# Travaux Pratiques de Biométrie 3

### Benoît Simon-Bouhet

### 2019-03-11

## Table des matières

•	reambule	•		
2	Introduction			
3	Séance 1 : statistiques descriptives et tests d'hypothèses	3		
	3.1 Packages et données	3		
	3.2 Comparaison de la moyenne d'une population à une valeur théorique	4		
	3.3 Comparaison de la moyenne de 2 populations : données appariées	16		
	3.4 Comparaison de la moyenne de 2 populations : échantillons indépendants	31		
	3.5 Tests bilatéraux et unilatéraux	41		
4	Séance 2 : comparer la moyenne de plus de 2 groupes	46		
	4.1 Packages et données	46		
	4.2 L'analyse de variance à un facteur	47		
5	Séance 3 : corrélations et régressions	65		
6	Séance 4 : applications et corrections	65		

### 1 Préambule

Ce livre contient l'ensemble du matériel (contenus, exemples, exercices...) nécessaire à la réalisation des travaux pratiques et TEA de biométrie 3. Ces travaux pratiques ont un seul objectif principal : vous permettre de mettre en œuvre, dans RStudio les méthodes statistiques découvertes en cours magistral et en TD de biométrie 2 (au semestre précédent) et en biométrie 3 depuis début janvier.

Je considère qu'à ce stade, vous devez être à l'aise dans RStudio pour effectuer les tâches suivantes :

- 1. Importer des jeux de données dans RStudio.
- 2. Manipuler des tableaux de données avec tidyr (Wickham and Henry, 2018) pour les mettre dans un format permettant les analyses statistiques et les représentations graphiques.
- 3. Faire des graphiques exploratoires avec ggplot2 (Wickham et al., 2018a) pour visualiser des données.

- 4. Filtrer des lignes, sélectionner des colonnes, trier, créer de nouvelles variables et calculer des résumés des données avec les fonction filter(), select(), arrange(), mutate(), summarise() et group\_by() du package dplyr (Wickham et al., 2018b).
- 5. Utiliser le pipe %>% afin d'enchaîner plusieurs commandes.
- 6. Créer des scripts parlants contenant des commandes et des commentaires utiles.
- 7. Spécifier/modifier votre répertoire de travail.
- 8. Installer des packages additionnels.

Si vous pensez avoir besoin de rappels sur ces notions, je vous encourrage vivement à consulter le livre en ligne dédié aux travaux pratiques de Biométrie 2 pour vous rafraîchir la mémoire.

L'organisation des TP et TEA de biométrie 3 sera la suivante :

- Séance 1 : 1h30 de TP suivie d'une séance de 1h30 de TEA. Rappels concernant les statistiques descriptives et les visualisations graphiques utiles pour déméler la complexité de certains jeux de données. Comparaisons (paramétriques et non paramétriques) de la moyenne de 2 populations.
- Séance 2 : 1h30 de TP suivie d'une séance de 1h30 de TEA. Comparaisons (paramétriques et non paramétriques) la moyenne de plus de 2 populations : analyse de variance, hypothèses et conditions d'application.
- Séance 3 : 1h30 de TP suivie d'une séance de 1h30 de TEA. Étude de la liaison entre 2 variables.
   Corrélation (paramétrique et non paramétrique) et régression linéaire. Tests d'hypothèses, estimation et conditions d'application.
- Séance 4 : 1h30 de TP. Exercices d'application et corrections en guise de préparation pour l'examen.

### 2 Introduction

Sur votre disque dur, créez un dossier nommé "Biometrie3" (sans accent, sans espace). Au début de chaque nouvelle séance de TP, vous devrez ensuite effectuer les opérations suivantes :

- 1. Créez, dans votre dossier "Biometrie3", un sous-dossier nommé "TP\_1", "TP\_2", etc.
- 2. Téléchargez les fichiers utiles disponibles sur l'ENT et placez-les dans le dossier du TP correspondant.
- 3. Lancez RStudio.
- 4. Dans l'onglet "Files" de RStudio, naviguez jusqu'au sous-dossier "TP\_X" que vous venez de créer et indiquez à RStudio qu'il s'agit de votre répertoire de travail. Si vous ne savez plus comment faire, consultez la section 2.2.2 du livre en ligne de Biométrie 2. Si votre répertoire de travail a été correctement spécifié, vous devriez constater qu'une commande ressemblant à ceci est apparue dans la console de RStudio :

```
setwd("C:/..../Biometrie3/TP_X")
```

5. Dans la console, tapez :

#### list.files()

La liste des fichiers contenus dans votre répertoire de travail (donc le nom des fichiers que vous avez téléchargé sur l'ENT) devrait apparaître dans la console. Si ce n'est pas le cas, recommencez depuis le début. Vous pouvez également vérifier à tout moment si le répertoire de travail utilisé par RStudio est bien celui que vous pensez en tapant :

#### getwd()

- 6. Créez un nouveau script dans votre répertoire de travail et sauvegardez-le. Si vous ne savez plus comment faire, consultez la section 2.2.3 du livre en ligne de Biométrie 2.
- 7. Dans l'onglet "History" de RStudio, cliquez sur la commande commençant par setwd() puis cliquez sur le bouton "To source" (une flèche verte dirigée vers la gauche). Cela a pour effet de copier dans votre script la commande permettant de spécifier le répertoire de travail correct. Ainsi, lors de votre prochaine session de travail, vous n'aurez pas besoin de spécifier manuellement quel est votre répertoire de travail comme nous l'avons fait à l'étape 4 ci-dessus : il vous suffira d'ouvrir votre script et d'envoyer cette commande dans la console en pressant les touches ctrl + Entrée
- 8. N'oubliez pas de sauvegarder votre script très régulièrement et d'y ajouter autant de commentaires que nécessaire avec le symbole #.

Si vous suivez rigoureusement ces étapes, vous devriez être dans la situation idéale pour commencer à travailler efficacement dans RStudio. Avec un minimum d'habitude, mettre tout ça en place ne devrait pas vous demander plus de 2 ou 3 minutes. À partir de maintenant, toutes vos analyses et commentaires doivent figurer dans vos scripts.

# 3 Séance 1 : statistiques descriptives et tests d'hypothèses

### 3.1 Packages et données

Pour chacune des 4 séances de travaux pratiques (et TEA) qui viennent, vous aurez besoin d'utiliser des packages spécifiques et d'importer des données depuis des fichiers externes disponibles sur l'ENT.

Les packages dont vous aurez besoin pour cette séance, et que vous devez donc charger en mémoire, sont les packages du tidyverse (Wickham, 2017), qui permettent de manipuler facilement des tableaux de données et de réaliser des graphiques, le package readr (Wickham et al., 2018c), pour importer facilement des fichiers .csv au format tibble, le package readxl (Wickham and Bryan, 2018), pour importer facilement des fichiers Excel au format tibble, le package skimr (McNamara et al., 2019), qui permet de calculer des résumés de données très informatifs, et le package car (Fox et al., 2018), qui permet d'effectuer le test de comparaison de variances de Levene :

```
library(tidyverse)
library(readr)
library(skimr)
library(car)
```

Si ces commandes (que vous devez taper dans vos scripts avant de les exécuter dans la console de RStudio) renvoient des messages d'erreur, c'est que les packages que vous essayez de charger en mémoire ne sont pas installés sur votre ordinateur. Il vous faudra alors installer les packages manquants avec la fonction :

```
install.packages("nom_du_package")
```

Comme d'habitude, si tout ça est un peu flou pour vous, relisez la section 2.3 du livre de biométrie 2 disponible en ligne.

Vous aurez également besoin des jeux de données suivants :

- Autruches.csv
- HommesFemmes.xls
- HornedLizards.csv
- Temperature.csv
- Temperature2.csv
- Testosterone.csv

### 3.2 Comparaison de la moyenne d'une population à une valeur théorique

#### 3.2.1 Exploration préalable des données

Avant de se lancer dans les tests d'hypothèses, il est **toujours indispensable** d'examiner les données dont on dispose à l'aide, d'une part de statistiques descriptives numériques, et d'autres part, de graphiques exploratoires. Nous allons voir dans cette section quels indices statistiques il peut être utile de calculer et quelles représentations graphiques il peut être utile de réaliser afin de pouvoir se lancer dans des tests d'hypothèses sans risquer de grossières erreurs.

### 3.2.1.1 Importation et examen visuel

Commencez par importer les données contenues dans le fichier Temperature.csv. Pour cela, utilisez l'assistant d'importation de RStudio. Si vous ne savez plus comment faire, consultez la section 5.3 du livre en ligne de Biométrie 2.

Vous stockerez les données dans un objet que vous nommerez Temperature. Après l'importation, taper son nom dans la console de RStudio doit produire le résultat suivant :

#### Temperature

# A tibble:  $25 \times 2$ 

	individual	temperature
	<dbl></dbl>	<dbl></dbl>
1	1	98.4
2	2	98.6
3	3	97.8
4	4	98.8
5	5	97.9
6	6	99
7	7	98.2
8	8	98.8
9	9	98.8
10	10	99

# ... with 15 more rows

Ce tableau contient les températures corporelles de 25 adultes en bonne santé choisis au hasard parmi la population américaine. On souhaite examiner la croyance populaire indiquant que la température moyenne d'adultes en bomme santé vaut 37°C.

La première chose à faire quand on travaille avec des données inconnues, c'est d'examiner les données brutes. Ici, les données sont importées au format tibble, donc seules les premières lignes sont visibles. Pour visualiser l'ensemble du tableau, utilisez la fonction View():

#### View(Temperature)

Cette commande doit ouvrir un nouvel onglet présentant les données dans un tableur simplifié, en lecture seule.

On constate ici 2 choses que nous allons modifier :

- la première colonne, intitulé inidividual, n'est pas véritablement une variable. Cette colonne ne contient qu'un identifiant qui est en fait identique au numéro de ligne. Nous allons donc supprimer cette colonne
- 2. les températures sont exprimées en degrés Fahrenheit, ce qui rend leur lecture difficile pour nous qui sommes habitués à utiliser le système métrique et les degrés Celsius. Nous allons donc convertir les températures en degrés Celsius grâce à la formule suivante :

$$C = \frac{F - 32}{1.8}$$

```
temperature = (temperature - 32) / 1.8
)
Temp_clean
```

```
# A tibble: 25 x 1
   temperature
          <dbl>
           36.9
 1
2
           37.0
3
           36.6
 4
           37.1
           36.6
5
           37.2
6
7
           36.8
8
           37.1
9
           37.1
10
           37.2
# ... with 15 more rows
```

Il nous est maintenant possible d'examiner à nouveau les données avec la fonction View(). Avec des valeurs de températures comprises entre 36.3 °C et 37.8 °C, il n'y a visiblement pas de données aberrantes.

C'est toujours la première chose à faire : regarder les données brutes pour repérer : - La nature des variables présentes. - Les variables inutiles qui pourront être supprimées ou négligées. - Les unités des variables utiles, afin de pouvoir les convertir si nécessaire. - Les valeurs manquantes ou aberrantes qui demanderont toujours un soin particulier.

Une fois l'examen préliminaire des données réalisé, on peut passer au calcul des statistiques descriptives.

### 3.2.1.2 Statistiques descriptives

On s'intéresse ici au calcul de grandeurs statistiques nous apportant des renseignement sur la distribution des valeurs de l'échantillon. Les questions auxquelles on tente de répondre à ce stade sont les suivantes :

- Quelle est la tendance moyenne
- Quelle est la dispersion des données autour de la moyenne

Pour répondre à ces questions, on peut faire appel à de multiples fonctions. J'en évoquerai ici seulement 3 qui permettent d'obtenir la plupart des informations dont nous avons besoin très simplement :

#### summary(Temp\_clean)

#### temperature

Min. :36.33 1st Qu.:36.67 Median :37.00 Mean :36.96 3rd Qu.:37.22 Max. :37.78

Comme son nom l'indique, la fonction summary() renvoie un résumé des données :

- les valeurs extrêmes (minimum et maximum)
- les valeurs "centrales" (moyenne et médiane)
- les valeurs des quartiles (premier et troisième quartiles)

Ces valeurs seront presques toutes reprises sur le graphique de type "boîte à moustaches" que nous verrons plus bas.

On constate ici que la moyenne et la médiane sont très proches. La distribution des température doit donc être à peut près symmétrique, avec à peu près autant de valeurs au dessus que de valeurs en dessous de la moyenne.

La seconde fonction utile est la fonction IQR(), comme "Inter Quartile Range" (ou intervalle interquartile). Cette fonction renvoie l'étendue de l'intervalle inter-quartile, c'est à dire la valeur du troisième quartile moins la valeur de premier quartile. Attention, cette fonction a besoin d'un vecteur en guise d'argument, or nos données sont stockées sous forme de tibble. Nous allons donc utiliser la fonction pull() du package dplyr afin de transformer (momentanément) la colonne temperature du tableau Temp\_clean en vecteur :

```
Temp_clean %>%
pull(temperature) %>%
IQR()
```

### [1] 0.555556

On constate ici que l'intervalle inter quartile a une largeur de 0.55 degrés Celsius. Cela signifie que les 50% des températures les plus centrales sont situées dans un intervalle d'environ un demi-degré celsius.

Enfin, une autre façon d'obtenir des informations rapidement consiste à utiliser la fonction skim() du package skimr :

```
skim(Temp_clean)
```

```
Skim summary statistics
```

n obs: 25
n variables: 1

```
-- Variable type:numeric ----
variable missing complete n mean sd p0 p25 p50 p75
temperature 0 25 25 36.96 0.38 36.33 36.67 37 37.22
p100 hist
37.78
```

(Attention : si vous lisez ce document au format pdf, vous ne pourrez pas visualiser correctement la totalité des résultats produits par cette fonction. Consultez la version html de ce document, ou tapez la commande dans RStudio).

Toute comme summary(), la fonction skim() renvoie les valeurs minimales et maximales, les premiers et troisièmes quartiles ainsi que la moyenne et la médiane. Elle nous indique en outre la valeur de l'écart-type de l'échantillon, ainsi que le nombre d'observation et le nombre de données manquantes. Enfin, elle fournit un histogramme très schématique et sans échelle. Cet histogramme nous permet de nous faire une première idée de la distribution des données.

Outre ces 3 fonctions (summary(), IQR(), et skim()), il est bien sûr possible de calculer toutes ces valeurs manuellement si besoin :

- mean() permet de calculer la moyenne
- median() permet de calculer la médiane
- min() et max() permettent de calculer les valeurs minimales et maximales respectivement
- quantile() permet de calculer les quartiles
- sd() permet de calculer l'écart-type
- var() permet de calculer la variance

Toutes ces fonctions prennent seulement un vecteur en guise d'argument. Il faut donc procéder comme avec IQR() pour les utiliser. Par exemple, pour calculer la variance, on peut taper :

```
Temp_clean %>%
  pull(temperature) %>%
  var()

[1] 0.1417901

ou:
```

[1] 0.1417901

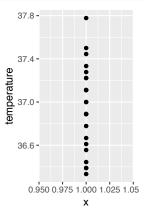
#### 3.2.1.3 Exploration graphique

var(Temp\_clean\$temperature)

lci, il s'agit d'examiner la distribution des données. Pour cela, 3 types de graphiques sont généralement utilisés.

