# Дисперсионный анализ, часть 2 Математические методы в зоологии с использованием R

Марина Варфоломеева

# Двухфакторный дисперсионный анализ

#### Вы сможете

- Проводить двухфакторный дисперсионный анализ и интерпретировать его результаты с учетом взаимодействия факторов
- Отличать фиксированные и случайные факторы и выбирать подходящую модель дисперсионного анализа

## Пример: Возраст и способы запоминания

### Пример: Возраст и способы запоминания

Какие способы запоминания информации лучше работают для молодых и для пожилых? (Eysenck, 1974)

#### Факторы:

- Age Возраст:
  - Younger 50 молодых
  - Older 50 пожилых (55-65 лет)
- Process тип активности:
  - Counting посчитать число букв
  - Rhyming придумать рифму к слову
  - Adjective придумать прилагательное
  - Imagery представить образ
  - Intentional запомнить слово

Зависимая переменная - Words - сколько вспомнили слов

### Открываем данные

```
memory <- read.table(file = "data/eysenck.csv", header = TRUE, sep = "\t")</pre>
# Все ли правильно открылось?
str(memory) # Структура данных
# 'data.frame': 100 obs. of 3 variables:
  $ Age : Factor w/ 2 levels "Older","Younger": 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 ...
# $ Process: Factor w/ 5 levels "Adjective", "Counting", ...: 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 ...
# $ Words : num 8 6 4 6 7 6 5 7 9 7 ...
head (memory, 2) # Первые несколько строк файла
       Age Process Words
# 1 Younger Counting
# 2 Younger Counting
```

### Знакомимся с данными

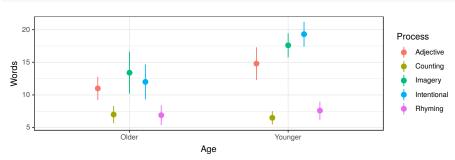
```
# Есть ли пропущенные значения
# (особенно, в переменных, которые нас интересуют)?
colSums(is.na(memory))
     Age Process Words
        0
                        0
# Каков объем выборки?
nrow(memory) # BCEFO
# [1] 100
table(memory$Age, memory$Process) # Β Γρуππαχ
#
```

```
Adjective Counting Imagery Intentional Rhyming
0lder
               10
                         10
                                 10
                                              10
                                                      10
```

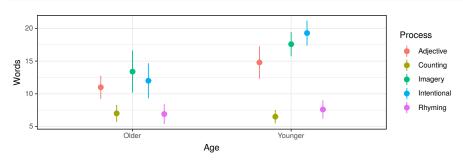
```
Younger
              10
                      10
                              10
                                         10
                                                 10
```

### Задание 1

Дополните код, чтобы построить график, на котором приведено среднее число слов (Words) для каждого возраста (Age) и способа запоминания (Process).



#### Решение 1

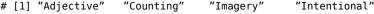


# "Некрасивый" порядок уровней на графике

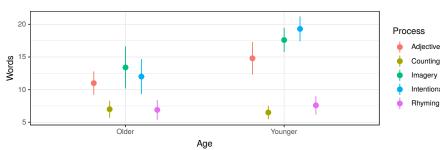
На этом графике некрасивый порядок уровней: средние для разных способов запоминания memory\$Process расположены, как кажется, хаотично.

Порядок групп на графике определяется порядком уровней фактора

# "старый" порядок уровней levels(memory\$Process)



[5] "Rhyming"



Intentional

## Изменим порядок уровней

Давайте изменим порядок уровней в факторе memory\$Process так, чтобы он соответствовал возрастанию средних значений memory\$Words

```
# "старый" порядок уровней
levels(memory$Process)

# [1] "Adjective" "Counting" "Imagery" "Intentional"
# [5] "Rhyming"

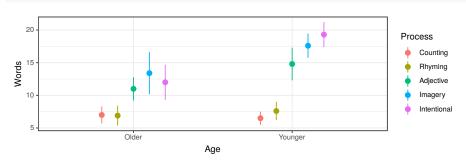
# переставляем уровни в порядке следования средних значений memory$Words
memory$Process <- reorder(x = memory$Process, X = memory$Words, FUN = mean)
# "новый" порядок уровней стал таким
levels(memory$Process)</pre>
```

```
# [1] "Counting" "Rhyming" "Adjective" "Imagery"
```

# [5] "Intentional"

# График с "правильным" порядком уровней

С новым порядком уровней нам легче визуально сравнивать друг с другом число запомненных слов при разных способах запоминания.



