Wahrscheinlichkeitsrechnung und
Statistik für Biologen

6. Chi-Quadrat-Test und Fishers exakter Test

Dirk Metzler

13. Mai 2016

Inhaltsverzeichnis

1 X^2-Anpassungstest für eine vorgegebene Verteilung

Mendels Erbsenexperiment

grün (rezessiv) vs. gelb (dominant)

rund (dominant) vs. runzlig (rezessiv)

Erwartete Häufigkeiten beim Kreuzen von Doppelhybriden:

	grün	gelb
runzlig	$\frac{1}{16}$	$\frac{3}{16}$
rund	$\frac{3}{16}$	$\frac{9}{16}$

Im Experiment beobachtet ($n = 556$):

	grün	gelb
runzlig	32	101
rund	108	315

Passen die Beobachtungen zu den Erwartungen?

Relative Häufigkeiten:

	grün/runz.	gelb./runz.	grün/rund	gelb./rund
erwartet	0.0625	0.1875	0.1875	0.5625
beobachtet	0.0576	0.1942	0.1816	0.5665

Können diese Abweichungen plausibel mit Zufallsschwankungen erklärt werden?
Wir messen die Abweichungen durch die X^2-Statistik:

$$X^2 = \sum_i \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

wobei E_i = erwartet Anzahl in Klasse i und O_i = beobachtete (engl. *observed*) Anzahl in Klasse i.

	gr/runz	ge/runz	gr/rund	ge/rund	sum
theorie	0.0625	0.1875	0.1875	0.5625	
erw. (E)	34.75	104.25	104.25	312.75	556
beob. (O)	32	101	108	315	556
$O - E$	-2.75	-3.25	3.75	2.25	
$(O - E)^2$	7.56	10.56	14.06	5.06	
$\frac{(O-E)^2}{E}$	0.22	0.10	0.13	0.02	0.47

$$X^2 = 0.47$$

Ist ein Wert von $X^2 = 0.47$ ungewöhnlich?

Um zu entscheiden, ob ein Wert von $X^2 = 0.47$ signifikant ist, müssen wir etwas über die Verteilung von X^2 unter der Nullhypothese wissen. (Die Nullhypothese lautet hier: Die erwarteten Häufigkeiten sind durch Mendels Gesetze gegeben) Falls die Nullhypothese gilt und die Erwartungswerte E_i nicht zu klein sind (Faustregel: sie sollten alle ≥ 5 sein), ist X^2 *ungefähr* χ^2*-verteilt*. Die χ^2-Verteilung hängt ab von der Anzahl der Freiheitsgrade **df**.

Die von X^2 hängt ab von der Anzahl der Freiheitsgrade **df** (eng. *degrees of freedom*), d.h. die Anzahl der Dimensionen in denen man von der Erwartung abweichen kann.

In diesem Fall: Die Summe der Beobachtungen muss die Gesamtzahl $n = 556$ ergeben.

$\rightsquigarrow$ wenn die ersten Zahlen 32, 101, 108 gegeben sind, ist die letzte bestimmt durch

