**OBSAH**

## Charakteristika a význam analýzy kategoriálnych údajov

Analýza kategoriálnych údajov sa zaoberá kategoriálnymi premennými bez ohľadu na to, či sú vysvetľujúce premenné kategoriálne alebo spojité. Na analýzu kategorických údajov existuje množstvo štatistických metód. Ak chceme vybrať vhodnú metódu, musíte určiť rozsah merania pre hodnotenú premennú. Rozsah merania takýchto premenných je dôležitým faktorom pri rozhodovaní sa o vhodnej štatistickej metóde, ktorú chcete použiť. Po výbere vhodnej mierky merania môžeme charakterizovať vzťah medzi kategoriálnymi premennými pomocou grafov a pomocou jednoduchých frekvenčných tabuliek.

Pri kategoriálnych premenných možno jednotlivé javy zatriediť do kategórií, tried, skupín, úrovní, typov, stavov.

Kategoriálne premenné môžu byť nominálne a ordinálne. Nominálne premenné majú hodnoty bez logického usporiadania. Ordinálne premenné majú hodnoty s logickým poradím, ale vyjadrenie relatívnej vzdialenosti medzi takýmito hodnotami sa určuje dosť problematicky.

Najjednoduchšia kategoriálna premenná má len dva stavy (dve úrovne) a nazývame ju dichotómna premenná. Príkladom je označenie pohlavia (muž, žena), možná odpoveď na otázku (áno, nie), alebo farba (biela, čierna).

Ak máme dve nominálne premenné, je vhodné použitie Pearsonovej Chí-kvadrát štatistiky. Sila asociácie sa dá merať Cramerovým V. Pearsonova Chí-kvadrát štatistika vyžaduje dostatočne veľkú veľkosť vzorky. Ak máme ale malú veľkosť vzorky, mali by sme skôr použiť presnejší Fisherov F- test.

Ak máme dve ordinálne premenné, na správne zistenie asociácie by sme mali použiť Mantel-Haenszelovu chí-kvadrát štatistiku. Silu asociácie možno v tomto prípade merať Spearmanovou korelačnou štatistikou.

Chí-kvadrát testy všeobecne slúžia na skúmanie asociácie medzi kategorickými premennými. Úrovne jednotlivých kategórií môžu byť dve alebo viac.

Najčastejšie riešime uvedené úlohy:

- Sú rozdielne dva (alebo viaceré) podiely v jednej kategorickej premennej od predpokladaných hodnôt v rámci populácie ?
- Existuje asociácia alebo závislosť medzi dvoma kategorickými premennými ?
- Líšia sa dva (alebo viaceré) podiely medzi sebou ?
- Existuje rozdiel v pravdepodobnosti udalosti medzi dvoma skupinami ?

V genetických experimentoch, pri ktorých zisťujeme početnosť rôznych tried, štiepne pomery, frekvencie genotypov, je následne potrebné vyhodnotiť, či tieto údaje zodpovedajú teoreticky očakávaným hodnotám. Na overenie experimentálne zistených a teoreticky očakávaných údajov sa používa χ2 test (Chí - kvadrát test). Pri tomto štatistickom teste overujeme pravdivosť nulovej hypotézy, čo je predpoklad, že neexistuje rozdiel medzi očakávanými a teoretickými výsledkami. Na základe výsledkov χ2 testu nulovú hypotézu buď prijímame (rozdiely medzi experimentálnymi a očakávanými hodnotami vznikli len vplyvom náhody) alebo zamietame (rozdiely sú štatisticky významné).

Počítaná hodnota $\chi^2$ je sumou podielov štvorcov diferencií medzi experimentálnou (e) a teoretickou hodnotou (t):

$$\chi 2 = \sum_{i=1}^{n} \frac{(e-t)^2}{t}$$

n = celkový počet fenotypových tried,
e = experimentálna (pozorovaná) frekvencia i-tej triedy,
t = teoretická (očakávaná) frekvencia i-tej triedy

Často používaná forma rovnakého vzorca pre výpočet $\chi^2$ je nasledovná:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

O = pozorovaná (Observed) frekvencia danej triedy,
E = teoretická (Expected) frekvencia i-tej triedy

Pomocou Tabuľky kritických hodnôt χ2 rozdelenia (Tab. 7) na základe vypočítanej χ2 hodnoty zistíme, či je odchýlka náhodná, alebo nenáhodná. Hladina významnosti predstavuje najnižšiu kritickú hranicu pravdepodobnosti, s akou zamietame nulovú hypotézu. To znamená, že ak vypočítaná χ2 -hodnota je rovná alebo vyššia ako kritická χ2 - hodnota v tabuľke, nulovú hypotézu zamietame, ak je nižšia, nulovú hypotézu prijímame. P je pravdepodobnosť, že odchýlka pozorovaných hodnôt od očakávaných vznikla v dôsledku náhody a nie je štatisticky významná. χ2 test využívame napr. na overenie štiepnych pomerov pri mendelistickom type dedičnosti, pri génových interakciách, overovaní nezávislej kombinácie génov, alebo v populačnej genetike pre potvrdenie rovnováhy sledovanej populácie.

Pri výpočte Chí-kvadrátu testu je potrebné urobiť kontrolu očakávaných početností E pre jednotlivé bunky zostavenej tabuľky. Test nie je preukazný, ak očakávané frekvencie v niektorých poliach sú menšie alebo rovné hodnote 5. Pri tabuľkách 2x2 by nemala existovať ani jedna bunka s hodnotou očakávanej frekvencie menšou, alebo rovnou hodnote 5. Pri väčších kontingenčných tabuľkách by počet takýchto buniek nemal prekročiť 20 %.

Z dôvodu presnejšieho výpočtu je možné použiť tzv. Yatessovu korekciu. Chí-kvadrátu test je s použitím tejto korekcie potom presnejší. Yatesova korekciu ponúkajú štandardne viaceré štatistické programy, ale dá sa použiť aj pri manuálnom výpočte.

Vzorec výpočtu Chí-kvadrátu testu s Yatesova korekciou 0,5:

$\chi^2 = \sum \frac{(O-E-0,5)^2}{E}$ ak (O-E) pre danú bunku je kladná hodnota, alebo

$\chi^2 = \sum \frac{(E-O-0,5)^2}{E}$ ak hodnota (O-E) pre danú bunku je záporné číslo.

Všetky hodnoty Chí-kvadrát testov pre príslušné bunky spočítame.

