která popisuje studii účinnosti nového léku. Jako názvy řádků uveďte jaká může být realita a jako názvy sloupců, co může být závěrem studie. Do jednotlivých polí, které dané situace kombinují pak uveďte jestli je takový závěr dobrý nebo špatný s ohledem na realitu a proč. [2 b]

Výsledek studie *Realita*	**Lék nebudeme používat**	**Lék budeme používat**
Lék nefunguje	Hurá, správné rozhodnutí. Lék nefungoval a tak ho nebudeme používat	Problém. Buď pacientům podáváme lék, co nefunguje, nebo dokonce lék co nějakým způsobem škodí.
Lék funguje	Ups. Našli jsme účinný lék, ale účinnost jsme ve studii neprokázali, takže ho nepoužijeme.	Hurá, správné rozhodnutí. Používáme nový lék co funguje

3. Doplňte pojmy v následujícím odstavci: [2 b]

Existují dva případy, kdy se neshoduje realita s naším rozhodnutím (ať už tím u soudu, nebo statistickým). Pokud je nulová hypotéza platná, ale mi ji i tak zamítáme, je výsledek falešně **pozitivní** a dopouštíme se chyby **prvního druhu**. Pokud nulová hypotéza neplatí a my ji nezamítáme je to falešně **negativní** výsledek a chyba **druhého druhu**.

Za vážnější se obecně považuje chyba **prvního druhu**. Proto si dáváme při statistickém testování hlavně pozor na to s jakou pravděpodobností se této chyby dopouštíme. Tato pravděpodobnost se nazývá hladina **významnosti testu,** značí se řeckým písmenem $\boldsymbol{\alpha}$ (alpha) a její hodnota je nejčastěji **0,05** (neboli 5 %).

Ve studiích pak často uvádí ještě jiné číslo a to sice **p-hodnota**, která říká jaká je pravděpodobnost, že platí-li **nulová hypotéza**, dostaneme stejný nebo ještě extrémnější výsledek úplně náhodou. Vždycky se totiž může stát, že jsme „měli smůlu“ a změřili jsme jenom extrémní jedince v populaci, což nám dalo jiný výsledek než jsme předpokládali.

Nesrovnatelně srovnatelný, významně nevýznamný a nespolehlivě spolehlivý

Když už víme, co chceme studovat, je potřeba se ještě zamyslet nad tím, jak to budeme studovat. V následující části si představíme 5 základních aspektů statistiky, které se týkají sběru dat ale i výsledků a jejich interpretace, a které je potřeba vzít v potaz při každé studii.

Reprezentativnost

Již několikrát zde byla zmíněna cílová populace. Cílová populace je skupina subjektů, o které se chceme něco dozvědět. Velmi často však není možné celou cílovou populaci přeměřit (nebo to je možné, ale obtížné a nákladné). Proto pracujeme pouze s experimentálním vzorkem, který musí být dostatečně reprezentativní. Tedy musí mít ideálně přesně stejné charakteristiky jako cílová populace, aby bylo možné závěry na celou populaci zobecnit s minimální chybou.

4. Proč nejsou následující experimentální vzorky reprezentativní? [1 b]

   a) V rámci studie zaměřené na krevní tlak seniorů byly použity hodnoty naměřené při pravidelných prohlídkách u praktického lékaře.

   Takto sledujeme pouze tu část populace, která na pravidelné prohlídky chodí, nejedná se tedy o reprezentativní vzorek, jelikož v České republice chodí k praktikovi pravidelně asi jen 35 % dospělé populace.

   Často jste zde jako důvod uváděli stres u lékaře, který může tlak zvednout. To však není důvod nereprezentativnosti, jedná se o zkreslení, o kterém hovoříme dále v úloze.

   b) Student sbíral svá data do SOČ věnované mimikrám *Araschnia levana* o letních prázdninách.

   Araschnia levana tedy Babočka síťkovaná má dvě sezónní formy: jarní a letní/podzimní, které se od sebe nápadně liší svým zbarvením. Mimikry, způsob jakým se mohou organismy schovat/vyhnout predátorům, je často realizován právě pomocí tělesného zbarvení. Studovat pouze jednu formu babočky je tak zavádějící a sesbíraná data nejsou reprezentativní.

Srovnatelnost

Tato vlastnost může být vnímána na více úrovních. Při sbírání dat je považujeme za srovnatelná, pokud se vždy postupovalo stejnou metodou – například byly použity stejné váhy, vzorek půdy byl odebrán ve stejné hloubce, bakteriální kultury byly inkubovány stejně dlouho. Pokud chceme srovnávat dvě skupiny v rámci studie, nechceme srovnávat jablka a hrušky. Chceme tak zcela minimalizovat všechny faktory kromě toho který sledujeme. Obě skupiny – jak kontrolní, tak experimentální – by měly být reprezentativní a ideálně se lišit pouze jedním faktorem. Toho je často dosaženo dělení subjektů do skupin randomizací.

5. V klinickém výzkumu se mimo jiné pro minimalizaci okolních vlivů na pacienta (placebo a nocebo efekt) využívá takzvaně **dvojitě** a někdy dokonce i **trojitě zaslepené studie**. Vysvětlete co to znamená. [0,5 b]

„Zaslepenost“ v rámci klinické studie značí nevědomost dané strany/osoby o podávaném přípravku. První zaslepení je pro pacienta a případně i jeho rodinu. Pacient neví, jestli mu lékař podává placebo nebo testované léčivo. Je tedy minimalizován vliv vlastní psychiky na zdravotní stav. Druhé zaslepení je právě pro lékaře/sestry, kteří neví jestli podávají léky nebo placebo a sbírají data o stavu pacienta. Tím se minimalizují, hlavně nevědomě, rozdíly v zacházení s pacienty a pečlivost při sběru dat. V případě trojitě zaslepené studie je zaslepen i statistik/datový analytik, který opět neví jaký pacient užíval pouze placebo a jaký léčivo. Tímto krokem znovu minimalizujeme chybovost studie, kdy by analytik mohl, hlavně nevědomě, zacházet s různými daty různě a věnovat přehnanou pozornost i nevýznamným rozdílům skupin.

