



Video tutorials to support the

Best Practice Guide for Multiple Drivers Marine Research

Experimental design for multi-driver studies

Tutorial: The [Experimental Design](#) video tutorial can be found on the [MEDDLE for Multiple Drivers Research](#) YouTube channel.

Speaker: [Jon Havenhand](#), University of Gothenburg, Sweden

Video: [Christina McGraw](#), University of Otago, New Zealand

乔恩.哈文韩德, 瑞典戈登堡大学; 克里斯汀娜.麦克格罗, 新西兰奥塔哥大学

Transcripts: Rebecca Zitoun, University of Otago, New Zealand (English)

Vera Shi and Kunshan Gao, [Kunshan Gao](#), Xiamen University, China (Chinese)

Resources: The complete resources for the *Best Practice Guide for Multiple Drivers Marine Research* are available on the [MEDDLE website](#).

0:00 – Introduction

0:00 开篇介绍

你可能已经知道, 当我们在开始设计实验时, 需要做的最重要的事情之一就是找出“在试验中需要包含哪些内容?” 所以我们需要列出一个清单, 包括所有我们感兴趣的驱动因子。这里有一个由菲利普.博易德 (Philip Boyd) 录制的视频, 告诉你该如何准备这个清单, 以及如何梳理出你真正感兴趣的。如果你还没看过, 我推荐你看这个视频。

假设我已经做好了清单, 我对二氧化碳分压 ($p\text{CO}_2$) 的影响感兴趣, 因为它正随着气候变化而升高; 我对氧气的影响感兴趣, 因为在我工作的斯堪的纳维亚半岛区域, 它将可能会下降; 而且我对海水淡化的影响感兴趣, 因为盐度很有可能也随着下降。所以现在我梳理出 3 个感兴趣的驱动因子。分别是目前环境下及未来的二氧化碳分压、氧气及盐度。所以我有 $2 \times 2 \times 2$ 种设计方案, 也就是 2 的 3 次方即 8 种方案组合。这是个传统的、全因子变量分析- 我可以做到。但实际上,



我知道现在和未来的 pCO₂ 之间会发生一系列有趣的事情，我知道对氧气的响应不可能是线性的，并且实际上盐度的变化也不太确定。因此，我可能希望每个因素都能包含不仅两个级别的数据。我们假设，我真的对 pCO₂ 很感兴趣，我可能选择 5 个不同时期的 pCO₂ 浓度，包括工业时代前、目前的环境值、公元 2100 年、现在到 2100 年间的某个时期、以及很久之后的未来，所以就有了 5 个不同级别的浓度值。实际上，如果我们要看响应趋势，得到一个不错的曲线，再看看在不同氧气浓度或缺氧水平下的实际响应情况如何（因为氧含量正在下降），那么我们至少需要 3 个氧气水平。好了，让我们假设有 5 个氧气浓度，并且为了完整起见，也有 5 个盐度水平 - 为什么不呢？！所以我们有 5 乘 5 乘 5，即 5 的 3 次方个组合。于是我们的实验设计方案从 2 的 3 次方种组合突然变成了 5 的 3 次方个组合，也就是 125 个组合。这里就是 125 个组合的集合，5 乘以 5 再乘以 5，共有 125 个瓶子。我想我可能只是，通过我正在使用的响应变量，在时间允许的范围内，使用这种设计来测我所需要的所有数据值，但这还没有算上每个处理的重复。针对每个实验组合我仅有一个方案，所以我怎么可能重复实验呢？

3:01 min – Option 1: Replicate in time

3 分 01 秒 – 选择 1: 及时重复

其中一种选择就是采用这种组合，并在本周内不重复。现在，我的实验将花费大约 3 天，包括装置的安装与拆卸是 4 天。所以我能够在一周内完成一个实验。这周我要完成这个实验。现在，作为所有这一切的重要前提，我们做了这样的设置，看起来这个组合在升高，那个组在升高，另一个实验组也在升高。颜色完全匹配，你可以清楚地看到，排列得非常好，这就是重点所在。我永远不会以这种方式进行实验。这些瓶子离窗户最近，这些都是最靠近那里的走廊，这些都在阴凉处，而这些都在光线下，这些都在我的腋下 - 天知道那里发生了什么。你不会这样做的，对吧？！你会把所有这些随机摆放。所以一定不要这样做，但它很说明问题。所以我本周可以做到这一点，获得数据，下周再做一次，获取更多数据。两周之后再做一次，继续获得更多数据。及时重复将为实验带来一系列变量。实际上这是允许的，因为这种变量和采样误差、正常变动一起，都将体现在后续分析的误差项中。及时重复的优点是，你可以在合理范围内重复，无论多少次都行。你基本上可以不断重复，直到获得足够的数据来统计你想要检测的影响。

