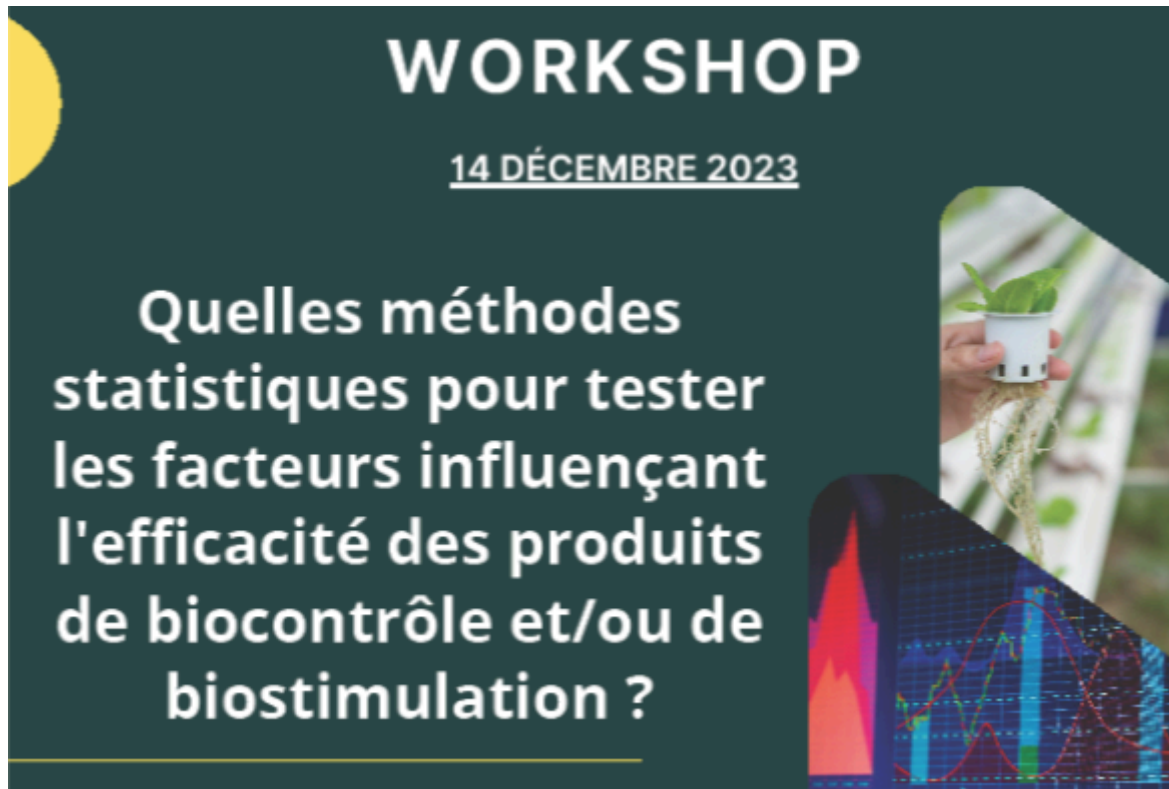


Workshop : quelles méthodes statistiques pour tester les facteurs influençant l'efficacité des produits de biocontrôle et/ou de biostimulation ?

14 décembre 2023



L'objectif de cet atelier était d'identifier les méthodes permettant de trouver les variables les plus influentes sur l'efficacité du biocontrôle ou des biostimulants. Quels sont les leviers qui impactent l'immunité/la résistance, comment sont-ils hiérarchisés, quels plans d'expériences permettent au mieux de mettre en évidence et quantifier les variables les plus influentes ? Cet atelier a été l'occasion d'un partage d'expérience afin que les participants puissent prendre connaissance des possibilités d'analyse de ce type de données.

