

Lecture 11 – 试验设计和方差分析

- 内容大纲
 - 试验/实验设计 Experimental Design
 - 两组以上数据比较
 - 方差分析 ANOVA
 - 多重比较 Planned & unplanned comparisons
 - 总结 Summary
 - R Lab & Discussion

生物统计学

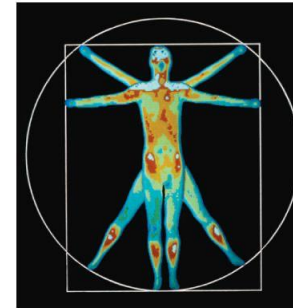
李 勤

生态与环境科学学院



1. 回顾——均值的比较

- t -检验
 - 一个样本的均值
 - $\mu ? = \mu_0$
 - 配对样本的均值
 - $\mu_d ? = 0$
 - 两个独立样本的均值
 - $\mu_1 ? = \mu_2$



Dr. Ray Clark FRPS & Mervyn de
Calcina-Goff FRPS/Science
Source



Gerald A. DeBoer/
Shutterstock.com



2. 试验设计 Experimental Designs

- 试验研究(Experimental study)的目的：因果推断
 - *vs.* 观察研究 (Observational study) —— 相关性推断
- 试验设计的黄金原则：临床试验 (clinical trial)
 - 针对人体进行的两个或两个以上处理的试验；
- 非人体试验 (按地点区分)
 - 实验室试验 laboratory experiments
 - 野外试验 field experiments



2.1 试验设计的原则

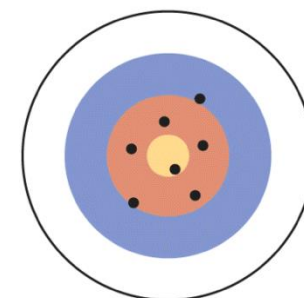
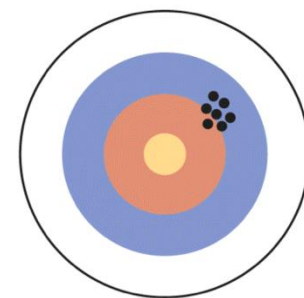
- 两项重要原则

- 减少偏差

- 偏差 (**bias**) 是我们获得的估计值与真实的总体参数之间的系统性差异 (低估或高估) ;

- 减少抽样误差

- 抽样误差 (**sampling error**) 是指由抽样引起的估计值与真实值 (正在估计的总体参数) 之间的偶然差异 (chance difference) ;

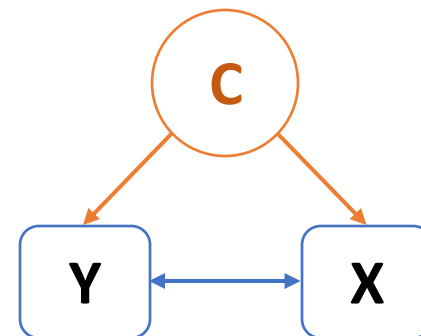


2.1 试验设计的原则

- 试验单元 (experimental unit)
 - 等同于抽样单元;
 - 相互独立的一个或一组个体 (接受相同或不同的处理) ;
- 一个好的试验
 - 会将不同处理随机分配给多个独立的试验单元;

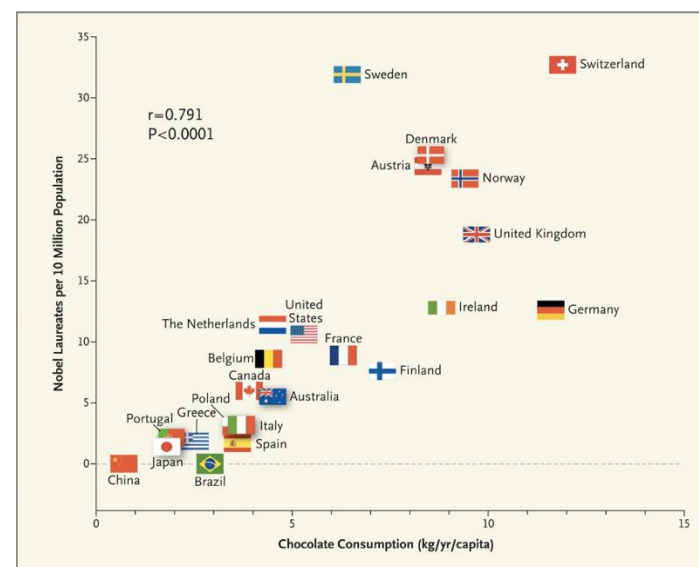
2.2 试验设计的原则1 — 减少偏差

- 目的：测量值能准确反应试验中（感兴趣的）处理的效应；
 - 排除混淆变量对判断试验处理效应影响；
 - E.g., 巧克力和诺贝尔奖
 - 混淆变量：confounding factors（与变量X与Y均相关）



- 方法/措施

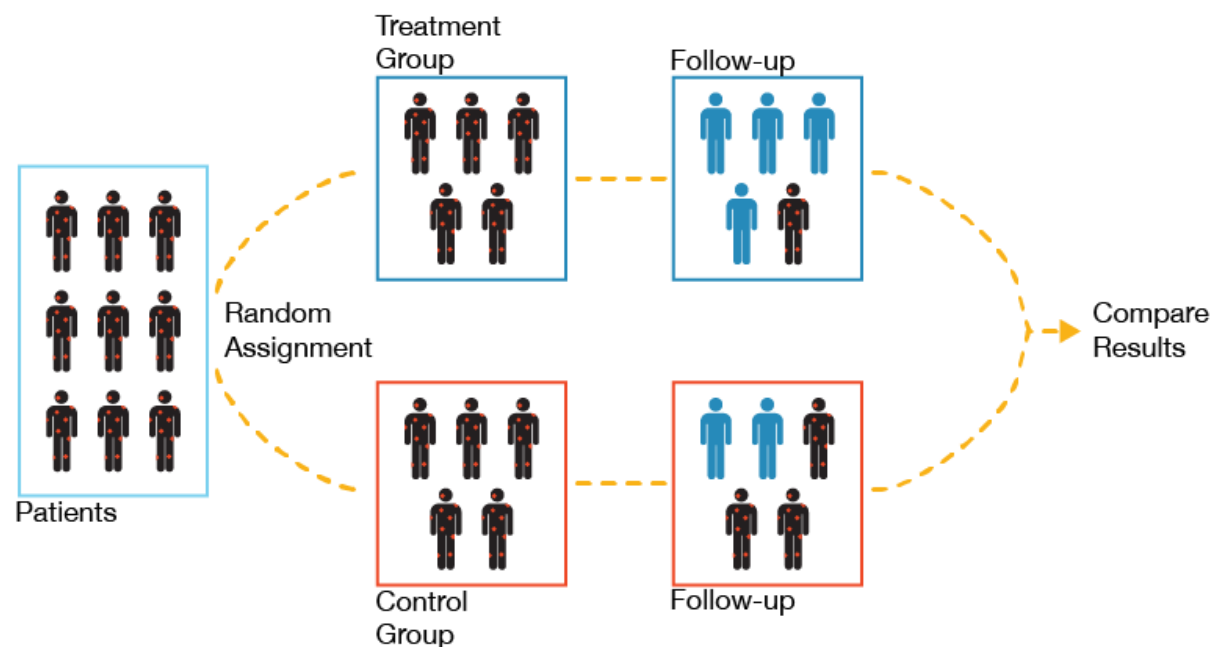
- 1. 对照组 (a simultaneous control group)
- 2. 随机化 (randomization)
- 3. 单盲或双盲 (blinding)



2.2 试验设计的原则1 — 减少偏差

• 1. 对照组

- **同时**设置感兴趣的处理组和对照组；
- 原因：安慰剂效应、测试效应、时间差异等；
- 做法：
 - 临床试验：
 - 安慰剂、生理盐水等；
 - 实验室试验：
 - 类似的处理方式；
 - 野外试验：
 - 理论上需要类似的处理方式；











