

Recherche de bivalves par analyses d'ADN environnementale sur le site

Natura 2000 FR8301038 « Val d'Allier Alagnon »



Novembre 2022

Sylvain VRIGNAUD

7, Clos Joseph Laurent - 03000 NEUVY

Port : 06-52-87-80-10 - vrignaud.sylvain@free.fr

Avec le soutien de :



Table des matières

Résumé.....	3
Introduction.....	4
1. Méthodologie	5
1.1. Présentation du site d'étude	5
1.2. Choix des sites de prélèvements et dates de prélèvement	5
1.3. Analyse ADNe	7
1.4. Variables environnementales.....	8
2. Résultats	9
2.1. Résultats généraux	9
2.2. <i>Margaritifera margaritifera</i>	12
2.3. <i>Potomida littoralis</i>	14
2.4. <i>Anodonta anatina</i>	16
2.5. <i>Anodonta cygnea</i>	18
2.6. <i>Unio crassus</i>	20
2.7. <i>Sphaerium nucleus</i>	22
2.8. Variables environnementales.....	24
3. Discussion	25
3.1. Discussion générale	25
3.2. <i>Margaritifera margaritifera</i>	27
3.3. <i>Potomida littoralis</i>	28
3.4. <i>Anodonta anatina</i>	30
3.5. <i>Anodonta cygnea</i>	32
3.6. <i>Unio crassus</i>	34
3.7. <i>Sphaerium nucleus</i>	36
3.8. Variables environnementales.....	38
Conclusion	39
Références bibliographiques	39
Annexe 1 : Ensemble des résultats d'ADNe	41
Annexe 2 : Informations diverses sur les points d'échantillonnage.....	44

Références recommandées :

VRIGNAUD S., 2022. Recherche de bivalves par analyses d'ADN environnementale sur le site Natura 2000 FR8301038 « Val d'Allier Alagnon ». Rapport pour le CEN Auvergne et la DDT du Puy-de-Dôme. 40 pages + annexes.

Résumé

Sur le site Natura 2000 FR8301038 "Val d'Allier– Alagnon" les connaissances concernant la moule épaisse *Unio crassus* (espèce de l'annexe II et IV de la directive Habitats-Faune-Flore) étaient très lacunaires. Il paraissait donc pertinent de mieux connaître la répartition de l'espèce notamment pour une meilleure prise en compte par des études d'impact en cas de travaux pouvant affecter le milieu aquatique. Le choix de la méthode de recherche s'est orienté vers l'ADN environnemental (ADNe) pour des raisons pratiques (difficultés de recherche visuelle dans le milieu aquatique et dangerosité). 10 points de prélèvement ont été espacés tous les 8 km environ.

Les résultats font apparaître la présence d'*Unio crassus* plus dans la partie amont du site Natura 2000 (3 points d'échantillonnage) dont l'Alagnon (où l'espèce avait été découverte à Lempdes-sur-Alagnon en 2021). En outre, la moule perlière *Margaritifera margaritifera*, espèce insoupçonnée, a été détectée dans l'Alagnon. Par ailleurs, d'autres espèces à enjeux de conservation suivant la liste rouge nationale ont fait l'objet de mentions. Ainsi, la moule des rivières *Potomida littoralis* considérée comme en danger à l'échelle nationale est omniprésente. L'Anodonte des rivières *Anodonta anatina* et l'anodonte des étangs *Anodonta cygnea* font respectivement l'objet de 2 et de 5 sites de prélèvement positifs. Ces deux espèces sont classées comme vulnérables en France en raison notamment de la compétition implacable exercée par l'Anodonte chinoise *Sinanodonta woodiana*. Cette dernière espèce n'a pas été détectée sur le site. Enfin, l'effet négatif de l'enrochement pourrait avoir un impact négatif sur les espèces d'Anodontes (*Anodonta anatina* et *A. cygnea*), et ce malgré le peu de relevés.

Ces résultats invitent donc à prendre en compte la présence de la moule épaisse dans le cadre des études d'impact lors de travaux susceptibles d'affecter le milieu aquatique. Il semblerait aussi intéressant de rechercher la localisation des moules perlières restantes sur l'Alagnon. Enfin, l'ADNe ne permet pas d'apprécier la fonctionnalité des populations (recrutement suffisant pour compenser la mortalité). Il pourrait donc être intéressant de répéter cette même opération dans dix ans afin d'apprécier les évolutions des concentrations de séquences d'ADN. Cela nécessite toutefois que les techniques d'extraction demeurent les mêmes.

Introduction

Les bivalves figurent parmi les groupes les plus menacés au monde et en France (LYDEARD *et al.*, 2004 ; REGNIER *et al.*, 2021). En effet, en France, REGNIER *et al.* (2021) considèrent que 10 espèces sont menacées sur les 33 espèces autochtones présentes soit 30,3 % (Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des espèces de bivalves dulçaquicoles menacées en France (selon Régnier *et al.*, 2021)

Famille	Nom latin	Nom français	Catégorie*	Protection nationale	Directive Faune-Flore-Habitats (annexe)
<i>Margaritiferidae</i>	<i>Pseudunio auricularius</i>	Grande Mulette	CR	X	IV
<i>Sphaeriidae</i>	<i>Euglesa pseudospharium</i>	Piside des marais	EN		
<i>Sphaeriidae</i>	<i>Sphaerium rivicola</i>	Grande Cyclade	EN		
<i>Sphaeriidae</i>	<i>Sphaerium solidum</i>	Cyclade des fleuves	EN		
<i>Margaritiferidae</i>	<i>Margaritifera margaritifera</i>	Mulette perlière	EN	X	II et V
<i>Unionidae</i>	<i>Potomida littoralis</i>	Mulette des rivières	EN		
<i>Unionidae</i>	<i>Pseudanodonta complanata</i>	Anodonte comprimée	EN		
<i>Sphaeriidae</i>	<i>Odhneripisidium conventus</i>	Pisidie arctique	VU		
<i>Unionidae</i>	<i>Anodonta anatina</i>	Anodonte des rivières	VU		
<i>Unionidae</i>	<i>Anodonta cygnea</i>	Anodonte des étangs	VU		

*CR=En danger critique d'extinction – EN = En danger d'extinction – VU = Vulnérable

En outre, la mulette épaisse *Unio crassus* est protégée au niveau national et est inscrite sur les annexes II et IV de la directive dite Faune-Flore-Habitat (directive 92/43/CEE). Qui plus est, le taxon présent sur le bassin versant de la Loire est endémique (Prié & Puillandre, 2014). Tant les critères réglementaires que biologiques soulignent la nécessité d'une prise en compte de ces espèces dans les documents de gestion.

Afin de mieux prendre en compte ces espèces à enjeux de conservation et/ou réglementaire, il paraît nécessaire d'en vérifier la présence et le cas échéant d'affiner son aire de répartition. La technique de l'ADN environnemental (ADNe) permet de couvrir une large zone en amont du point d'échantillonnage (de l'ordre de 5 km) mais surtout elle a un taux de détection nettement plus élevé qu'une prospection classique à l'aquascope ou au troubleau. Par ailleurs, L'analyse de l'ADNe est une technique éprouvée quant à la recherche des bivalves (Prié *et al.*, 2020)

Les connaissances sur les bivalves du site Natura 2000 du val d'Allier Alagnon (FR8301038) sont très faibles. De plus, les quelques données disponibles concernent les naïades et les corbicules. Aussi, au regard du potentiel du site pour *Unio crassus*, une recherche de cette espèce semblait être utile. Les analyses ADNe prenant en compte l'ensemble des bivalves, une considération de l'ensemble du groupe présente une opportunité de préciser le statut de chacune de ces espèces.

1. Méthodologie

1.1. Présentation du site d'étude

Le site Natura 2000 FR 830 1038 "Val d'Allier– Alagnon" (anciennement nommé "Val d'Allier Jumeaux/Pont-du-Château – Alagnon") est formé par l'Allier de Brassac-les-Mines aux Martres-d'Artière, et de l'Alagnon de Moriat jusqu'à sa confluence. Il occupe une surface de 2 419 ha (dont 34 % sont du domaine public fluvial). Sa longueur est de 74 km pour la rivière Allier et 9 km pour la rivière Alagnon (ou Allagnon). Son altitude est de 570 m au maximum à 300 m au minimum. L'enjeu principal du site repose sur le maintien de la dynamique fluviale.

Aucune espèce de mollusques figure dans le formulaire standard de données (daté du 24/01/2022 et consulté le 06/10/2022).

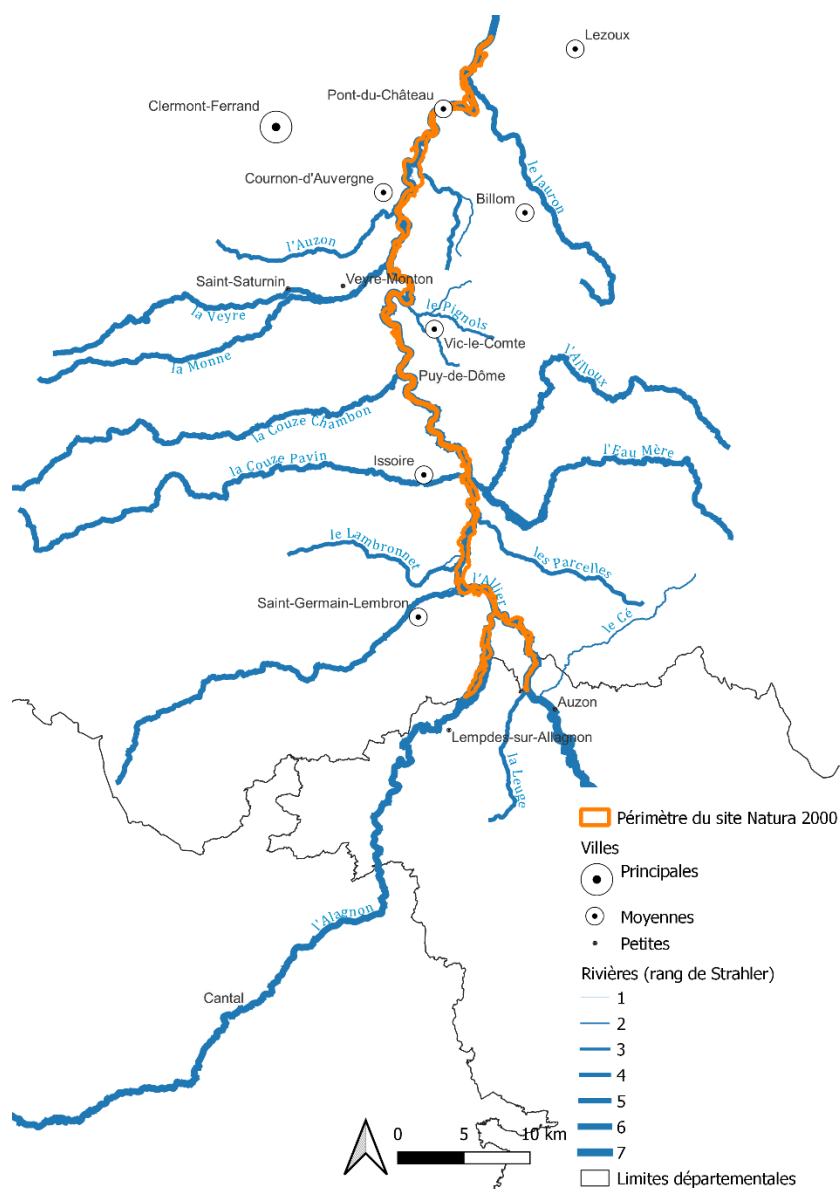


Figure 1 : Localisation du site Natura 2000 Val d'Allier-Alagnon

1.2. Choix des sites de prélèvements et dates de prélèvement

Dix points de prélèvements ont été choisis pour l'ensemble du site Natura 2000. Ceux-ci sont espacés en moyenne de 8,162 km (minimum de 7 138 m ; maximum de 9 783 m) suivant la vitesse

moyenne du courant et la profondeur en s'appuyant sur Wilcox *et al.* (2016). Le choix de cette distance repose sur un compromis entre distance de détection et diminution du risque d'un double signal (pour deux sites de collecte d'échantillon) pour de mêmes individus.

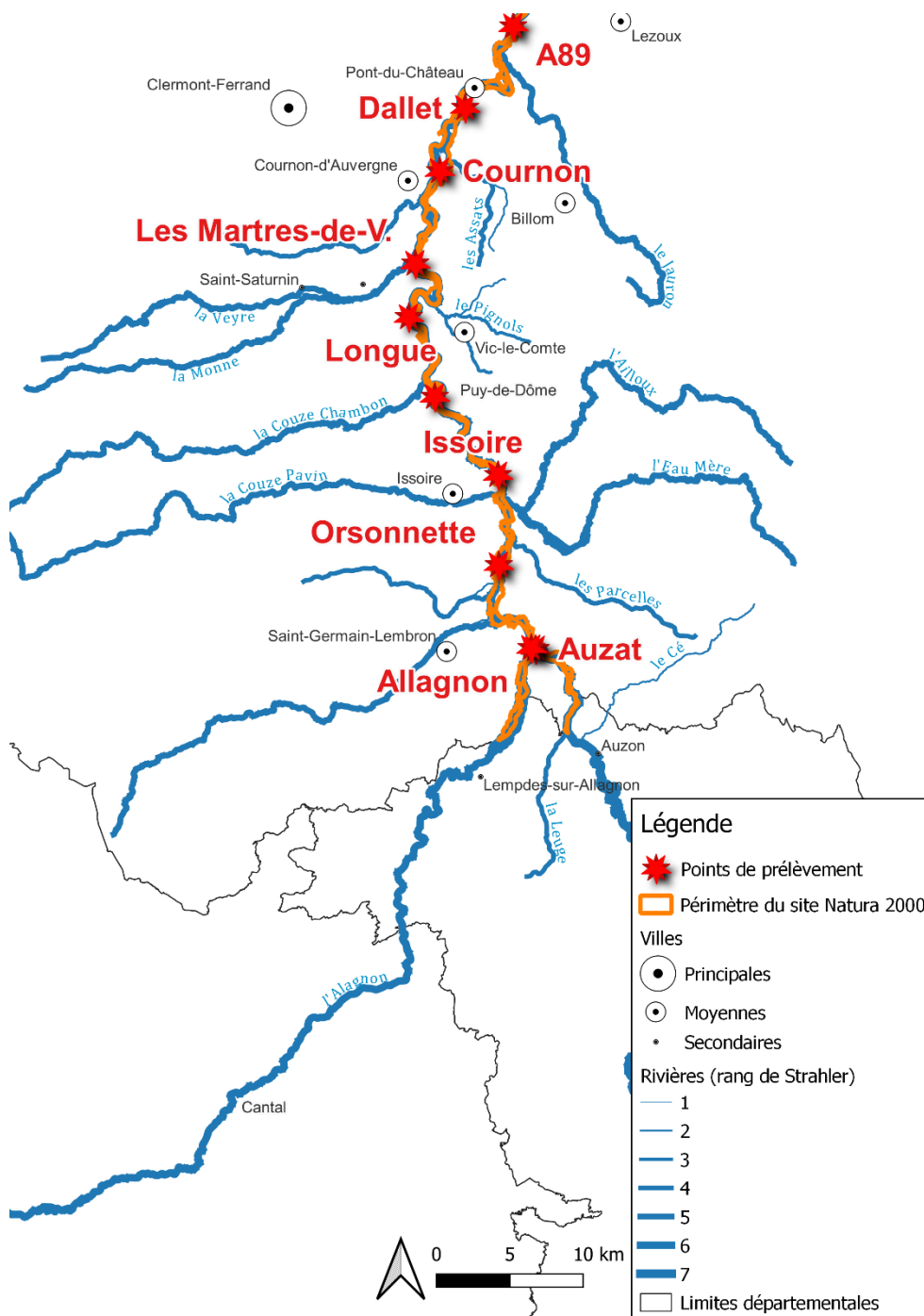


Figure 2 : Localisation des points de prélèvements ADN environnemental

Les prélèvements ont été effectués du 08/06/2022 au 10/06/2022. Le régime de l'Allier était à l'étiage avec par exemple 14,6 m³ par seconde à la station de relevés située à Longues (K268 0810). La météo était pluvieuse au début du premier jour, avec une eau légèrement trouble. Bien que la météorologie se soit ensuite améliorée, la turbulence de l'eau demeura.

