

De impact van zout op de groei van kiemgroenten

Ramon Reilman ¹, Janine Postmus ¹

¹Hanze

Samenvatting

Het belang van dit onderzoek is om te kijken hoe verschillende kiemgroenten reageren op licht verhoogde zoutconcentraties in de groeibodem, dit is belangrijk omdat de zeespiegel stijgt en hierdoor de grond geleidelijk aan zouter wordt. We hebben 400 keer tuinkers, en 400 keer alfalfa geplant en hebben deze gevoed met verschillende oplopende zoutconcentraties. Hieruit blijkt dat een oplopende zoutconcentratie een significant effect heeft op de groei van beide planten. Omdat de verzamelde data niet volledig betrouwbaar is zal dit onderzoek opnieuw uitgevoerd moeten worden om met zekerheid te kunnen zeggen dat de zoutconcentraties effect heeft.

1 Introductie

Dit onderzoek is opgesteld voor een opdracht voor de Hanze in Groningen door twee studenten die de opleiding bio-informatica studeren. In het kader van leren onderzoek doen en resultaatverwerking in programmeertaal R is dit onderzoek tot stand gekomen. Er is gekozen om de impact van zout op de groei van kiemgroenten te onderzoeken. Er is namelijk wel vaker onderzoek gedaan naar de impact van zout op plantengroei (zie bron <https://www.bbc.co.uk/bitesize/guides/zqdhjty/revision/6>), maar nog niet eerder naar de impact op kiemgroenten. Omdat kiemgroenten gekweekt kunnen worden als voedsel is het belangrijk om te weten wat een verhoogde zoutconcentratie voor impact heeft. Omdat ze zeespiegel behoorlijk aan het stijgen is heeft dit ook impact op de grond waar bloemen, planten en fruit/groente gekweekt wordt. Door dit onderzoek uit te voeren kan er bijvoorbeeld gekeken worden naar welke groeilocaties gunstig zouden zijn en welke groeilocaties minder gunstig zouden zijn. (bron <https://www.nationalgeographic.nl/de-stijging-van-de-zeespiegel-uitgelegd>)

Er is onderzocht wat goede zoutconcentraties zouden kunnen zijn. Het experiment is eenmaal mislukt met te hoge zoutconcentraties, namelijk 0%, 1%, 3%, 9%. Omdat de groep van 1% nog wel groeide is er gekozen om de uiteindelijke concentraties tot maximaal 0.1% te kiezen, namelijk; 0%, 0.03%, 0.06%, 0.09%. Op deze manier is er zekerheid gecreërd dat alles zou groeien, maar dat er alsnog wel een verschil gezien zou gaan worden.

Hypothese - De onderzoeksvraag is: Is er een significant verschil op de groei tussen de tuinkers en alfalfa met een oplopende zoutconcentratie? - Nulhypothese: Er is geen significant verschil op de groei tussen de tuinkers en alfalfa met een oplopende zoutconcentratie - Hypothese: Er is een significant verschil op de groei tussen de tuinkers en alfalfa met een oplopende zoutconcentratie.

Plan van aanpak De plantjes worden allemaal op 1 locatie ingezaaid op keukenpapier in plastic petrischalen. (Zie protocol . . .) Vervolgens worden de plantjes gedurende een periode van 6 dagen continue nat gehouden

door de verschillende zoutoplossingen. (Zie protocol . . .). Na deze 6 dagen kan worden beslist om de plantjes nog 1 of 2 dagen langer te laten groeien als de groei nog onvoldoende is om goed te kunnen meten, anders wordt op dag 7 de data verzameld. Zorg ervoor dat de bodem nog steeds nat is tot moment van data verzamelen. Na het verzamelen van alle data wordt dit verwerkt in R. Door middel van verschillende plotjes en statistische testen kan er uiteindelijk een conclusie getrokken worden of de hypothese wordt aangenomen of niet.