2.2 试验设计的原则1 — 减少偏差

• 2. 随机化

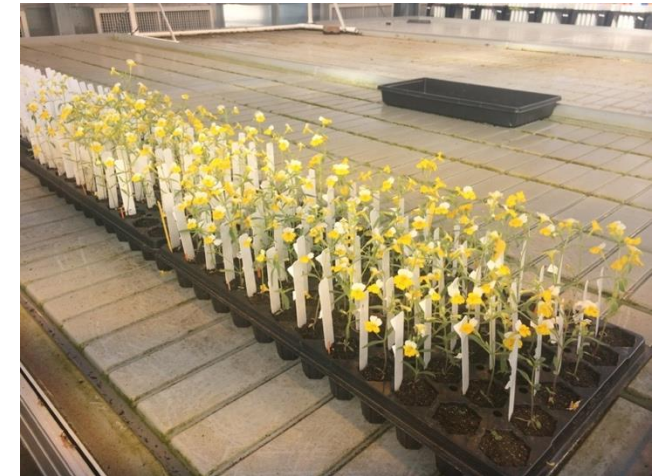
- 不同处理应随机地对样本个体进行实施；
- 目的：并非完全去除混淆变量的影响，而是去除这类因子与处理之间的相关性；
 - 让这种相关性更加均匀地分散在不同处理组中，从而避免偏差；

• 方法

- 采用随机数生成器来将不同处理分配给不同的试验单元；
- e.g., `sample()`

Experimental unit								
Random number	11	18	87	55	76	70	90	4
Treatment	A	A	B	A	B	B	B	A

Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company



2.2 试验设计的原则1 — 减少偏差

• 3. 单盲或双盲

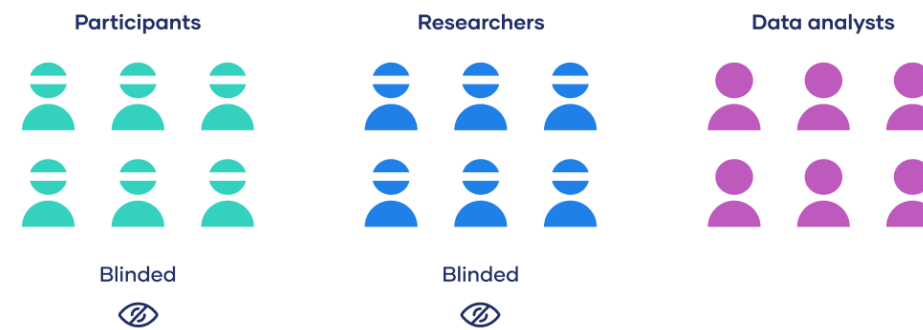
- 目的：去除主观性可能导致的偏差；
 - 如主观判断、过多关注等造成的夸张效应
 - 相比双盲实验：27% ↑
- (1) 单盲试验
 - 试验单元（样本个体）不应知晓何种处理；
- (2) 双盲试验
 - 试验单元及试验操作者不应知晓何种处理；
 - E.g., 编码标签；



Single-blind study



Double-blind study



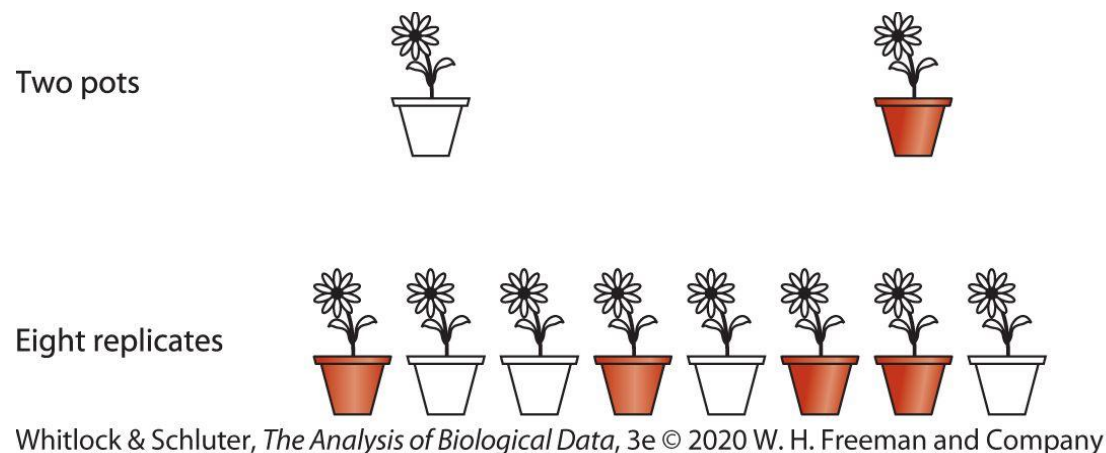
2.2 试验设计的原则2 — 减少抽样误差

- 目的：维持稳定的试验条件；
 - 环境的一致性：温湿度等（当这些因子不是感兴趣的处理时）；
 - 试验单元的一致性：同一性别、年龄、基因型等；
 - 让结论具有普适性；
- 方法/措施
 - 1. 重复单元 (replication)
 - 2. 平衡样本 (balance)
 - 3. 设置组别 (blocking)

2.2 试验设计的原则2 — 减少抽样误差

• 1. 重复单元

- 多个重复试验单元构成所需样本；
- 排除单元个体间差异对处理效应的影响；
- 原则上，大样本具有更小的标准误以及可获得假设检验的准确结论；



2.2 试验设计的原则2 — 减少抽样误差

• 2. 平衡样本

- 不同处理组具有相同的样本量;

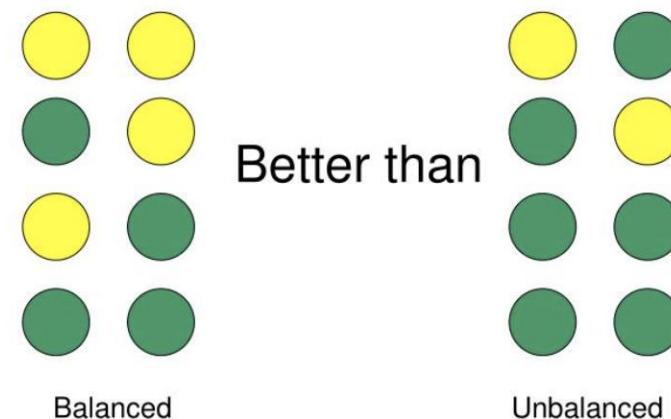
- 平衡 balanced = same sample size

- 当 $n_1 = n_2$ 时, SE最小;

- 均值差异的标准误: $SE_{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2} = \sqrt{s_p^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$

- 合并方差 (pooled sample variance): $s_p^2 = \frac{df_1 s_1^2 + df_2 s_2^2}{df_1 + df_2}$

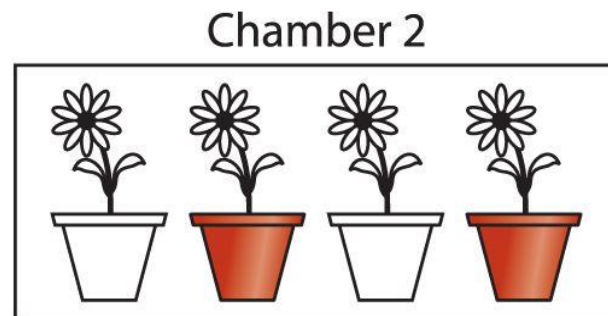
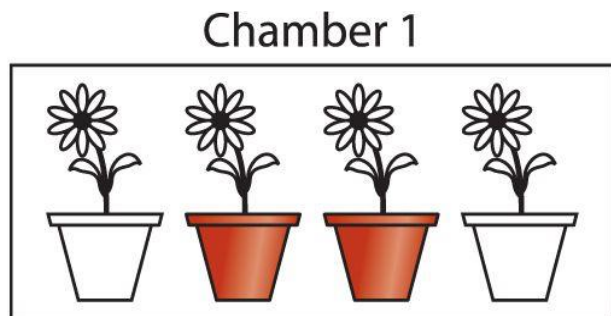
- 尤其在样本总量固定的条件下;



