

Bivalves des étangs des Espaces naturels sensibles du Maine-et-Loire : diversité et étude pilote sur la détection par analyse de l'ADNe

Jérôme TOURNEUR, Vincent PRIÉ & Gilles MOURGAUD

DIRECTEUR DE LA PUBLICATION / *PUBLICATION DIRECTOR*: Gilles Bloch,
Président du Muséum national d'Histoire naturelle

RÉDACTEUR EN CHEF / *EDITOR-IN-CHIEF*: Jean-Philippe Siblet

ASSISTANTE DE RÉDACTION / *ASSISTANT EDITOR*: Sarah Figuet (naturae@mnhn.fr)

MISE EN PAGE / *PAGE LAYOUT*: Sarah Figuet

COMITÉ SCIENTIFIQUE / *SCIENTIFIC BOARD*:

Luc Abbadie (UPMC, Paris)
Luc Barbier (Parc naturel régional des caps et marais d'Opale, Colémbert)
Aurélien Besnard (CEFE, Montpellier)
Hervé Brustel (École d'ingénieurs de Purpan, Toulouse)
Patrick De Wever (MNHN, Paris)
Thierry Dutoit (UMR CNRS IMBE, Avignon)
Éric Feunteun (MNHN, Dinard)
Romain Garrouste (MNHN, Paris)
Grégoire Gautier (DRAAF Occitanie, Toulouse)
Olivier Gilg (Réserves naturelles de France, Dijon)
Frédéric Gosselin (Irstea, Nogent-sur-Vernisson)
Patrick Haffner (PatriNat, Paris)
Frédéric Hendoux (MNHN, Paris)
Xavier Houard (OPIE, Guyancourt)
Isabelle Le Viol (MNHN, Concarneau)
Francis Meunier (Conservatoire d'espaces naturels – Hauts-de-France, Amiens)
Serge Muller (MNHN, Paris)
Francis Olivereau (DREAL Centre, Orléans)
Laurent Poncet (PatriNat, Paris)
Nicolas Poulet (OFB, Vincennes)
Jean-Philippe Siblet (PatriNat, Paris)
Laurent Tillon (ONF, Paris)
Julien Touroult (PatriNat, Paris)

COUVERTURE / *COVER*:

Lac du Verdon. Crédit photo: CPIE Loire Anjou.

Naturae est une revue en flux continu publiée par les Publications scientifiques du Muséum, Paris
Naturae is a fast track journal published by the Museum Science Press, Paris

Les Publications scientifiques du Muséum publient aussi / *The Museum Science Press* also publishes:
Adansonia, *Zoosystema*, *Anthropozoologica*, *European Journal of Taxonomy*, *Geodiversitas*, *Cryptogamie* sous-sections *Algologie*, *Bryologie*, *Mycologie*,
Comptes Rendus Palevol.

Diffusion – Publications scientifiques Muséum national d'Histoire naturelle
CP 41 – 57 rue Cuvier F-75231 Paris cedex 05 (France)
Tél.: 33 (0)1 40 79 48 05 / Fax: 33 (0)1 40 79 38 40
diff.pub@mnhn.fr / <https://sciencepress.mnhn.fr>

© Cet article est sous licence Creative Commons Attribution 4.0 International License. (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)
ISSN (électronique / electronic): 2553-8756

Bivalves des étangs des Espaces naturels sensibles du Maine-et-Loire : diversité et étude pilote sur la détection par analyse de l'ADNe

Jérôme TOURNEUR

CPIE Loire Anjou
3 bis rue du chanoine Libault, Beaupréau, F-49600 Beaupréau-en-Mauges (France)
j-tourneur@cpieloireanjou.fr

Vincent PRIÉ

SPYGEN
17 rue du Lac Saint-André, F-73370 Le Bourget (France)
vincent.prie@spygen.com

Gilles MOURGAUD

1111 chemin des Ruettes, F-49125 Tiercé (France)
g.mourgaud@wanadoo.fr

Soumis le 24 août 2023 | Accepté le 7 février 2024 | Publié le 4 septembre 2024

Tourneur J., Prié V. & Mourgaud G. 2024. — Bivalves des étangs des Espaces naturels sensibles du Maine-et-Loire : diversité et étude pilote sur la détection par analyse de l'ADNe. *Naturae* 2024 (13): 261-271. <https://doi.org/10.5852/naturae2024a13>

RÉSUMÉ

Le CPIE Loire Anjou a conduit en 2020 et 2021 une étude visant à estimer la diversité des bivalves de 16 étangs du Maine-et-Loire classés pour la plupart en Espaces naturels sensibles et à estimer le degré de présence de l'Anodonte chinoise *Sinanodonta woodiana* (I. Lea, 1934), espèce envahissante récemment détectée dans le département. Les prospections ont été menées de manière traditionnelle (prospection pédestre, aquascope, tamisage de sédiment) et par analyse de l'ADN environnemental (ADNe) dans la matrice d'eau. Les prélèvements d'ADNe ont été réalisés pour la première fois en milieu stagnant de la même manière qu'en milieu courant, le long de transects réalisés à pied, en canoë et en prélevant au niveau des exutoires deux fois 30 litres d'eau. Un total de 16 espèces a été identifié. En excluant le cas particulier du lac de Maine à Angers, dont la richesse est liée à sa connexion temporaire avec la rivière de la Maine (13 espèces), le nombre moyen d'espèces recensées par plan d'eau est de 2,7. Les espèces exotiques envahissantes sont peu présentes dans les plans d'eau et l'Anodonte chinoise est totalement absente. Les prospections par ADNe se sont révélées très efficaces et ont permis la détection de nombreux Sphaeridae non observés lors des prospections pédestres. Dans certains étangs le taux de détection n'atteint cependant pas 100 %.

MOTS CLÉS
ADN environnemental,
inventaire.

ABSTRACT

Bivalves of ponds of Maine-et-Loire's Sensitive Natural Areas: diversity and pilot study on detection by eDNA analysis.

In 2020 and 2021, the CPIE Loire Anjou carried out a study to estimate the diversity of bivalves in 16 ponds in Maine-et-Loire, most of which are classified as Sensitive Natural Areas, and to estimate the degree of presence of the Chinese Pond Mussel *Sinanodonta woodiana*, (I. Lea, 1934), an invasive species recently detected in the department. Surveys were carried out using traditional methods (pedestrian prospections, viewing glass, sediment sieving) and environmental DNA (eDNA) analysis in the water matrix. eDNA, already used on rivers, was used here for the first time in a stagnant envi-

KEY WORDS
Environmental DNA,
Survey.

ronment, with transects carried out on foot, by canoe and by sampling at outlets. In total, 16 species were identified. Excluding the special case of Lac de Maine in Angers, whose richness is linked to its temporary connection with the river Maine (13 species), the average number of species identified per water body is 2.7. Invasive exotic species are rarely present in the water bodies, and the Chinese Pond Mussel is completely absent. The eDNA surveys proved to be very effective, allowing the detection of many Sphaeriidae that were not observed during the pedestrian surveys. However, in some ponds, the detection rate did not reach 100 %.

