

Гибринологический анализ гибридов F₂ с определением критерия соответствия хи-квадрат

ЗАДАНИЕ 1. Научиться определять критерий соответствия χ^2

Закон расщепления у гибридов F₂ проявляется лишь при определенных условиях:

1. Равновероятное образование гибридом всех типов гамет.
2. Равновероятность всех возможных сочетаний гамет при оплодотворении.
3. Равная жизнеспособность зигот всех генотипов.
4. Полное проявление признака независимо от условий развития организма.

При несоблюдении этих условий, характер расщепления может изменяться.

Механизмом, обуславливающим расщепление признаков в потомстве гибрида, является мейоз, обеспечивающий закономерное расхождение гомологичных хромосом при образовании гамет. Таким образом, расщепление осуществляется в гаплоидных гаметах на уровне хромосом и генов, а анализируется в диплоидных организмах на уровне признаков, формирующихся в определенные периоды онтогенеза. Между этими двумя моментами происходит оплодотворение, протекают сложные процессы развития организмов. В этот период на гаметы, зиготы и развивающиеся организмы действует множество независимых друг от друга условий среды, которые могут влиять на фенотипическое проявление расщепления.

Перечисленные выше условия создают элемент случайности в расщеплении, поэтому при его анализе необходимо применять специальные математические методы, которые позволяют решить:

– является ли отклонение от теоретически ожидаемого расщепления (3:1, 1:1, 9:3:3:1 и т.п.) неслучайным, вызванным закономерным влиянием каких-то факторов, нарушающих расщепление (например, гибель зигот определенного генотипа);

– отклонение от теоретически ожидаемого расщепления случайно и обусловлено, например, малым объемом анализируемого материала (выборки).

Итак, при изучении наследования признаков **фактически полученными данными Q** является число растений или семян, полученных в каждом фенотипическом классе. Они не всегда соответствуют **теоретически ожидаемым величинам q**, так как законы наследования признаков основываются на теории вероятности и случайном расхождении хромосом в мейозе, случайном образовании различных типов гамет, равновероятном соединении гамет при оплодотворении. Поэтому может наблюдаться *отклонение* числа гибридов, полученных в соответствующем фенотипическом классе, от теоретически ожидаемых результатов расщепления d.

Чтобы оценить степень соответствия фактически полученных в опыте данных по расщеплению с теоретически ожидаемыми, используют **критерии соответствия χ^2** (хи-квадрат) (формула 1):

$$\chi^2 = \sum \frac{d^2}{q}, \quad (1)$$

где d – отклонение теоретически ожидаемого от фактически полученного числа гибридов с соответствующем фенотипическом классе;

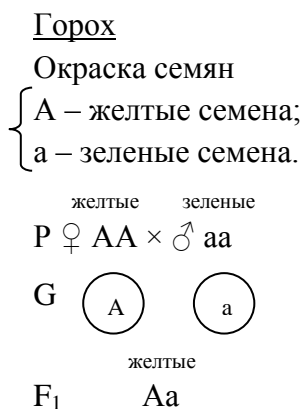
q – теоретически ожидаемое число гибридов в соответствующем фенотипическом классе.

Пример.

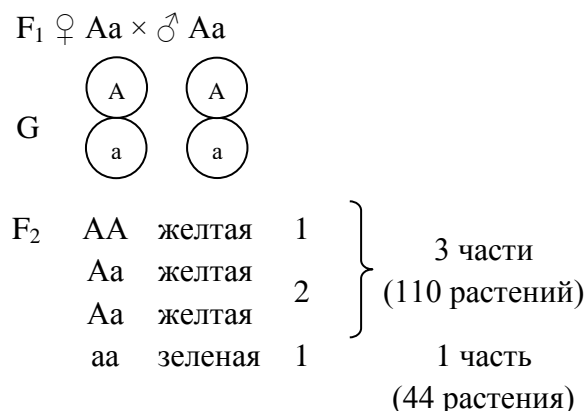
Рассчитайте критерий соответствия χ^2 для оценки данных, полученных при расщеплении гибридов F_2 у гороха от скрещивания растений, имеющих желтую и зеленую окраску семян. В F_2 было получено два фенотипических класса: 110 семян с желтой окраской семян, 44 – с зеленой.

Решение.

1. Записываем условные обозначения генов изучаемых признаков и составляем схему получения гибрида F_1 .



2. Составляем схему получения гибрида F_2 .



3. Делим все растения на группы по фенотипу и подсчитываем количество растений в каждой фенотипической группе:

Желтые семена – 110 шт.

Зеленые семена – 44 шт.

5. Данные вносим в табл. 1 и вычисляем χ^2 .