**Zostavovanie frekvenčných tabuliek**

Frekvencia je počet výskytov danej hodnoty. Napríklad, ak 24 zvierat má v lineárnom hodnotení exteriéru 5 bodov za telesnú stavbu, potom skóre 5 má frekvenciu 24. Frekvencia je počet výskytov hodnôt v množine údajov. Kumulatívna frekvencia sa používa na určenie počtu pozorovaní, ktoré ležia pod konkrétnou hodnotou v súbore údajov. Kumulatívna frekvencia sa vypočíta spočítaním každej frekvencie z frekvenčnej tabuľky k súčtu jej predchádzajúcich hodnôt. Posledná hodnota sa vždy bude rovnať súčtu všetkých údajov. Relatívna frekvencia je frekvencia vydelená počtom všetkých hodnôt. Relatívne frekvencie možno písať ako zlomky, percentá alebo desatinné miesta. Kumulatívna relatívna frekvencia je akumulácia predchádzajúcich relatívnych frekvencií. Posledná hodnota sa vždy bude rovnať 100 resp.1.

**Vzorové údaje 4.1** (zdroj: Databáza projektu KEGA)

Vzorové údaje 4.1 tvorí 2778 záznamov lineárneho hodnotenia exteriéru kráv holštajnského plemena uskutočneného v období máj 2021 - november 2021.

Súbor údajov **Datanew.dbf** obsahuje nasledovné premenné: štruktúra súboru**.**

**Príklad 4.1** (SAS, Describe - One-Way Frequencies)

Uskutočnite frekvenčnú analýzu bodového hodnotenia telesnej kráv hoštajnského plemena a zistite jej frekvencie výskytu. Pomocou Chí-kvadrát testu overte, či jednotlivé frekvencie výskytu

bodových hodnotení sú rovnaké a tiež ich porovnajte s celopopulačnými frekvenciami v Slovenskej republike.

### Výsledky

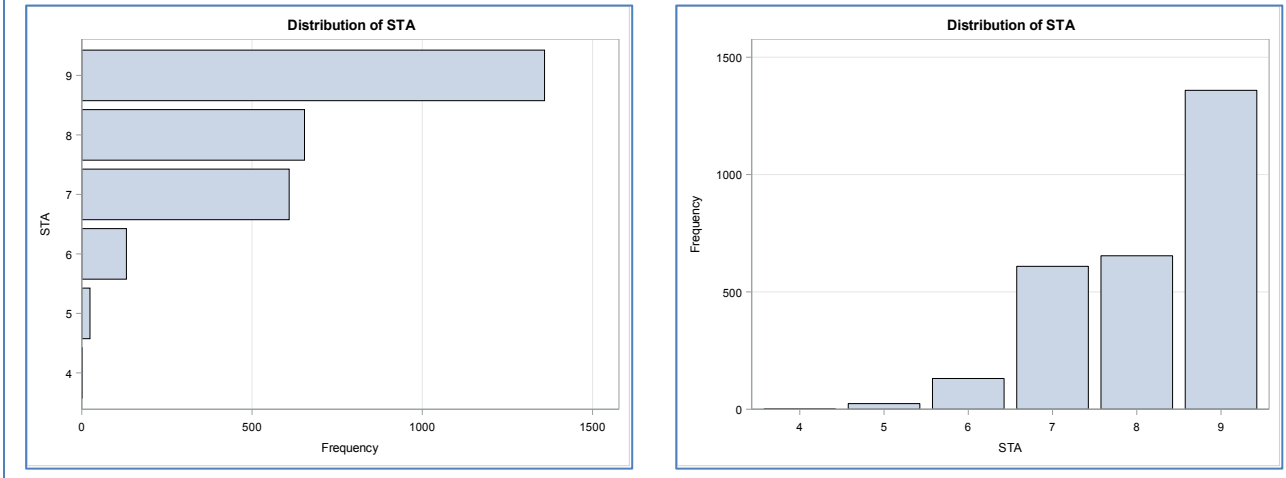
V tabuľke 4.1 uvádzame výsledky frekvenčnej analýzy lineárneho hodnotenia exteriéru kráv holštajnského plemena. Triediacim znakom je bodové hodnotenie telesnej stavby zvierat. Celkový počet hodnotených zvierat je 2778.

Tab. 4.1 Frekvenčná tabuľka - Telesná stavba

| Telesná stavba | Frekvencia | Relatívna frekvencia | Kumulatívna frekvencia | Kumulatívna relatívna frekvencia |
|---|---|---|---|---|
| 4 | 1 | 0.04 | 1 | 0.04 |
| 5 | 24 | 0.86 | 25 | 0.90 |
| 6 | 131 | 4.72 | 156 | 5.62 |
| 7 | 609 | 21.92 | 765 | 27.54 |
| 8 | 654 | 23.54 | 1419 | 51.08 |
| 9 | 1359 | 48.92 | 2778 | 100.00 |

Frekvenčné tabuľky je vhodné doplniť grafickými znázorneniami výskytu (distribúciou) jednotlivých frekvencií.

Tab. 4.2 Početnosti zvierat podľa hodnotenia telesnej stavby




Základným testom posúdenia rovnosti jednotlivých frekvencií je Chí-kvadrát test, ktorý v prípade jednoduchej frekvenčnej analýzy testuje rovnaké pomery v rámci jednotlivých frekvencií výskytu hodnoteného znaku.

Tab. 4.3 Výsledky Chí-kvadrát testu

| Chi-Square Test for Equal Proportions | |
|---|---|
| **Chi-Square** | 2974.0864 |
| **DF** | 5 |
| **Pr > ChiSq** | <.0001 |

Na základe uvedenej analýzy sa nepotvrdila stanovená nulová hypotéza o rovnosti jednotlivých frekvencií, čo je ale z hľadiska biologického správne, pretože inak by to znamenalo, že v skupine hodnotených zvierat by bola rovnosť čo nie je žiadúce (existovala by minimálna variabilita hodnoteného kvalitatívneho znaku).

Chí-kvadrát test môže byť použitý aj na testovanie nami zistených frekvencií oproti populačným frekvenciám, alebo priemerným frekvenciám rovnakého znaku v inej skupine pozorovaní. Uvádzame príklad použitia Chí-kvadrát testu pri známych celopopulačných frekvenciách hodnoteného znaku. V tabuľke 4.3 uvádzame populačné frekvencie telesnej stavby kráv holštajnskej populácie v Slovenskej republike (Candrák, Lichanec, 2021).