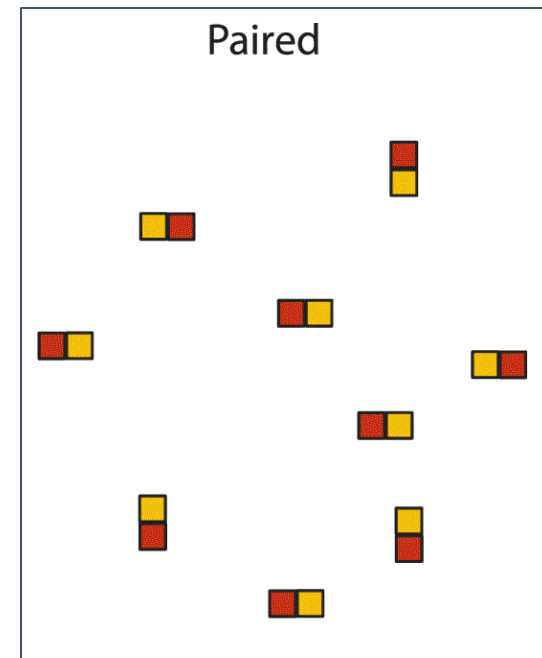
2.2 试验设计的原则2 — 减少抽样误差

• 3. 设置组别

- 排除其它存在变异的因素的影响；
 - E.g., 空间位置、就诊医院、同窝后代、同天的实验等；
- 组别内相对均质，且设置各处理的试验单元；
- 处理间的差异也在组别内进行评估；
 - 配对样本即组别设置；



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company





2.3 课堂讨论

- Q1. 以下措施有助于试验设计中的哪个目标，即减少偏差还是抽样误差？
 - a. 使用基因型一致的动物种群来测试处理效果
 - b. 使用完全随机化的设计
 - c. 将相关的实验单元分组在一起
 - d. 在不知道分配给实验单元的处理类型的情况下进行响应变量的测量
 - e. 使用计算机在每个组别内随机分配处理类型给实验单元

3. 补充阅读——试验设计的样本大小

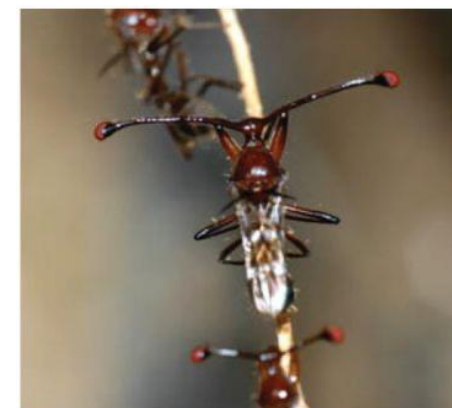
- 试验单元的多少？
 - 影响因素：
 - 成本
 - 是否能检测出预期效果
 - 置信区间的估计
- 探讨样本大小的目标
 - 达到预定的精度（precision）；
 - 达到预定的功效（power）；

3.1 达到预期的精度

- 设定预期的精确度
 - 即设定可以接受的不确定性
- 对两个处理组之间差异的估计
 - 总体的差异： $\mu_1 - \mu_2$
 - 样本的估计（95%的置信区间）： $(Y_1 - Y_2) \pm \text{margin error}$
- 样本量的估计
 - $n = 8\left(\frac{\sigma}{\text{margin error}}\right)^2$
 - σ ：两个总体的标准差（方差和标准差均相等）；
 - n ：两个样本大小相等；
 - margin error：误差边际，即置信区间的一半（2SE法则）

3.1 达到预期的精度

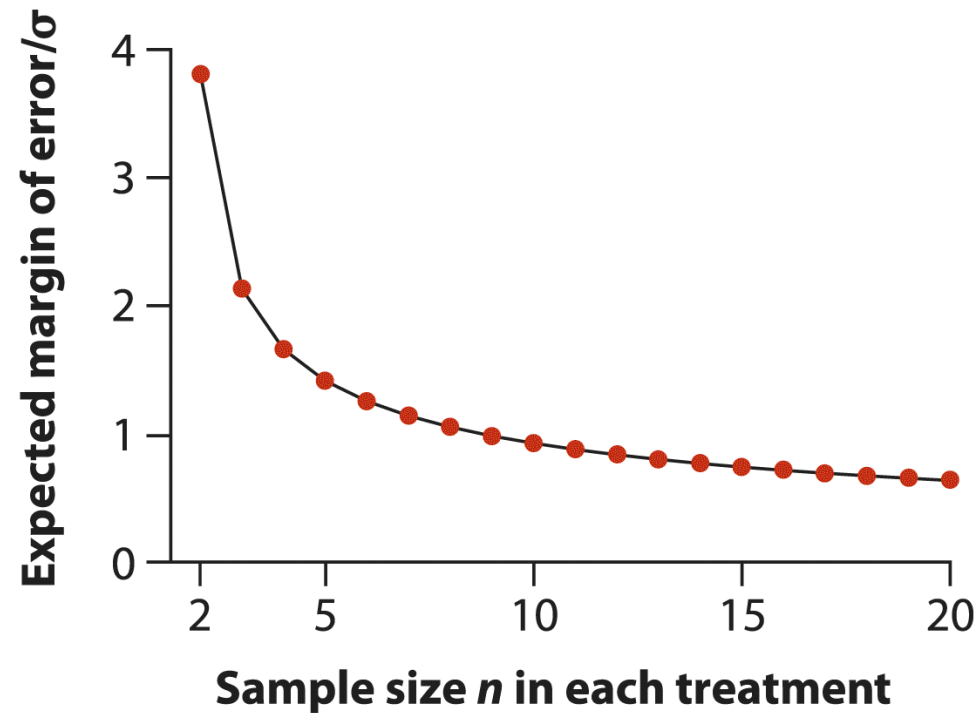
- 样本量的估计
 - σ 通常未知，需要通过前期经验/研究或预试验来设定；
- 例子：diet effects on stalk-eyed flies 饮食对杆状眼蝇的影响
 - 假定我们期望获得的误差边际为0.1mm；
 - 依据EXAMPLE 11.2: Eye to eye 的估计： $s = 0.398$;
 - $n = 8\left(\frac{\sigma}{\text{margin error}}\right)^2 = 8 \times \left(\frac{0.398}{0.1}\right)^2 = 128$
- 如若两个处理组，总样本为 $2n = 256$



Zimmer, C. *Evo Edu Outreach* (2008) 1: 487. <https://doi.org/10.1007/s12052-008-0089-9>.
Photo courtesy of Gerald Wilkinson, University of Maryland

3.1 达到预期的精度

- 样本量的估计
 - σ 通常未知，需要通过前期经验/研究或预试验来设定；
 - 如果总体的 σ 大，则需要大样本来获取高精度度；



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company

3.2 达到预期的功效

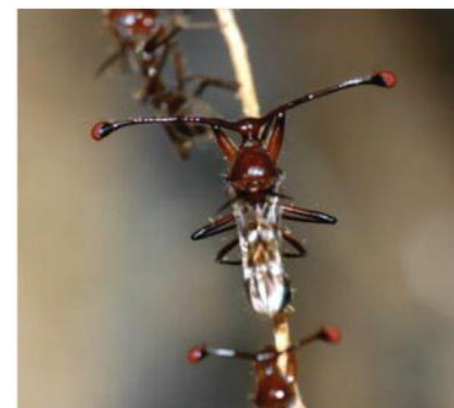
- 功效和样本量

- $H_0: \mu_1 = \mu_2; \quad H_A: \mu_1 \neq \mu_2;$
- 当 $|\mu_1 - \mu_2| \geq D$ 时, 我们认为达到了足够的功效;
 - D 不是真实的组间差异, 而是我们关心的某个临界值;
- 统计检验中, 通常需要功效达到0.8以上;

- 样本量的估计

- $n \approx 16\left(\frac{\sigma}{D}\right)^2$
 - (更多请查看Section 14.8 Quick Formula Summary)
- 若设定 $D = 0.2 \text{ mm}$, 则

