

POPULATION ECOLOGY

Порівняльний аналіз ефективності застосування апостеріорних тестів у когортному аналізі (на прикладі *D. melanogaster*)

С. С. Руденко*, А. В. Том'юк, С. С. Костишин

Чернівецький національний університет ім. Юрія Федьковича, м. Чернівці, Україна

*Corresponding author. E-mail: rudenko.prof.eco@gmail.com

Paper received 13.05.19; Accepted for publication 25.05.19.

<https://doi.org/10.31174/SEND-NT2019-200VII24-09>

Анотація. У статті представлені результати порівняльної оцінки ефективності використання трьох найпопулярніших апостеріорних тестів – тесту Шеффе, тесту Тьюкі та поправки Бонферроні для визначення достовірності різниці у виживанні когорт модельного виду на різних стадіях онтогенезу за різного стресового навантаження. Як модельний вид використано *D. melanogaster*, як стресові чинники – садові пестициди. Встановлено, що застосування поправки Бонферроні доцільніше, коли вплив порівнюваних стресових чинників досить контрастний, а тесту Тьюкі – коли обидва чинники суттєво пригнічують виживання особин. Застосування тесту Шеффе в когортному аналізі не рекомендоване.

Ключові слова: когортний аналіз, тест Тьюкі, поправка Бонферроні, тест Шеффе, *D. melanogaster*, пестициди

Вступ. Когортний аналіз – важливий напрям досліджень сучасної демекології. Однією з проблем його ефективного застосування є оптимізація статистичних підходів, які би дозволили об'єктивно оцінити різницю у виживанні особин порівнюваних когорт на різних стадіях онтогенезу. Застосування популярного непарного критерію Стьюдента для когортного аналізу, який передбачає порівняння трьох, чотирьох, п'яти і навіть більшої кількості незалежних груп є не лише мало інформативним, але й зумовлює помилково завищений критичний рівень значущості. Адже *t*-тест для незалежних середніх буде перевіряти, чи ці два середніх значно відрізняються один від одного, за умови, що вони є єдиними двома порівнюваними середніми. Це, в свою чергу, збільшує ймовірність випадкового виявлення статистично значущих відмінностей там, де їх насправді немає. Дана проблема називається проблемою множинних порівнянь [1]. Перспективним у цьому плані бачиться застосування апостеріорних тестів (*post hoc* тестів) в рамках однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA (one-way ANOVA). На відміну від простих попарних порівнянь, при застосуванні апостеріорних тестів розраховуються нові критичні рівні значущості для попарного порівняння груп. Однак на відміну від стандартного *t*-тесту в цьому випадку внутрішньогрупова дисперсія оцінюється за всіма даними, а не тільки за тими, які належать до пари порівнюваних груп. Серед апостеріорних тестів найчастіше застосовуються три: тест Шеффе (Scheffe test), тест Тьюкі (Tukey test) та поправка Бонферроні (Bonferroni correction).

Стислий огляд публікацій по темі. Деякі автори зазначають, що поправка Бонферроні дає гарні результати при невеликій (до 5) кількості порівнянь, натомість вона не працює при великій кількості груп – із збільшенням їх числа дуже сильно падає потужність тесту [2; 3].

Інші автори надають перевагу тесту Шеффе [4], зазначаючи при цьому, що він не чутливий до порушення об'ємів вибірок та рівності дисперсій і, до того

ж, використовує лінійні комбінації середніх різних вибірок, на відміну від тесту Тьюкі, який розглядає тільки попарні порівняння.

В іншій публікації [5] ці ж автори наголошують, що, якщо мета полягає в тому, щоб бути якомога більш впевненими, що певне лікування має ефект, то доцільно застосовувати саме тест Шеффе.

R. W. Day та G. P. Quinn [6] вважають, що застосування тесту Тьюкі є більш ефективним, ніж тесту Шеффе. При цьому автори виходили з того, що в їх дослідженнях потужність тесту Тьюкі становила ~ 53%, а потужність тесту Шеффе – лише 35%.