INTRODUCTION

Le Maine-et-Loire possède une tradition ancienne d'étude des mollusques aquatiques, en particulier des bivalves d'eau douce. Un premier travail d'inventaire important pour l'ensemble du département est mené dès 1854 par Millet de la Turtaudière, éminent naturaliste angevin (Millet de la Turtaudière 1854), travail complété par Millet lui-même quelques années plus tard (Millet de la Turtaudière 1870). Germain, qui sera à l'origine par la suite d'une Faune de France sur les mollusques terrestres et fluviatiles (Germain 1931), publiera en 1903 une étude sur les mollusques des environs d'Angers incluant les bivalves d'eau douce (Germain 1903). Bien que ces débuts aient été prometteurs, les bivalves d'eau douce angevins n'ont que peu été étudiés par la suite, et ce malgré un déclin important de certaines espèces, notamment en rivière (Prié 2017). Un état des lieux en 2012 faisait état de 21 espèces de bivalves en Maine-et-Loire (Gaborry & Mourgaud 2012), le chiffre actuel étant de 26 espèces détectées au moins une fois dans le département. Leur répartition ne nous est la plupart du temps connue que par des collectes de coquilles, celles-ci pouvant se conserver plusieurs dizaines d'années dans le sol ou le sédiment pour certaines espèces. La répartition actuelle des populations de bivalves en Maine-et-Loire est donc actuellement largement spéculative.

Dans le cadre d'un appel à projet du département de Maine-et-Loire, le CPIE Loire Anjou s'est proposé de prospecter plusieurs étangs angevins classés en Espaces naturels sensibles (ENS) afin d'actualiser nos connaissances sur ce groupe. Les 89 ENS du département abritent en effet plusieurs dizaines d'étangs aux origines diverses (pisciculture, extraction de matériaux, alimentation en eau, etc.) dont certains remontent à l'époque médiévale et sont reconnus pour leur fort intérêt biologique.

Les analyses de l'ADN environnemental ont fait leurs preuves pour l'inventaire des bivalves en rivière (Prié *et al.* 2021a). En revanche, nous n'avons aucun recul sur l'efficacité de la méthode en eaux stagnantes où l'ADNe est en théorie moins dilué puisque les eaux sont moins brassées. Les méthodes habituellement préconisées pour l'inventaire des eaux stagnantes par ADNe reposent sur la multiplication de petits prélèvements en berge, pour un total de deux litres d'eau filtrée. Ici, nous avons appliqué la méthode utilisée en rivière (soit deux fois 30 litres d'eau filtrés par site) à des milieux stagnants et comparé les résultats à ceux obtenus par des prospections visuelles traditionnelles.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

SITES ÉTUDIÉS

Les investigations ont porté sur un total de 16 étangs répartis sur l'ensemble du Maine-et-Loire (Fig. 1). À quelques exceptions près, ils sont tous en ENS et d'accès public. Plusieurs étangs, bien que situés en ENS, ont dû être écartés des prospections du fait de leur assèchement quasi total en été, condition défavorable à la bonne expression de la malacofaune, ou de leur interdiction d'accès.

Deux méthodes ont été employées pour réaliser les inventaires : l'analyse de l'ADN environnemental (ADNe) et la prospection pédestre. Treize étangs ont fait l'objet de prélèvement ADNe et 12 de prospections pédestres. Sept étangs ont été inventoriés par les deux méthodes, ceci afin de comparer les résultats et d'avoir un retour sur une méthode de prélèvement de l'ADNe éprouvée en eaux courantes, mais pas encore testée en milieu stagnant.

PRÉLÈVEMENTS ADNE

Les prélèvements ADNe ont été réalisés du 21 au 25 juillet 2019. La méthode appliquée ici est la méthode standard utilisée en milieu courant soit le prélèvement de deux fois 30 litres d'eau, prélevés en subsurface à moins d'un mètre de profondeur. Les prélèvements ont été réalisés par pompage direct dans le plan d'eau à l'aide d'une pompe péristaltique. En fonction des conditions et des possibilités d'accès, ils ont été conduits :

- en réalisant des transects à pied le long des berges ;
- en prélevant l'eau au niveau de l'exutoire (Fig. 2) ;
- en réalisant des transects d'une centaine de mètres en canoë (Fig. 3).

Dans tous les cas, il s'agissait d'un échantillonnage très partiel étant donné la surface de certains plans d'eau (ex. Lac de Maine). L'amplification de l'ADNe a été effectuée avec les couples d'amorces universelles proposées par Prié *et al.* (2021b) pour les Unionidés et pour les Vénéridés. La base de référence utilisée est publiée (Prié *et al.* 2021b), validée aujourd'hui par plus de 700 points d'inventaire bivalves en France métropolitaine, sans faux positif identifié jusqu'à maintenant. Nous avons réalisé 12 répliques PCR (non individualisés) par échantillon et par couple d'amorces et la profondeur de séquençage était de 300 000 séquences pour chaque couple d'amorces (Prié *et al.* 2021b pour le détail des méthodes). Une liste d'espèces a ensuite été établie pour chaque échantillon (Prié 2019). Une approche semi-quantitative a été utilisée pour comparer les différentes méthodes de prélèvement ADNe employées.

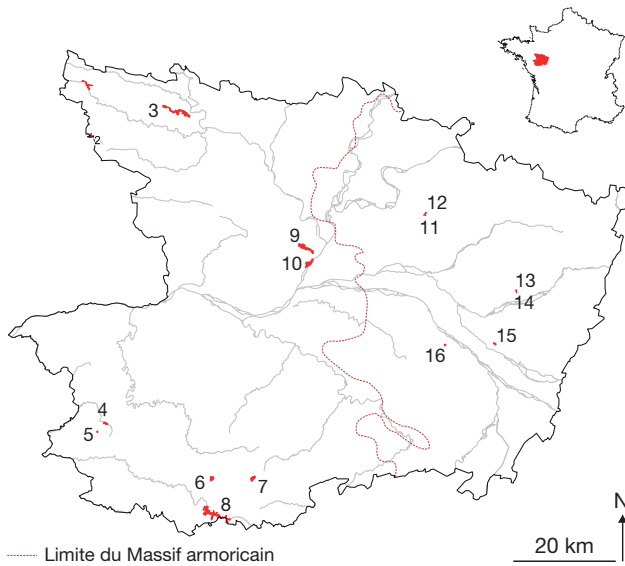


FIG. 1. — Localisation des étangs prospectés : 1, étang Saint-Aubin à Pouancé ; 2, étang de Maubusson ; 3, étang du vallon du Misengrain ; 4, étang de la Thévinère ; 5, argillière de la Roussière ; 6, étang des Noues ; 7, étang de Péronne ; 8, lac du Verdon ; 9, étang Saint-Nicolas ; 10, lac de Maine ; 11, étang de Malagué (base de loisir) ; 12, étang de l'égout ; 13, étang de la Croix-Fourreau nord ; 14, étang de la Croix-Fourreau sud ; 15, étang des Monteaux (base de loisir).