Les organisateurs :

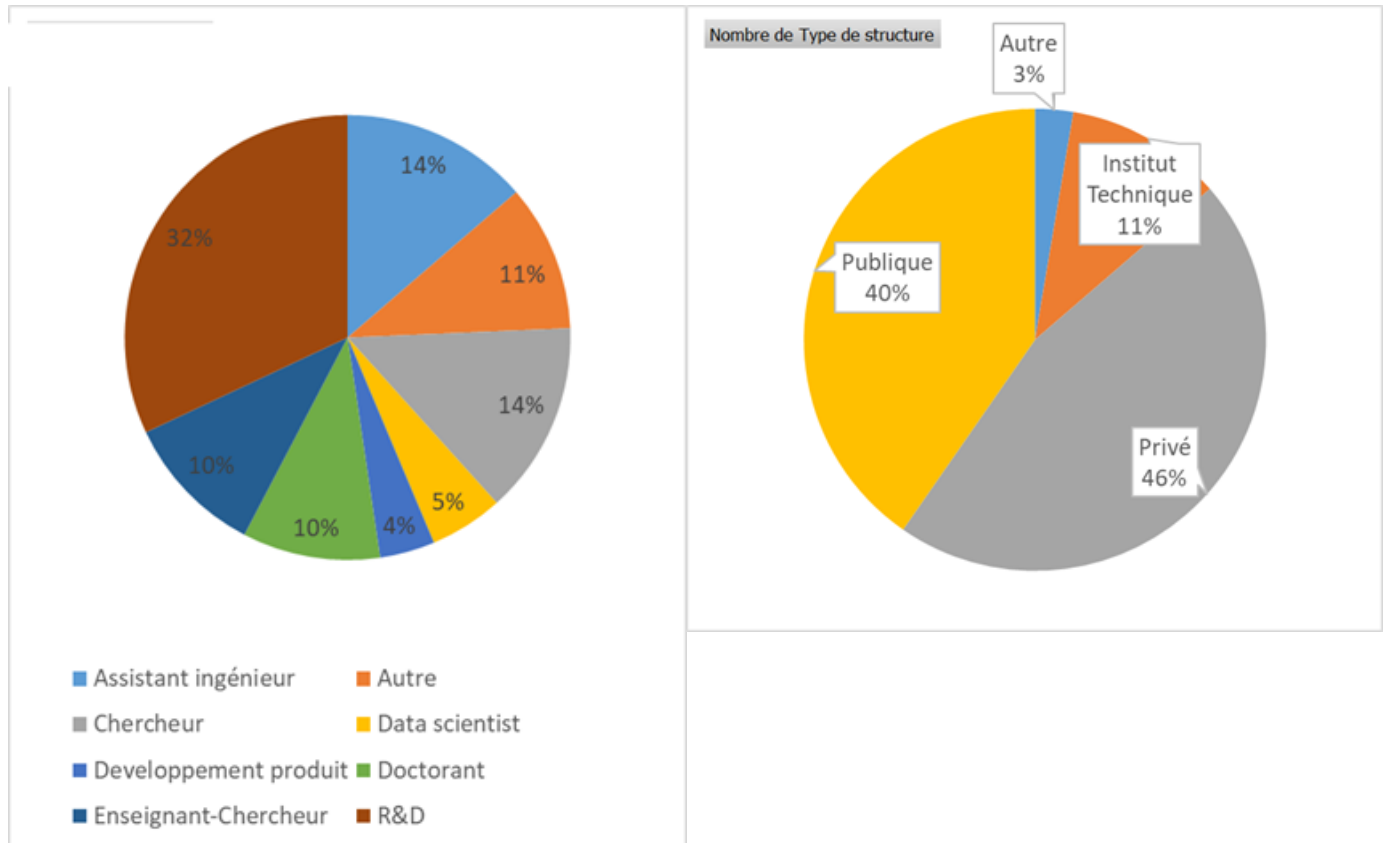
Le consortium Biocontrôle : <https://www6.inrae.fr/consortium-biocontrôle/>

Le RMT Bestim : <https://rmt-bestim.org/>

Le RMT Modelia : <http://www.modelia.org/moodle/>

Les vidéos seront partagées sur la chaîne Youtube du RMT Bestim: <https://www.youtube.com/@rmtbestim3363/featured>

332 personnes se sont inscrites à cet atelier et 235 y ont participé. Il s'agissait essentiellement de personnels travaillant dans la R&D ou la recherche publique ce qui représente 123 structures ou tutelles différentes.



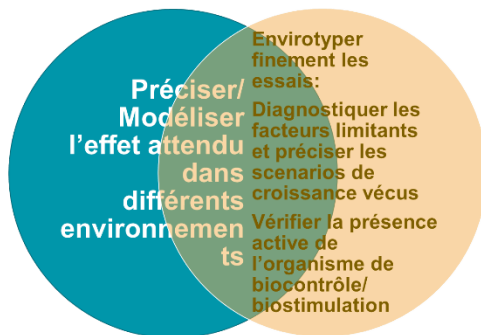
Première partie : quels sont les enjeux pour l'expérimentation des produits de biocontrôle et les biostimulants ?