Мета дослідження – порівняти ефективність застосування різних апостеріорних тестів для оцінки впливу стресових чинників на розвиток когорт *D. melanogaster* Meigen, 1830. У попередніх публікаціях нами була доведена ефективність використання когортного аналізу плодової мушки для екомоніторингу техногенно трансформованих територій [7].

Для досягнення головної мети результати апостеріорного тестування розглядалися крізь призму двох питань:

- чи виявляють апостеріорні тести збіжність щодо прийняття чи відхилення нульової гіпотези при порівнянні пар варіантів з різним стресовим навантаженням і якщо ні, то який з тестів є найчутливішим;
- яку ймовірність помилок дають апробовані тести для тих пар варіантів, при порівнянні яких всі вони продемонстрували збіжність у прийнятті альтернативної гіпотези.

Як стресові чинники були застосовані три пестициди різної природи та токсичності.

Матеріали та методи. На дно пробірок заливали гаряче поживне стандартне середовище, в яке в дослідних варіантах додавали пестициди у повних або половинних робочих дозах. У кожному з двох пробірок одного варіанту поміщали по 8 самців або по 8 самок *D. melanogaster* лінії Oregon-R, які утримували 72 години при 25°C у термостаті. Після цього у вісім нових пробірок одного варіанту зі свіжим поживним середовищем без пестицидів висаджували по дві самці та од-

ному самцю для схрещування. Самок через добу видаляли і поміщали в чашки Петрі на чорнично-агарові пластинки, які утримували в термостаті при температурі 25°C. Після 8 годин самок видаляли, і здійснювали облік яєць, личинок, лялечок та імаго [8]. Повторність одного варіанту восьмикратна.

Стандартне поживне середовище [9] на 1 л води містило такі інгредієнти: манна крупа – 35 г, дріжджі сухі – 70 г, агар-агар – 7 г, цукор – 17 г, пропіонова кислота – 0,8 мл, родзинки мелені – 40. Чорнично-агарові пластинки містили на 1 л води такі складові: 25 г агару, 25 г цукру, 250 мл чорничного соку та 15 мл 10%-ного ніпагіну (5 г у 50 мл етанолу).

Нижче наведена стисла характеристика застосованих для досліджень пестицидів згідно офіційного сайту пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні [10].

Системний інсектицид “Моспілан, РП” зареєстрований в Україні з 16.01.2012. Термін дії реєстрації до 31.12.2021. Фірма постачальник інсектициду – Ніппон Сода Ко., ЛТД, (Японія). Діючою речовиною є ацетаміприд, який належить до хімічної групи неонікотиноїдів. Вміст ацетаміприду становить 200 г/кг препарату. “Моспілан, РП” належить до 3 класу токсичності.

Системний фунгіцид “Хорус 75 WG” зареєстрований в Україні з 27.09.2012. Термін дії реєстрації до 31.12.2022. Фірма постачальник фунгіциду – Сингента Кроп Протекшн АГ (Швейцарія). Діючою речовиною є ципродиніл, який належить до групи анілінопірамідинів. Вміст ципродинілу 750 г/кг препарату. “Хорус 75 WG” належить до 3 класу токсичності.

Системний фунгіцид “Топсін-М 500, КС” зареєстрований в Україні з 20.11.2012. Термін дії реєстрації до 31.12.2023. Фірма постачальник фунгіциду – Ніппон Сода Ко., ЛТД, (Японія). Діючою речовиною є тіофанат-метил, який належить до групи бензімідазолів. Вміст тіофанат-метилу 500 г/кг препарату. “Топсін-М 500, КС” належить до 2 класу токсичності.

Для можливості застосування однофакторного дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) були враховані дві важливі умови: по-перше, вибірки були перевірені на нормальність розподілу за допомогою теста Шапіро-Уїлка (Shapiro-Wilks test, $p > 0,05$). Даний критерій використовується для перевірки гіпотези H_0 : «випадкова величина X розподілена нормально» і рекомендований для перевірки нормальності невеликих вибірок ($n \leq 50$); по-друге - експеримент був спланований таким чином, щоб забезпечити гомогенність дисперсій всіх експериментальних варіантів. Для цього відразу набирали рівномірний комплекс, тобто однакову кількість спостережень в

групах. Кількість повторностей у варіанті становила 8, кількість самок взятих для скидання яєць в одній повторності також становила 8. По завершенню експерименту гомогенність дисперсій вибірок була перевірена Levene’s test, $p > 0,05$.