# Двухфакторный дисперсионный анализ

## Двухфакторный дисперсионный анализ

Значения зависимой переменной складываются из нескольких частей:

- $\bullet$  общего среднего  $\mu$
- ullet отклонений  $lpha_i$ , связанных с фактором A (в примере две возрастные группы)
- $\bullet$  отклонений  $\beta_j$  , связанных с фактором В (в примере это пять способов запоминания)
- отклонений  $(\alpha \beta)_{ij}$ , связанных с группировкой по обоим факторам (в примере это 10 групп по возрасту и способу запоминания)
- ullet "случайных" отклонений, не связанных с учтенными факторами  $\epsilon_{ijk}.$

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha \beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Общая сумма квадратов  $SS_{t}$  складывается из нескольких составляющих:

- ullet изменчивости связанной со всеми факторами  $SS_x = SS_a + SS_b + SS_{ab}$
- ullet случайной изменчивости  $SS_e$

$$SS_t = SS_a + SS_b + SS_{ab} + SS_e$$

## Таблица традиционного дисперсионного анализа

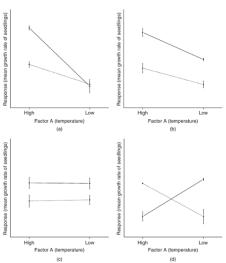
Источник изменчивости	SS	df	MS	F
Название фактора А	$SS_A = an\sum\limits_i{(\bar{A}_i - \bar{y})^2}$	$df_A=a-1$	$MS_A = \frac{\mathit{SS}_A}{\mathit{df}_A}$	$F_{df_A df_e} = \frac{{}_{MS_A}}{{}_{MS_e}}$
Название фактора В	$SS_B = bn \sum\limits_j {(\bar{B}_j - \bar{y})}^2$	$df_B=b-1$	$MS_B = \frac{SS_B}{df_B}$	$F_{df_Bdf_e}=\frac{{}_{MS_B}}{{}_{MS_e}}$
Взаимодействие факторов А и В	$SS_{AB} = SS_t - SS_A - SS_B - SS_{AB} \label{eq:SSAB}$	$df_{AB}=(a-1)(b-1) \label{eq:dfab}$	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{df_{AB}}$	$F_{df_{AB}df_e} = \frac{_{MS_{AB}}}{_{MS_e}}$
Случайная	$SS_e = \sum\limits_i \sum\limits_j \sum\limits_k \left(y_{ijk} - \bar{y}_{ij}\right)^2$	$df_e=(n-1)ab$	$MS_e = \frac{\mathit{SS}_e}{\mathit{df}_e}$	
Общая	$SS_t = \sum\limits_i \sum\limits_j \sum\limits_k \left(y_{ijk} - \bar{y}\right)^2$	$df_t=N-1$		

- ullet  $i,\dots,a$  уровни фактора A,  $j,\dots,b$  уровни фактора B,  $k,\dots,n$  индекс наблюдения в группе, N общее число наблюдений
- $\bar{y}$  общее среднее значение,  $\bar{A_i}$  средние в группах по фактору A,  $\bar{B}_j$  в группах по фактору B

# Взаимодействие факторов

# Взаимодействие факторов

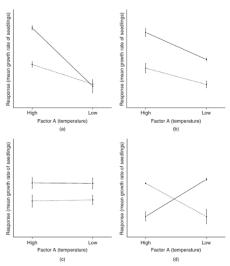
Взаимодействие факторов — когда эффект фактора В разный в зависимости от уровней фактора А и наоборот



На каких рисунках есть взаимодействие факторов?