Tab. 4.4 Populačná frekvenčná tabuľka - Telesná stavba

| Telesná stavba | Frekvencia | Relatívna frekvencia | Kumulatívna frekvencia | Kumulatívna relatívna frekvencia |
|---|---|---|---|---|
| **4** | 8005 | 6.17 | 8005 | 6.17 |
| **5** | 14323 | 11.04 | 22328 | 17.21 |
| **6** | 27273 | 21.02 | 49601 | 38.22 |
| **7** | 37490 | 28.89 | 87091 | 67.11 |
| **8** | 22679 | 17.48 | 109770 | 84.59 |
| **9** | 19995 | 15.41 | 129765 | 100.00 |

Príklad nastavenia parametrov, procedúry FREQ a Chí-kvadrát testu v programe SAS (použitie populačných frekvencií kráv holštajnského plemena v Slovenskej republike):

```
PROC FREQ DATA=sasuser.data;
      TABLES STA / CHISQ testp=(6.17 11.04 21.02 28.89 17.48 15.41);
RUN;
```

Tab. 4.5 Výsledky Chí-kvadrát testu (populačné frekvencie)

| Chi-Square Test for Specified Proportions | |
|---|---|
| **Chi-Square** | 2910.7168 |
| **DF** | 5 |
| **Pr > ChiSq** | <.0001 |

Výsledok Chí-kvadrát testu potvrdil, že relatívne frekvencie telesnej stavby hodnotenej skupiny zvierat sú štatisticky rozdielne oproti populačným frekvenciám. Nulovú hypotézu o rovnosti frekvencií musíme preto zamietnuť.

**Vzorové údaje 4.2** (zdroj: Databáza údajov projektu KEGA)

Súbor údajov **MLIEKO.xlsx** obsahuje nasledovné premenné:

| | |
|---|---|
| **CISLO** | číslo zvieraťa |
| **PL** | poradie laktácie |
| **OTEC** | línia-register otca zvieraťa |
| **PLEM** | plemenný typ |
| **KODV** | kód vyradenia zvieraťa |
| **ROK** | rok otelenia |
| **LDNI** | laktačné dni |
| **MLIEKO** | produkcia mlieka (kg) |
| **TUK** | produkcia tuku (kg) |
| **TUKP** | obsah tuku (%) |
| **BIELK** | produkcia bielkovín (kg) |
| **BIELKP** | obsah bielkovín (%) |
| **LAKT** | produkcia laktózy (kg) |
| **LAKTP** | obsah laktózy (%) |

Vzor súboru údajov (10 záznamov)

| CISLO | PL | OTEC | PLEM | KODV | ROK | LDNI | MLIEKO | TUK | TUKP | BIELK | BIELKP | LAKT | LAKTP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 000003950 | 02 | KF081 | S0 | 54 | 2000 | 305 | 4393 | 152 | 3.46 | 140 | 3.19 | 210 | 4.78 |
| 000005026 | 02 | TB001 | S2 | 00 | 2003 | 305 | 4000 | 119 | 2.98 | 126 | 3.15 | 194 | 4.85 |
| 000005856 | 02 | HX032 | S0 | 54 | 2000 | 305 | 4972 | 239 | 4.81 | 160 | 3.22 | 222 | 4.47 |
| 000005866 | 03 | DSO001 | S0 | 00 | 2003 | 305 | 4454 | 232 | 5.21 | 154 | 3.46 | 210 | 4.71 |
| 000008866 | 02 | RBB001 | S0 | 00 | 2003 | 305 | 4793 | 199 | 4.15 | 154 | 3.21 | 226 | 4.72 |
| 000009950 | 03 | KF081 | SC | 54 | 2003 | 305 | 4147 | 161 | 3.88 | 138 | 3.33 | 194 | 4.68 |
| 000013950 | 02 | NEZ000 | S2 | 54 | 2000 | 269 | 4368 | 137 | 3.14 | 139 | 3.18 | 213 | 4.88 |
| 000016950 | 03 | STA002 | SC | 00 | 2001 | 305 | 4408 | 139 | 3.15 | 135 | 3.06 | 201 | 4.56 |
| 000027866 | 01 | RBB001 | S2 | 00 | 2002 | 305 | 4445 | 218 | 4.90 | 132 | 2.97 | 212 | 4.77 |

**Príklad 4.2** (program SAS, Describe – Table Analysis)

Uskutočnite frekvenčnú a asociačnú analýzu skupiny 147 kráv slovenského strakatého plemena. Pomocou Chí-kvadrát testu overte, či skutočné frekvencie výskytu zvierat v rámci skupín plemenného typu a poradia laktácie sa rovnajú očakávaným frekvenciám.

**Výsledky** (program SAS)

Na základe frekvenčnej analýzy sme zistili nasledovné počty zvierat podľa plemenného typu a podľa poradia laktácie.

Tab. 4.6 Frekvenčná tabuľka – plemenný typ

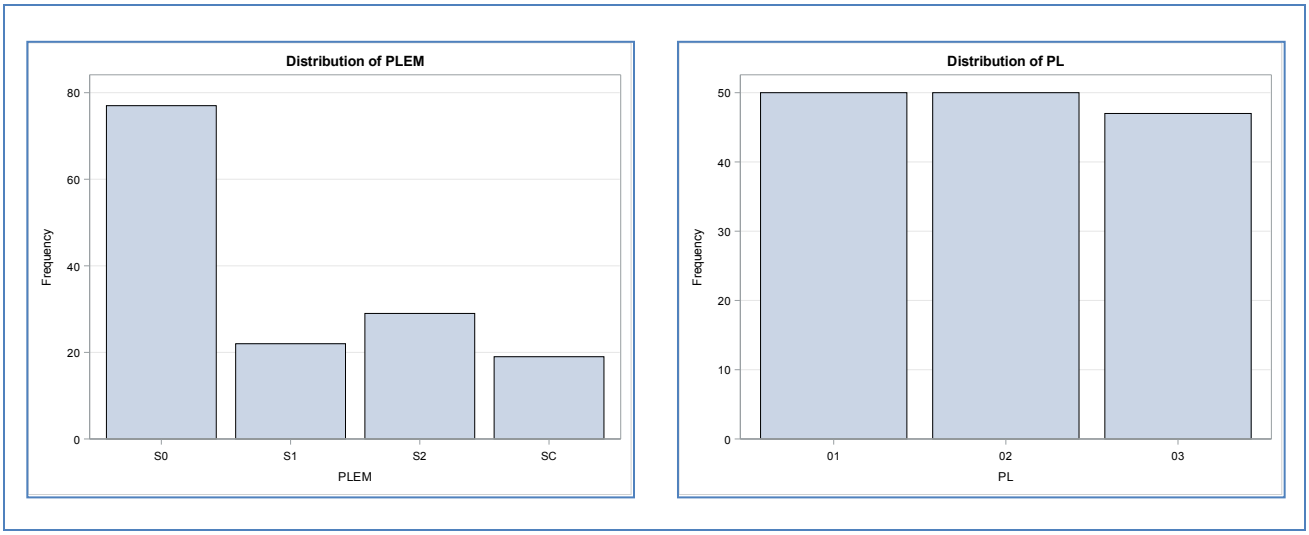
| PLEM | Frequency | Percent | Cumulative Frequency | Cumulative Percent |
|---|---|---|---|---|
| S0 | 77 | 52.38 | 77 | 52.38 |
| S1 | 22 | 14.97 | 99 | 67.35 |
| S2 | 29 | 19.73 | 128 | 87.07 |
| SC | 19 | 12.93 | 147 | 100.00 |