2 Materialen en Methoden

Github repo: https://github.com/RamonReilman/blog_ish

Er wordt begonnen met het aanschaffen van alle materialen waarbij er op gelet moet worden dat dezelfde merken gekocht worden, bijvoorbeeld het zout moet van 1 merk zijn. De materialen zijn:

- 16 nieuwe petrischalen met deksel
- Sproeiflessen, 4 dezelfde
- Keukenrol, 1 rol
- Liniaal, 2 dezelfde
- Tuinkers zaadjes, 3 zakjes
- Alfalfa zaadjes, 3 zakjes
- Computer/laptop met toegang tot Word, Excel en Rstudio

Vervolgens worden de zoutoplossingen gemaakt. Er worden oplossingen gebruikt van 0%, 0.03%, 0.065 en 0.09% zout. Hierbij is de 0% de controlegroep. De planning was dat we dit op een laboratorium zouden doen met gedemineraliseerd water, echter omdat de uitvoering eenmaal mislukt is, moest er een alternatieve oplossing gezocht worden. Hiervoor is gekozen om gekookt leidingwater te gebruiken in combinatie met het zout. Door het koken zijn de bacteriën eruit gehaald en is het water zuiver genoeg om te gebruiken voor het experiment. Vervolgens worden de zaadjes geplant volgens dit schema:

- Zoutoplossing 0%, 2 keer 50 zaadjes in twee petrischalen.
- Zoutoplossing 0.03%. 2 keer 50 zaadjes in twee petrischalen.
- Zoutoplossing 0.06%. 2 keer 50 zaadjes in twee petrischalen.
- Zoutoplossing 0.09%. 2 keer 50 zaadjes in twee petrischalen.

Alles wordt 2 keer ingezaaid zodat er voor elke oplossing een duplo is. Na het zaaien worden de plantjes gedurende 6 dagen nat gehouden met de verschillende zoutoplossingen voordat de data verzameld kan worden. De data wordt op 1 dag allemaal tegelijk verzameld door 2 personen. Hierbij neemt 1 persoon alle data voor de Tuinkers op zich en 1 persoon neemt alle data voor de Alfalfa op zich. De volgende datapunten worden hierbij meegenomen.

- Groei in mm
- Ontkiemd ja of nee
- Aantal blaadjes

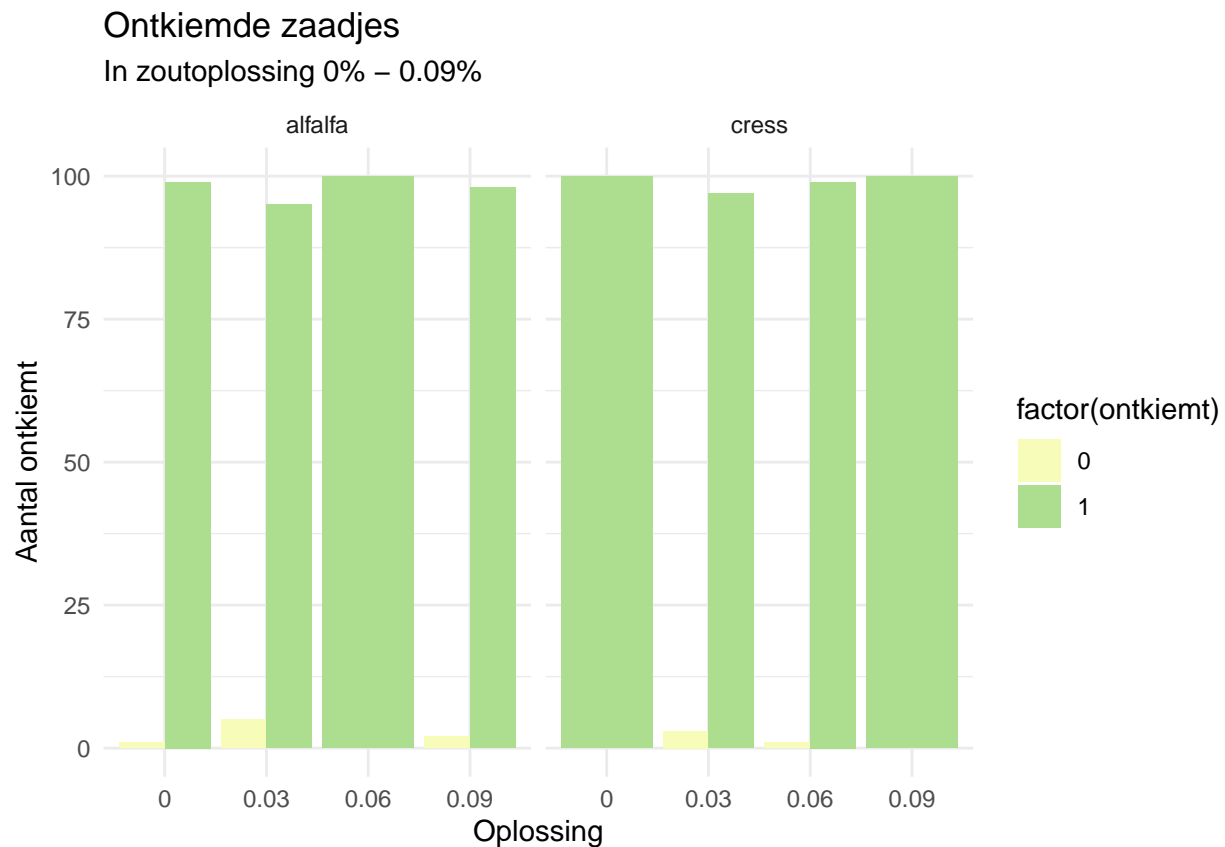
- Bladkleur (volgens kleurschaal zie ...)

