

วิชาหลักพันธุศาสตร์

แบบฝึกทักษะ

การทดสอบอัตราส่วนทางพันธุศาสตร์โดยใช้ Chi-Square

เมื่อเราต้องการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมอย่างหนึ่งของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง โดยเราต้องการทราบว่า gene ที่ควบคุมลักษณะนั้นมีการแสดงออกในแบบใด เราอาจตั้งสมมุติฐานตามทฤษฎีทางพันธุศาสตร์ทฤษฎีใดทฤษฎีหนึ่งที่เราเห็นว่าน่าจะเป็นไปได้ว่าจะเข้ากับกรณีที่เรากำลังศึกษาอยู่ เช่นเราสนใจศึกษาลักษณะสีของใบข้าว ซึ่งข้าวโดยทั่วไปจะมีใบสีเขียว แต่บางพันธุ์มีใบสีม่วง และเรามีสมมุติฐานว่าพันธุกรรมของสีในใบข้าวนี้มี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor ซึ่งหากผสมระหว่างพันธุ์ใบสีเขียวกับพันธุ์ใบสีม่วง จะได้ลูกผสมชั่วรุ่นที่หนึ่งแสดงลักษณะใบสีเขียวทุกต้น และเมื่อให้ลูกผสมชั่วรุ่นที่หนึ่งผสมตัวเอง จะได้ลูกชั่วรุ่นที่สองมีการกระจายตัวของลักษณะออกมาเป็นพวกที่มีใบสีเขียว 13 ส่วน กับพวกที่มีใบสีม่วง 3 ส่วน

เราจึงทำการทดลองผสมพันธุ์ ได้ลูกผสมชั่วรุ่นที่ 1 ทุกต้นมีใบสีเขียว จากนั้นให้ลูกผสมชั่วรุ่นที่ 1 นั้นผสมตัวเอง ได้ลูกชั่วรุ่นที่ 2 เป็นพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว 198 ต้น และพวกที่มีลักษณะใบสีม่วง 42 ต้น รวม 240 ต้น

ในทางทฤษฎี ถ้าลักษณะสีของใบข้าวมี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor ก็ควรจะให้อัตราส่วนของลูกชั่วรุ่นที่สองออกมาเป็นพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว : พวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = 13 : 3

นั่นคือในจำนวนลูกชั่วรุ่นที่ 2 ทั้งหมด 240 ต้นนั้น

$$\text{ควรจะเป็นพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว } \frac{13}{(13+3)} \times 240 = \frac{13}{16} \times 240 = 195 \text{ ต้น}$$

$$\text{และเป็นพวกที่มีลักษณะใบสีม่วง } \frac{3}{(13+3)} \times 240 = \frac{3}{16} \times 240 = 45 \text{ ต้น}$$

$$\text{จึงจะเป็นอัตราส่วน } 195 : 45 = \frac{195}{15} : \frac{45}{15} = 13 : 3$$

แต่เนื่องจากโอกาสที่ลูกชั่วรุ่นที่สองแต่ละต้นจะเกิดจากการผสมของเซลล์สืบพันธุ์แบบใดก็ได้จากฝ่ายเกสรตัวผู้และฝ่ายเกสรตัวเมีย จึงอาจเกิดเป็นลูกที่มีใบสีม่วงหรือเป็นลูกที่มีใบสีเขียวก็ได้ ซึ่งอาจทำให้จำนวนลูกที่มีลักษณะใบสีเขียวอาจไม่ใช่ 195 ต้น และจำนวนลูกที่มีลักษณะใบสีม่วงอาจไม่ใช่ 45 ต้น

แต่ในทางสถิติ ถ้าสมมุติฐานที่เราตั้งไว้เป็นจริง โอกาสที่จะได้ลูกที่มีลักษณะใบสีเขียวใกล้เคียง 195 ต้น และจำนวนลูกที่มีลักษณะใบสีม่วงใกล้เคียง 45 ต้น นั้นมีมาก

จึงต้องใช้วิธีการทางสถิติที่เรียกว่า Chi-Square Test ซึ่งเป็นวิธีการทางสถิติที่สามารถที่ใช้ทดสอบความสอดคล้องกลมกลืนกัน (goodness of fit) มาทดสอบว่าผลการทดลองที่ได้มานั้นได้ลูกที่มีลักษณะใบสีเขียวใกล้เคียง 195 ต้น และจำนวนลูกที่มีลักษณะใบสีม่วงใกล้เคียง 45 ต้น หรือไม่ ถ้าใกล้เคียงก็ถือว่าผลการทดลองสอดคล้องตามทฤษฎีที่ว่าลักษณะสีของใบข้าวมี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor ซึ่งจะให้อัตราส่วนของลูกชั่วรุ่นที่สองออกมาเป็นพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว : พวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = 13 : 3

