

DIZAJN EKSPERIMENTA

- **snaga testa**
- **veličina uzorka**
- **ponavljanja (replikati)**
- **slučajan raspored (randomizacija)**
- **kontrola**
- **višefaktorski pokusi**

UZORAK I POPULACIJA

Svojstva koja mjerimo ili promatramo na uzorku uvijek se malo razlikuju od svojstva cijele populacije (npr. visina studenata biologije na PMF-u na uzorku od 30 ili svih studenata biologije na PMF-u) – **greška uzorkovanja** (*sampling error*). Greška uzorkovanja dešava se zbog slučajnih odstupanja.

Greška uzorkovanja dovodi do **nepreciznosti** (koja se smanjuje što je uzorkovanje veće)

<https://www.zoology.ubc.ca/~whitlock/Kingfisher/SamplingNormal.htm>

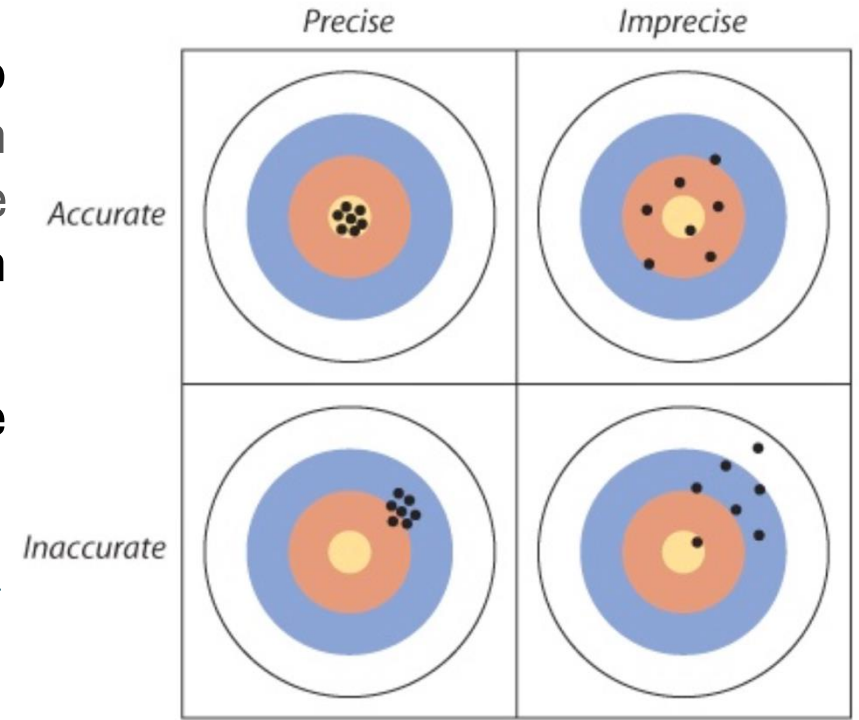


Figure 1.2-2

Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015
W. H. Freeman and Company

Greška pristranosti (“*bias*”) se događa zbog **nereprezentativnih** uzoraka (npr. mjerimo srdele ulovljene mrežama s velikim očima i na osnovu njih procijenjujemo veličinu jedinki u populaciji).

Greška pristranosti dovodi do **netočnosti**, te izmjereni parametri **srednjih vrijednosti značajno odstupaju od stvarne srednje vrijednosti populacije** – **NETOČNOST MJERENJA**