На 1 часть теоретически приходится 38,5 семян (154 : 4).

Так, в рассматриваемом примере моногибридного скрещивания гороха фактическое значение χ^2 равно 1,05.

6. Определяем теоретически ожидаемое значение χ^2 по табл. 2.

Оценка величины χ^2 производится по таблице Фишера, в которой обозначены вероятности P.

Таблица 1. Вычисление критерия χ^2 при моногибридном скрещивании гороха.

| Фенотипические классы семян | Число семян | | Отклонение, $d = Q - q$ | Квадрат отклонения, d^2 | $\frac{d^2}{q}$ |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------|
| | фактически полученных, Q | теоретически ожидаемых, q | | | |
| Желтые | 110 | 115,5 (3 части · 38,5) | -5,5 | 30,25 | 0,26 (30,25 : 115,5) |
| Зеленые | 44 | 38,5 (1 часть · 38,5) | +5,5 | 30,25 | 0,79 (30,25 : 38,5) |
| Сумма | 154 | 154 | 0 | | $1,05 = \chi^2$ |

Таблица 2. Стандартные значения χ^2 при разных степенях свободы.

| Вероятность, P | Число степеней свободы | | | | | | | | | |
|-------------------|------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 0,05 | 3,84 | 5,99 | 7,81 | 9,49 | 11,07 | 12,59 | 14,07 | 15,51 | 16,92 | 18,31 |
| 0,01 | 6,63 | 9,21 | 11,34 | 13,28 | 15,09 | 16,91 | 18,48 | 20,09 | 21,67 | 23,31 |

Достоверность величины χ^2 с точки зрения вероятности зависит от:

- числа степеней свободы, которая равняется числу классов минус единица ($n - 1$),
- уровня значимости P.

У гибридов F_2 , давших расщепление на два фенотипических класса, степень свободы равна единице, при трех фенотипических классах число степеней свободы равняется двум, при четырех – трем и т. д. Вероятность P в сельскохозяйственных исследованиях принимают равной 0,05 (5 % значимости).

Число степеней свободы при двух фенотипических классах (желтые и зеленые семена) равно 1. Следовательно, теоретически ожидаемое значение χ^2 составит 3,84.

7. Сравниваем фактически полученное значение χ^2 с теоретически ожидаемым.

При полном соответствии опытных и теоретических данных χ^2 равен нулю.

Если вычисленное значение χ^2 не превышает табличного значения, находящегося в графе со значимостью 0,05, или имеет меньшее значение, то **фактически полученные данные соответствуют теоретически ожидаемым**.

Если вычисленное значение χ^2 больше табличного значения, соответствующего значимости 0,05, то **фактически полученные данные не соответствуют теоретически ожидаемым** и отклонение не случайно, а обусловлено более сложным наследование признака.

Значение фактического χ^2 (1,05) оказалось меньше табличного значения χ^2 (3,84), следовательно, фактически полученное расщепление статистически соответствует теоретически ожидаемому 3:1.

Критерий χ^2 дает надежные результаты, если объем выборки больше 50, а теоретически ожидаемые частоты в классах не менее 5.

Величина χ^2 зависит от:

- величины отклонения,
- числа проанализированных гибридов (семян, растений).

При малой выборке увеличивается вероятность получения значения χ^2 больше табличного, поэтому трудно быть уверенным в достоверности выводов генетического анализа наследования изучаемых признаков, если в F_2 мало растений. Если величина меньшего фенотипического класса не превышает 5 (семян, растений), то данные не подлежат статистической обработке.

ЗАДАНИЕ 2. Провести статистическую обработку данных при дигибридном скрещивании. Доказать, что фактически полученное расщепление соответствует теоретически ожидаемому 9:3:3:1

Пример.

Рассчитать критерий соответствия χ^2 (табл. 3) для оценки данных, полученных при расщеплении гибридов F_2 у мягкой озимой пшеницы.

От скрещивания красноколосых, безостых растений с белоколосыми, остистыми в F_2 было получено четыре фенотипических класса: 50 красноколосых, безостых растения, 21 – красноколосых, остистых, 16 – белоколосых, безостых, 7 – белоколосых, остистых.

Доказать нулевую гипотезу, т. е. что фактически полученное расщепление в опыте (50:21:16:7) соответствует теоретически ожидаемому 9:3:3:1.

Решение.

Пшеница

Окраска колоса;

Наличие остей:

- { A – красный колос;
- { a – белый колос;
- { B – безостость;
- { b – остистость.

F_2 – 94 растения.