Спочатку порівнювали всі групи між собою за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (one-way ANOVA). Якщо ANOVA підтверджувала наявність різниці, використовували апостеріорні тести для множинного порівняння (порівнювали експериментальні варіанти попарно, зберігаючи загальну $\alpha = 0,05$). Адже ANOVA не вказує, які групи відрізняються один від одного, а тільки на наявність таких відмінностей. Тому після отримання статистично значущого F-тесту з ANOVA, знаходили, які середні сприяли цьому ефекту; тобто, які варіанти (групи) особливо відрізняються один від одного. Для цього у програмі STATISTICA послідовно відкривали такі вкладки: More results → Post-hoc → Tukey HSD → Bonferroni → Scheffe.

Результати та їх обговорення. У таблиці 1 представлені результати когортного аналізу *D. melanogaster*, отримані для варіантів з різним пестицидним навантаженням.

Усі застосовані апостеріорні тести, засвідчили, що за умов введення в поживне середовище половинної робочої дози інсектициду “Моспілан, РП” кількість відкладених самками *D. melanogaster* яєць (в-ант №2) та сформованих з них личинок (в-ант №3) достовірно перевищує їх значення в контролі (в-нт №1) та у варіантах з обома фунгіцидами (в-анти №3 та №4) (табл. 2,3,4). Натомість введення в поживне середовище половинних робочих доз фунгіцидів не спричиняє стимуляції перших двох стадій розвитку когорт. Навпаки, порівняно з контролем, “Топсін-М” у половинній робочій дозі гальмує відкладання самками яєць та формування з них личинок, а “Хорус 75 WG” – гальмує формування личинок, але достовірно не впливає на відкладання яєць. При цьому усі апостеріорні тести підтвердили, що “Топсін-М” здійснює більший гальмівний вплив на формування личинок, ніж “Хорус 75 WG”.

На стадії лялечок та імаго вплив половинних робочих доз обох фунгіцидів та інсектициду стає односпрямованим. Три застосовані апостеріорні тести засвідчують достовірне зниження кількості зазначених онтогенетичних форм *D. melanogaster* у всіх дослідних варіантах порівняно з контролем, але в переважній більшості демонструють відсутність достовірної різниці між самими дослідними варіантами. Виняток становить різниця у кількості імаго між дослідними варіантами №2 та №4.

Таблиця 1. Результати когортного аналізу *D. melanogaster* зв умовах різного пестицидного навантаження ($n=8$)

№ в-анту	Пестицид, концентрація	Яйця	Личинки	Лялечки	Імаго
№1	Контроль	193 ± 15,44	136 ± 11,29	113 ± 8,59	99 ± 5,45
За умов застосування половинних робочих доз пестицидів					
№2	“Топсін-М”, 1 г/л	132 ± 8,90	78 ± 5,46	38 ± 2,51	34 ± 2,77
№3	“Хорус 75 WG”, 0,15 г/л	193 ± 16,91	102 ± 8,98	38 ± 2,77	27 ± 1,76
№4	“Моспілан, РП”, 0,063 г/л	252 ± 28,00	170 ± 18,02	41 ± 3,03	25 ± 2,28
За умов застосування повних робочих доз пестицидів					
№5	“Топсін-М”, 2 г/л	185 ± 21,15	108 ± 11,02	23 ± 1,93	18 ± 1,31
№6	“Хорус 75 WG”, 0,3 г/л	208 ± 28,52	94 ± 9,49	61 ± 3,60	59 ± 4,96
№7	“Моспілан, РП”, 0,125 г/л	4 ± 1,20	2 ± 0,40	1 ± 0,20	1 ± 0,08

Таблиця 2. Значення ймовірностей (P-значення) при застосуванні **тесту Тьюкі** для оцінки різниці між варіантами