1.3. Analyse ADNe

L'utilisation de l'ADN environnemental consiste à prendre des échantillons d'eau et d'y rechercher des fragments d'ADN d'espèces préalablement enregistrées dans une base de données. En effet, toute espèce perd des cellules dans son environnement sous différentes formes : excréments, urine, gamètes... Ces cellules incluent de l'ADN propre à chaque espèce qui se retrouve ainsi libéré dans son environnement.

Afin de consolider les résultats, 2 prélèvements sont pris par point. Ils sont pris consécutivement.

Plus précisément, une pompe péristaltique est utilisée en pompant quelques 30 L pendant une demi-heure au cœur de la rivière (Figure 3 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). L'eau passe alors au sein d'un filtre. Dans les faits, le temps de filtration est bien souvent inférieur en raison du colmatage de ce filtre (Tableau 2). Ce dernier est ensuite transmis à la société Spygen qui amplifie, identifie et dénombre les séquences d'ADN ainsi captées.

Les espèces cibles par cette technique sont non seulement les espèces de naïades (famille des Unionidae et des Margaritiferidae), mais aussi plus largement les bivalves d'eau douce (incluant les familles des Cyrenidae, des Dreissenidae et des Sphaeriidae).

les échantillons ont été pris en suivant scrupuleusement la méthodologie préconisée par Spygen afin de ne pas polluer les échantillons par du matériel génétique de sites précédents.



Figure 3 : Pompe péristaltique en action

	Allagnon*	Auzat	Orsonnette	Issoire	Yronde	Longues	Les Martres-de-V.	Cournon	Dallet	A89
1er prélèvement	18	23	19	20	19	19	19	15	15	20
2nd prélèvement	18	28	22	19	20	19	15	25	13	15

1.4. Variables environnementales

Les naïades et plus généralement les bivalves sont connues pour être sensibles à l'instabilité sédimentaire (GANGLOFF & FEMINELLA, 2007 ; VRIGNAUD 2016). Celle-ci est difficilement appréhendable et d'autant plus dans un grand cours d'eau tel que l'Allier. Afin d'approcher cette variable, la longueur de protections de berge sur les 5 km situés en amont a été mesurée grâce la base de données du CEN Auvergne. L'hypothèse retenue est que l'endiguement contraint la force du courant à s'exercer sur le fond de la rivière plus que les berges et donc contribue à l'instabilité sédimentaire. En outre, ces enrochements déconnectent les bras morts du lit principal.

Le chiffre retenu sur chacun des tronçons correspond au pourcentage de linéaire contraint sur la longueur de berges. Il est à noter que ces données ne sont disponibles que pour la rivière Allier et pas pour la rivière Alagnon. Le pourcentage de berges endiguées couvre donc les valeurs de 3 % (Orsonnette) à près de 23 % (Cournon et Yronde) (Tableau 3).

Tableau 3 : Pourcentage de berges contraintes par points de prélèvement

<i>Points de prélèvement</i>	<i>Pourcentage de berges endiguées</i>
<i>A89</i>	17,40%
<i>Auzat</i>	8,52%
<i>Cournon</i>	22,67%
<i>Dallet</i>	16,57%
<i>Issoire</i>	4,77%
<i>Les Martres-de-V.</i>	5,86%
<i>Longues</i>	8,43%
<i>Orsonnette</i>	3,44%
<i>Yronde</i>	22,81%

L'interprétation des résultats repose alors sur test exact de Fischer en fonction de la présence absence des espèces concernées (au seuil de significativité de 0,05 %). Il est donc possible de savoir si l'espèce en question répond favorablement ou défavorablement à l'endiguement.

2. Résultats

2.1. Résultats généraux

Vingt espèces de bivalves ont été détectées grâce à la méthode de l'ADNe (Tableau 4). Parmi ces taxons, 5 présentent un statut de conservation et/ou réglementaire suivant la liste rouge nationale (REGNIER *et al.*, 2021) : *Anodonta anatina*, *Anodonta cygnea*, *Margaritifera margaritifera*, *Potomida littoralis* et *Unio crassus* (Tableau 5). En outre, une espèce (*Sphaerium nucleus*) est classée en DD (« Data Deficient », manque de données). Enfin, un seul taxon est introduit : *Corbicula* sp. Il est à noter que le laboratoire qui a effectué les analyses indique que le genre *Corbicula* inclut *Corbicula fluminalis*, *Corbicula fluminea* et *Corbicula leana*. Au regard des critères conchyologiques, il semblerait que ce soit *Corbicula fluminea* qui soit présente.

Tableau 4 : Liste et fréquence des espèces de bivalves détectées

Espèces (nom français)	Espèces (nom latin)	Nombre de sites	Pourcentage
Corbicule	<i>Corbicula</i> sp.	10	100%
Mulette des rivières	<i>Potomida littoralis</i>	10	100%
Cyclade commune	<i>Sphaerium corneum</i>	7	70%
Cyclade de vase	<i>Sphaerium lacustre</i>	7	70%
Mulette des peintres	<i>Unio pictorum</i>	6	60%
Anodonte des étangs	<i>Anodonta cygnea</i>	5	50%
Pisidie robuste	<i>Euglesa casertana</i>	5	50%
Pisidie chiendent	<i>Euglesa subtruncata</i>	5	50%
Pisidie des sources	<i>Euglesa personata</i>	3	30%
Pisidie des rivières	<i>Odhneripisidium moitessierianum</i>	3	30%
Cyclade cerise	<i>Sphaerium nucleus</i>	3	30%
Mulette épaisse	<i>Unio crassus</i>	3	30%
Mulette méridionale	<i>Unio mancus</i>	3	30%
Anodonte des rivières	<i>Anodonta anatina</i>	2	20%
Pisidie des plaines	<i>Euglesa supina</i>	2	20%
Pisidie septentrionale	<i>Euglesa hibernica</i>	1	10%
Pisidie des rives	<i>Euglesa milium</i>	1	10%
Pisidie ubiquie	<i>Euglesa nitida</i>	1	10%
Mulette perlière	<i>Margaritifera margaritifera</i>	1	10%
Pisidie de vase	<i>Pisidium amnicum</i>	1	10%

Tableau 5 : Liste des espèces à enjeux de conservation et/ou de protection

Espèce – Nom français	Espèce – Nom latin	Liste rouge nationale (Régnier <i>et al.</i> , 2021)	Directive Habitats-Faune-Flore Statut de protection
Mulette perlière	<i>Margaritifera margaritifera</i>	EN	Annexe II et V Protégée au niveau national
Mulette des rivières	<i>Potomida littoralis</i>	EN	
Anodonte des rivières	<i>Anodonta anatina</i>	VU	
Anodonte des étangs	<i>Anodonta cygnea</i>	VU	
Mulette épaisse	<i>Unio crassus</i>	LC	Annexe II et IV Protégée au niveau national
Cyclade cerise	<i>Sphaerium nucleus</i>	DD	

La répartition du nombre d'espèces entre les stations fait très nettement ressortir celle de l'Alagnon (au niveau de la confluence) et celle de Longues avec respectivement 13 et 11 taxons (soit 65 % et 55 % de l'ensemble des espèces observées) (Tableau 6). A l'inverse, la station d'Auzat et celles des Martres-de-Veyre comptent peu d'espèces avec 3 et 5 (soit 15 et 25 %).

D'un point de vue longitudinal, il y a une relative augmentation du nombre de taxons entre Auzat et Longues, un décrochement aux Martres-de-Veyre et un niveau haut à partir de Cournon jusqu'à l'aval du site.

Tableau 6 : Nombre d'espèces par site de prélèvement

Point de prélèvement	Distance depuis l'amont du site Natura 2000 (en m)	Nombre d'espèces détectées	Pourcentage du total du nombre d'espèces détectées
Alagnon	7875	13	65%
Longues	40669	11	55%
Cournon	56824	9	45%
Issoire	23698	8	40%
Dallet	63962	8	40%
A89	73745	8	40%
Orsonnette	16498	7	35%
Yronde	32606	7	35%
Les Martres-de-V.	48576	5	25%
Auzat	8092	3	15%

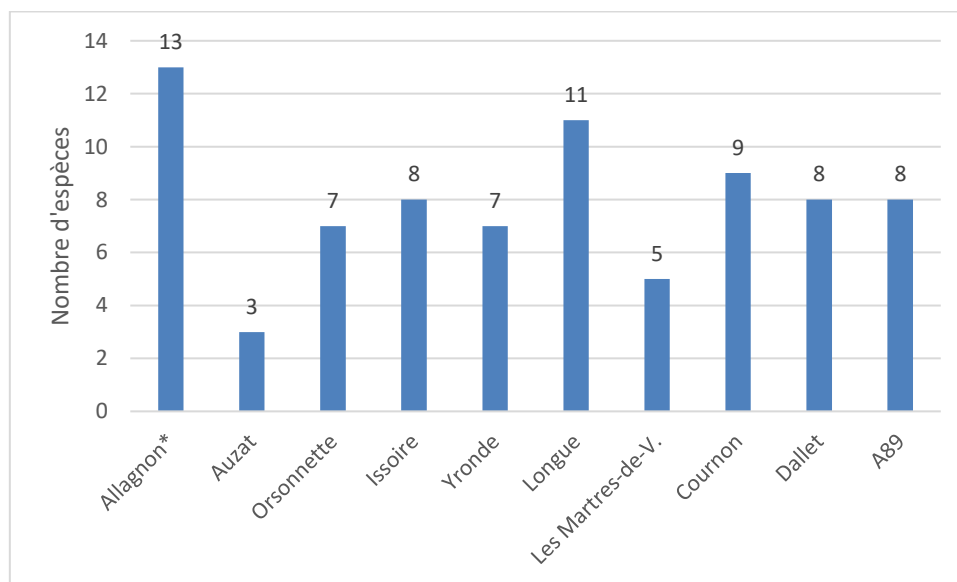


Figure 4 : Répartition longitudinale du nombre d'espèces par site de prélèvement

*Alagnon concerne un affluent de l'Allier. La mesure a été prise à la confluence

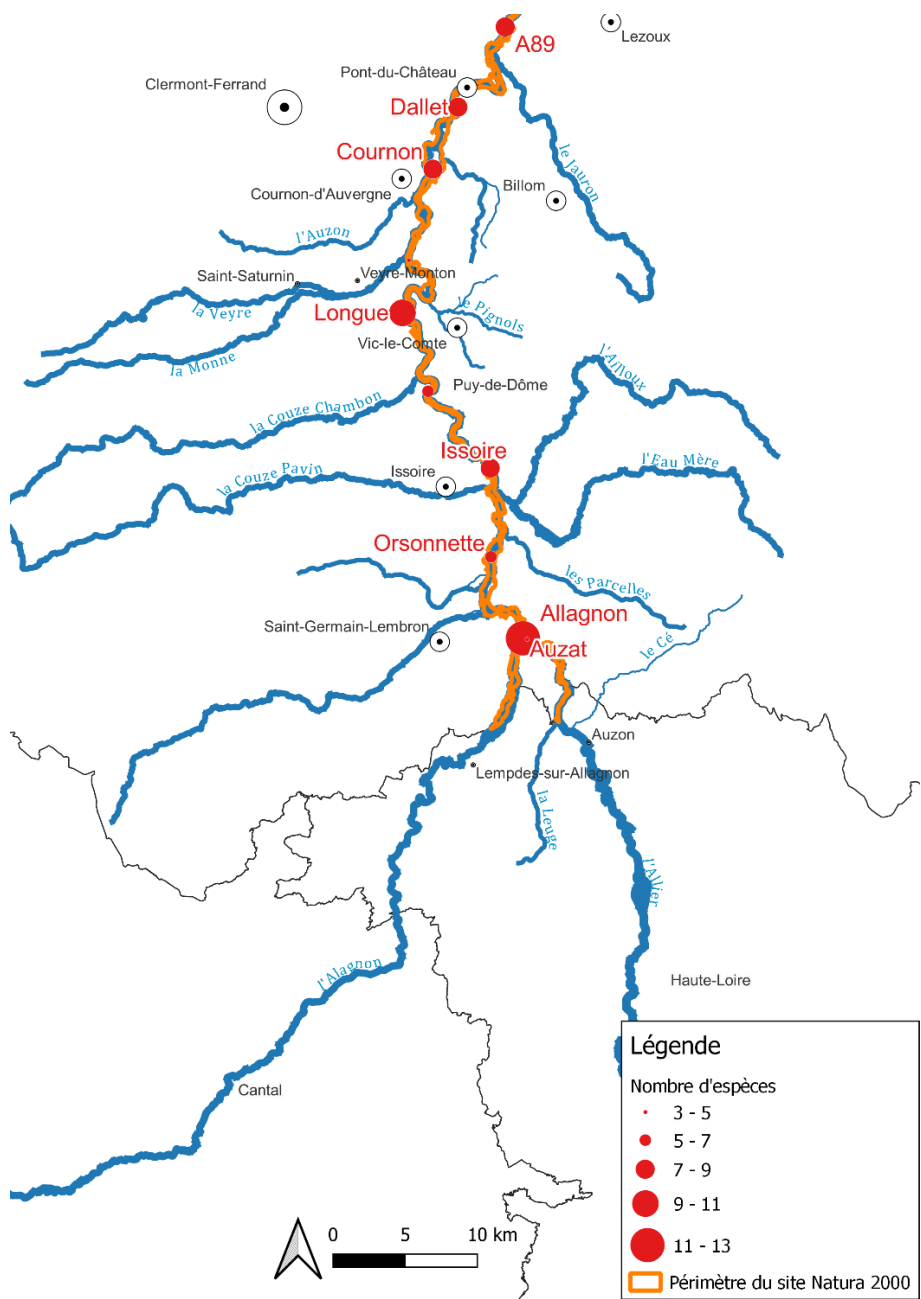


Figure 5 : Répartition du nombre d'espèces suivant les sites de prélèvement

2.2. *Margaritifera margaritifera*

La mulette perlière a fait l'objet d'une détection dans les analyses uniquement au niveau de l'Alagnon. Ce sont respectivement 26 et 78 séquences qui ont été dénombrées sur les 1^{er} et 2nd échantillons.

