

# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

### Inleiding

De meeste mensen vinden fruitvliegen vervelende, vieze rotbeestjes die op de GFT-bak of je biertje afkomen. Sommige onderzoekers denken hier anders over: voor hen is *Drosophila* een ideaal model voor genetisch onderzoek. Voor beide groepen is het belangrijk om te weten hoe fruitvliegjes hun voedselbron en broedsubstraat (waar ze hun eitjes leggen) kiezen. Onderzoekers willen weten hoe ze de fruitvliegen het beste kunnen kweken. Hierbij spelen voedselkwaliteit voor de volwassen fruitvlieg en diens nageslacht een belangrijke rol. De gemiddelde burger wil juist weten hoe hij de vliegjes zo ver mogelijk weghoudt of zo snel mogelijk kwijtraakt.

Om de voedselvoorkeur van fruitvliegen te bepalen, maken we in dit experiment gebruik van verschillende rottingsstadia van de appel. Het is interessant om te kijken of rottere appels meer of juist minder aantrekkelijk zijn voor de vliegen dan verse appels. Hiertoe worden 5 verschillende rottingsstadia (vers, één, twee, drie en vier dagen oud) aan de fruitvliegen aangeboden. Bij elk stadium worden evenveel fruitvliegen losgelaten zodat de percentages later gemakkelijk te berekenen zijn. We gebruiken lineaire regressie om de uitkomsten (het percentage dat op de appel is afgekomen) te analyseren en iets over een eventuele voorkeur van de fruitvlieg te kunnen zeggen.

### Doel

In dit experiment bepalen we tot welk rottingsstadium van de appel fruitvliegen zich het meest aangetrokken voelen.

### Theorie

Fruitvliegen zijn kleine vliegjes (ze zijn nog geen 6 mm lang) met als opvallend kenmerk vaak rode ogen. Je vindt ze op de fruitschaal en in de GFT-bak. Ze planten zich voort op organisch gistend materiaal en hebben het altijd meteen in gaten wanneer er ergens iets ligt te rotten. Het reproductief vermogen van fruitvliegen is zeer groot: onder de juiste omstandigheden (temperatuur is hierbij een belangrijke factor) kan een vrouwtje wel 500 eieren leggen. Hun hele levenscyclus, van ei tot volwassen fruitvlieg (adult) kan dan al in iets meer dan een week rond zijn. Normaalgesproken duurt dit ongeveer twee weken. De vrouwtjes leggen hun eitjes op een vrucht. De larven kunnen deze niet verlaten voordat ze zich hebben verpopt tot vlieg. De larven leven van de gistcellen die op de vrucht groeien. Als de vrucht te weinig gistcellen bevat (dus niet rot genoeg is), verhongeren de larven. Volwassen fruitvliegen bepalen dus waar hun jongen opgroeien: zij moeten vruchten kiezen waarop hun jongen de grootste overlevingskans hebben. Fruitvliegen



# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

---

kunnen onderscheid maken tussen verschillende vruchten en verschillende rottingsstadia van deze vruchten. Ze maken hiervoor gebruik van de 'geurboeketten' die de vruchten uitzenden. Ze gebruiken deze informatie bij het zoeken naar voedsel- en broeds substraten.

Statistische toetsen zijn noodzakelijk om onderbouwde conclusies te kunnen trekken uit de resultaten van een experiment. Pas na het uitvoeren van zo'n toets kun je verschillen of verbanden aantonen, of zeggen dat er op basis van de resultaten geen verschil of verband is gevonden. Er bestaan veel verschillende statistische toetsen die allemaal op een andere manier werken. Omdat iedere toets specifieke eisen aan de data stelt, is het belangrijk om de toets al voor het opzetten van de proef te kiezen. Zo kun je bijvoorbeeld alvast rekening houden met het aantal steekproeven en de steekproefomvang. Wanneer je dit niet doet, loop je het risico dat je uiteindelijk niets kan toetsen. Het kan ook gebeuren dat je hierdoor geen significant verschil of verband vindt, terwijl dit bij een grotere steekproef wel het geval had kunnen zijn. Voor de analyse van de resultaten van deze proef maken we gebruik van lineaire regressie. Dit wil overigens niet zeggen dat dit de best denkbare toets is voor dit doel. We beperken ons hier tot een eenvoudig uit te voeren toets die in het vwo pakket zit en een aardig beeld geeft van het gebruik van toetsen bij een praktische vraagstelling.

