

动物行为研究中不可忽视的盲实验法

杨灿朝 梁 伟*

热带动植物生态学省部共建教育部重点实验室, 海南师范大学生命科学院 海口 571158

摘要: 被广泛应用于临床医学、药理学和心理学等学科中的盲实验法, 是一种为避免由于人为主观性而对实验观测结果产生偏差的实验设计方法。然而, 该方法在动物行为研究领域一直不被重视。近年来有学者逐渐意识到这个问题, 并通过文献综述和分析, 发现大部分需要采用盲实验法的研究均忽略了此设计方法, 使得其研究结果的效应量明显高于采用盲实验法的研究, 说明实验中观测者的主观偏见对研究结果造成了影响。本文通过对盲实验法的介绍, 强调了其在动物行为研究中的重要性, 并对其在该研究领域中的应用进行了阐述和建议。

关键词: 单盲法; 双盲法; 三盲法; 主观偏见; 效应量

中图分类号: Q958 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 04-663-05

The Role of Blinded Methods in the Studies of Animal Behavior

YANG Can-Chao LIANG Wei*

Ministry of Education Key Laboratory for Tropical Plant and Animal Ecology, College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou 571158, China

Abstract: In scientific researches it is very necessary and important to exclude the negative impact of subjective preferences and expectations on experiment from the observers. The blinded method, which is commonly used in clinical medicine, pharmacology and psychology, aims to avoid the subjective bias by observers such as expectation. However, such method has largely been neglected in the studies of animal behavior. Recent reviews found that most studies, which blinded methods were needed, did not perform an experiment with blinding design. The effect size of such studies were significantly larger than which the blinded methods were used. Such bias would inevitably influence the validity of the scientific data and mislead the readers and further studies. Therefore, we introduced the blinded methods and emphasized their role in the studies of animal behavior. We also illustrated the application of this method and provided suggestions for the studies of animal behavior in the future.

Key words: Single-blind trials; Double-blind trials; Triplet-blind trials; Subjective bias; Effect size

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31260514, 31272328, 31472013), 教育部新世纪优秀人才支持计划项目 (No. NCET-13-0761);

* 通讯作者, E-mail: liangw@hainan.net;

第一作者介绍 杨灿朝, 男, 博士; 研究方向: 鸟类行为生态; E-mail: 13976382711@163.com。

收稿日期: 2015-11-10, 修回日期: 2016-05-06 DOI: 10.13859/j.cjz.201604018

在科学实验中，如何排除人为干扰和人为主观性对实验结果的影响是非常重要的，一旦实验结果包含这些不利因素所引起的效应，其可靠性将大打折扣，甚至会得出完全相悖和错误的结论。因此，除了实验组，对照组被普遍应用于科学研究中，以排除人为干扰或其他变量的影响 (Johnson et al. 2002)。盲实验法 (blinded methods) 是一种为了避免由于人为主观性而对实验观测结果产生偏差的实验设计方法 (Holman et al. 2015)。该实验法被普遍应用于临床医学、药理学、心理学等学科，具有举足轻重的地位，然而，在动物行为学研究领域，该方法却被过度忽视 (Tuystens et al. 2014)。近年来有学者逐渐意识到这种现象，并通过对动物行为研究相关文献的综合分析，揭示了盲实验法的缺失对动物行为研究所带来的负面影响 (van Wilgenburg et al. 2013, Kardish et al. 2015)，这种缺失势必影响动物行为研究文献的可靠性，甚至会误导读者进而影响今后的研究。本文对盲实验法进行了介绍，并对其在动物行为研究领域中的应用进行了阐述和建议，强调其在该领域研究中的重要性和必要性。

1 盲实验法的产生

所谓“盲”，即在实验中排除操作者和参与者有意识或下意识的个人主观性和偏爱。盲实验法最初的雏形在 19 世纪晚期由法国生理学家 Claude Bernard 提出，他建议所有的科学实验都应该将构思设计实验的人和执行实验的人分开，前者是熟悉相关研究领域的学者，而后者则是没有接受过任何训练，对相关理论和假说不知情的人。而这与当时的启蒙运动观点大相径庭，后者认为只有接受过良好教育、见多识广的科学家，才能对科学研究作出客观有效的观测 (Daston 2005)。