Spolehlivost

Při popisu cílové populace (ale třeba i při srovnávání skupin) máme často zájem o přesnou kvantifikaci – vyčíslení – dané charakteristiky. Proto, uvádíme-li průměrnou (nebo jinou reprezentativní) hodnotu sledované charakteristiky, musí být doplněna o interval spolehlivosti, který odráží její variabilitu. Průměr je totiž závislý mimo jiné na velikosti experimentálního vzorku a s každým dalším měřením se jeho hodnota může změnit. Interval spolehlivosti je typicky takový rozsah, ve kterém se s pravděpodobností 95 % nachází i skutečná průměrná hodnota dané charakteristiky v cílové populaci.

6. Vymyslíte, v jakém případě není potřeba interval spolehlivosti uvádět, protože náš výsledek je sám o sobě dostatečně spolehlivý/správný? [0,5 b]

Takový případ je zcela nepředstavitelný a u klinických studií prakticky nemožný. Neuvedení intervalu spolehlivosti znamená jediné; jsme si úplne jistí přesností výsledku u libovolného jedince, co je možné jedině v případě, že jsme pozorovali úplně celou populaci.

Významnost

Na významnost je třeba dbát hlavně při interpretaci výsledků. Proč? To se dozvíte při odpovídání na další otázku.

7. Vysvětlete rozdíl mezi statistickou a praktickou významností. Která je podle vás důležitější? [1 b]

Statistická významnost je vlastně náš konstrukt pro interpretaci toho, co naměříme. Praktická významnost pak říká jak moc je výsledek uplatnitelný v praxi. Významnost statistická poukazuje jenom na to, že rozdíl v datech není náhodný ve smyslu stanovené hypotézy. Při dostatečně velkém datovém souboru nám může například vyjít, že Slováci jsou v průměru o 1 cm vyšší než Češi a tento rozdíl vyhodnotíme jako statisticky významný. V praxi to ale neznamená, že se na Slovensku musí vyrábět a nebo tam dovážet větší velikosti oblečení; že je na Slovensku větší četnost úrazů hlavy o nízká futra dveří nebo, že je potřeba přizpůsobit velikost prostředků hromadné dopravy. Tento výsledek tedy nemá praktický význam, protože se jedná o tak nepodstatný rozdíl (z praktických aspektů jako je medicína, dopravní nebo textilní průmysl), že není potřeba na něj dbát. Dá se tedy spekulovat o tom, která z významností je důležitější. V závislosti na kontextu to nemusí být ani jedna. Jestliže máme na základě studie něco v praxi změnit, je nezbytné aby byl výsledek obojí, statisticky i prakticky významný.

Zkreslení

Zkreslení nebo zkreslující faktor, je cokoliv, co systematicky vychyluje výsledky od skutečné hodnoty. Zkreslení se může objevit, pokud náš vzorek není reprezentativní, nemáme srovnatelné skupiny a nebo srovnatelnou metodiku sběru dat. Může se vyskytnout také v případě, kdy ve studované populaci nesledujeme dostatek vlastností/faktorů a nebo když neznáme všechny souvislosti. Můžeme pak získat zkreslené výsledky a nebo udělat zkreslující závěry.

Zkreslení může také způsobit **zavádějící faktor** (confounding effect). Zavádějící faktor je takový, který je v **kauzálním vztahu** se studovaným jevem, ale zároveň není během studie nijak sledován. Zavádějící faktor také často **koreluje** jak se studovaným jevem, tak s dalším, sledovaným jevem, který během studie sledujeme. Můžeme tak dojít k chybnému závěru. Uvedeme si to pro lepší pochopení na příkladu:

Nošení zapalovače v kapse významně zvyšuje riziko vážného plicního onemocnění.

Takové tvrzení skoro ani nezní jako vědecký závěr poctivého výzkumu, ale jako chytlavý titulek v novinách. Je asi snadné si domyslet jak se má situace doopravdy. Lidé, kteří s sebou běžně nosí zapalovač, jej nejspíš také běžně k něčemu používají. A tím něčím je zapálení si cigarety. Kouření cigaret je pak to, co skutečně vede k výskytu plicních onemocnění od dráždivého kašle přes CHOPN, po rakovinu plic. **Kouření cigaret** je v případě studie v našem příkladu **zavádějícím faktorem**. Protože **koreluje** s nošením zapalovače („sledovaný jev“) v **kapse** a zároveň má dokonce **kauzální vztah** k plicním onemocněním („studovaný jev“).

8. Vysvětlete rozdíl mezi korelací a kauzalitou a uveďte vlastní příklad jevů, které korelují, a jevů, které jsou kauzální. [1 b]

Korelace říká jak často se nějaké jevy vyskytují společně. Tyto jevy spolu ale vůbec nijak nemusí souviset a rozhodně nemusí být jeden příčinou druhého. Koreluje například prodej bio potravin a počet osob s diagnózou ADHD (pozitivní korelace, oboje roste). Koreluje také počet pirátů s průměrnou roční teplotou (negativní korelace, jedno roste a druhé klesá). To ale neznamená, že bio jablka způsobují ADHD, nebo že nás piráti zachrání před globálním oteplováním.

Naproti tomu kauzální vztah mezi dvěma jevy jasně říká, že jeden z nich je **příčinou** toho druhého (který je **důsledkem** prvního). Lyže a brusle se více prodávají v zimě (protože je sníh a tyto sporty provozujeme). Buňky po aplikaci růstových faktorů a živin začnou více růst. Hladina krevního cukru se sníží po aplikaci inzulinu.

Korelace je pouze vzájemný vztah, zatímco kauzalita je příčinná souvislost. Je důležité už navždy držet v paměti, že korelace neimplikuje kauzalitu.

9. Pro každé z následujících tvrzení odhalte zavádějící faktor, který skutečně vedl k prezentovanému závěru. (Po vzoru se zapalovačem, cigaretami a onemocněním plic v odstavci výše): [3 b]

   a) 25 % lidí, kteří žijí se svými rodiči, je zcela negramotných.