Яйця – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 344,75					Яйця – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 377,00				
	1	2	3	4		5	6	7	
1		0,0162 54	1,0000 00	0,0193 86	1	0,9557 59	0,7821 13	0,0002 33	
2	0,0162 54		0,0162 54	0,0004 04	5	0,9557 59	0,5058 91	0,0002 34	
3	1,0000 00	0,0162 54		0,0193 86	6	0,7821 13	0,5058 91	0,0002 31	
4	0,0193 86	0,0004 04	0,0193 86		7	0,0002 33	0,0002 34	0,0002 31	
Личинки – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 137,75					Личинки – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 80,750				
	1	2	3	4		5	6	7	
1		0,0015 32	0,0309 59	0,0309 59	1	0,0214 64	0,0021 27	0,0002 31	
2	0,0015 32		0,1337 06	0,0002 59	5	0,0214 64	0,2971 11	0,0002 31	
3	0,0309 59	0,1337 06		0,0006 43	6	0,0021 27	0,2971 11	0,0002 32	
4	0,0309 59	0,0002 59	0,0006 43		7	0,0002 31	0,0002 31	0,0002 32	
Лялечки – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 27,000					Лялечки – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 21,000				
	1	2	3	4		5	6	7	
1		0,00023 1	0,00023 1	0,00023 1	1	0,0002 31	0,0002 31	0,0002 31	
2	0,00023 1		1,00000 0	0,89161 9	5	0,0002 31	0,0002 46	0,0018 13	
3	0,00023 1	1,00000 0		0,89161 9	6	0,0002 31	0,0002 46	0,0002 31	
4	0,00023 1	0,89161 9	0,89161 9		7	0,0002 31	0,0018 13	0,0002 31	
Імаго – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 10,500					Імаго – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 12,750				
	1	2	3	4		5	6	7	
1		0,0002 31	0,0002 31	0,0002 31	1	0,0002 31	0,0002 31	0,0002 31	
2	0,0002 31		0,1097 30	0,0379 24	5	0,0002 31	0,0002 31	0,0019 08	
3	0,0002 31	0,1097 30		0,8718 27	6	0,0002 31	0,0002 31	0,0002 31	
4	0,0002 31	0,0379 24	0,8718 27		7	0,0002 31	0,0019 08	0,0002 31	

Примітки. Тут і в табл. 3 та 4 нумерація варіантів збігається з поданою у табл. 1. Червоним кольором виділені P-значення, які порівнюють, або менші від заданого рівня значимості ($\leq 0,05$).

Якщо тест Шеффе та поправка Бонферроні підтримують нульову гіпотезу, тобто відсутність різниці між цими варіантами, то тест Тьюкі її спростовує і засвідчує наявність достовірної різниці між ними. При цьому тест Тьюкі підтверджує більший гальмівний вплив половинної робочої інсектициду “Моспілан, РП” на процес перетворення лялечок в імаго порівняно з аналогічною дозою фунгіциду “Топсін-М”.

Вплив повних робочих доз пестицидів на розвиток когорт *D.melanogaster* суттєво відрізняється від впливу половинних. За результатами усіх трьох апостеріорних тестів, фунгіциди “Топсін-М” та “Хорус 75 WG” у повній робочій дозі достовірно не впливають на кількість яєць відкладених самками. Натомість вплив інсектициду “Моспілан, РП” у повній робочій дозі виявляється сильно інгібуючим. Має місце 48-кратне змен-

шення кількості яєць порівняно з контролем. Достовірність цього впливу також підтверджена трьома апостеріорними тестами.

Усіма тестами засвідчено, що обидва фунгіциди у повній робочій дозі достовірно пригнічують формування личинок порівняно з контролем, а різниця між цими дослідними варіантами є недостовірною. Натомість пригнічуваний вплив повної робочої дози інсектициду “Моспілан, РП” на формування личинок, як і на утворення яєць, на порядок більший порівняно з фунгіцидами.

Усі апостеріорні тести демонструють достовірне зменшення кількості лялечок та імаго, утворених самками *D.melanogaster* під впливом повних робочих доз усіх досліджених пестицидів і наявність достовірних відмінностей між всіма варіантами. При цьому сила цього впливу зменшується в ряду “Моспілан, РП” > “Топсін-М” > “Хорус 75 WG”.