2 盲实验法的类型

盲实验法可以分为单盲法 (single-blind trials)、双盲法 (double-blind trials) 和三盲法

(triple-blind trials)。

单盲法指在实验设计中，研究对象对于自己是否处于实验中毫不知情，而实验观测者在实验前便清楚不同研究对象所在的分组等各种实验信息，即只有一方对信息是“盲”的 (Tuystens et al. 2014)。这种信息不对称，有利于实验观测者实时掌握情况，和避免研究对象由于安慰剂效应 (placebo effect) 对结果造成的影响 (Holmes 2008)。比如评价某新药在治疗某种疾病的疗效时，需要建立对照组，对对照组中的病人仅给予无疗效的药剂作对照，但如果该组的病人知道自己服用了某种药物，其情绪、心理和神经行为上的变化会影响自身的身体健康状况，形成安慰剂效应，使实验结果有偏差。单盲实验的前提是观测者虽然掌握了实验的所有信息，但不会像研究对象那样对实验结果造成影响。然而，实验观测者在一些情况下也会对实验结果造成偏差，如上面的例子中，观测者知道每个病人所处的分组，即清楚每个病人所服用的是新药还是安慰剂，其对服用新药组的心理预期，即预期服用药物的人会比对照组中的人康复快，可能会使其在评估药效和记录病人变化时形成下意识的偏倚。为了避免这种偏差，很必要使用双盲法。

双盲法指实验除了研究对象对实验信息不知情，观测者也不知道研究对象所在的分组 (即实验组还是对照组) (Rivers et al. 1907)。只有在实验结束，数据记录也完成以后，观测者才知道结果，这有利于排除观测者在实验操作和记录中无意识的主观偏差和个人偏好所带来的影响，是一种更加严格的实验设计法。在双盲法中，实验构思和设计可能由观测者来完成，但实验信息往往需要交由第三方来进行处理，在实验前不可告知观测者，或者构思和设计实验的人同时掌握实验信息，但让不知情的人成为观测者来执行实验和记录数据。在动物行为研究中，需要应用双盲法的情况一般是通过人为主观对某种变量进行量化的实验方法。如对动物的某种行为进行观察和主观量化 (杨晓军

1996)、对动物栖息地的某种特征进行主观量化(徐霄等 2012)、对动物某种特征之间的相似性进行主观量化(Stevens et al. 2009)。这些方面的研究如果没有采用双盲法,在实验中很容易由于观测人的主观预期而使数据产生偏差,如动物巢址选择方面的研究,对于巢隐蔽性的量化往往通过观测者进行主观估测,由于有经验的观测者受“隐蔽性高的巢被捕食的风险应该较小”这种心理预期的影响,在对完整巢和被捕食巢进行隐蔽性估测的时候,就可能下意识地高估完整巢或低估被捕食巢的隐蔽性。要避免这种主观偏倚,可以通过对实验目的不知情的第三方对变量特征进行估测,或者通过更加客观的方法对变量特征进行量化。

三盲法是对双盲法的拓展,指实验观测者、研究对象和数据分析者三方均不清楚实验的信息,只有当分析结果出来后才知晓(Friedman et al. 2010)。这种方法理论上从各方面降低了参与实验各方的主观性带来的偏差,但同时也降低了研究者对整个实验全局的了解,其执行难度也较大,所以在科学研究中的应用也较少(Andrade et al. 2009)。

3 忽视盲实验法对动物行为研究的影响

近年来有若干学者逐渐意识到在动物行为研究中,盲实验法的缺失对某些相关领域的负面影响,并通过对动物行为研究中的重要文献进行综合分析对此提供证据。van Wilgenburg 等(2013)对蚁类亲缘识别行为的研究进行综述和分析,发现观测者在观察和评估巢内或巢间蚂蚁之间的侵害行为时,很容易受到其专业知识背景的影响,即相信巢内蚂蚁之间的侵害行为低于巢间,结果未采用盲实验法的研究所报道,巢内侵害行为明显低于采用盲实验法的研究。接着 Kardish 等(2015)对行为、生态和进化研究领域的 492 篇文献进行综述,发现其中 248 篇文献的研究实验属于具有观测者主观影响风险的内容,但却只有 13.3% 的文献使用了盲实验法。Holman 等(2015)通过对生命