Tab. 4.7 Frekvenčná tabuľka – poradie laktácie

| PL | Frequency | Percent | Cumulative Frequency | Cumulative Percent |
|---|---|---|---|---|
| 01 | 50 | 34.01 | 50 | 34.01 |
| 02 | 50 | 34.01 | 100 | 68.03 |
| 03 | 47 | 31.97 | 147 | 100.00 |

Grafické vyjadrenie počtov kráv slovenského strakatého plemena uvádzame v stĺpcových grafoch (tabuľka 4.8).

Tab. 4.8 Počet kráv podľa plemenného typu a poradia laktácie



Tab. 4.9 Pozorované a očakávané frekvencie skupín zvierat

| Table of PL by PLEM | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| PL | PLEM | | | | |
| Frequency<br>Expected | S0 | S1 | S2 | SC | Total |
| 01 | 28<br>26.19 | 8<br>7.483 | 7<br>9.8639 | 7<br>6.4626 | 50 |
| 02 | 26<br>26.19 | 8<br>7.483 | 9<br>9.8639 | 7<br>6.4626 | 50 |
| 03 | 23<br>24.619 | 6<br>7.034 | 13<br>9.2721 | 5<br>6.0748 | 47 |
| Total | 77 | 22 | 29 | 19 | 147 |

Tab. 4.10 Výsledky Chí-kvadrát testu

| Statistic | DF | Value | Prob |
|---|---|---|---|
| Chi-Square | 6 | 3.1419 | 0.7908 |
| Likelihood Ratio Chi-Square | 6 | 3.0867 | 0.7979 |
| Mantel-Haenszel Chi-Square | 1 | 0.3836 | 0.5357 |
| Phi Coefficient | | 0.1462 | |
| Contingency Coefficient | | 0.1447 | |
| Cramer's V | | 0.1034 | |

Tab. 4.11 Výsledky F- testu

| Fisher's Exact Test | |
|---|---|
| Table Probability (P) | <.0001 |
| Pr <= P | 0.8081 |

Výsledky jednotlivých testov potvrdili platnosť nulovej hypotézy, že skutočne zistené a očakávané frekvencie kráv slovenského strakatého plemena podľa plemenného typu a poradia laktácie sú v zhode (sú približne rovnaké). Neexistuje štatistická preukaznosť rozdielneho počtu zvierat v rámci jednotlivých kategórií.

### Manuálny výpočet

**Príklad 4.3** (Overovanie štiepnych pomerov)

Krížením krátkosrstých morčiat s dlhosrstými sme v $F_1$ generácii získali všetky morčatá krátkosrsté ($F_1$ generácia je uniformná) a v $F_2$ generácii 49 krátkosrstých a 14 dlhosrstých (celkový počet jedincov N = 63).

**Výsledky**

Predpokladajme, že krátkosrstosť je podmienená dominantnou vlohou *S* a dlhosrstosť recesívnou vlohou v homozygotnom stave (*ss*). Na základe tohto predpokladu očakávame v $F_2$ generácii fenotypový štiepny pomer 3 : 1 (3/4 krátkosrstých a 1/4 dlhosrstých). Pomocou $\chi^2$ testu overíme, do akej miery sa nami získaný štiepny pomer zhoduje s teoretickým. Teoretické zastúpenie jednotlivých fenotypových kategórií vypočítam nasledovne:

$$\text{Krátkosrstí} = \left(\frac{\text{N}}{4}\right) * 3 = \left(\frac{63}{4}\right) * 3 = 47{,}25$$

$$\text{Dlhosrstí} = \left(\frac{\text{N}}{4}\right) * 1 = \left(\frac{63}{4}\right) * 1 = 15{,}75$$

Tab. 4.12 Výpočet $\chi^2$ hodnoty pre overenie štiepnych pomerov

| **Trieda** | **Ideálny štiepny pomer** | **Fenotyp** | **e** | **t** | ***(e – t)²*** | ***(e – t)²/t*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3 | S_ | 49 | 47,25 | 3,0625 | 0,0648 |
| 2 | 1 | ss | 14 | 15,75 | 3,0625 | 0,1944 |
| n = 2 | 4 | | 63 | 63 | | $\sum x^2 = 0{,}2592$ |

Vypočítanú hodnotu $\chi^2$ porovnáme s tabuľkovou hodnotou (Tab. 4.13), ktorú nájdeme na priesečníku riadku so stupňami voľnosti (df) a stĺpca s pravdepodobnosťou (p). Stupne voľnosti predstavujú počet kategórií zmenšený o číslo 1 (df = n - 1, pri dvoch fenotypových triedach stupeň voľnosti 1). Štandardne prípustná hladina významnosti je p = 0,05, resp. p = 0,01.

V našom prípade je hodnota $\chi^2$ testu (0,2592) nižšia ako kritická hodnota (3,851) v tabuľke na hladine významnosti p = 0,05, preto nulovú hypotézu prijímame a konštatujeme, že pozorovaný štiepny pomer zodpovedá očakávanému štiepnemu pomeru s pravdepodobnosťou platnosti na úrovni 95 %.