      Těchto cca 25 % tvoří děti do asi 8 let, které ještě neumí plynně číst, psát a rozumět textu – tj. jsou negramotné. Zavádějícím faktorem je **věk**, resp. nízký věk, který je důvodem negramotnosti a také bydlení s rodiči.

   b) Konzumace chlorofylu má pozitivní vliv na trávení a střevní mikroflóru.

      Chlorofyl je obsažen zpravidla v rostlinné potravě. Rostliny obsahují vlákninu a právě ta je nezbytná pro správnou funkci střev a vytváří vhodné prostředí pro mikrobiom. Zavádějícím faktorem je **vláknina**, která se ve velkém množství vyskytuje v potravinách bohatých i na chlorofyl.

   c) Množství prodané zmrzliny koreluje s výskytem popálenin 1. stupně. Zmrzlina je tedy rizikovým faktorem popálenin.

      Příčinou obou událostí je **léto**/zvýšená teplota a slunečnost. V létě stoupá teplota a tak i prodej zmrzliny. Zároveň je větší šance, že se lidé spálí od sluníčka. Zavádějícím faktorem by tedy bylo **roční období** nebo **zvýšená slunečnost, zvýšená teplota**

Měříme si banány

Součástí našeho biostatistického maratonu je i praktická část. Volba hypotéz/y, sbírání dat, jejich kontrola, statistické vyhodnocení a interpretace výsledků.

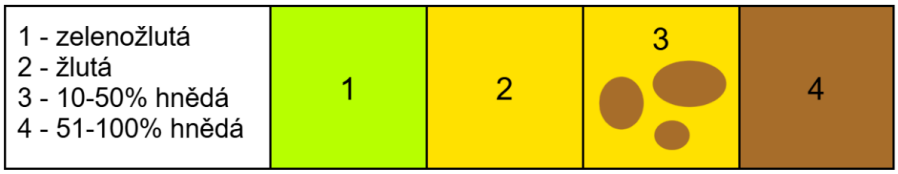
Proto, abychom mohli takovou studii realizovat korektně, je – ačkoliv jsou to jen hloupé banány – potřeba několik let studia matematiky, statistiky a netriviální schopnost programování. Tuto část samozřejmě obstaráme my, autoři. Úloh se bude týkat pouze ta zábavná část – sbírání dat a interpretace statistických analýz! :)

Úkol praktické části

1) Jděte do libovolného obchodu s potravinami, dle vlastního uvážení nebo preferencí (můžete navštívit i více obchodů)
2) V obchodě nakupte banány **(dohromady nakupte a změřte celkem 5 ks)**
   a) Výběr našich testovaných subjektů (z celé populace banánů v českých a slovenských obchodech) by měl být, jak jsme si již ukázali dříve v úloze reprezentativní. Proto se pokuste při výběru banánů nehledět na **jejich barvu/zralost**. Pokud budete vybírat více banánů najednou, seberte je z **různých míst v přepravce** nebo z **různých přepravek** (banány co jsou spolu na jednom trsu si budou nejspíš hodně podobné a mohly by nám zkreslovat data). Ideálně chcete banány vybrat zcela náhodně.
   b) V obchodě si poznamenejte následující informace: **název obchodu, země původu banánů, cena banánů za kilo v korunách nebo eurech**.
   c) Banány z různých obchodů/zemí původu samozřejmě kupujte odděleně (ideálně v sáčcích), aby se Vám při dalším měření subjekty nepomíchaly.

3) Doma o banánech zjistěte následující informace

   a) **Hmotnost** – co nejpřesnější, ideálně v gramech (lze zjistit i v některých obchodech na samoobslužné pokladně nebo kontrolní váze, banány važte samozřejmě jednotlivě a bez igelitového sáčku)
   b) **Délka** – co nejpřesnější, ideálně v centimetrech, měřte i se zakřivením od stopky až po „bubáka“ po nejdelší straně, takže buď krejčovským metrem a nebo pomocí provázku, který pak změříte pravítkem.
   c) Ohodnoťte barvu banánu podle následující standardizované **IBISí škály**:



4) Nasdílejte nám své výsledky **podle následujícího návodu:**

Otevřete si složku Data_bananu. V této složce naleznete soubor s hlavičkou připravenou pro vepsání svých dat **.Template.** Tento soubor slouží jako **TEMPLATE** (šablona)**, VYTVOŘTE JEHO KOPII** (klik pravým → vytvořit kopii[2]), tu **PŘEJMENUJTE SVÝM JMÉNEM** a následně do ní vepište svá data podle předvyplněných názvů sloupců. Kromě zjištěných a naměřených hodnot doplňte id jako 'jmenoprijmeni0X', kde X vždy nahraďte pořadovým číslem daného zápisu (tedy 1 – 5). Ve složce je také jedna tabulka už vyplněna organizátory tak, jak má vypadat správně: **.org: Martin Richter.**

5) Pořiďte **screenshot odevzdané tabulky** se svými daty pro snazší kontrolu a vložte ho do svého řešení.

Upozorňujeme, že prováděné změny v jednotlivých tabulkách i souborech jde vidět, nesabotujte tedy řešení ostatních.

10. Za odevzdání dat pro 5 banánů ve správném formátu včetně pořízení screenshotu, můžete získat 4 body. Jinak bude udělen pouze bodový podíl na základě přesnosti dodržení instrukcí. [4 b]

A1 | id

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	id	Délka (cm)	Váha (g)	Země původu	Obchodní řetězec	Město nákupu	Cena za Kg	Měna ceny (Kč / Eur)	Zralost (1-4 dle tabulky)
2	martinrichter01	26	172	Ekvádor	Tesco	Brno, Tesco - Campus	39.9	Kč	1
3	martinrichter02	23	138	Ekvádor	Tesco	Brno, Tesco - Campus	39.9	Kč	2
4	martinrichter03	25	142	Ekvádor	Tesco	Brno, Tesco - Campus	39.9	Kč	1
5	martinrichter04	24	134	Ekvádor	Tesco	Brno, Tesco - Campus	39.9	Kč	1
6	martinrichter05	22	156	Ekvádor	Tesco	Brno, Tesco - Campus	39.9	Kč	2
7									
8									

[2]Pokud vám to nejde, zkontrolujte vpravo nahoře, že jste přihlášení

Pokud si s něčím nevíte rady, nebo vám něco nefunguje, nebojte se na nás obrátit na emailu v záhlaví úlohy.