- $n \approx 16\left(\frac{0.398}{0.2}\right)^2 = 64$



Zimmer, C. *Evo Edu Outreach* (2008) 1: 487. <https://doi.org/10.1007/s12052-008-0089-9>.
Photo courtesy of Gerald Wilkinson, University of Maryland

4. 方差分析 ANOVA

- ANOVA: the analysis of variance
- 目的: 同时比较2组以上的组间均值;
 - 多次两组间比较 (t -test) 会造成犯I类错误的概率急剧增大;
 - $1 - (1 - \alpha)^n$
- One-way ANOVA vs. Two-way ANOVA
 - 一个解释变量 vs. 两个解释变量



4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 例子: [EXAMPLE 15.1: The knees who say night](#)

- 昼夜节律的调整 (circadian clock)

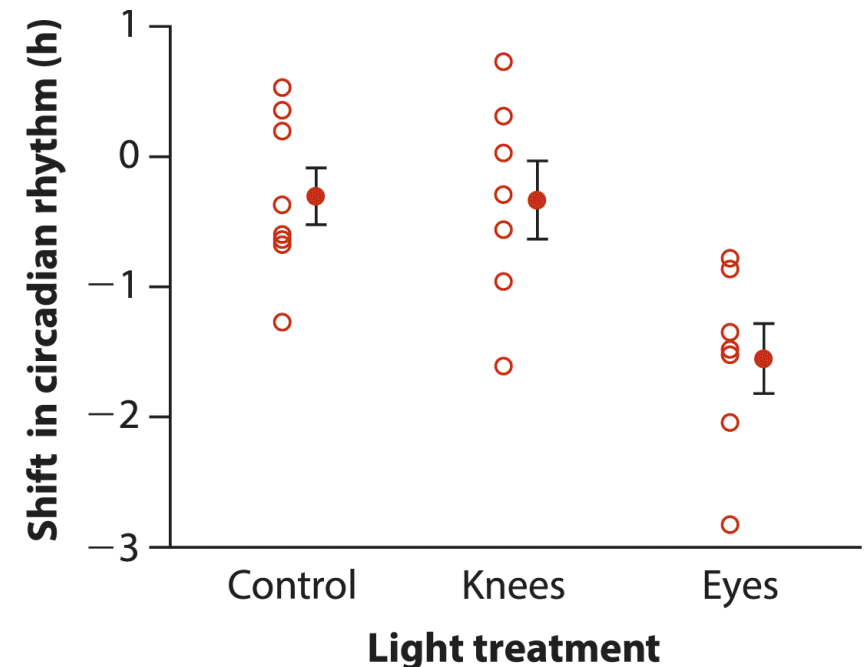
- 有研究提出对膝盖后侧的强光照射有助于调整时差;
- 重新的调查: 三个处理组间是否存在差异?
 - 强光对身体特定部位的照射 (3hrs) ;
 - 测量褪黑素分泌周期的相位移动;

```
> circadian %>% group_by(treatment) %>%  
+   summarise(mean = mean(shift),  
+             sd = sd(shift),  
+             n = n())  
# A tibble: 3 × 4  
  treatment    mean    sd     n  
  <chr>      <dbl> <dbl> <int>  
1 control   -0.309 0.618     8  
2 eyes     -1.55  0.706     7  
3 knee     -0.336 0.791     7
```



Oscar Burriel/Science Source

如何进行假设检验?



4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 例子: [EXAMPLE 15.1: The knees who say night](#)

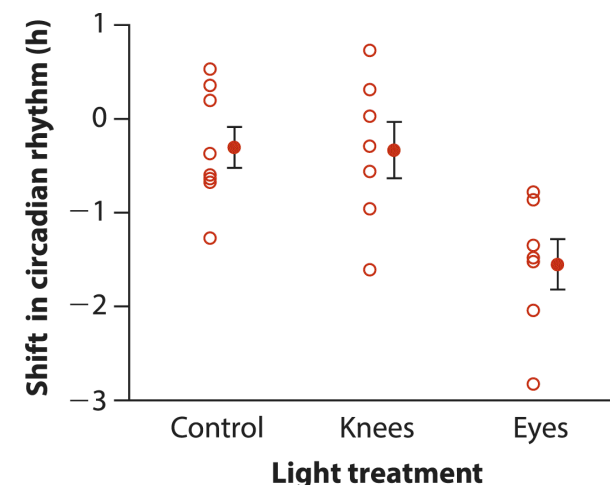
- 昼夜节律的调整 (circadian clock)

- 三个处理组间是否存在差异?

- 假设检验

- 零假设和备择假设

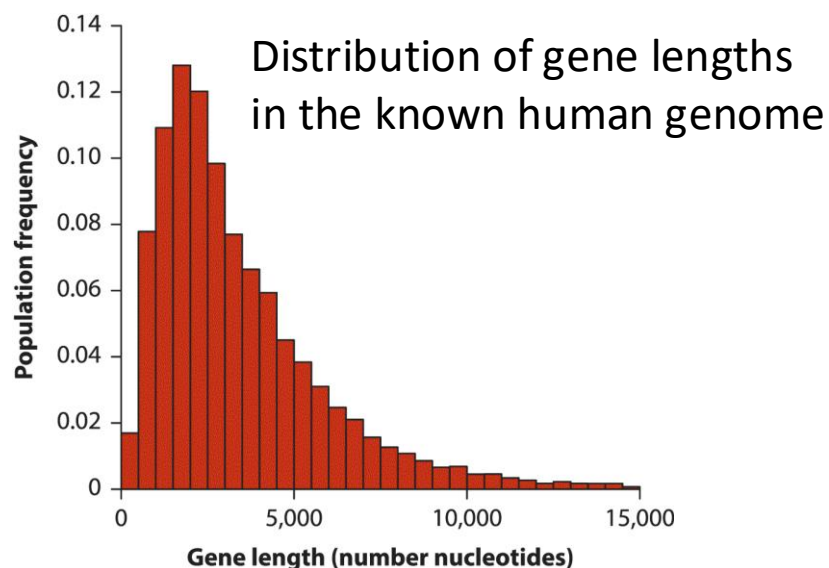
- $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3;$
 - H_A : at least one μ_i is different;
 - 至少有一组的均值与其它组显著不同, 并非一定是 $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$;
 - $\mu_1 = \mu_2 \neq \mu_3$
 - $\mu_1 \neq \mu_2 = \mu_3$
 - $\mu_1 = \mu_3 \neq \mu_2$



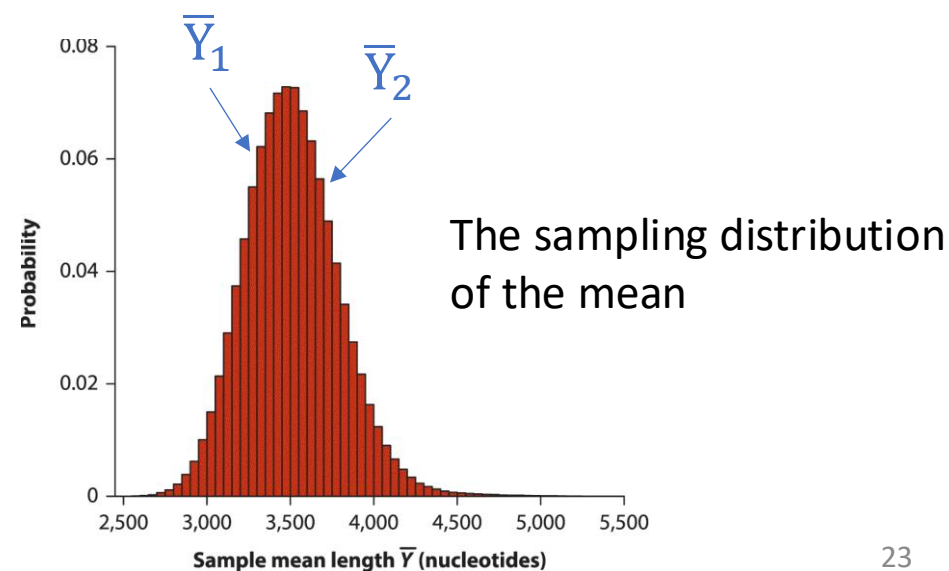
Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company