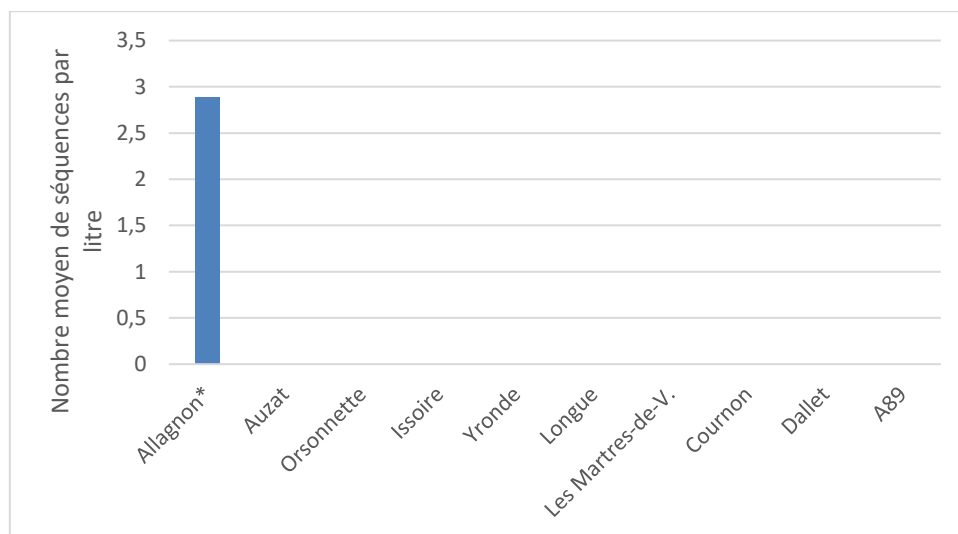


Figure 6 : Répartition longitudinale de *Margaritifera margaritifera* par site de prélèvement



Figure 7 : Coquille de *Margaritifera margaritifera*

VRIGNAUD S., 2022

2.3. *Potomida littoralis*

Potomida littoralis a été détecté sur tous les échantillons en des concentrations croissantes jusqu'à Cournon (Figure 9). Toutefois, le site de Longues présente une concentration très élevée. En outre, les concentrations sur l'Alagnon sont relativement faibles comparées aux autres points de prélèvement.

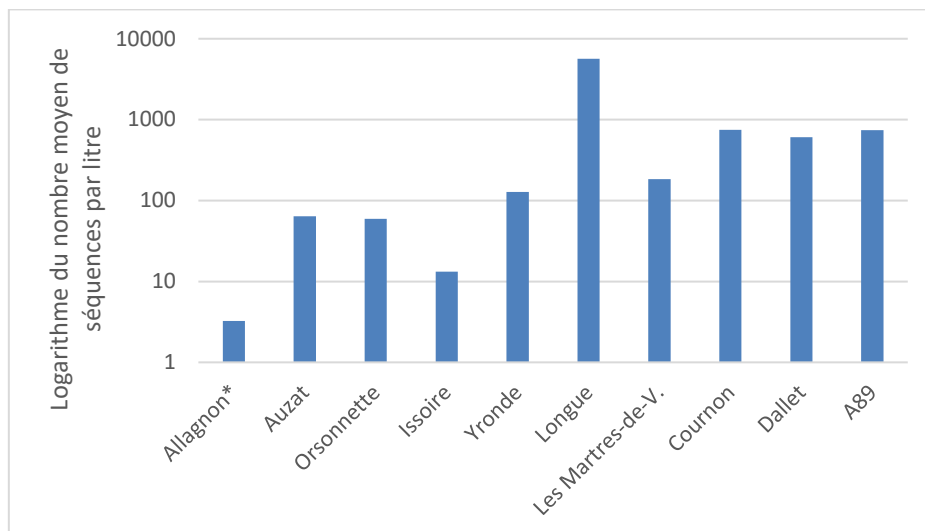


Figure 9 Répartition longitudinale de *Potomida littoralis* par site de prélèvement



Figure 10 : Coquille de *Potomida littoralis*

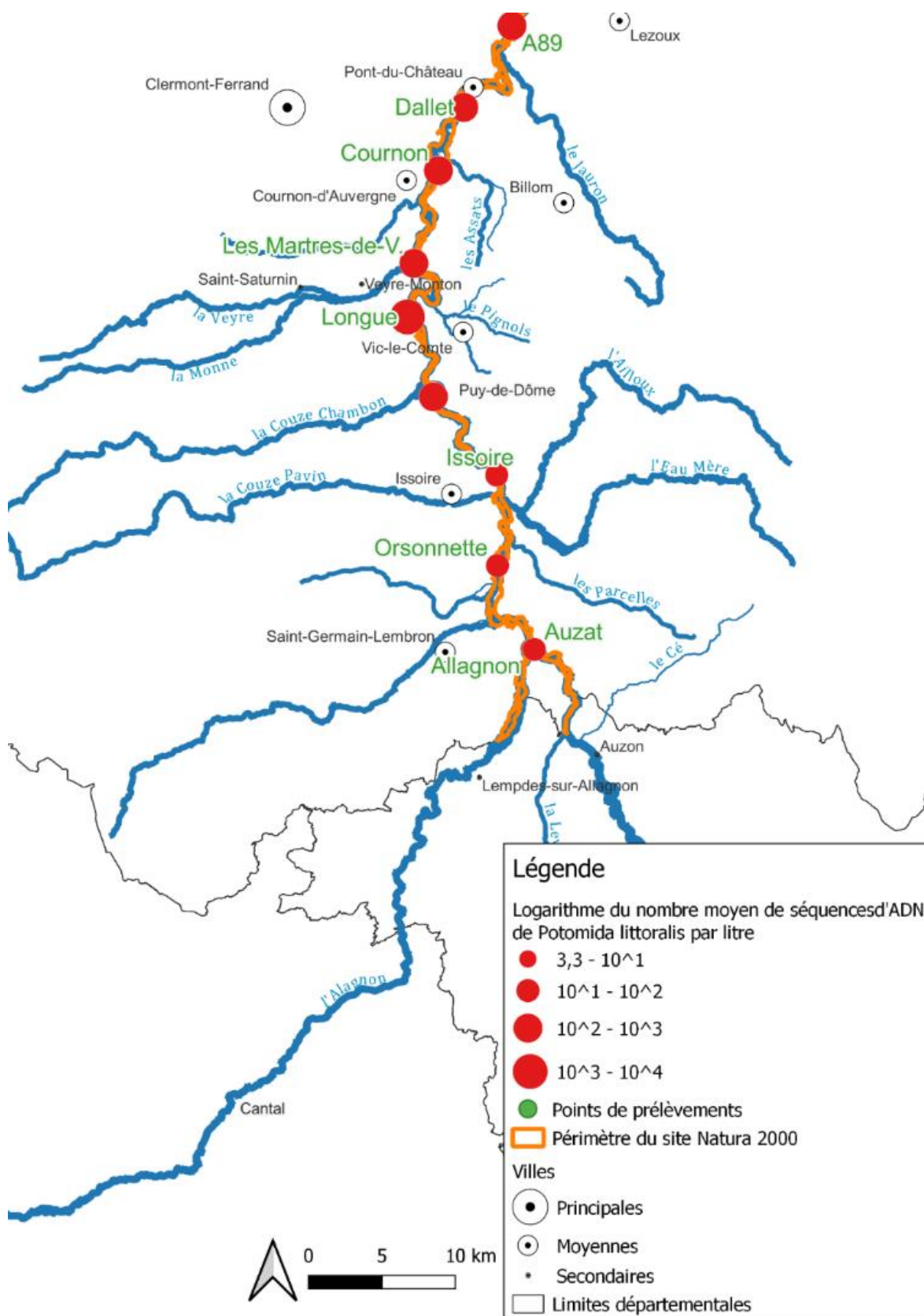


Figure 11 : Répartition géographique de *Potomida littoralis*

2.4. *Anodonta anatina*

Anodonta anatina n'est mentionnée que sur 2 sites : Orsonnette et Issoire (Figure 12). De plus, les concentrations moyennes de séquences par litre sont très faibles, elles n'excèdent guère une par litre.

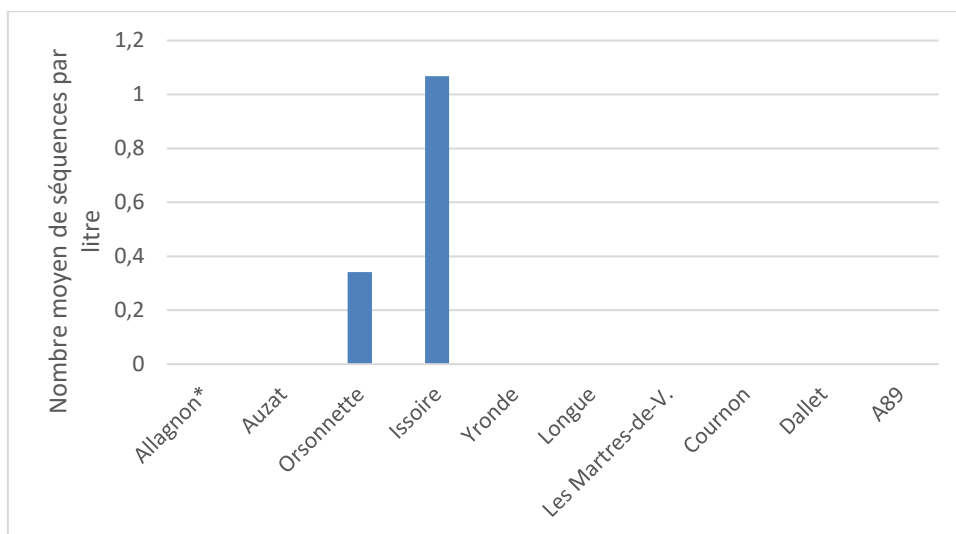


Figure 12 : Répartition longitudinale d'*Anodonta anatina* par site de prélèvement



Figure 13 : Coquille d'*Anodonta anatina*

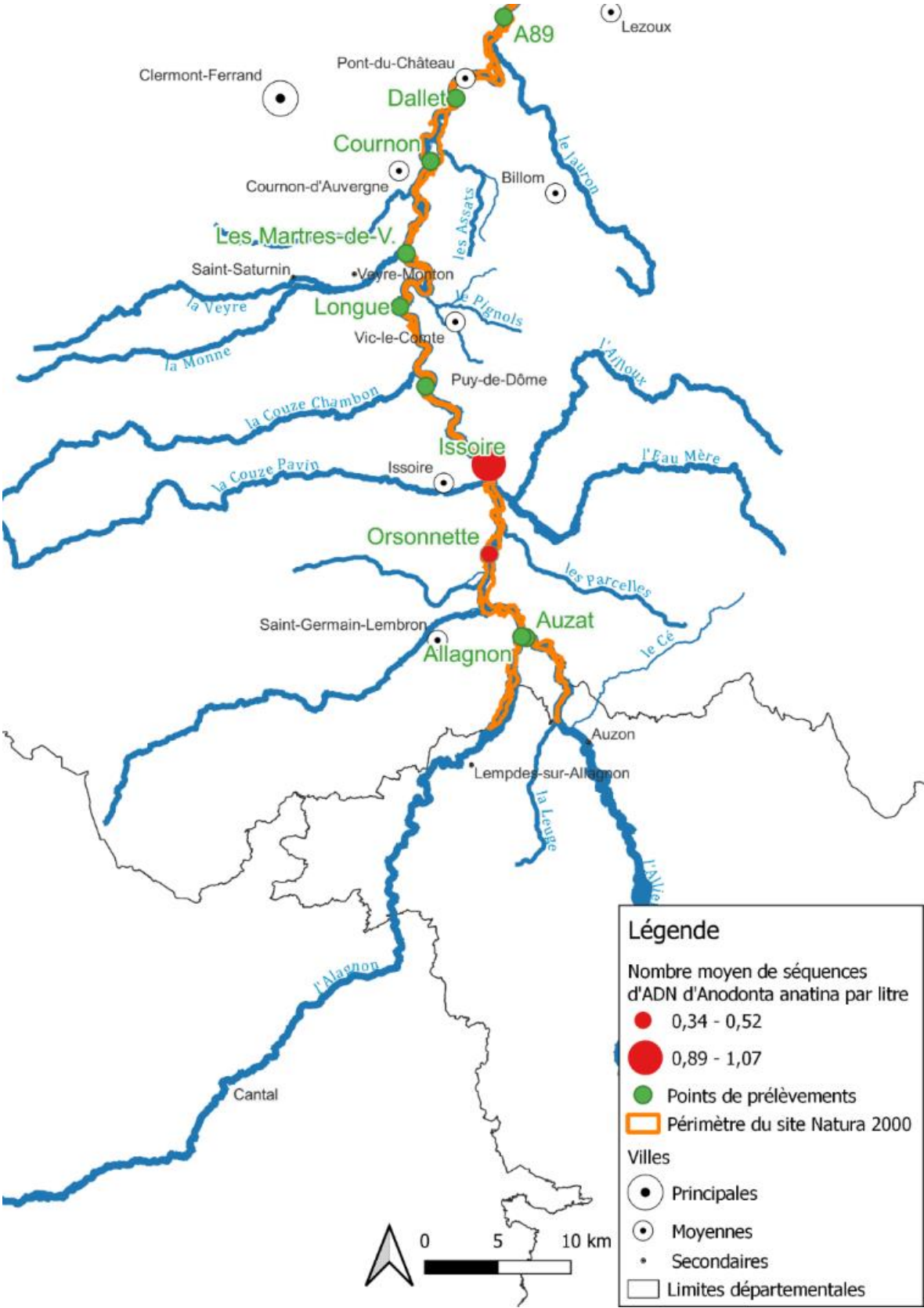


Figure 14 : Répartition géographique d'*Anodonta anatina*

2.5. *Anodonta cygnea*

Anodonta cygnea a fait l'objet de 5 détections sur 10, en position plutôt amont. Le nombre de séquences est plutôt faible (de l'ordre d'une par litre en moyenne) à l'exception d'Auzat où il est de plus de 10.