STATISTIČKE GREŠKE

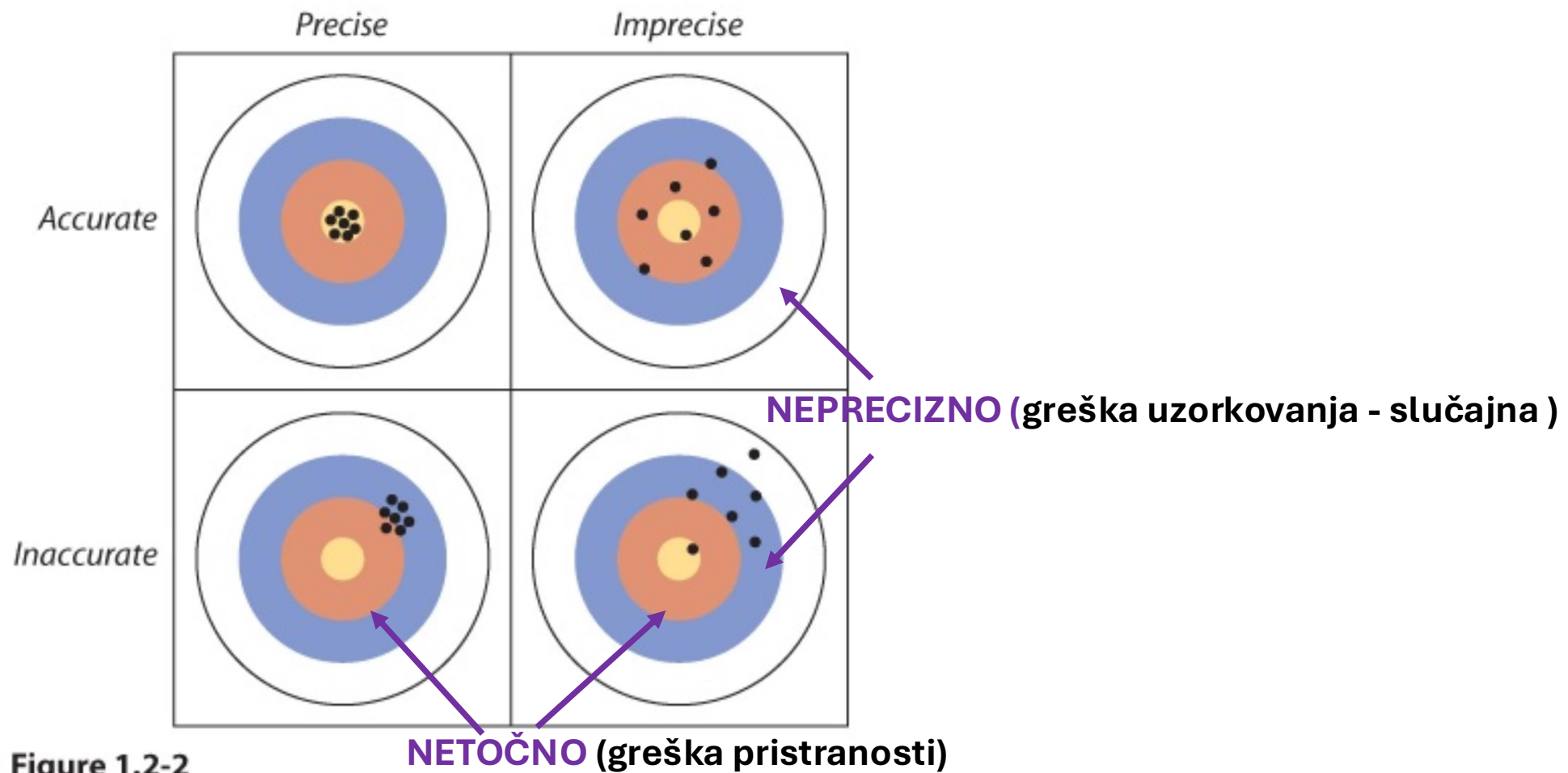


Figure 1.2-2

Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015

W. H. Freeman and Company

GREŠKE TIP 1 I 2

Greška tipa 1 – odbijanje točne nul hipoteze (definirana s α , smanjuje se smanjivanjem α)

- “lažno pozitivni rezultat” (npr. nalazimo razliku koja ne postoji)

npr. ako je $\alpha=0.05$ jednom u 20 puta činimo grešku tipa 1

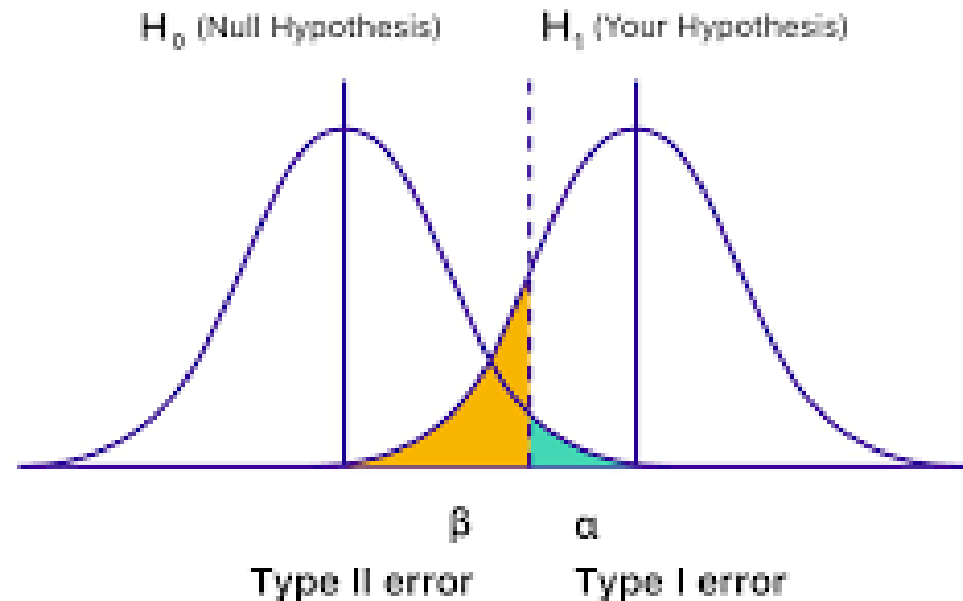
Greška tipa 2 – ne odbijanje netočne nul hipoteze (krivo prihvatanje H_0)

- “lažno negativni rezultat” (npr. ne nalazimo razliku koja postoji)

Snaga testa – vjerojatnost da slučajan uzorak dovede do greške tipa 2

Povećana veličina uzorka smanjuje grešku tipa 2 i povećava snagu testa

	H_0 True	H_0 False
Accept H_0 /Reject H_1	True	False: Type II error
Reject H_0 /Accept H_1	False: Type I error	True



SNAGA TESTA

$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0.$

$H_A: \mu_1 - \mu_2 \neq 0.$

α – razina značajnosti (npr. 0.05)