ซึ่งถ้าสมมุติฐานที่เราตั้งไว้เป็นจริง โอกาสที่ผลการทดลองจะได้ลูกที่มีลักษณะใบสีเขียวใกล้เคียง 195 ต้น และจำนวนลูกที่มีลักษณะใบสีม่วงใกล้เคียง 45 ต้น จะมีโอกาสสูง ซึ่งในทางสถิติจะมีมาตรฐานตั้งไว้ว่าโอกาสเท่าไรจึงจะถือว่าสูงพอที่จะยอมรับว่าสมมุติฐานที่ตั้งไว้นั้นเป็นจริง

การทดสอบโดยใช้ Chi-Square Test

- นำอัตราส่วนที่ในทางทฤษฎีตามสมมุติฐานที่เราตั้งไว้นั้น มาคำนวณหาค่าที่ควรจะเป็น (Expected value) ในที่นี้คือจำนวนของลูกแต่ละแบบที่ควรจะได้จากการผสม ซึ่งคำนวณได้โดยวิธีเทียบบัญญัติไตรยางค์

จากอัตราส่วนที่กำหนดให้ หาจำนวนส่วนรวมทั้งหมด ดังนี้

ในทางทฤษฎีพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว : พวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = 13 : 3

นั่นคือพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว = 13 ส่วน

พวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = 3 ส่วน

รวมทั้งหมด = 13 + 3 = 16 ส่วน

จากจำนวนต้นทั้งหมดที่ทำการทดลอง 240 ต้น

ใช้วิธีเทียบบัญญัติไตรยางค์ คำนวณหาจำนวนต้นที่ควรจะเป็นพวกที่มีใบสีเขียว ดังนี้
ตามอัตราส่วนที่กำหนดนั้น จำนวนรวม 16 ต้น ควรจะมีพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว = 13 ต้น

ดังนั้นถ้าจำนวนรวม 1 ต้น ควรจะมีพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว = $\frac{13}{16}$ ต้น

ดังนั้นถ้าจำนวนรวม 240 ต้น ควรจะมีพวกที่มีลักษณะใบสีเขียว = $\frac{13 \times 240}{16} = 195$ ต้น

จากจำนวนต้นทั้งหมดที่ทำการทดลอง 240 ต้น

ใช้วิธีเทียบบัญญัติไตรยางค์ คำนวณหาจำนวนต้นที่ควรจะเป็นพวกที่มีใบสีม่วง ดังนี้
ตามอัตราส่วนที่กำหนดนั้น จำนวนรวม 16 ต้น ควรจะมีพวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = 3 ต้น

ดังนั้นถ้าจำนวนรวม 1 ต้น ควรจะมีพวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = $\frac{3}{16}$ ต้น

ดังนั้นถ้าจำนวนรวม 240 ต้น ควรจะมีพวกที่มีลักษณะใบสีม่วง = $\frac{3 \times 240}{16} = 45$ ต้น

รวมจำนวนต้นทั้งหมด (เขียว + ม่วง) = 195 + 45 = 240 ต้น

Phenotype	Observed value ค่าที่ได้มาจริง จากการสำรวจ	Expected value ค่าที่คาดว่า ควรจะได้
ใบสีเขียว	198	195
ใบสีม่วง	42	45
รวม	240	240

2. หาค่าแตกต่างหรือค่าที่เบี่ยงเบนไปจากกันระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ กับค่าที่คาดว่าควรจะได้ ในแต่ละแบบของลูกที่ได้จากการผสม

ลูกที่มีลักษณะใบสีเขียว ค่าแตกต่าง = ค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ - ค่าที่คาดว่าควรจะได้
= 198 - 195 = 3

ลูกที่มีลักษณะใบสีม่วง ค่าแตกต่าง = ค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ - ค่าที่คาดว่าควรจะได้
= 42 - 45 = - 3

Phenotype	Observed value ค่าที่ได้มาจริง จากการสำรวจ	Expected value ค่าที่คาดว่า ควรจะได้	Deviation D = O-E
ใบสีเขียว	198	195	3
ใบสีม่วง	42	45	- 3
รวม	240	240	0