## Взаимодействие факторов

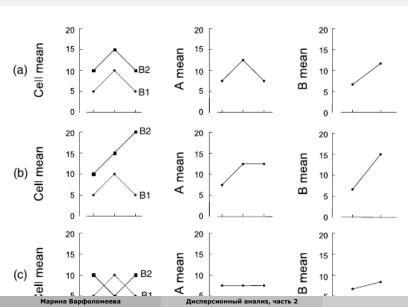
Взаимодействие факторов — когда эффект фактора В разный в зависимости от уровней фактора A и наоборот



На каких рисунках есть взаимодействие факторов?

- b, c нет взаимодействия (эффект фактора В одинаковый для групп по фактору А, линии для разных групп по фактору В на графиках расположены параллельно)
- a, d есть взаимодействие (эффект фактора В разный для групп по фактору А, на графиках линии для разных групп по фактору В расположены под наклоном).

# Взаимодействие факторов может маскировать главные эффекты



# Несбалансированные данные

### Сбалансированность данных

#### Сбалансированные данные

Одинаковое число наблюдений во всех группах  $n_{11} = n_{12} = \cdots = n_{ij}$ 

#### Несбалансированные данные

Неодинаковое число наблюдений в группах

# Суммы квадратов в многофакторном дисперсионном анализе со взаимодействием

#### Если данные сбалансированы, то ...

взаимодействие и эффекты факторов независимы, их суммы квадратов и соответствующие тесты можно посчитать в одном анализе и его результат не будет зависеть от того, в каком порядке мы рассматриваем факторы.

#### Если данные несбалансированы, то ...

взаимодействие и эффекты факторов уже не являются полностью независимыми, суммы квадратов для факторов не равны общей сумме квадратов. Если делать все как обычно, результат анализа будет зависеть от порядка включения факторов в модель (т.е. от выбранного способа расчета - "типа сумм квадратов").

## Суммы квадратов III типа

Если данные не сбалансированы и анализ учитывает взаимодействие факторов, то чтобы найти суммы квадратов нужно на самом деле выполнить анализ несколько раз:

- последним учитывается фактор А: Y = B + AB + A
- последним учитывается фактор В: Y = A + AB + В
- последним учитывается взаимодействие АВ: А + В + АВ

Те суммы квадратов, которые рассчитаны **для последнего фактора в каждой модели** будут использоваться в тестах.

Это называется III тип расчета сумм квадратов (= суммы квадратов III типа). Некоторые авторы рекомендуют использовать именно III тип сумм квадратов для несбалансированных данных (Maxwell & Delaney 1990, Milliken, Johnson 1984, Searle 1993, Yandell 1997, Glantz, Slinker 2000).

# Другие проблемы из-за несбалансированности данных

- Оценки средних в разных группах с разным уровнем точности (Underwood 1997)
- ANOVA менее устойчив к отклонениям от условий применимости (особенно от гомогенности дисперсий) при разных размерах групп (Quinn Keough 2002, section 8.3)
- ullet Проблемы с расчетом мощности. Если  $\sigma_{\epsilon}^2>0$  и размеры выборок разные, то  $\frac{MS_x}{MS}$  не следует F-распределению (Searle et al. 1992).

# Другие проблемы из-за несбалансированности данных

- Оценки средних в разных группах с разным уровнем точности (Underwood 1997)
- ANOVA менее устойчив к отклонениям от условий применимости (особенно от гомогенности дисперсий) при разных размерах групп (Quinn Keough 2002, section 8.3)
- ullet Проблемы с расчетом мощности. Если  $\sigma_{\epsilon}^2>0$  и размеры выборок разные, то  $rac{MS_x}{MS}$  не следует F-распределению (Searle et al. 1992).

