**Praktische opdracht, Erfelijkheid.**

**Kruisen van fruitvlieg-mutanten.**

**Algemene inleiding:**

**Doel praktische opdracht**: Je gaat een kruisingsexperiment met fruitvliegen voorbereiden en uitvoeren.

**Voorbereiding:** Uiterlijk een week nadat de oudervliegen zijn ingezet, moet er een werkplan ingeleverd zijn. Je krijgt hiervoor lestijd en begeleiding van je docent. In het werkplan (welke je ook als onderdeel van het verslag kunt gebruiken) moeten de volgende onderdelen staan:

1. **Titel:** Wat je gaat kruisen.
2. **Onderzoeksvraag:** Wat je gaat onderzoeken (gebruik hierbij ook de wetten van Mendel).
3. **Hypothese:** wat je **verwacht** dat uit de kruising komt in de F1 en in de F2. Die verwachting baseer je op **kruisingsschema’s** van de proef die uitgevoerd wordt (P-> F1-> F2). Je werkt de kruising uit met vermelding van de **verwachte feno- en genotypen**. Ook in **welke verhouding** (**apart** voor **mannetjes en vrouwtjes!!)**. Voor de gegevens raadpleeg het boek.
4. **Materiaal en methode:** de gebruikte **materialen** en een globale **tijdsplanning** (gebaseerd op ontwikkelingstijd van eieren, larven en vliegen; ca. een 14-daagse cyclus naar weer een nieuwe generatie)

Na afloop van het practicum moet een **volledig** verslag van deze opdracht worden ingeleverd. Het werkplan vul je dan aan met een **inleiding** (waarin je e.e.a. schrijft over genetica, de wetten van Mendel, fruitvliegen, hun levenscylcus, verschil tussen mannetjes en vrouwtjes en de mutaties, specifiek de mutatie die jij ingezet hebt. De **resultaten** bevatten de eigen resultaten en de resultaten van de hele klas. Verwerk dit in 1 tabel naast de verwachte resultaten uit je werkplan. Maakt duidelijk onderscheid tussen de theoretische en gevonden uitkomst. Trek een korte en duidelijke **conclusie**. En schrijf als laatse een **discussie** waarin je ook aangeeft hoe je de resultaten kunt verbeteren.

Via biologietccl.nl bij het thema erfelijkheid bij downloads vind je een uitgebreid document over deze praktische opdracht en extra informatie. Dit document te downloaden als Worddocument (https://www.biologietccl.nl/docs/4h/Th%203.%20Erfelijkheid.docx).

Je krijgt van je docent te horen om welke kruising het gaat (zie blz. 5). De gegevens hiervoor haal je uit de tekst.

**Werkwijze:**

1. Je kiest een partner met wie je samen de opdracht uitvoert. Samen leveren jullie aan het eind één verslag in.
2. Je zet de eerste les de kruising in (P1).
3. De TOA roept de verschillende vliegjes om en jij zorgt dat de juiste vliegen in de kweekbuis komen.
4. Om kennis te maken met de vliegen en de technieken houden we de tweede les een gemeenschappelijk oefenpracticum.
5. Daarna moeten we proberen de planning aan te houden, maar soms worden vliegen wat eerder geboren, zodat we een gepland practicum moeten verschuiven.

Tabel 1. Overzicht van de gebruikte vliegen voor deze praktische opdracht.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Wild | Mutatie |
| Chromosoomnr. en locus. | Uiterlijk | allel | Symbool | Uiterlijk | allel | Symbool |
| 2 (67,0) | Lange vleugel | A | + | Vleugelstompjes (vestigial) | **a** | **vg** |
| 1 (1,5) | Rode ogen | **XR**  | + | Witte ogen (white) | **Xr**  | **wh** |
| 3 (70,7) | Licht bruine lichaams- kleur | E | + | Donkere Lichaams- kleur (ebony) | **e** | **eb** |

Opm. Het genotype van een wild-type vrouwtjes vlieg (dus met lange vleugels, rode ogen en een beige lichaamskleur) zou dan in dit verband **AA XR XR EE** zijn, maar bij een dihybride kruising worden maar **twee** van de drie letters genoteerd, afhankelijk van welke kruising je uitvoert.