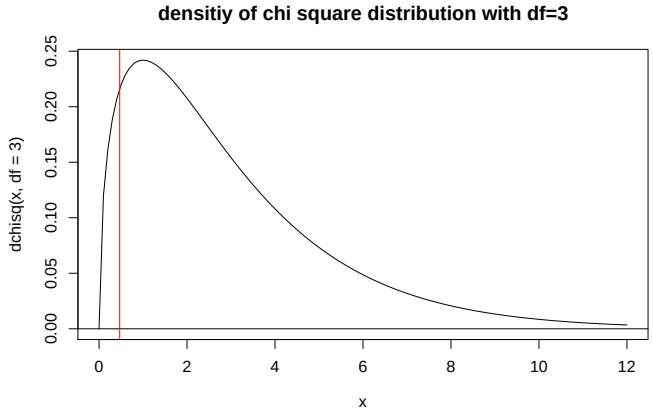
$$315 = 556 - 32 - 101 - 108.$$

$$\Rightarrow \mathsf{df} = 3$$

Merkregel 1. *Allgemein gilt beim Chi-Quadrat-Anpassungtest mit k Klassen*

$$\mathsf{df} = k - 1.$$

In unserem Beispiel können wir die Verteilung von X^2 also durch die χ^2-Verteilung mit df=4-1=3 approximieren:




```
> pchisq(0.47,df=3)[0.2ex] [1] 0.07456892[0.2ex] > pchisq(0.47,df=3,lower.tail=FALSE)[0.2ex]
[1] 0.925431 ⟵ p-Wert!!!
```

```
> prob <- c(0.0625,0.1875,0.1875,0.5625)
> obs <- c(32,101,108,315)
> (n <- sum(obs))
[1] 556
> (erw <- prob*n)
[1]  34.75 104.25 104.25 312.75
> erw-obs
[1]  2.75  3.25 -3.75 -2.25
> (erw-obs)^2
[1]  7.5625 10.5625 14.0625  5.0625
> (erw-obs)^2/erw
[1] 0.21762590 0.10131894 0.13489209 0.01618705
> sum((erw-obs)^2/erw)
[1] 0.470024
> pchisq(0.470024,df=3,lower.tail=FALSE)
[1] 0.9254259
```

```
> obs <- c(32,101,108,315)
> prob <- c(0.0625,0.1875,0.1875,0.5625)
> chisq.test(obs,p=prob)

      Chi-squared test for given probabilities

data:  obs
X-squared = 0.47, df = 3, p-value = 0.9254
```

Ergebnis dieses Beispiels: Die Abweichungen der beobachteten Häufigkeiten von den Vorhersagen der Mendelschen Regeln für zwei unabhängige Genloci sind nicht signifikant. Die Daten sind also in Bezug auf die durch die X^2-Statistik gemessenen Abweichungen mit der Theorie verträglich.

$$X^2 = \sum_i \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

Wieso teilen wir dabei $(O_i - E_i)^2$ durch $E_i = \mathbb{E}O_i$?

Sei n die Gesamtzahl und p_i die Wahrscheinlichkeit (unter der Nullhypothese) jeder Beobachtung, zu O_i beizutragen.

Unter der Nullhypothese ist O_i binomialverteilt:

$$\Pr(O_i = k) = \binom{n}{k} p_i^k \cdot (1 - p_i)^{n-k}.$$

Also

$$\mathbb{E}(O_i - E_i)^2 = \mathrm{Var}(O_i) = n \cdot p \cdot (1 - p).$$

Wenn p klein ist, gilt $n \cdot p \cdot (1 - p) \approx n \cdot p$ und

$$\mathbb{E}\frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} = \frac{\mathrm{Var}(O_i)}{\mathbb{E}O_i} = 1 - p \approx 1.$$

2 X^2-Test auf Homogenität bzw. Unabhängigkeit

Der Kuhstärling ist ein Brutparasit des Oropendola.

Literatur

[Smi68] N.G. Smith (1968) The advantage of being parasitized. *Nature*, **219(5155)**:690-4

- Kuhstärling-Eier sehen Oropendola-Eiern sehr ähnlich.
- Normalerweise entfernen Oropendolas alles aus ihrem Nest, was nicht genau nach ihren Eiern aussieht.
- In einigen Gegenden sind Kuhstärling-Eier gut von Oropendola-Eiern zu unterscheiden und werden trotzdem nicht aus den Nestern entfernt.
- Wieso?
- Mögliche Erklärung: Dasselfliegenlarven töten häufig junge Oropendolas.
- Nester mit Kuhstärling-Eier sind möglicherweise besser vor Dasselfliegenlarven geschützt.

Anzahlen von Nestern, die von Dasselfliegenlarven befallen sind

Anzahl Kuhstärling-Eier	0	1	2
befallen	16	2	1
nicht befallen	2	11	16

In Prozent:

Anzahl Kuhstärling-Eier	0	1	2
befallen	89%	15%	6%
nicht befallen	11%	85%	94%

- Anscheinend ist der Befall mit Dasselfliegenlarven reduziert, wenn die Nester Kuhstärlingeier enthalten.
- statistisch signifikant?
- Nullhypothese: Die Wahrscheinlichkeit eines Nests, mit Dasselfliegenlarven befallen zu sein hängt nicht davon ab, ob oder wieviele Kuhstärlingeier in dem Nest liegen.

Anzahlen der von Dasselfliegenlarven befallenen Nester

Anzahl Kuhstärling-Eier	0	1	2	$\sum$
befallen	16	2	1	1919
nicht befallen	2	11	16	29
$\sum$	18	13	17	4848

Welche Anzahlen würden wir unter der Nullhypothese erwarten?