PROSPECTIONS PÉDESTRES

Les prospections pédestres se sont déroulées en 2020 entre le 19 août et le 22 septembre, et en 2021 entre le 8 et le 15 septembre. Chaque étang a été échantillonné en cinq points répartis régulièrement sur l'ensemble de son périmètre et en essayant de cibler des milieux différents. Chaque point a été prospecté pendant une durée de 30 mn sur une profondeur variant entre quelques dizaines de centimètres et environ 1/1,10 m (limite d'utilisation des waders). La prospection des bivalves les plus gros (Unionidés, Cyrénéidés et Dreissénidés) a été réalisée soit au moyen d'un aquascope quand la clarté de l'eau le permettait (quasiment aucun cas), soit au moyen d'un filet troubleau à mailles larges en draguant le fond de l'étang. Tous les bivalves ont été collectés pour identification et mise en collection.

La prospection des bivalves les plus petits (Sphaéridés) a été réalisée par tamisage des sédiments : sur chaque point d'échantillonnage un volume de sédiment du fond de l'étang a été passé au crible d'une série de tamis (mailles de 5 mm, 2 mm et 500 μ). Les deux premiers tamis permettaient d'évacuer les cailloux et graviers et de collecter les bivalves les plus gros (Sphaerium). Les refus du tamis à maille de 500 μ ont été collectés (environ 275 cm³ par point d'échantillonnage soit 1,4 l par étang) et ramenés en laboratoire pour être examinés sous une loupe binoculaire.

Tous les bivalves collectés ont été étiquetés et confiés au musée des Sciences naturelles d'Angers. Seuls les spécimens observés vivants ont été pris en compte dans le cadre de cette étude.

ANALYSE DES FACTEURS INFLUENÇANT

LA RICHESSE SPÉCIFIQUE

S'agissant d'une étude visant à identifier en priorité les espèces en présence, l'analyse des facteurs susceptibles d'influer sur la richesse spécifique des bivalves n'a été menée que sur

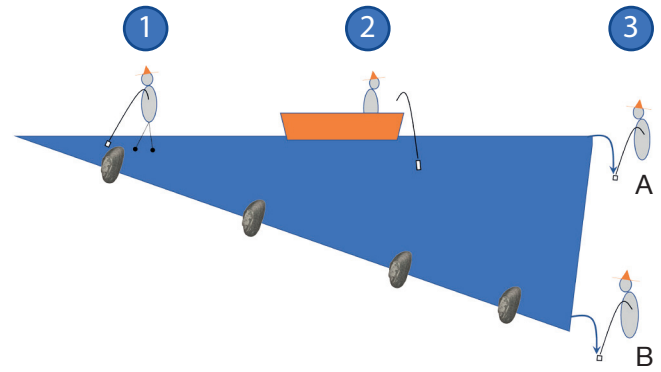


FIG. 2. — Différents moyens utilisés pour prélever l'ADNe en milieu stagnant : 1, transect à pied le long des berges ; 2, transect en canoë ; 3, prélèvement aux exutoires (A en surface ; B en vanne de fond). Crédit : V. Prié.

quelques variables et ne relève que de la prospective. Trois variables ont été testées : surface du plan d'eau, géologie et connexion au réseau hydrographique (Tableau 1).

La surface du plan d'eau, exprimée en m², a été calculée au moyen du Système d'information géographique (SIG) Qgis 3.28.11 et à partir de la couche vectorielle PLAN_D_EAU de la BDTOPO 3.0 fournie par l'IGN. Les parties d'étangs séparées par des digues mais restant connectées ont été assimilées à un plan d'eau unique. Le lien entre surface et richesse spécifique a été testé par régression linéaire simple.

Le Maine-et-Loire est divisé en deux compartiments géologiques quasiment égaux : à l'ouest les terrains acides du Massif armoricain, et à l'est les terrains plus basiques du Bassin parisien. Chaque étang a été rattaché à l'un des deux compartiments (BP = Bassin parisien ; MA = Massif armoricain). La relation entre richesse spécifique et géologie a été testée au moyen d'un test non paramétrique de Kruskal-Wallis, la variable dépendante ne suivant pas une loi normale.

La connexion des plans d'eau au réseau hydrographique a été codifiée selon trois modalités : plan d'eau déconnecté du réseau hydrographique (DECO), plan d'eau connecté à un cours d'eau temporaire (TEMP) et cours d'eau connecté à un cours d'eau permanent (PERM). Le caractère temporaire/permanent du cours d'eau a été défini en fonction des données cartographiques de l'IGN (carte au 1/25 000). La relation entre richesse spécifique et connexion au réseau hydrographique a été observée graphiquement au moyen de boîtes à moustaches (boxplot). L'échantillonnage était en effet trop faible pour tester statistiquement la relation.

De manière à limiter les biais dus à l'échantillonnage, les analyses ont été menées uniquement sur les plans d'eau ayant fait l'objet de prélèvement ADNe, en retenant cependant le nombre total d'espèces détectées dans les (rares) cas où les prospections pédestres ont permis l'identification d'espèces non recensées par l'ADNe. Le lac de Maine étant un cas à part (voir partie « Discussion »), a été exclu des analyses. Les analyses portent donc sur 12 plans d'eau. Tous les tests statistiques ont été réalisés au moyen du logiciel R version 4.0.3 et des packages rstatix, ggplot2, ggsignif et ggpubr.



FIG. 3. — Exemple de prélèvements réalisés à l'étang des Noues. Ligne rouge : transect à pied pour prélèvement ADNe; étoiles vertes : localisation des spécimens d'*Anodonta* des rivières observés lors des prospections traditionnelles.

TABLEAU 1. — Facteurs d'influence relevés par plan d'eau. Abréviations : **BP**, Bassin parisien; **DECO**, déconnecté; **MA**, Massif armoricain; **PERM**, connecté à un cours d'eau permanent; **TEMP**, connecté à un cours d'eau temporaire.

Site	Surface (m ²)	Géologie	Connexion
Étang du vallon du Misengrain	80237	MA	PERM
Étang Saint-Aubin à Pouancé	460165	MA	PERM
Étang des Noues	328200	MA	TEMP
Étang de Joreau	60968	BP	TEMP
Lac du Verdon	1951353	MA	PERM
Étang de Péronne	276313	MA	PERM
Étang de la Croix-Fourreau sud	16146	BP	DECO
Étang de Maubusson	241268	BP	TEMP
Étang Saint-Nicolas	210078	MA	PERM
Étang de la Thévinrière	146532	MA	PERM
Étang de l'Égoût	27933	BP	TEMP
Étang de la Croix-Fourreau nord	20446	BP	DECO

RÉSULTATS

RICHESSSE SPÉCIFIQUE

Les prospections ont permis d'identifier 16 espèces de bivalves sur l'ensemble des 16 plans d'eau, toutes méthodes confondues (Tableau 2; Fig. 4). Les 16 espèces ont été identifiées à au moins une reprise par l'ADNe contre seulement six pour les prospections pédestres. À l'exception de *Sphaerium lacustre* (O.F. Müller, 1774), les prospections pédestres n'ont permis de collecter que les espèces les plus grosses, un seul étang ayant livré une Pisidie, *Euglesa nitida*. Dans trois cas les prospections pédestres ont permis de

trouver des espèces non détectées par l'ADNe : *Sphaerium lacustre* à l'étang de la Thévinrière et à l'étang de Péronne, *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) à l'étang de la Thévinrière et à l'étang des Noues.