Na het verzamelen van alle data kan dit verwerkt worden in R. Het kan handig zijn gedurende de groei van de plantjes alvast wat statistische tests en plotjes uit te voeren met testdata zodat, tijdens het verwerken van de daadwerkelijke data, al bekend is welke plots en statistische testen er uitgevoerd moeten worden.

3 Resultaten

3.0.1 Ontkieming

Om te kijken naar hoeveel impact de zoutoplossingen hebben op de groei van de plant wordt gekeken naar de ontkieming van de zaadjes.



Figuur 1: Ontkieming per soort voor elke oplossing. Deze grafiek geeft het aantal ontkiemde zaadjes weer. Op de x-as staan de oplossingen, op de y-as staat het aantal ontkiemde zaadjes

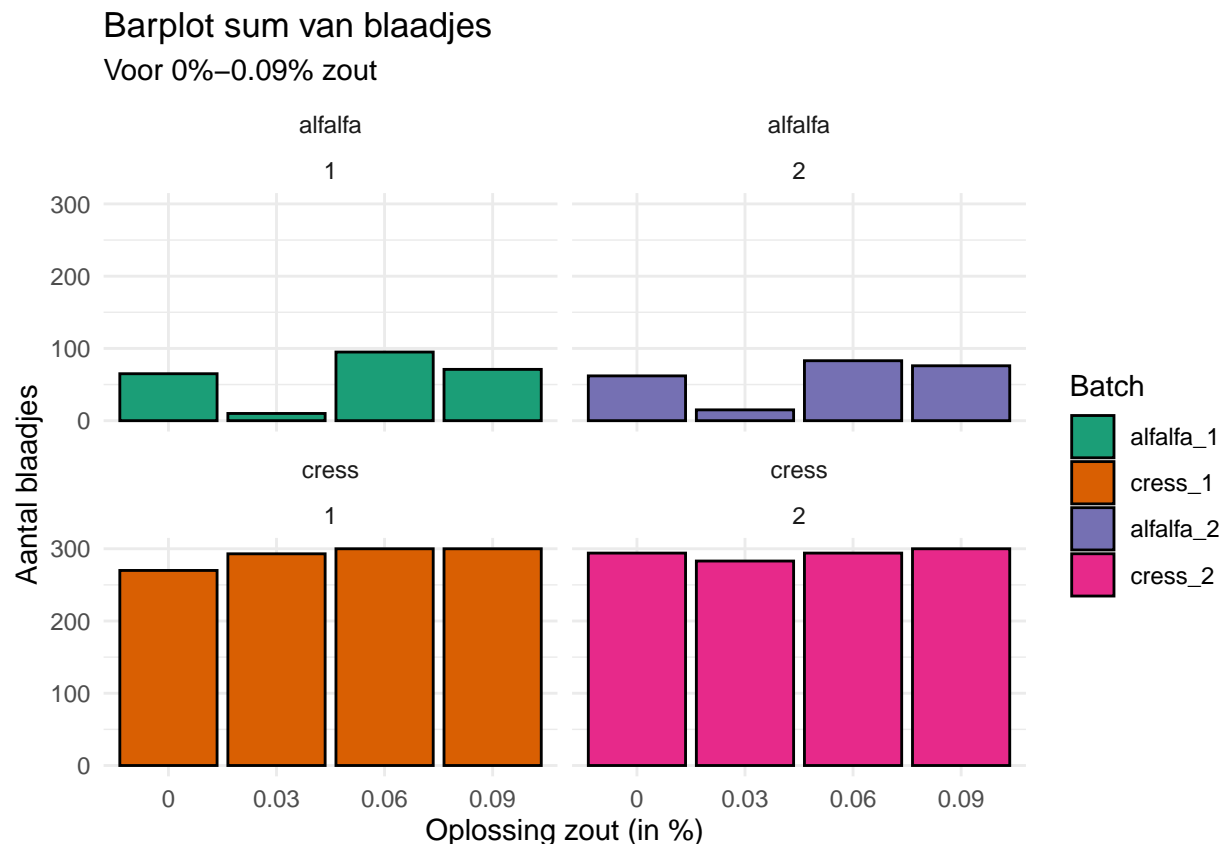
In figuur 1 is te zien dat bijna alles ontkiemd is, om te kijken of hier nog significant verschil in zit worden er een aantal statistische testen uitgevoerd.

Omdat de p-waarde, van de two-way chi-square test met 0.71 groter is dan 0.05 is er geen significant verschil van ontkieming tussen de twee plantensoorten op basis van alle zoutoplossingen. Vervolgens is de

effectsterkte berekend door middel van Cohen's M om erachter te komen of het een relevant verschil is. Met een effectgrootte van 0.075 is er nagenoeg geen verband tussen de invloed op ontkiemde zaadjes tussen plant, en zoutoplossingen. Om te controleren of deze conclusie correct is wordt de power berekend met de chi-square test. De power is 0.29 (29%). Daarmee kan gezegd worden dat de vorige testen een 29% kans hebben om correct te zijn.

3.0.2 Aantal blaadjes

Om te kijken hoe de zoutoplossingen impact hebben op de groei van het aantal blaadjes is dit uitgezet in onderstaande barplot.