- Pourquoi est-ce que le biocontrôle ou les biostimulants posent des questions d'expérimentation ou d'analyse qui sont différentes ? **Stéphane Jezequel (Arvalis)**

S. Jezequel est revenu sur les difficultés du transfert entre le laboratoire et le terrain car on perd la maîtrise des conditions expérimentales/environnementales. Il y aura de plus en plus une non maîtrise des conditions environnementales aux champs du fait des modifications climatiques et de la réduction des intrants.

Il est nécessaire de mettre en oeuvre un plan d'expérience permettant une puissance statistique suffisante. On peut concevoir un plan d'expérience en grandes parcelles (voir présentation de F. Piraux), mais il s'agit ensuite de pouvoir proposer une évaluation globale de l'environnement et du couvert. L'objectif est de proposer une approche diagnostique et identifiant si possible des facteurs limitants. Il est possible d'utiliser le dispositif DiagChamp : <https://zenodo.org/record/6044262#.Yhew6YqZM2x>

L'approche Systeme quant à elle est une approche multicritère permettant une évaluation des effets sur tout le système (la plante en entier avec stress, biocontrôle, financier etc.)



Proposition à discuter pour le passage labo/terrain: rapprocher la chaîne d'information. Au labo on peut modéliser l'effet attendu du produit dans différents environnements et au champ envirotypier très précisément ce qu'il s'est passé (facteurs limitants et vérifier la présence active des produits biocontrôle-biostimulation).

Conseillez-vous des mesures spécifiques par exemple sur blé au champ, afin de mettre en évidence l'effet des facteurs limitants ? Par exemple sur l'abiotique ?

bilan hydrique et INN floraison sont la base. L'idéal est de pouvoir se raccrocher à un modèle de culture (CHN pour DiagChamp).

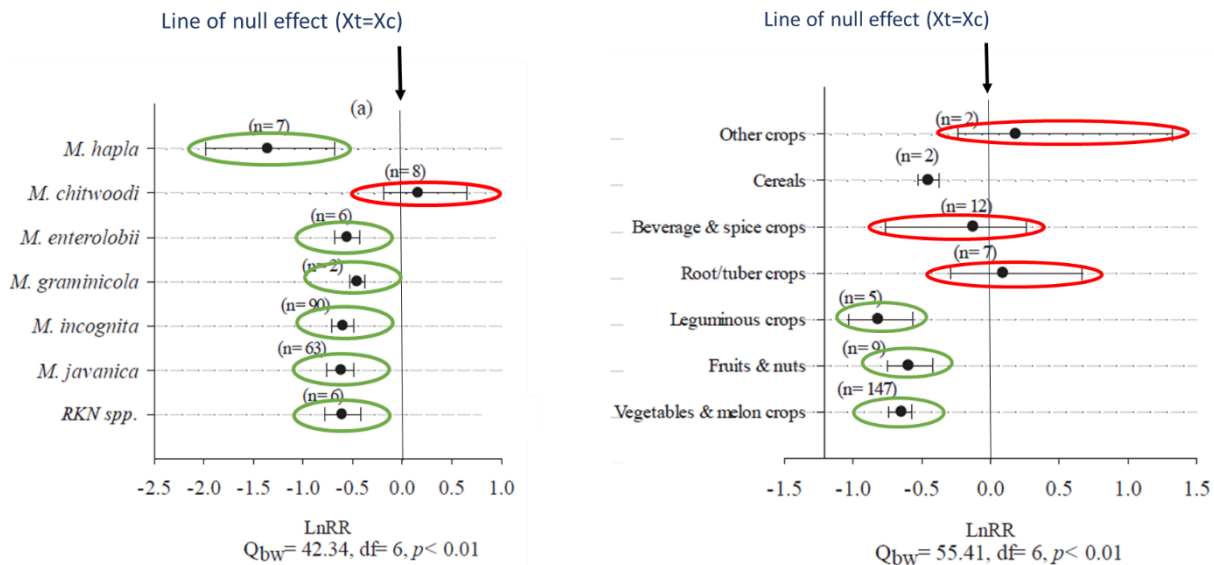
Et quelles mesures mettre en commun au champs et au laboratoire pour harmoniser les effets attendus ?