Sphaerium lacustre, *Corbicula* sp., *Anodonta cygnaea* (Linnaeus, 1758), *Anodonta anatina* et *Euglesa nitida* (Jenyns, 1832) sont de loin les espèces les plus représentées sur les plans d'eau. Le nombre d'espèces moyen par plan d'eau est de 3,37 avec un minimum de zéro et un maximum de 13. Onze étangs sur 16 totalisent trois espèces ou moins. Si on exclut le cas particulier du lac de Maine le nombre moyen d'espèces tombe même à 2,7.

TABLEAU 2. — Liste des espèces collectées par étang. En rouge sont représentées les espèces exotiques envahissantes. Abréviations : a , prospection ADNe ; p, prospection pédestre.

	Lac de Maine	Étang du vallon du Misengrain	Étang Saint-Aubin à Pouancé	Étang des Noues	Étang de Joreau	Lac du Verdon	Étang de Péronne	Étang de la Croix-Fourreau sud	Étang de Maubusson	Étang Saint-Nicolas	Étang de la Thévinère	Argillère de la Roussière	Étang de l'Égout	Étang de Malagué (base de loisir)	Étang des Monteaux (base de loisir)	Étang de la Croix-Fourreau nord	Nombre d'étangs
Espèces / Type de prospection	ap	a	a	ap	ap	ap	ap	ap	a	a	ap	p	a	p	p	a	16
<i>Sphaerium lacustre</i> (O.F. Müller, 1774)	-	a	a	ap	-	a	p	-	a	a	p	p	-	-	-	-	9
<i>Corbicula</i> sp.	ap	-	a	ap	ap	-	p	-	-	-	-	-	-	p	p	-	7
<i>Euglesa nitida</i> (Jenyns, 1832)	a	a	a	-	a	a	-	-	-	a	-	p	-	-	-	-	7
<i>Anodonta cygnea</i> (Linnaeus, 1758)	ap	a	-	-	ap	-	ap	ap	-	-	-	-	a	-	-	-	6
<i>Anodonta anatina</i> (Linnaeus, 1758)	ap	-	a	p	-	ap	-	-	-	-	p	-	-	-	-	-	5
<i>Euglesa henslowana</i> (Sheppard, 1825)	a	-	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Euglesa obtusalis</i> (Lamarck, 1818)	-	a	-	a	-	-	-	a	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Odhneripisidium moitessierianum</i> (Paladilhe, 1866)	a	-	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Unio pictorum</i> (Linnaeus, 1758)	a	-	-	-	-	-	-	-	a	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Euglesa casertana</i> (Poli, 1791)	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Euglesa subtruncata</i> (Malm, 1855)	a	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Unio mancus</i> Lamarck, 1819	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Unio pictorum/mancus</i>	p	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)	ap	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Euglesa hibernica</i> (Westerlund, 1894)	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Euglesa personata</i> (Malm, 1855)	-	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Euglesa supina</i> (A. Schmidt, 1851)	a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Richesse spécifique	13	7	6	6	3	3	3	2	2	2	2	2	1	1	1	0	

TABLEAU 3. — Résultats en quantité de lectures d'ADNe en fonction du mode de prélèvement. Mode de prélèvement : 1, transect à pied le long des berges ; 2, transect d'une centaine de mètres en canoë ; 3, prélèvement à l'exutoire (A en surverse, B en vanne de fond).

	Nombre total de lectures d'ADNe de bivalves	Mode de prélèvement	Commentaires
Étang de Joreau	384363	1	-
Étang de St Nicolas	7066	1	-
Étang des Noues	346338	1	-
Étang de la Croix-Fourreau sud	131591	1	-
Étang de la Croix-Fourreau nord	0	1	Anoxique, non favorable aux bivalves
Lac de Maine	1604934	1, 2	Très riche en bivalves
Étang de l'Égout	1732	2	-
Étang de Pouancé	393802	2	-
Étang de Maubusson	149289	3A	-
Étang de Péronnes	2618	3A	-
Étang de la Thévinère	0	3A	-
Étang du vallon du Misengrain	205451	3B	-
Étang du Verdon	91519	3B	-

ÉCHANTILLONNAGE DE L'ADN ENVIRONNEMENTAL

Quel que soit le mode de prélèvement (transect, exutoire, etc.), les analyses ADNe ont permis de collecter de l'ADN de bivalves dans tous les cas, sauf deux : l'étang de la Thévinère et l'étang de la Croix Fourreau nord (Tableau 3). Dans le cas de l'étang de la Thévinère, la qualité de l'échantillonnage ADNe n'était pas satisfaisante (voir partie « Discussion »). Dans le cas de la Croix Fourreau nord, le plan d'eau était anoxique et défavorable aux bivalves. Notre nombre d'échantillon est trop limité pour une analyse statistique, mais il ne semble pas se dessiner de tendance

sur le nombre de lectures de fragments d'ADNe en fonction du mode de prélèvement. Tous les modes de prélèvement ont permis de collecter une quantité satisfaisante d'ADNe.

FACTEURS INFLUENÇANT LA RICHESSE SPÉCIFIQUE (Fig. 5)

La régression linéaire indique que la surface des plans d'eau n'a pas d'effet significatif sur la richesse spécifique en bivalve ($R^2 = 0,01$; $F(1,10) = 0,17$; $p = 0,68$). Cependant, si on exclue de l'analyse le lac du Verdon dont la superficie (195 ha) diffère très largement de l'ensemble des 11 autres plans d'eau testés (moins de