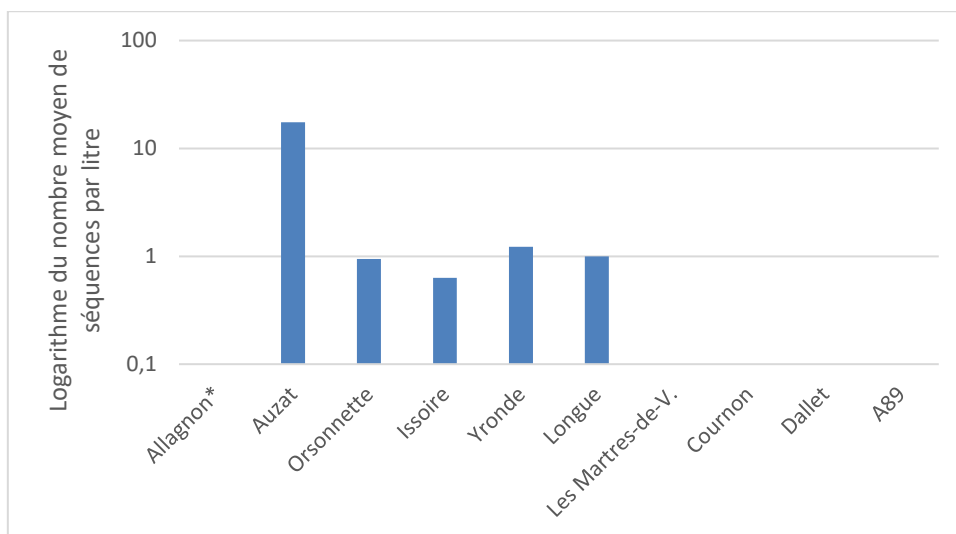


Figure 15 : Répartition longitudinale d'*Anodonta cygnea* par site de prélèvement



Figure 16 : Coquille d'*Anodonta cygnea*

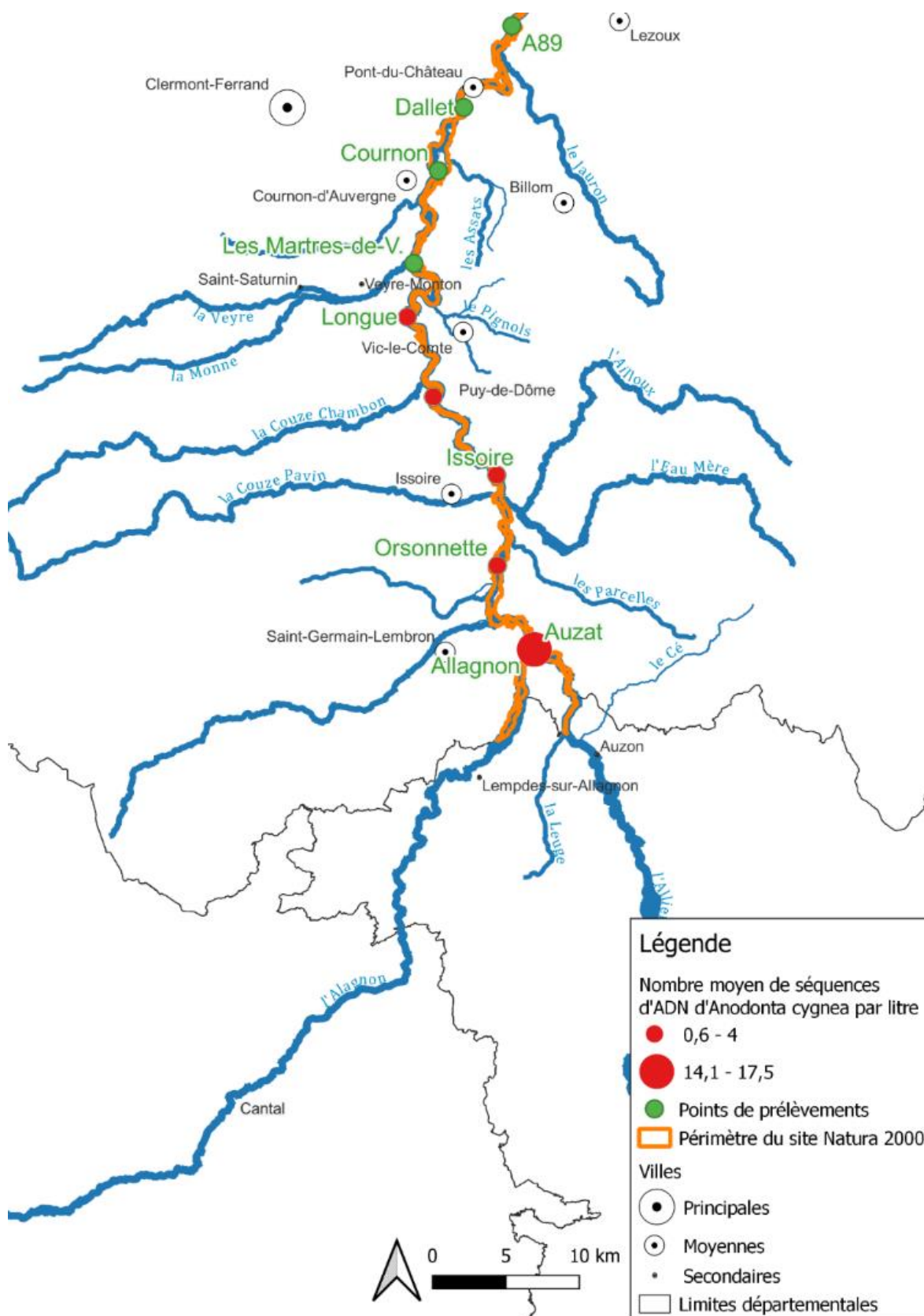


Figure 17 : Répartition géographique d'*Anodonta cygnea*

2.6. *Unio crassus*

Unio crassus fait l'objet de mentions surtout en amont sur site Natura 2000. Ainsi, il a été détecté sur l'Alagnon, à Orsonnette et à Yronde. Toutefois, on notera que sur ce dernier site les concentrations de séquences sont très faibles (moins d'une séquence par litre en moyenne).

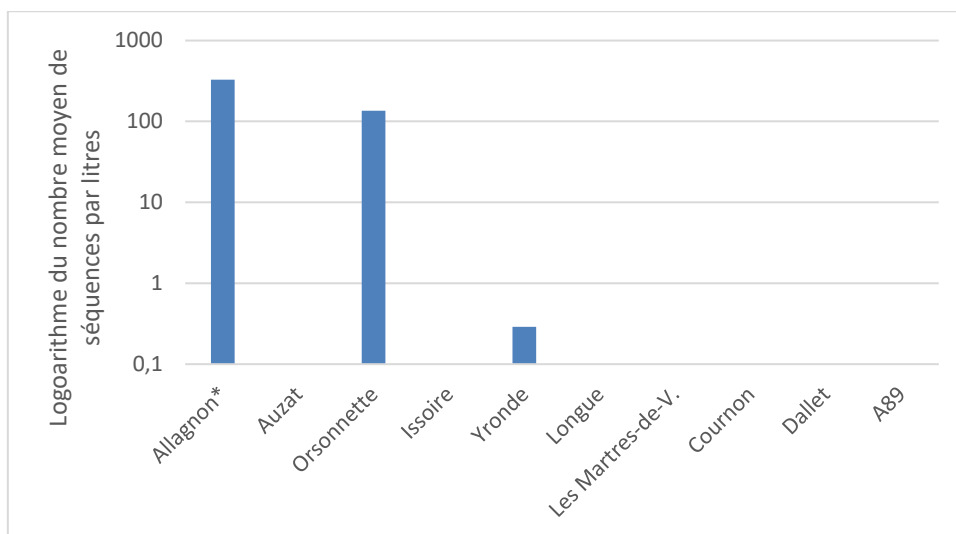


Figure 18 : Répartition longitudinale d'*Unio crassus* par site de prélèvement



Figure 19 : Coquille d'*Unio crassus*

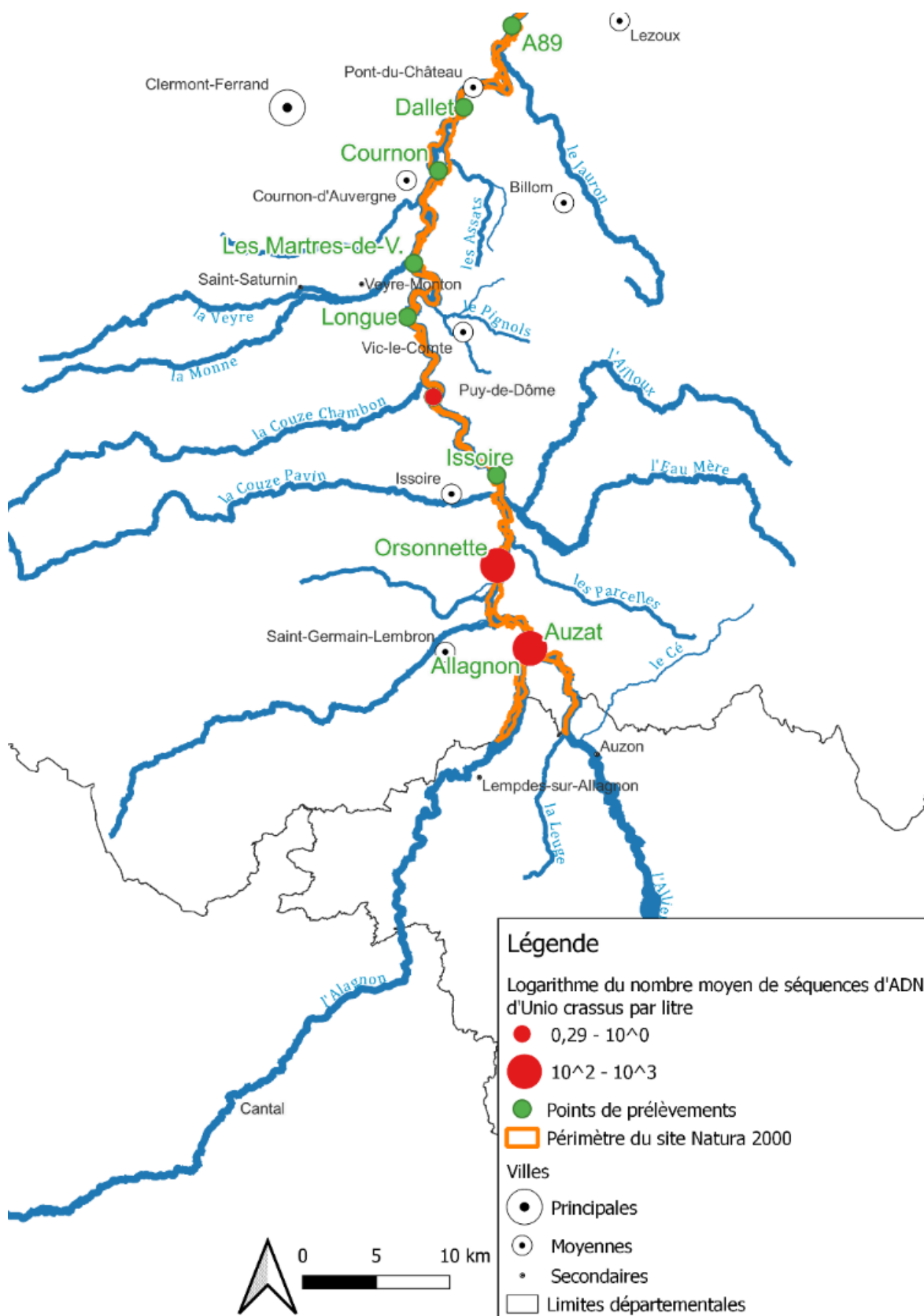


Figure 20 : Répartition géographique d'*Unio crassus*

2.7. *Sphaerium nucleus*

Sphaerium nucleus a été détecté 3 fois : sur l'Alagnon, à Dallet et à l'intersection entre l'Allier et l'A89 (Figure 20). On notera que sur l'Alagnon, les concentrations sont très faibles.