De andere bekijk je niet, dus hoeft ook niet genoteerd te worden.

Voorbeeld: Een wit-oog vrouwtjesvlieg met zwart lichaam wordt dan als volgt genoteerd:

**Xr Xr ee**

Tabel 2 Lijst van dihybride kruisingen die kunnen worden uitgevoerd.
Je hoort in de eerste les welke je krijgt.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Nr. | ♀ |  | ♂ |
| 1 | ebony | X | white |
| 2 | white | X | ebony |
| 3 | ebony | X | vestigial |
| 4 | vestigial | X | ebony |
| 5 | white | X | vestigial |
| 6 | vestigial | X | white |

**De levenscyclus van Drosophyla melanogaster (niet opnemen in je verslag !!).**

De hele levenscyclus {ei - larve - pop - imago} neemt ongeveer 10 dagen in beslag bij een temperatuur van 25°C, terwijl bij 20°C. hiervoor 15 dagen nodig zijn. Tijdens de ontwikkeling vindt een volledige metamorfose plaats. De onderstaande gegevens gelden bij een temperatuur van 25°C. {de temperatuur, waarbij op school de vliegen gekweekt worden}.

 **a.** **het eistadium** van 0 tot 24 uur.

 **b.** **het larve-stadium** van 24 tot 120 uur.

Tijdens de larvale periode zijn de larven zeer vraatzuchtig en doorboren de voedingsbodem met gangen. Hun donkere "kaken" zie je voortdurend bewegen (kleine, donkere streepjes). Aan het einde van het larvale stadium kruipen de larven tegen de wand van het kweekbuisje omhoog en gaan verpoppen.

Zo bereiken ze:

**e.** **het popstadium** van 120 - 216 uur.

Op het einde van dit laatste stadium wordt het "poppentonnetje" donkerder en beginnen de organen als poten, ogen enz. door te schijnen. Na ongeveer 9 dagen is de volwassen toestand bereikt en kruipt de vlieg uit haar cocon.

**d. Imago {volwassen beest}.**

Onmiddellijk na het uitkomen is de vlieg nog licht gepigmenteerd en zijn de vleugels nog opgevouwen. Als men op dit moment een vlieg verdooft met ether wordt het nog zachte chitine van de vleugels hard, waardoor plooien in de vleugels blijven bestaan: de vleugel kan zijn normale vorm niet meer verkrijgen. Dit geeft aanleiding tot verwarring, omdat er een mutant bestaat {vestigial}.die zijn vleugels niet kan opblazen (erfelijk bepaald). Ongeveer 3 tot 4 uur na het uitkomen zijn de Drosophyla’s in staat zich voort te planten. Wanneer virginale {=maagdelijke} vrouwtjes nodig zijn {b.v. voor het inzetten van een kruising} moeten deze vrouwen dus binnen 4 uur na het uitkomen uit de flesjes geïsoleerd worden, omdat ze anders reeds door de "verkeerde mannetjes" bevrucht zijn. Dit is een behoorlijke klus voor onze T.O.A., die hier vele uren insteekt! Logisch dat hij zuinig is op zijn vliegen.

**Afbeeldingen van de vliegen die wij gebruiken.**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Wild type (lange vleugels, rode ogen en beige lichaamskleur) | Vestigial (korte vleugel, rode ogen en beige lichaamskleur) | White (lange vleugels, witte ogen en beige lichaamskleur) | Ebony (lange vleugels, rode ogen en zwarte lichaamskleur) |
| Beschrijving: Beschrijving: drosophila | Beschrijving: Beschrijving: vestigial | Beschrijving: Beschrijving: white_eye1w | Beschrijving: Beschrijving: 1191432336_182_0 |

**2**

Het onderscheid tussen de mannetjes en vrouwtjes.

De seksuele verschillen bestaan uit de volgende kenmerken:

a. De laatste achterlijf-segmenten zijn bij de mannetjes geheel zwart (goed te zien als ze op hun rug liggen).

b. De mannetjes zijn kleiner, dan de vrouwtjes,

c. Van onderen gezien is het achterlijf van een vrouwtje in z'n geheel dikker.