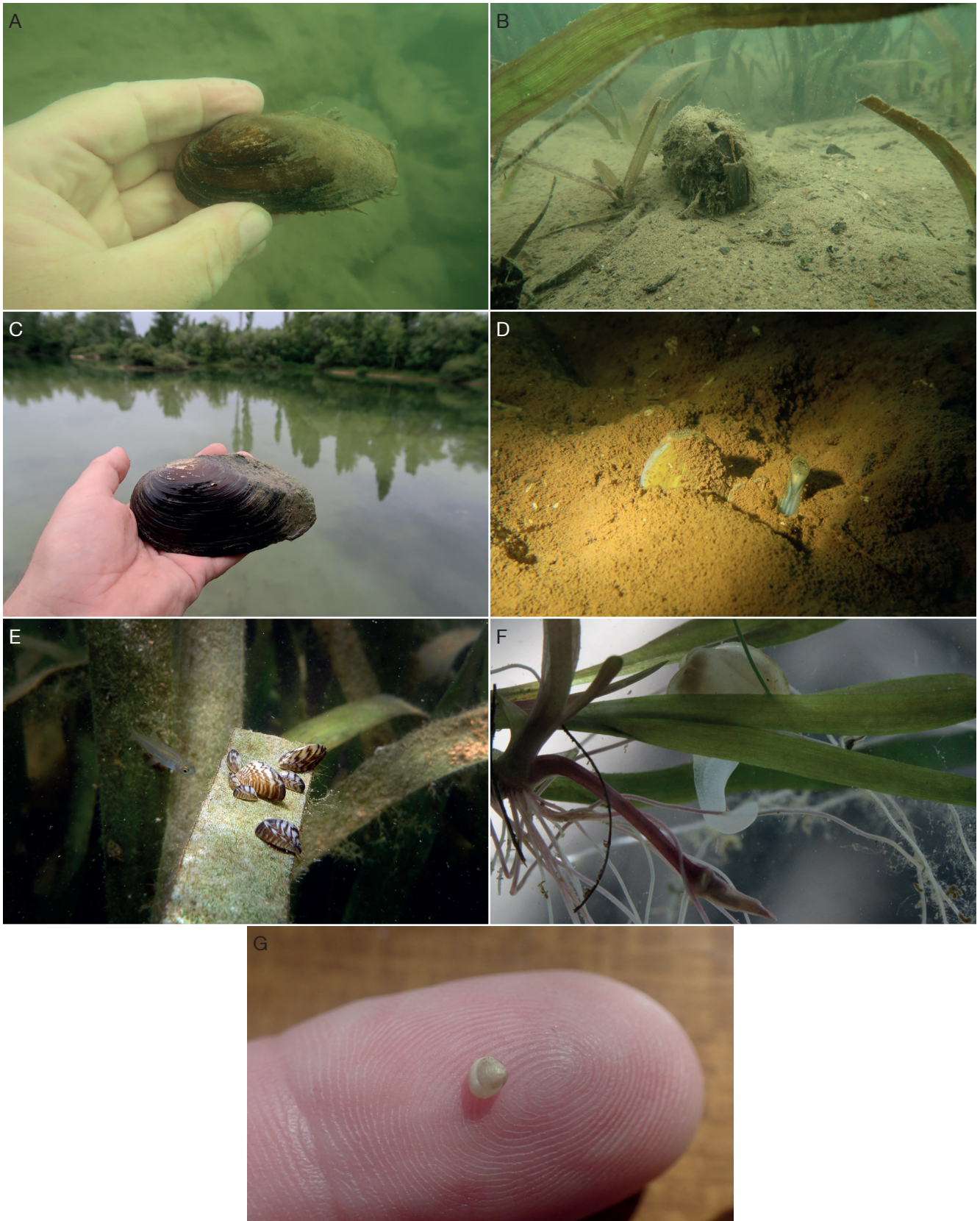


FIG. 4. — **A**, *Unio mancus* Lamarck, 1819, difficilement distinguable d'*Unio pictorum* (Linnaeus, 1758) sur les caractères morphologiques ; **B**, **C**, *Anodonta cygnaea* (Linnaeus, 1758), *in situ* et en main ; **D**, *Corbicula fluminea* (O.F. Müller, 1774) s'accommode aussi bien des fonds courants des rivières que des fonds vaseux des étangs ; **E**, *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) s'attache habituellement aux rochers mais profite de tout type de substrat, comme ici de grands rubaniers dans un étang ; **F**, *Sphaerium lacustre* (O.F. Müller, 1774) vit généralement sur le fond, mais escalade fréquemment la végétation ; **G**, les espèces du genre *Odhneripidium* sont les plus petits bivalves de France (ici *O. tenuilineatum* (Paladilhe, 1866)). Crédits photos : V. Prié.

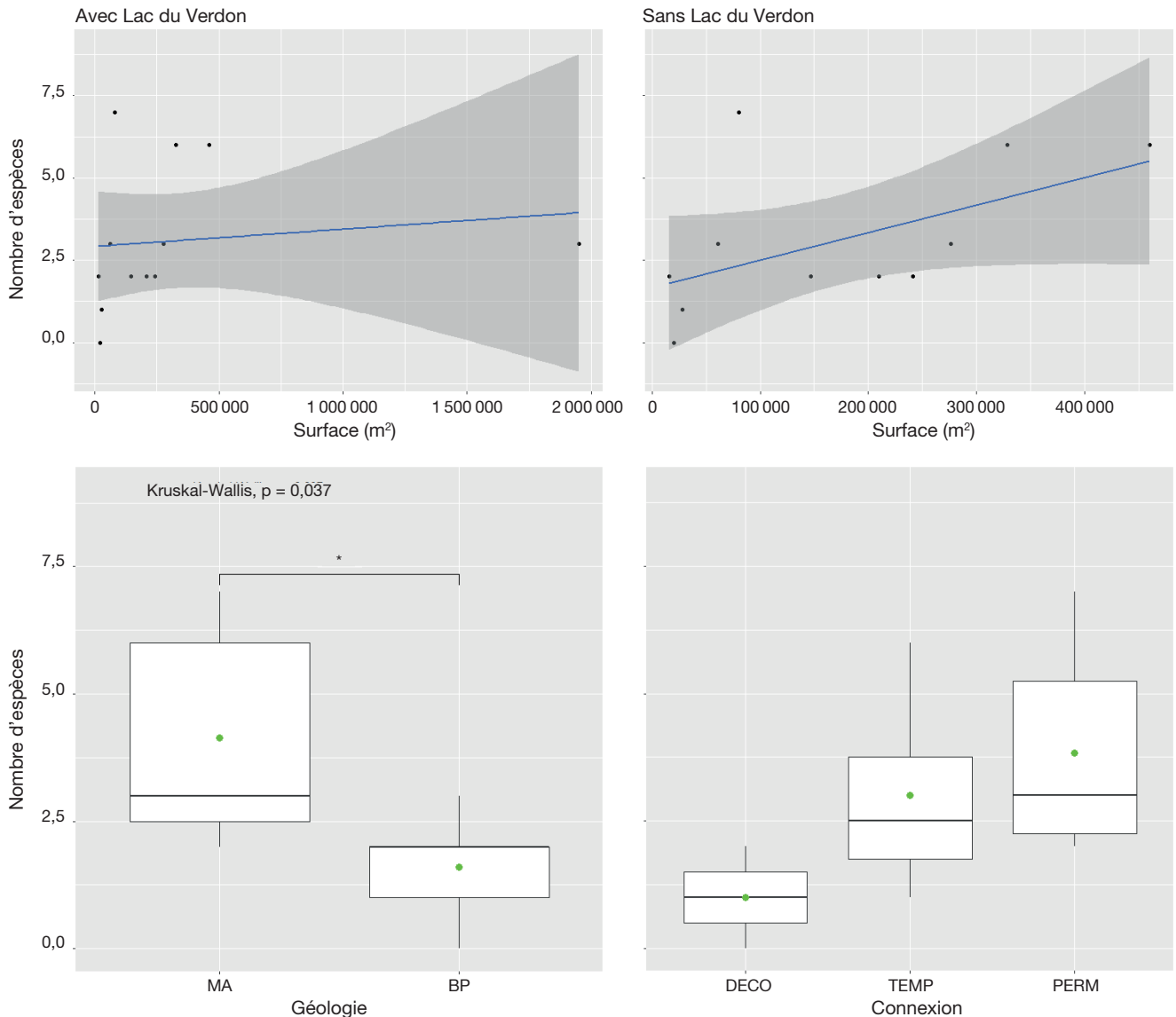


FIG. 5. — Résultats des analyses de l'influence de la surface, de la géologie et de la connexion au réseau hydrographique des plans d'eau sur la richesse spécifique en bivalves. En haut influence de la surface des plans d'eau avec prise en compte ou non du lac du Verdon (la surface sombre représente l'écart-type). En bas à gauche influence de la Géologie (**BP**, Bassin parisien **MA**, Massif armoricain); en bas à droite influence de la connexion au réseau hydrographique. Abréviations: **DECO**, déconnecté; **PERM**, connecté à un cours d'eau permanent; **TEMP**, connecté à un cours d'eau temporaire).

