

生物实验数据的单因素方差分析*

刘加妹^① 彭景樾^{②**}

(^①中国农业大学(东校区)数学教研室 北京 100083;

^②中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室 北京 100080)

摘要: 结合实例详细地叙述了生物学实验数据的单因素方差分析计算方法,介绍了根据计算结果如何分析组群间的差异显著性,具有较强的实用意义。

关键词: 方差分析;实验数据;显著性差异

中图分类号: Q-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2001)06-34-04

Analysis of Variance on Biological Experiments Data

LIU Jia-Mei^① PENG Jing-Pian^{②**}

(^① *Mathematics Division, China Agricultural University Beijing 100083;*

^② *Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100080, China)*

Key words: Analysis of variance; Experiments data; Significance difference

在生物科学实验研究工作中,受到各种条件限制,往往不允许我们进行大量的实验观测,所能得到的数据资料有时较少。例如观察某种药物对动物的效应,不一定每次都观测几百或几千只动物,有时只有十几只或几十只。通过少数例数的观测结果来推测全部研究对象的规律,常常需要进行统计学分析和处理,对于新从事实验研究工作的人来说有一定困难。文献内容一般介绍简单且多为统计分析的结果,有关书籍虽多但在短时间内学会应用有一定难度。本文结合实验实例介绍如何对实验所得数据进行方差分析,从而推断实验数据在组与组之间是否有显著性差异。

1 单因素多组群的方差分析

方差分析 (analysis of variance, ANOVA) 是一类特定情况下的统计假设试验,它是分析实验数据、发现某些客观规律的一种重要方法。下面举例说明单因素多组群方差分析的具体计

算方法。

实验:鸟的鸣叫与内分泌的关系是许多动物行为和神经行为学工作者十分关心的问题之一,为此我们曾设计实验如下^[1],以雌鸟 Ring Dove (*streptopelia risoria*) 为实验对象,16 只雌鸟随机分为 4 组,第 1 组为对照(不施加任何声音刺激);第 2 组施以 Female nest coo(雌鸟的一种鸣叫,以下简称 FNC) 声音刺激;第 3 组用反转的 FNC 声音刺激 (rFNC);第 4 组是 White noise 声音刺激(由计算机模拟合成的一种 0 ~ 11 kHz 的声音)。声音刺激强度均为 (75 ± 2) dB SPL,刺激时间相同。每只鸟接受声音刺激后分别收集 10 个垂体门脉血样(同时记录下丘脑 LHRH 神经元电活动,此处略),取样的间隔时

* 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目 (No.363);

** 通讯作者;

第一作者介绍 刘加妹,女,40 岁,硕士研究生;研究方向:生物数学;

收稿日期:2001-08-20,修回日期:2001-09-20

间为 10 ~ 20 min, 整理出 4 组数据(表 2)。实验中动物完全随机配置在几组中, 各组分别用不同的处理(不同声音刺激), 即只有声音刺激这一个因素变化, 而其它因素保持相对恒定, 如饲养条件、光照时间、温度、品种等各组均一致。上述实验所得到的数据是单因素的, 称为单因素多组群实验, 因素所处的状态称为水平或处理。在生物学研究中, 人们总希望处理组有较好的结果, 即处理组与对照组间有所区别, 或两处理组间亦有区别。如果想要知道表 2 中 4 组数据的平均值之间是否存在显著性差异, 即这差异是由实验误差造成的还是不同的声音刺激所引起的, 用单因素方差分析就能得出正确的判断。详细步骤如下。

1.1 整理数据 设有 K 组数据, 每一组属于一种处理, 其中有一组可能是对照组即把它当作空白处理看待, 第 k 组有 n_k 个数据, 经排列形成下列的数据表(表 1), 实例的数据排列见表 2。

表 1 单因素多组群方差分析的数据排列及相关计算公式^[2]