- Старайтесь планировать группы равной численности!
- Но если не получилось не страшно:
  - Для фикс. эффектов неравные размеры проблема при нарушении условий применимости только, если значения доверительной вероятности p близки к выбранному критическому уровню значимости  $\alpha$

# Многофакторный дисперсионный анализ в R

## Задаем модель со взаимодействием в R

Взаимодействие обозначается: — двоеточием

Если есть факторы А и В, то их взаимодействие А:В

Для такой модели 
$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Формула модели со взаимодействием:

$$Y \sim A + B + A:B$$

Сокращенная запись такой же модели обозначает, что модель включает все главные эффекты и их взаимодействия:

$$Y \sim A*B$$

Внимание: при использовании III типа сумм квадратов, нужно при подборе линейной модели **обязательно указывать тип кодирования для** факторов. В данном случае — contrasts = list(Age = contr.sum, Process = contr.sum)

#### Задание 2

Дополните этот код, чтобы подобрать линейную модель со взаимодействием факторов, в которой используется нужный тип кодирования для факторов: contrasts = list(Age = contr.sum, Process = contr.sum)

# Линейная модель дисперсионного анализа со взаимодействием факторов mem\_mod <- lm(formula = , data = , contrasts = list(Age = contr.sum, Process = contr.sum))

#### Решение

```
# Линейная модель дисперсионного анализа со взаимодействием факторов mem_mod <- lm(formula = Words ~ Age * Process, data = memory, contrasts = list(Age = contr.sum, Process = contr.sum))
```

# **Проверим, выполняются ли условия применимости** дисперсионного анализа

- Есть ли гомогенность дисперсий?
- Не видно ли паттернов в остатках?
- Нормальное ли у остатков распределение?

## Данные для анализа остатков

```
mem_diag <- fortify(mem_mod)
head(mem_diag)

# Words Age Process .hat .sigma .cooksd .fitted .resid .stdresid
# 1 8 Younger Counting 0.1 2.843878 0.003461166 6.5 1.5 0.5581263
# 2 6 Younger Counting 0.1 2.848264 0.000384574 6.5 -0.5 -0.1860421
# 3 4 Younger Counting 0.1 2.848264 0.000384574 6.5 -2.5 -0.9302104
# 4 6 Younger Counting 0.1 2.848264 0.000384574 6.5 -0.5 -0.1860421
# 5 7 Younger Counting 0.1 2.848264 0.000384574 6.5 0.5 0.1860421
```

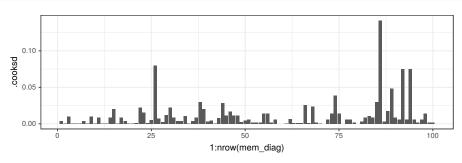
6 Younger Counting 0.1 2.848264 0.000384574

# 6

6.5 -0.5 -0.1860421

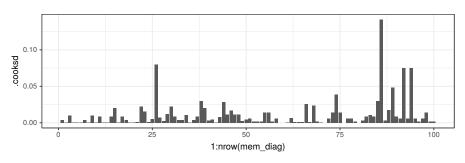
## График расстояния Кука

```
ggplot(data = mem_diag, aes(x = 1:nrow(mem_diag), y = .cooksd)) +
  geom_bar(stat = "identity")
```



## График расстояния Кука

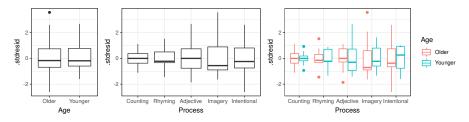
```
ggplot(data = mem_diag, aes(x = 1:nrow(mem_diag), y = .cooksd)) +
  geom_bar(stat = "identity")
```



• Влиятельных наблюдений нет

## Графики остатков от предикторов в модели

```
ggplot(data = mem_diag, aes(x = Age, y = .stdresid)) +
  geom_boxplot()
ggplot(data = mem_diag, aes(x = Process, y = .stdresid)) +
  geom_boxplot()
ggplot(data = mem_diag, aes(x = Process, y = .stdresid, colour = Age)) +
  geom_boxplot()
```