46 ha), on observe un effet significatif faible ($R^2 = 0,29$; $F(1,9)$; $p = 0,085$, coefficient de régression = $8,34 \cdot 10^{-6}$) expliquant 29 % de la variance du nombre d'espèces.

On observe un effet significatif modéré de la géologie ($p = 0,037$; $KS = 4,35$; $df = 1$). Les plans d'eau du compartiment armoricain ($n = 7$) abritent en moyenne quatre espèces pour une à deux espèces pour les plans d'eau du Bassin parisien ($n = 5$).

On observe néanmoins une tendance à l'augmentation du nombre moyen d'espèces en fonction du degré de connexion. Les plans d'eau abritent en moyenne une espèce de bivalves quand ils sont déconnectés du réseau hydrographique ($n = 2$), trois espèces quand ils sont connectés à des cours d'eau temporaires ($n = 4$), et 3,8 espèces quand ils sont connectés à des cours d'eau permanents ($n = 6$).

DISCUSSION

RICHESSSE SPÉCIFIQUE

La richesse en bivalves reste globalement faible et très inférieure en nombre et en patrimonialité à ce que l'on peut observer en rivière. En première analyse les données indiquent que les plans d'eau du Massif armoricain abritent significativement plus de bivalves que les plans d'eau du Bassin parisien, avec un effet faible cependant. Ce résultat apparaît contradictoire avec les connaissances actuelles, les communautés de bivalves étant habituellement plus riches dans les milieux calcaires (Prié 2017). Une analyse plus fine de la pédologie, et non plus de la géologie générale, permettrait d'y voir plus clair. Il est en effet possible que certains plans d'eau du Bassin parisien se développent

TABLEAU 4. — Synthèse des comparaisons entre prospections pédestres (nombre de spécimens vivants observés) et ADNe (nombre de lectures ADNe deux répliques confondues).

Espèces / Type de prospection	Lac de Maine		Étang des Noues		Étang de Joreau		Lac du Verdon		Étang de Péronne		Étang de la Croix- Fourreau sud		Étang de la Thévinère		
	ADNe - 2	Pédestre	ADNe - 2	Pédestre	ADNe - 2	Pédestre	ADNe - 3	Pédestre	ADNe - 1	Pédestre	ADNe - 2	Pédestre	ADNe - 3	Pédestre	
<i>Anodonta anatina</i> (Linnaeus, 1758)	12385	3	-	-	-	-	15767	11	-	-	-	-	-	1	
<i>Anodonta cygnea</i> (Linnaeus, 1758)	1402	7	-	6	175	168	>12	-	-	2618	8	130513	8	-	25
<i>Unio mancus</i> Lamarck, 1819	54374	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Unio pictorum</i> (Linnaeus, 1758)	65148	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Corbicula</i> sp.	887016	149	170509	2	208943	2	-	-	-	1	-	-	-	-	
<i>Dreissena polymorpha</i> (Pallas, 1771)	578164	84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa casertana</i> (Poli, 1791)	229	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa henslowana</i> (Sheppard, 1825)	297	-	3013	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa hibernica</i> (Westerlund, 1894)	49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa nitida</i> (Jenyns, 1832)	2210	-	-	-	195	-	439	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa obtusalis</i> (Lamarck, 1818)	-	-	62	-	-	-	-	-	-	-	78	-	-	-	
<i>Euglesa personata</i> (Malm, 1855)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa subtruncata</i> (Malm, 1855)	2213	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Euglesa supina</i> (A. Schmidt, 1851)	1405	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Odhneripisidium</i> <i>moitessierianum</i> (Paladilhe, 1866)	42	-	2617	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Sphaerium lacustre</i> (O.F. Müller, 1774)	-	-	153320	1	-	-	75313	-	-	1	-	-	-	1	
Richesse spécifique	13	5	5	3	3	2	3	1	1	2	2	1	0	2	

sur des argiles issues de la décalcification du calcaire et se trouvent de ce fait en milieu acide et non basique, ce qui amènerait à réexaminer l'interprétation des résultats.

Les analyses ne montrent aucun lien statistique entre la connexion des plans d'eau au réseau hydrographique et la richesse en bivalves. On observe cependant une légère tendance à la hausse de la richesse spécifique des milieux les moins connectés aux milieux les plus connectés, tendance qui apparaît logique : la connexion à un cours d'eau permanent permet de maintenir des niveaux d'eau relativement hauts toute l'année et facilite la colonisation, au moins pour les Unionidae. À l'opposé les étangs déconnectés peuvent subir de fortes baisses estivales de leurs niveaux d'eau, en particulier ceux affichant des berges en pente douce ; les milieux favorables aux bivalves sont alors fortement restreints et les conditions peuvent, dans les cas les plus extrêmes, devenir anoxiques. Le faible échantillonnage n'a pas permis de tester la réalité de cette tendance. Aussi des analyses sur un plus grand nombre de plans d'eau devraient être menées afin de confirmer ou

d'infirmer l'existence d'un lien entre connexion au réseau hydrographique et richesse spécifique.

Bien que les données du lac du Verdon ne s'inscrivent pas dans ce schéma, un lien pourrait exister entre la surface des plans d'eau et la richesse spécifique. Ce lien offre une certaine cohérence : la logique voudrait en effet qu'une plus grande surface en eau offre un nombre d'habitats et de microhabitats plus élevé et plus divers, favorisant l'installation d'un cortège de bivalves plus important.

Toutes ces données restent cependant à interpréter avec la plus grande prudence ; les sites prospectés sont trop peu nombreux pour que les analyses soient suffisamment robustes. Par ailleurs le plan d'échantillonnage n'a pas été conçu pour pouvoir identifier précisément les facteurs influençant la richesse spécifique des bivalves, aussi les éléments présentés ci-dessus doivent-ils être considérés comme des éléments de réflexion, à confirmer par des études spécifiques plus approfondies.