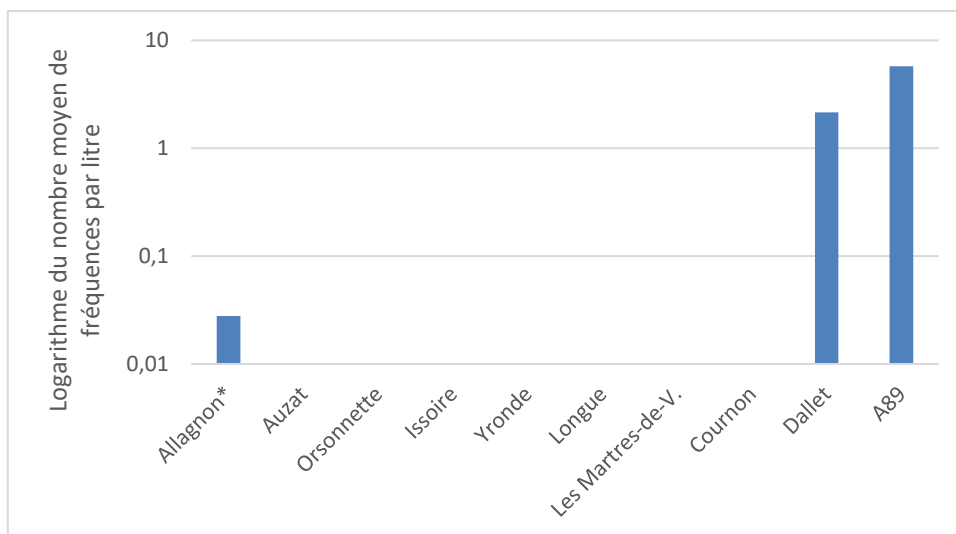


Figure 21 : Répartition longitudinale de *Sphaerium nucleus* par site de prélèvement



Figure 22 : Coquille de *Sphaerium nucleus* (site internet <https://www.conchology.be>)

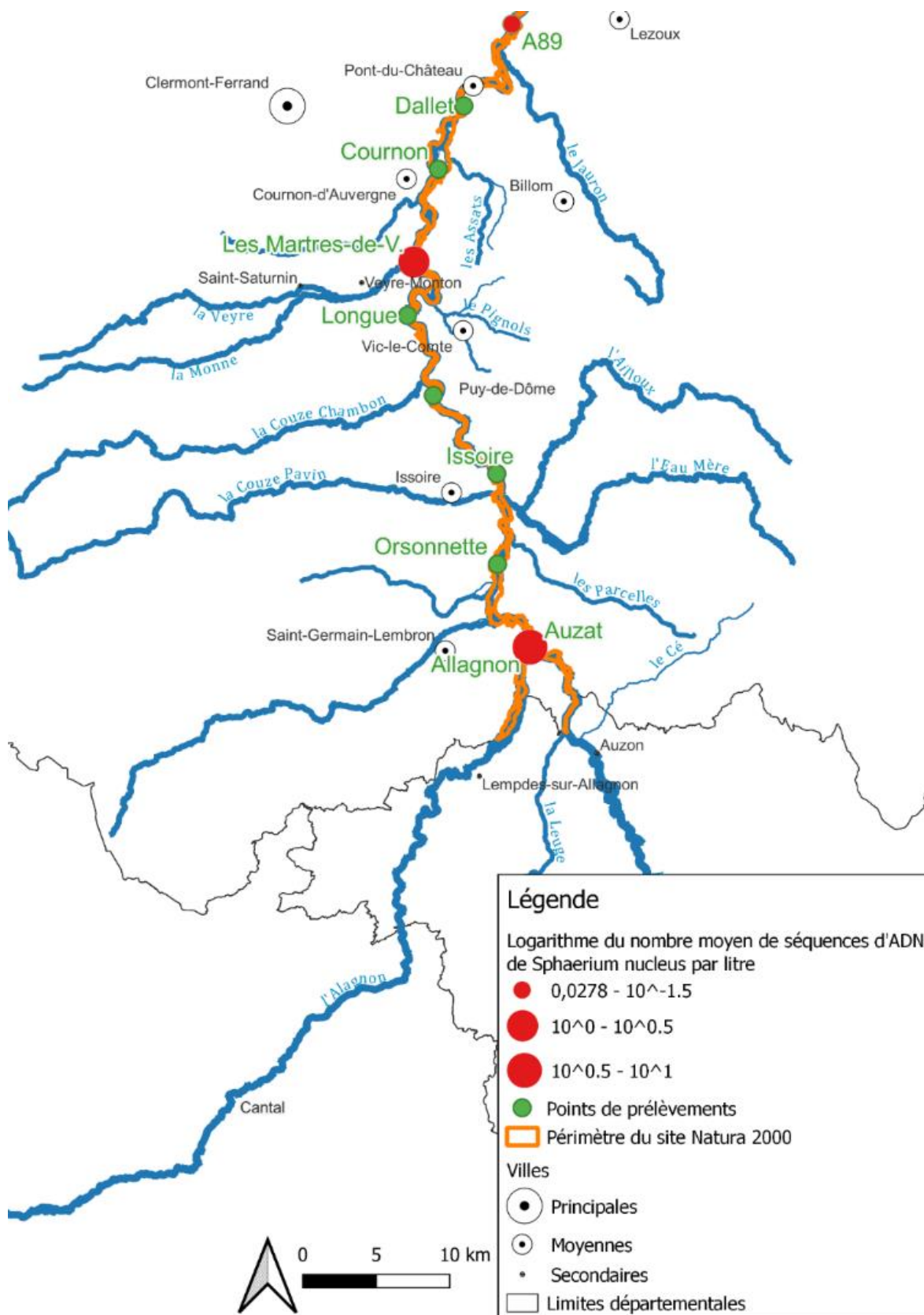


Figure 23 : Répartition géographique de *Sphaerium nucleus*

2.8. Variables environnementales

L'appréciation de la présence des espèces en fonction du pourcentage de berges endiguées peut s'effectuer en fonction de la réponse positive ou négative du bivalve en question. Ainsi, le Tableau 7 illustre l'effet de l'endiguement en fonction des espèces. On notera que la méthode de raisonnement consistant à comparer le pourcentage de longueurs endiguées en fonction de la présence/absence ne peut pas s'appliquer à une espèce présente dans 100 % des points de prélèvement ni à l'inverse à celle qu'avec une mention.

Sur l'ensemble des espèces pour lesquels le test a pu être réalisé (13 espèces), seules 4 présentent une réaction négative quant aux enrochements (Tableau 7) : *Anodonta cygnea*, *Euglesa subtruncata*, *Unio mancus* et *Anodonta anatina*.

Tableau 7 : Réponse des espèces à l'endiguement

Espèces (nom latin)	Nombre de sites	Pourcentage de points d'échantillonnage avec l'espèce concernée	Réponse à l'endiguement
<i>Corbicula sp.</i>	10	100%	NA
<i>Potomida littoralis</i>	10	100%	NA
<i>Sphaerium corneum</i>	7	70%	Positive
<i>Sphaerium lacustre</i>	7	70%	Positive
<i>Unio pictorum</i>	6	60%	Positive
<i>Anodonta cygnea</i>	5	50%	Négative
<i>Euglesa casertana</i>	5	50%	Positive
<i>Euglesa subtruncata</i>	5	50%	Négative
<i>Euglesa personata</i>	3	30%	Positive
<i>Odhneripisidium moitessierianum</i>	3	30%	Positive
<i>Sphaerium nucleus</i>	3	30%	Positive
<i>Unio crassus</i>	3	30%	Positive
<i>Unio mancus</i>	3	30%	Négative
<i>Anodonta anatina</i>	2	20%	Négative
<i>Euglesa supina</i>	2	20%	Positive
<i>Euglesa hibernica</i>	1	10%	NA
<i>Euglesa milium</i>	1	10%	NA
<i>Euglesa nitida</i>	1	10%	NA
<i>Margaritifera margaritifera</i>	1	10%	NA
<i>Pisidium amnicum</i>	1	10%	NA

3. Discussion

3.1. Discussion générale

En premier lieu, il est à noter que le nombre d'espèces détectées par l'ADNe est sans commune mesure comparé aux données déjà acquises par des prospections classiques. Ainsi, jusqu'alors, sur les 82 données-espèces connues dans un périmètre de 1 km autour du site Natura 2000 enregistrées au sein de l'INPN il y avait 13 espèces de bivalves. À l'issue de cette étude, le nombre de 20 espèces fait nettement augmenter proportionnellement le nombre d'espèces.

Tableau 8 : Espèces de bivalves connues et nombre de mentions dans les 1 km autour du site Natura 2000 (INPN, consulté le 20/10/2022)

Espèces	Nombre de mentions
Potomida littoralis	33
Corbicula fluminea	29
Unio mancus	5
Anodonta cygnea	2
Euglesa casertana	2
Sphaerium corneum	2
Sphaerium nucleus	2
Unio pictorum	2
Anodonta anatina	1
Euglesa personata	1
Euglesa subtruncata	1
Euglesa supina	1
Pisidium amnicum	1

Ces quelques données antérieures sur le secteur ou à proximité permettent une mise en perspective des données acquises dans le cadre de cette présente étude. De même, antérieurement, différents relevés ont été effectués (et sont en cours d'intégration au sein de l'INPN) :

- ❑ VRIGNAUD S., 2008. Recherche de Mollusques d'intérêt communautaire du réseau Natura 2000 sur l'axe Allier. 49 pages + annexes
- ❑ VRIGNAUD S., 2016. Les espèces face à l'instabilité des hydrosystèmes fluviaux : le cas de la moule épaisse *Unio crassus* Philipsson, 1788 (Mollusca : Bivalvia : Unionida). Mémoire de diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, 134 pages + annexes.
- ❑ Conseil Général du Puy-de-Dôme, 2018. Contournement de Pérignat-sur-Allier et Cournon d'Auvergne. Etude milieux naturels, flore et faune. 11 pages.
- ❑ VRIGNAUD S., 2021a. Recherche de mollusques aquatiques à enjeux réglementaires le long de l'Allagnon en vue de renforcements de berges d'une ligne SNCF. Rapport pour la SNCF. 12 pages + annexes
- ❑ VRIGNAUD S., 2022. Compte-rendu de la recherche de la moule épaisse *Unio crassus* au niveau du Saut du Loup (Auzat-la-Combelle et Beaulieu – Puy-de-Dôme) dans le cadre des travaux de la passe à poissons. Rapport pour la SNCF. 7 pages.

Par ailleurs, il est rappelé que les résultats ADNe reflètent les espèces présentes (ou absentes) sur une distance inconnue mais qui pourrait être de l'ordre de 5 km. Cependant, il est utile d'insister que cette distance reste d'une grande supputation.

Cette étude fait ressortir des espèces insoupçonnées sur ce périmètre telles que la moule perlière *Margaritifera margaritifera*. De même, il indique une présence continue tout le long du site de la moule des rivières *Potomida littoralis*, espèce considérée comme étant en danger d'extinction à l'échelle nationale. De même, la moule épaisse *Unio crassus* qui n'a pas fait l'objet d'observations directes sur le périmètre du site Natura 2000 est bien présente.

Ces données font donc grandement augmenter les connaissances. Toutefois, elles ne permettent pas d'apprécier l'état des populations et la fonctionnalité (recrutement suffisant) de celles-ci.

Il est intéressant de constater que certaines espèces introduites connues en France n'ont pas été détectées. Ce sont les dreissènes (*Dreissana polymorpha* et *Dreissena bugensis*), *Euglesa compressa* et *Sinanodonta woodiana*. Les dreissènes sont de véritables espèces ingénieurs par leurs concentrations et leur pouvoir de filtration. Elles sont tributaires de la navigation fluviale sur les cours d'eau. *Sinanodonta woodiana* atteint directement les naïades par le fait qu'elle se reproduit plus tôt que les espèces autochtones et qu'elle crée une résistance croisée des poissons-hôtes (DOUDA *et al.*, 2016). L'introduction de cette dernière espèce sonnerait le glas des naïades autochtones dans le secteur concerné.

La localisation des points a été choisie principalement en fonction de l'éloignement par rapport au point précédent afin d'obtenir une régularité de l'éloignement entre chaque point. L'inconvénient est que certains points de prélèvements se situent juste en aval de confluences avec des affluents pouvant héberger certaines espèces de bivalves. Aussi, il n'est pas toujours possible de discerner si le signal détecté provient de la rivière Allier ou d'un affluent proche.

Tableau 9 : Liste des affluents pouvant potentiellement influencer les résultats

Points de prélèvements	Affluents situés en amont
Alagnon	Néant
Auzat	Néant
Orsonnette	Le Lambronnet
	La Couze d'Ardes
Issoire	La Couze Pavin
	L'Eau Mère
	L'Ailloux
Yronde	Néant
Longues	Néant
Les Martres-de-Veyre	Néant
Cournon	L'Auzon
Dallet	Les Assats
A89	Le Jauron

3.2. *Margaritifera margaritifera*

La moule perlière fréquente les eaux relativement courantes (rithron et juste en aval) avec une préférence pour les plats courants. L'espèce est en régression en raison de l'absence de jeunes. Ces derniers n'arrivent pas à survivre du fait du colmatage sédimentaire (GEIST & AUERSWALD, 2007) et très probablement de l'instabilité sédimentaire (VRIGNAUD *et al.*, 2019).

La mention de la moule perlière sur l'Alagnon est particulièrement intéressante car l'espèce n'était pas connue dans ce secteur. Elle est connue en amont sur l'Allier, mais pas sur le bassin versant de l'Alagnon (Figure 24).

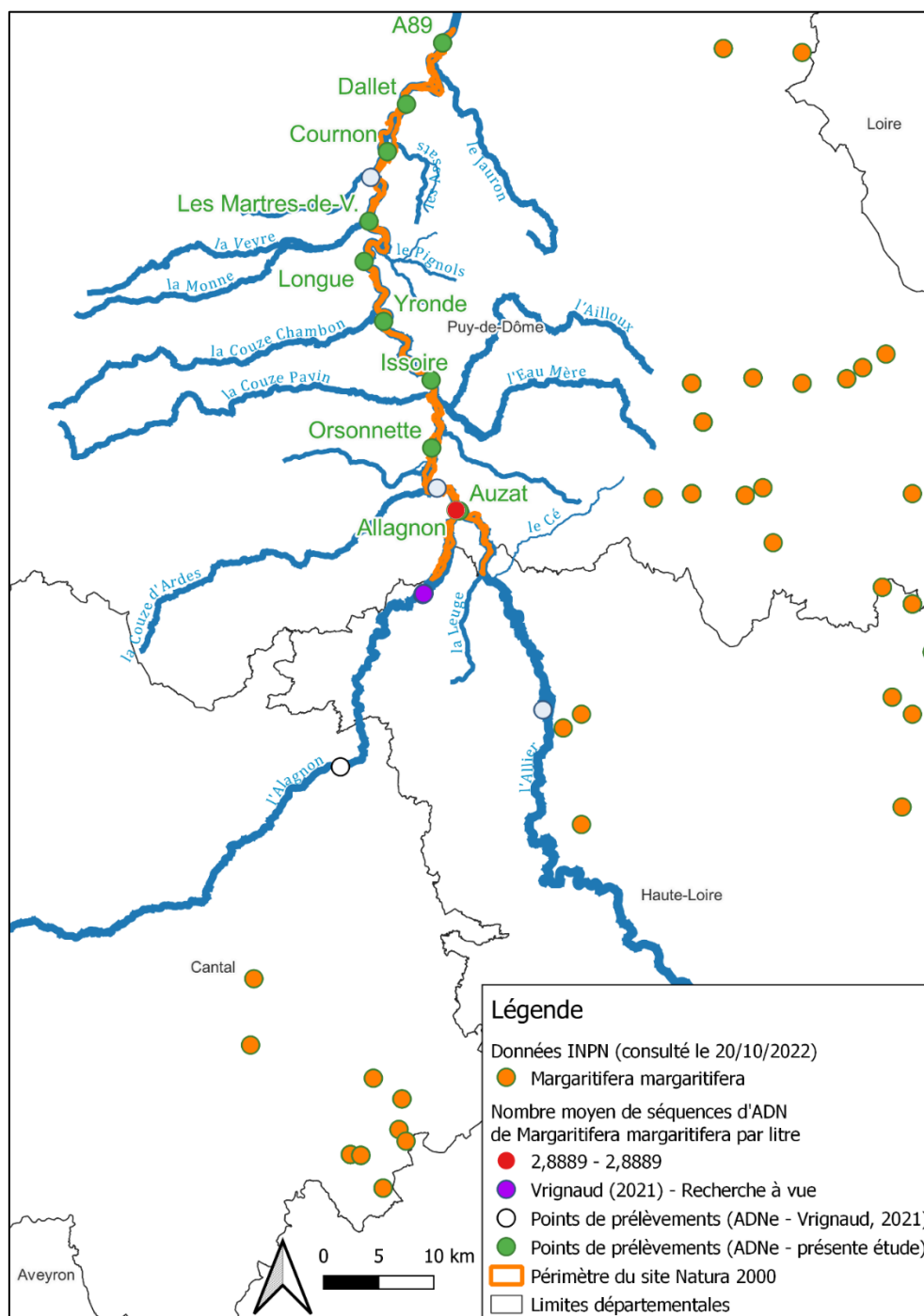


Figure 24 : Ensemble des données de *Margaritifera margaritifera* à proximité du site d'étude

Le signal est relativement faible. Cela est possiblement dû à des effectifs restreints et/ou à l'éloignement entre le point d'échantillonnage et les individus présents.