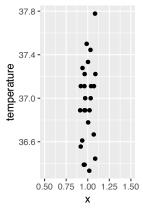
1. Les nuages de points ou stripcharts :

```
Temp_clean %>%
  ggplot(aes(x = 1, y = temperature)) +
  geom_point()
```

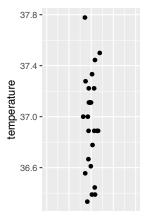


Dans la mesure ou souvent, plusieurs observations ont la même valeur, il faut tenir compte de l'overplotting. Si vous ne vous rappelez plus de quoi il s'agit, consultez la section 4.3.4 du livre en ligne de Biométrie 2. Globalement, pour visualiser correctement les données, on va jouer soit sur la transparence des points, soit sur l'ajout d'un bruit aléatoire horizontal qui permettra de distinguer plsu facilement les points, m et de repérer les zones où les points sont abondants ou rares :

```
Temp_clean %>%
  ggplot(aes(x = 1, y = temperature)) +
  geom_jitter(height = 0, width = 0.1) +
  xlim(0.5, 1.5)
```



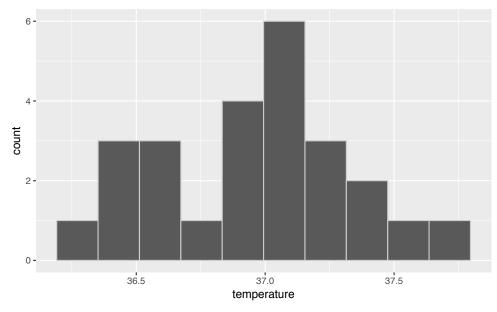
La fonction xlim() permet de spéccifier manuellement les valeurs limites que l'on souhaite pour l'axe des abscisses. lci, cet axe n'a aucune signification particulière puisque nous n'avons qu'une unique série de données (c'est la raison pour laquelle les points sont centrés sur l'abscisse x=1). Nous pouvons donc le masquer comme ceci :



On constate ici que la répartition des points est assez régulière, avec néanmoins une majorité de points entre 36.8 et 37.3 degrés Celsius.

### 2. L'histogramme:

```
Temp_clean %>%
  ggplot(aes(x = temperature)) +
  geom_histogram(bins = 10, color = grey(0.8))
```

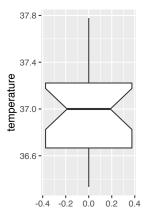


Si vous ne vous rappelez-plus ce qu'est un histogramme où comment le faire, ou la signification de l'argument bins, relisez la section 4.5 du livre en ligne de Biométrie 2.

Notez ici que la forme de cet histogramme est très proche de celle présenté plus tôt pas la fonction skim(). Cet histogramme nous apprend qu'en dehors d'un "trou" autour de la température 36.75 °C, la distribution des données est proche d'une courbe en cloche. Il y a fort à parier qu'un test de normalité concluerait à la normalité des données de cet échantillon.

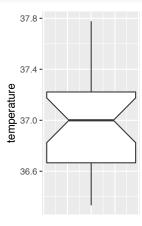
#### 3. Les boîtes à moustaches :

```
Temp_clean %>%
  ggplot(aes(y = temperature)) +
  geom_boxplot(notch = TRUE)
```



Comme pour le stripchart présenté plus haut, l'axe des abscisses n'a ici aucun sens. Nous n'avons qu'une unique série de données, l'axe des x est donc inutile et nous pouvons donc le retirer :

```
Temp_clean %>%
   ggplot(aes(y = temperature)) +
   geom_boxplot(notch = TRUE) +
   theme(axis.text.x = element_blank(),
        axis.ticks.x = element_blank())
```



On retrouve sur ce graphique tous les éléments obtenus avec la fonction summary() à l'exception de la moyenne. Assurez-vous que vous êtes bien capables d'identifier tous ces éléments sur le graphique. Assurez-vous aussi que la signification de l'encoche (obtenue avec l'argument not che TRUE) est bien claire pour vous. Comme toujours, si ce n'est pas le cas, consultez la section dédiée aux boxplots dans le livre en ligne de Biométrie 2.

Pour conclure, ces 3 types de représentations graphiques (nuages de points ou stripchart, histogrammes et boxplots) sont complémentaires. Ces trois types de représentations graphiques permettent de visualiser la distribution d'une variable numérique. Les nuages de points permettent de voir toutes les données brutes. Les histogrammes résument les données en quelques valeurs : une valeur d'abondance pour chaque classe de taille. Les boxplots résument encore plus les données avec seulement 7 valeurs qui caractérisent la distribution :

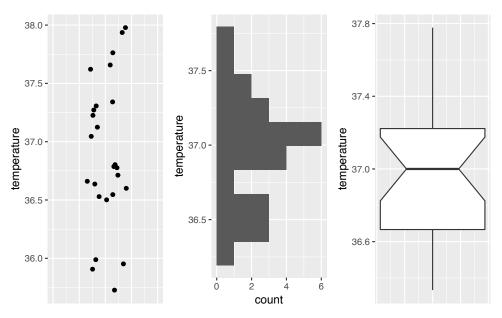


Figure 1 – Comparaison de 2 types de représentations graphiques

À chaque nouvelle analyse statistique, il sera donc important de visualiser les données afin de repérer les éventuels problèmes, et afin d'anticiper sur les résultats que fourniront les tests d'hypothèses ultérieurs. Ici, l'examen de ces graphiques nous permet de dire les choses suivantes:

- 1. Il n'y a visiblement pas de données aberrantes
- 2. La distribution des données semble suivre à peu près la loi Normale
- 3. La médiane et son intervalle de confiance à 95% sont centrés sur la valeur 37°C. Un test devrait donc arriver à la conclusion que la température corporelle des adultes n'est pas significativement différente de 37°C. Néanmoins, la largeur de l'intervalle de confiance à 95% est assez grande, ce qui indique une incertitude relativement élevée. Une plus grande quantité de données permettrait certainement d'obtenir plus de précision.

#### 3.2.2 Le test paramétrique

Le test permettant de comparer la moyenne d'une population à une valeur théorique, fixée par l'utilisateur, est le **test de Student à un échantillon**. Il s'agit d'un test paramétrique très puissant. Comme tous les tests paramétriques, certaines conditions d'application doivent être vérifiées avant de pouvoir l'appliquer.

#### 3.2.2.1 Conditions d'application

Les conditions d'application du test de Student à un échantillon sont les suivantes :

- 1. Les données de l'échantillon sont issues d'un échantillonnage aléatoire au sein de la population générale. Cette condition est partagée par toutes les méthodes que nous verrons dans ces TP. En l'absence d'informations sur la façon dont l'échantillonnage a été réalisé, on considère que cette condition est remplie. Il n'y a pas de moyen statistique de le vérifier, cela fait uniquement référence à la stratégie d'échantillonnage et à la rigueur de la procédure mise en œuvre lors de l'acquisition des données.
- 2. La variable étudiée doit suivre une **distribution Normale** dans la population générale. Nous allons vérifier cette condition d'application avec un test de Normalité de Shapiro-Wilk.

Comme pour tous les tests statistiques que nous allons réaliser lors de ces séances de TP et TEA, nous devons commencer par spécifier les hypothèses nulles et alternatives aoinsi que la valeur du seuil  $\alpha$  que nous allons utiliser. Ici, nous utiliserons toujours le seuil  $\alpha = 0.05$ .

Pour un test de normalité, les hypothèses sont toujours les suivantes : - H<sub>0</sub> : la variable étudiée suit une distribution Normale dans la population générale. - H<sub>1</sub> : la variable étudiée ne suit pas une distribution Normale dans la population générale.

Le test de Shapiro-Wilk se réalise de la façon suivante :

```
Temp_clean %>%
  pull(temperature) %>%
  shapiro.test()
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: . W = 0.97216, p-value = 0.7001
```

W est la statistique du test. Elle permet à RStudio de calculer la p-value du test. Ici,  $p > \alpha$ . On ne peut donc pas rejeter l'hypothèse nulle de noramlité : on ne peut pas exclure que dans la population générale, la température suive bel et bien une distribution Normale. Les conditions d'application du test de Student sont bien vérifiées.

#### 3.2.2.2 Réalisation du test et interprétation

Puisque les conditions d'application du test de Student à un échantillon sont vérifiées, nous devons maintenant spécifier les hypothèses nulles et alternatives que nous allons utiliser pour réaliser ce test :

- H<sub>0</sub>: dans la population générale, la température corporelle moyenne des adultes en bonne santé vaut 37°C (µ = 37).
- H<sub>1</sub>: dans la population générale, la température corporelle moyenne des adultes en bonne santé est différente de 37°C (μ ≠ 37).

On réalise ensuite le test de la façon suivante :

```
Temp_clean %>%
  pull(temperature) %>%
  t.test(mu = 37)

One Sample t-test

data: .
  t = -0.56065, df = 24, p-value = 0.5802
  alternative hypothesis: true mean is not equal to 37
95 percent confidence interval:
  36.80235 37.11321
  sample estimates:
  mean of x
  36.95778
```

Sur la première ligne, R nous confirme que nous avons bien réalisé un test de STudent à un échantillon. La prmière ligne de résutats fournit la valeur du *t* calculé (ici, -0.56), le nombre de degrés de libertés (ici, df = 24), et la *p*-value (ici, 0.58, soit une valeur supérieure à *alpha*). Cette première ligne contient donc tous les résultats du test qu'il conviendrait de rappeler dans un rapport. On devrait ainsi dire :

Au seuil  $\alpha$  de 5%, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle  $\mu=37$  (t=-0.56, ddl = 24, p=0.58). Les données observées sont donc compatibles avec l'hypothèse selon laquelle la température corporelle moyenne des adultes en bonne santé vaut  $37^{\circ}$ C.

C'est de cette manière que vous devriez rapporter les resultats de ce test dans vos comptes-rendus et rapports à partir de maintenant.

Dans les résultats du test, la ligne suivante (alternative hypothesis: ...) ne donne pas la conclusion du test. Il s'agit simplement d'un rappel concernant l'hypothèse alternative qui a été utilisée pour réaliser le test. Ici, l'hypothèse alternative utilisée est une hypothèse bilatérale ( $\mu \neq 37$ ). Nous verrons plus tard comment spécifier des hypothèse alternatives uni-latérales, même si la plupart du temps, mieux vaut s'abstenir de réaliser de tels tests (à moins bien sûr d'avoir une bonne raison de la faire).

Les résultats fournis ensuite concernent non plus le test statistique à proprement parler, mais l'estimation. Ici, la moyenne de l'échantillon est fournie. Il s'agit de la meilleure estimation possible de la moyenne de la population :  $\bar{x}=\hat{p}=36.96$ . Comme pour toutes les estimations, cette valeur est entachée d'oncertitude liée à la fluctuation d'échantillonnage. L'intervalle de confiance à 95% de cette estimation de moyenne est donc également fourni : [36.80; 37.11]. Autrement dit, cet intervalle contient les valeurs les plus vraissemblables pour la véritable valeur de moyenne dans la population générale. Cela confirme bien que nous n'avons pas prouvé au sens strict que la moyenne de la population vaut 37°C. Nous avons en réalité montré que nous ne pouvions pas exclure que la moyenne de la population générale soit de 37°C. Cette valeur est en effet comprise dans l'intervalle de confiance. On ne peut donc pas l'exclure. Mais beaucoup d'autres valeurs figurent aussi dans cet intervalle. Il est donc tout à fait possible que la moyenne soit en réalité différente de 37°C. Pour en être sûr, il faudrait probablement un échantillon de plus grande taille afin de limiter l'incertitude.

### 3.2.3 L'alternative non paramétrique

Si jamais les conditions d'application du test de Student à un échantillon n'étaient pas remplies, il faudrait alors réaliser son équivalent non paramétrique : le **test de Wilcoxon des rangs signés**. Ce test est moins puissant que son homologue paramétrique. On ne l'effectue donc que lorsque l'on n'a pas le choix :

```
Temp clean %>%
  pull(temperature) %>%
  wilcox.test(mu = 37, conf.int = TRUE)
Warning in wilcox.test.default(., mu = 37, conf.int = TRUE): cannot
compute exact p-value with ties
Warning in wilcox.test.default(., mu = 37, conf.int = TRUE): cannot
compute exact confidence interval with ties
   Wilcoxon signed rank test with continuity correction
data:
V = 143, p-value = 0.6077
alternative hypothesis: true location is not equal to 37
95 percent confidence interval:
36.77780 37.11114
sample estimates:
(pseudo)median
      36.94446
```

La syntaxe est identique à celle du test de Student à un échantillon à une exception près : l'ajout de l'argument conf.int = TRUE qui permet d'afficher la (pseudo)médiane de l'échantillon et son

intervalle de confiance à 95%.

Les hypothèses nulles et alternatives de ce test sont les mêmes que celles du test de Student à un échantillon. En toute rigueur, on teste l'égalité de la médiane à une valeur théorique, et non l'égalité de la moyenne. Mais dans la pratique, la grande majorité des utilisateurs de ce test font l'amalgame entre moyenne et médiane. Ici, la conclusion correcte devrait être :

Au seuil  $\alpha$  de 5%, on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle (test de Wilcoxon des rangs signés, V = 143, p = 0.6077). La médiane de la population ( $\widehat{med} = 36.94$ ) n'est pas significativement différente de  $37^{\circ}$ C (IC 95%: [36.78; 37.11]).

Si les données ne suivent pas la loi Normale, la médiane est bien la métrique la plus intéressante puisque c'est elle qui nous renseigne sur la tendance centrale des données.

Enfin, les tests de Wilcoxon renvoient souvent des messages d'avretissement. Il ne s'agit que de ça : des avertissements. Tant que la p-value des tests est éloignée de la valeur seuil  $\alpha$ , cela n'a pas d'importance. Quand en revanche la p-value est très proche de  $\alpha$ , il faut être très prudent face aux conclusions du test qui peuvent alors être assez "fragiles".

(Notez que pour le test de Student à un échantillon comme pour le test de Wilcoxon des rangs signés, les conclusions sont en accord avec nos observations initiales réalisées à partir du boxplot).

#### 3.2.4 Exercice d'application

Le fichier Temperature2.csv contient les données brutes d'une seconde étude similaire, réalisée à plus grande échelle. Importez ces données et analysez-les afin de vérifier si la température corporelle moyenne des adultes en bonne santé vaut bien 37°C. Comme toujours, avant de vous lancer dans la réalisation des tests statistiques, prenez le temps d'examiner vos données comme nous l'avons décrit dans la section 3.2.1, afin de savoir où vous aller, de repérer les éventuelles données manquantes ou aberrantes.

#### 3.3 Comparaison de la moyenne de 2 populations : données appariées

On s'intéresse ici à la comparaison de 2 séries de données dont les observations sont liées 2 à 2. C'est par exemple le cas lorsque l'on fait subir un tratiement à différents sujets et que l'on souhaite comparer les mesures obtenues avant et après le traitement.

Autrement dit, dans les plans d'expériences appariés, les deux traitements ou modalités sont appliqués à chaque unité d'échantillonnage.

Voici quelques exemples de de situations qui devraient être traitées avec des tests sur données appariées :

Comparaison de la masse de patients avant et après une hospitalisation.

 Comparaison de la diversité de peuplements de poissons dans des lacs avant et après contamination par des métaux lourds.

 Test des effets d'une crème solaire appliquée sur un bras de chaque volontaire alors que l'autre bras ne reçoit qu'un placébo.

 Test des effets du tabagisme dans un échantillon de fumeurs, dont chaque membre est comparé à un non fumeur choisi pour qu'il lui ressemble le plus possible en terme d'âge, de masse, d'origine éthnique et sociale

 Test des effets que les conditions socio-économiques ont sur les préférences alimentaires en comparant des vrais jumaux élevés dans des familles adoptives séparées qui diffèrent en termes de conditions socio-économiques.