Tab. 4.13 Kritická hodnota pre stupne voľnosti (df) =1 a pravdepodobnosť (p) = 0,05

| Stupne voľnosti | Pravdepodobnosť (p) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| df | 0,95 | 0,90 | 0,10 | 0,05 | 0,01 |
| 1 | 0,004 | 0,016 | 2,705 | **3,851** | 6,635 |
| 2 | 0,103 | 0,211 | 4,605 | 5,991 | 9,210 |
| 3 | 0,352 | 0,584 | 6,251 | 7,815 | 11,345 |

**Príklad 4.4** (Overenie genetickej rovnováhy populácie)

Vypočítajte frekvencie alel, keď v populácii ľudí malo 450 krvnú skupinu MM, 325 MN a 225 NN. Zistite, či je populácia v genetickej rovnováhe.

**Výsledky**

Populáciu považujeme za rovnovážnu, ak sa frekvencie alel a genotypov nemenia medzi generáciami. Tento stav je možné dosiahnuť v prípade, ak na populáciu nepôsobia faktory prostredia, ktoré by rovnováhu mohli narušiť. Vzťah pre výpočet rovnováhy je nasledovný:

$$\frac{\mathrm{H}}{(\mathrm{D} * \mathrm{R})^2} = 2$$

kde H je pozorovaný počet (resp. frekvencia) heterozygotov, D je pozorovaný počet (resp. frekvencia) dominantných homozygotov a R je pozorovaný počet (resp. frekvencia) recesívnych homozygotov. Ak sa výsledok rovná číslu 2, populácia je v rovnováhe. Tvrdenie, že populácia je, resp. nie je v rovnováhe môžeme overiť $\chi^2$ testom, ktorým hodnotíme významnosť rozdielov medzi experimentálnymi a teoretickými počtami jedincov s konkrétnym genotypom.

V riešenom príklade sa jedná o kodominantný typ dedičnosti, môžeme preto genotyp MM považovať za dominantný (D), genotyp MN za heterozygotný (H) a genotyp NN za recesívny (R). Dosadením hodnôt do vzorca pre výpočet rovnováhy zistíme, či je populácia v rovnováhe:

$$\frac{325}{(450 * 225)^2} = 1{,}02 \neq 2$$

V našom prípade sa výsledok rovnice nerovná číslu 2, nepovažujeme preto populáciu za rovnovážnu. Následne toto tvrdenie overíme pomocou $\chi^2$ testu. Pre výpočet $\chi^2$ hodnoty musíme najprv zistiť očakávané frekvencie, resp. početnosť jednotlivých genotypových kategórií. Vychádzame z frekvencií alel, ktoré môžeme vypočítať dvomi spôsobmi:

1. na základe absolútnych genotypových frekvencií:

$$\mathrm{p_A} = \frac{2\mathrm{D} + \mathrm{H}}{2\mathrm{N}} = \frac{2 * 450 + 325}{2 * 1000} = 0{,}6 - \text{frekvencia dominantnej alely}$$

$$\mathrm{q_a} = \frac{2\mathrm{R} + \mathrm{H}}{2\mathrm{N}} = \frac{2 * 225 + 325}{2 * 1000} = 0{,}4 - \text{frekvencia recesívnej alely}$$

2. alebo na základe relatívnych genotypových frekvencií

$$\mathrm{d} = \frac{450}{1000} = 0{,}45$$

$$\mathrm{h} = \frac{325}{1000} = 0{,}325$$

$$\mathrm{r} = \frac{225}{1000} = 0{,}225$$

$$\mathrm{p_A} = \mathrm{d} + \frac{1}{2}\mathrm{h} = 0{,}45 + 0{,}16 = 0{,}6$$

$$\mathrm{q_a} = \mathrm{r} + \frac{1}{2}\mathrm{h} = 0{,}225 + 0{,}16 = 0{,}4$$

Dosadením frekvencií alel do Hardy-Weinbergovej rovnovážnej rovnice zistíme očakávané frekvencie genotypov:

$$(p_A + q_a)^2 = {p_{AA}}^2 + 2pq_{Aa} + {q_{aa}}^2$$

$$(0{,}6 + 0{,}4)^2 = 0{,}36 + 0{,}48 + 0{,}16$$

kde $p^2_{AA}$ je frekvencia dominantných homozygotov, $2pq_{Aa}$ je frekvencia heterozygotov a $q^2_{aa}$ je frekvencia recesívnych homozygotov. Absolútne očakávané počty jedincov v jednotlivých genotypových kategóriách získame nasledovným výpočtom:

$$D = 0{,}36 * 1000 = 360$$

$$H = 0{,}48 * 1000 = 480$$

$$R = 0{,}16 * 1000 = 160$$

Experimentálne a teoretické hodnoty porovnáme $\chi^2$ testom vyššie uvedeným spôsobom.

Tab.4.14 Výpočet $\chi^2$ hodnoty pre overenie genetickej rovnováhy

| **Trieda** | **Fenotyp** | **e** | **t** | ***(e – t)²*** | ***(e – t)²/t*** |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | M | 450 | 360 | 8100 | 22,5 |
| 2 | MN | 325 | 480 | 24025 | 50,05 |
| 3 | N | 225 | 160 | 4225 | 26,4 |
| n = 3 | | 1000 | 1000 | | $\sum x^2 = 98{,}95$ |

Vypočítaná hodnota $\chi^2$ (Tab. 4.14) je pri dvoch stupňoch voľnosti vyššia než kritická hodnota v tabuľke kritických hodnôt na hladine významnosti 0,05 (Tab. 4.15), preto nulovú hypotézu zamietame a môžeme konštatovať, že rozdiely medzi pozorovanými a očakávanými hodnotami sú štatisticky významné a populácia nie je v rovnováhe.

Tab.4.15 Kritická hodnota pre stupne voľnosti (df) = 2 a pravdepodobnosť p = 0,05

| Stupne voľnosti (df) | Pravdepodobnosť (p) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,95 | 0,90 | 0,10 | 0,05 | 0,01 |
| 1 | 0,004 | 0,016 | 2,705 | 3,851 | 6,635 |
| 2 | 0,103 | 0,211 | 4,605 | **5,991** | 9,210 |
| 3 | 0,352 | 0,584 | 6,251 | 7,815 | 11,345 |

**Príklad 4.5** (Väzba génov)

Škvrnité sfarbenie králikov je recesívne oproti normálnemu (vloha D), dlhá srsť je recesívna oproti krátkej (vloha L). Po krížení normálne sfarbených krátkosrstých samíc so škvrnitým dlhosrstým samcom sme v B1 generácii získali 90 normálne sfarbených jedincov s krátkou srsťou, 20 škvrnitých s krátkou srsťou, 110 škvrnitých s dlhou srsťou a 10 normálne sfarbených s dlhou srsťou. Pomocou $\chi^2$- testu overte, či sú gény vo väzbe a o akú väzbovú fázu sa jedná.