3. นำค่าแตกต่างหรือค่าพายเบนนั้นมายกกำลังสอง เพื่อทำให้เป็นค่าบวก อันจะทำให้ไม่เกิดการหักล้างกัน เมื่อนำค่าความแตกต่างมารวมกันในกระบวนการขั้นตอนต่อไป

Phenotype	Observed value ค่าที่ได้มาจริง จากการสำรวจ	Expected value ค่าที่คาดว่าจะ ควรจะได้	Deviation D = O-E	D ²
ใบสีเขียว	198	195	3	9
ใบสีม่วง	42	45	- 3	9
รวม	240	240	0	

4. ถ่วงน้ำหนักให้เป็นค่าที่เฉลี่ยต่อหนึ่งหน่วยของค่าที่คาดว่าจะควรจะได้

โดยการหารด้วยค่าที่คาดว่าจะควรจะได้ (Expected value)

ลูกที่มีลักษณะใบสีเขียว ค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้ว = 9/195 = 0.046153846

ลูกที่มีลักษณะใบสีม่วง ค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้ว = 9/45 = 0.2

5. หาผลรวมของรวมค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้วของทุก ๆ แบบของลูกที่ได้จากการผสม
ผลรวม = 0.046153846 + 0.2 = 0.246153846

Phenotype	Observed value ค่าที่ได้มาจริง จากการสำรวจ	Expected value ค่าที่คาดว่าจะ ควรจะได้	Deviation D = O-E	D ²	D ² /E
ใบสีเขียว	198	195	3	9	0.046153846
ใบสีม่วง	42	45	- 3	9	0.2
รวม	240	240	0	-	0.246153846

6. ผลรวมนี้เรียกว่าค่า Chi-Square ซึ่งขั้นตอนการคำนวณนำมาเขียนเป็นสูตรตามรูปแบบทางสถิติได้ว่า

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

ซึ่งจากที่กล่าวมาในแต่ละขั้นตอนนั้น ก็สรุปได้ว่า Chi-Square เป็นผลรวมของความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าจะควรจะได้ ซึ่งเป็นผลรวมในทางปริมาณไม่คิดทิศทางที่จะเกิดการหักล้างกัน และเป็นค่าที่ถ่วงน้ำหนักเพื่อให้เป็นค่าที่สัมพันธ์กับค่าที่คาดว่าจะควรจะได้ ซึ่งจะทำให้สามารถนำไปเทียบกับมาตรฐานที่วางไว้ได้

ถ้าผลรวมของความแตกต่างนี้มีมากเกินกว่าที่เกณฑ์มาตรฐานกำหนดไว้ เราก็จะถือว่าสมมติฐานที่ตั้งไว้นั้นไม่เป็นจริง ซึ่งโอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ที่ได้ลูกแต่ละลักษณะมีจำนวนตามที่สำรวจมาได้นี้ มีโอกาสน้อย แต่ถ้าผลรวมของความแตกต่างนี้มีน้อยกว่าที่เกณฑ์มาตรฐานกำหนดไว้ เราก็จะถือว่าสมมติฐานที่ตั้งไว้นั้นเป็นจริง ซึ่งโอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ที่ได้ลูกแต่ละลักษณะมีจำนวนตามที่สำรวจมาได้นี้ มีโอกาสมากพอสมควร

สรุปหลักการก็คือ

ถ้าสิ่งที่เราศึกษาเป็นไปตามทฤษฎีที่เราตั้งไว้จริง ความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าจะควรจะได้มีน้อย ซึ่งเหตุการณ์ที่ความแตกต่างน้อยนี้จะมีโอกาสเกิดขึ้นได้มาก

แต่ถ้าสิ่งที่เราศึกษาไม่เป็นไปตามทฤษฎีที่เราตั้งไว้ ความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าจะควรจะได้มีมาก

ความแตกต่างที่มากอาจจะมีโอกาสเกิดขึ้นได้เหมือนกันกับกรณีที่สิ่งที่เราศึกษาเป็นไปตามทฤษฎีที่เราตั้งไว้จริง เพราะตามทีกล่าวแต่ต้นแล้วว่าการผสมของเซลล์สืบพันธุ์อาจเป็นแบบใดก็ได้ แต่ความแตกต่างที่มากนั้นจะมีโอกาสเกิดขึ้นได้น้อย ซึ่งตามมาตรฐานทางสถิติถ้าเกิดขึ้นก็ไม่น่าเชื่อได้ว่าสิ่งที่เราศึกษาเป็นไปตามทฤษฎีที่เราตั้งไว้