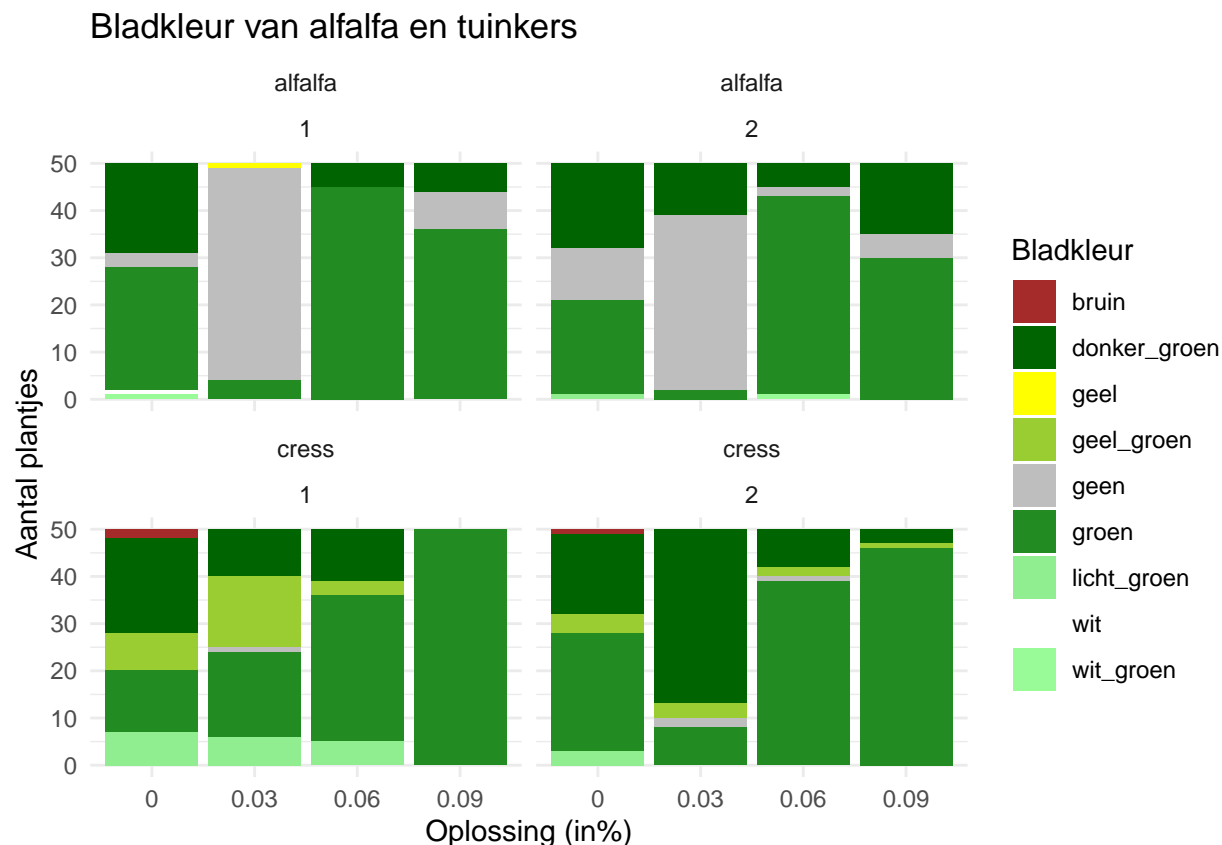
Figuur 2: Aantal blaadjes per batch per zoutoplossing. Deze barplot geeft het aantal blaadjes per plant per zoutoplossing weer. Op de x-as de zoutoplossingen, op de y-as het aantal blaadjes

In figuur 2 is te zien dat de alfalfa minder blaadjes heeft dan de tuinkers, verder is te zien dat alleen alfalfa in oplossing 0.03% afwijkt qua bladgroei.

Er is een 2-way anova test uitgevoerd om te kijken of de P-waarde goed is. De P waarde is 0.0894, dit betekent dat het effect op de interactie tussen de blaadjes en species en zoutoplossing minimaal significant is. Vervolgens is de effectsterkte berekend met Fishers eta en hier komt een effectsterkte uit van 0.887 (88,7%). Dit houdt in dat er een sterk effect is van de factoren species en oplossing op het aantal blaadjes.

3.0.3 Kleur van blaadjes

Om te kijken wat de invloed van zoutoplossingen is op de groei van de kiemgroenten, is de kleur van de blaadjes verzameld als data.



Figuur 3: Stacker barchart kleur van blaadjes. Deze grafiek geeft de kleur van de blaadjes weer per soort, batch en oplossing. De kleuren in de bars komen overeen met de kleuren van de plant. Grijs betekend dat er geen bladkleur gemeten is, omdat er geen blaadjes gegroeid zijn.

In figuur 3 is te zien welke bladkleur er gemeten is per plant, per batch, per zoutoplossing. Wat opvalt is dat alfalfa batch 1 en alfalfa batch 2 nagenoeg geen bladkleur hebben.