En l'absence d'études plus poussées il est donc difficile d'expliquer la faible richesse spécifique globale observée

(à noter que les étangs de Malagué, des Monteaux et l'argillère de la Roussière, n'ayant pas fait l'objet de prospection ADNe, pourraient cependant s'avérer plus riches). Plusieurs pistes de recherche peuvent être évoquées et en premier lieu le mode de gestion des étangs. En effet, en discutant avec les riverains, il est apparu que plusieurs des étangs étudiés faisaient l'objet de vidanges à un rythme plus ou moins régulier, que ce soit pour la gestion du cheptel de poissons, la minéralisation des vases ou la réfection de digue. L'absence d'eau pendant un laps de temps plus ou moins prolongé pourrait sans doute limiter le développement de la malacofaune si le rythme des vidanges était trop intense, d'autant que l'augmentation des températures du fait du réchauffement climatique contribue à élargir les périodes d'assecs estivaux. Bien que cela n'ait pas été fait dans le cadre de ce projet, le lien gestion d'étang/diversité de mollusques serait à étudier plus en profondeur. D'autres facteurs d'influence seraient à traiter, notamment l'impact de la trophie des eaux (les eaux trop oligotrophes sont peu favorables), la distance à la source pour les étangs sur cours d'eau, ou l'importance du contexte paysager et écologique.

Parmi les étangs inventoriés, le lac de Maine, avec 13 espèces recensées, fait figure d'exception. On y trouve, en plus des espèces traditionnellement inféodées aux eaux calmes, des espèces habituellement rencontrées en rivière, telles qu'*Unio pictorum* (Linnaeus, 1758) ou *Unio mancus* Lamarck, 1819. Le lac de Maine borde la rivière de Maine avec laquelle il est connecté lors des crues annuelles. Il est donc possible que des individus présents dans la rivière soient déplacés *via* ces débordements, expliquant la diversité spécifique élevée de bivalves au sein du plan d'eau. Il est à noter que le lac de Maine présente une superficie importante et une forte diversité d'habitats; il est donc largement sous-échantillonné. Il est de ce fait probable qu'un échantillonnage plus complet permettrait d'augmenter la liste des espèces présentes dans ce plan d'eau.

PATRIMONIALITÉ

Les espèces identifiées par cette étude présentent des enjeux de conservation modérés. Néanmoins, on note la présence sur le Lac de Maine d'*Unio mancus*, précédemment catégorisée « Quasi-menacée » par l'IUCN mais dont le statut a été ré-évalué récemment en « En danger » (Lopes-Lima *et al.* 2024). Par ailleurs, les deux espèces d'Anodontes *A. cygnea* et *A. anatina*, catégorisées « Vulnérable » en France, sont assez bien représentées dans les plans d'eau des ENS. Ces deux espèces ont été catégorisées vulnérables principalement en raison de la progression alarmante de l'Anodonte chinoise *Sinanodonta woodiana* (I. Lea, 1834), qui constitue une menace sévère au moins pour les anodontes autochtones.

ESPÈCES EXOTIQUES ENVAHISSANTES

La faible diversité spécifique ne doit pas masquer un point remarquable concernant ces étangs : les espèces exotiques envahissantes y sont peu présentes voire absentes. Les corbicules, bien connues en Loire, n'ont été observées que dans une petite moitié d'étangs et généralement en quan-

tité faible ou modérée. Seule la base de loisirs des Monteaux comptait des dizaines de spécimens vivants à chaque coup de troubleau. La Moule zébrée *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), bien que présente dans la Loire et dans la Maine depuis le XIX^e siècle, n'a étonnamment été détectée que dans le seul lac de Maine. L'espèce est pourtant largement répandue en France et notamment dans les sites anthropisés. Enfin, alors que sa détection précoce faisait partie des objectifs du projet, aucune Anodonte chinoise n'a été détectée. Cette espèce, dont le caractère envahissant fait peser de lourdes menaces sur nos anodontes locales, a été découverte pour la première fois en Anjou le 10 Août 2017, sur les grèves sableuses à la confluence de l'Èvre et de la Loire à Notre-Dame-du-Marillais (Mauges-sur-Loire, 49). Elle constitue une première mention, non seulement pour le département de Maine-et-Loire, mais aussi pour la Loire aval (Gabory 2019). Le 6 mars 2018, l'espèce était trouvée à l'étang de la Provostière en Loire-Atlantique par analyse ADNe où elle est désormais bien implantée. Des données plus récentes proviennent de récoltes faites, toujours sur la Loire, à Ancenis - Saint-Géréon en 2021 et à Frossay en 2022. L'espèce y a par ailleurs été relevée avec des densités importantes entre Saint-Florent-Le-Vieil et Ancenis, lors d'une campagne de plongée durant l'été 2021 (Prié & Cucherat, comm.pers.). L'espèce est donc déjà bien installée en Loire. Elle semble progresser principalement de proche en proche, à la faveur des réseaux hydrographiques et de leurs connexions artificielles *via* les canaux, et occasionnellement par le transport de poissons (Prié 2023). Si elle apparaît difficilement gérable en rivière, l'expérimentation montre que l'éradication est possible en étang (Schweyer 2018). Les étangs sont relativement isolés des grands réseaux hydrographiques et pourraient donc constituer des refuges pour les espèces autochtones, pourvu qu'ils soient épargnés par des introductions ponctuelles *via* le transport de poissons. La fin du projet permettra de communiquer sur ces enjeux auprès des syndicats de rivières et de la fédération de pêche pour éviter l'introduction de l'Anodonte chinoise et permettre une réaction rapide en cas d'apparition de l'espèce.

COMPARAISONS ADNE

VERSUS MÉTHODES TRADITIONNELLES

La méthode de l'analyse de l'ADNe appliquée aux étangs montre clairement son efficacité, pourvu que des protocoles optimisés soient mis en oeuvre. Les prospections pédestres n'ont en effet permis d'identifier que deux Sphaeridae – *Sphaerium lacustre* et *Euglesa nitida*, ce dernier dans un unique plan d'eau – tandis que l'ADNe a permis d'en identifier dix. Il est probable que les Sphaeridae soient présents en trop faible densité dans les plans d'eau pour que des prospections pédestres puissent les inventorier correctement sans multiplier de manière conséquente les prélèvements.

Dans trois étangs, Péronne, les Noues et la Thévinère, l'ADNe n'a pas permis de détecter toutes les espèces (Tableau 4).

L'étang de Péronne a été échantillonné au niveau de l'exutoire, en surverse. Une seule espèce y a été détectée (*A. anatina*), mais ni la corbicule ni *S. lacustre* n'ont été détectés. Concernant la corbicule, un seul individu a été observé lors des prospections pédestres. Durant le prélèvement ADNé, des prospections à pied ont également été réalisées. Les eaux étaient très basses et une partie importante des berges était exondée. Aucune coquille de corbicule n'a été observée. L'espèce était probablement très rare dans cet étang au moment du prélèvement ADNé. Dans le cas de l'étang des Noues, le prélèvement d'eau a été réalisé à pied, en intégrant durant le temps de pompage plusieurs types de milieux, mais sur une zone nécessairement restreinte. Le prélèvement a été réalisé en partie sur une zone où une Anodonte a été observée lors des prospections pédestres (Fig. 4). Bien qu'il ne soit pas sûr que l'individu s'y trouvait déjà lors du prélèvement ADNé (les prospections à l'étang des Noues ont été réalisées un an après le prélèvement ADNé), l'analyse ADNé n'a pas permis de détecter cette espèce qui est pourtant bien présente sur le plan d'eau. Enfin dans le cas de l'étang de la Thévinère, aucune espèce de bivalve n'a été détectée alors que les prospections pédestres ont mis en évidence *S. lacustre* et *A. anatina*. Le prélèvement ADNé sur cet étang était de très mauvaise qualité : réalisé en surverse dans une eau extrêmement chargée en phytoplancton, les volumes filtrés étaient de six et huit litres (au lieu des 30 litres requis par la méthode standard) en raison du colmatage très rapide des filtres.