7. ดังนั้น ขั้นตอนต่อไปจึงนำค่า Chi-Square ที่คำนวณได้ไปเทียบค่าในตาราง Chi-Square Distribution ที่ได้ทำไว้เป็นมาตรฐานแล้ว ว่าค่า Chi-Square นั้น เกิดจากความน่าจะเป็นหรือโอกาสเท่าไร และความน่าจะเป็นหรือโอกาสนั้นตกอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้หรือไม่ได้ว่ามันจะเกิดขึ้น

การเทียบค่านั้น ต้องขึ้นอยู่กับจำนวนเหตุการณ์ที่เป็นอิสระในการเกิดมีค่าขึ้นมา ซึ่งเรียกว่าองศาของความเป็นอิสระ (degree of freedom) ซึ่งหมายถึงจำนวนเหตุการณ์ที่มีอิสระในการเกิดมีค่าขึ้นมาว่าจะมีเป็นจำนวนเท่าไร แล้วในที่สุดเหตุการณ์สุดท้ายจะไม่มีอิสระในการเกิดมีค่า จะต้องมีค่าเท่ากับจำนวนรวมทั้งหมด ลบด้วยค่าที่เกิดไปแล้วของเหตุการณ์ก่อนหน้า

ดังนั้นจำนวนเหตุการณ์ที่เป็นอิสระ หรือองศาของความเป็นอิสระ = จำนวนเหตุการณ์ทั้งหมด - 1

ซึ่งตามตัวอย่างของเราจำนวนเหตุการณ์ก็คือเหตุการณ์ของการเกิดลูกแต่ละชนิด

ลูกมี 2 ชนิด คือชนิดใบสีเขียว และ ชนิดใบสีม่วง

จึงทำให้องศาของความเป็นอิสระมีค่าเท่ากับ จำนวนชนิดของลูก - 1

$$= 2 - 1$$

$$= 1$$

นั่นก็คือ เมื่อเราใช้จำนวนลูกชั่วรุ่นที่สอง 240 ต้น เมื่อเหตุการณ์ที่มีการเกิดลูกที่มีลักษณะใบสีเขียวเกิดขึ้น 198 ต้น แล้ว เหตุการณ์ที่มีการเกิดลูกที่มีลักษณะใบสีม่วงก็ไม่มีอิสระที่จะเป็นอื่นไปได้นอกจากเป็น 42 ต้น เพราะฉะนั้น เหตุการณ์ที่เป็นอิสระที่จะเกิดมีจำนวนต้นเป็นเท่าไร ก็คือเหตุการณ์ที่มีการเกิดลูกที่มีลักษณะใบสีเขียว เพียง 1 เหตุการณ์ (ทั้งนี้ยอมรับขึ้นอยู่กับว่าเรานับพวกไหนก่อน)

ถ้าเป็นกรณีตัวอย่างอื่น เช่นมี 3 เหตุการณ์ คือ หนุตะเกาขสนสีดำ 92 ตัว ขนสีน้ำตาล 27 ตัว และขนสีขาว 41 ตัว รวม 160 ตัว จะเห็นว่าพวกสีดำมีอิสระที่จะนับได้ 92 ตัว จากนั้น พวกสีน้ำตาลก็มีอิสระที่จะนับได้ 27 ตัว และสุดท้ายพวกสีขาวก็ต้องเป็น 41 ตัว เป็นอื่นไม่ได้ ดังนั้น องศาของความเป็นอิสระ = จำนวนเหตุการณ์ทั้งหมด - 1 = 3 - 1 = 2 นั่นคือสองพวกแรกที่เป็นอิสระในการเกิดเป็นจำนวนเท่าไรขึ้นมา ส่วนพวกที่สามต้องเกิดขึ้นในจำนวนที่เป็นอื่นไม่ได้ เพราะจำนวนเต็มบังคับอยู่

ย้อนกลับไปทีค่า Chi-Square ของเรา ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.246153846 นั้น เนื่องจากเรามีชนิดของลูก 2 แบบ degree of freedom = 2 - 1 = 1 เราจึงต้องนำไปเทียบค่าในตาราง Chi-Square Distribution ในบรรทัดที่ตรงกับ degree of freedom = 1