4 Discussie en Conclusies

Om te beginnen hebben we gekeken naar alle duplo's. Er zijn testen gedaan op groei in cm, met eerst een boxplot (figuur .) waarin het verschil is te zien met groei in cm. Hier is uitgekomen dat er vier duplo's afwijken van elkaar. Vervolgens is er een T-test uitgevoerd op deze afwijkingen. Uit de T-test kwam bij elke duplo een P-waarde van onder de 0.05 (5%). Hieruit blijkt dat er een significant verschil is. Hierop is de effectsterkte berekend waaruit kwam dat voor tuinkers en alfalfa 0.03% beide rond de 0.85(85%) liggen. Dit betekend dat er een groot verschil is in deze duplo's. Tuinkers 0.06% heeft een effectsterkte van 0.68(68), dit betekend dat

er een matig tot groot verschil is. Voor alfalfa 0.0% is de effectsterkte 0.5, dit betekend dat er een matig verschil is. Als laatste is de power berekend, hier kwam uit dat tuinkers 0.03% een power van 0.79(79%) heeft, alfalfa 0.03% heeft een power van 0.83(83%), tuinkers 0.06% heeft een power van 0.61(61%), alfalfa 0.0% heeft een power van 0.36(36%). Omdat de tuinkers 0.03% en de alfalfa 0.03% beide een power hebben van 80% kan er met zekerheid gezegd worden dat de uitgevoerde t-test betrouwbaar is en dat er dus een significant verschil zit in deze duplo's. Omdat de tuinkers 0.06% en alfalfa 0.0% een power hebben van 61% en 36% kan de t-test niet als betrouwbaar worden geacht dus is het niet zeker of er een significant verschil is. De vraag die hieruit voortkomt is, hoe kan het dat er 4 duplo's afwijken terwijl alle plantjes continue dezelfde behandeling hebben gehad? Deze vraag kunnen wij niet beantwoorden. De plantjes zijn gegroeid op 1 locatie en hebben allemaal dezelfde hoeveelheid water, met hun eigen zoutconcentratie, gehad. De rest van de resultaten worden hierdoor beïnvloed in betrouwbaarheid.

We hebben de groei in cm gemeten en deze data is verwerkt in twee verschillende histogrammen. (figuur . & figuur .) Hieruit blijkt (en figuur .) dat er een verschil zichtbaar is tussen de plantensoort en zoutoplossingen. Daarom is er een 2-way anova test uitgevoerd waaruit een p-waarde van $2e-16$ is uitgekomen. Er is dus een interactie tussen plantensoort en zoutoplossing, dit betekend dat er een verschil is tussen hoe de alfalfa reageert op het zout en hoe de tuinkers reageert op het zout. Hierop is de effectsterkte berekend, dit is gedaan voor de interactie en de 2 factoren (de planten en oplossing). Hierbij heeft de interactie (tussen de soort en oplossing) een effectsterkte van 0.13 en de oplossing heeft een effectsterkte van 0.2. Dit betekend dat beide waarden een sterk effect hebben op de groei van planten. De soort plant heeft een effectsterkte van 0.06 en heeft hierdoor een matig effect. De power is ook weer berekend en deze is 0.96(96%). Dat betekend dat er met zekerheid gezegd kan worden dat de 2-way anova betrouwbaar is en daardoor kan gesteld worden dat er een significant verschil is op de interactie tussen soort en zoutoplossing.

Er is gekeken naar de ontkieming van de zaadjes. Er is een barplot gemaakt (figuur .) en er is niet echt een significant verschil zichtbaar. Hierop is er een two-way chi-square test uitgevoerd. Hieruit is een p-waarde van 0.71 en dat betekend dat de soort en oplossing geen significant verschil hebben op de ontkieming. Er is vervolgens de effectsterkte berekend hier is 0.075 uitgekomen en dat betekend dat nagenoeg geen verband is tussen de ontkieming per soort per zoutoplossing. Vervolgens is de power berekend en die is 0.29(29%). Er kan dus geconcludeerd worden dat de two-way chi-square test niet betrouwbaar is en dat er daarom niet met zekerheid gezegd kan worden of er een significant verschil is tussen de soort en oplossing op de ontkieming.