4:27 min – Option 2: Major vectors

4 分 27 秒 - 选则 2: 主要向量

如果我们不打算及时重复，但希望通过其他方法来开展实验，以将这 125 种实验组合减少到更易于操作的范围内，那么我们可以每次实验只重复一次。应该怎么做？！一个显而易见的选择是：“说真的，我对这瓶子里发生了什么感兴趣吗？还是对那个组合里的感兴趣？或者是我真正感兴趣的是，这里的主要向量，这里的向量，还有那里的向量都发生了什么？”。这是三个主要因子，分别是 $p\text{CO}_2$ 、氧气和盐度，也许是这三个因子的组合，从立方体中间穿过的对角线从这里开始，并在这里结束。因为这将告诉我盐度的个体效应、氧气的个体效应、 $p\text{CO}_2$ 的个体效应，以及三个因素相结合的综合效应。它不会告诉我双向相互作用，但实际上我也可能不会对此感兴趣。那么，结果会变成什么样？！好的，现在我要使用魔杖（5 分 40 秒）.....

现在我们有 3 个主要变量，分别是 $p\text{CO}_2$ 、氧气和盐度，所以我们可以弄清楚每个变量单独将发生什么。但我们只能知道它们之间的三向交互作用结果，即 $p\text{CO}_2$ 、氧气和盐度的综合作用对未来的影响和趋势。因此，这个设计为我们提供了一个未来的场景，以及对基本机制的理解，但我们仍然缺乏这些变量之间的双向交互作用。所以我们在这个设计中无法理解其内在机制。



6:30 min - Option 3: Scenarios

6 分 30 秒 - 选择 3: 场景

如果上一个实验设计太宏大了，那么我们可以问自己：“如果我们要减少实验数量，且不需要知道每个设计组合包含什么，那我们真正想了解什么？”。这其实涉及到：“我们是想要完成整个实验，还是只想知道未来将发生什么？”。比如这是今天、现在的环境条件，同样今天的 $p\text{CO}_2$ 、氧气以及盐度，而这是未来酸化的、缺氧的、低盐的场景。从实际情况考虑，我们想要了解的甚至不是这些主要的矢量和对角线，

因为那仅仅是对角线而已。我们要的是场景。是的，我们打乱了缺氧、盐度和 $p\text{CO}_2$ ，但如果我们想做的就是了解未来海洋会发生什么，并且非常肯定这就是未来海洋的样子，那么这就是我们需要的一切，对吧？！并且，我们可以很容易地重复实验，因为那是 1,2,3,4,5 种不同的实验组合。好，现在再次借助我的魔杖（7 分 40 秒）...

所以现在剩下的就是一个通过矩阵的三维对角线。因此我们得到了 $p\text{CO}_2$ 的最低值，下一个最高值，第三个最高值，第四个最高值，等等，但这些都与氧气和盐度的相同等值相混淆。所以我们有了一个场景。这里只有 5 种实验组合，我们可以很容易地重复这种组合，并且得出这些共同变化的驱动因素将如何影响未来的反应。但是在这个设计中，我们对每个因素如何独立发挥作用却一无所知。



8:33 min - Option 4: Collapsed factorial

8 分 33 秒 - 折叠因子

为了能够减少这种设计的繁复性，从而实现多次重复实验，另一种方式是回过头来，再次问自己：“我们真正想知道什么？”。现在，如果你还记得刚开始的时候，我说对 $p\text{CO}_2$ 的影响非常感兴趣，那就是为什么我想要 5 个不同水平的 $p\text{CO}_2$ 来获得高分辨率的 $p\text{CO}_2$ 。但是我太投入了，开始处理 5 个不同水平的氧气和盐度数据，最终发生了之前我们提到的这个问题。但如果我真正感兴趣的是 $p\text{CO}_2$ 的影响，那么我可以保留 5 个级别的 $p\text{CO}_2$ 不变，并将其他 2 个变量（盐度和氧气，或缺氧）折叠合并成一个变量，让它们共同发生作用。其中可能还有更多的驱动因子，但我在这里已经加入了两个额外的因子。因此，如果我们打算使用这个“折叠”设计——[菲利普·博易德 \(Nature Climate Change volume 6, pages 207–213 \(2016\)\)](#) 和他的同事已用此方法发表了相关论文，你可以在网上找到参考。如果我们要把设计变成“折叠设计”，那么这个设计看起来会是什么样子呢？现在，再次借助我的魔杖（9 分 43 秒）.....