Das selbe Verhältnis 19/48 in jeder Gruppe.
Erwartete Anzahlen von Dasselfliegenlarven befallener Nester, bedingt auf die Zeilen- und Spaltensummen:

Anzahl Kuhstärling-Eier	0	1	2	$\sum$
befallen	7.3	5.2	6.5	19
nicht befallen	10.7	7.8	10.5	29
$\sum$	18	13	17	48

$$18 \cdot \frac{19}{48} = 7.3 \qquad 13 \cdot \frac{19}{48} = 5.2$$

Alle anderen Werte sind nun festgelegt durch die Summen.

beobachtet (O, observed):

befallen	16	2	1	19
nicht befallen	2	11	16	29
$\sum$	18	13	17	48

erwartet: (E):

befallen	7.3	5.2	6.5	19
nicht befallen	10.7	7.8	10.5	29
$\sum$	18	13	17	48

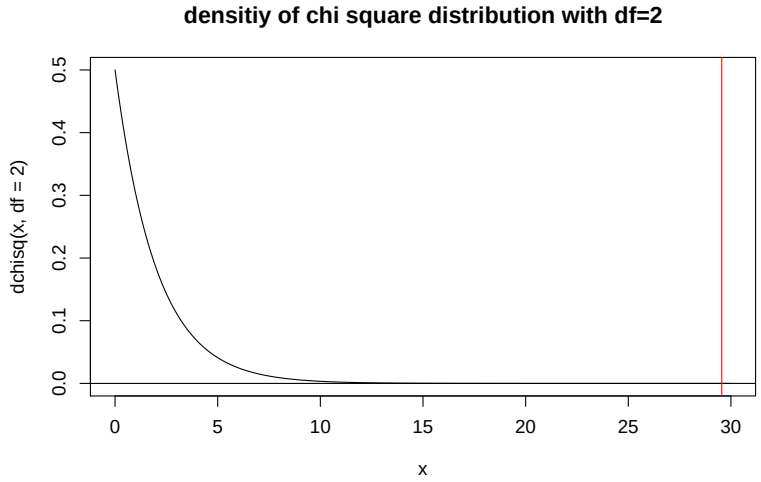
O-E:

befallen	8.7	-3.2	-5.5	0
nicht befallen	-8.7	3.2	5.5	0
$\sum$	0	0	0	0

$$X^2 = \sum_i \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} = 29.5544$$

- Wenn die Zeilen- und Spaltensummen gegeben sind, bestimmen bereits 2 Werte in der Tabelle alle anderen Werte
- $\Rightarrow$ df=2 für Kontingenztafeln mit zwei Zeilen und drei Spalten.
- Allgemein gilt für n Zeilen und m Spalten:

$$df = (n-1) \cdot (m-1)$$




```
> M <- matrix(c(16,2,2,11,1,16),nrow=2)
> M
     [,1] [,2] [,3]
[1,]   16    2    1
[2,]    2   11   16
> chisq.test(M)

     Pearson's Chi-squared test

data:  M
X-squared = 29.5544, df = 2, p-value = 3.823e-07
```

Ergebnis: Die Daten zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Anzahl der Kuhstärling-Eier in einem Oropendola-Nest und dem Befall durch Dassenfliegenlarven ($p < 10^{-6}$, χ^2-Test, df=2).

Der p-Wert basiert wieder auf einer Approximation durch die χ^2-Verteilung.

Faustregel: Die χ^2-Approximation ist akzeptabel, wenn alle Erwartungswerte $E_i \geq 5$ erfüllen.

Alternative: approximiere p-Werte durch Simulation:

```
> chisq.test(M,simulate.p.value=TRUE,B=50000)

  Pearson's Chi-squared test with simulated p-value
  (based on 50000 replicates)

data:  M
X-squared = 29.5544, df = NA, p-value = 2e-05
```

3 Fisher's exakter Test

Literatur

[McK91] J.H. McDonald, M. Kreitman (1991) Adaptive protein evolution at the Adh locus in Drosophila. *Nature* **351**:652-654.