Таблиця 3. Значення ймовірностей (P-значення) при застосуванні **поправки Бонферроні** для оцінки різниці між варіантами

Яйця – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 344,75					Яйця – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 377,00				
	1	2	3	4		1	5	6	7
1		0,022929	1,000000	0,027587	1		1,000000	1,000000	0,000014
2	0,022929		0,022929	0,000283	5	1,000000		1,000000	0,000019
3	1,000000	0,022929		0,027587	6	1,000000	1,000000		0,000008
4	0,027587	0,000283	0,027587		7	0,000014	0,000019	0,000008	
Личинки – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 137,75					Личинки – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 80,750				
	1	2	3	4		1	5	6	7
1		0,001831	0,045191	0,045191	1		0,030703	0,002651	0,000000
2	0,001831		0,220123	0,000069	5	0,030703		0,556810	0,000003
3	0,045191	0,220123		0,000614	6	0,002651	0,556810		0,000009
4	0,045191	0,000069	0,000614		7	0,000000	0,000003	0,000009	
Лялечки – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 27,000					Лялечки – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 21,000				
	1	2	3	4		1	5	6	7
1		0,000001	0,000001	0,000001	1		0,000000	0,000004	0,000000
2	0,000001		1,000000	1,000000	5	0,000000		0,000045	0,002221
3	0,000001	1,000000		1,000000	6	0,000004	0,000045		0,000001
4	0,000001	1,000000	1,000000		7	0,000000	0,002221	0,000001	
Імаго – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 10,500, df = 8,0000					Імаго – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 12,750, df = 8,0000				
	1	2	3	4		1	2	3	4
1		0,000000	0,000000	0,000000	1		0,000000	0,000005	0,000000
2	0,000000		0,176696	0,056023	2	0,000000		0,000004	0,002347
3	0,000000	0,176696		1,000000	3	0,000005	0,000004		0,000000
4	0,000000	0,056023	1,000000		4	0,000000	0,002347	0,000000	

Таблиця 4. Значення ймовірностей (P-значення) при застосуванні **тесту Шеффе** для оцінки різниці між варіантами

Яйця – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 344,75					Яйця – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 377,00				
	1	2	3	4		1	5	6	7
1		0,025229	1,000000	0,029852	1		0,966375	0,825775	0,000019
2	0,025229		0,025229	0,000386	5	0,966375		0,577122	0,000027
3	1,000000	0,025229		0,029852	6	0,825775	0,577122		0,000011
4	0,029852	0,000386	0,029852		7	0,000019	0,000027	0,000011	
Личинки – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 137,75					Личинки – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 80,750				
	1	2	3	4		1	5	6	7
1		0,002351	0,046528	0,046528	1		0,032890	0,003350	0,000001
2	0,002351		0,179842	0,000097	5	0,032890		0,365685	0,000005
3	0,046528	0,179842		0,000820	6	0,003350	0,365685		0,000013
4	0,046528	0,000097	0,000820		7	0,000001	0,000005	0,000013	
Лялечки – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 27,000					Лялечки – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 21,000				
	1	2	3	4		1	2	3	4
1		0,000001	0,000001	0,000001	1		0,000000	0,000006	0,000000
2	0,000001		1,000000	0,915877	2	0,000000		0,000064	0,002828
3	0,000001	1,000000		0,915877	3	0,000006	0,000064		0,000002
4	0,000001	0,915877	0,915877		4	0,000000	0,002828	0,000002	
Імаго – ½ робочої дози пестицидів Error: Between MS = 10,500					Імаго – повна робоча доза пестицидів Error: Between MS = 12,750				
	1	2	3	4		1	2	3	4
1		0,000000	0,000000	0,000000	1		0,000000	0,000007	0,000000
2	0,000000		0,150355	0,056294	2	0,000000		0,000006	0,002982
3	0,000000	0,150355		0,899959	3	0,000007	0,000006		0,000000
4	0,000000	0,056294	0,899959		4	0,000000	0,002982	0,000000	

Отже, порівнювані апостеріорні тести у переважній більшості випадків продемонстрували збіжність щодо прийняття чи відхилення нульової гіпотези. Лише в одному випадку тест Тьюкі, всупереч двом іншим тестам,

засвідчив прийняття альтернативної гіпотези замість нульової, тобто проявив меншу консервативність.