My, autoři, již samozřejmě nějaké hypotézy o banánovém datasetu vymyšlené máme. Zkus se ale zamyslet i ty.

11. Jaké možné hypotézy bychom mohli o banánech formulovat na základě dat, která o banánech sbíráme? Pokus se formulovat alespoň 2 hypotézy o banánech v českých a slovenských obchodech. Nezapomeň na všechny zásady správně formulované hypotézy, které byly dříve v úloze představeny. [0,5 b]

    H0: Délka nemá žádný vliv na hmotnost banánu. Délka a hmotnost nekorelují. Délka a hmotnost jsou na sobě nezávislé.
    H1: Délka ovlivňuje hmotnost banánu. Délka a hmotnost banánu korelují.

    H0: Krajina původu neovliňuje zralostní stupeň (barvu) banánu.
    H1: Krajina původu má vliv na zralost banánu.
    (Krajina původu jednoznačně určuje potřebnou vzdálenost na dovoz banánu, co značí, že čím je délka větší, tím méně zralý banán bude sbírán ze stromu.)

    H0: Banány v Česku stojí stejně jako na Slovensku nebo jsou levnější.
    H1: Banány v Česku jsou dražší než na Slovensku.
    (Hypotézu nemusíme formulovat vždy tzv. oboustranně. Tj. H0: cena je stejná, H1: cena se liší. Můžeme i dopředu vyslovit předpoklad že cena bude vyšší a do nulové hypotézy tak v rámci negace zapracovat „cena je stejná nebo nižší“. Jednostranná hypotéza poté bude mít jinak veliké intervaly spolehlivosti.)

12. Napadá tě, kterou další informaci bychom o banánech mohli nebo měli sbírat, aby byla naše analýza přesnější?
    Zkus se zamyslet nad vlastními hypotézami, které jsi formuloval/a v předchozí otázce, napadá tě nějaký faktor, který by mohl mít vliv na výsledek a my jej při měření nezohledňujeme (tedy zavádějící faktor naší analýzy). Jaký faktor to je a jaký by mohl mít efekt? [0,5 b]

    Vůbec nezahrnujeme a neměříme třeba jak dlouho jsou banány v obchodě, jak dlouhý byl jejich převoz. Jestli byly banány nějakým způsobem hnojeny nebo postřikovány pesticidy. Tyto faktory by mohly ovlivnit různé charakteristiky, které nás zajímají – třeba zralost, cenu nebo velikost a hmotnost.

Hana Slámová (e-mail: hancaxslamova@seznam.cz)

5. Testováno na zvířatech

20 bodů

Testování toxicity látek na organismech představuje klíčovou vědeckou metodu ekotoxikologie, která umožňuje hodnotit rizika chemických látek jak pro jednotlivé organismy, tak i v širším smyslu celé ekosystémy. Získané výsledky slouží nejen k pochopení mechanismů toxického účinku látek, ale i ke stanovení koncentrací, při kterých k účinku dochází. Tyto údaje slouží jako podklady pro odvozování limitních hodnot a následně pro legislativní regulace, jejichž cílem je omezit expozici lidí i ekosystémů nebezpečným látkám. Ukotvením v legislativě se zvyšuje kontrola nad uvolňováním chemických látek v nepřiměřeném množství do prostředí, čímž se předchází jejich negativním dopadům.

Přestože dnes již existuje celá řada nových *in vitro* bioassayí (tedy laboratorních testů využívajících buněčné kultury nebo izolované biologické systémy „uzavřené v laboratorním skle“), které jsou v akademickém prostředí intenzivně rozvíjeny a stále častěji upřednostňovány, legislativní orgány při stanovování limitů nadále ve velké míře spoléhají na výsledky bioassayí pracující s celými organismy, od bakterií přes rostliny až po živočichy. Aby jejich výsledky byly srovnatelné, spolehlivé a opakovatelné napříč laboratořemi i zeměmi, jsou tyto bioassaye navíc standardizované, a to buď v OECD guidelines[3] nebo od ISO[4]. To zajišťuje, že se testy provádějí za přesně definovaných podmínek, jen s vybraným modelovým druhem ve vybraném vývojovém stadiu, což umožňuje jednoznačně vyhodnocovat účinky látek a snižuje vliv náhodných rozdílů v metodice. Díky tomu mohou být výsledky bioassayí použity jako legitimní podklad pro legislativu a regulaci, protože jsou uznávané na mezinárodní úrovni, a zároveň umožňují šetřit čas i zdroje, jelikož není nutné vyvíjet novou metodiku pro každý jednotlivý test.

1. Každá mince má dvě strany, a tak i standardizované bioassaye mají vedle vyjmenovaných benefitů i celou řadu nevýhod. Uveďte alespoň 2 zásadní negativa, která standardizace přináší. [1 b]

   - Velmi specifická a omezená informační hodnota, neboť josu testy prováděny pouze na několika modelových druzích. Nakolik jsou výsledky přenositelné na jiné organismy je otázka.
   - Máme jen omezený počet standardizovaných postupů se kterým se špatně pokrývá pestrá škála ekosystémů a situací, které se v přírodě nachází.
   - Prostředí a podmínky testovacích nádob (málo druhů, bez okolní biomasy) jen málokdy odpovídají reálným podmínkám v životním prostředí (prostředí bohaté na živou i neživou organickou hmotu).