Concrètement, peut on avoir un exemple de mesure ? Comment faire les mesures depuis DiagChamp à Systeme?

DiagChamp permet de recueillir l'itinéraire technique complet de l'agriculteur, + le rendement; qui sont les variables d'entrée principales de Systeme, donc le lien est facile.

- La méta-analyse comme outils pour identifier les facteurs d'efficacité du biocontrôle. **Davide Bellone (INRAE)**

D. Bellone a proposé une méta-analyse de la littérature pour estimer l'effet de taille d'un produit de biocontrôle. Les résultats sont présentés sous forme de forest plot pour un ratio, qui va de 0 à 2. Il est possible alors de faire un calcul d'un effet global. Il faut tenir compte de l'hétérogénéité des conditions expérimentales et refaire des forest plots en fonction modalité ou d'interactions de modalité. En rouge les facteurs non significatifs et en vert les facteurs significatifs.



Quelques références :

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352340919302495>

<https://www.metafor-project.org/doku.php/metafor>

<https://press.princeton.edu/books/hardcover/9780691137285/handbook-of-meta-analysis-in-ecology-and-evolution>

https://www.researchgate.net/publication/285576981_Introduction_to_Meta-Analysis

- Quels sont les facteurs influençant la stimulation des défenses du Pommier? **Alexandre Degrave (Institut Agro Angers)**

Ils ont identifié différents facteurs pour une approche expé. Effet de la température, de la sécheresse (voir cette revue : <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.16965>)

La température inhibe le sdp sans modifier l'expression des gènes de défense. Ce résultat a été observé en armoire climatique mais pas en serre, pourquoi ? Une hypothèse : les différences de luminosité (led versus soleil + lampe à sodium) avec interaction avec le spectre lumineux. Impact de la nutrition (la limitation serait plus favorable) augmente SDP sans modifier l'expression des défenses. Piste : Les variables explicatives pourraient être à chercher plutôt du côté métabolites primaires et non des défenses).

Plus d'info au travers du PPR Cap zero Phyto : <https://cultiver-protéger-autrement.hub.inrae.fr/les-projets/cap-zero-phyto>

Questions sur le positionnement du stress par rapport au traitement de biocontrôle ? Les résultats seraient-ils les mêmes si les SDP étaient appliqués avant ou après le stress ? Quel protocole ? Pour rappel ces questions sont abordées dans le RMT Bestim et le réseau ENVIE pour ceux qui souhaitent les rejoindre.

Concernant le coup de chaud, cet effet inhibiteur en armoire climatique a toujours été observé quand le SDP était appliqué le jour d'un stress thermique. Pour la limitation azoté, le SDP a été appliqué 1 jour avant le remise ou confort, ou 1 jour après la remise en confort ; dans les 2 cas nous observons cette augmentation d'efficacité de protection. Comme précisé, pour la haute température

l'inoculation se fait après retour à des températures normales. Erwinia amylovora ne se porte pas bien du tout à 35°C.

Quels types de SDP ont été considérés ? Celui sur lequel nous avons le plus de données est le Bion, un produit pas du tout Biocontrôle. Mais nous commençons à avoir des données sur des Biocontrôle de la catégorie Substances Naturelles.

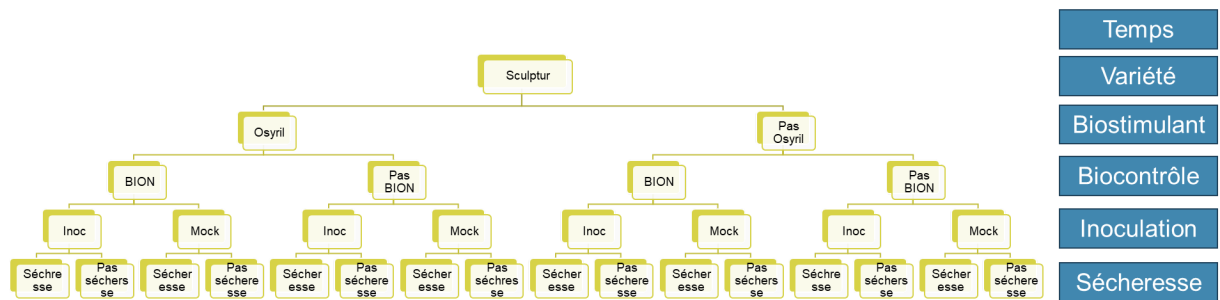
Est ce que vous avez regardé l'effet des T° et de la ferti sur le pathogène?