Окремим напрямом наших досліджень стало порівняння ймовірностей помилок, які дають апробовані для когортного аналізу *D.melanogaster* апостеріорні

тести, у випадках, коли альтернативна гіпотеза була ними прийнята, натомість нульова гіпотеза була відхилена. Якщо на тлі прийняття альтернативної гіпотези середні значення порівнюваних пар варіантів є доволі контрастними і відрізняються більше, ніж в 2 рази, то поправка Бонферроні та тест Шеффе дають менше Р-значення, ніж тест Тьюкі. Наприклад, при оцінці різниці між середніми кількостями імаго у контролі (в-нт №1) та дослідних варіантах з половинними робочими дозами пестицидів – №2, №3 та №4, коли середні значення в контролі перевищують середні у зазначених варіантах у 2,91; 3,67 та 3,96 рази відповідно, поправка Бонферроні та тест Шеффе дають меншу ймовірність помилки, ніж тест Тьюкі. Аналогічну картину спостерігаємо і при порівнянні середньої кількості лялечок в контрольному (в-нт №1) та дослідних варіантах №2, №3, №4 з половинними дозами пестицидів, де середні значення в контролі перевищують відповідні середні значення в дослідних варіантах у 2,97; 2,97 та 2,76 разів відповідно. І в даному випадку поправка Бонферроні та тест Шеффе, підтверджуючи альтернативну гіпотезу, дають меншу ймовірність помилки, ніж тест Тьюкі. При порівнянні середніх кількостей личинок у дослідних варіантах №2 (Топсін-М^с, 1 г/л) та №4 (“Моспілан, РП^с”, 0,063 г/л), де різниця між середніми становить 2,18 рази, поправка Бонферроні та тест Шеффе, на тлі прийняття альтернативної гіпотези, також дають менше значення ймовірності, ніж тест Тьюкі. При цьому в усіх зазначених випадках поправка Бонферроні дає меншу ймовірність помилки, ніж тест Шеффе. Тобто поправка Бонферроні засвідчує більшу достовірність різниці між суттєво контрастними середніми, ніж тест Тьюкі. А тест Шеффе за цих умов займає проміжну позицію з більшим наближенням до поправки Бонферроні.

Натомість, коли різниця між середніми менша ніж 2 рази, тест Тьюкі, за умов прийняття альтернативної гіпотези, дає меншу ймовірність помилки порівняно з двома іншими тестами. Так, при оцінці різниці між середніми кількостями яєць в контролі (в-нт №1) та дослідних варіантах №2 (“Топсін-М^с”, 1 г/л) і №4 (“Моспілан, РП^с”, 0,063 г/л), де відмінність становить 1,5 та 1,3 рази відповідно, тест Тьюкі дає меншу ймовірність помилки при прийнятті альтернативної гіпотези, ніж поправка Бонферроні та тест Шеффе. Така ж закономірність має місце при порівнянні середніх кількостей личинок у контролі та дослідних варіантах №2, №3, №4 з половинними робочими дозами пестицидів, де середні значення в дослідних варіантах відрізняються від середнього значення в контролі в 1,74; 1,33 та 1,25 разів відповідно. При цьому тест Шеффе у всіх зазначених парах порівнюваних варіантів дає більшу ймовірність помилки, ніж поправка Бонферроні. Тобто чим ближчі між собою середні значення, тим краще різницю між ними уловлює тест Тьюкі, менше поправка Бонферроні і ще менше тест Шеффе.