P: ♀DL/dl x ♂dl/dl, Fenotyp: normálna, krátkosrstá x škvrnitý, dlhosrstý

**Výsledky**

Tab. 4.16 Praktické výsledky kríženia

| | **Fenotypová kategória** | **Fenotyp jedincov** | **Počet jedincov** | **Genotyp gamét heterozygotneho rodiča** |
|---|---|---|---|---|
| Parentálny genotyp | 1 | Normálne, krátka srsť | 90 | DL |
| | 2 | Škvrnité, dlhá srsť | 110 | dl |
| Rekombinovaný genotyp | 3 | Normálne, dlhá srsť | 10 | Dl |
| | 4 | Škvrnité, krátka srsť | 20 | dL |

Ak by sme uvažovali o klasickej mendelistickej dedičnosti týchto znakov, očakávali by sme na základe nezávislej kombinácie génov, že všetky typy rodičovských gamét budú vznikať s rovnakou pravdepodobnosťou. Na základe spätného testovacieho kríženia overíme, či sú gény podmieňujúce sledované znaky vo väzbe alebo nie a tiež to, v akej väzbovej fáze sa nachádzajú. Keďže sila väzby génov je daná frekvenciou crossing-overov, ktoré nastanú medzi sledovanými génmi, zaujíma nás, či je pomer parentálnych a rekombinovaných gamét 1:1, alebo je zmenený v dôsledku väzby génov. V našom prípade sme v B1 generácii pozorovali 230 jedincov, preto očakávaný počet rodičovských aj rekombinovaných genotypov pri uvedenom štiepnom pomere je 115. Významnosť rozdielov medzi pozorovaným a očakávaným pomerom overíme $\chi^2$ testom.

Tab. 4.17 Výpočet $\chi^2$ hodnoty pre voľnú kombinovateľnosť génov

| **Trieda** | **Ideálny štiepny pomer** | **Fenotyp** | **e** | | **t** | **$(e-t)^2$** | **$(e-t)^2/t$** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | DL | 90 | 200 | 115 | 7225 | 62,8 |
| | | dl | 110 | | | | |
| 2 | 1 | Dl | 10 | 30 | 115 | 7225 | 62,8 |
| | | dL | 20 | | | | |
| n = 2 | 2 | | 230 | | | | $\sum x^2 = 125{,}6$ |

Vypočítaná $\chi^2$ hodnota 125,6 (Tab. 4.17) je vyššia než kritická tabuľková hodnota v priesečníku stupňov voľnosti (df) = 1 a pravdepodobnosť (p) = 0,05, resp. p = 0,01 (Tab. 4.18), preto zamietame nulovú hypotézu a konštatujeme, že rozdiely medzi experimentálnymi a očakávanými hodnotami sú štatisticky signifikantné. Odchýlka od očakávaných hodnôt je spôsobená väzbou génov, ktoré ležia na jednom chromozóme a nedochádza k nezávislej kombinácii alel a nevzniká rovnaký počet rodičovských a rekombinovaných gamét. Rodičia mali gény D a L vo väzbovej fáze CIS, čo vieme určiť na základe počtu jedincov v jednotlivých fenotypových kategóriách (vznikali prevažne jedince s kombináciou DL a dl).

Tab. 4.18 Kritická hodnota pre stupne voľnosti df = 1 a pravdepodobnosť (p) = 0,05 a p = 0,01

| Stupne voľnosti (df) | Pravdepodobnosť (p) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,95 | 0,90 | 0,10 | 0,05 | 0,01 |
| 1 | 0,004 | 0,016 | 2,705 | **3,851** | **6,635** |
| 2 | 0,103 | 0,211 | 4,605 | 5,991 | 9,210 |
| 3 | 0,352 | 0,584 | 6,251 | 7,815 | 11,345 |

**Praktické použitie programu R** (R Studio)

**Príklad 4.1** (program R)

Uskutočnite frekvenčnú analýzu bodového hodnotenia telesnej kráv hoštajnského plemena a zistite jej frekvencie výskytu. Pomocou Chí-kvadrát testu overte, či jednotlivé frekvencie výskytu bodových hodnotení sú rovnaké a tiež ich porovnajte s celopopulačnými frekvenciami v Slovenskej republike.

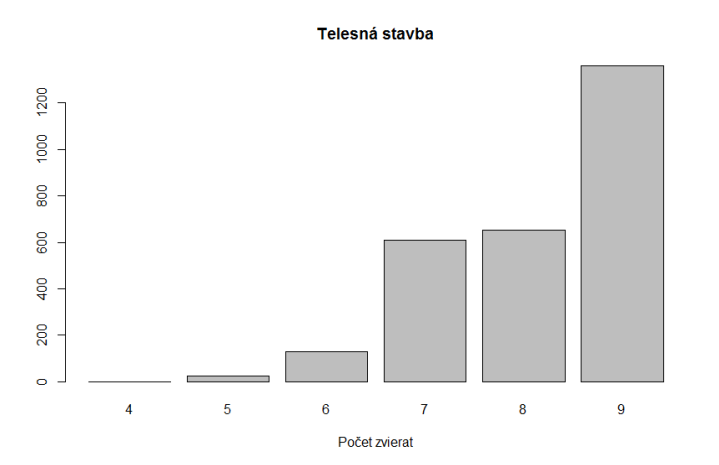
**Zadanie analýzy**

```
# Import a zobrazenie údajov
file_path <- "http://e-biostat.uniag.sk/wp-content/uploads/2022/01/datanew.txt"
Datanew <- read.delim(file_path)
View(Datanew)
# Frekvenčná analýza (Telesná stavba)
counts1 <- table(Datanew$STA)
View(counts1)
barplot(counts1, main="Telesná stavba",
  xlab="Počet zvierat")
# 2-Way Frequency Table
attach(Datanew)
mytable <- table(Datanew$STA)
mytable # print table
margin.table(mytable, 1)
prop.table(mytable) # cell percentages
# Chí-kvadrát test
chisq.test(mytable)
# 2-Way Cross Tabulation
library(gmodels)
CrossTable (Datanew$STA)
```