4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 数据中的变异 variance
 - 总体 vs 样本
 - 即使不同总体的均值相等，但由于抽样误差的存在，基于样本计算的均值可能呈现为不同的值；
 - 意味着数值变异的来源之一是抽样误差；



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company

4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 数据中的变异

- 组间变异和组内变异：变异的分解

- 如果不同总体（不同处理组）的均值相等，也就是零假设成立时：

- 组间变异和组内变异一样，即组间差异无显著不同；

- within-groups variance = among-groups variance

- 如果不同总体（不同处理组）的均值不相等，也就是零假设不成立时：

- 组间变异和组内变异不一样，即组间差异显著不同；

- within-groups variance \neq among-groups variance

4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 方差分析的基本思想：组间变异和组内变异的比较
 - 不同处理组的样本均值之间的变异是否大于抽样误差导致的变异？
 - 后者即因偶然性所预期的差异；
 - 如果组间变异 > 组内变异，则可推断不同总体的均值间存在真正的差异；
 - 即拒绝零假设；

4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 方差分析的基本思想：组间变异和组内变异的比较
 - 变异的衡量：均方 (mean squares)
 - 组间变异——组间均方： MS_{groups} (group mean squares)
 - 衡量了由组间的差异所造成的数据中的变异；
 - 组内变异——组内均方： MS_{error} (the error mean squares)
 - 衡量了各组内的数据变异；

4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 变异分解(Partitioning the sum of squares)

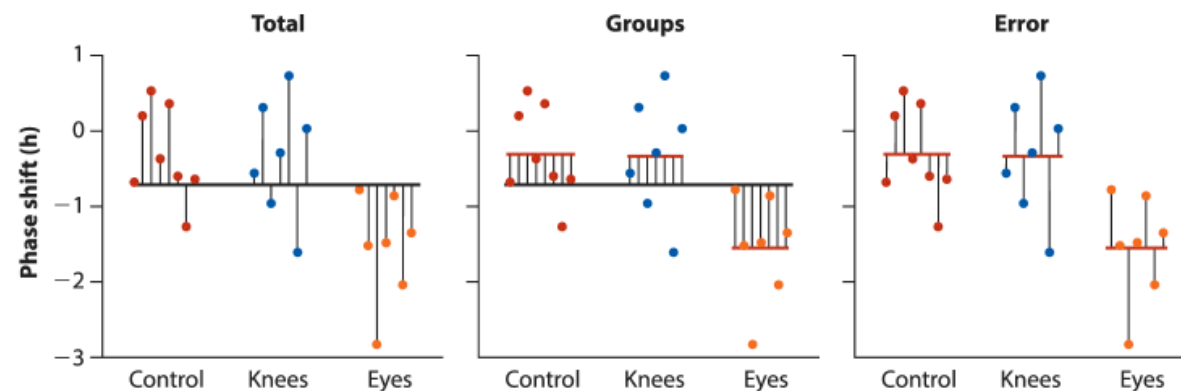
- SS: sum of squares

- $SS_{\text{total}} = SS_{\text{groups}} + SS_{\text{error}}$

- $SS_{\text{total}} = \sum_i \sum_j (Y_{ij} - \bar{Y})^2$

- $SS_{\text{groups}} = \sum_i n_i (\bar{Y}_i - \bar{Y})^2$

- $SS_{\text{error}} = \sum_i \sum_j (Y_{ij} - \bar{Y}_i)^2$



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company

- 其中:

- $\bar{Y} = \sum_i n_i \bar{Y}_i / N$: 总体均值/ grand mean; N 为总样本量;
- Y_{ij} : 各个观察值/测量值; i 为第 i 个处理组, j 为该组内第 j 个个体;
- $\bar{Y}_i = \sum_j Y_{ij} / n_i$: 第 i 个处理组的均值; n_i 为第 i 个处理组的样本量;

4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 变异分解：均方 mean squares
 - 组间均方 (the group mean squares)
 - $MS_{\text{groups}} = \frac{SS_{\text{groups}}}{df_{\text{groups}}}$
 - $df_{\text{groups}} = k - 1$, 其中: k 为组数 (number of groups)
 - 衡量了由组间的差异所造成的数据中的变异;
 - 组内均方 (the error mean squares)
 - $MS_{\text{error}} = \frac{SS_{\text{error}}}{df_{\text{error}}}$
 - $df_{\text{error}} = \sum_i (n_i - 1) = N - k$
 - 衡量了各组内的数据变异, 类似 pooled sample variance;
 - Assumption: $\sigma_1 = \sigma_2 = \sigma_3$

4.1 ANOVA方差分析的步骤

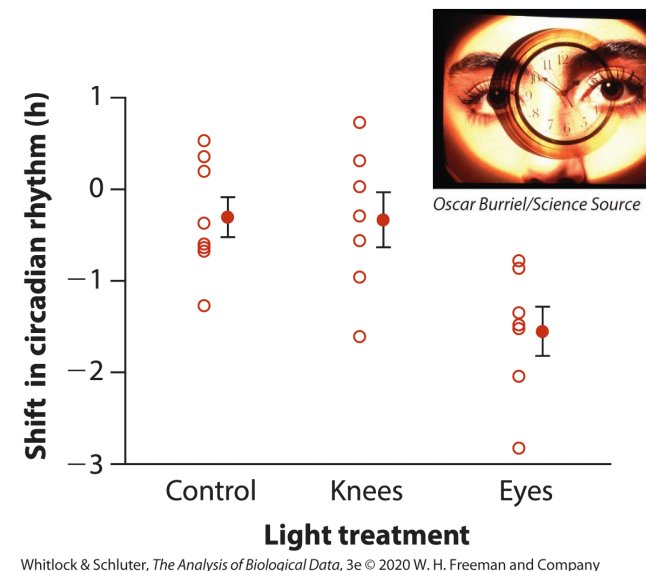
- 例子： [EXAMPLE 15.1: The knees who say night](#)
 - 昼夜节律：三个处理组间是否存在差异？
 - 假设检验
 - H_0 : 三组总体的均值相同；
 - H_A : 至少有一个总体的均值与其它组不同；
 - 变异的衡量