Окремо слід розглянути різницю між варіантами №2 (“Топсін-М^с”, 1 г/л) та №4 (“Моспілан, РП^с”, 0,063 г/л) за середньою кількістю імаго, де співвідношення середніх становить 1,36. Лише тест Тьюкі підтвердив наявність достовірної різниці між середніми цих варіантів з ймовірністю 0,0379, натомість поправка Бонферроні

та тест Шеффе не змогли спростувати нульової гіпотези, оскільки значення ймовірностей за кожним з цих тестів для даного порівняння хоча і незначно, але перевищувала 0,05. При цьому перевищення за тестом Шеффе було дещо більшим, ніж за поправкою Бонферроні.

У варіантах з повними дозами пестицидів маємо аналогічні закономірності. Так, при оцінці достовірності різниці між середніми кількостями яєць у дослідному варіанті №7 (“Моспілан, РП^с”, 0,125 г/л) та варіантах №1, №5, №6, які відрізняються від зазначеного варіанту в 48,25; 46,25; 52 рази відповідно, поправка Бонферроні дає найменшу ймовірність помилки на тлі підтвердження альтернативної гіпотези, дещо більшу ймовірність помилки дає тест Шеффе і найбільшу – тест Тьюкі. Аналогічні ймовірності помилок зафіксовані на тлі визнання альтернативної гіпотези щодо різниці між середньою кількістю личинок у дослідному варіанті №7 (“Моспілан, РП^с”, 0,125 г/л) та інших варіантах, які відрізняються від зазначеного варіанту в 68, 54 та 47 раз. Натомість при порівнянні середньої кількості личинок між варіантами №1, №5 та №6, де різниця між середніми не перевищує 1,26–1,45 рази, на тлі визнання альтернативної гіпотези за всіма дослідженими тестами, тест Тьюкі дає найменшу ймовірність помилок, більшу – поправка Бонферроні та найбільшу – тест Шеффе.

Водночас на тлі визнання альтернативної гіпотези поправка Бонферроні та тест Шеффе дають більшу помилку, ніж тест Тьюкі, коли значення більшого з порівнюваних середніх наближається до 20, тобто є досить низьким навіть, якщо воно відрізняється від меншого середнього значення більше, ніж у 2 рази. Така ситуація зафіксована, наприклад, при порівнянні середньої кількості лялечок та імаго у варіантах з повними робочими дозами пестицидів №5 (“Топсін-М^с”, 2 г/л) та №7 (“Моспілан, РП^с”, 0,125 г/л). Достовірна різниця між варіантами була зафіксована усіма тестами, проте ймовірність помилки на тлі прийняття альтернативної гіпотези зростала в такому ряду: тест Тьюкі < поправка Бонферроні < тест Шеффе.

Висновки. Тест Тьюкі є найбільш ліберальним і його застосування доцільне, коли кількість особин на останніх стадіях розвитку (лялечки, імаго) порівнюваних когорт *D.melanogaster* різко зменшується відносно контролю під впливом кожного з попарно порівнюваних стресових чинників. Серед досліджених апостеріорних тестів поправка Бонферроні дає найменшу ймовірність помилки при прийнятті альтернативної гіпотези, якщо порівнювані середні значення є суттєво контрастними і відрізняються більше, ніж у два рази, але при цьому значення більшого із порівнюваних середніх значно більше за 20. Натомість, коли порівнювані середні є слабо контрастними і відрізняються менше ніж у 2 рази, найменшу ймовірність помилки при прийнятті альтернативної гіпотези дає тест Тьюкі. Застосування тесту Тьюкі є більш пріоритетним і у випадку, коли значення більшого з порівнюваних середніх менше за 20 або наближається до цього числа, навіть якщо при цьому воно перевищує менше з цих значень більше, ніж у 2 рази. Тест Шеффе виявився найбільш консервативним і порівняно з двома іншими тестами демонструє вищі ймовірності помилок на тлі