Chi-Square Distribution

Degree of freedom	Probability										
	0.95	0.90	0.80	0.70	0.50	0.30	0.20	0.10	0.05	0.01	0.001
1	0.004	0.02	0.06	0.15	0.46	1.07	1.64	2.71	3.84	6.64	10.83
2	0.10	0.21	0.45	0.71	1.39	2.41	3.22	4.60	5.99	9.21	13.82
3	0.35	0.58	1.01	1.42	2.37	3.66	4.64	6.25	7.82	11.34	16.27
4	0.71	1.06	1.65	2.20	3.36	4.88	5.99	7.78	9.49	13.28	18.47
5	1.14	1.61	2.34	3.00	4.35	6.06	7.29	9.24	11.07	15.09	20.52
6	1.63	2.20	3.07	3.83	5.35	7.23	8.56	10.64	12.59	16.81	22.46
7	2.17	2.83	3.82	4.67	6.35	8.38	9.80	12.02	14.07	18.48	24.32
8	2.73	3.49	4.59	5.53	7.34	9.52	11.03	13.36	15.51	20.09	26.12
9	3.32	4.17	5.38	6.39	8.34	10.66	12.24	14.68	16.92	21.67	27.88
10	3.94	4.86	6.18	7.27	9.34	11.78	13.44	15.99	18.31	23.21	29.59
	Nonsignificant							Significant			

Source : R.A. Fisher and F. Yates, Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research (6th edition), Table IV, Oliver & Boyd, Ltd., Edinburgh, by permission of the authors and publishers.

from Schaum's Outline Series : Theory and Problems of Genetics, 3rd ed. By William D. Stansfield, page 163 (ข้างบนนี้เป็นตาราง Chi-Square Distribution ที่ตัดออกมาเฉพาะบางส่วน)

ปรากฏว่าค่า Chi-Square 0.246153846 นั้นจะตกอยู่ในบริเวณ Probability ระหว่าง 0.50 ถึง 0.70 (ค่อนข้างไปทาง 0.70) ซึ่งอยู่ในช่วง Nonsignificant (ไม่มีนัยสำคัญ) คือถือว่าความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าควรจะได้ นั้นมีน้อยจนไม่มีนัยสำคัญ เพราะความแตกต่างที่น้อยขนาดนี้มีโอกาสเกิดขึ้นได้ (Probability) มากถึงประมาณ 0.70 (ถ้าคิดเป็นร้อยละก็กล่าวได้ว่ามีโอกาสเกิดขึ้นได้ถึงร้อยละ 70) แตกต่างน้อยก็คือใกล้เคียงมากนั่นเอง

8. ดังนั้น เราจึงยอมรับสมมติฐานที่เราตั้งไว้ว่าพันธุกรรมของสีในใบข้าวนี้มี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor เพราะการกระจายลักษณะของลูกชั่วรุ่นที่สอง ใกล้เคียงกับอัตราส่วน 13 : 3 เป็นอย่างยิ่ง

9. ที่นี้สมมติว่า ต่อมาเราทำการทดลองอีกเรื่องหนึ่ง คือลักษณะการมีหนวด (awn) หรือไม่มีหนวดของข้าว แล้วเราไปตั้งสมมติฐานโดยใช้ทฤษฎีว่าลักษณะการมีหนวดของข้าวมี gene ความคมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor เช่นเดียวกับเรื่องแรก อันจะทำให้การกระจายลักษณะในลูกข้าวรุ่นที่สองออกมาเป็นอัตราส่วน 13 : 3 แล้วผลการทดลองเกิดออกมาว่าลูกข้าวรุ่นที่สองมีหนวด 219 ต้น ไม่มีหนวด 21 ต้นให้นักศึกษาดำเนินขั้นตอนการหาค่า Chi-Square ดังต่อไปนี้

9.1 ในทางทฤษฎี ถ้าลักษณะมีหนวดเป็น interaction ในแบบ inhibitory factor จริงดังที่เราตั้งสมมติฐาน ก็แสดงว่าอัตราส่วนระหว่างพวกที่มีลักษณะมีหนวด : พวกที่มีลักษณะไม่มีหนวด = 13 : 3

นั่นคือพวกที่มีลักษณะมีหนวด = 13 ส่วน
 พวกที่มีลักษณะไม่มีหนวด = 3 ส่วน
 รวม = 13 + 3 = 16 ส่วน