Il y a un temps de mise en œuvre dans la culture de la biostimulation, travaillez-vous en préventif?

Parmi les solutions testées, avez-vous identifié des candidats applicables/transférable en verger ?

- Exploitation de données multivariées sur la septoriose du blé: exemple du projet Biomodel (**Elsa Ballini, Bénédicte Fontez**, (Institut Agro Montpellier)

Un dispositif complet multifactoriel pour identifier et classer les facteurs entre eux



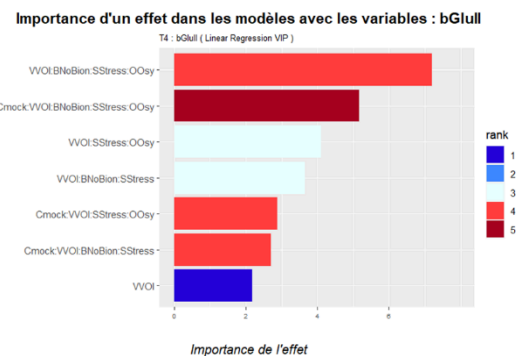
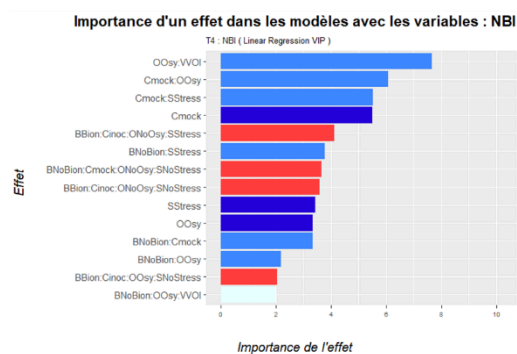
Une sélection des effets significatifs basée sur les tests (test F, anova) suppose une bonne puissance. Mais utiliser le modèle complet pour l'analyse est il le plus adapté? Les facteurs et interactions significatives identifiées auront-elles une importance biologique? On aurait pu garder ce modèle complet puis faire une analyse de type forêt aléatoire pour hiérarchiser les facteurs mais c'est plus adapté à des facteurs variables quantitatives.

Stratégie choisie : Une sélection basée sur le BIC (Bayesian Information Criterion). En théorie la règle aurait été de sélectionner le modèle avec le plus petit BIC. Mais était-ce le meilleur choix ? Pour étudier la pertinence du modèle:

Choisir tous les modèles concurrents (10% des meilleurs BIC)

Sélectionner les facteurs présents à 75%, dans ces meilleurs modèles

Ensuite on estime l'effet de taille ou le VIP (Variable Importance Plot) sur ce modèle



Au vu de la multitude d'origines, de natures, de modes d'action des produits SDP, biocontrôles et biostimulants, avez-vous multiplié les produits étudiés et est-ce que, selon vous, on peut tirer des conclusions vraies pour tous types de produits ? Ou doit-on la réadapter à chaque type de produit ?

Il est envisagé une thèse pour valider un premier modèle sur un plus grand nombre de produit et de pathosystèmes blé.

Quelle sont les variétés de blé utilisées et la raison de ce choix (sensible, résistante)?

Deux variétés ont été testées Voilur et Sculptur car elles n'ont pas la même capacité à gérer le compromis entre mise en place des défenses et la croissance

- Faut-il adapter le Plan d'expérience aux questions du biocontrôle? **François Piraux (Arvalis)**.

Les difficultés liées à ces produits de biocontrôle :

- la taille des effets faible : Comment réaliser une expérience puissante ?
- Interactions avec de nombreux autres facteurs (pratiques, environnement) : Comment étudier les interactions entre (un grand nombre de) facteurs
- Produits vivants : Comment gérer les effets de voisinage entre unités expérimentales ?

Il est possible de proposer des alternatives aux dispositifs en blocs aléatoires complets : blocs incomplet, blocs dans 2 directions. Le choix d'un dispositif nécessite une bonne connaissance du phénomène étudié.