β - vjerojatnost za grešku tipa II

Konvencija je da je poželjno da β bude najviše 0.2

Snaga testa = $1 - \beta$

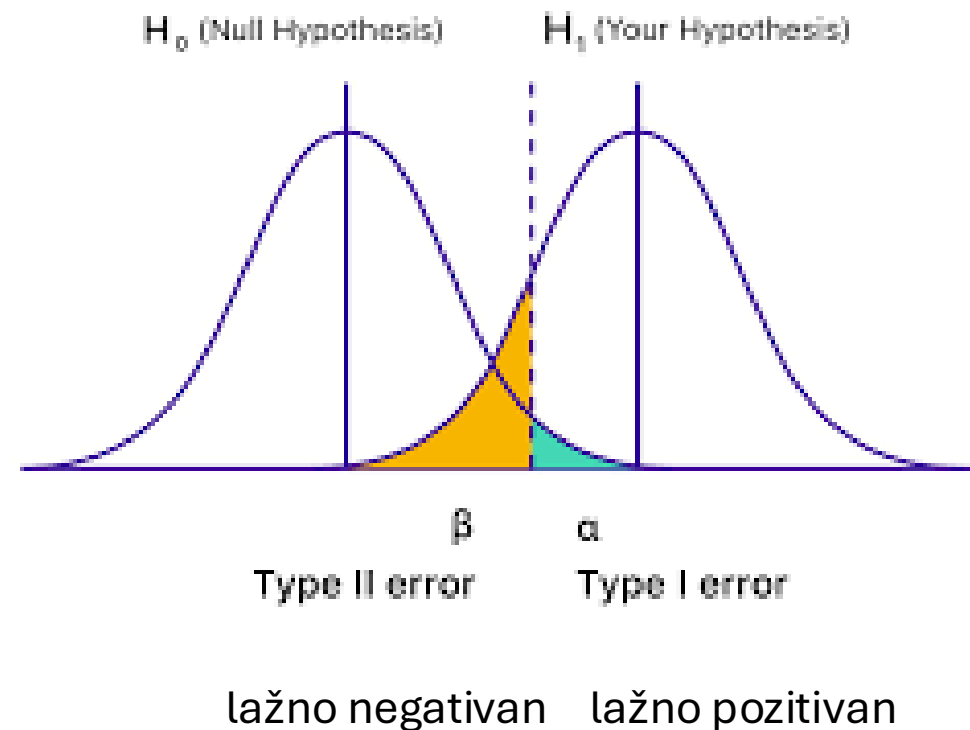
- u 80 % eksperimenata možemo odbaciti netočnu H_0 hipotezu
- Snaga testa ovisi najviše o veličini uzorka
- Veličina uzorka može se izračunati (uz varijable stand. dev, relevantnu magnitudu učinka)
- npr. za dvostrani t- test, snaga testa 0.8, razina značajnosti 0.5

veličina uzorka (n) u svakoj grupi

$$n \approx 16(\sigma/D)^2$$

D – unaprijed određena relevantna razlika u srednjim vrijednostima

σ pretpostavljena st. dev.



SNAGA TESTA

$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0.$

$H_A: \mu_1 - \mu_2 \neq 0.$

α – razina značajnosti (npr. 0.05)

β - vjerojatnost za grešku tipa II

Konvencija je da je poželjno da β bude najviše 0.2

Snaga testa = $1 - \beta$

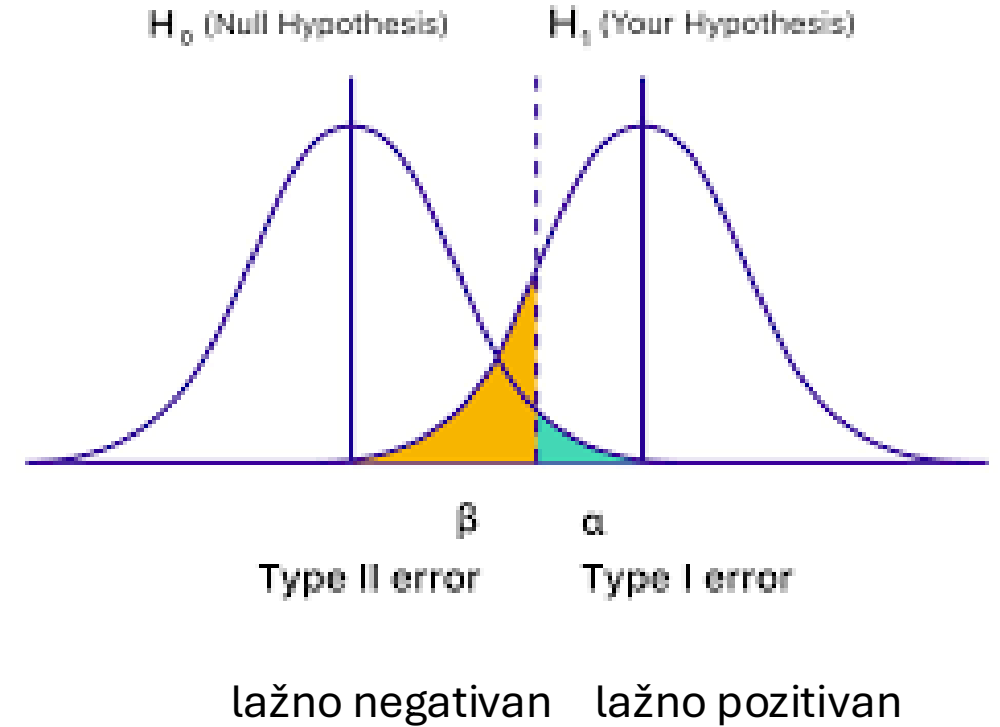
- u 80 % eksperimenata možemo odbaciti netočnu H_0 hipotezu
- Snaga testa ovisi najviše o veličini uzorka

ŠTO JE VEĆA VELIČINA UZORKA VEĆA JE I SNAGA TESTA

snaga testa ovisi i o razlici u srednjim vrijednostima

velika varijanca smanjuje snagu testa

formule za veličinu uzoraka za intervale pouzdanosti, proporcije, srednje vrijednosti...



The Analysis of Biological Data

Michael C. Whitlock and Dolph Schluter

KAKO SMANJITI GREŠKU UZORKOVANJA (povećanje preciznosti)?

- **ponavljanja (replikati)**
- **balansiran dizajn**
- **blokovi**
- **kontrolirati što više varijabli** (stalna temp, svjetlo, pH, starost i genotip jedinki...)