### Uitvoering

Voor je een proefopzet kiest, moet je bedenken wat je wilt aantonen. In dit experiment kijken we naar het verband tussen het rottingsstadium van de appel en de bijhorende aantrekkelijkheid voor fruitvliegen. Onderzoek of een groep fruitvliegen binnen een kwartier naar een bepaald rottingsstadium van de appel vliegen. Maak hierbij onderscheid tussen verse, één, twee, drie en vier dagen oude appels. We nemen aan dat rottere vruchten wellicht aantrekkelijker zijn voor fruitvliegen dan versere. We gebruiken lineaire regressie om dit te toetsen. Om deze toets goed uit te kunnen voeren, moeten er meerdere stadia van (in dit geval) de appel bekeken worden.

### *Materialen*

- Een paar honderd fruitvliegen (>250)
- 5 appels
- 10 AA flesjes (of iets van vergelijkbare grootte)
- 10 bakjes
- 5 stolpen
- 2 colaflessen (of iets van vergelijkbare grootte)
- 2 petrischaaltjes
- Folie
- 10 glazen flesjes
- Papier
- Tape



# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

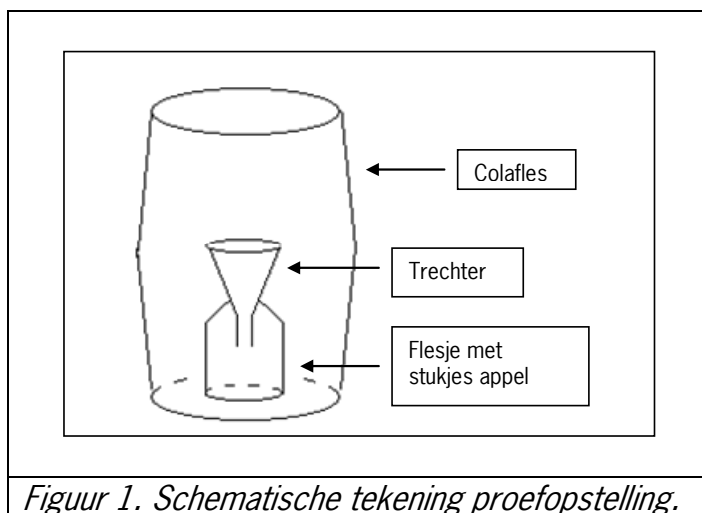
### *Veiligheid*

Dit experiment dient altijd uitgevoerd te worden onder begeleiding van een docent of toa. Wageningen University aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor schade die voortvloeit uit het verrichten van dit experiment buiten de campus van Wageningen University.

### *Beschrijving*

Voor het experiment heb je stukjes appel in vijf verschillende stadia nodig: vers, één dag, twee dagen, drie dagen en vier dagen oud. Snijd vier dagen voor aanvang van het experiment de eerste appel in kleine stukjes, dek ze af met bijvoorbeeld gaas zodat er geen fruitvliegen en andere organismen bij kunnen en zet ze in het raamkozijn. Herhaal dit op drie dagen, twee dagen, één dag van tevoren en op de dag dat het experiment wordt uitgevoerd. Noteer de data op de bakjes om verwarring te voorkomen. Vlak voor het experiment verdeel je de stukjes van één appel over twee flesjes (van de grootte van AA flesjes) zodat je uiteindelijk tien flesjes hebt: twee flesjes van elk van de vijf rottingsstadia. Maak tien papieren trechters. Knip een klein gaatje aan de onderkant van de trechter zodat dat de vliegen erdoor passen. Plak de trechters met tape vast aan de flesjes.