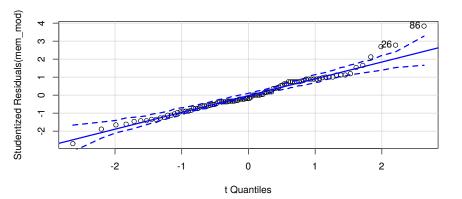


 маленький разброс остатков в группах Counting и Rhyming у обоих возрастов

# Квантильный график остатков

```
library(car)
qqPlot(mem_mod)
```

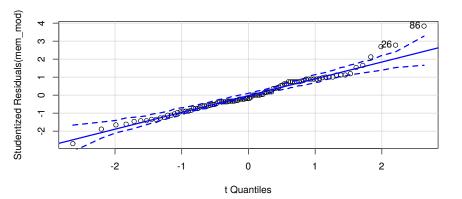
# [1] 26 86



# Квантильный график остатков

```
library(car)
qqPlot(mem_mod)
```

# [1] 26 86



## Результаты дисперсионного анализа

```
# Anova() из пакета car
Anova (mem mod, type = 3)
# Anova Table (Type III tests)
# Response: Words
#
             Sum Sq Df F value Pr(>F)
# (Intercept) 13479.2 1 1679.5361 < 2.2e-16 ***
      240.3 1 29.9356 0.0000003981 ***
# Age
# Process 1514.9 4 47.1911 < 2.2e-16 ***
# Age:Process 190.3 4 5.9279 0.0002793 ***
# Residuals 722.3 90
# ---
# Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

#### Результаты дисперсионного анализа

```
# Anova() из пакета car
Anova (mem mod, type = 3)
# Anova Table (Type III tests)
 Response: Words
#
             Sum Sq Df F value Pr(>F)
# (Intercept) 13479.2 1 1679.5361 < 2.2e-16 ***
      240.3 1 29.9356 0.0000003981 ***
# Age
# Process 1514.9 4 47.1911 < 2.2e-16 ***
# Age:Process 190.3 4 5.9279 0.0002793 ***
# Residuals 722.3 90
# ---
# Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

- Взаимодействие значимо, факторы отдельно можно не тестировать, так как взаимодействие может все равно изменять их эффект до неузнаваемости.
- Нужно делать пост хок тест по взаимодействию факторов.

# Вычислительный трюк для пост хок теста по взаимодействию факторов

Пост хок тест для взаимодействия факторов делается легче всего "обходным путем".

- Создаем переменную-взаимодействие.
- Подбираем линейную модель зависимости переменной-отклика от переменной-взаимодействия, но без свободного члена. Коэффициенты такой модели будут кодировать средние значения отклика в группах, заданных переменной-взаимодействием, т.е. именно те средние значения, которые нам нужно сравнить.
- З Делаем пост хок тест для этой модели.

#### Задание 3

Дополните этот код, чтобы посчитать пост хок тест Тьюки по взаимодействию факторов.