REPLIKATI

Repliciranje je primjena svakog tretmana na multipne, neovisne eksperimentalne jedinice (ne samo povećanje broja jedinki)

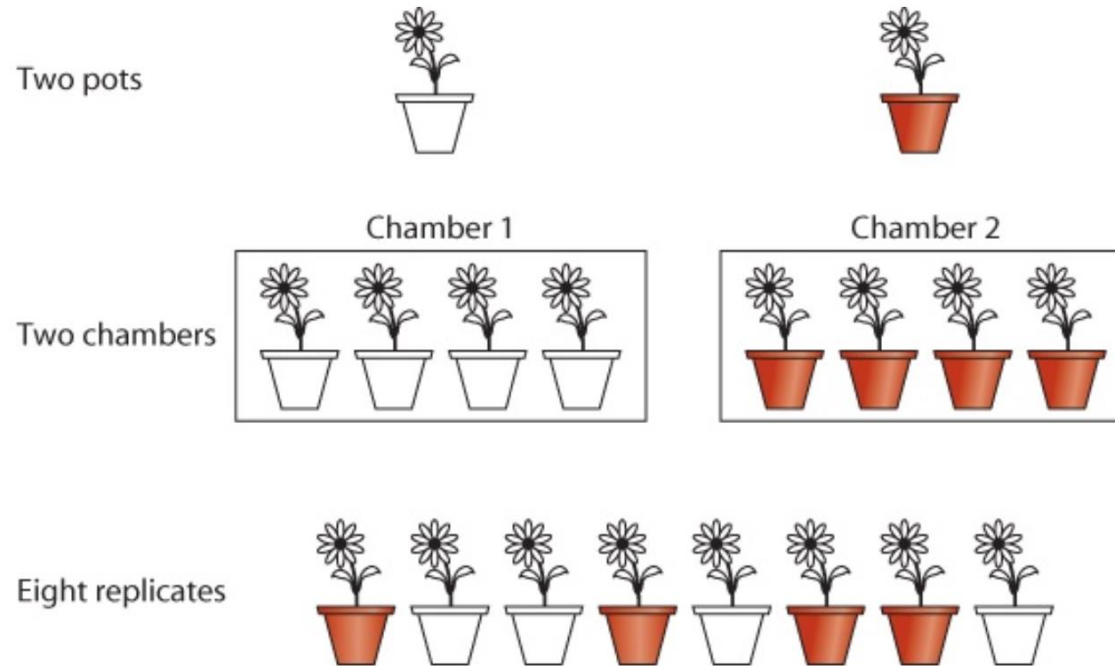


Figure 14.4-1

Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015 W. H. Freeman and Company

randomizirani replikati

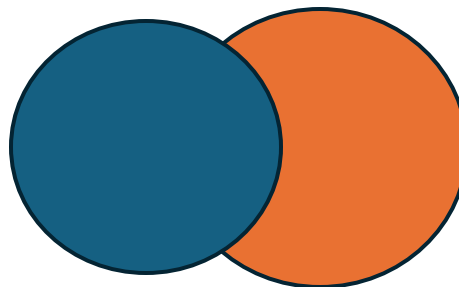
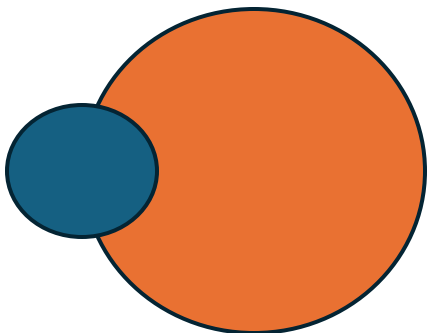
Mnogobrojni organizmi koji pripadaju istoj eksperimentalnoj jedinici (Petrijevka, tegla, polje, obitelj, lokva....) su jedan replikat ukoliko je vjerojatno da sliče u ciljanom svojstvu više nego s jedinkama u drugim eksperimentalnim jedinicama

BALANSIRAN (URAVNOTEŽEN) DIZAJN

Balansiran eksperimentalni dizajn podrazumijeva da svi tretmani imaju jednaku veličinu uzorka.

Metode usporedbe među grupama koje podrazumijevaju normalnu rasporedbu (linearni modeli, ANOVA, t-test... “parametrijska statistika”) robusnije su na odstupanja od normalnosti ako je dizajn balansiran

Preciznost utvrđivanja razlike se povećava s povećanom veličinom uzorka (makar i jedne grupe), ali je **manja preciznost utvrđivanja srednje vrijednosti** manje grupe



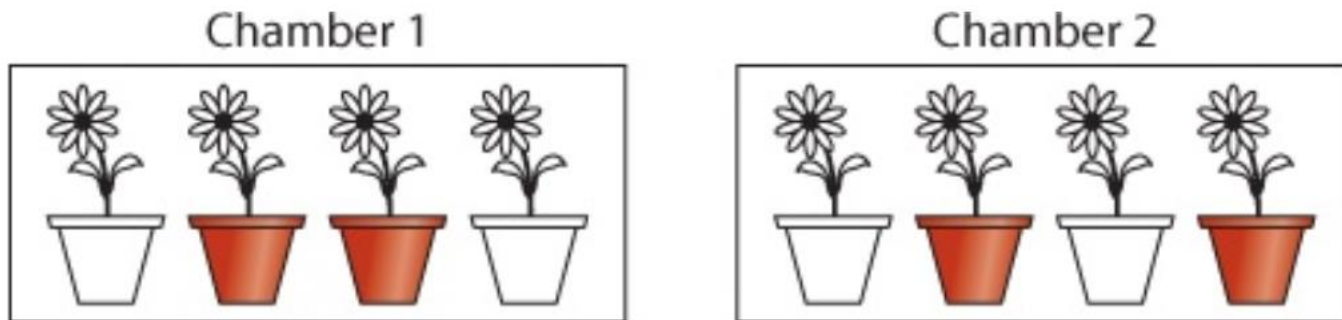
uravnotežen dizajn

BLOKOVI

Blokovi su **grupe eksperimentalnih jedinica sa sličnim svojstvima**. Unutra svakog bloka tertmani su **nasumice** dodijeljeni eksperimentalnim jedinicama. Na taj način pokus se dijeli na skupine pokusnih jedinica.