Les 2 derniers exemples montrent que même des individus séparés peuvent constituer une "pare statistique" s'ils partagent un certain nombre de caractéristiques (physiques, environnementales, génétiques, comportementales, etc.) pertinentes pour l'étude.

#### 3.3.1 Exploration préalable des données

lci, nous allons nous intéresser au lien qui pourrait exister entre la production de testostérone et l'immunité chez une espèce d'oiseau vivant en Amérique du Nord, le carouge à épaulettes.

Chez de nombreuses espèces, les mâles ont plus de chances d'attirer des femelles s'ils produisent des niveaux de testostérone élevés. Est-ce que la forte production de testostérone de certains mâle a un coût, notamment en terme d'immuno-compétence? Autrement dit, est-ce que produire beaucoup de testostérone au moment de la reproduction (ce qui fournit un avantage sélectif) se traduit par une immunité plus faible par la suite, et donc une plus forte susceptibilité de contracter des maladies (ce qui constitue donc un désavantage sélectif)?

Pour étudier cette question, une équipe de chercheurs (Hasselquist et al., 1999) a mis en place le dispositif expérimental suivant. Les niveaux de testostérone de 13 carouges à épaulettes mâles ont été artificiellement augmentés par l'implantation chirurgicale d'un microtube perméable contenant de la testostérone. L'immunocompeetence a été mesurée pour chaque oiseau avant et après l'opération chirurgicale. La variable mesurée est la production d'anticorps suite à l'exposition des oiseaux avec un antigène non pathogène mais censé déclencher une réponse immunitaire. Les taux de production d'anticorps sont exprimés en logarithmes de densité optique par minute ( $\ln \frac{mOD}{min}$ ).

#### 3.3.1.1 Importation et examen visuel

Les données se trouvent dans le fichier Testosterone.csv. Importez ces données dans un objet nommé Testo et examinez le tableau obtenu.

Testo

# A tibble: 13 x 5

blackbird beforeImplant afterImplant logBeforeImplant

	<dbl></dbl>	<dbl></dbl>	<dbl></dbl>	<dbl></dbl>
1	1	105	85	4.65
2	2	50	74	3.91
3	3	136	145	4.91
4	4	90	86	4.5
5	5	122	148	4.8
6	6	132	148	4.88
7	7	131	150	4.88
8	8	119	142	4.78
9	9	145	151	4.98
10	10	130	113	4.87
11	11	116	118	4.75
12	12	110	99	4.7
13	13	138	150	4.93

# ... with 1 more variable: logAfterImplant <dbl>

Visiblement, il n'y a pas de données manquantes mais certaines variables sont inutiles. En réalité, nous aurons besoin des données sous 2 formats disctincts : un format "large" pour les statistiques descriptives et les tests d'hypothèse, et un format "long" pour les représentations graphiques. Et dans tous les cas, l'identifiant individuel devrait être considéré comme un facteur, et non comme une variable numérique comme c'est le cas actuellement.

Commençons par créer un tableau "large" pour les statistiques descriptives :

```
# A tibble: 13 x 3
        Before After
  <fct> <dbl> <dbl>
1 1
          4.65 4.44
2 2
          3.91 4.3
3 3
          4.91 4.98
          4.5
4 4
                4.45
5 5
          4.8
                5
6 6
          4.88 5
7 7
          4.88 5.01
          4.78 4.96
8 8
9 9
          4.98 5.02
```

```
    10
    10
    4.87
    4.73

    11
    11
    4.75
    4.77

    12
    12
    4.7
    4.6

    13
    13
    4.93
    5.01
```

Il nous faut maintenant transformer ce tableau en format "long" pour les représentations graphiques :

```
# A tibble: 26 x 3
   TD
         Traitement
                        DO
   <fct> <fct>
                     <dbl>
 1 1
         Before
                      4.65
2 2
         Before
                      3.91
         Before
                      4.91
 4 4
         Before
                      4.5
5 5
         Before
                      4.8
6 6
         Before
                      4.88
7 7
         Before
                      4.88
8 8
         Before
                      4.78
9 9
         Before
                      4.98
10 10
         Before
                      4.87
# ... with 16 more rows
```

Si vous ne comprenez pas ces commandes, je vous conseille vivement de reprendre les chapitres 5 et 6 du livre en ligne de Biométrie 2. Dans l'idéal, depuis les TP de biométrie 2, vous devriez être capables de construire de telles séquences de commandes pour aboutir à un tableau rangé ne contenant que les variables utiles, au format long comme au format court (ou large). Mais évidemment, de telles groupes de commandes se construisent étape par étape, et pas d'un seul coup comme les comande précédentes pourraient le laisser croire.

Maintenant que nous disposons de ces 2 tableaux, nous pouvons commencer à décrire nos données.

### 3.3.1.2 Statistiques descriptives

Pour décrire simplement les données, nous nous en tiendront ici à l'utilisation des fonctions summary() et skim().

Pour la fonction summary (), le plus simple est toujours d'utiliser le tableau au format large :

#### summary(Testo\_large)

	ID	Before		Af	After	
1	:1	Min.	:3.910	Min.	:4.30	
2	:1	1st Qu	.:4.700	1st Qu	1.:4.60	
3	:1	Median	:4.800	Median	:4.96	
4	:1	Mean	:4.734	Mean	:4.79	
5	:1	3rd Qu	.:4.880	3rd Qu	.:5.00	
6	:1	Max.	:4.980	Max.	:5.02	
(Other):7						

On constate ici que pour les 2 traitements, les valeurs des différents indices sont très proches entre les 2 séries de données, avec des valeurs de densité optiques (DO) légèrement supérieures après l'opération chirurgicale (sauf pour le premier quartile).

Pour la fonction skim() le plus simple est là aussi d'utiliser le tableau large :

```
skim(Testo_large)
```

```
Skim summary statistics
n obs: 13
n variables: 3
-- Variable type:factor -----
variable missing complete n n_unique
                                                 top_counts ordered
      ID
                       13 13
                              13 1: 1, 2: 1, 3: 1, 4: 1
-- Variable type:numeric -----
variable missing complete n mean
                                        p0 p25 p50 p75 p100
                                  sd
   After
                       13 13 4.79 0.26 4.3 4.6 4.96 5
  Before
                      13 13 4.73 0.28 3.91 4.7 4.8 4.88 4.98
    hist
```

On arrive toutefois aux mêmes résultats avec le tableau long, à condition de grouper les données par traitement (Variable Traitement) avec group\_by() :

```
Testo_long %>%
  group_by(Traitement) %>%
  skim()
```

```
Skim summary statistics n obs: 26
```

n variables: 3

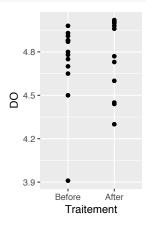
```
group variables: Traitement
-- Variable type:factor -----
Traitement variable missing complete n n_unique
                           0
    Before
                  ID
                                   13 13
                                               13
     After
                  ID
                                   13 13
                                               13
             top_counts ordered
1: 1, 2: 1, 3: 1, 4: 1
                          FALSE
1: 1, 2: 1, 3: 1, 4: 1
                          FALSE
-- Variable type:numeric ----
Traitement variable missing complete n mean
                                                sd
                                                     p0 p25 p50 p75
                           0
    Before
                  DO
                                   13 13 4.73 0.28 3.91 4.7 4.8 4.88
                                   13 13 4.79 0.26 4.3 4.6 4.96 5
      After
                  DO
                           0
p100
         hist
4.98
5.02
```

### 3.3.1.3 Exploration graphique

lci, c'est le tableau rangé au format long qui sera le plus adapté. Lorsque nous avions une unique série de données, nous avons utilisé 3 types de représentations graphiques pour visualiser les données. Nous allons là aussi réaliser ces 3 graphiques. Toutefois, puisque nous avons maintenant plusieurs séries de données, le format des graphique sera légèrement différent.

1. Données brutes sous forme de nuage de point (ou de stripchart) :

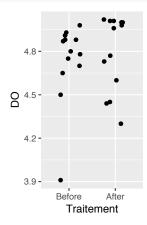
```
Testo_long %>%
  ggplot(aes(x = Traitement, y = DO)) +
  geom_point()
```



Comme toujours, on peut réaliser un stripchart pour limiter les problèmes d'over-plotting (qui sont ici

quasi-inexistants).

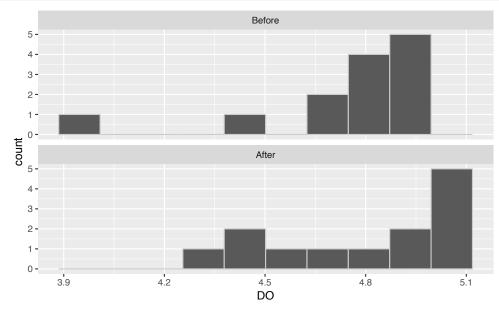
```
Testo_long %>%
  ggplot(aes(x = Traitement, y = D0)) +
  geom_jitter(height = 0, width = 0.25)
```



### 2. Histogrammes

Nous allons faire un histogramme pour chaque série de données en utilisant des facettes :

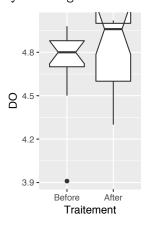
```
Testo_long %>%
  ggplot(aes(x = D0)) +
  geom_histogram(bins = 10, color = grey(0.8))+
  facet_wrap(~Traitement, ncol = 1)
```



### 3. Boxplots

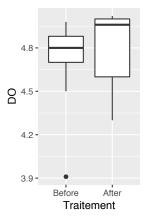
```
Testo_long %>%
  ggplot(aes(x = Traitement, y = DO)) +
  geom_boxplot(notch = TRUE)
```

notch went outside hinges. Try setting notch=FALSE.



lci, l'intervalle de confiance à 95% de la médiane pour la série "After" est tellement large que son extrémité supérieure dépasse la valeur du troisième quartile, la valeur maximale observée, et la limite supérieure de l'axe des ordonnées. Il vaut donc mieux ne pas faire figurer les encoches pour avoir un graphique plus présentable :

```
Testo_long %>%
  ggplot(aes(x = Traitement, y = D0)) +
  geom_boxplot()
```

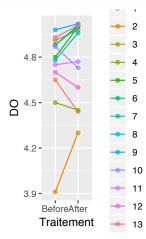


À première vue, ces 3 représentations graphiques semblent montrer que la seconde série de données (après l'opération chirurgicale) présente des valeurs légèrement plus élevées que la première (avant l'opération). Toutefois, il semble que la dispersion des données soit aussi plus importante après l'opération qu'avant, sauf pour un individu outlier qui présente une immuno-compétence très faible avant l'opération.

Toutes ces représentations graphiques sont certes utiles, mais elles masquent un élément crucial : ce

sont les mêmes individus qui sont étudiés avant et après l'opération. Il s'agit de données appariées! Pour avoir une bonne vision de ce qui se passe, il nous faut faire apparaître ce lien entre les 2 séries de données :

```
Testo_long %>%
  ggplot(aes(x = Traitement, y = DO, group = ID, color = ID)) +
  geom_line() +
  geom_point(alpha = 0.7)
```



Ce graphique nous donne une image très différente de la réalité des données. On constate ici que l'immuno-compétence de certains individus augmente, alors que pour d'autres, elle diminue.

Une façon d'estimer si les changements d'immuno-compétence sont majoritairement orientés dans un sens ou non est de calculer l'intervalle de confiance à 95% de la différence d'immuno-compétence entre avant et après l'opération.

#### 3.3.2 Le test paramétrique

Le test paramétrique permettant de comparer la moyenne sur des séries appariées est là encore un test de Student : le **test de Student sur données appariées** (original...). En réalité, ce test de Student n'est pas un test de comparaison de moyennes à proprement parler. La procédure est en réalité la suivante :

- Pour chaque individu, calculer la différence d'immuno-compétence entre les deux temps de l'expérience (DO après - DO avant)
- 2. Puisque nous avons 13 individus, nous aurons 13 valeurs de différences. La moyenne de cette différence sera comparée à la valeur théorique 0. Autrement dit, si les 2 séries ont même moyenne, le moyenne des différences doit être nulle. Sinon, la moyenne des différence doit être différente de zéro.

#### 3.3.2.1 Conditions d'application

Les conditions d'application de ce test paramétrique sont presque les mêmes que pour le test de Student à un échantillon :

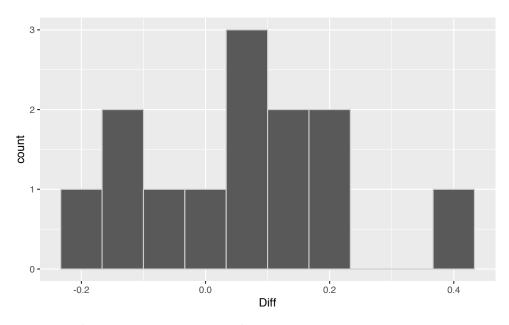
- Les individus sur lesquels portent la comparaison doivent être issus d'un échantillonnage aléatoire. Comme toujours, en l'absence d'indication contraire, on considère que cette condition est vérifiée.
- 2. Les différences par paires entre les 2 modalités du traitement doivent suivre une distribution normale. Ce n'est donc pas les données brutes de chaque série qui doivent suivre une loi normale, mais bien la différence "après" "avant" calculée pour chaque individu. Commençons donc pas calculer ces différences :

```
Testo_large <- Testo_large %>%
  mutate(Diff = After - Before)
Testo_large
```

```
# A tibble: 13 \times 4
   ID
         Before After
                         Diff
   <fct> <dbl> <dbl>
                        <dbl>
 1 1
           4.65 4.44 -0.210
 2 2
           3.91
                4.3
                       0.390
           4.91 4.98 0.07
3 3
           4.5
                 4.45 -0.0500
 4 4
5 5
           4.8
                 5
                       0.2
           4.88 5
                       0.12
6 6
           4.88 5.01 0.130
7 7
           4.78 4.96 0.180
8 8
9 9
           4.98 5.02 0.0400
          4.87
10 10
                 4.73 -0.140
           4.75
                4.77 0.0200
11 11
12 12
           4.7
                 4.6 -0.1
13 13
           4.93 5.01 0.08
```

Il nous faut donc tester la normalité de la nouvelle variable Diff. Commençons par en faire un graphique :

```
Testo_large %>%
  ggplot(aes(x = Diff)) +
  geom_histogram(bins = 10, color = grey(0.8))
```



Compte tenu du faible nombre d'individus, la forme de l'histogramme n'est pas si éloignée que ça d'une courbe en cloche (notez que ce n'était pas du tout le cas pour les données brutes de chaque série de départ qui ont toutes les deux des distribution non Normales). On le vérifie avec un test de normalité de Shapiro-Wilk :

- H<sub>0</sub> : la différence d'immuno-compétence des individus suit une distribution normale
- H<sub>1</sub>: la différence d'immuno-compétence des individus ne suit pas une distribution normale

```
Testo_large %>%
 pull(Diff) %>%
 shapiro.test()
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: . W = 0.97949, p-value = 0.977
```

Au seuil  $\alpha=0.05$ , on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle de normalité pour la différence d'immuno-compétence entre après et avant l'intervention chirurgicale (test de Shapiro-Wilk, W=0.98, p=0.977).

Les conditions d'application du test paramétrique sont donc réunies.