科学研究领域 4 511 个期刊的 870 962 篇文献进行综述和综合分析后,发现没有采用盲实验法的研究所报道的效应量(effect size)明显高于采用盲实验法的研究(图 1),效应量是衡量处理效应大小的指标,在不同研究之间可以进行比较,未采用盲实验法的研究呈现较高的效应量,表明其研究结果相对于采用盲实验法的研究具有较高的偏差。另外,未采用盲实验法的研究结果所获得的 P 值显著性也高于采用盲实验法的研究。比利时根特大学 Tuytens 等(2014)

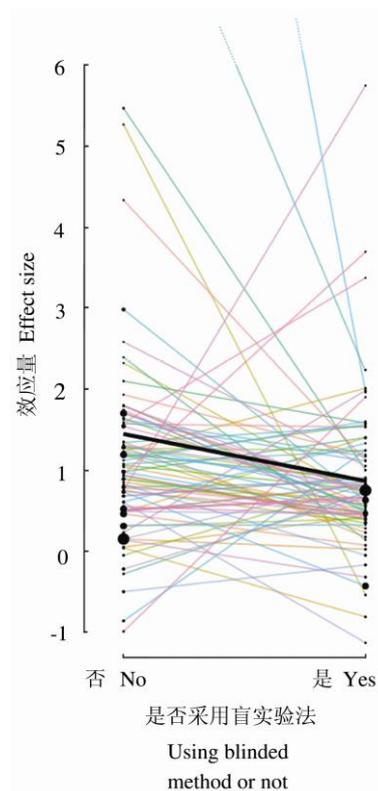


图 1 未使用和使用盲实验法研究的效应量比较

(改编自 Holman et al. 2015)

Fig. 1 Comparison of effect size between non-blinded and blinded studies (modified from Holman et al. 2015)

$n = 83$ 对相似研究。粗黑线代表均值;点代表每项研究效应量的方差,点越小方差越大;左右点间的连线显示效应量的趋势走向。
 $n = 83$ pairs. The thick line refer to the mean whilst the dot size is inversely proportional to the variance of the effect size.

利用研究来证明盲实验法的缺失是如何影响观测者的主观评价的,首先他们向在校 157 名行为研究领域的学生进行家猪 (*Sus scrofa domestica*) 互动行为意义的教育,告知学生家猪的互动行为可分为积极和消极两种,积极互动行为包括玩耍、嗅探和碰鼻,消极互动行为包括撞头、咬耳朵、咬尾巴或其他身体部位,而高度群居的成长环境有利于塑造家猪的积极互动行为。接着将学生分成两组 (a 和 b),让他们观看 5 min 家猪互动行为的视频,并评估和记录积极与消极互动行为的次数, a 组的每位学生观看 2 段视频,并提前告知其中第 1 段视频为控制组,而第 2 段视频为实验组,实验组中的家猪都是在高度群居的环境中养大的。而实际上 2 段视频均属于同一个视频,但通过一些处理使学生认为是不同视频,第 2 个视频是第 1 个视频的镜像 (即视频中动物的移动方向相反),视频亮度也进行了调整,并且视频中显示的记录日期和时间等也各不相同。b 组的每位学生同样观看这 2 段视频,但视频的顺序颠倒,即被告知第 1 段视频是实验组,而第 2 段视频是控制组。结果表明,家猪行为的观测结果明显受到学生主观偏见的影响, a 组和 b 组学生所记录的实验组家猪积极互动频次均显著高于控制组,而消极互动频次则低于控制组,但其实两个视频中的家猪行为并没有差异。

4 总结与建议

综上所述,未使用盲实验法会使一些动物行为研究结果产生偏差。然而,并不是所有的动物行为研究都需要使用盲实验法。研究动物行为时,有些行为观测需要研究者对其进行主观定义和量化,当动物行为迅速而不容易观察、动物行为和特征的定义模棱两可且行为和特征难以量化的情况下,如未采用盲实验法所面临的偏差风险就很大,尤其当研究人员对某处理组具有很高的心理期待时。以上的文献综述和分析,便是针对这种类型的观测数据,而其中所提到的盲实验法,实际上是双盲法,因为在