- blokovi s biljkama u polju s istim tlom i vremenskim uvjetima
- životinje iz istog legla
- terariji na istoj polici u eksperimentalnoj prostoriji
- pacijenti iste klinike
- eksperimenti izvedeni u istom danu

Potpuni blokovi imaju prisutne sve tretmane, **nepotpuni blokovi** samo neke.
Potpuni blokovi su repeticije!



Izrazito važna nasumičnost rasporeda po blokova (random)

Figure 14.4-2

Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015
W. H. Freeman and Company

Upareni dizajn (za npr. t- test) predstavlja blokove

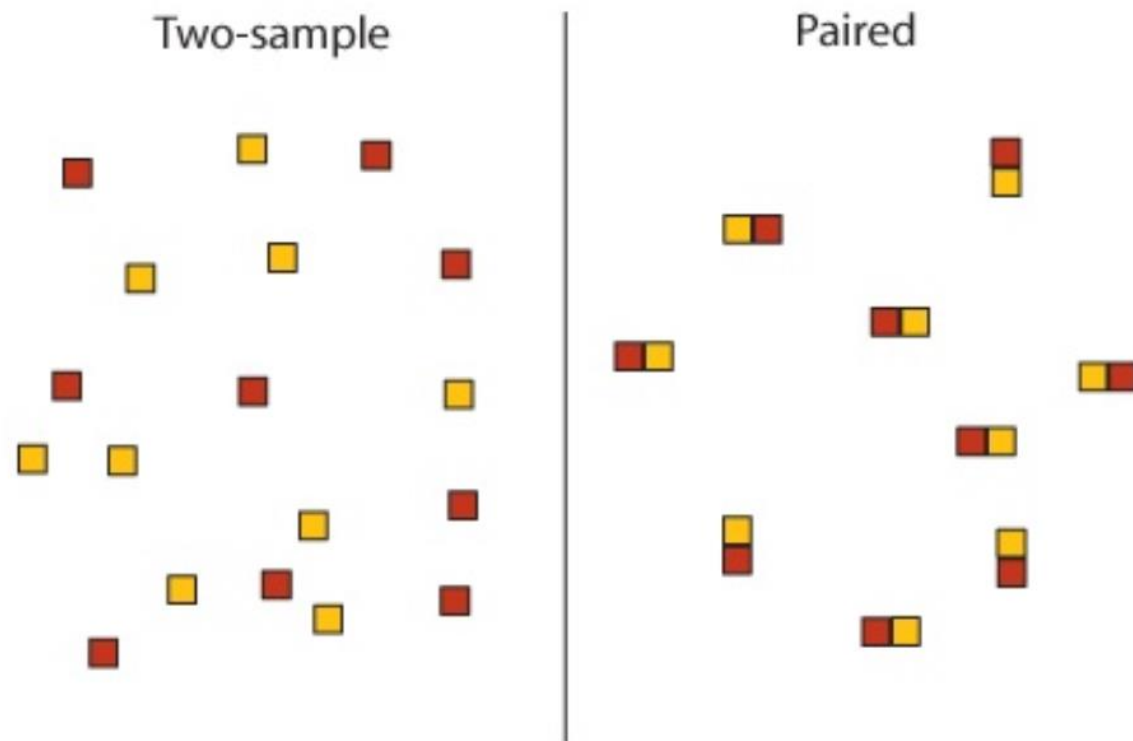


Figure 12.1-1

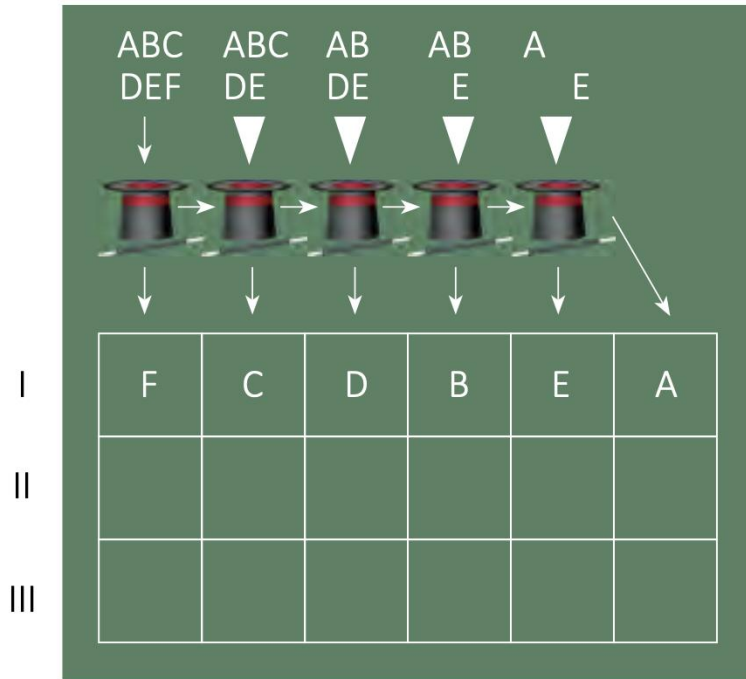
Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015

W. H. Freeman and Company

Pri uparenom dizajnu, oba tretmana se apliciraju na svaku eksperimentalnu jedinicu – snažniji dizajn jer je veća kontrola za ostale uvjete

npr. daždevnjaci u šumi, svaki blok je ploha u šumi i na neposrednoj čistini

POTPUNI BLOKOVİ



Slika 4.1 Shema izrade dizajna pokusa prema slučajnom bloknom rasporedu.

- eksperimentalne jedinice se nasumice raspoređuju po svakom bloku!
- svaki blok sadrži sve eksperimentalne jedinice
- (često korištenje algoritama za randomiziranje uzoraka)

NEPOTPUNI BLOKOVİ

I				II				III			
Blokovi				Blokovi				Blokovi			
1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	2	3	4	3	4	1	2	2	3	4	1
5	6	7	8	8	5	6	7	8	5	6	7
9	10	11	12	12	9	10	11	9	10	11	12
13	14	15	16	15	16	13	14	14	15	16	13
17	18	19	20	18	19	20	17	19	20	17	18

Slika 5.1 Primjer „radnog” alfa dizajna.