#### Решение

#### Смотрим на результаты пост хок теста

В виде таблицы результаты нечитабельны Лучше построить график.

```
Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses
# Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts
# Fit: lm(formula = Words ~ AgeProc - 1, data = memory)
# Linear Hypotheses:
                                               Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
# Younger.Counting - Older.Counting == 0
                                                  -0.500
                                                              1.267
                                                                     -0.395
                                                                            1.00000
# Older.Rhyming - Older.Counting == 0
                                                  -0.100
                                                              1.267
                                                                     -0.079
                                                                             1.00000
# Younger.Rhyming - Older.Counting == 0
                                                  0.600
                                                              1.267
                                                                      0.474
                                                                             0.99998
# Older.Adjective - Older.Counting == 0
                                                  4.000
                                                              1.267
                                                                      3.157
                                                                             0.06347
                                                              1.267
# Younger.Adjective - Older.Counting == 0
                                                  7.800
                                                                      6.157
                                                                             < 0.001
# Older.Imagery - Older.Counting == 0
                                                  6.400
                                                              1.267
                                                                      5.052
                                                                             < 0.001 ***
                                                              1.267
# Younger.Imagery - Older.Counting == 0
                                                  10.600
                                                                      8.367
                                                                             < 0.001 ***
                                                              1.267
# Older.Intentional - Older.Counting == 0
                                                  5.000
                                                                      3.947
                                                                             0.00581 **
# Younger.Intentional - Older.Counting == 0
                                                  12.300
                                                              1.267
                                                                      9.709
                                                                             < 0.001 ***
# Older.Rhyming - Younger.Counting == 0
                                                   0.400
                                                              1.267
                                                                      0.316
                                                                            1.00000
# Younger.Rhyming - Younger.Counting == 0
                                                  1.100
                                                              1.267
                                                                      0.868
                                                                             0.99704
                                                   4.500
                                                              1.267
# Older.Adjective - Younger.Counting == 0
                                                                      3.552
                                                                             0.02079 *
# Younger.Adjective - Younger.Counting == 0
                                                   8.300
                                                              1.267
                                                                      6.551 < 0.001 ***
                                                  6.900
                                                              1.267
                                                                             < 0.001 ***
# Older.Imagery - Younger.Counting == 0
                                                  11.100
                                                              1.267
                                                                      8.761 < 0.001 ***
# Younger.Imagery - Younger.Counting == 0
# Older.Intentional - Younger.Counting == 0
                                                  5.500
                                                              1.267
                                                                      4.341 0.00154 **
# Younger.Intentional - Younger.Counting == 0
                                                  12.800
                                                              1.267
                                                                     10.103 < 0.001 ***
                                                  0.700
                                                              1.267
                                                                      A 553 A 99992
# Younger.Rhyming - Older.Rhyming == 0
# Older.Adjective - Older.Rhyming == 0
                                                  4.100
                                                              1.267
                                                                      3.236 0.05146 .
# Younger.Adjective - Older.Rhyming == 0
                                                  7.900
                                                              1.267
                                                                      6.236
                                                                            < 0.001 ***
# Older.Imagery - Older.Rhyming == 0
                                                  6.500
                                                              1.267
                                                                      5.131 < 0.001 ***
# Younger.Imagery - Older.Rhyming == 0
                                                  10.700
                                                              1.267
                                                                      8.446
                                                                            < 0.001 ***
# Older.Intentional - Older.Rhyming == 0
                                                  5.100
                                                              1.267
                                                                      4.025
                                                                             0.00414 **
# Younger.Intentional - Older.Rhyming == 0
                                                  12.400
                                                              1 267
                                                                      9 787 < 0 001 ***
# Older.Adjective - Younger.Rhyming == 0
                                                  3.400
                                                              1.267
                                                                      2.684 0.19621
# Younger.Adjective - Younger.Rhyming == 0
                                                  7.200
                                                              1.267
                                                                      5.683 < 0.001 ***
# Older.Imagery - Younger.Rhyming == 0
                                                  5.800
                                                              1.267
                                                                      4.578 < 0.001 ***
# Younger.Imagery - Younger.Rhyming == 0
                                                  10.000
                                                              1.267
                                                                      7.893 < 0.001 ***
# Older.Intentional - Younger.Rhyming == 0
                                                  4.400
                                                              1.267
                                                                      3.473 0.02634 *
```

#### Данные для графиков

```
# Создаем все сочетания значений факторов при помощи expand.grid()

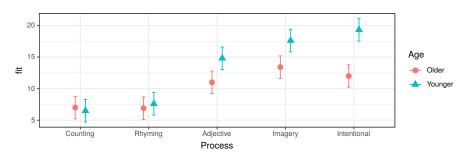
MyData <- expand.grid(
   Age = levels(memory$Age),
   # т.к. мы меняли порядок уровней для фактора Process, нужно это сохранить:
   Process = factor(levels(memory$Process), levels = levels(memory$Process)))
# Получаем предсказания для всех сочетаний значений факторов:

MyData <- data.frame(
   MyData,
   predict(mem_mod, newdata = MyData, interval = "confidence"))
head(MyData)
```

```
# Age Process fit lwr upr
# 1 Older Counting 7.0 5.220228 8.779772
# 2 Younger Counting 6.5 4.720228 8.279772
# 3 Older Rhyming 6.9 5.120228 8.679772
# 4 Younger Rhyming 7.6 5.820228 9.379772
# 5 Older Adjective 11.0 9.220228 12.779772
# 6 Younger Adjective 14.8 13.020228 16.579772
```