**Výsledky analýzy** (program R)

**Telesná stavba**

| | Var1 | Freq |
|---|---|---|
| 1 | 4 | 1 |
| 2 | 5 | 24 |
| 3 | 6 | 131 |
| 4 | 7 | 609 |
| 5 | 8 | 654 |
| 6 | 9 | 1359 |




**Pearson'sChi-squared test**

**X-squared = 2974.1, df = 5, p-value < 2.2e-16**

```
   Cell Contents
|-------------------------|
|                       N |
|         N / Table Total |
|-------------------------|


Total Observations in Table:  2778


          |         4 |         5 |         6 |         7 |         8 |
          |-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
          |         1 |        24 |       131 |       609 |       654 |
          |     0.000 |     0.009 |     0.047 |     0.219 |     0.235 |
          |-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|


          |         9 |
          |-----------|
          |      1359 |
          |     0.489 |
          |-----------|
```

**Príklad 4.2** (program R)

Uskutočnite frekvenčnú a asociačnú analýzu skupiny 147 kráv slovenského strakatého plemena. Pomocou Chí-kvadrát testu overte, či skutočné frekvencie výskytu zvierat v rámci skupín plemenného typu a poradia laktácie sa rovnajú očakávaným frekvenciám.

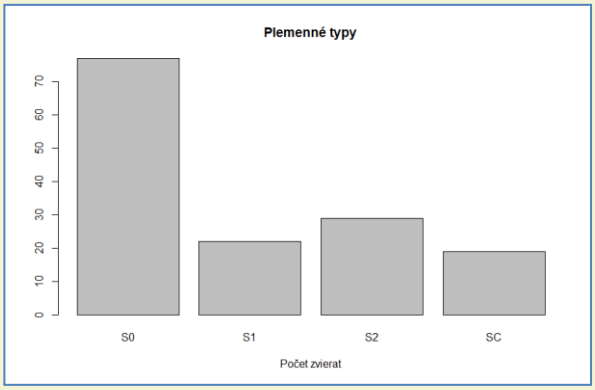
**Zadanie analýzy**

```
# Import a zobrazenie údajov
file_path <- "http://e-biostat.uniag.sk/wp-content/uploads/2022/01/Mlieko.txt"
Mlieko_R <- read.delim(file_path)
View(Mlieko_R)
# Frekvenčná analýza (jeden znak, Plemenné typy)
counts1 <- table(Mlieko_R$PLEM)
View(counts1)
barplot(counts1, main="Plemenné typy",
  xlab="Počet zvierat")
# Frekvenčná analýza (jeden znak, Poradie laktácie)
counts2 <- table(Mlieko_R$PL)
View(counts2)
barplot(counts2, main="Poradie laktácie",
  xlab="Počet zvierat")
# Frekvenčná analýza (kontingenčná tabuľka, 2 znaky)
attach(Mlieko_R)
mytable <- table(Mlieko_R$PL,Mlieko_R$PLEM)
mytable # print table
margin.table(mytable, 2)
margin.table(mytable, 2)
prop.table(mytable) # cell percentages
prop.table(mytable, 1) # row percentages
prop.table(mytable, 2) # column percentages
# Chí-kvadrát test
chisq.test(mytable)
# Kontingenčná tabuľka (2 znaky)
library(gmodels)
CrossTable (Mlieko_R$PLEM,Mlieko_R$PL)
```

**Výsledky analýzy** (program R)

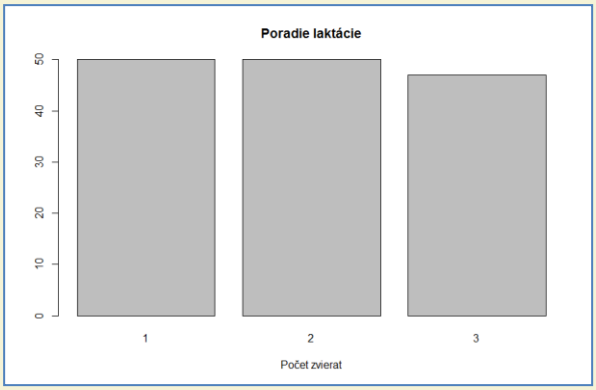
**Plemenné typy**

| | Var1 | Freq |
|---|---|---|
| 1 | S0 | 77 |
| 2 | S1 | 22 |
| 3 | S2 | 29 |
| 4 | SC | 19 |




**Poradie laktácie**

| | Var1 | Freq |
|---|---|---|
| 1 | 1 | 50 |
| 2 | 2 | 50 |
| 3 | 3 | 47 |



**Pearson's Chi-squared test**

**X-squared = 3.1419, df = 6, p-value = 0.7908**

```
   Cell Contents
|-------------------------|
|                       N |
| Chi-square contribution |
|           N / Row Total |
|           N / Col Total |
|         N / Table Total |
|-------------------------|


Total Observations in Table:  147


                | Mlieko_R$PL
Mlieko_R$PLEM |         1 |         2 |         3 | Row Total |
--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
           S0 |        28 |        26 |        23 |        77 |
              |     0.125 |     0.001 |     0.106 |           |
              |     0.364 |     0.338 |     0.299 |     0.524 |
              |     0.560 |     0.520 |     0.489 |           |
              |     0.190 |     0.177 |     0.156 |           |
--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
           S1 |         8 |         8 |         6 |        22 |
              |     0.036 |     0.036 |     0.152 |           |
              |     0.364 |     0.364 |     0.273 |     0.150 |
              |     0.160 |     0.160 |     0.128 |           |
              |     0.054 |     0.054 |     0.041 |           |
--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
           S2 |         7 |         9 |        13 |        29 |
              |     0.832 |     0.076 |     1.499 |           |
              |     0.241 |     0.310 |     0.448 |     0.197 |
              |     0.140 |     0.180 |     0.277 |           |
              |     0.048 |     0.061 |     0.088 |           |
--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
           SC |         7 |         7 |         5 |        19 |
              |     0.045 |     0.045 |     0.190 |           |
              |     0.368 |     0.368 |     0.263 |     0.129 |
              |     0.140 |     0.140 |     0.106 |           |
              |     0.048 |     0.048 |     0.034 |           |
--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
 Column Total |        50 |        50 |        47 |       147 |
              |     0.340 |     0.340 |     0.320 |           |
--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
```

**Príklad 4.4** (Overenie genetickej rovnováhy populácie)

Vypočítajte frekvencie alel, keď v populácii ľudí malo 450 krvnú skupinu MM, 325 MN a 225 NN. Zistite, či je populácia v genetickej rovnováhe.