- svaki blok ne sadrži sve eksperimentalne jedinice, ali svaka repeticija da (više blokova)

UZORAK I POPULACIJA

Svojstva koja mjerimo ili promatramo na uzorku uvijek se malo razlikuju od svojstva cijele populacije (npr. visina studenata biologije na PMF-u na uzorku od 30 ili svih studenata biologije na PMF-u) – **greška uzorkovanja** (*sampling error*). Greška uzorkovanja dešava se zbog slučajnih odstupanja.

Greška uzorkovanja dovodi do **nepreciznosti** (koja se smanjuje što je uzorkovanje veće)

<https://www.zoology.ubc.ca/~whitlock/Kingfisher/SamplingNormal.htm>

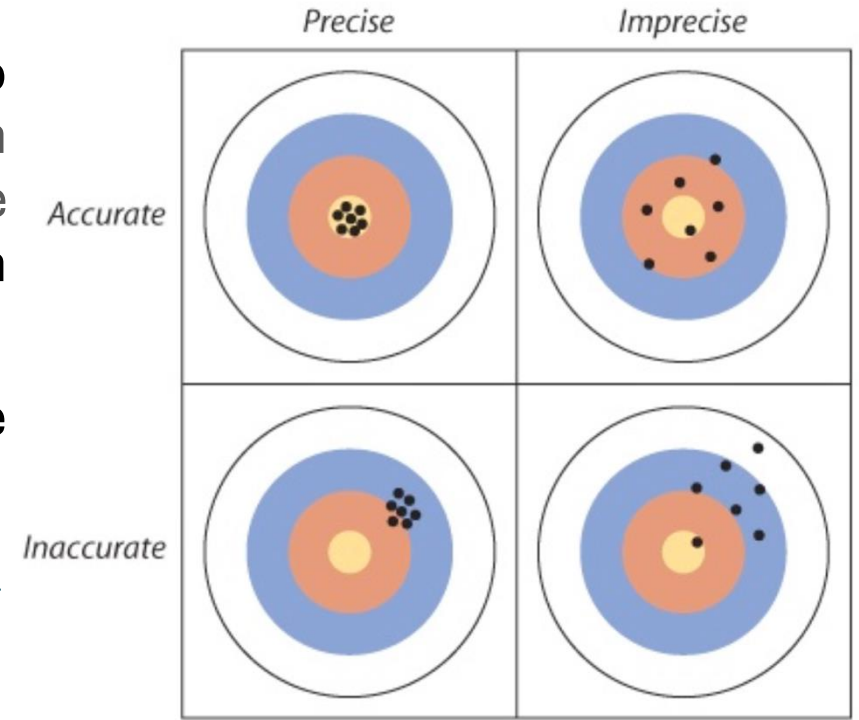


Figure 1.2-2

Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015
W. H. Freeman and Company

Greška pristranosti (“*bias*”) se događa zbog **nereprezentativnih** uzoraka (npr. mjerimo srdele ulovljene mrežama s velikim očima i na osnovu njih procijenjujemo veličinu jedinki u populaciji).

Greška pristranosti dovodi do **netočnosti**, te izmjereni parametri **srednjih vrijednosti značajno odstupaju od stvarne srednje vrijednosti populacije** – **NETOČNOST MJERENJA**

KAKO SMANJITI GREŠKU EKSPERIMENTA (povećanje točnosti)?

- randomizacija
- kontrole
- pažljiv dizajn – izbjegavanje eksperimentalnih artefakata
- slijepi pokus (blinding)
- kontrola confounding varijabli

EKSPERIMENTALNI ARTEFAKTI

Eksperimentalni artefakt je greška prouzročena tijekom ekperimenta.

Npr. stres prilikom rukovanja životinjama u tretmanu uzrokuje promjene fizioloških parametara

Rješenje? Minimaliziranje promjena prirodnih uvjeta, planiranje i razmišljanje o “confounding” varijablama, usaglašavanje tretmana i kontrole, randomizacija

CONFOUNDING VARIABLE (dodatne, zbunjujuće?)

Confounding varijabla maskira ili izvitoperuje odnos među mjerenim varijablama u pokusu.

npr. visoke temperature povećavaju potrošnju sladoleda i stopu ubojstva, koje su stoga korelirane