[3] Organisation for Economic Co-operation and Development
[4] International Organization for Standardization

Specifikace standardizovaných bioassayí

Bioassaye se dělí na základě hned několika kritérií:

- Trofický level testovaného organismu: primární producenti, primární konzumenti, vyšší konzumenti a destruenti
- Testovaná matrice: voda, vzduch, půda, sediment...
- Doba expozice: akutní v řádu hodin až jednotek dní, subchronická v řádu dní, chronická v řádu týdnů až měsíců
- Úroveň a složitost biologického systému: buňka, tkáň, organismus, společenstvo organismů
- Hodnocený účinek (tzv. endpoint)

2. Jak již bylo uvedeno, pro standardní bioassaye se používá poměrně úzké spektrum modelových organismů. Využívají se přitom organismy obývající různá prostředí (matrice) a patřící do různých trofických levelů. Do každého políčka následující tabulky doplňte příklad modelového organismu pasujícího k uvedeným podmínkám (Pomoci vám může seznam standardizovaných bioassayí dle OECD gudelines, který můžete najít zde: oecd.org/en/search/publications.html?orderBy=mostRecent&facetTags=oecd-serials%3Ag1gha294%2Coecd-languages%3Aen&page=0 [3 b]

matrice	primární producenti	konzumenti	destruenti
Sladká voda	stolístek (*Myriophyllum*), řasy	zebřičky (*Danio*), hrotnatky (*Daphnia*), plovatky, žáby	žížalice (*Lumbriculus*)
Půda	pšenice, řeřicha, kukuřice, hořčice	Chvostoskok *Folsomia candida*	žížaly, saprofytická háďátka

Existuje celá škála endpointů, které můžeme u použitých organismů vyhodnocovat. Nejtypičtějším, ale zároveň nejbrutálnějším endpointem je mortalita. Tedy sledujeme, kolik jedinců náš experiment vůbec přežilo. S tímto endpointem se v mnohých standardizovaných assayích stále setkáte, ve vědecké praxi se od něj již ustupuje. Důvodem je nejen snaha snížit utrpení pokusných zvířat, ale také fakt, že koncentrace látky, při které zvíře umírá jsou mnohdy řádově vyšší než koncentrace, při kterých se projevuje závažné narušení jiných životních funkcí. Jako příklad mohou sloužit data na Obrázku 1, kdy se zkoumal vliv různých látek na pstruhy. Podíváme-li se na vysoce toxický insekticid methyl parathion, můžeme si povšimnout, že pohyb ryb je ovlivněn už při koncentracích pod 0,01 mg/L, zatímco k úmrtí dochází až při koncentraci 3,7 mg/L jednotek. Podobný efekt můžete pozorovat i u dalších látek.

Table 7.4 Effect of some agricultural chemicals on behavioural parameters of the rainbow trout

Chemical	LD_{50} (96hr)	Swimming capacity	Swimming activity	Strike frequency	Daphnia consumed	% consuming daphnia	% survival from predation
Carbaryl	1.95	0.1–1	0.1–1	>1	0.1–1	0.1–1	<0.01
Chlordane	0.042	>0.02	0.002–0.02	0.002–0.02	0.002–0.02	0.002–0.02	0.002–0.02
DEF	0.66	0.05–0.1	0.005–0.05	0.005–0.05	<0.005	0.005–0.05	0.005–0.05
2,4-DMA	100	5–50	5–50	5–50	5–50	0.5–5	5–50
Methyl parathion	3.7	>0.1	<0.01	0.01–0.1	<0.1	0.01–0.1	0.01–0.1
Pentachlorophenol	0.052	>0.02	0.002–0.02	0.002–0.02	0.0002–0.002	>0.02	0.002–0.02

DEF: tributyl phosphorotrithioate
2,4-DMA: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid
After Little *et al.* (1990).

Obrázek 1:

3. Uveďte 5 dalších endpointů (krom mortality a endpointů uvedených na obrázku 1 či v úkolu 8) které se ve standardizovaných bioassayích typicky vyhodnocují. Alespoň jeden z endpointů se musí týkat testů na bakteriích a alespoň jeden testu na primárních producentech. [2,5 b]

   Klíčovst semen (primární producenti), reprodukční úspěšnost, malformace, zpoždění embryonálního vývoje, mutagenita, změny ve spotřebě kyslíku, metabolická aktivita (bakterie)

4. Ze seznamu bioassayí standardizovaných dle OECD si vyberte jednu, která vás zaujala. Stáhněte si .pdf dokument uvádějící podrobnosti o provádění testu a zjistěte následující údaje: [4 b]

   a) Název bioassaye (včetně čísla testu)

      Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test

   b) Modelový organismus a stáří organismů nasazovaných do testu (př. Jednodenní juvenilové, dospělci)

      Danio rerio – oplozená vajíčka

   c) Doba expozice (počet hodin/dnů + údaj, jestli se jedná o expozici akutní, subchronickou či chronickou)

      96 hodin, akutní

   d) Hodnocený endpoint (všechny uváděné)

      Koagulace embryí, nedostatečná tvorba somitů, neoddělení ocasu, srdce nevykazuje aktivitu

5. Jak si možná někteří z vás všimli, u mnohých bioassayí na rybách se do testů nasazují oplozená vajíčka namísto starších juvenilů či dospělců. Jakou má takový postup hlavní výhodu? [1 b]

   Podle směrnic EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely nejsou některá raná vývojová stádia legislativně chráněna jako zvířata. Zároveň jsou vyvíjející se jedinci citlivější na toxické látky a jsme schopni sledovat jejich účinek na organismus v průběhu celého jejich života.

Reálným příkladem legislativy, kde se standardizované bioassaye k hodnocení bezpečnosti chemikálií hojně využívají, je chemická politika Evropské unie se zkratkou **REACH**. Tato legislativa zajišťuje, že veškeré chemické látky vyráběné v EU nebo do ní dovážené v množství větším než 1 tuna ročně musí být v EU také **r**egistrovány, **e**valuovány (hodnoceny), **a**utorizovány (povoleny) a v případně prokázání značné toxicity omezovány *(pozorný čtenář si určitě všiml, že počáteční písmenka procesu dávají onu zkratku celé legislativy).* Mnohé chemické látky jsou z této legislativy vyjmuty a jsou zastřešovány legislativami jinými. U některých skupin látek již bylo v EU od testování na zvířatech opuštěno.