кр. безост. бел. ост.
P ♀ AABV × ♂ aabb

G (AB) (ab)

кр. безост.
F₁ ♀ AaBb × ♂ AaBb

G (AB) (AB)
 (Ab) (Ab)
 (aB) (aB)
 (ab) (ab)

| | | | | |
|----------------|------|------------------------|---|------------------------------|
| F ₂ | A_B_ | красноколосый безостый | 9 | } 16 частей (94 растения) |
| | A_bb | красноколосый остистый | 3 | |
| | aaB_ | белоколосый безостый | 3 | |
| | aabb | белоколосый остистый | 1 | |

На 1 часть приходится 5,875 растений (94 растения F_2 : 16 частей).

Таблица 3. Вычисление критерия χ^2 при дигибридном скрещивании мягкой озимой пшеницы.

| Фенотипические классы семян | Число семян | | Отклонение, $d = Q - q$ | Квадрат отклонения, d^2 | $\frac{d^2}{q}$ |
|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | фактически полученных, Q | теоретически ожидаемых, q | | | |
| красноколосые, безостые | 50 | 52,875 (9 частей · 5,875) | -2,875 | 8,27 | 0,16 (8,27 : 52,875) |
| красноколосые, остистые | 21 | 17,625 (3 части · 38,5) | 3,375 | 11,39 | 0,65 (11,39 : 17,625) |
| белоколосые, безостые | 16 | 17,625 (3 части · 38,5) | -1,625 | 2,64 | 0,15 (2,64 : 17,625) |
| белоколосые, остистые | 7 | 5,875 (1 часть · 38,5) | 1,125 | 1,27 | 0,22 (1,27 : 5,875) |
| Сумма | 94 | 94 | 0 | | 1,17 = χ^2 |

В рассмотренном примере дигибридного скрещивания озимой мягкой пшеницы χ^2 равен 1,17. Число степеней свободы при четырех фенотипических классах равно 3 ($n - 1 = 4 - 1 = 3$). Значение фактического χ^2 (1,17) оказалось меньше табличного значения χ^2 (7,81), следовательно, фактически полученное расщепление статистически соответствует теоретически ожидаемому 9:3:3:1. Нулевая гипотеза доказана.

МАТЕРИАЛ

1. 80–100 растений или главных колосьев, полученных от дигибридного или тригибридного скрещивания.
2. Карточки с индивидуальными заданиями.
3. Тестовые задания.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Что такое фактически полученные данные в опыте?
2. Что такое теоретически ожидаемые данные в опыте?
3. Что такое нулевая гипотеза?
4. При помощи какого метода определяют соответствие фактически полученных данных теоретически ожидаемому расщеплению?
5. Что такое χ^2 ?
6. Расскажите о методике вычисления χ^2 .
7. Что такое отклонение теоретически ожидаемого от фактически полученного?
8. Что такое уровень вероятности?
9. Как определяется число степеней свободы?
10. Расскажите об особенностях вычисления критерия χ^2 при моно- и полигибридном скрещивании.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО РЕШЕНИЯ

1. При скрещивании двух гомозиготных сортов гороха, имеющих желтую и зеленую окраску семян, получили 420 семян F_2 , в том числе 120 зеленых.

1. Определите величину отклонения теоретически ожидаемого от фактически полученного в фенотипическом классе зеленых семян.

2. Чему равен показатель d^2 для данного класса?

3. Определите значение d в фенотипическом классе желтых семян.

4. Чему равен χ^2 ?

5. Какому уровню значимости наиболее точно соответствует данный показатель значения χ^2 ?

2. При скрещивании гомозиготного карликового сорта томата с гомозиготным сортом, растения которого имели нормальную высоту, в F_2 получили 844 гибрида, в том числе 196 карликовых. Остальные растения имели нормальную высоту.

Предположим, что карликовость у томата наследуется моногенно.

1. Определите величину отклонения d в фенотипическом классе растений, имеющих нормальную высоту.

2. Определите показатель d в классе карликовых растений.

3. Чему равен показатель d^2 в классе карликовых растений?

4. Чему равен χ^2 ?

5. Какому уровню значимости (P) наиболее точно соответствует данный показатель χ^2 ?

3. У львиного зева в F_2 получили 1232 растения, в том числе 290 с белыми цветками, 260 – с красными. Остальные растения имели розовую окраску цветков.

Предположим, что окраска цветков у львиного зева наследуется моногенно при неполном доминировании.

1. Определите величину d в фенотипическом классе растений с розовыми цветками.

2. Чему равен показатель d в классе растений, имеющих белые цветки?

3. Чему равен показатель d^2 в классе растений с красными цветками?

4. Чему равен χ^2 ?