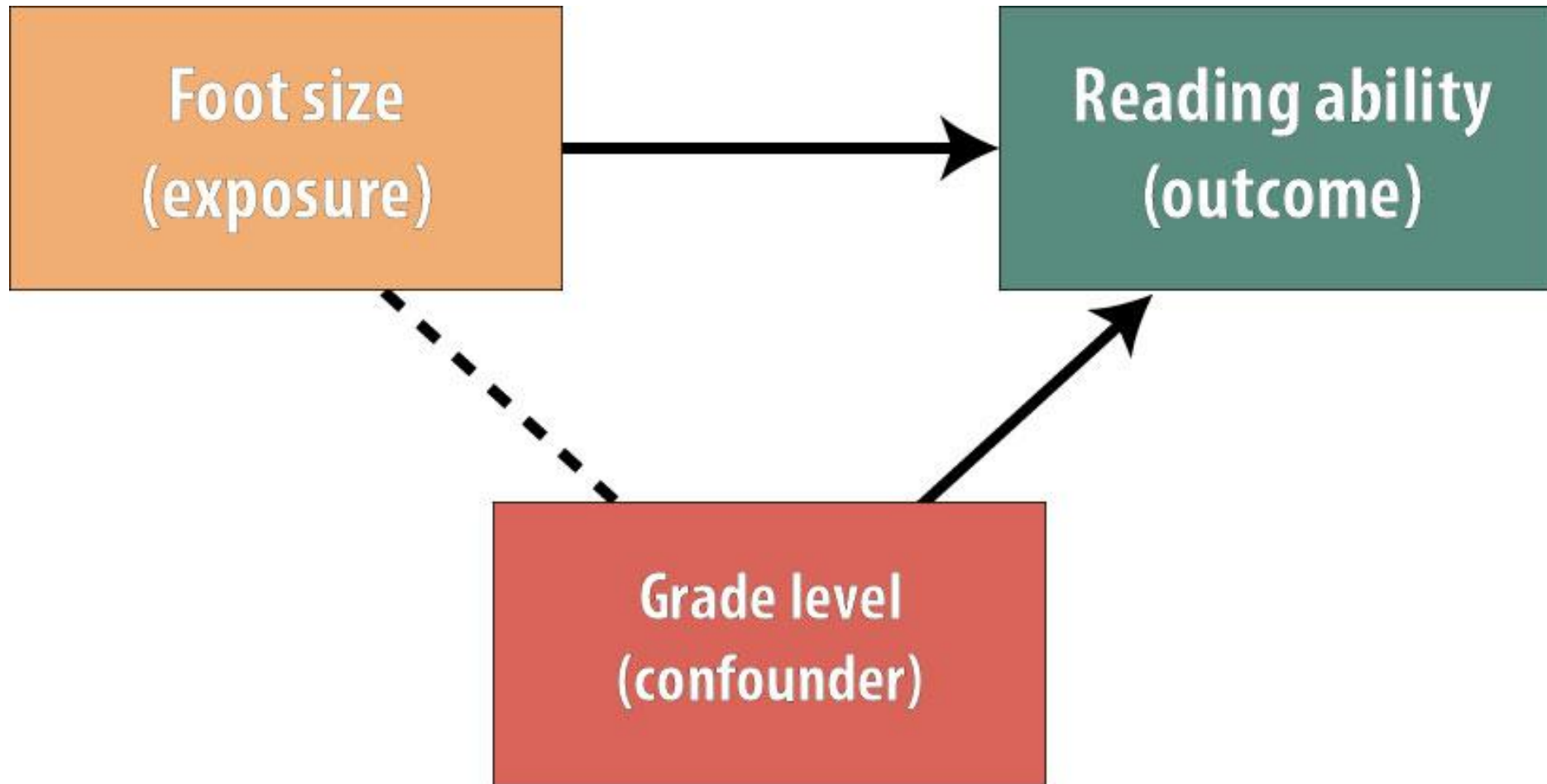
npr. socioekonomski status je confounding varijabla za povezanost dojenja i rasta bebe

npr. pušenje je confounding varijabla za učinak lijeka

Spol je često confounding varijabla!

Randomizacija (nasumično raspodjeljivanje u grupe) smanjuje učinak confounding varijabli!

Randomizacija ne smanjuje učinak na varijancu varijabli, ali smanjuje njihov učinak na korelaciju mjerenih varijabli – smanjuje se greška pristranosti (netočnost)



KONTROLNA SKUPINA

Kontrola je eksperimentalna skupina izložena istim uvjetima kao tretirane grupe.

Kontrola smanjuje utjecaj *confounding* varijabli u analizi.

npr. operacija kontrolne skupine štakora kao kontrola za skupinu kojoj se vadio dio organa

npr. placebo tretman u kliničkim studijama

npr. administriranje otapala kontrolnoj skupini račića izloženim toksikantu u otapalu

To su sve **negativne kontrole**.

Pozitivna kontrola je npr. administriranje tretmana za kojeg je poznat očekivani učinak.

Positive control



Vitamin C

Negative control



Water

Actual unknown sample



Orange juice

SLIJEP POKUS

Slijepi pokus vrlo je relevantan u kliničkim studijama – **ne poznavanje rasporeda ispitanika u grupama tretmana od strane ispitanika i istraživača**

Jednostrano slijep pokus – samo ispitanici ne znaju tko je u kojoj skupini (tretman vs. placebo)

Dvostruko slijep pokus – ni istraživač ni ispitanici ne znaju tko je u kojoj skupini

U svim područjima biologije treba težiti barem jednostrano slijepom pokusu, jer se na taj način smanjuje subjektivni učinak istraživača (npr. ponavljanje mjerenja za vrijednosti koje smatramo da ne odgovaraju očekivanjima za određenu grupu ili uzorak, odbacivanje vrijednosti za uzorke s outlierima više za jednu grupu.. i sl.)



EKSPERIMENTI S VIŠE FAKTORA

Faktor je pojedina varijabla tertiranja (nezavisna) čiji nas učinak na zavisnu varijablu zanima. Ukoliko eksperiment testira učinak više faktora, onda ima **faktorijalni dizajn**. Učestalo vidimo interakciju više faktora – učinak jedne varijable utječe na učinak druge