จำนวนรวม 16 ต้น ควรจะมีพวกที่มีหนวด = 13 ต้น

ถ้าจำนวนรวม 1 ต้น ควรจะมีพวกที่มีหนวด = $\frac{\dots\dots\dots}{\dots\dots\dots}$ ต้น

ถ้าจำนวนรวม 240 ต้น ควรจะมีพวกที่มีหนวด = $\frac{\dots\dots\dots \times \dots\dots\dots}{\dots\dots\dots} = \dots\dots\dots$ ต้น

จากจำนวนรวม 16 ต้น ควรจะมีพวกที่ไม่มีหนวด = 3 ต้น

ถ้าจำนวนรวม 1 ต้น ควรจะมีพวกที่ไม่มีหนวด = $\frac{\dots\dots\dots}{\dots\dots\dots}$ ต้น

ถ้าจำนวนรวม 240 ต้น ควรจะมีพวกที่ไม่มีหนวด = $\frac{\dots\dots\dots \times \dots\dots\dots}{\dots\dots\dots} = \dots\dots\dots$ ต้น

รวม = $\dots\dots\dots + \dots\dots\dots = 240$ ต้น

9.2 หาค่าแตกต่างหรือค่าที่เบี่ยงเบนไปจากกันระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ กับค่าที่คาดว่าควรจะได้ ในแต่ละแบบของลูกที่ได้จากการผสม

ลูกที่มีลักษณะมีหนวด ค่าแตกต่าง = ค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ - ค่าที่คาดว่าควรจะได้
 = $\dots\dots\dots - \dots\dots\dots = \dots\dots\dots$

ลูกที่มีลักษณะไม่มีหนวด ค่าแตกต่าง = ค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ - ค่าที่คาดว่าควรจะได้
 = $\dots\dots\dots - \dots\dots\dots = \dots\dots\dots$

9.3 นำค่าแตกต่างหรือค่าเบี่ยงเบนนั้นมายกกำลังสอง เพื่อให้เป็นค่าบวก อันจะทำให้ไม่เกิดการหักล้างกันเมื่อนำค่าความแตกต่างมารวมกันในกระบวนการขั้นตอนต่อไป

ลูกที่มีลักษณะมีหนวด ค่าแตกต่าง² = $(\dots\dots\dots)^2 = \dots\dots\dots$

ลูกที่มีลักษณะไม่มีหนวด ค่าแตกต่าง² = $(\dots\dots\dots)^2 = \dots\dots\dots$

9.4 ถ่วงน้ำหนักให้เป็นค่าที่เฉลี่ยต่อหนึ่งหน่วยของค่าที่คาดว่าควรจะได้

โดยการหารด้วยค่าที่คาดว่าควรจะได้ (Expected value)

ลูกที่มีลักษณะมีหนวด ค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้ว = $\dots\dots\dots / \dots\dots\dots = \dots\dots\dots$

ลูกที่มีลักษณะไม่มีหนวด ค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้ว = $\dots\dots\dots / \dots\dots\dots = \dots\dots\dots$

9.5 หาผลรวมของรวมค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้วของทุก ๆ แบบของลูกที่ได้จากการผสม ได้เป็นค่า Chi-Square

ผลรวม = $\dots\dots\dots + \dots\dots\dots = \dots\dots\dots$

Phenotype	Observed value ค่าที่ได้มาจริง จากการสำรวจ	Expected value ค่าที่คาดว่า ควรจะได้	Deviation D = O-E	D ²	D ² /E
มีหนวด	219				
ไม่มีหนวด	21				
รวม	240			-	

- 9.6 หาค่า degree of freedom = จำนวนเหตุการณ์ทั้งหมด - 1 = - 1 =
- 9.7 นำค่า Chi-Square ที่คำนวณได้ไปเทียบค่าในตาราง Chi-Square Distribution ที่ให้ไว้ข้างต้นนั้น ว่าค่า Chi-Square นั้น เกิดจากความน่าจะเป็นหรือโอกาสเท่าไร และความน่าจะเป็นหรือโอกาสนั้นตกอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้หรือไม่ได้ว่ามันจะเกิดขึ้น
ปรากฏว่า ค่า Chi-Square ที่คำนวณได้ ตกอยู่ใน probability (ระหว่างเท่าไร หรือมากกว่าเท่าไร หรือน้อยกว่าเท่าไร)
ซึ่งอยู่ในช่วงที่แสดงว่า ความแตกต่างซึ่งทำให้อยู่ในรูป Chi-Square แล้วนั้น เป็นความแตกต่างที่ มีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
- 9.8 ซึ่งทำให้เรา ยอมรับ ไม่ยอมรับ สมมติฐานที่ตั้งไว้ว่าลักษณะการมีหนวดของข้าวมี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor

ในคราวนี้ ถ้านักศึกษาคำนวณได้ถูกต้อง ก็จะเห็นว่าค่า Chi-Square ที่คำนวณได้นั้นมีค่ามากถึง 15.75384615 ซึ่งไปตกอยู่ในช่วง Significant (มีนัยสำคัญทางสถิติ) ซึ่งตกอยู่ในบริเวณ Probability ที่น้อยกว่า 0.001 เสียอีก เราก็คงถือว่าความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าควรจะได้ นั้น มีมากจนมีนัยสำคัญ เพราะความแตกต่างที่มากขนาดนี้มีโอกาสเกิดขึ้นได้ (Probability) น้อยกว่า 0.001 (ถ้าคิดเป็นร้อยละก็กล่าวได้ว่ามีโอกาสเกิดขึ้นได้เพียงร้อยละ 0.1 เท่านั้น) ซึ่งมันไม่น่าจะเกิดขึ้นค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าควรจะได้แตกต่างกันมากก็คือไม่ใกล้เคียงกันเลยนั่นเอง

ดังนั้น เราจึงไม่ยอมรับสมมติฐานที่เราตั้งไว้ว่าลักษณะการมีหนวดข้าวนี้มี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ inhibitory factor เพราะการกระจายลักษณะของลูกชั่วรุ่นที่สอง ไม่ได้ใกล้เคียงกับอัตราส่วน 13 : 3 เลย

10. เมื่อเป็นดังนี้เราจึงต้องกลับไปคิดใหม่ว่าจะใช้ทฤษฎีอะไรมาอธิบายการแสดงออกของ gene ที่ควบคุมลักษณะการมีหนวดหรือไม่มีหนวดของข้าว ที่เรากำลังศึกษาอยู่ ซึ่งคราวนี้เราลองเปลี่ยนไปตั้งสมมติฐานโดยใช้อีกทฤษฎีหนึ่งที่ว่าลักษณะการมีหนวดหรือไม่มีหนวดของข้าวขึ้นอยู่กับ gene 2 คู่ที่มี interaction ในแบบ Duplicate factor อันจะทำให้การกระจายลักษณะในลูกชั่วรุ่นที่สองออกมาเป็นอัตราส่วน 15:1 แล้วเราก็ต้องนำข้อมูลเดิมที่ได้มานั้น มาคำนวณใหม่ ดังนี้

- 10.1 ในทางทฤษฎี ถ้าลักษณะมีหนวดเป็น interaction ในแบบ Duplicate factor จริงดังที่เราตั้งสมมติฐานขึ้นมาใหม่นั้น ก็แสดงว่าอัตราส่วนระหว่างพวกที่มีลักษณะมีหนวด : พวกที่มีลักษณะไม่มีหนวดควรจะเป็น 15 : 1

$$\begin{aligned} \text{นั่นคือพวกที่มีลักษณะมีหนวด} &= 15 \text{ ส่วน} \\ \text{พวกที่มีลักษณะไม่มีหนวด} &= 1 \text{ ส่วน} \\ \text{รวม} &= 15 + 1 = 16 \text{ ส่วน} \end{aligned}$$

จากจำนวนรวม 16 ดัน ควรจะมีพวกที่มีหนวด = 15 ดัน

$$\text{ดังนั้น จากจำนวนรวม 240 ดัน ควรจะมีพวกที่มีหนวด} = \frac{\dots \times \dots}{\dots} = \dots \text{ ดัน}$$

จากจำนวนรวม 16 ดัน ควรจะมีพวกที่ไม่มีหนวด = 1 ดัน

$$\text{ดังนั้น จากจำนวนรวม 240 ดัน ควรจะมีพวกที่ไม่มีหนวด} = \frac{\dots \times \dots}{\dots} = \dots \text{ ดัน}$$

$$\text{รวม} = \dots + \dots = 240 \text{ ดัน}$$

- 10.2 หาค่าแตกต่างหรือค่าที่ป้ายเบนไปจากกันระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ กับค่าที่คาดว่าควรจะได้ ในแต่ละแบบของลูกที่ได้จากการผสม