INFLUENCE DU MODE DE PRÉLÈVEMENT ADNÉ

Les trois méthodes de prélèvement ADNé explorées ici fournissent des résultats très inégaux (Tableau 3) mais semblent toutes efficaces, même si des espèces n'ont pas été détectées au moins à deux reprises (étangs de Péronnes et des Noues ; le cas de la Thévinère est écarté en raison des mauvaises conditions du prélèvement ADNé). Les prélèvements par transect à pied se concentrent sur les zones peu profondes et sont réalisés au plus proche des individus en berge. On notera toutefois que c'est dans ces conditions qu'une Anodonte n'a pas été détectée à l'étang des Noues. Les prélèvements en canoë permettent de réaliser des transects plus étendus qu'à pieds et notamment de s'éloigner significativement des berges. Considérant que les bivalves vivent au fond et dans un contexte d'eaux stagnantes, on pourrait penser que le prélèvement en surface soit moins efficace. Néanmoins, la quantité d'ADNé collectée dans l'étang de Pouancé (sur la base du nombre de lectures, Tableau 3) était satisfaisante alors que l'échantillonnage a été réalisé en pleine eau. Dans l'étang de l'Égout la quantité d'ADNé collectée semble plus faible, mais cet étang était très peu profond, de l'ordre de 50 cm. Ce n'est donc pas la distance du fond qui explique le nombre de lectures plus faible.

Concernant les prélèvements au niveau des exutoires, en principe, les exutoires par vanne de fond devraient fournir les meilleurs résultats puisque la lame d'eau emporte théoriquement l'ADNé des bivalves qui se trouvent au fond, alors que les prélèvements à partir d'exutoires en surverse

devraient être moins efficaces. Néanmoins, les prélèvements au niveau des exutoires en surverse ont semblé tout à fait efficaces pour les étangs de Maubuisson et de Péronnes.

En conclusion, les trois modes opératoires testés ici pour le prélèvement d'ADNé se sont avérés efficaces pour l'inventaire des bivalves en plans d'eau stagnant, mais pas à 100 %. Le risque de faux négatif, très faible en milieu courant pour la plupart des espèces (Prié *et al.* 2023), reste à considérer dans le cas des milieux stagnants.

Remerciements

Nous tenons à remercier le Conseil départemental du Maine-et-Loire qui a financé à 60 % cette étude au titre de sa politique des Espaces naturels sensibles. Nous remercions également Aquascop pour le prêt d'un canoë. Enfin nous remercions chaleureusement les relecteurs, dont Jean-Philippe Siblet, qui ont su pointer les manques du texte original et permis son amélioration substantielle.

RÉFÉRENCES

- GABORY O. 2019. — Première mention de l'Anodonte chinoise *Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834) (Bivalvia, Unionidae) dans la Loire, en Maine-et-Loire. *Anjou Nature* 6: 4-5.
- GABORY O. & MOURGAUD G. 2012. — Liste des espèces de mollusques terrestres et dulçaquicoles (Eumetazoa, Mollusca) présentes dans le département de Maine-et-Loire. État des lieux. *Anjou Nature* 3: 63-68.
- GERMAIN L. 1903. — Étude sur les Mollusques terrestres et fluviatiles vivants des environs d'Angers et du département de Maine-et-Loire. *Bulletin de la Société des Sciences naturelles de l'Ouest de la France* 3 (1): 1-238.
- GERMAIN L. 1931. — *Faune de France. 21 : Mollusques terrestres et fluviatiles*. Lechevallier, Paris, 477 p.
- LOPES-LIMA M., PRIÉ V. & RICCARDI N. 2024. — *Unio mancus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2024: e.T212975237A212995429.
- MILLET DE LA TURTAUDIÈRE P. A. 1854. — *Mollusques de Maine-et-Loire ou tableau méthodique, descriptif et indicatif des mollusques terrestres et d'eau douce observés à l'état vivant dans le département de Maine-et-Loire*. Cosnier et Lachèse, Angers, 74 p.
- MILLET DE LA TURTAUDIÈRE P. A. 1870. — *Faune des invertébrés de Maine-et-Loire*. Tome 1. E. Barassé, Angers, 370 p.
- PRIÉ V. 2017. — *Naiades et autres bivalves d'eau douce de France*. Biotope, Mèze, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, 336 p.
- PRIÉ V. 2019. — *Bivalves d'eau douce des étangs de la région Anjou-Pays de la Loire. Recherche par analyse de l'ADN environnemental*. Rapport d'étude pour le CPIE Loire Anjou, Beaupréau-en-Mauges, 24 p.
- PRIÉ V. 2023. — How was France invaded? 170 years of colonization of metropolitan France by freshwater mussels. *Hydrobiologia* 1-15. <https://doi.org/10.1007/s10750-023-05274-8>
- PRIÉ V., VALENTINI A., JEAN P., DECOTTE J.-B., BREUGNOT É., COUPRIE S., JARDIN G., LAMAND F., ROSET N., VIGNERON T., ROCLE M., CUCHERAT X., DEJEAN T. & TABERLET P. 2021a. — Cinq ans d'inventaires des Bivalves de France par analyse de l'ADN environnemental : quelles conclusions, quelles perspectives ?, in LÉONARD L. (éd.), Colloque national de malacologie continentale, Nantes, 6 et 7 décembre 2018. *Naturae* 2021(8): 91-114. <https://doi.org/10.5852/naturae2021a8>

- PRIÉ V., VALENTINI A., LOPES-LIMA M., FROUFE E., ROCLE M., POULET N., TABERLET P. & DEJEAN T. 2021b. — Environmental DNA metabarcoding for freshwater bivalves biodiversity assessment: methods and results for the Western Palearctic (European sub-region). *Hydrobiologia* 848(12): 2931-2950. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04260-8>
- PRIÉ V., DANET A., VALENTINI A., LOPES-LIMA M., TABERLET P., BESNARD A., ROSET N., GARGOMINY O. & DEJEAN T. 2023. — Conservation assessment based on large-scale monitoring of eDNA: application to freshwater mussels. *Biological Conservation* 283. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.110089>
- SCHWEYER J.-B. 2018. — *Opération d'éradication d'une population d'Anodonte chinoise de l'Étang Romé (Meurthe-et-Moselle)*. http://www.especes-exotiques-envahissantes.fr/wp-content/uploads/2018/02/rex_anodonte-chinoise_etang-rome_vf.pdf, dernière consultation le 1^{er} juin 2023.

*Soumis le 24 août 2023 ;
accepté le 7 février 2024 ;
publié le 4 septembre 2024.*