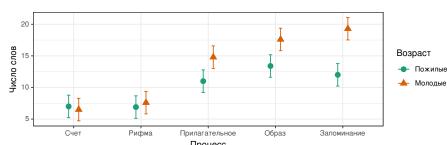
#### И наконец, можно построить график результатов

```
pos <- position_dodge(width = 0.3)
gg_pointp <- ggplot(data = MyData, aes(x = Process, y = fit, colour = Age)) +
    geom_point(aes(shape = Age), size = 3, position = pos) +
    geom_errorbar(aes(ymin = lwr, ymax = upr), width = 0.1, position = pos)
gg_pointp</pre>
```



### Приводим график в приличный вид

gg\_final



### Фиксированные и случайные факторы

### Фиксированные и случайные факторы

Свойства	Фиксированные факторы	Случайные факторы
Уровни фактора	фиксированные, заранее определенные и потенциально воспроизводимые уровни	случайная выборка из всех возможных уровней
Используются для тестирования гипотез	о средних значениях отклика между уровнями фактора $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \ldots = \mu_i = \mu$	о дисперсии отклика между уровнями фактора $H_0: \sigma_{rand.fact.}^2 = 0$
Выводы можно экстраполировать	только на уровни из анализа	на все возможные уровни
Число уровней фактора	Осторожно! Если уровней фактора слишком много, то нужно подбирать слишком много коэффициентов — должно быть много данных	Важно! Для точной оценки $\sigma$ нужно нужно много уровней фактора — не менее 5

## Задание: Примеры фиксированных и случайных факторов

Опишите ситуации, когда эти факторы будут фиксированными, а когда случайными

- Несколько произвольно выбранных градаций плотности моллюсков в полевом эксперименте, где плотностью манипулировали.
- Фактор размер червяка (маленький, средний, большой) в выборке червей.
- Деление губы Чупа на зоны с разной степенью распреснения.

### Задание: Примеры фиксированных и случайных факторов

Опишите ситуации, когда эти факторы будут фиксированными, а когда случайными

- Несколько произвольно выбранных градаций плотности моллюсков в полевом эксперименте, где плотностью манипулировали.
- Фактор размер червяка (маленький, средний, большой) в выборке червей.
- Деление губы Чупа на зоны с разной степенью распреснения.
- Приведите другие примеры того, как тип фактора будет зависеть от проверяемых гипотез

## Внимание: сегодня говорили только про фиксированные факторы.

### Если есть случайные факторы - смешанные модели. О них в магистратуре.

Пакеты nlme и lme4

#### Книги:

- Pinheiro, J., Bates, D., 2000. Mixed-Effects Models in S and S-PLUS. Springer.
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., Walker, N., Saveliev, A.A., Smith, G.M., 2009. Mixed Effects Models and Extensions in Ecology With R. Springer.

#### Take home messages

- Многофакторный дисперсионный анализ позволяет оценить взаимодействие факторов. Если оно значимо, то лучше воздержаться от интерпретации их индивидуальных эффектов
- В случае, если численности групп неравны (несбалансированные данные), лучше использовать III тип сумм квадратов
- В зависимости от типа факторов (фиксированные или случайные) по разному формулируются гипотезы и рассчитывается F-критерий.

#### Дополнительные ресурсы

- Quinn, Keough, 2002, pp. 221-250
- Logan, 2010, pp. 313-359
- Sokal, Rohlf, 1995, pp. 321-362
- Zar, 2010, pp. 246-266