ลูกที่มีลักษณะมีหนวด :

$$\begin{aligned} \text{ค่าแตกต่าง} &= \text{ค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ} - \text{ค่าที่คาดว่าควรจะได้} \\ &= \dots - \dots = \dots \end{aligned}$$

ลูกที่มีลักษณะไม่มีหนวด :

$$\begin{aligned} \text{ค่าแตกต่าง} &= \text{ค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจ} - \text{ค่าที่คาดว่าควรจะได้} \\ &= \dots - \dots = \dots \end{aligned}$$

- 10.3 นำค่าแตกต่างหรือค่าพายเบนนั้นมายกกำลังสอง เพื่อให้เป็นค่าบวก อันจะทำให้ไม่เกิดการหักล้างกันเมื่อนำค่าความแตกต่างมารวมกันในกระบวนการขั้นตอนต่อไป
 ลูกที่มีลักษณะมีหนวด ค่าแตกต่าง² = (.....)² =
 ลูกที่มีลักษณะไม่มีหนวด ค่าแตกต่าง² = (.....)² =
- 10.4 ถ่วงน้ำหนักให้เป็นค่าที่เฉลี่ยต่อหนึ่งหน่วยของค่าที่คาดว่าจะได้
 โดยการหารด้วยค่าที่คาดว่าจะได้ (Expected value)
 ลูกที่มีลักษณะมีหนวด ค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้ว =/..... =
 ลูกที่มีลักษณะไม่มีหนวด ค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้ว =/..... =
- 10.5 หาผลรวมของรวมค่าที่ถ่วงน้ำหนักแล้วของทุก ๆ แบบของลูกที่ได้จากการผสม
 ได้เป็นค่า Chi-Square

ผลรวม = + =

Phenotype	Observed value ค่าที่ได้มาจริง จากการสำรวจ	Expected value ค่าที่คาดว่าจะได้	Deviation D = O-E	D ²	D ² /E
มีหนวด	219				
ไม่มีหนวด	21				
รวม	240			-	

- 10.6 หาค่า degree of freedom = จำนวนเหตุการณ์ทั้งหมด - 1 = - 1 =
- 10.7 นำค่า Chi-Square ที่คำนวณได้ไปเทียบค่าในตาราง Chi-Square Distribution ที่ให้ไว้ข้างต้นนั้น ว่าค่า Chi-Square นั้น เกิดจากความน่าจะเป็นหรือโอกาสเท่าไร และความน่าจะเป็นหรือโอกาสนั้นตกอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้หรือไม่ได้ว่ามันจะเกิดขึ้น
 ปรากฏว่า ค่า Chi-Square ที่คำนวณได้ ตกอยู่ใน probability (ระหว่างเท่าไร หรือมากกว่าเท่าไร หรือน้อยกว่าเท่าไร)
 ซึ่งอยู่ในช่วงที่แสดงว่า ความแตกต่างซึ่งทำให้อยู่ในรูป Chi-Square แล้วนั้น เป็นความแตกต่างที่ มีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
- 10.8 ซึ่งทำให้เรา ยอมรับ ไม่ยอมรับ สมมติฐานที่ตั้งไว้ว่าลักษณะการมีหนวดของข้าวมี gene ควบคุมสองคู่ ซึ่งมี interaction ในแบบ Duplicate factor

ถ้านักศึกษาคำนวณได้ถูกต้อง ก็จะเห็นว่าค่า Chi-Square ออกมาเป็น 2.56 ตกอยู่ในบริเวณ Probability ระหว่าง 0.10 ถึง 0.20 (ค่อนข้างไปทาง 0.10) ซึ่งอยู่ในช่วง Nonsignificant (ไม่มีนัยสำคัญ) จึงถือว่าความแตกต่างระหว่างค่าที่ได้มาจริงจากการสำรวจกับค่าที่คาดว่าจะได้นั้นมีน้อยจนไม่มีนัยสำคัญ แม้ว่าความแตกต่างนี้มีโอกาสเกิดขึ้นได้ (Probability) เพียงประมาณ 0.10 (ถ้าคิดเป็นร้อยละก็กล่าวได้ว่ามีโอกาสดังกล่าวได้ร้อยละ 10) ในทางสถิติก็ยังไม่ยอมรับได้อยู่ ดังนั้นเราจึงยอมรับสมมติฐานอันใหม่ของเราที่ว่าลักษณะการมีหนวดหรือไม่มีหนวดของข้าวขึ้นอยู่กับ gene 2 คู่ที่มี interaction ในแบบ Duplicate factor

*