Une analyse d'ADNe avait été effectuée plus en amont sur l'Alagnon (commune de Molompize, Cantal) (Figure 24) dans le cadre de l'étude d'impact portant sur la réfection de la ligne SNCF, mais elle n'avait pas fait apparaître la présence de la mulette perlière ni d'aucune autre naïade par ailleurs (VRIGNAUD, 2021a). De même, des recherches à vue ont été effectuées aux abords du pont SNCF de Lempdes-sur-Allagnon (VRIGNAUD, 2021a) et du pont SNCF du Saut du Loup, commune de Beaulieu (Puy-de-Dôme) (VRIGNAUD, 2022) sans observation de la mulette perlière.

A titre de comparaison, sur le Boën (un cours d'eau de quelques mètres de large et un débit de 2 à 3 mètres cubes par seconde), le niveau du signal était de 5,6 séquences par litre (180 séquences pour 14 minutes et 18 minutes). Sur ce site, un seul individu avait été observé en amont (Vrignaud, 2021b).

Par contre, il n'est pour l'heure pas possible de savoir où se trouve le ou les individus présents sur la rivière, ni leurs effectifs, ni la pyramide des âges et donc la fonctionnalité de la population concernée. Une recherche plus approfondie (visuelle et/ou ADNe) permettrait d'affiner la localisation des individus encore présents.

3.3. *Potomida littoralis*

Potomida littoralis est une espèce particulièrement en régression. En effet, (PRIÉ *et al.*, 2014) estiment que l'espèce a perdu 75 % de son aire de répartition durant le siècle dernier en France ce qui en fait une des espèces de naïade les plus menacées.

Les causes précises de régression de cette espèce demeurent inconnues. Il en est de même de sa biologie (PRIÉ, 2017). Toutefois, on notera que l'espèce fréquente les secteurs à la limite du rithron et du potamon (tout comme *Unio crassus*).

L'omniprésence de *Potomida littoralis* sur les points d'échantillonnage est une excellente nouvelle renforçant ainsi le rôle de l'Allier dans la conservation de cette espèce (bien qu'elle ne bénéficie d'aucun statut de conservation réglementaire). Les concentrations relativement élevées de séquences traduisent très certainement des concentrations d'individus plutôt intéressantes. Ainsi, bien que les observations visuelles soient très peu nombreuses, l'espèce semble bien présente.

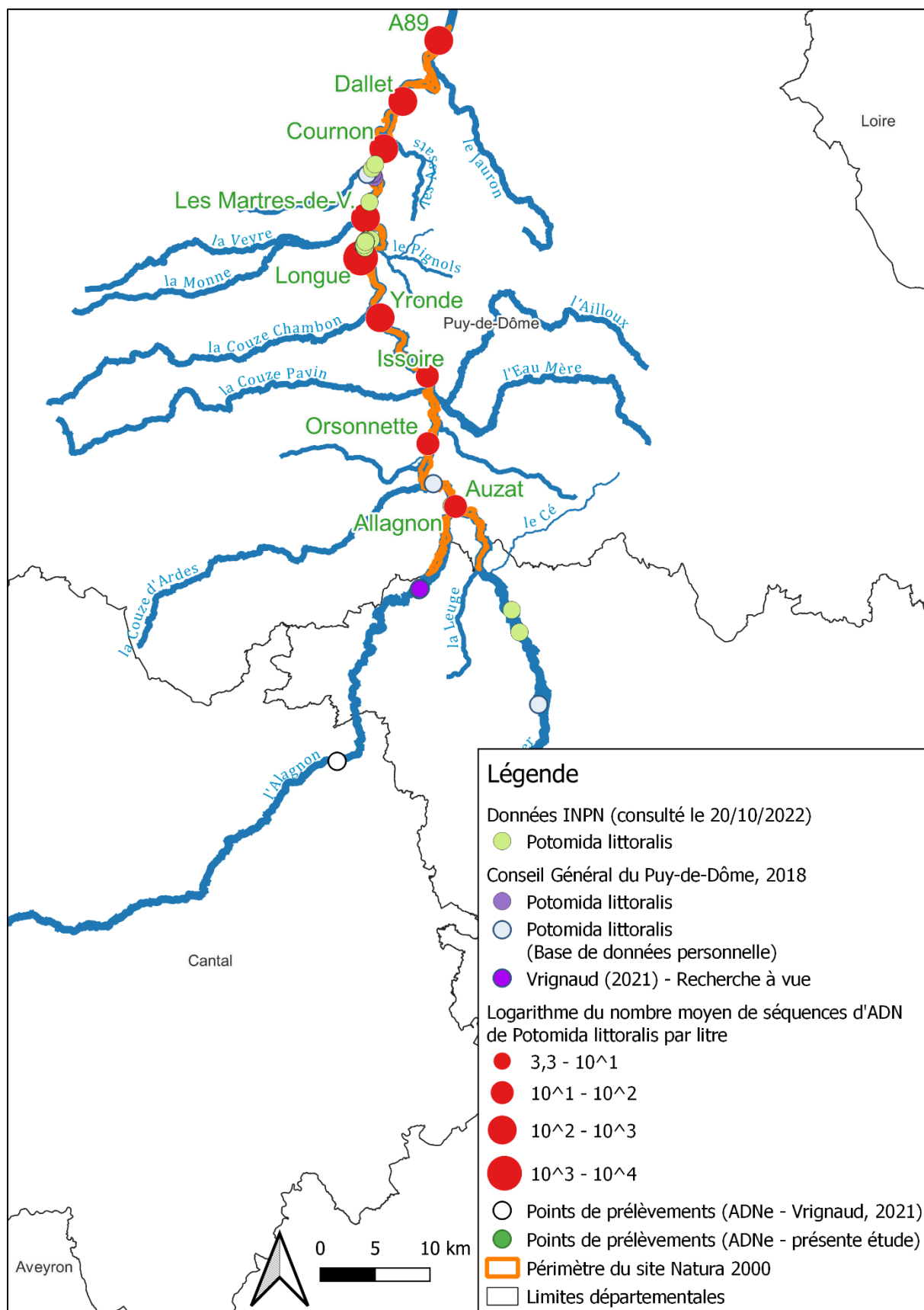


Figure 25 : Ensemble des données de Potomida littoralis à proximité de la zone d'étude

3.4. *Anodonta anatina*

Anodonta anatina est une espèce relativement commune qui est classée vulnérable en France (REGNIER *et al.*, 2021) du fait de la compétition exercée par *Sinanodonta woodiana*. Cette dernière vient en effet concurrencer les naïades autochtones lors de la phase de parasitisme en se fixant avant les autres sur les branchies et en développant une immunité croisée du poisson-hôte.

Anodonta anatina fréquente les eaux stagnantes à légèrement courante. Sa biologie n'est pas très bien connue, mais comme la majorité des anodontes, les poissons-hôtes sont diversifiés.

La faible proportion de points avec la présence d'*Anodonta anatina* est surprenante. Cette espèce qui possède une assez grande plasticité en termes d'habitats pourrait potentiellement être présente sur l'ensemble du cours de l'Allier sur la zone d'étude au minimum. Cette faible présence est possiblement liée à la construction des renforts de berges qui augmentent l'instabilité sédimentaire comme en témoignent les résultats de présence/absence en fonction de la proportion de berges avec enrochement (Tableau 7).

L'espèce avait fait l'objet de mentions à proximité et notamment sur les bassins versants de l'Allier (Figure 26). Cette présence autour du site d'étude est possiblement le fait d'introductions locales à la faveur de constructions d'étangs et d'empoissonnement par des poissons infectés.

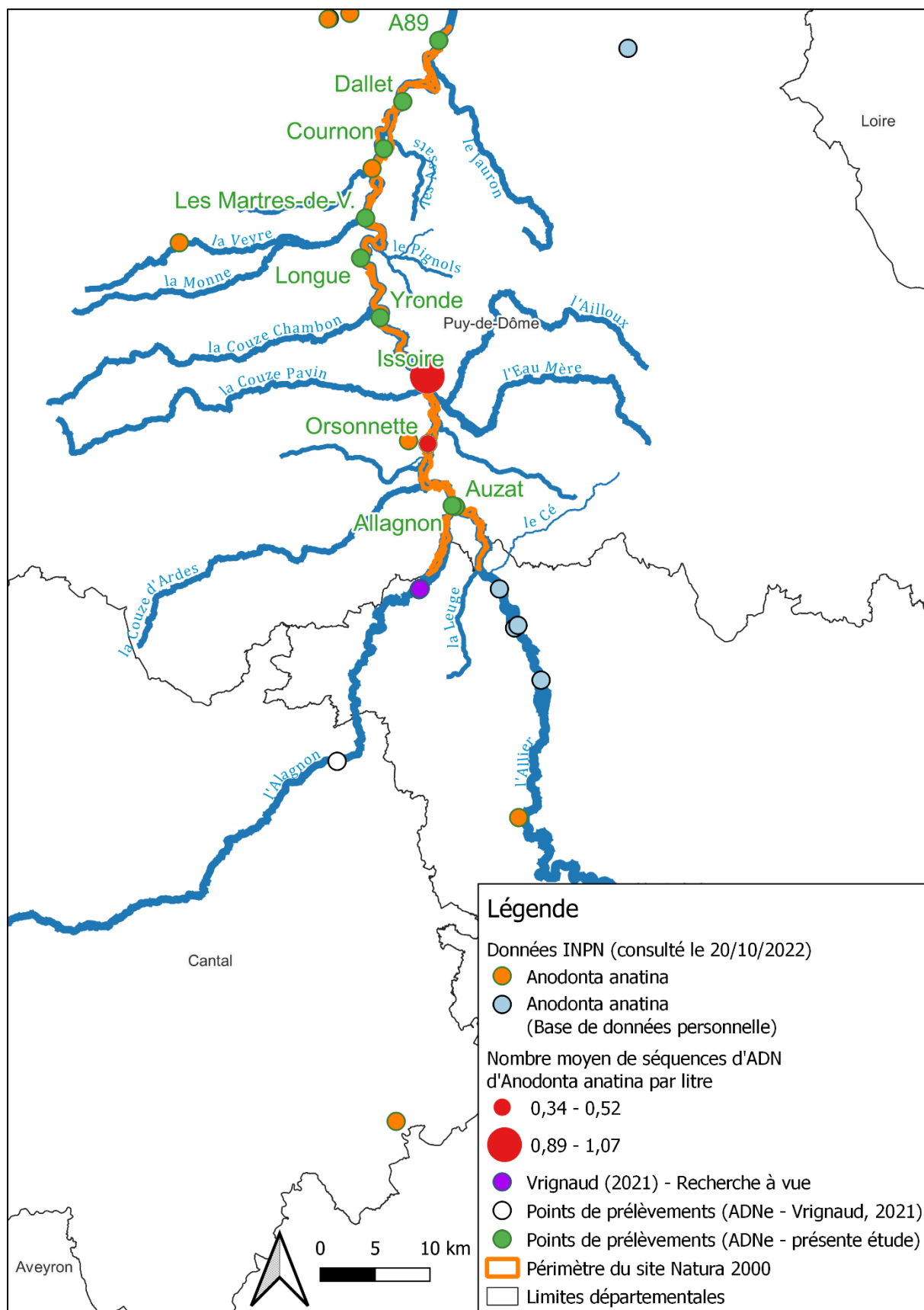


Figure 26 : Ensemble des données d'*Anodonta anatina* à proximité de la zone d'étude

3.5. *Anodonta cygnea*

Tout comme *Anodonta anatina*, *Anodonta cygnea* est classée vulnérable en France (REGNIER *et al.*, 2021) pour les mêmes raisons.

Cette espèce fréquente exclusivement les eaux stagnantes. Il se pourrait bien que les bras morts soient l'habitat primaire de cette espèce. Elle serait alors localement introduite dans les étangs et autres eaux stagnantes.

L'endiguement altère ainsi le fonctionnement hydrologique et hydromorphologique des rivières en diminuant la connectivité des boires avec ces dernières. Ainsi, cela peut expliquer la corrélation négative qu'il y a entre la présence d'*Anodonta cygnea* et la proportion de berges renforcées (Tableau 7).

Les données issues de l'ADNe reflètent bien les connaissances antérieures sur la répartition de l'espèce (Figure 27). En effet, elle n'était connue, sur le cours de l'Allier, qu'en amont de Longues.