прийняття альтернативної гіпотези, як у випадку сильно контрастуючих, так і слабо контрастуючих середніх.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гржибовский А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных // Экология человека. – 2008.03 – С. 50-58
2. Moran M.D. Arguments for rejecting the sequential Bonferroni in ecological studies // Oikos. – February 2003. – Vol. 100, Iss. 2 – P. 403-405.
3. Garcia L.V. Escaping the Bonferroni iron claw in ecological studies // Oikos. – 2004. – Vol. 105, Iss. 3. – P. 657-663.
4. Hilton A. C., Armstrong R. A. Statnote 6: post-hoc ANOVA tests //Microbiologist. – September 2006. – P. 34-36.
5. Armstrong R A & Hilton A.C. The use of analysis of variance (ANOVA) in applied microbiology //Microbiologist. – 2004. – Vol. 5, No.4. – P. 18-21.
6. Day R. W., Quinn G. P. Comparisons of Treatments After an Analysis of Variance in Ecology // Ecological Monographs. – Dec., 1989. – Vol. 59, No. 4. – P. 433-463.
7. Руденко С.С., Легета У.В., Страшнюк В.Ю. Застосування програми ImageJ для оцінки впливу техногенних ландшафтів на життєздатність когорти *Drosophila melanogaster* // Slovak international scientific journal. – 2019. – Т.2, № 25. – P. – 18-24.
8. Білоконь С. В., Скляр В. С. Генотоксичний ефект гербіцидів і плодючість *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ. – 2012. – Том 17, Вип. 4 (29). – Серія «Біологія». – С. 57-61.
9. Imasheva A.G., Bublik O.A. Quantitative variation of four morphological traits in *Drosophila melanogaster* under larval crowding //Hereditas. – 2003. – V.138 – P.193-199.
10. Офіційний сайт пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://agroscience.com.ua/views/perelik-pest-all>

REFERENCES

1. Grjibovsky A.M. Analysis of three and more independent groups of quantitative data //Human ecology – 2008.03 – P. 50-58.
2. Moran M.D. Arguments for rejecting the sequential Bonferroni in ecological studies // Oikos. – February 2003. – Vol. 100, Iss. 2 – P. 403-405.
3. Garcia L.V. Escaping the Bonferroni iron claw in ecological studies // Oikos. – 2004. – Vol. 105, Iss. 3. – P. 657-663.
4. Hilton A. C., Armstrong R. A. Statnote 6: post-hoc ANOVA tests //Microbiologist. – September 2006. – P. 34-36.
5. Armstrong R A & Hilton A. C. The use of analysis of variance (ANOVA) in applied microbiology //Microbiologist. – 2004. – Vol. 5, No.4. – P. 18-21.
6. Day R. W., Quinn G. P. Comparisons of Treatments After an Analysis of Variance in Ecology // Ecological Monographs. – Dec., 1989. – Vol. 59, No. 4. – P. 433-463.
7. Rudenko S.S, Leheta U.V., Strashnyuk V.Y. Using ImageJ for evaluation of the effect of technogenic landscapes on viability of *Drosophila melanogaster* cohorts // Slovak international scientific journal. – 2019. –Vol.2, №5. – P.18-24.
8. Belokon S.V., Sklyar V. S. Genetoxic effect of herbicides and fecundity of *Drosophila melanogaster* //The ONU Bulletin. Biology. – 2012. – Vol. 17, Iss.4 (29). – P. 57-61.
9. Imasheva A.G., Bublik O.A. Quantitative variation of four morphological traits in *Drosophila melanogaster* under larval crowding //Hereditas. – 2003. – V.138 – P.193-199.
10. The official website of pesticides and agrochemicals authorized for use in Ukraine [Electronic resource] - Resource access mode: <https://agroscience.com.ua/views/perelik-pest-all>

Comparative analysis of the effectiveness of a posteriori tests in cohort analysis (by example *D. melanogaster*)

S. S. Rudenko, A. V. Tom'yuk, S. S. Kostyshyn

Abstract. The article presents the results of evaluation of the effectiveness of using most popular a posteriori tests –the Sheffe test, the Tukey test, and the Bonferroni correction for to determine the reliability in the difference in cohort survival of model species for different stresses. As a model species, we used *D. melanogaster* and as a stress factor we used pesticides. It is found that the use of the Bonferroni correction is more appropriate when the effect of the comparable stress factors is quite contrast, and the Tukey test - when both factors significantly suppress survival of individuals. The use of the Sheffe test in cohort analysis is not recommended.

Keywords: cohort analysis, Tukey test, Bonferroni correction, Sheffe test, *D. melanogaster*, pesticides.