Er is gekeken naar de hoeveelheid blaadjes, hier is een barplot voor gemaakt (figuur .) en hierin is te zien dat de alfalfa 0.03% afwijkt van de rest. Er is een 2-way anova test uitgevoerd om te kijken of de P-waarde goed is. De P waarde is 0.0894, dit betekent dat het effect op de interactie tussen de blaadjes en soort en zoutoplossing minimaal significant is. Vervolgens is de effectsterkte berekend met Fishers eta en hier komt een effectsterkte uit van 0.887 (88,7%).

Er is als laatste nog gekeken naar bladkleur, dit is uitgezet in een stacked barchart. (figuur .) Hierin is grijs de kleur voor als er geen blaadje aanwezig is. Dit kan zijn omdat het zaadje niet ontkiemd was of omdat er nog geen blaadjes aan zaten. Te zien is dat de alfalfa 0.03% afwijkt qua bladkleur. Dat de alfalfa 0.03% afwijkt is iets dat continue terugkomt. Deze batch is dus niet goed gegroeid om een voor ons onbekende reden. Er was een plan voor statistische testen, echter gaat de statistiek heel ver en hebben wij het opgegeven omdat er geen reactie terugkwam van de desbetreffende docent en de wiskunde voor ons niet te begrijpen is.

We komen terug op de onderzoeksvraag: Is er een significant verschil op de groei tussen de tuinkers en alfalfa met een oplopende zoutconcentratie? Het antwoord is dat we kunnen zeggen dat er een significant verschil is

te zien op de groei tussen de tuinkers en alfalfa, echter is de data niet betrouwbaar genoeg om de hypothese met zekerheid te kunnen aannemen. Hiervoor zou het onderzoek nogmaals uitgevoerd moeten worden met voldoende planten. Daarom hebben we een power test gedaan en er zouden minimaal 1194 planten gebruikt moeten worden om een effectsterkte van 80% te creëren.

Formuleer je conclusie door eerst in te zoomen op je eigen data en daarna uit te zoomen. Zoom in door je resultaten samen te vatten. Zoom uit om de waarde van je werk te beoordelen, door je bijvoorbeeld de volgende vragen te stellen:

- Kunnen mijn resultaten gebruikt worden in het werkveld?
- Wat betekenen ze voor het werkveld?
- Zijn mijn data betrouwbaar?

Besprek de resultaten zodanig dat je ze ter discussie stelt, wees kritisch. Vergelijk je resultaten met de literatuur of eerder ontwikkelde data. Geef aanbevelingen voor een vervolg en staaf je aanbevelingen door de impact op wetenschappelijk of maatschappelijk vlak te beschrijven.

Kom ten slotte altijd terug op de doelstelling (en hypothesen).

Deze sectie bevat tussen de 400-800 woorden.

5 Online bijlagen

Vaak zijn online bijlagen vele malen groter dan het eigenlijke artikel. Wees nooit bang om te veel aan bijlagen aan te bieden. Je kan hierbij denken aan

- de ruwe data
- de code voor dataverwerking
- de code voor analyse
- aanvullende figuren en tabellen

Natuurlijk is een git(hub) repo daar de beste plek voor! Zorg ervoor de je repo logisch is ingericht met goede Readme document(en). Ook de code zelf is waar nodig natuurlijk goed gedocumenteerd.

5.1 Wordcount

Voeg aan het eind een woord-telling in:

Method	koRpus	stringi
Word count	2265	2136
Character count	13467	13602
Sentence count	189	Not available
Reading time	11.3 minutes	10.7 minutes

6 Referenties

Een lijst van referenties wordt hier automagisch toegevoegd.