组 别				
1	2	3	...	K
X_{11}	X_{12}	X_{13}	...	X_{1k}
X_{21}	X_{22}	X_{23}	...	X_{2k}
X_{31}	X_{32}	X_{33}	...	X_{3k}
...
$X_{n_1,1}$	$X_{n_2,2}$	$X_{n_3,3}$...	$X_{n_k,k}$

n_k : 第 k 组数据中数据的个数;

$T_k = \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}$, T_k 是第 k 组数据中数据的总和;

$\bar{X}_k = \frac{T_k}{n_k}$, \bar{X}_k 是第 k 组数据中数据的平均值;

$\sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2 = X_{1k}^2 + X_{2k}^2 + \dots + X_{n_k,k}^2$, 即第 k 组数据的平方和;

$N = n_1 + n_2 + \dots + n_k$, 即表中所有数据的个数;

$T = T_1 + T_2 + \dots + T_k$, 即表中所有数据的和;

$\bar{X} = (T_1 + T_2 + \dots + T_k) / N$, 表中所有数据的平均值;

$\sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2$: 即表中所有数据的平方和

1.2 根据公式计算检验统计量 表 1 提供了计算公式, 表 2 提供了实验数据和具体计算过

程。

表 2 实验数据方差分析计算

	组别				
	对照	FNC	rFNC	White Noise	
实验数据	8.7	14.7	11.7	13.1	
	10.5	18.8	12.5	10.2	
	8.5	45.9	10.2	15.1	
	11.9	29.8	14.6	11.3	
	9.3	19.6	9.5	10.4	
	8.9	39.5	11.6	13.2	
	14.7	23.8	9.7	14.1	
	9.6	18.7	13.6	10.0	
	11.2	14.8	9.6	12.2	
	10.7	17.5	11.6	11.3	
n_k	10	10	10	10	$N = 40$
T_k	103.50	243.10	113.60	120.60	$T = 580.80$; $T^2 / N = (580.8)^2 / 40$ $= 8433.22$
\bar{X}_k	10.35	24.31	11.36	12.06	$\bar{X} = 14.47$
$\sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2$	1097.23	6950.21	1322.92	1489.03	$\sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2 = 10861.39$
$\frac{T_k^2}{n_k}$	1071.25	5909.76	1290.49	1454.44	$\sum_{k=1}^K \frac{T_k^2}{n_k} = 9725.92$

1.3 计算检验统计量 F 表 3 给出方差分析总结表, 包括平方和(SS)、自由度(df)、均值平方(MS)和 F 比率。表 4 是方差分析实例总结表。

1.4 解释结果 查 F 分布表(一般统计类书均提供 F 表^[3])得标准值 $F_{(K-1),(N-K)}$, $F_{0.05,3,36} = 2.84$, $F_{0.01,3,36} = 4.31$ 。若计算的 $F = MS_B / MS_W$ 值大于 4.31, 则 $P < 0.01$; 若小于 4.31, 且大于 2.84, 则 $P < 0.05$; 如果计算得到的 F 值小于 2.84, 则 $P > 0.05$ 。由实例计算结果可知, $F = 13.66$ 远大于 4.31(用 ** 表示), P 小于 0.01 很多, 因此可认为在组与组间有很显著的差异, 也就是说用 F 检验法检验出各组平均数间有显著性差异。从生物学意义解释这个结果, 用不同的 Nest coo 声音刺激 4 组雌鸟的确引起了生殖激素 LH 分泌的变化。然而新的问题是三种不同的声音对雌鸟内分泌激素的分泌均有显著影响还是其中一种声音有影响? 下面介绍如何解决这个问题。