#### 3.3.2.2 Réalisation du test et interprétation

Le test de Student sur données appariées peut se faire de 3 façons distinctes. Les 3 méthodes fournissent exactement les mêmes résultats. Quelle que soit la méthode utilisée, les hypothèses nulles et alternatives sont toujours les mêmes :

- H<sub>0</sub>: Le changement moyen de production d'anticorps après la pose chirurgicale de l'implant de testostérone est nul (μ<sub>Diff</sub> = 0).
- $H_1$ : Le changement moyen de production d'anticorps après la pose chirurgicale de l'implant de testostérone n'est pas nul ( $\mu_{Diff} \neq 0$ ).

```
# Méthode nº1 : avec une formule et le tableau au format long
t.test(DO ~ Traitement, data = Testo_long, paired = TRUE)
```

Paired t-test

```
data: D0 by Traitement
t = -1.2714, df = 12, p-value = 0.2277
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
   -0.15238464   0.04007695
sample estimates:
mean of the differences
        -0.05615385
```

Plusieurs remarques concernant cette première syntaxe :

- on utilise le symbole ~ pour indiquer une formule. On cherche à regarder l'effet du Traitement sur la DO qui traduit l'immuno-compétence. Le ~ doit se lire "en fonction de".
- 2. Avec la synatxe utilisant les formules, on doit spécifier l'argument data = Testo\_long pour indiquer à RStudio que les variables DO et Traitement sont des colonnes de ce tableau.
- Enfin, il est important d'indiquer paired = TRUE puisque nous réalisons un test de Student sur données appariées. Si on ne mets pas cet argument, on réalise un test de Student sur échantillons indépendants.

lci, voilà la conclusion de ce test :

Le test de Student sur données appariées ne permet pas de montrer de changement d'immuno-compétence suite à l'intégration de l'implant chirurgical de testostérone. On ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle au seuil  $\alpha=0.05$  (t=-1.27, ddl=12, p=0.223). La moyenne des différences de densités optiques observées entre avant et après l'intervention chirurgicale vaut -0.056 (intervalle de confiance à 95% de cette différence : [-0.152; 0.040])

Donc visiblement, une forte production de testostérone n'est pas significativement associée à une baisse de l'immuno-compétence.

```
# Méthode n°2 : avec les 2 séries de données et le tableau au format large t.test(Testo_large$Before, Testo_large$After, paired = TRUE)
```

#### Paired t-test

```
data: Testo_large$Before and Testo_large$After
t = -1.2714, df = 12, p-value = 0.2277
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
   -0.15238464   0.04007695
sample estimates:
mean of the differences
   -0.05615385
```

Cette deuxième syntaxe est différente de la première puisque nous n'utilisons plus le format formule. Ici, on indique le nom des 2 colonnes du tableau Testo\_large qui contiennent les 2 séries de données. Puisque nous n'utilisons plus de formule, l'argument data = ... n'existe plus. C'est pourquoi il nous faut taper spécifiquement Testo\_large\$Before et Testo\_large\$After, et non pas simplement le nom des colonnes. En revanche, comme pour le test précédent, il est indispensable d'indiquer paired = TRUE pour faire un test de Student sur données appariées.

Les résultats fournis et leur ointerprétation sont identiques à ceux de la syntaxe précédente.

```
# Méthode nº3 : avec la variable Diff, mu = 0, et le tableau au format large t.test(Testo_large$Diff, mu = 0)
```

```
One Sample t-test
```

```
data: Testo_large$Diff
t = 1.2714, df = 12, p-value = 0.2277
alternative hypothesis: true mean is not equal to 0
95 percent confidence interval:
   -0.04007695   0.15238464
sample estimates:
   mean of x
0.05615385
```

Enfin, comme expliqué plus haut, le test de Student sur données appariées est strictement équivalent à un test de Student à un échantillon pour lequel on compare la moyenne des différences individuelles à 0. Là encore, les résultats produits et leur interprétation sont identiques aux deux tests précédents. La seule différence concerne les signes puisque les deux premiers tests regardaient la différence "Before - After" alors que ce troisième test regarde la différence "After - Before" (que nous avons calculée manuellement).

À vous donc de choisir la syntaxe qui vous paraît la plus parlante ou celle que vous avez le plus de facilité à retenir.

#### 3.3.3 L'alternative non paramétrique

95 percent confidence interval:

-0.145 0.040 sample estimates:

Comme pour le test de Student à un échantillon, lorsque les conditions d'application du test de Student sur données appariées ne sont pas vérifiées (c'est à dire lorsque la différence de moyenne entre les deux séries ne suit pas une loi Normale), il faut utiliser un test non paramétrique équivalent.

Il s'agit là encore du **test de Wilcoxon des rangs signés** qui s'intéresse aux médianes. Les hypothèses nulles et alternatives sont les suivantes :

- H<sub>0</sub>: Le changement médian de production d'anticorps après la pose chirurgicale de l'implant de testostérone est nul (med<sub>Diff</sub> = 0).
- H<sub>1</sub>: Le changement médian de production d'anticorps après la pose chirurgicale de l'implant de testostérone n'est pas nul (med<sub>Diff</sub> ≠ 0).

Comme pour le test de Student, 3 syntaxes sont possibles et strictement équivalentes. Il est important de ne pas oublier l'argument paired = TRUE pour les 2 premières syntaxes afin de s'assurer que l'on réalise bien un test sur données appariées. Enfin, l'argument conf.int = TRUE doit être ajouté pour les 3 syntaxes afin que la (pseudo-) médiane et son intervalle de confiance à 95% soient calculés et affichés.

Le test de Wilcoxon des rangs signés n'a pas permis de montrer de changement d'immunocompétence suite à l'intégration de l'implant chirurgical de testostérone. On ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle au seuil  $\alpha=0.05$  ( $V=61,\,p=0.305$ ). La médiane des différences de densités optiques observées entre après et avant l'intervention chirurgicale vaut 0.055 (intervalle de confiance à 95% de cette différence : [-0.040; 0.145]).

#### 3.3.4 Exercice d'application

Les autruches vivent dans des environnements chauds, et elles sont fréquemment exposées au soleil durant de longues périodes. Dans des environnements similaires, les mammifères ont des mécanismes physiologiques leur permettant de réduire la température de leur cerveau par rapport à celle de leur corps. Un équipe de chercheurs (Fuller et al., 2003) a testé si les autruches pouvaient faire de même. La température du corps et du cerveau de 37 autruches a été enregistrée par une journée chaude typique. Les résultats, exprimés en degrés Celsius, figurent dans le fichier Autruches.csv.

Importez ces données et faites-en l'analyse pour savoir s'il existe une différence de température moyenne entre le corps et le cerveau des autruches. Comparez ces résultats avec les prédictions faites pour les mammifères dans un environnement similaire. Comme toujours, vous commencerez par faire une analyse descriptive des données, sous forme numérique et graphique, avant de vous lancer dans les tests d'hypothèses.

# 3.4 Comparaison de la moyenne de 2 populations : échantillons indépendants

On s'intéresse maintenant aux méthodes permettant de comparer la moyenne de deux groupes ou de deux traitements dans la cas d'échantillons indépendants. Dans ce type de design expérimentaux, les les deux traitements sont appliqués à des échantillons indépendants issus de 2 populations.

### 3.4.1 Exploration préalable des données

Chez le lézard cornu *Phrynosoma mcallii*, une frange de piquants entoure la tête. Une équipe d'herpétologues (Young et al., 2004) a étudié la question suivante : des piquants plus longs autour de la tête protègent-ils le lézard cornu de son prédateur naturel, la pie grièche migratrice *Lanius Iudovicianus*? Ce prédateur a en effet une particularité : il accroche ses proies mortes à des barbelés ou des branches pour les consommer plus tard. Les chercheurs ont donc mesuré la longueur des cornes de 30 lézards retrouvés morts et accrochés dans des arbres par la pie grièche migratrice. Et en parallèle, ils ont mesuré les cornes de 154 individus vivants et en bonne santé choisis au hasard dans la population.

#### 3.4.1.1 Importation et examen visuel

Les données de cette étude sont stockées dans le fichier HornedLizards.csv. Importez ces données dans un objet nommé Lizard et examinez le tableau obtenu.

#### Lizard

```
# A tibble: 185 x 2
   squamosalHornLength Survival
                 <dbl> <chr>
 1
                  25.2 living
 2
                  26.9 living
 3
                  26.6 living
 4
                  25.6 living
 5
                  25.7 living
 6
                  25.9 living
                  27.3 living
8
                  25.1 living
9
                  30.3 living
                  25.6 living
# ... with 175 more rows
```

View(Lizard)

On constate ici 3 choses :

1. la variable Survival devrait être un facteur.

- 2. le nom de la première colonne (squamosalHornLength) est bien trop long
- 3. pour un animal vivant, la mesure de longueur des cornes est manquante. Il nous faut donc retirer cet individu.

Nous pouvons facilement réaliser les 3 modifications d'un coup :

```
Lizard <- Lizard %>%
  mutate(Survival = factor(Survival)) %>%
  rename(Horn_len = squamosalHornLength) %>%
  filter(!is.na(Horn_len))

Lizard

# A tibble: 184 x 2
```

```
Horn_len Survival
      <dbl> <fct>
1
      25.2 living
2
      26.9 living
3
      26.6 living
4
      25.6 living
5
      25.7 living
6
      25.9 living
7
      27.3 living
8
      25.1 living
9
       30.3 living
10
       25.6 living
# ... with 174 more rows
```

### 3.4.1.2 Statistiques descriptives

Comme dans la partie précédente sur les données appariées, les statistiques descriptives doivent être réalisées pour chaque groupe d'individus. Ici, le plus simple est d'utiliser la fonction skim() sur les données groupées par niveau du facteur Survival (avec la fonction group\_by()):

```
Lizard %>%
  group_by(Survival) %>%
  skim()
```

```
Skim summary statistics
n obs: 184
n variables: 2
group variables: Survival
-- Variable type:numeric -----
```

```
Survival variable missing complete n mean sd p0 p25 p50 killed Horn_len 0 30 30 21.99 2.71 15.2 21.1 22.25 living Horn_len 0 154 154 24.28 2.63 13.1 23 24.55 p75 p100 hist 23.8 26.7 26 30.3
```

On constate ici que les tailles d'échantillons sont très différentes. C'est normal compte tenu de la difficulté de repérer des individus morts dans la nature, et ce n'est pas gênant pour nos analyses puisque la taille des deux échantillons reste élevée.

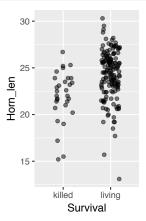
On constate également que si les écarts-types des 2 groupes sont proches, les moyennes et médianes sont plus élévées dans le groupe des individus vivants que dans celui des individus morts (c'est le cas également des quartiles 1 et 3).

#### 3.4.1.3 Exploration graphique

Comme toujours, nous pouvons réaliser 3 types de graphiques pour en apprendre plus sur la distribution des donnees dans les deux groupes. En revanche, sur le graphique de type "nuage de points", il est ici impossible de relier les points 2 à deux. Non seulement cela n'aurait aucun sens puisque les 2 échantillons sont indépendants, mais en outre, nous ne disposons pas du même nombre d'individus dans les 2 échantillons.

#### 1. Stripchart

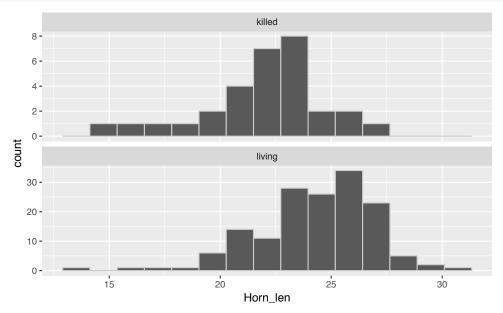
```
Lizard %>%
  ggplot(aes(x = Survival, y = Horn_len)) +
  geom_jitter(height = 0, width = 0.2, alpha = 0.5)
```



Ce premier graphique permet de visualiser très clairement les différences de tailles d'échantillons entre les deux groupes. Il permet également de voir que l'étendue des longueurs de cornes est plus importante dans le groupe des individus vivants que dans celui des individus morts.

### 2. Histogrammes

```
Lizard %>%
  ggplot(aes(x = Horn_len)) +
  geom_histogram(bins = 15, color = grey(0.8)) +
  facet_wrap(~Survival, ncol = 1, scales = "free_y")
```

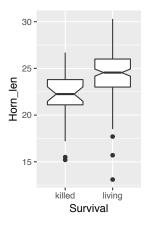


Notez ici l'utilisation de l'argument scales = "free\_y" dans la fonction facet\_wrap(). Cet argument permet de ne pas imposer la même échalle pour l'axe des ordonnée des 2 graphiques. Ce choix est ici pertinent puisque les effectifs des 2 groupes sont très différents. Faîtes un essai sans cet argument pour voir la différence.

Cette visualisation nous montre que les données doivent suivre à peu près une distribution Normale dans les 2 groupes, et que globalement la longueur des cornes semble légèrement plus élevée dans le groupe des vivants (avec un mode autour de 25-26 mm) que dans le groupes des morts (avec un mode autour de 23-24 mm).

### 3. Boxplots

```
Lizard %>%
  ggplot(aes(x = Survival, y = Horn_len)) +
  geom_boxplot(notch = TRUE)
```



Nous visualisons ici encore plus clairement que sur les histogrammes le fait que les longueurs de cornes des individus vivants sont légèrement plus longues que celles des individus morts. D'ailleurs, puisque les intervalles de confiance à 95% des médianes des 2 groupes (les encoches) ne se chevauchent pas, un test de comparaison des moyennes devrait logiquement conclure à une différence significative en faveur des individus vivants. On peut également noter que la largeur de l'encoche pour les individus morts est plus importante que celle des vivants. Cela traduit une incertitude plus grande autour de la médiane estimée dans le groupe des individus morts. C'est tout à fait logique compte tenu des effectifs modestes dans ce groupe.

#### 3.4.2 Le test paramétrique

Le test paramétrique le plus puissant que nous puissions faire pour comparer la moyenne de 2 populations est le test de Student. Ce test étant paramétrique, nous devons nous assurer que ses conditions d'application sont vérifiées avant de pouvoir le réaliser.

#### 3.4.2.1 Conditions d'application

Les conditions d'application de ce test sont au nombre de 3 :

- Chacun des deux échantillons est issu d'un échantillonnage aléatoire de la population générale.
   Comme toujours, en l'absence d'indication contraire, on considère que cette condition est toujours vérifiée.
- 2. La variable numérique étudiée est distribuée normalement dans les deux populations. Il nous faudra donc faire deux test de Shapiro-Wilk, un pour chaque échantillon.
- L'écart-type (et la variance) de la variable numérique est la même dans les deux populations.
   C'est ce que l'on appelle l'homoscédasticité.

En réalité, le test du t de Student sur deux échantillons indépendants est assez robuste face au non respect de cette troisième condition d'application. Cela signifie que si cette troisième condition d'application n'est pas strictement vérifiée, les résultats du tests peuvent malgré tout rester valides. Lorsque les 2 échantillons comparés ont des tailles supérieures ou égales à 30, ce test fonctionne bien même si

l'écart-type d'un groupe est jusqu'à 3 fois supérieur ou inférieur à l'écart-type du second groupe, à condition que la taille des 2 échantillons soit proche (ce qui n'est pas le cas ici!). En revanche, s'il les écart-types diffèrent de plus d'un facteur 3, ou si les tailles d'échantillons sont très différentes, le test du t de Student ne devrait pas être utilisé. De même, si la taille des échantillons est inférieure à 30 et que les variances ne sont pas homogènes, ce test ne devrait pas être réalisé. En conclusion, les résultats du test du t de Student à deux échantillons indépendants peuvent rester valides si la troisième condition d'homscédasticité est violée, mais dans certains cas seulement.