- $MS_{\text{groups}} = \frac{7.224}{3-1} = 3.6122$

- $MS_{\text{error}} = \frac{9.415}{22-3} = 0.4955$

- 检验统计量： F

- $F = \frac{MS_{\text{groups}}}{MS_{\text{error}}} = \frac{3.6122}{0.4955} = 7.29$



```
circadianAnova <- lm(shift ~ treatment, data = circadian)
anova(circadianAnova)
```

```
## Analysis of Variance Table
##
## Response: shift
##           Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
## treatment  2  7.2245   3.6122  7.2894 0.004472 **
## Residuals 19  9.4153   0.4955
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

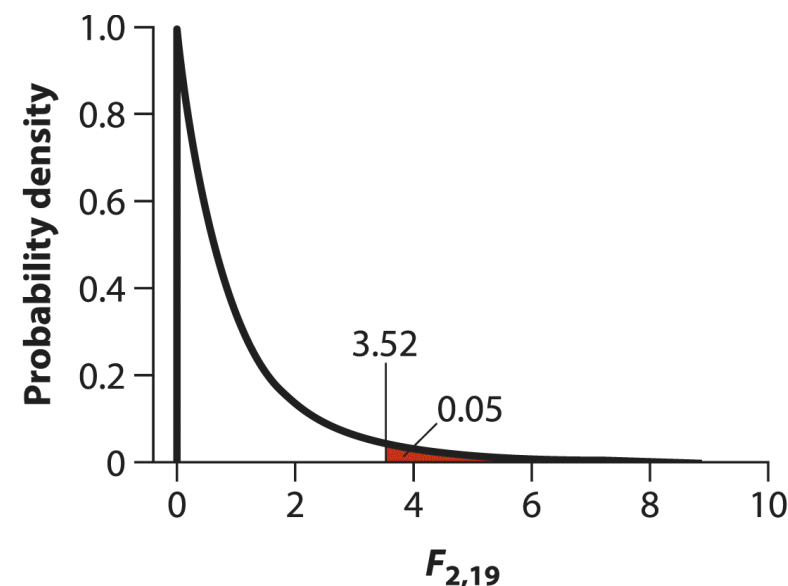
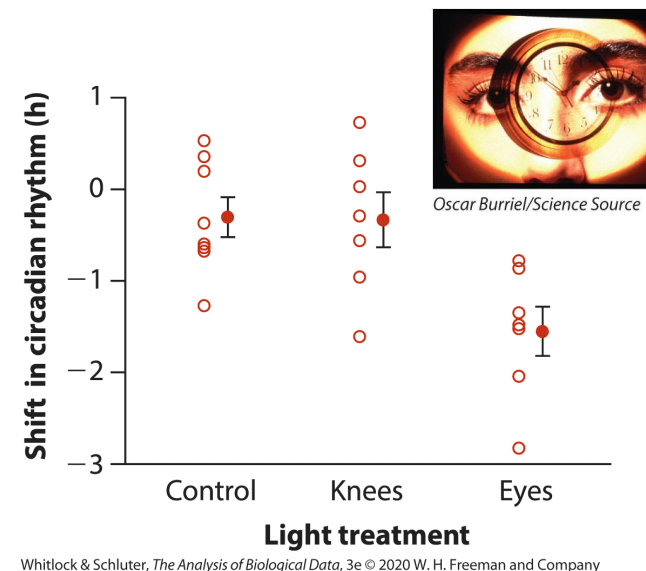
4.1 ANOVA方差分析的步骤

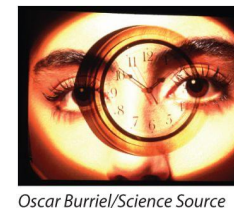
- 例子： **EXAMPLE 15.1: The knees who say night**
 - 昼夜节律：三个处理组间是否存在差异？
 - 假设检验
 - H_0 : 三组总体的均值相同；
 - H_A : 至少有一个总体的均值与其它组不同；
 - 检验统计量：

$$F = \frac{MS_{\text{groups}}}{MS_{\text{error}}} = \frac{3.6122}{0.4955} = 7.29$$

- **P值**：与 F 分布进行比较

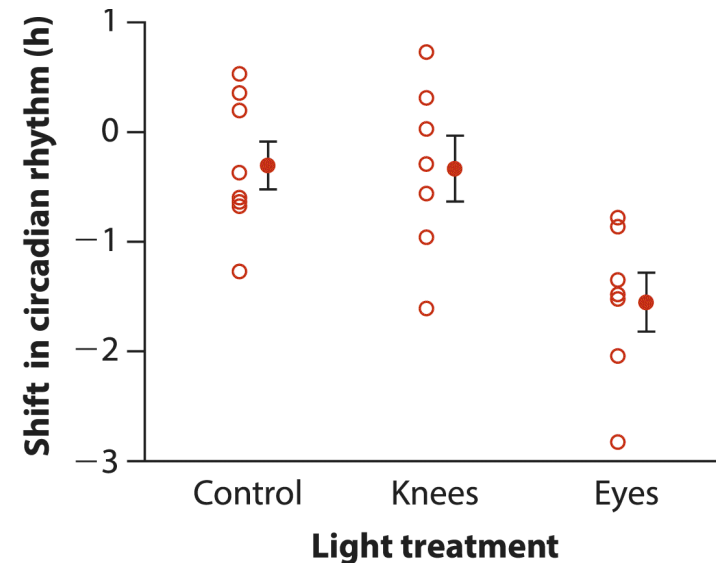
- $F \sim F_{\alpha(1), df_{\text{group}}, df_{\text{error}}} = F_{0.05(1), 2, 19}$
 - F 是否显著大于1？
 - “(1)”表示单侧检验（查看 F 分布的右侧）





4.1 ANOVA方差分析的步骤

- 例子： [EXAMPLE 15.1: The knees who say night](#)
 - 昼夜节律：三个处理组间是否存在差异？
 - 假设检验
 - H_0 : 三组总体的均值相同；
 - H_A : 至少有一个总体的均值与其它组不同；
 - 检验统计量：
 - $F = \frac{MS_{\text{groups}}}{MS_{\text{error}}} = \frac{3.6122}{0.4955} = 7.29$
 - P值：与F分布进行比较
 - $P = 0.0045 < 0.05$
 - 结论：拒绝零假设
 - 至少有一组的总体均值与其它组的均值不同；



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company

4.2 ANOVA方差分析的前提假设

- ANOVA的前提假设 assumptions
 - 随机样本 (random samples)
 - 变量在每组总体中均呈正态分布 (normal distributions)
 - 每组总体的方差相等 (same variance)
- ANOVA的稳健性
 - 当样本量较大时，变量偏离正态分布时ANOVA也可以得出可靠结论；
 - 可进行数据转化来查看是否满足正态分布；
 - 当样本量较大且各组样本接近时，方差差异不超过10倍时ANOVA也可以得出可靠结论；

4.3 ANOVA方差分析相关的其它衡量指标

- R^2 (R-squared)

- $R^2 = \frac{SS_{\text{groups}}}{SS_{\text{total}}}$

- 理解为：变异被“不同组”解释的比例

- the “fraction of the variation in Y that is explained by groups”

- 例子：昼夜节律的三个处理组

- $R^2 = \frac{7.224}{16.639} = 0.43$

- 即43%的变异可以被处理组间的差异解释；

4.4 两组间的ANOVA方差分析

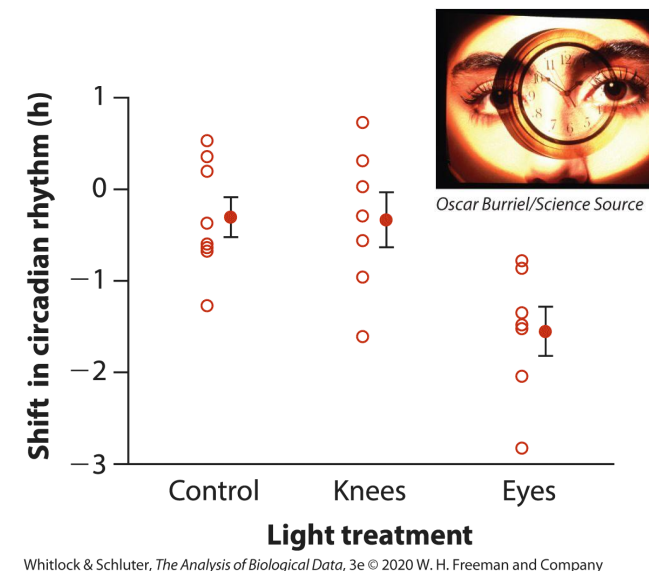
- 当 $k = 2$ 时,
 - ANOVA 和 t -test 会得到相同的结论;
- 不同点
 - t -test 可以被扩展到更泛的检验中, 比如:
 - $\mu_1 = \mu_2$, 或
 - $\mu_1 - \mu_2 = 10$
 - 当两组间的方差极为不一致时可以应用 Welch's t -test ;

5. 两组以上的多重比较

- 配对比较/多重比较
 - 计划比较 Planned comparison
 - 试验设计时对明确感兴趣的组间进行比较（特定的）
 - 需要充足的理由
 - 事后多重比较 Unplanned comparison
 - 多组间的两两配对比较，来找到有差异的处理组（探索性的）
 - 需要明确对犯I类错误的概率的矫正

5.1 计划比较 Planned comparisons

- 计划比较：对进行比较的处理组有明确的考量；
 - 例子：EXAMPLE 15.1: The knees who say night
 - 一开始的目标是要看对Knee强光照射是否影响昼夜节律；
 - 一组比较：Control vs. Knee ($\mu_1? = \mu_2$)
 - 基于 t 统计量来进行检验和计算置信区间，其中SE有矫正；
 - 优势：比两样本 t -检验有更高精确度（更窄的置信区间）



$$SE = \sqrt{MS_{\text{error}} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

```
circadianPlanned <- contrast(circadianPairs, method = "pairwise", adjust = "none")
```