表 3 单因素多组群方差分析总结表

变差来源	SS	df	MS	F
组与组间	$\sum_{k=1}^K \frac{T_k^2}{n_k} - \frac{T^2}{N}$	$K - 1$	$MS_B = \frac{SS_B}{K - 1}$	$\frac{MS_B}{MS_W}$
组内	$\sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2 - \sum_{k=1}^K \frac{T_k^2}{n_k}$	$N - K$	$MS_W = \frac{SS_W}{N - K}$	
总的	$\sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2 - \frac{T^2}{N}$	$N - 1$		

$$SS_B = \sum_{k=1}^K \frac{T_k^2}{n_k} - \frac{T^2}{N} = (103.5)^2/10 + (243.1)^2/10 + (113.6)^2/10 + (120.6)^2/10 - (580.8)^2/40 = 9725.92 - 8433.22 = 1292.70$$

$$SS_W = \sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2 - \sum_{k=1}^K \frac{T_k^2}{n_k} = 10861.39 - 9725.92 = 1135.47; \quad SS_T = \sum_{k=1}^K \sum_{i=1}^{n_k} X_{ik}^2 - \frac{T^2}{N} = 10861.39 - 8433.22 = 2428.17$$

注:表中各组数据的个数可不相同;SS_B:组与组间变差平方和;SS_W:组内变差平方和;SS_T:SS_B与SS_W相加得总的变差平方和;MS:均方,把相应的平方和除以对应的自由度即可算出各项的均方。

表 4 实验数据方差分析总结表

变差来源	SS	df	MS	F	P
组与组间	1292.70	3	430.90	13.66	<0.01
组内	1135.47	36	31.54		
总的	2428.17	39			

2 单因素两组群平均数间的比较(t-检验)

用 F 检验法检验出各组平均数间有显著性差异后,对许多实验工作者来说,是不够的。要了解是其中一组还是几组与对照组之间有显著性差异,就需要进一步寻找显著性差异究竟存在于哪两个平均数之间,因为它们不一定都有显著性差异。要对任意两组平均数间的差数 $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ 进行检验,通常采用 t-检验法。t 的计算公式是

$$t = (|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|) / \left(\sqrt{S^2 \left(\frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2} \right)} \right)$$

其中 S² 是表 3“组内”项的均方值 MS_W。如果两组内数据数目相等,即 k₁ = k₂,则 t 的计算公式可简化为

$$t = (|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|) / (\sqrt{2S^2/k})$$

根据上式算得的 t 可以和标准值 t_{0.05} 或 t_{0.01} 作比较,以检验这两个平均数间差异的显著性,查表时所用的自由度是“组内”项的自由度 N - K。这里所用的自由度比成组比较法中所用的 k₁ + k₂ - 2 来得大,这在检验差异的显著性时

是有利的。上述实验中 4 组数据的平均数分别为:

组号	1	2	3	4
平均数	10.35	24.31	11.36	12.06

前面已算出“组内”项的均方值 MS_W,即 S² = 31.54。

(1) 计算 $\bar{X}_1 = 10.35$ 和 $\bar{X}_2 = 24.31$ 两个平均数的差数的 t 值,得

$$t = (24.31 - 10.35) / 2.512 = 5.556$$

(2) 计算 $\bar{X}_1 = 10.35$ 和 $\bar{X}_3 = 11.36$ 两个平均数的差数的 t 值,得

$$t = (11.36 - 10.35) / 2.512 = 0.401$$

(3) 计算 $\bar{X}_1 = 10.35$ 和 $\bar{X}_4 = 12.06$ 两个平均数的差数的 t 值,得

$$t = 1.71 / 2.512 = 0.68$$

查 t 分布数值表(一般统计类书均提供 t 分布数值表^[3]),得在 df = 36 下的 t_{0.05} = 2.02, t_{0.01} = 2.74。与计算的 t 值比较可以看出,第 1 组与第 2 组平均数差数的差异很显著 (P < 0.01); 第 1 组与第 3 组、第 4 组平均数差数的差异无统计学意义 (P > 0.05)。也就是说 Female nest coo 声音刺激引起雌鸟 LH 分泌增加,且这种刺