Le test du *t* de Student sur deux échantillons indépendants est également assez robuste face à des écarts mineurs à la distribution Normale, tant que la forme des deux distributions comparées reste similaire. En outre, la robustesse de ce test augmente avec la taille des échantillons.

lci, nous allons donc commencer par vérifier la normalité de chacun des 2 échantillons en réalisant 2 tests de Shapiro-Wilk. Si ces tests confirment que la taille des cornes suit une distribution Normale dans la population générale, nous comparerons alors la variance des 2 populations (nous verrons 3 méthodes pour cela). Les statistiques descriptives réalisées plus haut nous ont montré que les écarts-types des 2 échantillons sont proches, mais que les tailles d'échantillons sont très différentes. L'homoscédasticité doit donc être vérifiée pour que nous ayons le droit de faire le test de Student.

#### 1. Normalité des données

Nous commençons donc par tester la Normalité des 2 populations dont sont issus les échantillons. Pour les individus morts les hypothèses sont les suivantes :

- H<sub>0</sub>: la taille des cornes suit une distribution Normale dans la population des lézards cornus morts.
- H<sub>1</sub>: la taille des cornes ne suit pas une distribution Normale dans la population des lézards cornus morts.

```
Lizard %>%
  filter(Survival == "killed") %>%
  pull(Horn_len) %>%
  shapiro.test()
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: . W = 0.93452, p-value = 0.06482
```

La p-value est supérieure à  $\alpha=0.05$ , donc on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle de Normalité pour la taille des cornes de la population des lézards cornus morts (test de Shapiro-Wilk, W=0.93, p=0.065).

Pour les individus vivants :

- H<sub>0</sub>: la taille des cornes suit une distribution Normale dans la population des lézards cornus vivants.
- H<sub>1</sub>: la taille des cornes ne suit pas une distribution Normale dans la population des lézards cornus vivants.

```
Lizard %>%
  filter(Survival == "living") %>%
  pull(Horn_len) %>%
  shapiro.test()
```

Shapiro-Wilk normality test

```
data: .
W = 0.96055, p-value = 0.0002234
```

La p-value est inférieure à  $\alpha=0.05$ , donc on rejette l'hypothèse nulle de Normalité pour la taille des cornes de la population des lézards cornus vivants (test de Shapiro-Wilk, W=0.96, p<0.001).

Si l'on examine l'histogramme des 2 échantillons, on constate toutefois que la forme des distributions des 2 séries de données est très proche. Pour les 2 échantillons, la distribution est en effet unimodale, avec une asymétrie gauche assez marquée (une longue queue de distribution du côté gauche). La forme des distributions étant similaire (on parle bien de la forme des histogrammes et non de la position du pic), et les histogrammes étant proches de la forme typique d'une courbe en cloche, le test de Student restera valide.

### 2. Homogénéité des variances

Le test le plus simple pour comparer la variance de 2 échantillons est le test F:

- $H_0$ : la variance des 2 populations est égale, leur ratio vaut 1 ( $\frac{\sigma_{killed}^2}{\sigma_{livina}^2}=1$ ).
- $H_1$ : la variance des 2 populations est différente, leur ratio ne vaut pas 1  $(\frac{\sigma_{killed}^2}{\sigma_{livino}^2} \neq 1)$ .

```
var.test(Horn_len ~ Survival, data = Lizard)
```

```
F test to compare two variances
```

```
data: Horn_len by Survival
F = 1.0607, num df = 29, denom df = 153, p-value = 0.7859
alternative hypothesis: true ratio of variances is not equal to 1
95 percent confidence interval:
   0.6339331 1.9831398
sample estimates:
```

```
ratio of variances
```

lci, le ratio des variances (la variance des individus morts divisée par la variance des individus vivants) est très proche de 1 (F=1.06, IC 95% : [0.63 ; 1.98]). Le test F nous montre qu'il est impossible de rejeter  $H_0$ : au seuil  $\alpha=0.05$ , le ratio des variances n'est pas significativement différent de 1 (ddl = 29 et 153, p=0.79), les variances sont homogènes.

Le test de Bartlett est un autre test qui permet de comparer la variance de plusieurs populations. Lorsque le nombe de populations est égal à 2 (comme ici), ce test est absolument équivalent au test F ci-dessus.

- H $_0$  : Toutes les populations ont même variance ( $\sigma_A^2=\sigma_B^2=\sigma_C^2=\cdots=\sigma_N^2$ ).
- H<sub>1</sub>: Au moins une population a une variance différente des autres.

```
bartlett.test(Horn_len ~ Survival, data = Lizard)
```

Bartlett test of homogeneity of variances

```
data: Horn_len by Survival
Bartlett's K-squared = 0.042411, df = 1, p-value = 0.8368
```

Enfin, le test de Levene devrait être préféré la plupart du temps. Comme le test de Bartlett, il permet de comparer la variance de plusieurs populations, mais il est plus robuste vis à vis de la non-normalité des données.

- H $_0$  : Toutes les populations ont même variance ( $\sigma_A^2=\sigma_B^2=\sigma_C^2=\cdots=\sigma_N^2$ ).
- H<sub>1</sub>: Au moins une population a une variance différente des autres.

```
# Le test de Leven fait partie du package car. Il doit être chargé en mémoire
# library(car)
leveneTest(Horn_len ~ Survival, data = Lizard)
```

lci encore, les conclusions sont les mêmes :

Il est impossible de rejeter l'hypothèse nulle d'homogénéité des variances au seuil  $\alpha = 0.05$  (test de Levene, F = 0.004, ddl = 1, p = 0.953).

#### 3.4.2.2 Réalisation du test et interprétation

Puisque la taille des cornes du lézard cornu suit approximativement la même distribution "presque Normale" dans les 2 ppulations (lézards morts et vivants) et que ces 2 ppulations ont des variances homogènes, on peut réaliser le test du *t* de Student sur deux échantillons indépendants.

- H $_0$ : la moyenne des 2 populations est égale, leur différence vaut 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} = 0$ ).
- $H_1$ : la moyenne des 2 populations est différente, leur différence ne vaut pas 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} \neq 0$ ).

```
t.test(Horn_len ~ Survival, data = Lizard, var.equal = TRUE)
```

Two Sample t-test

Notez bien la syntaxe :

- nous utilisons ici la syntaxe du type "formule" faisant appel au symbole ~ (Longueur des cornes en fonction de la Survie) et à l'argument data =.
- l'argument paired = TRUE a disparu puisque nous avons ici deux échantillons indépendants
- l'argument var.equal = TRUE doit obligatoirement être spécifié : nous nous sommes assuré que l'homogénéité des variances était vérifiée. Il faut donc l'indiquer à R afin que le test de Student classique soit réalisé. Si on omet de le spécifier, c'est un autre test qui est réalisé (voir plus bas).

Au seuil  $\alpha$  de 5%, on rejette l'hypothèse nulle d'égalité des moyennes de la longueur des cornes entre lézards vivants et morts (test t de Student sur deux échantillons indépendant, t=-4.35, ddl = 182, p<0.001). Les lézards morts ont en moyenne des cornes plus courtes ( $\hat{p}_{killed}=21.99$  millimètres) que les lézards vivants ( $\hat{p}_{living}=24.28$  millimètres). La gamme des valeurs les plus probables pour la différence de moyenne entre les deux populations est fournie par l'intervalle de confiance à 95% de la différence de moyennes : [-3.34; -1.25].

Ce test confirme donc bien l'impression des chercheurs : les lézards principalement pris pour cibles par les pies grièches migratrices ont des cornes en moyenne plus courtes que les lézards de la population générale. Avoir des cornes plus longues protège donc les lézards de la prédation, du moins dans une certaine mesure.

#### 3.4.3 L'alternative non paramétrique

Si les conditions d'application du test de Student ne sont pas vérifiées, nous devons utiliser un équivalent non paramétrique. C'est le cas du **test de Wilcoxon sur la somme des rangs** (également appelé test de Mann-Whitney). Comme pour tous les tests de Wilcoxon, la comparaison porte alors non plus sur les moyennes mais sur les médianes.

- H<sub>0</sub>: la médiane des 2 populations est égale, leur différence vaut 0 (med<sub>killed</sub> med<sub>livina</sub> = 0).
- H₁: la médiane des 2 populations est différente, leur différence ne vaut pas 0 (med<sub>killed</sub> med<sub>living</sub> ≠ 0).

```
wilcox.test(Horn_len ~ Survival, data = Lizard, conf.int = TRUE)
```

Wilcoxon rank sum test with continuity correction

L'argument var.equal = TRUE n'existe pas pour ce test puisque c'est justement un test non paramétrique qui ne requiert pas l'homogénéité des variances. En revanche, comme pour tous les autres test de Wilcoxon que nous avons réalisés dans ce TP, l'argument conf.int = TRUE permet d'afficher les estimateurs pertinents, ici, la différence de médiane entre les 2 populations et l'intervalle de confiance à 95% de cette différence de médiane.

La conclusion est ici la même que pour le test de Student : puisque la p-value est très inférieure à  $\alpha$ , on rejette l'hypothèse nulle : les médianes sont bel et bien différentes.

Enfin, dans le cas où la variable étudiée suit la loi Normale dans les deux populations mais qu'elle n'a pas la même variance dans les deux populations, il est toujours possible de réaliser un test de Wilcoxon, mais il est souvent préférable de réaliser un test de Student modifié : le **test de approché du** *t* **de Welch**. Ce test est moins puissant que le test de Student classique, mais il reste plus puissant que le test de Wilcoxon, et surtout, il permet de comparer les moyennes et non les variances.

- H<sub>0</sub> : la moyenne des 2 populations est égale, leur différence vaut 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} = 0$ ).
- $H_1$ : la moyenne des 2 populations est différente, leur différence ne vaut pas 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} \neq 0$ ).

```
t.test(Horn_len ~ Survival, data = Lizard)
```

Welch Two Sample t-test

```
data: Horn_len by Survival
t = -4.2634, df = 40.372, p-value = 0.0001178
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
    -3.381912 -1.207092
sample estimates:
mean in group killed mean in group living
    21.98667
24.28117
```

La seule différence par rapport à la syntaxe du test t de Student paramétrique est la suppression de l'argument var.equal = TRUE. Attention donc, à bien utiliser la syntaxe correcte. Le test du t de Welch ne devrait être réalisé que lorsque la normalité est vérifiée pour les 2 populations, mais pas l'homoscédasticité. Par rapport au test de Student classique, on constate que le nombre de degrés de libertés est très différent, et donc la p-value également. Les bornes de l'intervalle de confiance à 95% de la différence de moyenne sont différentes également puisque leur calcul a été fait en supposant que les 2 populations n'avaient pas même variance.

#### 3.4.4 Exercice d'application

On s'intéresse à la différence de taille supposée entre hommes et femmes. Le fichier HommesFemmes. xls contient les tailles en centimètres de 38 hommes et 43 femmes choisis au hasard parmi les étudiants de première année à l'Université de La Rochelle. Importez, mettez en forme et analysez ces données. Vous prendrez soin de retirer les éventuelles valeurs manquantes, vous prendrez le temps d'examiner les données à l'aide de statistiques descriptives et de représentations graphiques adaptées, puis vous tenterez de répondre à la question suivante : les hommes et les femmes inscrits en première année à l'université de La Rochelle ont-il la même taille?

### 3.5 Tests bilatéraux et unilatéraux

## 3.5.1 Principes

Jusqu'à maintenant, tous les tests que nous avons réalisés sont des tests bitaléraux. Pour chaque test, l'hypothèse nulle est imposée. En revanche, pour certains tests, l'hypothèse alternative est à choisir (et à spécifier) par l'utilisateur parmi 3 possibilités :

- 1 hypothèse bilatérale. C'est celle qui est utilisée par défaut si l'utilisateur ne précise rien.
- 2 hypothèses unilatérales possibles, qui doivent être spécifiées explicitement par l'utilisateur.

Les tests unilatéraux peuvent concerner tous les tests pour lesquels les hypothèses sont de la forme suivante :

- H<sub>0</sub>: la valeur d'un paramètre de la population est égale à k (k peut être une valeur fixe, arbitraire, choisie par l'utilisateur, ou la valeur d'un paramètre d'une autre populations)
- $-H_1$ : la valeur d'un paramètre de la population **n'est pas égale à** k.

En réalité, si nous remplaçons l'hypothèse H<sub>1</sub> par :

 $-H_1$ : la valeur d'un paramètre de la population **est supérieure à** k.

ou par :

-  $H_1$ : la valeur d'un paramètre de la population **est inférieure à** k.

nous réalisons un test unilatéral.

Dans R, la syntaxe permettant de spécifier l'hypothèse alternative que nous souhaitons utiliser est toujours la même. Il faut préciser, au moment de faire le test l'argument suivant :

- alternative = "two.sided": pour faire un test bilatéral. Si on ne le fait pas explicitement,
   c'est de toutes façons cette valeur qui est utilisée par défaut.
- alternative = "greater": pour choisir l'hypothèse unilatérale >
- alternative = "less": pour choisir l'hypothèse unilatérale <

Attention, le choix d'utiliser "greater" ou "less" dépend de l'ordre dans lequel les échantillons sont spécifiés. Cette synatxe est valable pour tous les tests de Student vus jusqu'ici (un échantillon, deux échantillons appariés, deux échantillons indépendants) et pour leurs alternatives non paramétriques (test de Wilcoxon des rangs signés, test de Wilcoxon de la somme des rangs, test du t de Welch).

**Attention**: comme indiqué en TD, l'utilisation de tests unilatéraux doit être réservée exclusibvement aux situations pour lesquelles le choix de l'hypothèse unilatérale est possible à justifier par un mécanisme quelconque (biologique, physiologique, comportemental, écologique, génétique, etc.). Observer que l'un des échantillons a une moyenne plus grande ou plus faible qu'un autre lors de la phase des statstiques descriptives des données n'est pas du tout une raison suffisante. Il faut pouvoir justifier le choix de l'hypothèse alternative par une explication valable. Reprenons l'un des exemples examinés précédemment pour mieux comprendre comment tout cela fonctionne.

#### 3.5.2 Un exemple pas à pas

Reprenons l'exemple des lézards cornus. L'étude a été réalisée parce que les chercheurs supposaient que la longueur des cornes des lézards était susceptible de leur fournir une protection face à la prédation. Autrement dit, les chercheurs supposaient que des cornes plus kongues devaient fournir une meilleure protection vis à vis de la prédation. Ainsi, les lézards morts devaient avoir des cornes moins longues en moyenne que les les lézards vivants, simplement parce que proter des cornes courtes expose plus simplement les individus à la prédation. Nous avons donc une bonne raison "écologique" de considérer un test unilatéral.

Lorsque nous avons examiné cette question, nous avons fait le test du *t* de Student sur échantillons indépendants de la façon suivante :

```
t.test(Horn_len ~ Survival, data = Lizard, var.equal = TRUE)
```

```
Two Sample t-test
```

Comme l'indiquent les résultats fournis, l'hypothèse alternative utilisée pour faire le test est "La vraie différence de moyenne n'est pas égale à 0". Autrement dit, nous avons fait un test bilatéral avec les hypothèses suivantes :

- H<sub>0</sub> : la moyenne des 2 populations est égale, leur différence vaut 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} = 0$ ).
- H<sub>1</sub>: la moyenne des 2 populations est différente, leur différence ne vaut pas 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} \neq 0$ ).

Ce test est donc rigoureusement équivalent à celui-ci :

Two Sample t-test

```
data: Horn_len by Survival
t = -4.3494, df = 182, p-value = 2.27e-05
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
    -3.335402 -1.253602
sample estimates:
mean in group killed mean in group living
    21.98667 24.28117
```

lci, nous souhaitons en fait réaliser un test unilatéral avec les hypothèses suivantes :

-  $H_0$ : la moyenne de longueur des cornes de la population des lézards morts est égale à celle des lézards vivants. Leur différence vaut 0 ( $\mu_{killed} - \mu_{livina} = 0$ ).