6. Která skupina látek v EU nesmí být testována na zvířatech? [0,5 b]

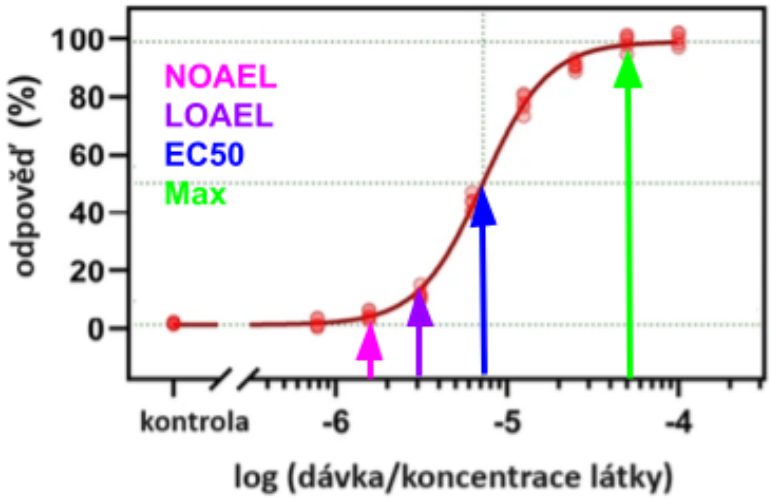
Kosmetické přípravky

Jak na ladné křivky

Křivka dávka–odpověď (angl. *dose–response curve*) je základní nástroj v toxikologii a farmakologii, protože ukazuje, jak organismus reaguje na určitou látku v závislosti na její dávce. Na vodorovné ose X bývá vynesena dávka podaná ve stravě nebo koncentrace chemikálie v testované matrici, které byl organismus vystaven. Z praktických důvodů se typicky vynáší dekadický logaritmus těchto hodnot, stupnice na ose X je tedy logaritmická. Na svislé ose Y je účinek, biologická odpověď neboli sledovaný faktor, který může být ovlivněn toxickým působením látky na organismus. Při nízkých dávkách se často žádný efekt neprojeví, od určité prahové hodnoty začne účinek narůstat a se zvyšující se dávkou dále roste, dokud nedosáhne maxima, kdy už organismus silněji reagovat nemůže. Tato křivka nám umožňuje určit bezpečné koncentrace látek pro lidi a další organismy, srovnávat jejich účinnost či toxicitu a nastavovat limity v medicíně, farmakologii i legislativě. Je tedy klíčové naučit se tyto křivky sestavovat a vyhodnocovat z nich klíčové parametry, které následně můžeme vzájemně porovnávat.

7. Z křivek dávka–odpověď se obvykle vyhodnocuje několik klíčových parametrů: NOAEL, LOAEL, EC50 / ED50 a Maximální účinek. Vysvětlete, co tyto zkratky a pojmy znamenají a vyznačte všechny 4 body na přiložené křivce dávka odpověď na Obrázku níže. [2 b]

NOAEL: No observed adverse effect level – nejvyšší dávka, při které nebyl pozorován účinek toxicity
LOAEL: Lowest observed adverse effect level – nejnižší dávka, při které byl pozorován účinek toxicity
EC50: Effective concentration – účinná koncentrace která způsobí 50 % maximálního účinku
ED50: Effective dose – dávka která způsobí účinek u 50 % testovaných organismů
Maximální účinek: Nejvyšší úroveň odpovědi, které je daná látka schopná dosáhnout bez ohledu na další zvyšování dávky.



Obrázek 2: Křivka dávka–odpověď

Vyhodnocení testu inhibice růstu kořene hořčice bílé

Váš kolega v ekotoxikologické laboratoři stanovoval toxicitu ethanolu pro semínka hořčice bílé. Dvacet semínek bylo exponováno vodným roztokům testované látky po dobu 96 hodin a následně byla změřena délka kořínku u semen, která vyklíčila. Byla prováděna jedna kontrola s čistou vodou a následně 3 varianty s roztoky ethanolu o koncentraci 0,11; 0,33 a 1 objemového procenta. Výsledky měření naleznete v tabulce níže.

	Délka kořínku [mm]					**Délka kořínku [mm]**			
Rostlina č.	kontrola	0,11%	0,33%	1%	Rostlina č.	kontrola	0,11%	0,33%	1%
1	29	22	19	1	11	9	13	4	1.5
2	5	35	4	1	12	15	1.5	3	3
3	11	25	4.2	0.5	13	22	5	2.5	0.5
4	9	4	8.4	2	14	21	0.5	3	0.5
5	34	4.4	5	2	15	8.5	2.5	3	0
6	5	5	12	3	16	12	45.1	10	0.5
7	47	5	5.2	2.3	17	10	2.5	25	1
8	40	3.4	0	0.5	18	16	2	1.5	0.5
9	30	24	0	0	19	15	4	3.5	0
10	6	4	0	0	20	7	5.5	2	0

$$\%\,\text{kontroly} = \frac{\text{průměr varianty}}{\text{průměr kontroly}} \quad [1] \qquad\qquad \%\,\text{inhibice} = 100\% - \%\,\text{kontroly} \quad [2]$$

8. Vaším úkolem bude sestrojit křivku dávka odpověď. K sestrojení se Vám bude hodit MS Excel či obdobný tabulkový program jako třeba LibreOffice Calc. Do řešení uveďte celý postup, výsledky všech mezivýpočtů a pochopitelně i graf, ať vám mohu udělovat body za jednotivé splněné kroky. K úspěšnému sestrojení postupujte dle následujícího návodu:

a) Spočítejte hmotnostní koncentraci alkoholu v jednotlivých variantách [mg/L]. Následně spočítejte dekadický logaritmus hmotnostní koncentrace alkoholu. [1 b]

% koncentrace	0 %	0.11 %	0.33 %	1 %
c [mg/L]	0	867.9	2603.7	7890
log (c)		2.938	3.416	3.897

b) Spočítejte průměrnou délku kořínků v jednotlivých variantách [1 b]