好的，所以如果我们想进一步减少工作量，我们可以再次问自己：“我们感兴趣的主要驱动因子是什么？”。在这个例子中，是 $p\text{CO}_2$ 的垂直变化。因此我们将隐

藏另两个驱动因子，即这个方向的氧气和这个方向的盐度。接下来我们将在现有环境氧气和盐度下使用 $p\text{CO}_2$ 的所有 5 个值，并在未来的氧气和盐度下使用 $p\text{CO}_2$ 的所有 5 个值。我不再考虑其它一切因素。现在我们有环境氧气和盐度下的 5 个 $p\text{CO}_2$ 值和未来氧气和盐度下的 5 个 $p\text{CO}_2$ 值，并在设计中不再考虑任何其它因素。在这里，我们有 10 个实验组合。我们保留了所需要的 $p\text{CO}_2$ 分辨率，但失去了与氧气和盐度共同变化的相关值。但是如果你想再简化一点，特别是如果你需要更多次重复试验，那么 10 个组合就相当多了。我们可以去除中间的 3 个 $p\text{CO}_2$ 值，这样可以将组合降到 4 个，这样就可以分别获得环境中及未来的 $p\text{CO}_2$ 、氧气和盐度数值。现在让我们继续（11 分 19 秒）.....

现在我们有了菲利普·博易德等人用过的折叠设计。我们有了环境 $p\text{CO}_2$ 和未来 $p\text{CO}_2$ 下的环境氧气与盐度，以及环境 $p\text{CO}_2$ 和未来 $p\text{CO}_2$ 下未来的氧气和盐度。博易德等人的案例将不仅排除了氧气和盐度，还有更多其他因子，但设计原则基本相同。我们有了 4 种组合，就能够更多做更多重复试验。



11:46 min - Summary

11 分 46 秒 - 总结

现在你有多个选项来设计包含 5 个级别 $p\text{CO}_2$ 、氧气及盐度或任何其他驱动因素实验。你也许能够及时重复，也可能无法及时重复。但实际上，在你决定想做哪一个之前，都需要再问自己一个问题“我为什么想了解？我真正想了解的是什么？”如果我了解 $p\text{CO}_2$ 、氧气和盐度如何影响实验系统响应的机制，了解其中所有的细微差别，那么我就得做全部的 125 个组合设计。无论你的解决方案是什么，你必须及时重复实验，或许可以做一个更好的大组合设计，或说服所有同事来帮我同时运行 3 次。根据系统的不同，你也许能同时在不同空间中重复试验，但这基本不可能。你必须能够测量这里所有容器中的样品。如果真的想完全了解每个组合产生的不同结果，这是

其中一种选择，也可能是唯一选择。但也有其他选项。例如，我们已知这几个主要向量，只关注系统中的主要驱动因素：这个立方体中的 3 个主轴，以及它们的对角线组合。这将告诉我们一些机制信息。比如这三种驱动因素中的每个因素，pCO₂、氧气和盐度，各在系统中发挥什么作用，以及这些驱动的组合在未来将起什么作用。所以它能告诉我们的，是类似机制信息和下一个选项之间的中间项，这条对角线一直从现在到未来。好的，我们刚刚看到这个三维对角矢量，这仅仅是一个未来情景的模拟。这是把氧气、pCO₂ 和盐度放在一起。它们共同变化导致了未来的预测值，但我们不知道其中哪一个正在推动响应。这可能不怎么有趣，如果我们想做的事情是告知政策制定者，例如“未来的海洋将如何影响呼吸率或其它事物？”，那我们可以用这种设计。它有缺点，因为我们不知道除此之外的其它因素发生了什么变化。但我们只有 5 个设计组合，所以可以很好地重复它并获得很多统计结果。最后，有一些稍微复杂的设计，比如我们向你展示的折叠设计，你可以处理真正感兴趣的驱动因子，比如 pCO₂，并把另两个因素折叠起来。只做一个双向设计，这样其它因素实际上只是一个组合变量，在这个例子中就是盐度和氧气，但也可能包含其它驱动因素。如果你把那些额外的驱动因子混在一起，就不知道哪一个有效因素，但如果你对 pCO₂ 的影响非常感兴趣，那么你就会得到想要的答案。

14:47 - Pros and cons

14 分 47 秒 - 利弊分析

现在我们来分析一下利弊。这里的每一种设计都有不同的分析选项，并且需要重复的次数以及获取信息的难易程度都不同。它们中每个都会产生一些不易发现的影响，因此你需要充分考虑实验设计未体现出的结果。我现在不打算进行任何一种实验设计，但是皮特·迪灵汉（[Peter Dillingham](#)）录了一个很好的视频，介绍如何进一步分析这些不同类型的设计。建议你们去看看视频。