激作用具有统计学意义。反转的 Female nest coo 和 White noise 这两种声音刺激对 LH 分泌无明显作用。

3 应注意的几个问题

统计推断主要是如何根据部分资料对全部研究对象进行科学的推测,使研究结论具有普遍意义。根据研究目的确定的、符合指定条件的全部研究对象称之为统计总体,简称总体。样本是总体的一部分,样本内个体的数目称为样本含量。绝大多数的总体是无法窥其全貌的。在生物科学研究工作中,所能得到的是样本而不是总体,研究中得到的各种变量的数据都被认为是从各相应的未知总体中随机得来的样本,我们希望通过对样本的研究推断其总体。既然从样本估计总体,自然希望样本能近似地代表总体。但样本不应是选择得来的,只有在随机的情况下从总体抽得的样本才可完成这种推断总体的任务,数理统计是以随机抽样为基础而推演出来的科学,因此如果抽样不是随机的,任何统计结果都将归于无用。鉴此,在使用单因素多组群方差分析检验实验数据组间显著性差异时有三个基本假设:(1)来自总体的样本是随机的、独立的;(2)所选样本的总体服从正态分布;(3)所选样本来自同一总体。生物实验中大多数随机变量服从正态分布,所以只要适当注意抽样的随机性、独立性即可^[2,4]。

由表 2 可以看出,实验数据的变差来源主要有两种:(1)由于各组处理的不同所引起的变差,可称之为组与组之间的变差;(2)各组内虽在同样处理条件下,但仍难免要产生由于许多不能掌握或控制的内外因素而引起的偶然性变差,称为组内变差。研究人员希望这种组内变差愈小愈好,这样就能更好地显示出由于处理不同所引起的规律性的差异,但组内变差总是不可避免的,研究工作者要善于辨析这两种变差,不可混淆地把组内变差错认为由于处理的

不同所引起的变差,而做出错误的结论。

当经方差分析用 F 检验得出组间有显著性差异后,就可用 t -检验法检验哪两组数据的平均数间有显著性差异。

如果计算的 t 值大于标准值 $t_{0.05}$ 或 $P < 0.05$,那么处理就有显著性效应,这一推断的可靠程度为 95%;如果计算的 t 值大于标准值 $t_{0.01}$ 或 $P < 0.01$,那么处理就有很显著的效应,做出这一结论有 99% 的把握;如果计算的 t 值小于标准值 $t_{0.05}$ 或 $P > 0.05$,那么处理尚未见有显著性效应,即差异不显著,此时暂不要做出推断。出现这种情况有两种可能:其一,差异可能真实存在,但由于数据不足等因素所致,使显著性检验时 P 值未能达到规定的标准,即无法显示出差异显著性。其二,实际上不存在显著性差异。

本文介绍的是单因素方差分析,它适合对单因素多组群实验数据进行方差分析。如果实验中有两个或多个因素,实验对象是不同种的动物,那么上例实验中声音刺激是一因素,不同的实验对象是另一因素,其实验数据不能用单因素方差分析而要用多因素方差分析进行统计分析(多因素方差分析方法将另文介绍)。掌握了方差分析的基本原理和方法,可选用合适的统计软件如 SPSS、SASS、TAT 等进行计算。

参 考 文 献

- [1] Cheng, M. F., J. P. Peng, Patricia Johnson. Hypothalamic neurons preferentially respond to female nest coo stimulation: demonstration of direct acoustic stimulation of luteinizing hormone release. *The Journal of Neuroscience USA*, 1998, 18(14): 5 477 ~ 5 489.
- [2] Mike Derocco. *Applied Statistics for the Behavioral Sciences*, Third Edition. Boston(USA), 1994. 316 ~ 348.
- [3] 杨纪珂, 齐翔林编著. 现代生物统计. 合肥: 安徽教育出版社, 1985. 261 ~ 283.
- [4] 杜荣骞编. 生物统计学. 北京: 高等教育出版社, 1985. 49 ~ 98.