	synonym	verändernd
polymorph	43	2
fixiert	17	7

```
> McK <-  matrix(c(43,17,2,7),2,
              dimnames=list(c("polymorph","fixed"),
                            c("synon","replace")))
> McK
          synon replace
polymorph    43       2
fixed        17       7
> chisq.test(McK)

   Pearson's Chi-squared test
   with Yates' continuity correction

data:  McK
X-squared = 6.3955, df = 1, p-value = 0.01144

Warning message: In chisq.test(McK) :
Chi-Square-Approximation may be incorrect
```

Yates' Stetigkeitskorrektur: Wegen der kleinen erwarteten Werte wird $\sum_i \frac{(O_i - E_i - 0.5)^2}{E_i}$ verwendet.

```
> chisq.test(McK,simulate.p.value=TRUE,B=100000)

   Pearson's Chi-squared test with simulated p-value
   (based on 1e+05 replicates)

data:  McK
X-squared = 8.4344, df = NA, p-value = 0.00649
```

Fishers exakter Test

A	B
C	D

- Nullhypothese: $\frac{\mathbb{E}A/\mathbb{E}C}{\mathbb{E}B/\mathbb{E}D} = 1$
- Für 2×2-Tabellen können die p-Werte exakt berechnet werden. (keine Approximation, keine Simulation).

```
> fisher.test(McK)

    Fisher's Exact Test for Count Data

data:  McK
p-value = 0.006653
alternative hypothesis: true odds ratio
                        is not equal to 1
95 percent confidence interval:
  1.437432 92.388001
sample estimates:
odds ratio
  8.540913
```

			$\sum$
	43	2	45
	17	7	24
$\sum$	60	9	69

			$\sum$
	a	b	K
	c	d	M
$\sum$	U	V	N

Unter der Annahme, dass die Zeilen und Spalten unabhängig sind, ist die Wahrscheinlichkeit, dass links oben in der Tabelle der Wert a bzw. oben recht ein $b = K - a$ steht:

$$\Pr(a \text{ oben links}) = \frac{\binom{K}{a}\binom{M}{c}}{\binom{N}{U}} = \Pr(b \text{ oben rechts}) = \frac{\binom{K}{b}\binom{M}{d}}{\binom{N}{V}}$$

"hypergeometrische Verteilung"

			$\sum$
	a	b	K
	c	d	M
$\sum$	U	V	N

Wieso $\Pr(a \text{ oben links}) = \frac{\binom{K}{a}\binom{M}{c}}{\binom{N}{U}}$?

Angenommen, K und M stehen fest (zunächst jedoch nicht U), und jedes Einzelobjekt (im Beispiel: mutierte Position) entscheidet sich zufällig, mit Wahrscheinlichkeit p, für die erste Spalte. Dann gilt:

$$\Pr(a) = \binom{K}{a} p^a \cdot (1-p)^{K-a}$$

und:

$$\begin{aligned} \Pr(a|U) &= \frac{\Pr(a,U)}{\Pr(U)} = \frac{\Pr(a,c)}{\Pr(U)} \\ &= \frac{\binom{K}{a}p^a \cdot (1-p)^{K-a} \cdot \binom{M}{c}p^c \cdot (1-p)^{M-c}}{\binom{N}{U}p^U \cdot (1-p)^{N-U}} = \frac{\binom{K}{a}\binom{M}{c}}{\binom{N}{U}} \end{aligned}$$

			$\sum$
	a	b	45
	c	d	24
$\sum$	60	9	69

b	$\Pr(b)$
0	0.000023
1	0.00058
2	0.00604
3	0.0337
4	0.1117
5	0.2291
6	0.2909
7	0.2210
8	0.0913
9	0.0156

Einseitiger Fisher-Test:
für $b = 2$:
p-Wert=$\Pr(0) + \Pr(1) + \Pr(2) = 0.00665313$
für $b = 3$:
p-Wert=$\Pr(0) + \Pr(1) + \Pr(2) + \Pr(3) = 0.04035434$

Zweiseitiger Fisher-Test:
Addiere alle Wahrscheinlichkeiten, die kleiner oder gleich $\Pr(b)$ sind.
für $b = 2$:
p-Wert=$\Pr(0) + \Pr(1) + \Pr(2) = 0.00665313$
für $b = 3$:
p-Wert=
$\Pr(0) + \Pr(1) + \Pr(2) + \Pr(3) + \Pr(9) = 0.05599102$

Bitte beachten: beim der zweiseitigen Version von Fishers exaktem Test werden nur die Wahrscheinlichkeiten aufsummiert, die kleiner oder gleich der Wahrscheinlichkeit des beobachteten Ergebnisses sind. Im zuvor betrachteten Beispiel mit $b = 2$ führen aus diesem Grund der einseitige und der zweiseitige Test zum selben p-Wert.