-  $H_1$ : la moyenne de longueur des cornes de la population des lézards morts est **inférieure** à celle des lézards vivants. Leur différence est inférieure à 0 ( $\mu_{killed} - \mu_{living} < 0$ ).

Two Sample t-test

Puisque la p-value de ce test est inferieure à  $\alpha=0.05$ , on rejette l'hypothèse nulle de l'égalité des moyennes. On valide donc l'hypothèse alternative : les lézards cornus morts ont en moyenne des cornes plus courtes que les lézards vivants. Cette différence de longueur de cornes est en faveur des lézars vivants et avut très probablement au moins 1.4 millimètres (c'est l'intervalle de confiance à 95% de la différence de moyennes qui nous le dit).

Dernière chose importante : il ne faut pas se tromper dans le choix de l'hypothèse alternative. En effet, nous aurions pu tenter de tester exactement la même chose en formulant les hypothèses suivantes :

- $H_0$ : la moyenne de longueur des cornes de la population des lézards **vivants** est égale à celle des lézards **morts**. Leur différence vaut 0 ( $\mu_{living} \mu_{killed} = 0$ ).
- $H_1$ : la moyenne de longueur des cornes de la population des lézards **vivants** est **supérieure** à celle des lézards **morts**. Leur différence est **supérieure** à 0 ( $\mu_{living} \mu_{killed} > 0$ ).

Ce test est normalement exactement le même que précédemment. Toutefois, si on essaie de le réaliser, on rencontre un problème :

Two Sample t-test

```
data: Horn_len by Survival t = -4.3494, df = 182, p-value = 1
```

```
alternative hypothesis: true difference in means is greater than 0
95 percent confidence interval:

-3.166684 Inf
sample estimates:
mean in group killed mean in group living
21.98667 24.28117
```

Ici, la p-value est très supérieure à  $\alpha$  puisqu'elle vaut 1. Une p-value de 1 devrait toujours attirer votre attention. La conclusion devrait donc être que l'on ne peut pas rejeter  $H_0$ : les lézards morts et vivants ont en moyenne des cornes de même longueur. Nous savons pourtant que c'est faux.

Le problème est ici liè à l'ordre des catégories "vivant" ou "mort" dans le facteur Survival du tableau Lizard. Les dernières lignes des tests que nous venons de faire indique la moyenne de chaque groupe, mais le groupe "killed" apparaît toujours avant le groupe "living". C'est l'ordre des nibveaux dans le facteur Survival qui doit dicter la syntaxe appropriée :

#### Lizard\$Survival

Levels: killed living

```
[1] living living living living living living living living
[10] living living living living living living living living
[19] living living living living living living living living
[28] living living living living living living living living
[37] living living living living living living living living
[46] living living living living living living living living
[55] living living living living living living living living
[64] living living living living living living living living
[73] living living living living living living living living
[82] living living living living living living living living
[91] living living living living living living living living
[100] living living living living living living living living
[109] living living living living living living living living
[118] living living living living living living living living
[127] living living living living living living living living
[136] living living living living living living living living
[145] living living living living living living living living
[154] living killed killed killed killed killed killed killed
[163] killed killed killed killed killed killed killed killed
[172] killed killed killed killed killed killed killed killed
[181] killed killed killed
```

Par défaut, dans R, les niveaux d'un facteur sont classés par ordre alphabétique sauf si on spécifie manuellement un ordre différent. Ici, le niveau "killed" est donc le premier niveau du facteur, et "living" le second. Lorsque l'on réalise un test de Student avec ces données (ou un test de Wilcoxon d'ailleurs),

la différence de moyenne qui est examinée par le test est donc "moyenne des killed - moyenne des living". Lorsque nous avons tapé ceci :

nous avons en réalité posé les hypothèses suivantes :

- $H_0$ : la moyenne de longueur des cornes de la population des lézards **morts** est égale à celle des lézards **vivants**. Leur différence vaut 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} = 0$ ).
- $H_1$ : la moyenne de longueur des cornes de la population des lézards **morts** est **supérieure** à celle des lézards **vivants**. Leur différence est **supérieure** à 0 ( $\mu_{killed} \mu_{living} > 0$ ).

Ce test est donc erronné, ce qui explique qu'il nous renvoie un résultat faux et une *p*-value de 1. Ici, puisque l'ordre des catégories est "killed" d'abord et "living" ensuite, la seule façon correct de faire un test unilatéral qui a du sens est donc celle que nous avons réalisé en premier :

### 3.5.3 Exercice d'application

Reprenez chaque exemple et exercice de cet séance de TP et identifiez les situations où un test unilatéral aurait du sens. Si vous en trouvez, faîte ce test et assurez-vous que les hypothèses choisies sont bien celles qui sont utilisées lors du test.

# 4 Séance 2 : comparer la moyenne de plus de 2 groupes

### 4.1 Packages et données

Avant toute chose, merci de relire l'introduction (section 2) de ce document, et de suivre toutes les étapes qui y sont décrites (création d'un nouveau sous-dossier nommé TP\_2 dans votre dossier Biometrie3, changement du répertoire de travail et création d'un nouveau script).

Les packages dont vous aurez besoin pour cette séance, et que vous devez donc charger en mémoire, sont les mêmes que pour la section précédente : les packages du tidyverse (Wickham, 2017), qui permettent de manipuler facilement des tableaux de données et de réaliser des graphiques, le package readr (Wickham et al., 2018c), pour importer facilement des fichiers .csv au format tibble, le package readxl (Wickham and Bryan, 2018), pour importer facilement des fichiers Excel au format tibble, le package skimr (McNamara et al., 2019), qui permet de calculer des résumés de données très informatifs, et le package car (Fox et al., 2018), qui permet d'effectuer le test de comparaison de

variances de Levene. Nous utiliserons aussi le package broom (Robinson and Hayes, 2018), qui fait partie du tydiverse mais qu'il faut charger explicitement. La fonction tidy() de ce package nous permettra de "ranger" correctement les résultats de tests dans un tibble:

```
library(tidyverse)
library(readr)
library(readxl)
library(skimr)
library(car)
library(broom)
```

Enfin, nous aurons besoin du package DescTools (source code and/or documentation previously published by : Ken Aho et al., 2019) afin de réaliser un test spécifique de comparaisons multiples. N'oubliez pas de l'installer si nécessaire, avant de le charger en mémoire :

```
library(DescTools)
```

Ces commandes (que vous devez taper dans vos scripts avant de les exécuter dans la console de RStudio) ne devraient pas renvoyer de messages d'erreur puisque vous avez dû les installer pour reproduire les exemples et réaliser les exercices de la séance 1. Si vous rencontrez des problèmes, merci de consulter la section 3.1 de cet ouvrage, ainsi que la section 2.3 du livre de biométrie 2 disponible en ligne.

Vous aurez également besoin des jeux de données suivants :

- Light.csv
- Insectes.csv

# 4.2 L'analyse de variance à un facteur

## 4.2.1 Exploration préalable des données

Voyager dans un pays éloigné peut faire souffrir de décallage horaire. Habituellement, la resynchronisation de l'horloge interne circadienne dans le nouveau fuseau horaire est réalisée grâce à la perception de la lumière par les yeux. Ce changement progressif du rythme de notre horloge interne est appelé "décalage de phase". Ce phénomène a été étudié par 2 chercheurs en 1998 (Campbell and Murphy, 1998), qui ont montré que ce décallage de phase pouvait également être obtenu en exposant des sujets à la lumière, non pas au niveau de leurs yeux, mais au niveau de leur fosse (ou creux) poplitée, c'est-à-dire, derrière les genoux.

Cette découverte a été vivement critiquée par certains, et saluée comme une découverte majeure par d'autres. Toutefois, certains aspects du design expérimental de l'étude de 1998 ont été mis en doute en 2002 : il semble en effet que lors de l'exposition du creux poplité, les yeux de certains patients ont été également exposés à de faibles intensités lumineuses. Pour vérifier les trouvailles de Campbell et Murphy, Wright et Czeisler (Wright and Czeisler, 2002) ont ré-examiné ce phénomène. La nouvelle

expérience a évalué les rythmes circadiens en mesurant les cycles quotidiens de production de mélatonine chez 22 participants placés au hasard dans 3 groupes. Les patients étaient réveillés en pleine nuit et exposés :

- 1. soit à 3 heures de lumière appliquée exclusivement derrière leurs genoux (groupe knee)
- 2. soit à 3 heure de lumière appliquée exclusivement à leurs yeux (groupe eyes)
- 3. soit à 3 heures d'obscurité totale (groupe control).

Le décalage de phase du cycle de production de mélatonine était mesuré 48h plus tard. Des chiffres négatifs indiquent un retard de production de mélatonine. C'est l'effet théorique attendu du traitement lumineux administré. Un décalage de phase positif indique une production de mélatonine plus précoce. Une absence de changement se traduit par un décalege de phase de 0.

# 4.2.1.1 Importation et examen visuel

Les données brutes de cette étude sont fournies dans le fichier Light.csv. Importez ces données dans RStudio et examinez les données brutes grâce à la fonction View().

# Light

```
# A tibble: 22 x 2
   treatment shift
   <chr>>
             <dbl>
 1 control
              0.53
2 control
              0.36
3 control
              0.2
 4 control
            -0.37
5 control
            -0.6
 6 control
             -0.64
 7 control
             -0.68
8 control
             -1.27
9 knee
              0.73
              0.31
10 knee
# ... with 12 more rows
```

Le tableau obtenu est-il au format long ou au format court/large ? Pourquoi un tableau au format suivant n'aurait-il pas de sens ?

```
# A tibble: 8 x 3
  control
            eyes
                    knee
    <dbl> <dbl>
                   <dbl>
     0.53 -0.78
                   0.73
1
     0.36 - 0.86
2
                   0.31
3
     0.2
           -1.35
                   0.03
   -0.37 -1.48 -0.290
```

```
5 -0.6 -1.52 -0.56
6 -0.64 -2.04 -0.96
7 -0.68 -2.83 -1.61
8 -1.27 NA NA
```

Lorsque l'on réalise une analyse de variance, puisque les effectifs ne sont pas nécessairement identiques dans tous les groupes (c'est ce qu'on appelle un design déséquilibré, ou "unbalanced design"), présenter les tableaux au format long est indispensable. Par ailleurs, notez que les ANOVAs réalisées sur des "balanced design" (ou designs équilibrés, pour lesquels tous les groupes sont de même taille), sont beaucoup plus puissantes que les ANOVAs réalisées sur des "unbalanced designs".

lci, le tableau de données est très simple (et de petite taille). Il n'y a pas de données manquantes et aucune création de nouvelle variable n'est nécessaire. La seule modification que nous devrion faire est de transformer la variable treatment en facteur :

```
Light <- Light %>%
mutate(treatment = factor(treatment))
```

Comme toujours, les niveaux du facteur sont automatiquement classés par ordre alphabétique :

```
levels(Light$treatment)
```

```
[1] "control" "eyes" "knee"
```

Pour les statistiques descriptives et les graphiques qui viendront après, nous souhaitons indiquer l'ordre suivant : control, puis knee, puis eyes :

```
Light <- Light %>%
  mutate(treatment = fct_relevel(treatment, "control", "knee", "eyes"))
Light
```

```
# A tibble: 22 x 2
   treatment shift
   <fct>
             <dbl>
 1 control
              0.53
 2 control
              0.36
 3 control
              0.2
 4 control
             -0.37
 5 control
             -0.6
 6 control
             -0.64
             -0.68
7 control
8 control
             -1.27
9 knee
              0.73
10 knee
              0.31
# ... with 12 more rows
```

### Light\$treatment

```
[1] control control control control control control control
 [9] knee
            knee
                    knee
                            knee
                                     knee
                                            knee
                                                    knee
                                                            eyes
[17] eyes
            eyes
                    eyes
                            eyes
                                     eyes
                                            eyes
Levels: control knee eyes
```

Attention à bien respecter la casse (le respect des majuscules/minuscules est toujours aussi important dans R).

## 4.2.1.2 Statistiques descriptives

Comme toujours, et maintenant que nos données sont au bon format, il est nécessaire d'examiner quelques statistiques descriptives pour chaque catégorie étudiée. Le plus simple est ici d'utiliser la fonction skim du package skimr:

```
Light %>%
  group_by(treatment) %>%
  skim()

Skim summary statistics
```

```
n obs: 22
n variables: 2
group variables: treatment
```

-- Variable type:numeric ----

```
treatment variable missing complete n mean
                                              sd
                                                    рO
                                                         p25
                                                               p50
                                  8 8 -0.31 0.62 -1.27 -0.65 -0.48
  control
             shift
                                  7 7 -0.34 0.79 -1.61 -0.76 -0.29
             shift
    knee
                                  7 7 -1.55 0.71 -2.83 -1.78 -1.48
             shift
     eyes
 p75 p100
                hist
 0.24 0.53
 0.17 0.73
-1.1 -0.78
```

Nous avons ici la confirmation que le design expérimental n'est pas équilibré, puisque le groupe control compte un individu de plus. Il semble que le groupe eyes se comporte un peu différemment des autres groupes. En effet, pour les groupes control et knee, les valeurs observées sont très proches :

- les moyennes et les médianes sont négatives mais proches de 0.
- les valeurs observées sont négatives pour certaines, et positives pour d'autres (la colonne p0 contient les minimas et la colonne p100 contient les maximas).

En revanche, pour le groupe eyes, les décalages de phase observés sont tous négatifs (maxima, présenté dans la colonne p100 vaut -0.78) et la moyenne est près de 5 fois plus faible que pour les 2 autres groupes.

Les écart-types semblent en revanche très proches dans les 3 groupes (entre 0.6 et 0.8).

Enfin, les histogrammes présentés pour chaque groupe semblent très éloignés d'une distribution Normale. C'est logique compte tenu des faibles effectifs dans chaque groupe. Et nous verrons plus tard que cela n'a aucune importance puisque les conditions d'application de l'ANOVA protent sur les résidus de l'ANOVA, et pas sur les données brutes.

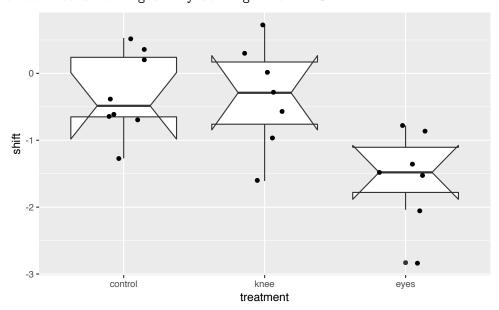
Il semble donc que seul le groupe eyes soit véritablement différent du groupe témoin. Pour le vérifier, nous allons d'abord faire quelques représentations graphiques, puis nous ferons un test d'hypothèses.