 VROUWTJES - vlieg MANNETJES - vlieg

X

X

y

X

**4**

**3**

**2**

**1**

**4**

**2**

**3**

**1**

 Vrouwlijke 2n(dus diploïde) -cel tijdens Mannelijke 2n (dus diploïde) -cel tijdens

 de celdeling. de celdeling .

Bananenvliegjes bezitten 4 paar chromosomen in hun normale lichaamscellen

{2n = 8, n = 4 (aantal paren)}.

Met chromosomenpaar 1 worden steeds de geslachtschromosomen bedoeld. Er zijn echter geen mutanten bekend, welke op het Y-chromosoom gelokaliseerd zijn. Wanneer dus achter een bepaalde mutant chromosoom 1 vermeld is, ligt deze eigenschap wél op het X-, maar niet op het Y-chromosoom. De paren 2 t/m 4 worden ook wel de autosomen genoemd.

**IETS OVER DROSOPHYLA - mutanten:**

De normale in het wild voorkomende vliegen behoren meestal tot het "wildtype". Zulke vliegen bezitten o.a. rode ogen, bruine lichaamskleur en vleugels, die een stuk langer zijn dan het achterlijf.

Maar er zijn ook vliegjes met een erfelijke afwijking: een mutatie. Zo’n dier noemen we een “mutant”.

Ze werden ontdekt en beschreven door Thomas Hunt Morgan.

Bij het practicum kun je verschillende mutanten gebruiken; zij zijn echter niet allen even geschikt. In de onderstaande lijst zijn de mutanten vermeld die in het practicum gebruikt worden. Achter de naam is tussen haakjes aangegeven waar de mutaties op de chromosomen liggen (locus). Het eerste cijfer geeft het chromosoom aan, waarin de mutatie ligt; het tweede cijfer is een code voor de plaats op het chromosoom {**de locus**).

###### Voorbeeld: vg: vestigial {2 - 67.0} wil zeggen, dat mutatie vestigial op locus (plaats) 67 van het

 tweede chromosoom ligt.

Tabel 1. Overzicht van de gebruikte vliegen voor deze praktische opdracht.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Wild | Mutatie |
| Chromosoomnr. en locus. | Uiterlijk | allel | Symbool | Uiterlijk | allel | Symbool |
| 2 (67,0) | Lange vleugel | A | + | Vleugelstompjes (vestigial) | **a** | **vg** |
| 1 (1,5) | Rode ogen | **XR**  | + | Witte ogen (white) | **Xr**  | **wh** |
| 3 (70,7) | Licht bruine lichaams- kleur | E | + | Donkere Lichaams- kleur (ebony) | **e** | **eb** |

Opm. Het genotype van een wild-type vrouwtjes vlieg (dus met lange vleugels, rode ogen en een beige lichaamskleur) zou dan in dit verband **AA XR XR EE** zijn, maar bij een dihybride kruising worden maar **twee** van de drie letters genoteerd, afhankelijk van welke kruising je uitvoert.

De andere bekijk je niet, dus hoeft ook niet genoteerd te worden.

Voorbeeld: Een wit-ogige vrouwtjesvlieg met zwart lichaam wordt dan als volgt genoteerd:

**Xr Xr ee**

**Werkwijze praktische opdracht.**

**Benodigdheden voor het practicum:**

**Per groep:** een bakje met daarin: een loep,

 een pincet,

 penselen,

 witte kaarten,

 een trechter,

  een etheriseerder

 een her-etheriseerder (ronde petrischaal met filtreerpapier)

 een prop watten

 een fles alcohol

 wit papiertje

 kweekbuis met kant en klare voedingsbodem.

**Voor algemeen gebruik:** een broedstoof {op 25°C afgesteld},

 een oliegraf {pot gevuld met olie}.

De vliegen en de buisjes met voedingsbodem worden tijdens het practicum verstrekt.

…………………….

1e practicum: oefenen {verdoven, seksen, analyseren enz.}. Gebeurt op

…………………….

2e practicum: inzetten P1-generatie. Datum: ………………(wordt door de T.O.A. nog door gegeven).