Quelques exemples pour étudier les interactions : Expérimentation factorielle, Expérimentation factorielle fractionnaire, Regroupements d'essais

Vous parlez d'expé en micro parcelle mais dans le cas de plein champs avec une moitié de champ traitée et une moitié en témoin quel est selon vous le nombre de blocs et la taille des blocs à mettre en place ?

la norme EPPO PP 1/319 : General principles for efficacy evaluation of plant protection products with a mode of action as plant defence inducers – <https://pp1.eppo.int/standards/PP1-319-1>

<https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/xp-cen-ts-177001/biostimulants-des-vegetaux-allegations-partie-1-principes-generaux/fa203431/322902>

Pour les biostimulants une erreur alpha de 15% est considéré comme acceptable. 15 % est environ égal à 1/6 et donc 1 chance sur 6 de rejeter une hypothèse vraie. En d'autres termes, fixer un risque de première espèce à 15 % revient à jouer à la roulette russe.

Avez-vous un référentiel pour la méthodologie d'un échantillonnage séquençage svp ?

si l'on souhaite en savoir plus sur les méthodologies d'analyses de regroupement d'essais, que peut-on consulter?

Deuxième partie : témoignages et exemple de démarches

- Analyse issue de réseaux de parcelles en utilisant le GxE **François Piraux, (Arvalis)**

Chaque année, une 30 de variétés de BTH sont inscrites en France. Arvalis évalue la valeur agronomique et technologique de ces variétés dans des essais au champ, dans un but de préconisation. L'importance des IGE justifie qu'on s'y intéresse afin de pouvoir préconiser la variété adaptée à un environnement donné.

Objectif : Construire un modèle prédictif des IGE à partir de covariables génotypiques et environnementales.

Covariables calculées lors des différentes phases de la culture. Attention, souvent la pression de maladie n'est pas répertoriée dans les essais (car normalement pas de maladie). Les réseaux à l'échelle européenne sont ceux qui marchent bien pour couvrir toute la gamme des variabilités environnementales.

Plusieurs modèles sont utilisés : Régression factorielle, Régression pénalisée lasso, Régression PLS, Random Forests

Hypothèses expliquant la faible qualité prédictive des modèles : pas les bons modèles, absences de certaines covariables, Plage de variabilité environnementales trop faible, Incertitude élevée associée aux covariables environnementales, exemple du sol (Réserve utile est très variable car sur 30 mètres on passe de 1 à 3 mètres de profondeur de sol) :



Est-ce réaliste de construire des agrégations (résumé stat) du climat. N'y aurait-il pas intérêt à garder la courbe entière du climat (température, pluie etc.) Réponse : construction de variables climats par expertise.

Concernant le travail du sol, quels actions ont été réalisées selon les différents modèles ?

Considérez vous la diversité génétique de l'agent pathogène dans l'interprétation des résultats, ou les parcelle sont-elles trop proches géographiquement pour que ce soit pertinent ?

- Analyse d'un essai système, bilan de l'essai de la Caje. **Davide Bellone (INRAE)**

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219423000893>

- IA et Jumeaux numériques, quelle méthode pour comprendre et prédire les facteurs influençant l'efficacité du biocontrôle et des biostimulants ? **Rémi Peyraud (imean)**

<https://imean-biotech.com/>

Vous vous basez sur quoi pour déterminer la dynamique des populations au sol et leur interactions avec des bioagresseurs du sol ?

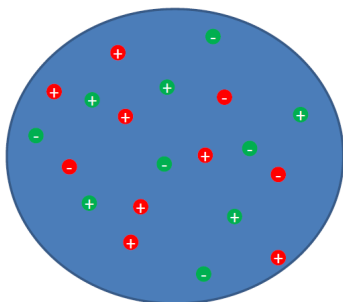
Avez-vous étudié l'effet de l'inoculum (consortium microbien) sur la nature des exsudats racinaires ?

- Comment exploiter les données issues de réseaux d'observation en prenant en compte les confusions d'effet ? **François Brun (ACTA)**

En agriculture nous sommes intéressés pour avoir une estimation d'un effet d'un traitement sur une variable d'intérêt. Nous souhaitons estimer un effet causal. Mais en générale il est impossible d'appliquer un même traitement à un même individu. On cherche l'effet causal moyen sur une population donnée.

Comme il est impossible d'avoir strictement un même individu qui reçoit le le traitement (A=1) et le non 0), on a un risque de biais. Le risque de biais est le fait que l'effet mesuré, la différence entre les deux modalités, soit plus ou moins causé par un autre facteur que celui mesuré (confusion). soit plus ou moins causé par un autre facteur que celui mesuré (confusion).