Zet nu één flesje in de colafles waarvan de boven en onderkant zijn afgeknipt (zie figuur 1



*Figuur 1. Schematische tekening proefopstelling.*

Laat nu in de kooi 25 fruitvliegen los. Dek het geheel snel af met de petrischaal. Omdat fruitvliegen gemakkelijk wegvliegen kun je ze verdoven met koolstofdioxide ( $\text{CO}_2$ ). Kijk wat de vliegen doen. Tel na een kwartier het aantal vliegen in en op de trechter, en het aantal vliegen in het flesje. Ondertussen kan de volgende proefopstelling worden opgezet en ook hier kunnen de vliegen in worden losgelaten. De ongevange vliegen kunnen eventueel voor het volgende experiment gebruikt

worden, de gevangen vliegen niet. Het verdient echter de voorkeur om voor iedere proef nieuwe fruitvliegen te gebruiken. De bedoeling is dat iedere practicumgroep elke toestand bekijkt. Aangezien de lestijd beperkt is, kan het zijn dat dit niet lukt. Zorg er daarom voor dat je samenwerkt met een ander groepje zodat iedereen alle toestanden tenminste tweemaal heeft bekeken. Om de statistische toets verantwoord te kunnen uitvoeren is het verstandig om met percentages te werken. Je neemt dan bijvoorbeeld het percentage fruitvliegen op het flesje en de trechter t.o.v. het totaal dat in de cola fles is gegaan.

# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

---

### Resultaten

Vul je waarnemingen in de volgende tabel in.

*Tabel 1. Aantal fruitvliegen bij verschillende appelstadia.*

Fractie fruitvliegen	vers		1 dag		2 dagen		3 dagen		4 dagen	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
In fles										
Percentage t.o.v. totaal										
In trechter										
Percentage t.o.v. totaal										

Om goed te kunnen beoordelen of fruitvliegen een voorkeur hebben voor één van de categorieën appels en of deze voorkeur uitgaat naar vers of juist naar rot kan de lineaire regressie methode worden gebruikt. Je neemt hiervoor het percentage fruitvliegen ten opzichte van het totaal dat in de flesjes is terechtgekomen. Voordat we de regressielijn bepalen, is het verstandig om eerst een grafiek te maken om zo een eerste indruk van de resultaten te krijgen. Je kan een grafiek met de hand of op de computer maken. Dit laatste verdient de voorkeur. Als je een grafiek op de computer maakt, moet je de resultaten eerst invoeren in de computer. Dit kan op dezelfde wijze als Tabel 1. Zie verder Bijlage 1 voor het maken van de grafiek. Voer nu volgens het stappenplan in de lesbrief over lineaire regressie de toets uit. Tevens staat in deze lesbrief beschreven hoe de toets met de computer in Excel eenvoudig is uit te voeren. Op dezelfde wijze kan je ook kijken naar het verband tussen het aantal fruitvliegen in de trechter plus het flesje met de appel. Dit kan uitgevoerd worden maar dat lukt waarschijnlijk niet binnen de gestelde tijd voor het practicum.

### Vragen

1. Bepaal de regressielijn van het percentage fruitvliegen in het flesje ten opzichte van de rottingstoestand en voer de toets uit (bij  $\alpha=0,05$ ). Wat zijn je conclusies op basis hiervan?
  
2. Hoe denk je dat fruitvliegen hun voedselbron lokaliseren?



# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

---

3. Waarom is het verstandig om van elk rottingsstadium minstens twee flesjes te hebben?
4. Kun je een specifieke stof bedenken die een rol gespeeld kan hebben bij de keuze van de fruitvliegen? Licht toe.

### **Suggesties voor verder onderzoek**

Als aanvulling of variatie op dit experiment kan er gewerkt worden met andere vruchten of een mengsel van water en bier. Tevens kan er gekeken worden naar het verschil tussen gedroogde en vochtige, rottende vruchten.

Deze proef is opgezet als demonstratie, maar met enige aanpassingen ook geschikt als een experiment voor een profielwerkstuk of een praktische opdracht. Hierbij kan bijvoorbeeld gedacht worden aan een opdracht voor het ontwerp van de ideale fruitvliegenvaal om eindelijk de keuken eens vrij van deze beesten te krijgen.

### *Documentatie*

- Dicke, M. 1998. SOS-signalen van planten. Natuur en techniek. 9:58-67
- Bakker, K. et al. 1991. Insekten. Cahiers Bio-Wetenschappen en Maatschappij Vol. 15 nr. 2.

### **Oriëntatie op vervolgonderwijs**

Het onderwerp van dit experiment kom je ook tegen in de volgende opleidingen van Wageningen University:

- Biologie
- Plantenwetenschappen

Kijk voor meer informatie op [www.wageningenuniversity.nl/bsc](http://www.wageningenuniversity.nl/bsc).



# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

---

### Bijlage 1. Het maken van een grafiek in Excel

Er zijn Nederlandstalige en Engelstalige versies van het spreadsheetprogramma Excel op de markt. Omdat iedere school een andere versie kan hebben, behandelen we hier de opdrachten op twee manieren. Er worden dus steeds direct achter elkaar twee commando's beschreven. Het eerste commando hiervan stamt uit de Nederlandstalige versie en het tweede uit de Engelstalige versie. Kolommen zijn verticaal en rijen horizontaal. Commando's staan in het vervolg in een schuin gedrukt lettertype.

Start Excel op. Eerst moeten de gegevens worden ingevoerd. Ga daartoe op het vakje in kolom A en rij 1 staan en typ daarin het eerste getal gevolgd door "Enter". Nu staat de cursor op het vakje op rij 2 in kolom A. Typ het tweede getal in gevolgd door "Enter" en herhaal deze procedure voor alle getallen. In Excel zit vervolgens onder het menu *invoegen* of *insert*. Je krijgt na *grafiek* of *chart* gekozen te hebben een keuzemenu te zien waarbij je uit verschillende grafiektypen kan kiezen. Voor dit experiment kan het beste het type *spreiding* of *XY (scatter)* worden gebruikt. Selecteren kan door erop te *dubbelklikken*. Klik in het menu eerst het tabblad *'reeks'* of *'series'* aan (het staat eerst op 'gegevensbereik'). In dit menu kunnen de gegevens worden geselecteerd waarvan een grafiek gemaakt kan worden. Dit kan door eerst op *toevoegen* of *add* te klikken. Eerst selecteer je nu de x-waarden (de waarden die dus op de x-as worden uitgezet). Dit doe je door in het vak na de x-waarden het vierkantje met een rood pijltje aan te klikken. Er komt dan een balk in beeld. Met de cursor (de pijl van je muis) kan je nu handmatig de gegevens die op de x-as uitgezet moeten worden selecteren (je selecteert meerdere waarden door de rechtermuisknop ingedrukt te houden). In het geval van het experiment zijn dit de jaartallen. Als je alle jaartallen hebt geselecteerd, klik je in de balk weer op het vierkantje met het rode pijltje. Je keert nu weer terug in het tabblad *reeks* of *series*. Doe hetzelfde voor de waarden voor de y-as. Ook kan je nog een naam invoeren (selecteren of handmatig invoeren). Druk dan op *volgende* of *next*. Nu kun je de assen een naam geven. Bijvoorbeeld jaartal of aantal fruitvliegen. Druk vervolgens op *voltooien* of *finish*. Nu verschijnt de grafiek. Een handige methode om te kijken of er een trend is, is het maken van een trendlijn aan de grafiek. Dit doe je door op een punt in de grafiek te klikken en de *rechtermuisknop in te drukken*. Kies vervolgens *trendlijn toevoegen* of *add trendline*. Druk op *ok*. Er verschijnt een lijn.



# Lekker: rot of vers?

-De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

---

## Voor de docent of toa

### Uitvoering

#### *Materialen*

De appels mogen van elk soort zijn als er bij het hele experiment maar één soort wordt gebruikt.

#### *Vaardigheden*

Gewenst is dat de lesbrief over de lineaire regressie eerst wordt bestudeerd. Het practicum vraagt verder geen specifieke vaardigheden die van tevoren bekend moeten zijn.

#### *Veiligheid*

Geen noodzakelijke voorzorgsmaatregelen en risico's.

Dit experiment dient altijd uitgevoerd te worden onder begeleiding van een docent of toa. Wageningen University aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor schade die voortvloeit uit het verrichten van dit experiment buiten de campus van Wageningen University.

### Resultaten

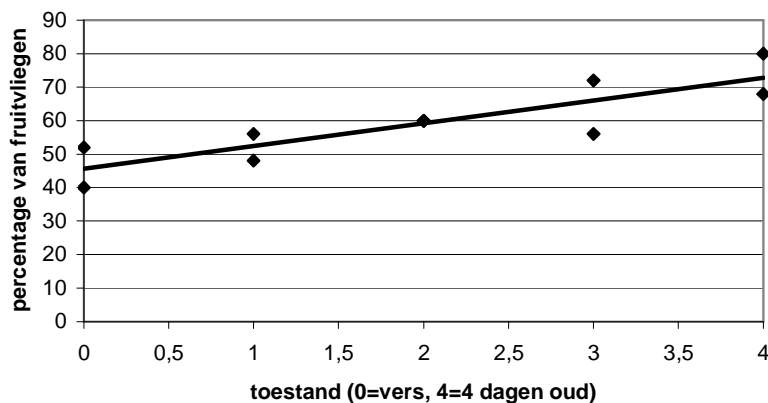
De resultaten kunnen erg verschillen. Hieronder is de resultatentabel ingevuld met een set mogelijke waarnemingen:

Fractie fruitvliegen	vers		1 dag		2 dagen		3 dagen		4 dagen	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
In fles	10	13	12	14	15	15	14	18	17	20
Percentage t.o.v. totaal	40	52	48	56	60	60	56	72	68	80



# Lekker: rot of vers?

## -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-



Figuur 2. De regressielijn (met de lijn  $y=ax+b$ ) van de appeltoestand en percentage fruitvliegen.

### Uitwerking van de vragen

1. Bepaal de regressielijn van het percentage fruitvliegen in het flesje ten opzichte van de rottingstoestand en voer de toets uit (bij  $\alpha=0,05$ ). Wat zijn je conclusies op basis hiervan?

Allereerst kan een grafiek gemaakt worden van de resultaten. Hoe je dit kan doen wordt beschreven in bijlage 1. Voor Excel is het noodzakelijk dat de toestand (vers, 1 dag oud, enz) een categorie wordt toegekend. Zo wordt vers 0, één dag oud 1, enz. De grafiek is gegeven in figuur 2 (de formule van de lijn is  $y=a+bx$ ).

Vervolgens kan de toets worden uitgevoerd volgens het stappenplan zoals beschreven in de bijbehorende lesbrief:

1. Ik verwacht dat bij een grotere rotheid er meer fruitvliegen op de appel afkomen.
2. De nulhypothese is dat er geen verband bestaat tussen de toestand van de appel en het percentage fruitvliegen dat erop afkomt ( $H_0: b=0$ ). De alternatieve hypothese is dat er een positief verband is tussen de toestand (naar steeds rotter) en het percentage fruitvliegen dat op de appel afkomt ( $H_1: b>0$ ).
3.  $T_b = \frac{b-0}{s_b}$   $T_b$  neemt grote waarden aan als de alternatieve hypothese waar is.
4. De onbetrouwbaarheidsdrempel ( $\alpha$ ) is 0,05.
5. Het kritieke gebied met 10 waarnemingen en 8 vrijheidsgraden volgt uit de tabel in de lesbrief. Deze is dan voor de enkelzijdige toets: (1,86,  $\infty$ ).
6. In onderstaande tabel staan de uitkomsten van Excel.

6,80	45,60
1,41	3,45
0,74	6,29
23,35	8,00
924,80	316,80

7. De toetsingsgrootte is dan:  $T_b=6,80/1,41=4,82$ .



## Lekker: rot of vers?

### -De fruitvlieg als fijnproever: een statistische analyse-

---

8. De uitkomst van de toetsingsgrootte ligt dus in het kritieke gebied. Daarom is er op grond van de waarnemingen een positief verband aangetoond tussen rottingsstadium en percentage fruitvliegen dat op de appel afkomt. Een rottere appel is dus aantrekkelijker voor de fruitvlieg.
  
2. *Hoe denk je dat fruitvliegen hun voedselbron lokaliseren?*  
De fruitvliegen signaleren vanaf een afstand de chemische geurstoffen afkomstig van hun voedselbron.
  
3. *Waarom is het verstandig om er van elk rottingsstadium minstens twee flesjes te hebben?*  
Hoe meer waarnemingen hoe betrouwbaarder het resultaat. Als er maar één waarneming is, is de kans veel groter dat er door een meetfout of door toeval een verkeerde conclusie getrokken wordt. Eigenlijk is het dus verstandig om nog meer herhalingen per rottingsstadium te doen.
  
4. *Kun je een specifieke stof bedenken die een rol gespeeld kan hebben bij de keuze van de fruitvliegen? Licht toe.*  
De fruitvliegen reageren op de geurstoffen die vrijkomen door rotting/vergisting. Bijvoorbeeld alcohol.

### Opmerkingen

Er is een vergelijkbaar experiment beschikbaar waarbij geen gebruik wordt gemaakt van een toets. Dit experiment is sneller en eenvoudiger uit te voeren.