 Tabel 2 Lijst van dihybridekruisingen die kunnen worden uitgevoerd.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Nr. | ♀ |  | ♂ |
| 1 | ebony | X | white |
| 2 | white | X | ebony |
| 3 | ebony | X | vestigial |
| 4 | vestigial | X | ebony |
| 5 | white | X | vestigial |
| 6 | vestigial | X | white |

**ZORG ERVOOR, dat je steeds de verschillende stencils bij je hebt!**

**ZORG ERVOOR, dat je tijdens het practicum weet watje doet!**

**ZORG ERVOOR, dat je tijdens het practicum netjes werkt!**

**ZORG ERVOOR, dat je altijd met z’n tweeën bent!**

**4**

**Het verdoven en behandelen van de vliegen.**

Het is nodig dat alle materiaal, dat gebruikt wordt, en het oppervlak, waarop gewerkt wordt, steeds eerst met **alcohol** wordt schoongemaakt (=steriliseren). Gebruik niet te veel alcohol, omdat anders de vliegen vastplakken aan de schone, maar wel natte voorwerpen.

Om de vliegen te kunnen bekijken en behandelen, is het nodig deze rappe dieren te **verdoven**. Dit houdt in, dat de dieren met een **beetje ether** tijdelijk bewusteloos gemaakt worden (het is niet de bedoeling ze op deze wijze te doden). *Onderscheidt Alcohol van Ether !!!!!*

Om deze verdoving goed te laten verlopen moet men op de volgende wijze te werk gaan: Zie ook figuur 1.

a. maak het witte kaartje en de penselen schoon met **alcohol** (denk eraan, alles moet droog zijn). Daarna een stukje van de tafel waar je op werkt

b. stop het witte, kleine papiertje in de nieuwe **kweekbuis.**

c. pak de **etheriseerder** , controleer of die **droog** is, haal de kurk er af en doe een paar druppels **ether** op de wattenprop in de kurk en plaats de kurk op de etheriseerder. Wacht 1 minuut.

d. haal de dop van de etheriseerder en plaats de trechter erop (zie figuur).

e. neem de buis met de te verdoven vliegen en tik deze een paar keer op het linoleumplaatje, zodat de vliegen onderin de buis komen. Haal direct daarna de wattenprop van de buis en plaats de buis met vliegen omgekeerd op de trechter. Nu kan er geen vlieg meer ontsnappen.

f. neem nu de hele combinatie in je handen (van 1 persoon) en tik een paar keer op het linoleumplaatje, zodat tenslotte alle vliegen in de etheriseerder beland zijn. Haal de vliegenbuis en trechter eraf en plaats de dop weer terug op de etheriseerder.

 Wacht 1,5 minuut. Niet te lang, want de vleugels mogen niet omhoog steken (dan zijn ze dood)!

g. de vliegen worden vervolgens op het witte kaartje uitgeschud om uit te zoeken.

 Een verdoofde vlieg beweegt soms zijn pootjes en monddelen nog. Is deze beweging niet te

 zien en steken de vleugels onder een hoek van 45° omhoog, dan mag worden aangenomen, dat

 deze vlieg dood is (plant zich dus niet voort !!). Deze vlieg wordt niet gebruikt voor verder

 kweken!!! Je moet deze vlieg wel meetellen voor het F1 -resultaat!!!

Figuur. 1

♥

 buis met vliegen

♥

♥

 .

♥

 trechter

Kweekbuis

papiertje

♥

♥

 verdover

♥

♥

 linoleumplaat

♥

1. Na verloop van tijd komen de verdoofde {dus niet de dode} vliegen weer bij. Om ze weer rustig te krijgen

 moeten ze opnieuw worden verdoofd, met de **her-etheriseerder**. Hiertoe worden enkele druppels ether

 op het filtreerpapier gebracht. Daarna wordt de her-etheriseerder over de te verdoven vliegen gezet.

 Niet te lang want ook op deze wijze kunt je de vliegen naar het Hiernamaals sturen!!! Omdat de

 vliegen niet bestand zijn tegen lichamelijk contact met de mens, mogen we ze enkel met een penseel

 aanraken. Met een schoon penseel kunnen we de vliegen makkelijk sorteren, of in de buisjes schuiven.

Bij het inbrengen van verdoofde vliegen in de nieuwe kweekbuis, **leg je deze buis horizontaal (plat)** op de tafel en schuift de vliegen erin. Laat de buis verder met rust!!! Ze komen na een paar minuten langzaam bij en worden dan opgehaald

Vliegen die niet meer gebruikt worden, worden na bekeken te zijn in het **oliegraf** gedeponeerd. Het is namelijk niet de bedoeling om in school een plaag te veroorzaken.