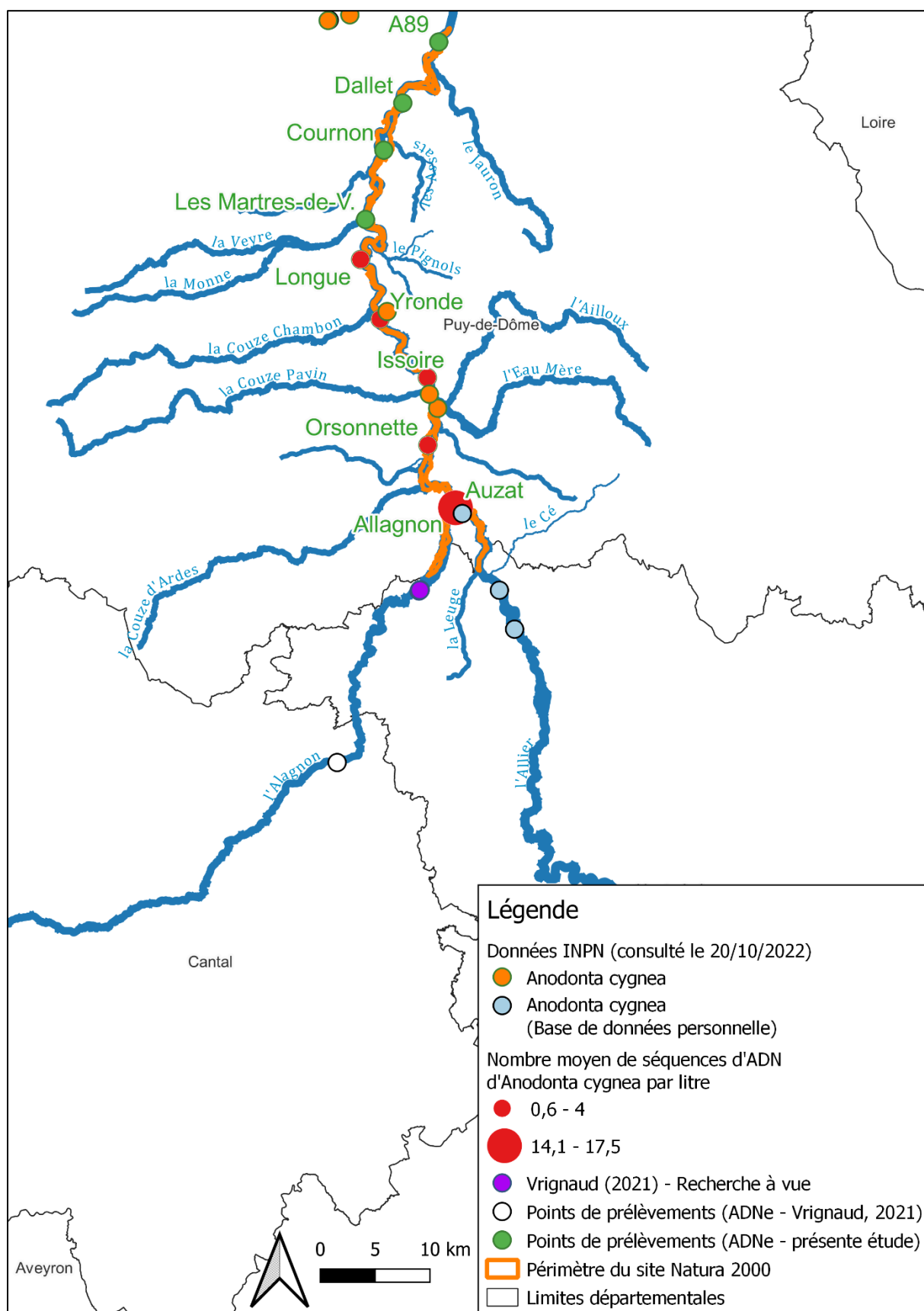


Figure 27 : Ensemble des données d'*Anodonta cygnea* à proximité de la zone d'étude

3.6. *Unio crassus*

Unio crassus fréquente les eaux courantes entre les rithron et le potamon. L'espèce a connu une forte régression sur le bassin versant de la l'Allier où elle pourrait possiblement être classée vulnérable (voire pire) au regard des critères de l'UICN (VRIGNAUD, 2016).

Cette naïade est connue sur le bassin versant de l'Allier : la Bieudre, la Sonnante, l'Andelot (dans l'Allier) et la Morge (dans le Puy-de-Dôme) (VRIGNAUD, 2016 ; Figure 28). Très récemment, l'espèce a été découverte sur l'Alagnon (commune de Lempdes-sur-Alagnon) (VRIGNAUD, 2021a). Cette récente découverte laisse à penser que des populations peuvent subsister plus en aval et notamment dans le site Natura 2000 FR8301038 « Val d'Allier Alagnon ».

Par ailleurs, la littérature grise ancienne et l'analyse des données muséologiques témoignent d'une réelle abondance de la mulette épaisse, au moins plus en aval sur le bassin versant de l'Allier (Vrignaud 2016).

L'analyse de la répartition passée et actuelle au regard des variables environnementales fait ressortir deux causes de régression : l'incision des rivières (entraînant une instabilité sédimentaire) et la dilution des poissons-hôtes primaires par des espèces introduites (Vrignaud 2016). Aussi, une prise en compte de cette espèce est nécessaire pour tout projet pouvant potentiellement modifier tant les critères biotiques qu'abiotiques de son habitat.

Les données acquises par cette présente étude étendent l'aire de répartition connue de l'espèce plus en aval (depuis Lempdes-sur-Alagnon). La donnée de Cournon (Conseil Général du Puy-de-Dôme, 2018) n'a pas été reconfirmée lors de cette présente étude. Cela pourrait traduire une sous-détection et/ou une régression de l'espèce.

Il paraît donc nécessaire de surveiller cette espèce de plus près. En effet, les analyses ADNe bien que très intéressantes pour déterminer la présence/absence des espèces n'apporte aucun élément concernant la fonctionnalité des populations. Et il n'est pas à exclure, au regard de ces résultats partiels sur Cournon que les populations soient vieillissantes et donc sans recrutement suffisant pour compenser la mortalité.

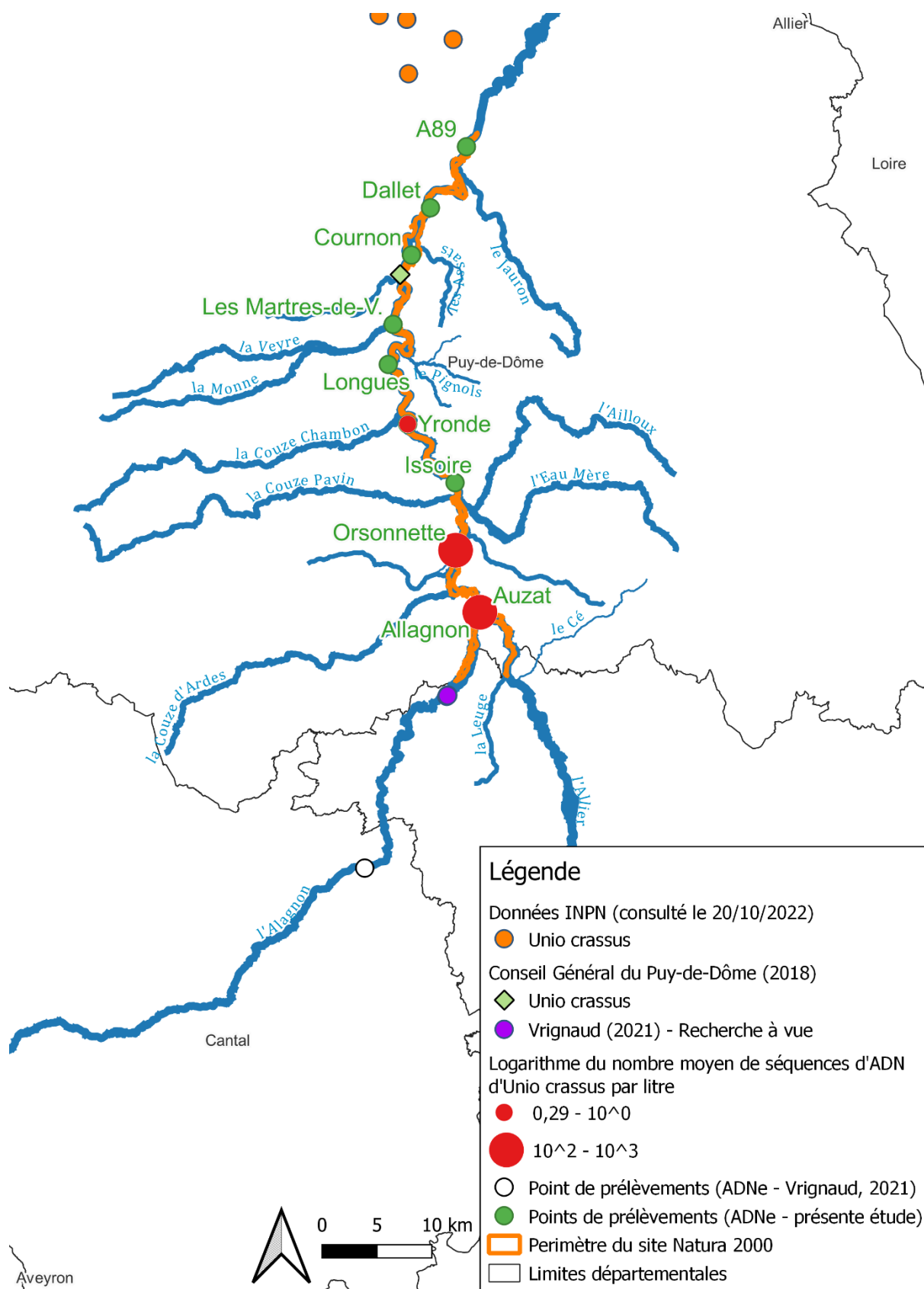


Figure 28 : Ensemble des données d'Unio crassus à proximité de la zone d'étude

3.7. *Sphaerium nucleus*

L'écologie, la biologie et la répartition de *Sphaerium nucleus* sont mal connues du fait probablement de la confusion avec *Sphaerium corneum* (PIECHOCKI & WAWRZYNIAK-WYDROWSKA, 2016). Il fréquente les eaux calmes ou stagnantes à végétation riche et dense (Prié, 2017). PIECHOCKI & WAWRZYNIAK-WYDROWSKA (2016) indique que l'espèce fréquente les flaques forestières, les mares, les ceintures de roseaux, les fossés de drainage, les mares et les bras morts. Ces derniers auteurs rajoutent que *Sphaerium nucleus* préfère les sédiments vaseux.

Les données antérieures étaient peu nombreuses. *Sphaerium nucleus* était mentionné en amont d'Auzat et en amont de Cournon (Figure 29). Toutefois, pour ce dernier site, il n'y a pas de relevé positif sur le site de prélèvement de Cournon. Cette situation est surprenante et révèle possiblement une sous-détection par l'utilisation de l'ADNe et/ou un éloignement trop important par rapport aux individus situés en amont.

Mais avec 3 sites de présence, on notera que cette espèce demeure localisée à l'échelle du site Natura 2000.

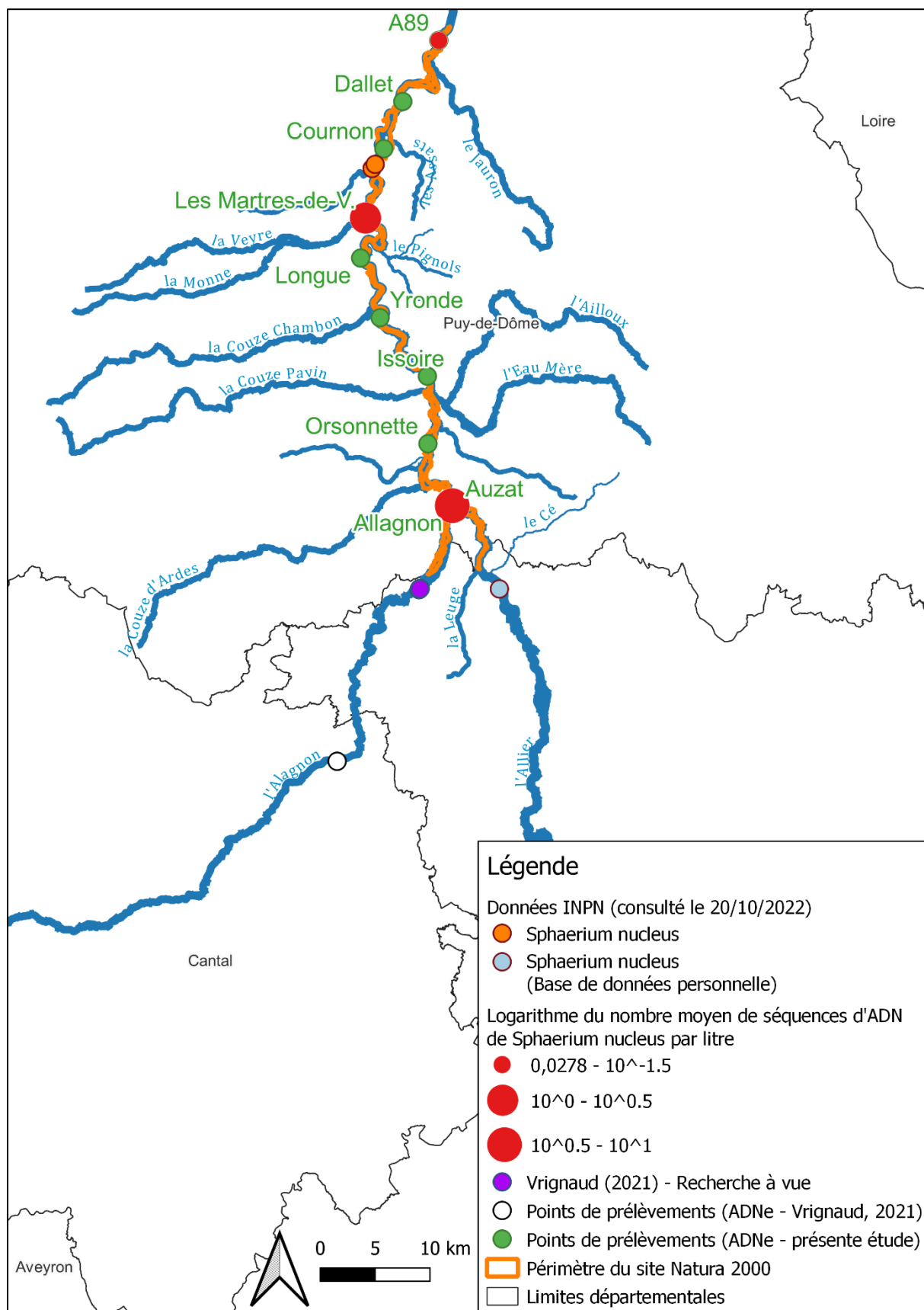


Figure 29 : Ensemble des données de Sphaerium nucleus à proximité de la zone d'étude

3.8. Variables environnementales

Parmi les variables environnementales considérées comme potentiellement explicative de la présence des espèces, seul le pourcentage d'enrochement des berges a été pris en compte. D'autres variables pourraient potentiellement avoir des effets (variables hydromorphologiques telles que le paramètre de shields), mais leur acquisition nécessite des mesures beaucoup plus complexes non prises dans cette présente étude.

Ces résultats ne reposent que sur 9 échantillons et doivent donc être pris avec beaucoup de précaution.

Le niveau d'enrochement pourrait contribuer à un effet délétère sur les anodontes (*Anodonta cygnea* et *Anodonta anatina*). Plusieurs raisons peuvent expliquer cet effet : l'enrochement favorise l'instabilité sédimentaire que les Anodontes n'apprécient pas, l'enrochement favorise la déconnection des bras morts où se situe principalement ces espèces, l'enrochement favorise l'incision de la rivière et assèche les bras morts où se trouvent les anodontes.