5. Какому уровню значимости (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

4. В F_2 у овса получили 688 растений, из них 184 поразились головней, остальные были устойчивыми.

Предположим, что устойчивость к головне у овса наследуется моногенно.

1. Сколько растений овса было в фенотипическом классе, устойчивых к головне?

2. Вычислите показатель d^2 в классе растений, устойчивых к головне.

3. Вычислите d^2 в классе растений, поражаемых головней.

4. Чему равен χ^2 ?

5. Какому уровню значимости (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

5. У кормовых бобов в F_2 получили 968 семян, в том числе 267 с белой окраской кожуры, остальные – с черной.

Предположим, что данный признак наследуется моногенно.

1. Сколько семян имели черную окраску кожуры?
2. Чему равен показатель d^2 данного фенотипического класса?
3. Чему равен показатель d^2 в фенотипическом классе семян, имеющих белую окраску кожуры?
4. Чему равен χ^2 ?
5. Какому уровню значимости (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

6. У пшеницы в F_2 получили 240 растений четырех фенотипических классов: 12 растений были остистыми белоколосыми, 52 – безостыми с белым колосом, 43 – остистыми с красным колосом, остальные – безостыми с красным колосом.

Предположим, что эти два признака наследуются независимо.

1. Чему равен показатель d в фенотипическом классе остистых белоколосых растений?
2. Чему равен показатель d^2 в фенотипическом классе остистых красноколосых растений?
3. Чему равен показатель d^2 в фенотипическом классе безостых красноколосых растений?
4. Чему равен χ^2 ?
5. Какому значению вероятности (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

7. У томата в F_2 получили 512 растений четырех фенотипических классов: 28 растений карликовых с желтыми плодами, 101 – нормальной высоты с желтыми плодами, 90 – карликовых с красными плодами, остальные – нормальные по высоте и с красными плодами.

Предположим, что эти два признака наследуются независимо.

1. Чему равен показатель d в фенотипическом классе карликовых растений с красными плодами?
2. Чему равен показатель d^2 в фенотипическом классе растений, имеющих нормальную высоту и красные плоды?
3. Чему равно число степеней свободы ($n - 1$) в данном примере?
4. Чему равен χ^2 ?
5. Какому значению вероятности (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

8. При скрещивании двух сортов декоративных растений львиного зева в F_2 получили 960 растений шести фенотипических классов: 174 растения имели типичное строение цветка и красную окраску лепестков венчика, 186 – типичное строение цветка и белую окраску венчика, 54 – пилорическую форму и красную окраску венчика, 110 – пилорическую форму и розовую окраску, 68 – пилорическую форму и белую окраску венчика, остальные – типичную форму цветка и розовую окраску лепестков венчика.

Форма цветка определяется: геном N – типичная, n – пилорическая. Ген R в гомозиготном состоянии определяет красную, в гетерозиготном состоянии – розовую окраску лепестков венчика, rr – белую.

1. Чему равен показатель d в фенотипическом классе растений, имеющих типичную форму цветков и розовую окраску венчика?
2. Чему равен показатель d^2 в классе растений, имеющих пилорическую форму цветка и красную окраску венчика?
3. Чему равен χ^2 ?
4. Чему равно число степеней свободы ($n - 1$) в данном примере?
5. Какому значению вероятности (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

9. У фасоли получили 1120 растений четырех фенотипических классов: 64 растения имели желтые бобы и белые семена, 216 – желтые бобы и черные семена, 202 – зеленые бобы и белые семена, остальные – зеленые бобы и черные семена.

Предположим, что у фасоли оба признака (окраска семян и бобов) наследуются независимо.

1. Чему равен показатель d в фенотипическом классе растений с зелеными бобами и черными семенами?
2. Чему равен показатель d в классе растений с желтыми бобами и черными семенами?
3. Чему равен показатель d^2 в фенотипическом классе растений с желтыми бобами и белыми семенами?
4. Чему равен χ^2 ?
5. Какому значению вероятности (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?

10. У ячменя в F_2 получили 128 растений четырех фенотипических классов: 10 растений плотноколосых фуркатных, 22 – плотноколосых остистых, 28 – рыхлоколосых фуркатных, остальные имели рыхлый остистый колос.

Предположим, что данные признаки наследуются независимо.

1. Чему равен показатель d в фенотипическом классе растений с плотным фуркатным колосом?
2. Чему равен показатель d^2 в фенотипическом классе рыхлоколосых фуркатных растений?
3. Чему равен χ^2 ?
4. Чему равно число степеней свободы ($n - 1$)?
5. Какому значению вероятности (P) наиболее полно соответствует данный показатель χ^2 ?