**Het inzetten van een kruising:**

Een kruising begint steeds met het plaatsen van bepaalde vliegen in een buisje met verse voedingsbodem. Deze buisjes zijn zo steriel mogelijk bereid, om optreden van schimmel en bacteriën te voorkomen. Bij het inbrengen van de vliegen moet deze steriliteit bewaard blijven: dus de wattenprop zo kort mogelijk van de fles en deze wattenprop even niet op de grond gooien!!

In het algemeen wordt ernaar gestreefd per buisje 5 vrouwtjes en 5 mannetjes in te zetten. Bij het inzetten van de P1 zijn de vrouwtjes virginaal (onbevrucht). Het is de verdienste van de t.o.a. dat er voldoende van deze virginale vrouwtjes zijn. Het is daarom volkomen logisch, dat hij èn de docent ontstellend kwaad worden, als er iets met die vrouwtjes gebeurt, wat niet was afgesproken!!!!

Ongeveer 1 week na het inzetten van een kruising verwijder je (of de TOA) de ouder-vliegen (voordat ze zich aan hun jongen vergrijpen).

± 1 week later kun je de jongen (F1) gaan uitzoeken.

N.b. voor het doorkruisen van een nieuw ouderpaar uit de F1, gebruik je 5 (vitale) mannetjes en 5

 5 (vitale) vrouwtjes.

Aangezien ze verdoofd in de nieuwe kweekbuis komen, moet je ervoor zorgen dat ze niet gelijk vastplakken aan de voedingsbodem (zie blz. 6 onderaan).

Op iedere buis komt een etiket met daarop de volgende gegevens:

Initialen NAAM groepsleden b.v. Jan G en Karin S.

NAAM klas of cluster b.v.: 4V.3.

Ingezette generatie b.v. P1.

Ingezette kruising b.v. wh x e (vrouwtjes X mannetjes).

DATUM inzet b.v. 15-01-2018.

**Het etiket ziet er dan als volgt uit:**

initialen **P.V** **P.H.**  **4V.3**  groep.

 **P1**  ingezette

 generatie.

 ingezette

**06-02-17**

 kruising**. wh x e** **10-11-’04** datum

WERK NETJES , WERK SNEL, WEET WAT JE DOET!

NOTEER ALLES DUIDELIJK !

LAAT ANDEREN MET RUST !

Tips voor de verslaglegging

1. Zie voor algemene opzet van je verslag de website (natuurwetenschappelijke methode)
2. Licht in je inleiding toe wat het *doel* is van je onderzoek en waarom je met dit proefdier werkt.
3. Licht in het begin van de hypothese toe wat een opgeschreven genotype te maken heeft met genen op chromosomen. Licht het bijzondere toe van een gen op het X-chromosoom. Gebruik hiervoor de informatie op blz. 4 van dit stencil. In de hypothese verwerk je je theoretische verwachting (uit je werkplan).
4. In de hypothese verwerk je je theoretische verwachting (uit je werkplan).
5. Maak duidelijk onderscheid tussen de theoretische uitkomst en de gevonden resultaten. Onderscheid de telresultaten van jezelf en die van de gehele groep.
6. Verwerk de resultaten in één tabel, waarin (naast de verwachte verhouding) ook de gevonden verhouding staat. Weer: van jezelf en van de gehele groep. Een staafdiagram met *verwacht* en *gevonden* is zeer illustratief!
7. Licht toe hoe je je berekeningen gemaakt hebt.
8. Trek een korte en duidelijke conclusie. Neem niet opnieuw tabellen op. Ga in ieder geval in op de gevonden verschillen van jezelf en van de gehele groep.