```
circadianPlanned
```

##	contrast	estimate	SE	df	t.ratio	p.value
##	control - knee	0.027	0.364	19	0.074	0.9418
##	control - eyes	1.243	0.364	19	3.411	0.0029
##	knee - eyes	1.216	0.376	19	3.231	0.0044

```
confint(circadianPlanned)
```

##	contrast	estimate	SE	df	lower.CL	upper.CL
##	control - knee	0.027	0.364	19	-0.736	0.79
##	control - eyes	1.243	0.364	19	0.480	2.01
##	knee - eyes	1.216	0.376	19	0.428	2.00
##						
##	Confidence level used: 0.95					

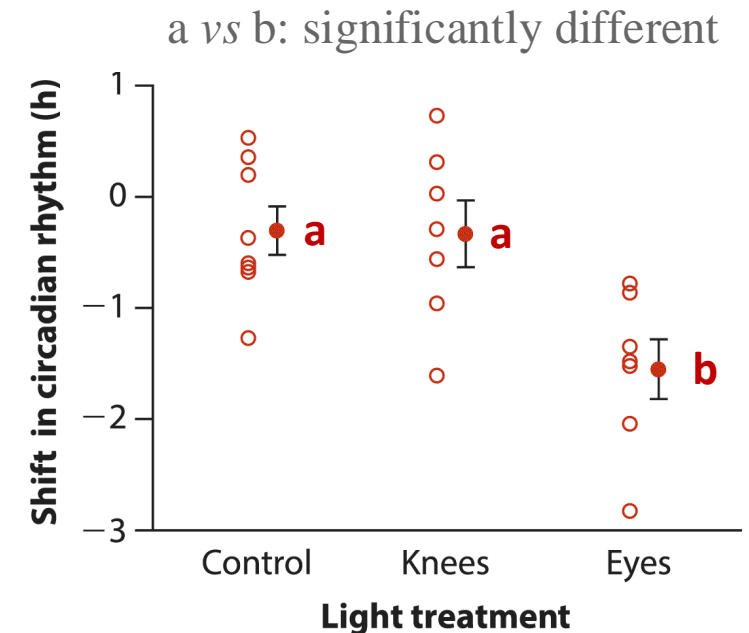
(其中contrast()命令会给出所有配对比较结果，但我们只关注control-knee)



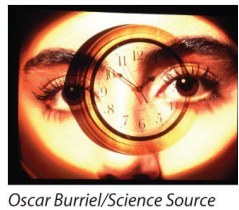
Oscar Burriel/Science Source

5.2 多重比较 Unplanned comparisons

- 多重配对比较：unplanned/非计划的
 - E.g., 所有组间的两两配对比较;
 - Tukey-Kramer test是最常用的一种方法
 - Tukey's HSD test
 - 检验统计量： q
 - 自由度 $N - k$
 - (具体计算可查看 Section 15.8 Formula Summary)
 - 对I类错误概率的矫正
 - 所有配对比较的检验中，出现至少一次I类错误的概率不超过显著性水平 α 。
 - 其它矫正方法
 - Bonferroni, Dunnett's Test, etc.



Whitlock & Schluter, *The Analysis of Biological Data*, 3e © 2020 W. H. Freeman and Company



5.2 多重比较 Unplanned comparisons

- 多重配对比较：unplanned/非计划的
 - E.g., 所有组间的两两配对比较；
 - Tukey-Kramer test是最常用的一种方法
 - 检验统计量： q
 - 基于 MS_{error} ，自由度 $N - k$

$$q = \frac{\bar{Y}_i - \bar{Y}_j}{SE}$$

$$SE = \sqrt{MS_{\text{error}} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

```
circadianPairs <- emmeans(circadianAnova, "treatment")
circadianUnplanned <- contrast(circadianPairs, method = "pairwise", adjust = "tukey")
circadianUnplanned
```

					q	
##	contrast	estimate	SE	df	t-ratio	p-value
##	control - knee	0.027	0.364	19	0.074	0.9970
##	control - eyes	1.243	0.364	19	3.411	0.0079
##	knee - eyes	1.216	0.376	19	3.231	0.0117
##						
##	P value adjustment: tukey method for comparing a family of 3 estimates					

5.2 多重比较 Unplanned comparisons

- 多重配对比较：unplanned/非计划的

- E.g., 所有组间的两两配对比较;
- Tukey-Kramer test是最常用的一种方法

- 检验统计量: q

- 基于 MS_{error} , 自由度 $N - k$

- 前提假设

- 和ANOVA一致;

- 相对保守 conservative

- 在各组样本量不一致时, 犯I类错误的概率比 α 要低;
 - (更难拒绝零假设)

$$q = \frac{\bar{Y}_i - \bar{Y}_j}{SE}$$

$$SE = \sqrt{MS_{\text{error}} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$$

6. 补充阅读——固定效应与随机效应

- One-way ANOVA：单因子方差分析
 - 单因子：也是固定效应 = fixed effect
 - 也是我们感兴趣的，在收集和分析数据前所设计的处理组（direct interest）；
 - 例子：临床研究中不同的药物、人群中的年龄/性别等等；
 - 一般不会把结果推演到其它（未设定）的组中；
- Random-effects ANOVA：随机效应方差分析
 - 非固定处理，从总体中随机选择的 (random chosen)
 - 组间差异结果一般可推演到不同组所在的总体；
 - 一般不重复使用的分组；
 - 例子：人群中的家庭、总体中的个体；

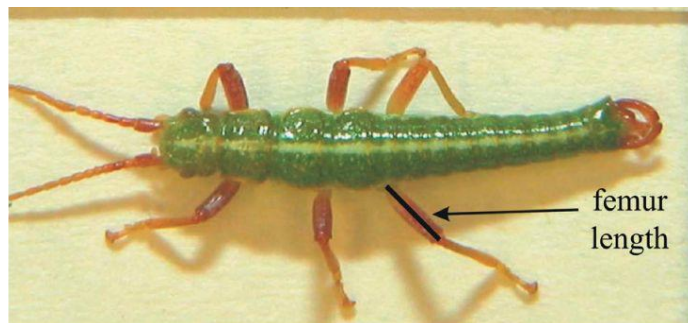
6.1 随机效应方差分析 random-effects ANOVA

- 主要应用场景

- 估计方差成分 (variance components) 来评估测量误差的重要性;
- 量化: 随机抽取的分组间的方差 vs. 组内的方差;

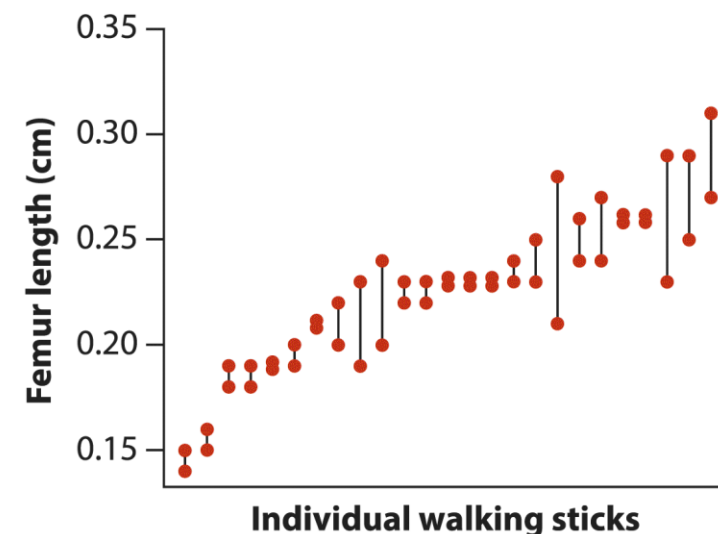
- 例子: 竹节虫的股骨 [EXAMPLE 15.6: Walking-stick limbs](#)

- 数据: 25个标本, 两次股骨长度测量;
- 分组: 每个竹节虫个体即为一组 (随机效应组) ;



© Patrick Nosil

##	specimen	femurLength	meanFemur
## 1	1	0.26	0.26
## 2	1	0.26	0.26
## 3	2	0.23	0.21
## 4	2	0.19	0.21
## 5	3	0.25	0.24
## 6	3	0.23	0.24



6.1 随机效应方差分析 random-effects ANOVA

- 例子：竹节虫的股骨 [EXAMPLE 15.6: Walking-stick limbs](#)
- 方差成分：包括两个水平的随机效应
 - 组内变异 within-group variance
 - σ^2
 - ANOVA assumption假设：各组的组内变异是一致的；
 - 该例子中是因测量误差导致的（measurement error）；
 - 组间变异 among-group variance
 - σ_A^2
 - 每组有自己的均值；
 - 各组的均值服从某个正态分布；
 - 该正态分布服从 $N(\mu_A, \sigma_A)$

组间 {
组内1 {
组内2 {
组内3 {

##	specimen	femurLength	meanFemur
## 1	1	0.26	0.26
## 2	1	0.26	0.26
## 3	2	0.23	0.21
## 4	2	0.19	0.21
## 5	3	0.25	0.24
## 6	3	0.23	0.24

6.1 随机效应方差分析 random-effects ANOVA

- 例子：竹节虫的股骨 [EXAMPLE 15.6: Walking-stick limbs](#)
- 方差成分：包括两个水平的随机效应
 - 组内变异 within-group variance
 - σ^2
 - 最佳估计为： MS_{error}
 - 组间变异 among-group variance
 - σ_A^2
 - 最佳估计为： $s_A^2 = \frac{MS_{\text{groups}} - MS_{\text{error}}}{n}$
 - n 为每组内的样本量；
 - 前提：每组内样本量一样；

ANOVA table