### Zadanie analýzy

**# Import a zobrazenie údajov**

Pre analýzy tohto typu nemusíme nevyhnutne importovať do programu R údaje. Pokiaľ máme uvedené početnosti jednotlivých analyzovaných frekvencií môžeme ich priamo zadať do jednotlivých príkazov súvisiacich s Hardy - Weinbergovou rovnováhou ( v prípade individuálnych záznamov, ale samozrejme musíme uskutočniť ich import do systému).

**# Hardy-Weinberova rovnováha**

# Použijeme špeciálnu knižnicu programu R - install.packages("HardyWeinberg")
library("HardyWeinberg")

**# Zadanie jednotlivých frekvencií** (frekvencie sa uložia do poľa x)

**x <- c(MM = 450, MN = 325, NN = 225)**

```
# Chi-square test with continuity correction for Hardy-Weinberg equilibrium (autosomal)
HW.test <- HWChisq(x, verbose = TRUE)
HW.test <- HWChisq(x,cc=0,verbose=TRUE)

# Likelihood ratio test for Hardy-Weinberg equilibrium
HW.lrtest <- HWLratio(x, verbose = TRUE)

# Haldane Exact test for Hardy-Weinberg equilibrium (autosomal) using SELOME p-value
HW.exacttest <- HWExact(x, verbose = TRUE)

# Komplexné testy
HW.results <- HWAlltests(x, verbose = TRUE, include.permutation.test = TRUE)

# Výpočet sily testu
n <- sum(x)
nM <- mac(x)
pw4 <- HWPower(n, nM, alpha = 0.05, test = "exact", theta = 4,
pvaluetype = "selome")
print(pw4)
```

**Výsledky analýzy** (program R)

```
Chi-square test with continuity correction for Hardy-Weinberg equilibrium (autosomal)
Chi2 =  98.42829 DF =  1 p-value =  3.370103e-23 D =  -74.84375 f =  0.315339

Chi-square test for Hardy-Weinberg equilibrium (autosomal)
Chi2 =  99.43871 DF =  1 p-value =  2.02329e-23 D =  -74.84375 f =  0.315339

Likelihood ratio test for Hardy-Weinberg equilibrium
G2 = 99.46479 DF = 1 p-value = 1.99682e-23

Haldane Exact test for Hardy-Weinberg equilibrium (autosomal) using SELOME p-value
sample counts: nMM =  450 nMN =  325 nNN =  225
H0: HWE (D==0), H1: D <> 0
D =  -74.84375 p-value =  0.00000000000000000000002099746

Sumár komplexných testov
```

| | Statistic | p-value |
|---|---|---|
| Chi-square test: | 99.43871 | 2.023290e-23 |
| Chi-square test with continuity correction: | 98.42829 | 3.370103e-23 |
| Likelihood-ratio test: | 99.46479 | 1.996820e-23 |
| Exact test with selome p-value: | NA | 2.099746e-23 |
| Exact test with dost p-value: | NA | 3.247368e-23 |
| Exact test with mid p-value: | NA | 1.496239e-23 |
| Permutation test: | 99.43871 | 0.000000e+00 |

**Výpočet sily testu**

Sila testu (Test Power) = 0.04591022

**Tab. 4.19 Kritické hodnoty $\chi^2$ – rozdelenia**

| Stupne voľnosti | Pravdepodobnosť (p) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| (df) | 0,95 | 0,90 | 0,10 | **0,05** | **0,01** |
| 1 | 0,004 | 0,016 | 2,705 | 3,851 | 6,635 |
| 2 | 0,103 | 0,211 | 4,605 | 5,991 | 9,210 |
| 3 | 0,352 | 0,584 | 6,251 | 7,815 | 11,345 |
| 4 | 0,711 | 1,064 | 7,779 | 9,488 | 13,277 |
| 5 | 1,145 | 1,610 | 9,236 | 11,071 | 15,086 |
| 6 | 1,635 | 2,204 | 10,645 | 12,592 | 16,812 |
| 7 | 2,167 | 2,833 | 12,017 | 14,067 | 18,475 |
| 8 | 2,733 | 3,490 | 13,362 | 15,507 | 20,090 |
| 9 | 3,325 | 4,168 | 14,684 | 16,819 | 21,666 |
| 10 | 3,940 | 4,865 | 15,987 | 18,307 | 23,209 |
| 11 | 4,575 | 5,578 | 17,275 | 19,675 | 24,725 |
| 12 | 5,226 | 6,304 | 18,549 | 21,026 | 26,217 |
| 13 | 5,892 | 7,042 | 19,812 | 22,362 | 27,688 |
| 14 | 6,571 | 7,790 | 21,064 | 23,685 | 29,141 |
| 15 | 7,261 | 8,547 | 22,307 | 24,996 | 30,578 |
| 20 | 10,851 | 12,443 | 28,412 | 31,410 | 37,566 |
| 25 | 14,611 | 16,473 | 34,382 | 37,652 | 44,314 |
| 30 | 18,493 | 20,599 | 40,256 | 43,773 | 50,892 |
| 35 | 22,465 | 24,797 | 46,059 | 49,802 | 57,342 |
| 40 | 26,509 | 29,051 | 51,805 | 55,758 | 63,691 |
| 45 | 30,612 | 33,350 | 57,505 | 61,656 | 69,957 |
| 50 | 34,764 | 37,689 | 63,137 | 67,505 | 76,154 |
| 60 | 43,188 | 46,459 | 74,397 | 79,082 | 88,379 |
| 70 | 51,739 | 55,329 | 85,527 | 90,531 | 100,425 |
| 80 | 60,391 | 64,278 | 96,578 | 101,879 | 112,329 |
| 100 | 77,929 | 82,358 | 118,498 | 124,342 | 135,807 |
| 140 | 113,659 | 119,029 | 161,827 | 168,613 | 181,840 |
| 500 | 449,147 | 459,926 | 1057,724 | 1074,679 | 1106,969 |