**Resultaten F1.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kruising nummer: | Eigen resultaat | Klassikaal resultaat |
|  | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ |
| Fenotype: |  |  |  |  |
| Aantal: |  |  |  |  |

**Resultaten F2:**

|  |  |
| --- | --- |
| Kruising | Eigen resultaat |
|  | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ |
| Fenotype |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Aantal |  |  |  |  |  |  |  |  |

|  |  |
| --- | --- |
| Kruising | Klassikaal resultaat |
|  | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ | ♀ | ♂ |
| Fenotype | Wild | Wild |  |  |  |  |  |  |
| Aantal |  |  |  |  |  |  |  |  |

**Het maken van een verslag volgens de natuurwetenschappelijke methode, zoals gebruikelijk bij biologie.**

**1. Titelblad** (met een titel die de lading dekt, dus niet “profielwerkstuk 5 Havo”)

**2. Inleiding** (een korte omschrijving van je onderzoek)

Hierin maak je de lezer duidelijk waarin je geïnteresseerd bent. Daarnaast zeg je iets over het organisme (plant, dier of mens) waaraan je het onderzoek uitvoert. Meer informatie bij 2c.

2a. Verder formuleer je hier je ***Onderzoeksvraag****.* Hierin formuleer je kort en krachtig wat je gaat onderzoeken. Een vraagstelling dient altijd te eindigen met een vraagteken. Denk erom: een lezer weet nog van niets, dus geen details opnemen in de vraagstelling, die een lezer nog niets zeggen!!

2b. Ook vermeld je de **hypothese** van je onderzoek. Hierin beschrijf je wat je denkt dat de conclusie van je onderzoek zal zijn. Deze wordt in principe niet verder toegelicht. Pas aan het einde van je onderzoek concludeer je of je hypothese goed of fout was. Ook voor de hypothese geldt dat je geen details opneemt die de lezer niet kent!!

2c. **Theorie.**

Hierin staat informatie over de planten- en/of dier soort en wat er over jouw onderzoek zoal bekend is.

**3. Materiaal & Methode:**

Deze wordt ook wel uitvoering genoemd. De materiaal en methode bestaat eigenlijk uit twee onderdelen.

5a.De **benodigdheden**; dus alles wat je tijdens het onderzoek aan materialen en stoffen hebt gebruikt.

5b. De **werkwijze**;

waarin je precies beschrijft hoe je het onderzoek gaat uitvoeren, al dan niet met een toelichting. Ook kun je hier schema’s en of tekeningen opnemen van je proefopstelling. Het moet zo duidelijk zijn dat iemand anders het experiment aan de hand van deze werkwijze opnieuw kan uitvoeren.
Het kan zijn dat je een ***blanco-proef*** gaat inzetten: een proef met de plant of het dier (of de mens), die ***niet*** te maken krijgt met de factor die je wilt onderzoeken. Ze dient als ***vergelijkingsmateriaal*** of als ***controle***.

**4. Resultaten:**

Hier vermeldt je nu alleen wat je voor gegevens hebt gevonden en niet wat daaruit af te leiden valt. De resultaten bevatten vaak tabellen en grafieken. Het is de bedoeling dat deze ***wel*** worden toegelicht. Het is dus van belang dat een grafiek of tabel duidelijke bijschriften heeft. Denk bij een grafiek ook aan duidelijke bijschriften bij de assen.

**5. Conclusie:**

Hier vermeld je wat volgens de resultaten het antwoord is op de vraagstelling. Vervolgens trek je hieruit je conclusies en vergelijk je deze met de opgestelde hypothese en concludeert of die goed of fout was.

**6. Discussie:**

Hier geef je een toelichting over je gevonden resultaten en conclusies. Hier kun je ook allerlei andere opmerkingen over het onderzoek kwijt. Je kunt hier vermelden wat er tijdens het onderzoek mis is gegaan of eventueel anders had gemoeten. Dus schrijf hier geen onzinnige, niet ter zake doende opmerkingen neer!

**7. Literatuur:**

Hierin vermeld je al je gebruikte bronnen. Dit doe je als volgt:

Achternaam schrijver,voorletters, *naam boek of artikel,* uitgever, jaartal, druk.

Bij meerdere schrijvers alleen de eerste vermelden en achter de voorletters e.a. vermelden.

**Bijv:** Jansen, P.J. e.a., *Het wonderbare leven*, Wolters Noordhoff, 1995, 4e druk

Websites vermeld je met het adres (volledige URL) en indien bekend: maker, titel en wanneer je de website bezocht hebt.**Bijv:** http://biology.arizona.edu/D.Brown, Biology Site, okt 1997