```
> anova(lm(femurLength ~ specimen, data = walkingstick))
Analysis of Variance Table

Response: femurLength
      Df    Sum Sq   Mean Sq F value    Pr(>F)
specimen  24 0.059132  0.0024638   6.9209 4.077e-06 ***
Residuals 25 0.008900  0.0003560
```

$$MS_{\text{error}} = 0.000356 \text{ cm}^2$$

$$s_A^2 = \frac{0.002464 - 0.000356}{2} = 0.00105 \text{ cm}^2$$

6.1 随机效应方差分析 random-effects ANOVA

- 例子：竹节虫的股骨 [EXAMPLE 15.6: Walking-stick limbs](#)

- 方差成分：包括两个水平的随机效应

- 组内变异 within-group variance

- σ^2

- 最佳估计为： MS_{error}

- 组间变异 among-group variance

- σ_A^2

- 最佳估计为： $s_A^2 = \frac{MS_{\text{groups}} - MS_{\text{error}}}{n}$

- n 为每组内的样本量；

- 前提：每组内样本量一样；

$$MS_{\text{error}} = 0.000356 \text{ cm}^2$$

$$s_A^2 = \frac{0.002464 - 0.000356}{2} = 0.00105 \text{ cm}^2$$

```
walkingstickAnova <- lme(fixed = femurLength ~ 1,  
  random = ~ 1|specimen, data = walkingstick)
```

```
walkingstickVarcomp <- VarCorr(walkingstickAnova)  
walkingstickVarcomp
```

```
## specimen = pdLogChol(1)  
##      Variance StdDev  
## (Intercept) 0.0010539182 0.03246411  
## Residual    0.0003559996 0.01886795
```

6.2 随机效应的重复性 Repeatability

- 例子：竹节虫的股骨 [EXAMPLE 15.6: Walking-stick limbs](#)

- 重复性 Repeatability

- $$\frac{s_A^2}{s_A^2 + MS_{\text{error}}}$$

- 即，组间成分所占比例
- 分母：the total amount of measurement variance in the population
- Repeatability 趋近 0，则表明数据变异主要由组内变异导致；
- Repeatability 趋近 1，则表明数据变异主要由组间变异导致；
- 反映了方差成分的大小，是对特定总体参数的估计；
 - 它只适用于随机效应；
 - 不要与 R^2 混淆（基于平方和，可用于固定/随机效应）；

$$MS_{\text{error}} = 0.000356 \text{ cm}^2$$

$$s_A^2 = \frac{0.002464 - 0.000356}{2} = 0.00105 \text{ cm}^2$$

$$\text{Repeatability} = \frac{0.00105}{0.002464 - 0.000356} = 0.75$$

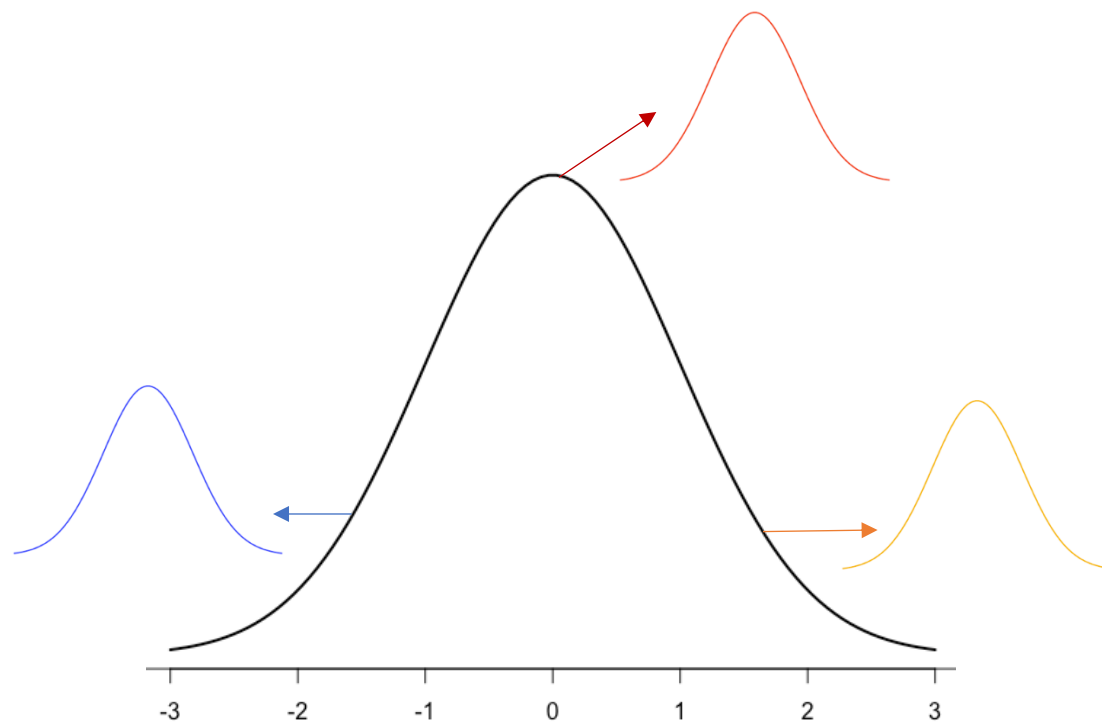
6.3 随机效应方差分析的前提假设

- Assumptions for random-effects ANOVA

- 各组组内数据为随机样本;
- 各组组内数据均服从正态分布;
- 各组的方差相等;

与 one-way ANOVA一致

- 各组组间数据也构成随机样本;
- 各组组间数据也服从正态分布;



7. 小结

- 试验设计的原则是减少偏差和抽样误差;
- 减少偏差的方法包括:
 - 1. 进行试验组的同时设置控制组;
 - 2. 将处理随机地分配给试验单元;
 - 3. 进行单盲或双盲试验来避免主观性效应;
- 减少抽样误差的方法包括:
 - 1. 大量重复的试验单元;
 - 2. 权衡不同处理组的样本量大小;
 - 3. 当存在其它变异条件下设置组别;

7. 小结

- 方差分析（ANOVA）检验多组均值之间的差异
 - 通过比较组内均方和组间均方来进行；
 - 统计检验量为： $F = \frac{MS_{\text{groups}}}{MS_{\text{error}}}$
 - 当 $F > 1$ 时，拒绝零假设，表明组间差异大于仅由抽样误差导致的差异；
 - R^2 衡量了组间设置对解释数据变异的百分比；
- 方差分析的前提假设包括
 - 随机样本、变量在各组内呈正态分布、不同组的总体的方差一致；
 - 方差分析对偏离正态分布和方差不一致具有稳健性；
- 方差分析中的组间设置属于固定效应