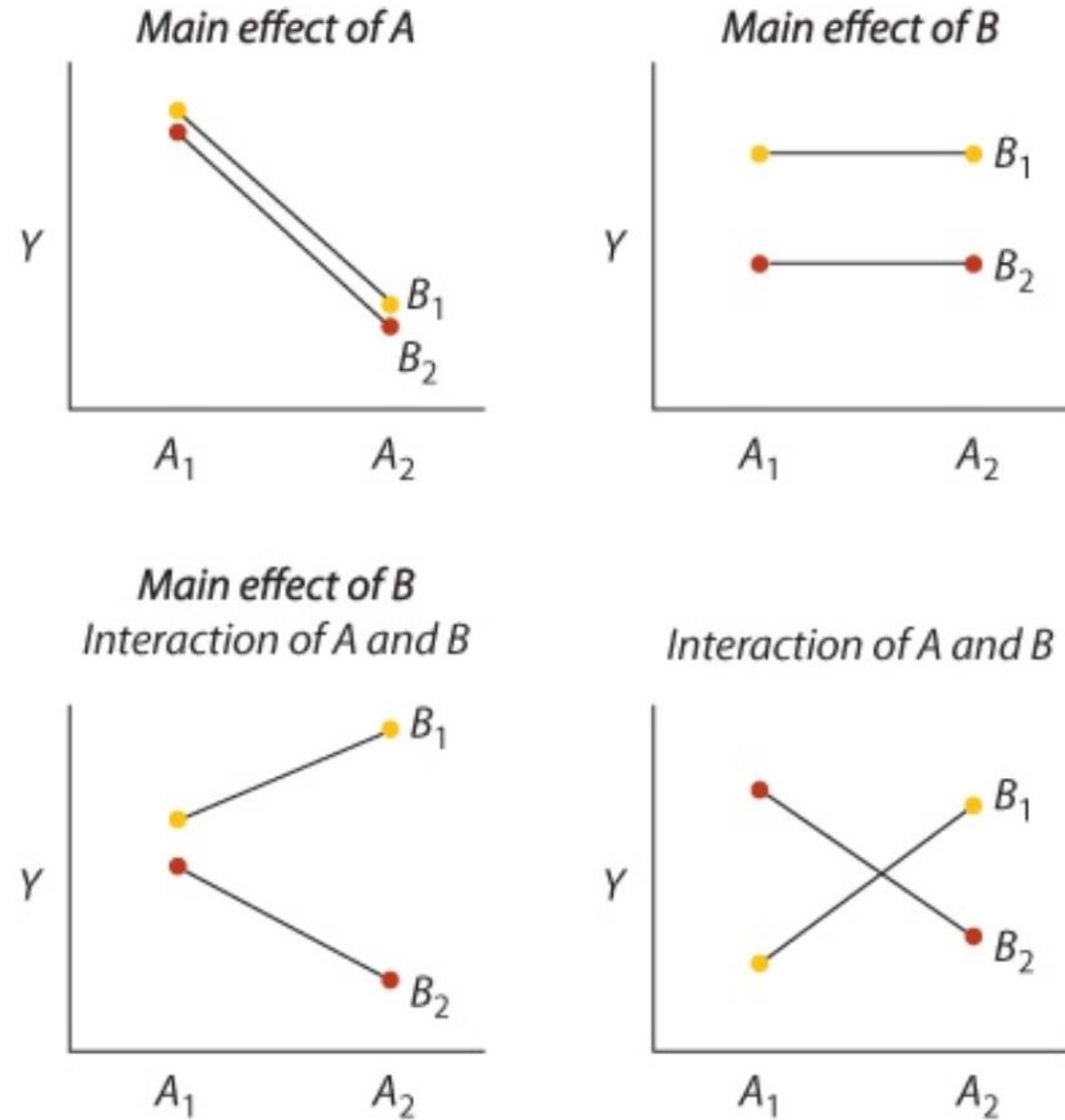


Figure 18.3-1

Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e, © 2015
W. H. Freeman and Company

TABLE 18.3-1 ANOVA results of fitting the two-factor model to the herbivory data.

Source of variation	Sum of squares	df	Mean square	F	P
HERBIVORY	1,512.18	1	1512.18	6.36	0.014
HEIGHT	88.97	1	88.97	0.37	0.543
HERBIVORY*HEIGHT	2,616.96	1	2616.96	11.00	0.002
Residual	14,270.52	60	237.84		
Total	18,488.63	63			

učinak herbivora na rast (površinu)
crvene alge u dva pojasa u zoni
plime i oseke

značajna je interakcija dva faktora!

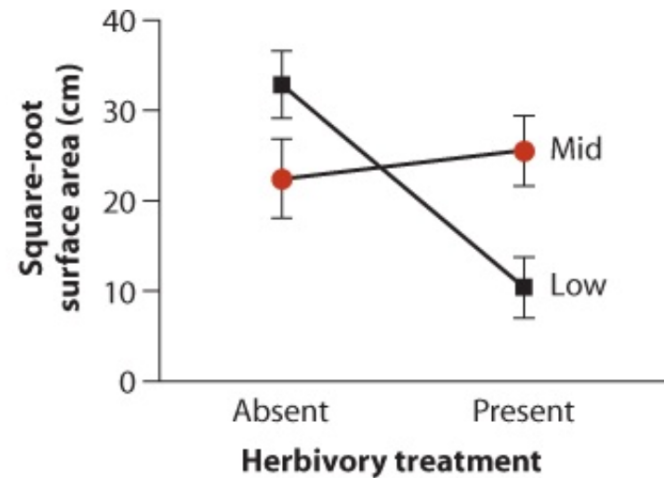


Figure 18.3-2
Whitlock et al., *The Analysis of Biological Data*, 2e,
© 2015 W. H. Freeman and Company

FIGURE 18.3-2 Mean surface area of algae at every combination of treatments.

Ugniježđeni dizajn

Ugniježđeni (nested, hijerarhiski) dizajn – razine jednog faktora su različite unutar svake razine drugog faktora

Tablica 3.8
Prikaz svih kombinacija dvofaktorskog pokusa s ugniježđenim faktorom.

A ₁				A ₂				A ₃			
B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆	B ₇	B ₈	B ₉	B ₁₀	B ₁₁	B ₁₂
A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₁ B ₃	A ₁ B ₄	A ₂ B ₅	A ₂ B ₆	A ₂ B ₇	A ₂ B ₈	A ₃ B ₉	A ₃ B ₁₀	A ₃ B ₁₁	A ₃ B ₁₂
											



npr. dimenzije listova na tri lokaliteta, na svakom lokalitetu 4 stabla – učinak stabla ugniježđen je unutar učinka lokaliteta