### 4.2.1.3 Exploration graphique

Comme toujours, il nest indispensable de regarder à quoi ressemblent les données brutes sur un ou des graphiques. Les statistiques descriptives ne racontent en effet pas toujours toute l'histoire. Ici, nous allons superposer les données brutes sous forme de nuage de oint, aux boites à moustaches:

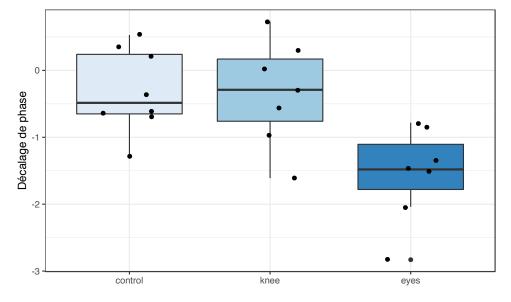
```
Light %>%
  ggplot(aes(x = treatment, y = shift)) +
  geom_boxplot(notch = TRUE) +
  geom_jitter(width = 0.2)
```

```
notch went outside hinges. Try setting notch=FALSE. notch went outside hinges. Try setting notch=FALSE. notch went outside hinges. Try setting notch=FALSE.
```



Puisqu'il y a peu de données, les intervalles de confiance à 95% sont très larges. Ils dépassent d'ailleurs

presque systématiquement les quartiles. Il vaudait donc mieux représenter cette figure sans ces intervalles de confiance. Toutefois, avant de les retirer, on peut constater ici que les IC 95% se chevauchent complètement pour les séries control et knee. En revanche, il n'y a aucun chevauchement de l'IC 95% du groupe eyes avec les 2 autres groupes. On s'attend donc à trouver une différence de moyenne significative entre le groupe eyes d'une part, et les groupes control et knee d'autre part, mais pas de différence de moyenne entre les groupes control et knee.



On constate ici visuellement que les 3 séries ont une étendue à peu près similaire, et que le groupe eyes semble se distinguer des 2 autres par des valeurs plus faibles. Enfin, les boîtes contenant 50% des valeurs centrales (donc l'étendue des valeurs entre les premiers et troisièmes quartiles) recouvrent le 0 pour les 2 groupes control et knee, mais par pour eyes.

#### 4.2.2 Le test paramétrique

Le test paramétrique permettant de comparer la moyenne de plusieurs populations en une seule étape est l'analyse de variance à un facteur. Contrairement aux tests que nous avons vus jusqu'à maintenant, les conditions d'applications de ce test ne seront vérifiées qu'après avoir réalisé l'analyse. En effet, les conditions d'application de l'ANOVA ne se vérifient pas sur les données brutes mais sur les résidus de

l'ANOVA. C'est d'ailleurs ce que l'on appelle l'analyse des résidus, ou diagnostique de l'ANOVA.

#### 4.2.2.1 Réalisation du test et interprétation

Dans R, l'analyse de variance se fait grâce à la fonction aov () (comme "Analysis Of Variance"). La syntaxe est la même que pour un certain nombre de tests déjà vus dans la section 3 : il faut fournir une formule à la fonction. On place la variable numérique expliquée à gauche du ~, et à droite, la variable qualitative explicative (le facteur).

Contrairement aux autres tests réalisés jusqu'ici, les résultats du test devront être sauvegardés dans un objet. Outre les résultats du test, cet objet contiendra également tous les éléments permettant de vérifier si les conditions d'application de l'ANOVA sont réunies ou non.

Les hypothèses testées sont les suivantes :

- H<sub>0</sub> : les moyennes de toutes les populations sont égales ( $\mu_{\text{control}} = \mu_{\text{knee}} = \mu_{\text{eves}}$ )
- H<sub>1</sub> : toutes les moyennes ne sont pas égales. Au moins l'une d'entre elles diffère des autres.

```
# Réalisation de l'ANOVA 1 facteur
res <- aov(shift ~ treatment, data = Light)
# Affichage des résultats
res</pre>
```

#### Call:

```
aov(formula = shift ~ treatment, data = Light)
```

## Terms:

```
treatment Residuals
Sum of Squares 7.224492 9.415345
Deg. of Freedom 2 19
```

```
Residual standard error: 0.7039492
Estimated effects may be unbalanced
```

L'affichage des résultats bruts ne nous apprend que peu de choses. En revanche, la fonction summary () donne la réponse du test :

```
summary(res)
```

```
Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)

treatment 2 7.224 3.612 7.289 0.00447 **

Residuals 19 9.415 0.496

---

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Pour le facteur étudié, on obtient le nombre de degrés de libertés (Df), la somme des carrés (Sum Sq), les carrés moyens (Mean Sq), la statistique du test (F) et la p-value (Pr(>F)). Ici, la p-value est inférieure à  $\alpha$ , donc on rejette H<sub>0</sub>. Au moins l'une des moyennes est différente des autres.

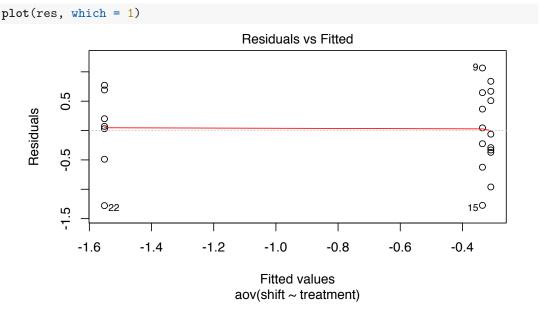
## 4.2.2.2 Conditions d'application

Les résultats de l'ANOVA ne seront valides que si les conditions d'application sont vérifiées. Comme indiqué plus haut, ces conditions d'applications doivent être vérifiées sur les résidus de l'ANOVA, donc nécessairement **après** avoir réalisé l'analyse. Les résidus de l'ANOVA représentent l'écart entre chaque observation et la moyenne de son groupe. Les résidus doivent :

- 1. être indépendants
- 2. être homogènes
- 3. être distribués Normalement.

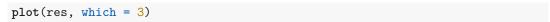
L'indépendance des résidus signifie que connaître la valeur d'un résidu ne permet pas de prédire la valeur d'un autre résidu. Si les données ont été collectées correctement (échantillonnage aléatoire simple, indépendance des observations), on considère généralement que cette condition est vérifiée. Les 2 autres conditions d'application se vérifient soit graphiquement, soit avec un test d'hypothèse.

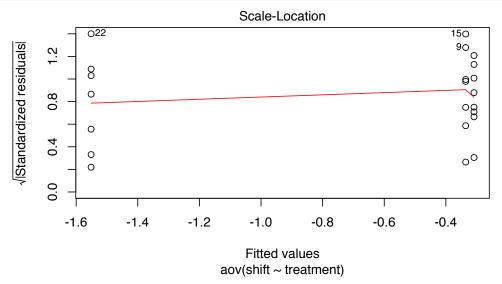
L'homogénéité des résidus signifie que les résidus doivent avoir à peu près la même variance pour chacun des groupes comparés. On peut vérifier que cette condition d'application est vérifiée grâce à ce graphique :



lci, les résidus sont considérés comme homogènes car nous avons à peu près autant de résidus positifs que négatifs et que la ligne rouge est très proche du 0. L'étalement des résidus est à peu près le même de la gauche à la droite du graphique. On pourrait donc faire entrer les résidus dans une boite

rectangulaire horizontale centrée sur le 0 et de la même largeur d'un bout à l'autre du graphique. Une autre façon de visualiser ces résidus est d'utiliser le graphique suivant :





Sur ce graphique, ce qui compte principalement, c'est la droite en rouge. Elle est ici presque horizontale, ce qui montre que les résidus de tous les groupes (un groupe à gauche et 2 à droite) ont à peu près même moyenne.

Cette condition d'homogénéité des résidus entre les groupes peut également être vérifiée grâce au test de Levene. Pour ce test, les hypothèses seront les suivantes :

- H<sub>0</sub>: les résidus sont homogènes (i.e. identiques dans tous les groupes).
- H<sub>1</sub>: les résidus ne sont pas homogènes (i.e. au moins un groupe présente des résidus dont la variance est différente des autres).

## leveneTest(res\$residuals ~ Light\$treatment)

```
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)

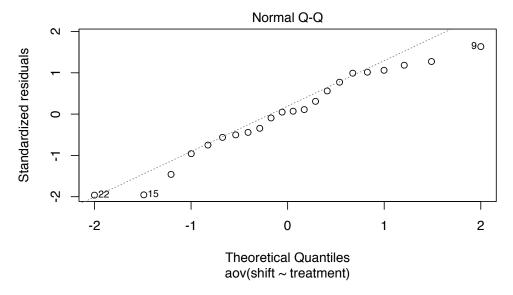
Df F value Pr(>F)
group 2 0.1586 0.8545

19
```

Ici, puisque  $p > \alpha$ , on ne peut pas rejeter l'hypothèse nulle. Les résidus sont donc bien homogènes.

Reste à vérifier la normalité des résidus. Là encore, on peut faire cela graphiquement ou avecun test de Shapiro-Wilk :

```
plot(res, which = 2)
```



Sur un graphique quantile-quantile comme celui-là, on considère que les observations sont distribuées normalement si les points sont bien alignés sur la droite. Ici, la plupart des points sont très proches de la droite, ce qui laisse penser que les résidus suivent bien la loi Normale. On peut en avoir la confirmation avec le test suivant :

shapiro.test(res\$residuals)

Shapiro-Wilk normality test

data: res\$residuals
W = 0.95893, p-value = 0.468

Comme pour tous les tests de Shapiro-Wilk, l'hypothèse nulle est la normalité des observations. Ici, puisque  $p > \alpha$ , on ne peut pas rejeter  $H_0$ . Les résidus suivent donc bien la loi Normale.

Toutes les conditions d'application de l'ANOVA sont donc vérifiées. Nous avions donc bien le droit de la réaliser et ses résultats sont valides. On pourrait rédiger les résultats de cette analyse ainsi :

Une analyse de variance montre que la moyenne des 3 groupes n'est pas identique (F = 7.289, p = 0.004). Un test de Levene a permis de vérifier la condition d'homogénéité de la variance des résidus (F = 0.189, p = 0.855), etuntest de Shapiro – Wilkaconfirm la Normalit des risidus (W = 0.959), p = 0.468).

Deux questions restent toutefois en suspens :

- 1. Entre quels groupes les moyennes sont-elles différentes?
- 2. Quelle est la magnitude de ces différences?

Pour répondre à ces 2 questions, il nous faut réaliser des tests a posteriori ou tests post-hoc.

#### 4.2.2.3 Tests Post-Hoc

Lorsqu'une ANOVA montre que tous les groupes n'ont pas la même moyenne, il faut en théorie effectuer toutes les comparaisons de moyennes deux à deux. Le problème est que lorsque l'on effectue des comparaisons multiples, les erreurs  $\alpha$  (probabilité de rejeter à tort  $H_0$ ) de tous les tests s'ajoutent. Ainsi :

- pour comparer 3 groupes 2 à 2, nous avons besoin de 3 tests.
- Pour comparer 4 groupes 2 à 2, nous avons besoin de 6 tests.
- pour comparer 5 groupes 2 à 2, nous avons besoin de 10 tests.
- pour comparer 6 groupes 2 à 2, nous avons besoin de 15 tests.
- pour comparer n groupes 2 à 2, nous avons besoin de  $\frac{n(n-1)}{2}$  tests.

lci, puisque pour chaque test, un risque de 5% de rejeter à tort l'hypothèse nulle est commis, réaliser 3 tests ferait monter le risque de s'être trompé quelque part à 15%. C'est la raison pour laquelle des tests spéficiques existent. Nous en verrons 2: le test de comparaisons multiples de Student et le test de Tukey (ou "Honestly Significant Difference Test"). Pour ces tests, des précautions sont prises qui garantissent que le risque  $\alpha$  global est maîtrisé et qu'il reste fixé à 5%.

Le test de comparaisons multiples de Student est réalisé avec la fonction pairwise.t.test(). En réalité, 3 test de Student seront réalisés. Les p-value des tests seront simplement modifiées afin que globalement, le risque  $\alpha$  n'augmente pas. Pour chaque test réalisee, les hypothèses nulles et alternatives sont les mêmes que celles décrites à la section 3.4:

```
- H<sub>0</sub> : la moyenne des deux populations est égale (\mu_1=\mu_2, ou \mu_1-\mu_2 = 0).
```

-  $H_1$ : la moyenne des deux populations est différente ( $\mu_1 \neq \mu_2$  ou  $\mu_1 - \mu_2 \neq 0$ ).

```
# Réalisation du test
post_hoc1 <- pairwise.t.test(Light$shift, Light$treatment)
# affichage des résultats
post_hoc1</pre>
```

Pairwise comparisons using t tests with pooled SD

```
data: Light$shift and Light$treatment
```

```
control knee
knee 0.9418 -
eyes 0.0088 0.0088
```

P value adjustment method: holm

Seules les p-value de chaque test sont fournies sous la forme d'une matrice diagonale. On constate ainsi qu'une seule p value est supérieure à  $\alpha=0.05$ : celle du test comparant les moyennes des groupes

knee et control. Une autre façon de visualiser ces résultats consiste à utiliser la fonction tidy du package broom que nous avons mis en mémoire un peu plus tôt. Les résultats seront les mêmes. Ils seront simplement rangés dans un tibble :

```
tidy(post_hoc1)
```

Nous avons donc la confirmation que les moyennes des groupes knee et control ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre. En revanche, la moyenne du groupe eyes est différente de celle des 2 autres groupes (p = 0.009 pour les 2 tests).

Nous avons donc appris des choses nouvelles, mais nous ne savons toujours pas quelle est la magnitude de la différence détectée entre le groupe eyes et les 2 autres. Le test de Tukey HSD nous permet de réponder à cette question :

```
# Réalisation du test de Tukey HSD
post_hoc2 <- TukeyHSD(res)

# Affichage des résultats
post_hoc2</pre>
```

```
Tukey multiple comparisons of means 95% family-wise confidence level
```

```
Fit: aov(formula = shift ~ treatment, data = Light)
```

## \$treatment

```
diff lwr upr p adj
knee-control -0.02696429 -0.9525222 0.8985936 0.9969851
eyes-control -1.24267857 -2.1682364 -0.3171207 0.0078656
eyes-knee -1.21571429 -2.1716263 -0.2598022 0.0116776
```

Cette fois, nous obtenons à la fois la *p*-value des comparaisons 2 à 2, mais nous obtenons aussi l'estimation des différences de moyennes ainsi que l'intervalle de confiance à 95% de ces différences. Là encore, l'utilisation de la fonction tidy peut rendre les résultats plus lisibles (ou en tous cas, plus faciles à manipuler) :

```
tidy(post_hoc2)
```

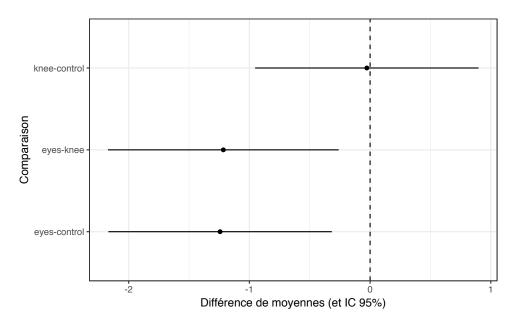
```
# A tibble: 3 x 6
```