Réseau d'observation : illustration du risque de biais



- Traitement
 - A=0 : 10 individus
 - 5 en sol profond (+)
 - 5 en sol superficiel (-)
 - A=1 : 10 individus
 - 7 en sol profond (+)
 - 3 en sol superficiel (-)
 - Si le traitement a un effet positif sur le rendement, on a va avoir
 - $Y(A=1) - Y(A=0) = \text{effet} > 0$
 - Avec cet effet, pour partie lié à l'effet positif du traitement (1 ou 0), mais aussi lié à l'effet positif du sol (+/-)

Des solutions sont possible comme l'appariement et la pondération inverse en utilisant le score de propension ou encore la standardisation. Ces méthodes sont bien documentées et très utilisées dans d'autres domaines (médicale, science sociale,...). Mais a priori, elles sont pas ou peu utilisées en agriculture. Pourtant, les dispositifs de type réseaux d'observation, enquêtes ou « on farm experiment » sont nombreux et les méthodes classiques d'analyse d'essais factoriel randomisés ne sont pas adaptées. Ainsi, il y a de fort risque de confusion d'effet, de biais... et donc d'une communication faussée.

Question. Est-ce que la difficulté en agricole pourrait être l'effort de caractérisation des covariables nécessaires pour les apparier ? Oui, il peut y avoir un problème à ce niveau, s'il y a un risque de

confusion, il faut avoir des informations quantifiées sur ces risques de confusion pour pouvoir démêler le problème, quelque soit la méthode. Pour autant, dans de nombreux réseaux d'observation des covariables sont dès à présent caractérisées plus ou moins finement et donc on peut voir si ces méthodes peuvent apporter quelque chose pour limiter les risques de biais.

Question. Faut-il utiliser le même paradigme d'évaluation de l'efficacité des biosolutions que pour les produits conventionnels ? Est-ce que chercher un mécanisme causal direct entre produit et maladie ou rendement est la bonne stratégie ? Réponse : ces approches ne cherchent pas vraiment à identifier un mécanisme causal, mais on veut s'assurer qu'il n'y a pas de confusion avec d'autres effets. Sinon, c'est trop facile, "on s'arrange pour mettre tous mes traitements dans des bonnes conditions et les autres dans les moins bonnes" (pour caricaturer).

- Un exemple d'approche « On farm » sur la vigne. **Nicolas Aveline** (IFV)

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33719291/>

Débat sur l'adaptabilité de certaines de ces méthodes ou non à nos questions

1. Il faut mieux former les ingénieurs/chercheurs à des analyses de données de plus en plus complexes et proposer des plans d'expérience plus adaptés. Il ne s'agissait pas de former les participants à ces analyses, mais des liens vers des formations existantes sont disponibles. Il faut aller voir du côté du RMT Modelia et contacter des prestataires de service.
 - Formation « Estimer l'effet d'une pratique agricole à partir d'un réseau d'observation: intérêt des scores de propension » à Paris, 27 mars 2024.
<https://www.acta.asso.fr/formations/estimer-leffet-dune-pratique-agricole-a-partir-dun-reseau-observation-interet-des-scores-de-propension-2024>
 - 7ème session de la formation « Data Science pour l'agriculture » à distance, en 6 demi-journée, du 18/03/2024 au 22/03/2024
<https://www.acta.asso.fr/formations/data-science-pour-lagriculture-2024>
 - Ouvrage Data Science pour l'agriculture et l'environnement (utilisé pour la formation)
<https://www.editions-ellipses.fr/accueil/13446-data-science-pour-lagriculture-et-lenvironnement-methodes-et-applications-avec-r-et-python-9782340045774.html>
2. Il y a un enjeu à mutualiser des données même hétérogène et plusieurs projets ont été proposés pour trouver un moyen de rassembler les données. On peut consulter l'ISDM à Montpellier qui a tenté des démarches pour d'autres disciplines :
<https://isd.montpellier.fr/>
3. Il faut repenser les méthodes d'évaluation des biostimulants et du biocontrôle pour prendre en compte et déclarer les facteurs d'efficacité. Mais ce serait trop lourd à mettre en œuvre dans un dossier d'AMM. Sur quel dispositif s'appuyer ? Les CEPP ?