L'effet positif que pourrait avoir l'enrochement sur les autres espèces (dont *Unio crassus*) n'est pas forcément un lien de causalité. D'autant plus qu'*Unio crassus* est sensible à l'instabilité sédimentaire (Vrignaud, 2016). Par contre, certaines naïades peuvent profiter des interstices des enrochements pour trouver des habitats de substitution à l'abri des courants les plus rapides (observation personnelle). Les enrochements peuvent ainsi avoir un effet localement positif sur la présence de ce genre d'espèce. Mais à plus grande échelle, l'effet demeure négatif en raison des effets induits des renforcements de berges : incision et instabilité sédimentaire sur un long linéaire (bien au-delà de l'enrochement lui-même).

Au regard de ces éléments et des espèces à enjeux, l'effacement des enrochements pourrait être profitable aux bivalves. Mais il serait préférable que des possibilités de recolonisation puissent s'effectuer par des populations satellitaires.

Conclusion

La technique de l'ADN environnemental permet une détection d'espèces difficilement observables. Elle est à ce titre intéressante. Toutefois, elle ne permet pas de savoir quels sont les effectifs, quelle est la distance séparant les individus du point de prélèvement, ni de connaître la fonctionnalité de la population (recrutement suffisant par rapport à la mortalité). Dans le cas présent, cette technique a fait ressortir une présence insoupçonnée de *Margaritifera margaritifera* sur l'Alagnon. Elle a aussi fait ressortir qu'*Unio crassus*, principale espèce recherchée, était bien présente, mais sur la partie amont du site. Ces deux espèces bénéficient d'un statut de protection réglementaire en plus d'être respectivement en annexe II et V, II et IV.

L'omniprésence de *Potomida littoralis* est particulièrement intéressante du fait du statut très défavorable de l'espèce en France (en danger selon REGNIER *et al.*, 2021). Enfin, on notera l'effet très probablement limitatif de l'enrochement des berges sur la présence d'*Anodonta cygnea* et *Anodonta anatina*. Ces deux espèces sont actuellement classées comme vulnérables sur la liste rouge nationale (REGNIER *et al.*, 2021).

Au regard de ces résultats quelques actions pourraient être intéressantes à mettre en œuvre :

- Recherche de la population de *Margaritifera margaritifera* et appréciation de la fonctionnalité de celle-ci
- Action de désenrochement : cette action mérite toutefois un examen préalable pour effectuer une pêche de sauvegarde des éventuels naïades présentes entre les rochers.
- Suivi des populations : les populations peuvent difficilement être suivies visuellement (difficulté de prospection et dangerosité). Aussi la répétition de cette opération de prélèvements et d'analyses de l'ADNe pourrait permettre un suivi des concentrations de séquences à plus long terme (avec une périodicité de 10 ans, par exemple). Toutefois, cela nécessite que la technique d'extraction de l'ADN reste la même pour qu'une comparaison puisse être effectuée.

Références bibliographiques

- CONSEIL GENERAL DU PUY-DE-DOME, 2018. Contournement de Pérignat-sur-Allier et Cournon d'Auvergne. Etude milieux naturels, flore et faune. 11 pages.
- DOUDA K., VELÍŠEK J., KOLÁŘOVÁ J., RYLKOVÁ K., SLAVÍK O., HORKÝ P., LANGROVÁ I., 2016. Direct impact of invasive bivalve (*Sinanodonta woodiana*) parasitism on freshwater fish physiology: evidence and implications. *Biological invasions*. Doi: 10.1007/s10530-016-1319-7
- GANGLOFF M. M., FEMINELLA J. W., 2007. Stream channel geomorphology influences mussel abundance in southern Appalachian streams, U.S.A. *Freshwater Biology*, 52, 64-74. DOI:10.1111/j.2365-2427.2006.01673.x
- GEIST, J. & AUERSWALD K., 2007. Physicochemical stream bed characteristics and recruitment of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*). *Freshwater Biology* 52: 2299-2316.
- LYDEARD C., COWIE R. H., PONDER W. F., BOGAN A. E., BOUCHET P., CLARK S. A., CUMMINGS K. S., FREST T. J., GARGOMINY O., HERBERT D. G., HERSHLER R., PEREZ K. E., ROTH B., SEDDON M., STRONG E. E., THOMPSON F. G., 2004. The global decline of non-marine mollusks. *BioScience*, 54, 321-330.
- PRIE V., 2017. Naïades et autres bivalves d'eau douce de France. Biotope, Mèze, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (collection Inventaires & biodiversité), 336 pages.

- PRIE V., LOPES-LIMA M., TABERLET P., VALENTINI A., POULET N., JEAN P., BREUGNOT E., COUPRIE S., JARDIN G., ROSET N., VIGNERON T., LAMAND F., GARGOMINY O., ROCLE M., DEJEAN T., 2020. Large scale monitoring of freshwater bivalves : an eDNA point of view on species distribution and conservation. 15 pages. DOI : 10.22541/au.158888143.31089837
- PRIE V., MOLINA Q., GAMBOA B., 2014. French naiad (Bivalvia : Margaritiferidae, Unionidae) species distribution models : prediction maps as tools for conservation. *Hydrobiologia*, 735, 81-94. DOI : 10.1007/s10750-013-1597-3
- PRIE V., PUILLANDRE N., 2014. Molecular phylogeny, taxonomy, and distribution of French *Unio* species (Bivalvia, Unionidae). *Hydrobiologia*, 735, 95-110. DOI: 10.1007/s10750-013-1571-0
- REGNIER C., PRIE V., BERNARD Y., BICHAIN J.-M., COMBRISSE D., CUCHERAT X., GARGOMINY O., LECAPLAIN B., LEONARD L., NAUDON D., ROY C., RYELANDT J., BARAUD L., JEUSSET A., KIRCHNER F. & GIGOT G., 2021. La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Mollusques continentaux de France métropolitaine - Résultats d'évaluation. UICN Comité français, OFB & MNHN.
- VRIGNAUD S., 2008. Recherche de Mollusques d'intérêt communautaire du réseau Natura 2000 sur l'axe Allier. 49 pages + annexes
- VRIGNAUD S., 2016. Les espèces face à l'instabilité des hydrosystèmes fluviaux : le cas de la mulette épaisse *Unio crassus* Philipsson, 1788 (Mollusca : Bivalvia : Unionida). Mémoire de diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, 134 pages + annexes.
- VRIGNAUD S., LELIEVRE H., MARTIN Y. & BRUNOD P., 2019. Identification des variables environnementales locales régissant la répartition des mulettes perlières sur le site Natura 2000 FR8302040 « rivières à Moules perlières de l'Ance du nord et de l'Arzon ». Rapport pour le Parc Naturel Régional Livradois-Forez. 46 pages + annexes.
- VRIGNAUD S., 2021a. Recherche de mollusques aquatiques à enjeux réglementaires le long de l'Allagnon en vue de renforcements de berges d'une ligne SNCF. Rapport pour la SNCF. 12 pages + annexes
- VRIGNAUD S., 2021b. Recherche d'ADN Environnemental de la mulette perlière et de zones potentielles de réintroduction sur le site Natura 2000 FR8201768 - Ruisseaux à moule perlière du Boën, du Ban et Font d'Aix. Rapport pour le Syndicat Mixte des Monts de la Madeleine. 23 Pages + annexes
- VRIGNAUD S., 2022. Compte-rendu de la recherche de la mulette épaisse *Unio crassus* au niveau du Saut du Loup (Auzat-la-Combelle et Beaulieu – Puy-de-Dôme) dans le cadre des travaux de la passe à poissons. Rapport pour la SNCF. 7 pages.
- WILCOX T. M., MCKELVEY K. S., YOUNG M. K., SEPULVEDA A. J., SHERPARD B. B., JANES S. F., SCHWARTZ M. K., 2016. Understanding environmental DNA detection probabilities : a case study using stream-dwelling char *Salvelinus fontinalis*. *Biological Conservation* 194 : 209-2016.

Annexe 1 : Ensemble des résultats d'ADNe

			A89	A89	Alagnon	Alagnon	Auzat	Auzat
			SPY213808	SPY213809	SPY213826	SPY213827	SPY213824	SPY213825
Temps de filtration (en minutes)			20	15	18	18	23	28
Ordre	Taxon	Base de référence	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN
Unionida	<i>Anodonta anatina</i>	SPYGEN						
Unionida	<i>Anodonta cygnea</i>	SPYGEN					120	832
Unionida	<i>Margaritifera margaritifera</i>	SPYGEN			26	78		
Unionida	<i>Potomida littoralis</i>	SPYGEN	9 289	17 234	90	27	1 211	2 112
Unionida	<i>Unio crassus</i>	SPYGEN			4 719	7 154		
Unionida	<i>Unio mancus</i>	SPYGEN						
Unionida	<i>Unio pictorum</i>	GenBank		18				
Venerida	<i>Corbicula sp.</i>	SPYGEN	450 528	309 059	7 640	19 910	51 092	47 473
Venerida	<i>Euglesa casertana</i>	SPYGEN		43	908	108		
Venerida	<i>Euglesa hibernica</i>	SPYGEN		17				
Venerida	<i>Euglesa milium</i>	SPYGEN			53			
Venerida	<i>Euglesa nitida</i>	SPYGEN			58			
Venerida	<i>Euglesa personata</i>	SPYGEN			1 100	18		
Venerida	<i>Euglesa subtruncata</i>	SPYGEN			916	43		
Venerida	<i>Euglesa supina</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Odhneripisidium moitessierianum</i>	SPYGEN			166	13		
Venerida	<i>Pisidium amnicum</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Sphaerium corneum</i>	SPYGEN		119	265	66		
Venerida	<i>Sphaerium lacustre</i>	SPYGEN	12		1 838	181		
Venerida	<i>Sphaerium nucleus</i>	SPYGEN	63	146	12			

			Cournon	Cournon	Dallet	Dallet	Issoire	Issoire
			SPY213812	SPY213815	SPY213810	SPY213811	SPY213820	SPY213821
Temps de filtration (en minutes)			15	15	15	13	20	19
Ordre	Taxon	Base de référence	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN
Unionida	<i>Anodonta anatina</i>	SPYGEN					28	14
Unionida	<i>Anodonta cygnea</i>	SPYGEN						24
Unionida	<i>Margaritifera margaritifera</i>	SPYGEN						
Unionida	<i>Potomida littoralis</i>	SPYGEN	4 192	18 190	10 122	6 990	280	236
Unionida	<i>Unio crassus</i>	SPYGEN						
Unionida	<i>Unio mancus</i>	SPYGEN					12	28
Unionida	<i>Unio pictorum</i>	GenBank	20		91	19	537	637
Venerida	<i>Corbicula sp.</i>	SPYGEN	275 479	72 553	377 246	200 140	57 236	82 907
Venerida	<i>Euglesa casertana</i>	SPYGEN	73					
Venerida	<i>Euglesa hibernica</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Euglesa milium</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Euglesa nitida</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Euglesa personata</i>	SPYGEN	13					
Venerida	<i>Euglesa subtruncata</i>	SPYGEN	16					15
Venerida	<i>Euglesa supina</i>	SPYGEN	43		15			
Venerida	<i>Odhneripisidium moitessierianum</i>	SPYGEN			21			
Venerida	<i>Pisidium amnicum</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Sphaerium corneum</i>	SPYGEN	36		38	19		
Venerida	<i>Sphaerium lacustre</i>	SPYGEN	12		18			12
Venerida	<i>Sphaerium nucleus</i>	SPYGEN			52	11		

Temps de filtration (en minutes)			Les Martres-de-V	Les Martres-de-V	Longues	Longues	Orsonnette	Orsonnette
			SPY213813	SPY213814	SPY213816	SPY213817	SPY213822	SPY213823
			25	19	19	19	19	22
Ordre	Taxon	Base de référence	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN	Nombre de séquences ADN
Unionida	<i>Anodonta anatina</i>	SPYGEN					15	
Unionida	<i>Anodonta cygnea</i>	SPYGEN				38	16	23
Unionida	<i>Margaritifera margaritifera</i>	SPYGEN						
Unionida	<i>Potomida littoralis</i>	SPYGEN	5 653	2 699	112 750	102 717	1 303	1 097
Unionida	<i>Unio crassus</i>	SPYGEN					1 789	3 879
Unionida	<i>Unio mancus</i>	SPYGEN					21	17
Unionida	<i>Unio pictorum</i>	GenBank			22	226	37	73
Venerida	<i>Corbicula sp.</i>	SPYGEN	200 942	216 348	86 139	470 780	54 003	39 080
Venerida	<i>Euglesa casertana</i>	SPYGEN		23		57		
Venerida	<i>Euglesa hibernica</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Euglesa milium</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Euglesa nitida</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Euglesa personata</i>	SPYGEN				110		
Venerida	<i>Euglesa subtruncata</i>	SPYGEN		60		52		
Venerida	<i>Euglesa supina</i>	SPYGEN						
Venerida	<i>Odhneripisidium moitessierianum</i>	SPYGEN				52		
Venerida	<i>Pisidium amnicum</i>	SPYGEN				40		
Venerida	<i>Sphaerium corneum</i>	SPYGEN		165		813		
Venerida	<i>Sphaerium lacustre</i>	SPYGEN				41		
Venerida	<i>Sphaerium nucleus</i>	SPYGEN						

Annexe 2 : Informations diverses sur les points d'échantillonnage

Site de prélèvement	Ecart par rapport au point amont précédent	Distance cumulée	x	y	Longueur endiguée (en m)	Longueur de rivière (en m)	Pourcentage endigué
Allagnon*	7875**	7875	723634.4531	6483502.873	NA	NA	NA
Auzat	8092**	8092	723932.3562	6483428.941	3229	18953	17,03%
Orsonnette	8406	16498	721422.9668	6489145.498	1542	22431	6,87%
Issoire	7200	23698	721372.1297	6495295.115	2615	27419	9,54%
Yronde	8908	32606	717065.8624	6500619.111	3847	8434	45,61%
Longues	8063	40669	715295.1689	6506053.042	2560	15185	16,86%
Les Martres-de-V.	7907	48576	715738.3885	6509699.868	2886	24621	11,72%
Cournon	8248	56824	717407.3762	6516008.9	8715	19218	45,35%
Dallet	7138	63962	719133.1777	6520312.632	4415	13323	33,14%
A89	9783	73745	722409.6797	6525868.453	4713	13543	34,80%

* point en dehors de la rivière Allier

** Distance par rapport à l'amont du site Natura 2000

NA = données non acquises

Coordonnées en Lambert 93