4 X^2-Test für Modelle mit angepassten Parametern

Gegeben sei eine Population im *Hardy-Weinberg-Gleichgewicht* und ein Gen-Locus mit zwei möglichen Allelen A und B mit Häufigkeiten p und $1 - p$.

$\rightsquigarrow$ Genotyp-Häufigkeiten

AA	AB	BB
p^2	$2 \cdot p \cdot (1-p)$	$(1-p)^2$

Beispiel: M/N Blutgruppen; Stichprobe: 6129 Amerikaner europäischer Abstammung

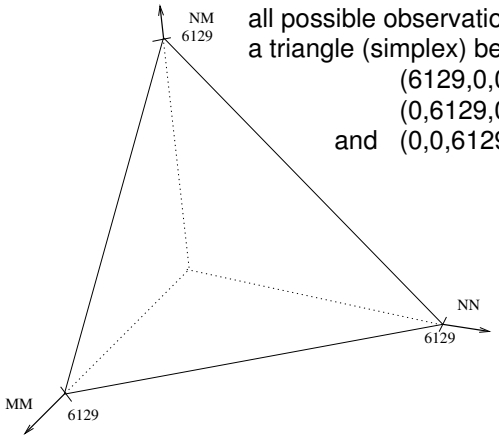
beobachtet:	MM	MN	NN
	1787	3037	1305

Geschätzte Allelhäufigkeit p von M:

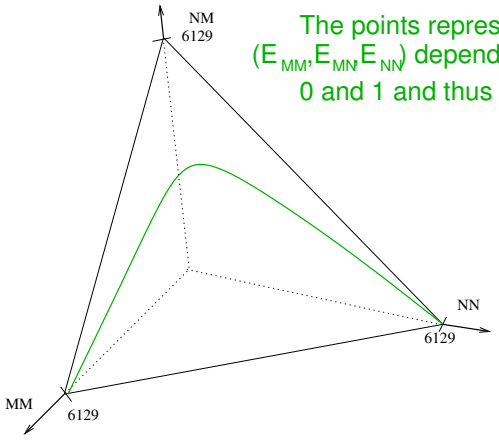
$$\frac{2 \cdot 1787 + 3037}{2 \cdot 6129} = 0.5393$$

$\rightsquigarrow$ Erwartungswerte:

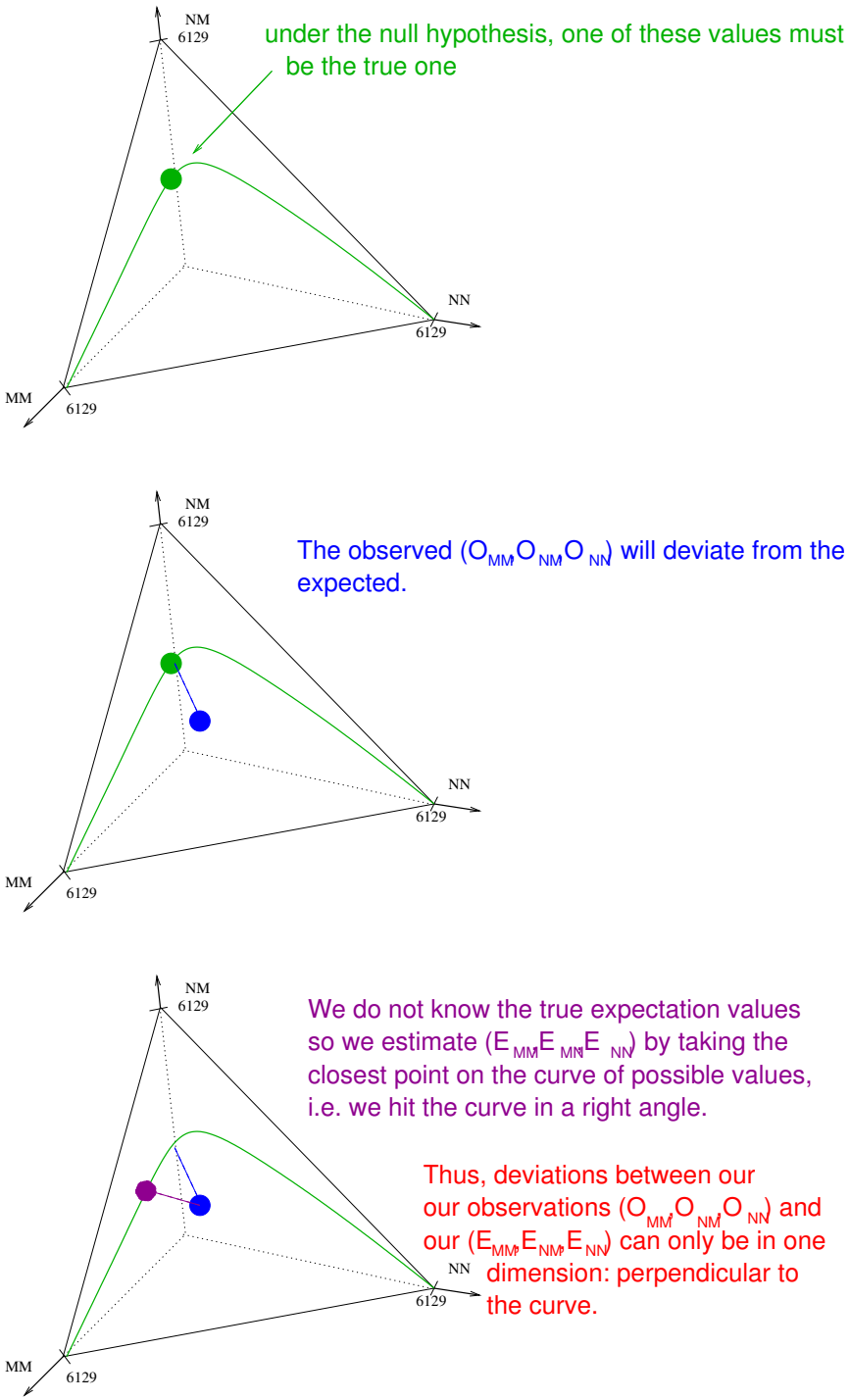
MM	MN	NN
p^2	$2 \cdot p \cdot (1-p)$	$(1-p)^2$
0.291	0.497	0.212
1782.7	3045.5	1300.7



all possible observations ($O_{MM}O_{MN}O_{NN}$) are located on a triangle (simplex) between
(6129,0,0)
(0,6129,0)
and (0,0,6129)



The points representing the Expected Values (E_{MM},E_{MN},E_{NN}) depend on one parameter p between 0 and 1 and thus form a curve in the simplex.



$$\mathsf{df} = k - 1 - m$$

k = Anzahl Gruppen (k=3 Genotypen) m = Anzahl Modellparameter (m=1 Parameter p) im Blutgrup-

penbeispiel:

$$\mathsf{df} = 3 - 1 - 1 = 1$$

```
> obs <- c(1787,3037,1305)
> n <- sum(obs)
> p <- (2* 1787+3037)/(2* 6129)
> probs <- c(p^2,2*p*(1-p),(1-p)^2)
> erw <- probs*n
> (X2 <- sum((obs-erw)^2/erw))
[1] 0.04827274
> (p.value <- pchisq(X2,df=1,lower.tail=FALSE))
[1] 0.8260966
```

Noch eine Bemerkung zu Hardy-Weinberg: In manchen Lehrbüchern, Wikipediaseiten und Vorlesungsskripten wird q als $1 - p$ definiert und dann die Gleichung

$$p^2 + 2pq + q^2 \;=\; 1 \qquad (*)$$

als "Hardy-Weinberg-Gleichung" oder "Formel für das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht" bezeichnet. Wir betrachten das als ***groben Unfug***, denn die Gleichung $(*)$ folgt mit der ersten binomischen Formel unmittelbar aus $(p+q)^2 = 1^2$ und ***gilt daher immer***, also auch, wenn sich die Population, um die es geht, ***gar nicht im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht*** befindet. Für das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht ist charakteristisch, dass die in der linken Seite von $(*)$ vorkommenden Summanden p^2, $2pq$ und q^2 die Genotyphäufigkeiten sind. Aber die Formel $(*)$ gilt eben auch dann, wenn das nicht der Fall ist.