% koncentrace	0 %	0.11 %	0.33 %	1 %
průměr [cm]	17.575	10.67	5.765	0.99

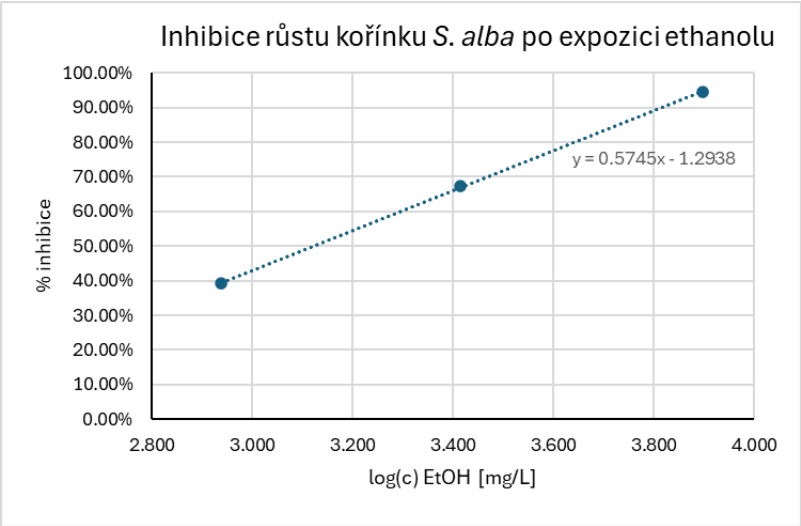
c) Spočítejte % kontroly dle rovnice 1 [1 b]

% koncentrace	0 %	0.11 %	0.33 %	1 %
% kontroly	100 %	60.71 %	32.80 %	5.63 %

d) Spočítejte % inhibice dle rovnice 2 [1 b]

% koncentrace	0 %	0.11 %	0.33 %	1 %
% inhibice	0 %	39.29 %	67.20 %	94.37 %

e) Vytvořte graf závislosti % inhibice na logaritmu koncentrace ethanolu. Body grafu proložte přímkou a nechte zobrazit rovnici přímky. [1 b]



f) Z rovnice přímky odečtěte EC50 [1 b]

$$
\begin{aligned}
y &= 0{,}5745 \cdot x - 1{,}2938 \\
0{,}5 &= 0{,}5745 \cdot x - 1{,}2938 \\
x &= (0{,}5 + 1{,}2938)/0{,}5745 \\
x &= 3{,}1224\ldots \\
c &= 10^{3{,}1224} = 1{,}326\,\mathrm{mg/L} = 0{,}168\,\%\ \text{ethanolu (v/v \%)}
\end{aligned}
$$

I když si legislativa stále vyžaduje testy na zvířatech, etická otázka samozřejmě nezůstává zcela bokem. Dnes je v praxi vždy uplatňována koncepce 3R (Replacement, Reduction, Refinement) jejímž cílem je minimalizovat používání i utrpení pokusných zvířat. Replacement znamená hledat a využívat alternativní metody místo zvířat, například buněčné kultury nebo počítačové modely (jak již bylo zmíněno, ve vědeckém poznání je toto již běžnou praxí, u hodnocení se tam teprve dostáváme). Reduction spočívá ve snaze snížit počet zvířat na nezbytné minimum, aniž by tím utrpěla kvalita a spolehlivost výsledků. Refinement pak zahrnuje zlepšení podmínek chovu a zpřesnění experimentálních postupů tak, aby zvířata prožívala co nejmenší stres a bolest.

Doufám, že jste si toto malé nakouknutí do světa hodnocení bezpečnosti látek užili. A ve stylu výše popsané křivky – na velkou DÁVKU úkolů očekávám také mnoho vašich ODPOVĚDÍ.

Anežka Kováčiková (e-mail: anezka.kovacikova42@gmail.com)

6. Burn, baby, burn! 20 points

A friendly reminder:
Your solution of this task is expected to be written in English.

Plants and fire. These two probably seem like sworn enemies to most. Wood is what fire eats, after all. Destructive forest fires might come to mind. But as you could've guessed, just like with everything in biology, it's complicated!

While the vast majority of fires in nature are caused by reckless humans (mostly the cigarette-smoking ones), some have always been inevitable. And while flames might seem like nothing but destruction, they too play an important role in a whole bunch of ecosystems.

Animals can run away or hide, but our dear photosynthetising friends are just far too stubborn for that. They'd rather adapt than move, their signature strategy for survival.

1. What do you call a plant that's adapted to live in extreme environments? And what about one adapted to fire itself? [0.5 pt]

Extremophyte, pyrophyte.

Let's start by looking at how certain plants that live in fire-prone areas manage to **survive** a fire as it's actually burning.

2. Name three adaptations that help plants **defend** themselves against an **ongoing** fire so the individual plant survives? Pick a species with one of these adaptations and describe how it protects the plant. [1.5 pt]

Answers could vary with this one depending on the adaptations and species you picked! I was looking for answers like, for example: thick bark which protects water transporting tissues or having tissues with high water content.

Answers like having serotinous cones were not correct here, as they don't physically protect the plant they're growing on, they just help it reproduce after the fire!

Passive defense is one thing, but some trees have gone for a more active approach as well! Self-pruning, or **cladoptosis**, is a process that causes trees to shed unnecessary branches, like sick ones, over time.

During an active fire, self-pruning is like taking away a ladder the flames could have used to climb higher into the canopy. In calmer times, cladoptosis can help improve air flow and light accessibility in the forest. It even helps trees with efficient resource use!

Being able to defend yourself is cool and all, but sometimes you just have to make the best of a situation, perhaps by turning a problem into an advantage. Let's shift our focus a little.

3. Name **two categories** we sort fire-adapted plants into based on how they survive/deal with fire. Don't forget some example species as well. [1 pt]

   a) Passive pyrophytes are well adapted to survive in fire prone areas. They have adaptations like the ones we described in question 2.: thick bark, tissue with high moisture content or underground storage. Example species could include Pinus palustris or Sequoiadendron giganteum.

   b) Active pyrophytes help spread fire by, for example, producing flammable oils. They don't (just) survive fires, but actively benefit from them.