```
term
            comparison
                          estimate conf.low conf.high adj.p.value
            <chr>
                             <dbl>
                                       <dbl>
                                                 <dbl>
                                                              <dbl>
  <chr>>
1 treatment knee-control
                           -0.0270
                                      -0.953
                                                 0.899
                                                            0.997
2 treatment eyes-control
                                      -2.17
                                                            0.00787
                           -1.24
                                                 -0.317
                                      -2.17
3 treatment eyes-knee
                           -1.22
                                                 -0.260
                                                            0.0117
```

La première ligne de ce tableau nous confirme une absence de différence de moyenne significative entre les groupes knee et control. La différence de moyenne estimée pour ces deux catégories  $(\hat{\mu}_{knee} - \hat{\mu}_{control})$  vaut -0.027, avec un intervalle de confiance à 95% pour cette différence qui vaut [-0.95; 0.90]. Cet intervalle, qui rassemble les valeurs les plus probables pour cette différence de moyenne, contient la valeur 0, ce qui confirme qu'il n'y a aucune raison de penser qu'une différence réelle existe. Le faible écart de moyennes observé entre ces 2 groupes est très vraisemblablement le fruit du hasard.

En revanche, les lignes 2 et 3 de ce tableau montrent des différences significatives (p=0.008 et p=0.012 pour les comparaisons eyes/control et eyes/knee respectivement). Les différences sont négatives, de l'ordre de -1.2 pour les 2 comparaisons, ce qui traduit des valeurs plus faibles pour eyes que pour les 2 autres groupes. Pour ces 2 comparaisons, les intervalles de confiance à 95% des différences ne contiennent pas le 0, mais exclusivement des valeurs négatives.

En utilisant le tableau ci-dessus, nous pouvons synthétiser graphiquement ces résultats :



Nous avons donc bien montré ici que la re-synchronisation de l'horloge interne n'est possible que par le biais de l'exposition des yeux à la lumière, et non du creux poplité.

## 4.2.3 L'alternative non paramétrique

Dans la suite de cette section, nous faisons l'hypothèse, bien que ça ne soit pas le cas, que les conditions d'application de l'ANOVA ne sont pas vérifiées pour notre jeu de données.

#### 4.2.3.1 Réalisation du tests et interprétation

Si les conditions d'application de l'ANOVA ne sont pas remplies, il est nécessaire d'utiliser un test non-paramétrique afin de comparer la moyenne de plus de deux groupes à la fois. La particularité de l'ANOVA est sa **robustesse** vis-à-vis d'un viol modéré de ses coditions d'application. La robustesse est la capacité d'un test à fournir des résultats qui restent valides même si toutes ses conditions d'application ne sont pas remplies. L'ANOVA étant particulièrement robuste, ses résultats resteront valides dans les situations suivantes :

- Non Normalité modérée des résidus. Si les résidus ne suivent pas parfaitement une loi Normale mais qu'ils sont néanmoins grossièrement distribués selon une courbe en cloche, les résultats de l'ANOVA resteront vrais, surtout si les effectifs sont importants.
- Non homogénéité des résidus. Si les résidus ne sont pas homogènes dans tous les groupes, les résultats de l'ANOVA resteront vrais tant que les échantillons seront grands, approximativement de la même taille dans tous les groupes, et à condition que les écarts de variances entre les groupes ne dépassent pas un facteur 10.

Dans tous les autres cas de non respect des conditions de l'ANOVA, par exemple, si la variance des résidus n'est pas homogène et que les groupes sont de petite taille ou de taille différente, ou si les

variances diffèrent de plus d'un facteur 10, ou si les résidus s'écartent fortement de la Normalité, il faudra alors faire un test non paramétrique.

L'alternative non paramétrique à l'ANOVA à un facteur est le test de la somme des rangs de **Kruskal-Wallis** dont la syntaxe dans R est similaire à celle de l'ANOVA. Comme d'habitude, l'hypothèse nulle concerne l'absence d'effet du facteur étudié :

- H<sub>0</sub>: le type de traitement appliqué n'a pas d'effet sur le décalage de phase. Les médianes sont égales dans tous les groupes (med\$\_control = med\_knee =\$ med<sub>eves</sub>).
- H<sub>1</sub>: le type de traitement appliqué a un d'effet sur le décalage de phase. Les médianes ne sont pas toutes égales, au moins l'une d'entre elles diffère des autres.

```
kruskal.test(shift ~ treatment, data = Light)
```

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: shift by treatment
Kruskal-Wallis chi-squared = 9.4231, df = 2, p-value =
0.008991
```

lci, la p-value est inférieure à  $\alpha$ , on rejette donc  $H_0$ : toutes les meedianes ne sont pas égales. Comme avec l'ANOVA, il nous faut maintenant déterminer quelles médianes sont différentes et quelle est la magnitude de cette (ou de ces) différence(s). Pour cela, nous devons réaliser un test de comparaisons multiples.

## 4.2.3.2 Tests Post-Hoc

Comme pour les tests post-hoc de l'ANOVA, nous allons voir ici 2 tests de comparaisons multiples non paramétriques. Le premier est l'équivalent du test de comparaisons multiples de Student : le test de cd comparaisons multiples de la somme des rangs de Wilcoxon. Le principe est absolument le même que pour le test de comparaisons multiples de Student : toutes les comparaisons 2 à 2 sont effectuées au moyen d'un test de la somme des rangs de Wilcoxon. Les p-values de ces tests sont corrigées afin de garantir que le risque d'erreur  $\alpha$  global soit maintenu constant en dépit de l'augmentation du nombre de tests réalisé. Pour chaque test réalisé, les hypothèses sont les suivantes :

- H<sub>0</sub>: la médiane des deux populations est égale.
- H<sub>1</sub>: la médiane des deux populations est différente.

```
# Réalisation du test
post_hoc3 <- pairwise.wilcox.test(Light$shift, Light$treatment)
# Affichage des résultats
post_hoc3</pre>
```

Pairwise comparisons using Wilcoxon rank sum test

```
data: Light$shift and Light$treatment
```

```
control knee
knee 0.9551 -
eyes 0.0037 0.0524
```

## P value adjustment method: holm

# Utilisation de la fonction `tidy` pour afficher les résultats dans un tibble
tidy(post\_hoc3)

lci, la p-value du premier test est supérieure à  $\alpha=0.05$ . Il n'y a dons pas de différence entre les médianes du groupe control et du groupe knee. Le traitement lumineux appliqué dans le creux poplité n'a donc aucun effet sur le décalage de phase.

La p-value du second test est en revanche inférieure à  $\alpha$ . On rejette l'hypothèse nulle pour ce test ce qui confirme que le traitement lumineux appliqué au niveau des yeux a un effet sur le décalage de phase. Reste toutefois à quantifier l'importance de ce décalage de phase par rapport au groupe control.

Enfin, la p-value du troisième test est supérieure (tout juste!) à  $\alpha$ . La conclusion logique est donc qu'il n'y a pas de différence significative entre les médianes des groupes knee et control. On sait que ce n'est pas le cas puisque nous avons montré plus haut (avec les tests paramétriques), que la différence de moyenne entre ces deux populations était significative. Nous avons ici l'illustration parfaite de la faible puissance des tests non paramétriques : leur capacité à détecter un effet lorsqu'il y en a réellement un est plus faible que celle des tests paramétriques. En outre, les procédures de comparaisons multiples sont très conservatives, et font mécaniquement baisser la puissance des tests pour maintenir constante l'erreur  $\alpha$ . Je ne peux donc que vous inciter à la prudence lorsque vous interprétez les résultats d'un test de comparaions multiples (a fortiori un test non paramétrique) pour lequel la p-value obtenue est très proche du seuil  $\alpha$ .

Comme pour son homologue paramétrique, le test de comparaisons multiples de Wilcoxon nous permet de prendre une décision par rapport à H<sub>0</sub>, mais il ne nous dit rien de la magnitude des effets mesurés. Pour les connaître, il nous faut réaliser le test de Dunn :

```
# Réalisation du test
post_hoc4 <- DunnTest(shift ~ treatment, data = Light)
# Affichage des résultats
post_hoc4</pre>
```

Dunn's test of multiple comparisons using rank sums : holm

```
mean.rank.diff pval
knee-control -0.4821429 0.8859
eyes-control -9.3392857 0.0164 *
eyes-knee -8.8571429 0.0214 *
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Avec ces résultats, on progresse un peu car outre les p-values pour chaque ocmpariaons, le test nous fournit une estimation de la différence des rangs moyens. Malheureusement, ces estimations sont souvent difficiles à interpréter (par exemple, quelle est l'unité utilisée?) et aucun intervalle de confiance n'est fourni. On constate néanmoins que le test de Dunn donne ici des résultats comparables à ceux fournis par les tests paramétriques : le groupe eyes est significativement différent des deux autres. Pour obtenir les intevalles de confiance dont nous avons besoin, nous n'avons pas d'autre choix que des les calculer à l'aide du test de Wilcoxon classique, en réalisant manuellement les tests dont nous avons besoin. Ici, le test à proprement parler ne nous intéresse pas. La seule chose pertinente est la différence de (pseudo-) médiane estimée et son intervalle de confiance :

```
# Comparaisons entre les groupes `knee` et `eyes` (dans cet ordre)
Light %>%
  filter(treatment %in% c("knee", "eyes")) %>%
  wilcox.test(shift ~ treatment, data = ., conf.int = TRUE) %>%
  tidy()
```

Pour le décalage de phase de ces 2 groupes, la différence de médiane estimée vaut donc de 1.19, avec un intervalle de confiance à 95% de [0.3; 2.21]. Toutes les valeurs comprises dans cet intervalle de confiance sont strictement positives. Il y a donc très peu de chances pour que la différence de médiane entre ces deux groupes soit nulle. Le test de Dunn ci-dessus, montrant une différence significative entre ces groupes, est donc confirmé.

## 4.2.4 Exercices d'application

#### 4.2.4.1 Cardamine pensylvanica

En biologie de la conservation, l'existance d'un lien entre la capacité de dispersion des organismes et le maintien durable des populations dans le temps est étudié de près, notamment dans le contexte de fragmentation des habitats que nous connaissons en raison de l'anthropisation des milieux. Cette question a été étudiée par 2 chercheurs (Molofsky and Ferdy, 2005) chez Cardamine pensylvanica, une plante annuelle d'Amérique du Nord qui produit des graines qui sont dispersées de façon explosive. Quatre traitements ont été utilisés pour modifier expérimentalement la dispersion des graines. La distance entre populations contigües a été définie comme suit :

- Traitement 1 : continu. Les plants sont conservés au contact les uns des autres.
- Traitement 2 : medium. Les plants sont séparés de 23.2 centimètres.
- Tratiement 3 : long. Les plants sont séparés de 49.5 centimètres.
- Traitement 4 : isole. Les plants sont séparés par des panneaux de bois empêchant la dispersion des graines.

Ces traitements ont été assignés au hasard à des populations de plantes, et 4 réplicats ont été faits pour chacun d'entre eux. Les résultats de l'expérience de présentés ci-dessous. Il s'agit du nombre de générations durant lesquelles les plantes ont persisté :

- continu: 9, 13, 13, 16
- medium: 14, 12, 16, 16
- long: 13, 9, 10, 11
- isole: 13, 8, 8, 8

Saisissez ces données dans R et faites-en l'analyse. Vous tenterez de déterminer si l'éloignement entre les populations de plantes a un impact sur leur capacité de survie. COmme tojours, avant de vos lancer dans les tests, vous prendrez le temps de décrire les données avec des statistiques descriptives et des représentations graphiques.

#### 4.2.4.2 Insecticides

L'efficacité de 6 insecticides nommés A, B, C, D, E et F a été testée sur 6 parcelles agricoles. Dans chaque parcelle, un insecticide choisi aléatoirement dans la liste a été appliqué. Deux semaine plus tard, 12 plants ont été collectés dans chaque parcelle agricole et le nombre d'insectes toujours vivants sur chacun d'entre eux a été compté. Les résultats sont présentés dans le fichier Insectes.csv. Importez ces données dans R et faites-en l'analyse. Tous les insecticides ont-ils la même efficacité? Si la réponse est non, quels sont les insecticides les plus (ou les moins) efficaces.

# 5 Séance 3 : corrélations et régressions

# 6 Séance 4 : applications et corrections

# Références

- Campbell, S. S. and Murphy, P. J. (1998). Extraocular circadian phototransduction in humans. *Science*, 279(5349):396–399.
- Fox, J., Weisberg, S., and Price, B. (2018). car: Companion to Applied Regression. R package version 3.0-2.
- Fuller, A., Kamerman, P. R., Maloney, S. K., Mitchell, G., and Mitchell, D. (2003). Variability in brain and arterial blood temperatures in free-ranging ostriches in their natural habitat. *Journal of Experimental Biology*, 206(7):1171–1181.
- Hasselquist, D., Marsh, J. A., Sherman, P. W., and Wingfield, J. C. (1999). Is avian humoral immuno-competence suppressed by testosterone? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 45(3):167–175.
- McNamara, A., Arino de la Rubia, E., Zhu, H., Ellis, S., and Quinn, M. (2019). *skimr: Compact and Flexible Summaries of Data*. R package version 1.0.4.
- Molofsky, J. and Ferdy, J.-B. (2005). Extinction dynamics in experimental metapopulations. *Proceedings* of the National Academy of Sciences, 102(10):3726–3731.
- Robinson, D. and Hayes, A. (2018). broom: Convert Statistical Analysis Objects into Tidy Tibbles. R package version 0.5.1.
- source code and/or documentation previously published by : Ken Aho, A. S. I. R., Alfons, A., Anderegg, N., Aragon, T., Arppe, A., Baddeley, A., Barton, K., Bolker, B., Borchers, H. W., Caeiro, F., Champely, S., Chessel, D., Chhay, L., Cummins, C., Dewey, M., Doran, H. C., Dray, S., Dupont, C., Eddelbuettel, D., Enos, J., Ekstrom, C., Elff, M., Erguler, K., Farebrother, R. W., Fox, J., Francois, R., Friendly, M., Galili, T., Gamer, M., Gastwirth, J. L., Gel, Y. R., Gross, J., Grothendieck, G., Harrell Jr, F. E., Heiberger, R., Hoehle, M., Hoffmann, C. W., Hojsgaard, S., Hothorn, T., Huerzeler, M., Hui, W. W., Hurd, P., Hyndman, R. J., Iglesias, P. J. V., Jackson, C., Kohl, M., Korpela, M., Kuhn, M., Labes, D., Temple Lang, D., Leisch, F., Lemon, J., Li, D., Maechler, M., Magnusson, A., Malter, D., Marsaglia, G., Marsaglia, J., Matei, A., Meyer, D., Miao, W., Millo, G., Min, Y., Mitchell, D., Naepflin, M., Navarro, D., Nilsson, H., Nordhausen, K., Ogle, D., Ooi, H., Parsons, N., Pavoine, S., Plate, T., Rapold, R., Revelle, W., Rinker, T., Ripley, B. D., Rodriguez, C., Russell, N., Sabbe, N., Seshan, V. E., Snow, G., Smithson, M., Soetaert, K., Stahel, W. A., Stephenson, A., Stevenson, M., Templ, M., Therneau, T., Tille, Y., Trapletti, A., Ulrich, J., Ushey, K., VanDerWal, J., Venables, B., Verzani, J., Warnes, G. R., Wellek, S., Wickham, H., Wilcox, R. R., Wolf, P., Wollschlaeger, D., Yee, T., and Zeileis, A. (2019). DescTools: Tools for Descriptive Statistics. R package version 0.99.27.

- Wickham, H. (2017). tidyverse: Easily Install and Load the 'Tidyverse'. R package version 1.2.1.
- Wickham, H. and Bryan, J. (2018). readxl: Read Excel Files. R package version 1.2.0.
- Wickham, H., Chang, W., Henry, L., Pedersen, T. L., Takahashi, K., Wilke, C., and Woo, K. (2018a). ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics. R package version 3.1.0.
- Wickham, H., François, R., Henry, L., and Müller, K. (2018b). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. R package version 0.7.8.
- Wickham, H. and Henry, L. (2018). tidyr: Easily Tidy Data with 'spread()' and 'gather()' Functions. R package version 0.8.2.
- Wickham, H., Hester, J., and Francois, R. (2018c). readr: Read Rectangular Text Data. R package version 1.3.1.
- Wright, K. P. and Czeisler, C. A. (2002). Absence of circadian phase resetting in response to bright light behind the knees. *Science*, 297(5581):571–571.
- Young, K. V., Brodie, E. D., and Brodie, E. D. (2004). How the horned lizard got its horns. *Science*, 304(5667):65–65.