动物行为研究中,动物作为研究对象,并不能理解观测者的研究意图,所以动物行为研究中所称的盲实验法,是避免观测者主观偏见对研究结果造成影响的实验设计法。当然,虽然作为研究对象的动物对实验信息是盲的,但观测者仍需对研究对象进行随机分组,并尽量避免动物的背景因素 (如年龄、大小、性别等) 和环境因素 (如温度、海拔等) 对研究结果的影响。

对于盲实验法在动物行为研究中的应用,建议: (1) 研究者在构思和设计实验时应充分考虑到其研究类型具有主观观测偏差的风险,是否需要和是否能够使用盲实验法; (2) 研究者应尽量避免以人为主观的角度对动物的行为和特征进行定义和量化,尽量使用仪器和相关技术来进行客观地量化; (3) 在论文的研究方法中说明实验是否使用盲实验法,如未使用是基于什么缘由,这一点德国的学术期刊 *Behavioral Ecology and Sociobiology* 在 2015 年 9 月已发文要求之后的投稿文章均需要注明是否使用盲实验法 (Traniello et al. 2015); (4) 除了研究人员,学术期刊的编辑和审稿人也应在审稿过程中对文章采用盲实验的必要性和情况进行监督,当然,由于不是所有的研究都需要或能够使用盲实验法,所以,是否采用盲实验法不应成为评价文章水平高低的门槛。有些动物行为特征有明显区分且不受观测者心理预期的影响,所以不需要采用双盲法。换句话说,只有受观测者主观性和心理预期影响的变量估测,才需要采用双盲法,特别是对于没有明显区分界限甚至模棱两可的行为特征。这是观测者和审稿人需要特别留意的。

从事动物行为研究的人员在国内越来越多,中国动物学会动物行为学专业委员会也于 2015 年 10 月在北京正式成立,这些建议符合目前国际学术界和动物行为学研究的呼吁和请求,有利于促进研究人员在实验设计中采用更加科学和严谨的思路和方法,也可降低学术文

章中主观性偏见对研究结果的影响, 从而提高其可靠性和可比较性。

参 考 文 献

- Andrade C, Radhakrishnan R. 2009. Prayer and healing: A medical and scientific perspective on randomized controlled trials. *Indian Journal of Psychiatry*, 51(4): 247–253.
- Daston L. 2005. Scientific error and the ethos of belief. *Social Research*, 72(1):1-28.
- Friedman L M, Furberg C D, DeMets D L. 2010. *Fundamentals of Clinical Trials*. New York: Springer.
- Holmes R. 2008. *The Age of Wonder: the Romantic Generation and the Discovery of the Beauty and Terror of Science*. New York: HarperCollins.
- Holman L, Head M L, Lanfear R, et al. 2015. Evidence of experimental bias in the life sciences: why we need blind data recording. *PLoS Biology*, 13(7): e1002190.
- Johnson P D, Besselsen D G. 2002. Practical aspects of experimental design in animal research. *Ilar Journal*, 43(4): 202–206.
- Kardish M, Mueller U G, Amador-Vargas S, et al. 2015. Blind trust in unblinded observation in ecology, evolution, and behavior. *Frontier in Ecology and Evolution*, 3: 51.
- Rivers W H R, Webber H N. 1907. The action of caffeine on the capacity for muscular work. *Journal of Physiology*, 36(1): 33–47.
- Stevens M, Merilaita S. 2009. Animal camouflage: current issues and new perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 364(364): 423–427.
- Traniello J F A, Bakker T C M. 2015. Minimizing observer bias in behavioral research: Blinded methods reporting requirements for *Behavioral Ecology and Sociobiology*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69(10): 1–2.
- Tuytens F A M, de Graaf S, Heerkens J L T, et al. 2014. Observer bias in animal behaviour research: Can we believe what we score, if we score what we believe? *Animal Behaviour*, 90(5): 273–280.
- van Wilgenburg E, Elgar M A. 2013. Confirmation bias in studies of nestmate recognition: A cautionary note for research into the behaviour of animals. *PLoS One*, 8(1): e53548.
- 徐霄, 杨灿朝, 梁伟. 2012. 矛纹草鹛 (*Babax lanceolatus*) 的巢址选择. *海南师范大学学报: 自然科学版*, 25(4): 442–445.
- 杨晓军. 1996. 笼养川金丝猴哺乳行为的观察. *甘肃农业大学学报*, (4): 334–338.