4. Describe and explain **three ways** plants can use fire to their advantage. In what parts of the world do plants usually develop these types of traits and why? [2 pt]

   Again, the answers could vary. Examples would include using fire to reproduce, to sprout or to get rid of competition. Plants usually develop these traits in parts of the world that are often struck by wildfires or are generally really dry. That would include places like West of North America, South Africa or Australia.

   Fun fact! There's an invention humans use to fight fire, usually indoors, that works on a mechanism similar to the one some pyrophytes use to spread their seeds. While this invention wasn't directly inspired by plants, it's still fascinating to see how our technology so often imitates what we find in the natural world!

5. Can you figure out what the invention is? [0.5 pt]

   It's a sprinkler! You could find the correct answer in one of the podcast episodes I recommended at the end of this task!

   Hint: Movies totally lied to you about how they work.

   Among the most famous Bible stories is the story of Moses and the burning bush, a miraculous bush that doesn't burn up. The thought of a plant that could survive being set on fire is so mind-boggling that humans once used it to represent the voice of God. What if I told you, however, that there is a very real plant that can do just that? (Set itself on fire, not give divine advice, sadly).

6. What is the name of this plant and what family does it belong to? [0.5 pt]

   Dictamnus albus, Rutaceae

7. In which parts of the world does it grow? Can you find it in Czechia or Slovakia? [0.5 pt]

   Mostly in Eurasia, (middle and south Europe). So yep, we can find them here, for example in CHKO Český kras. People often grow them for aesthetic purposes in their gardens, too!

8. What gives it the ability to catch fire? Is volatility the only purpose said thing serves, or does it have other uses? [2 pt]

   Volatile oils which make the plant flammable or cause spontaneous combustion. These oils also help the plant defend itself or to attract pollinators with their sweet, sweet smell!

9. What happens if you touch this plant on a sunny day? What should you do if that ever happens? [2 pt]

   The medical term would be phytophotodermatitis – a skin reaction caused by the interaction between photosensitising chemicals and sunlight. The affected skin becomes red and blisters. After the blisters are healed, there can even occur postinflammatory hyperpigmentation for years after.

   While some people might be more sensitive to this than others, phytophotodermatitis is not an allergic reaction, so everyone should keep an eye out when hiking! Recommended first aid includes cooling the affected skin as heat (and moisture!) make the reaction worse. You can also use topical ointments like steroids.

   It's important to remove as much of the oil from your skin as possible, so you don't spread it around your body even more! Basic soap and water work sufficiently. If you know you touched a phototoxic plant but the blisters haven't shown up yet, apply sunscreen and limit sun exposure. And of course, wear long pants when hiking or gardening!

10. Name three other plant taxa that can cause this reaction in humans. Focus on the ones you might actually come into contact with in daily life, so you know what to watch out for! [1.5 pt]

    I used the term "taxa" specifically so you could choose if you want to focus on species, for example *Pastinaca sativa*, *Ruta graveolens*, *Daucus carota*... Or you could've gone for broader terms like the carrot family (*Apiaceae*), citrus family (*Rutaceae*) or mulberry family (*Moraceae*).

We've looked at specific adaptations and specific species so far. Time to broaden our scope! We've briefly touched on wildfires in the beginning, but now it's their time to shine (pun intended).

Forest fires usually get the most attention, but other biomes, like grasslands, can be caught up in flames just as easily. We don't encounter wildfires in temperate climates as often as in other parts of the world. Hundreds of them still happen in the Czech Republic every year, but they are usually so small that they escape any significant media coverage.

This comfort of ours, however, is on its way to change in the foreseeable future. Droughts are becoming more frequent and temperatures are steadily rising. And as you might've guessed, these changing environmental conditions are a recipe for wildfires becoming a much bigger issue.

11. Once it starts, what factors determine the **course** of a wildfire? [1 pt]

How a fire spreads is determined mostly by how flammable the area is, which depends a lot on the structure of vegetation, the amount of biomass present and current humidity. The amount of dead biomass, like fallen trees or leaves, also plays an important part. Environmental factors, such as the wind, are important as well. Answers could vary here.

12. Is it good to prevent wildfires? Why or why not? [2 pt]

Answers could vary here. I gave full points if you presented clear arguments and wrote out your opinion on the matter.

13. What are **prescribed fires** and how do they affect the ecosystem? [2 pt]

Prescribed fire (or controlled burn) is the practice of intentionally setting a fire in nature. It's used in ecological restoration or forest management and is usually done in colder months of the year. Cultural burning is a big part of the culture of different indigenous groups mostly in North America and Australia. While the practice was banned by European colonists at first, controlled burns were re-introduced as a practice after it became apparent that their absence has caused wildfires to become catastrophic.

Controlled burns help clear out the land of fuel buildup (dead material which burns well!), which helps reduce the likelihood of bigger, destructive fires. As we learned earlier, some species need fire exposure to germinate or disperse seeds. Overall it is viewed as a practice that restores the land, improves wildlife habitat, controls competing vegetation etc. Again, answers could vary here, these aren't the only possible correct options!

14. How would you go about designing and managing a landscape that can stand up to fire? You can go off the factors you described in question eleven! [3 pt]

You guessed it, answers could vary here as well! I assigned points based on how much effort you put in, how detailed you were, creativity and realism (to some extent).

Whew, that was a lot! You deserve some ice cream to cool down a little. Thank you for sticking with me! I hope you learned something new and useful. If you have any questions or feedback, feel free to reach out to me via e-mail!

And hey, psst! We only had time to touch on fire ecology very briefly in this task, so if you'd like to learn more about the topic (and perhaps even get some of the answers you need), check out the Ologies with Alie Ward podcast, episodes *Fire Ecology (WILDFIRES)* with Dr. Gavin Jones and *Indigenous Fire Ecology (GOOD FIRE)* with Dr. Amy Christianson.

Final note: scientific names should be italicised: *Dictamnus albus*, *Rutaceae*, not Dictamnus albus, Rutaceae. Make sure to keep that in mind!