

**MISE AU POINT D'UN PROTOCOLE DE QUANTIFICATION
(SUR LA BASE D'UNE COMPARAISON DE MÉTHODES)
DES POPULATIONS DE DREISSÈNES
(*DREISSENA POLYMORPHA* ET *DREISSENA ROSTRIFORMIS BUGENSIS*)
AU SEIN DU LÉMAN ET PREMIÈRES ÉVALUATIONS IN SITU**

**DEVELOPMENT OF A PROTOCOL TO QUANTIFY
(BASED ON A COMPARISON OF METHODS)
DREISSENIID POPULATIONS
(*DREISSENA POLYMORPHA* AND *DREISSENA ROSTRIFORMIS BUGENSIS*)
IN LAKE GENEVA AND THE FIRST IN-SITU EVALUATIONS**

CAMPAGNE 2022

PAR

Jean-Nicolas BEISEL¹, Isabelle DOMAIZON², Stéphan JACQUET², Jean GUILLARD², Nicolas TRUNFIO¹, Clément RAUTUREAU², Jonathan GRIMOND³, Frédéric RIMET², Marine VAUTIER²

¹ UNIVERSITÉ DE STRASBOURG, ENGEES - 1, COUR DES CIGARIÈRES - CS 61039 - F-67070 Strasbourg

² STATION D'HYDROBIOLOGIE LACUSTRE (UMR CARRTEL, INRA, USMB), CS 50511, FR - 74203 THONON-LES-BAINS Cedex

³ SUBBEAR STUDIES – BUREAU D'ÉTUDES TECHNIQUE EIRL, 29 ROUTE DE RIOLON, FR - 58290 SERMAGES

RÉSUMÉ

L'objectif principal de cette étude était d'investiguer comment quantifier les densités de dreissènes au sein du Léman dans une tranche d'eau allant de la surface à au moins 100 m de profondeur. Trois approches complémentaires ont été utilisées et comparées afin d'atteindre cet objectif. Tout d'abord, des protocoles de ciblage moléculaire par ADN et ARN environnemental ont été développés en laboratoire, puis déployés sur le terrain jusqu'à 230 m de profondeur (prélèvements à 2 m du fonds) pour évaluer leur efficacité. Ensuite, des plongeurs ont réalisé un échantillonnage quantitatif de quadrats prélevés dans la zone littorale (5 à 50 m), à l'aplomb des sites échantillonnés pour l'ADN/ARN environnemental. Enfin, des prises de vues (photos et vidéos) ont été effectuées à l'aide d'un ROV filaire pour examiner les surfaces de recouvrement jusqu'à 125 m de profondeur, sur les mêmes stations qu'en ADN/ARNe. Ces approches ont été mises en œuvre à deux périodes de l'année (mars et juin 2022) le long de deux transects contrastés (Excenevex et St Disdille). La complémentarité des trois méthodes permet (i) de discuter des déterminants des densités et biomasses, et (ii) fournit des informations originales sur les densités en place et l'expansion de la quagga.

Des amorces spécialement conçues pour ce projet se sont avérées efficaces pour distinguer les deux espèces en ADN et ARNe et d'une manière semi quantitative (ddPCR). Le signal des zebra était très faible, tout comme les densités observées au sein des quadrats : 1 à 25 individus dans les 15 quadrats sur 48 où elle était présente, soit 2 % au maximum des dreissènes et quasi exclusivement à une profondeur de 5 m. L'analyse d'images acquises par ROV a permis de montrer le contraste entre les 40-50 premiers mètres, saturés ou quasi saturés de recouvrements de dreissènes, et des profondeurs plus importantes. Les valeurs de recouvrement à 125 m avoisinaient 10 % de la surface examinée et il est certain que le front de progression se situe au-delà.

En termes de densité, il est rarissime d'avoir moins de 1000 ind./m² entre 5 et 50 m de profondeur, les densités moyennes étant de 5000 ind./m² et au maximum de 18.000 ind./m². C'est à 5 m (zone de plus fort brassage des eaux ?) qu'il y a le moins de quagga et à 15 m qu'il y en a le plus. Dans ces profondeurs faibles, les petits ou très petits individus, issus d'une reproduction hivernale, ont été observés dès mars. Des contrastes de croissance ont été observés entre les deux sites, très faible par exemple à Excenevex à 30 et 40 m de profondeur entre mars et juin mais bien marquée à St Disdille.

Les biomasses que représentent les dreissenés (avec coquilles) sur le fond sont en moyenne de 660 g/m² à Excenevex et de 1340 g/m² à St Disdille. La biomasse maximale observée à St Disdille à 30 m de 3 kg/m² ne correspond pas à la densité la plus forte (2000 ind./m²) du fait de la structure d'âge. Le poids des corps mous est environ 3,2 fois plus faible que le poids total, soit 205 g/m² en moyenne de corps mou à Excenevex et 415 g/m² à St Disdille.

En termes de méthode, les amorces ADNe sont performantes et la méthode permet d'évaluer des grandes tendances y compris sur un plan quantitatif. L'hydrodynamique et la reproduction (émissions de gamètes, stades planctoniques) rendent cependant impossible une évaluation fine des densités sur le fond. La prise d'images par ROV s'est avérée simple et rapide à mettre en place pour évaluer rapidement les surfaces couvertes. Une approche plus quantitative, exprimée en termes de densités, nécessiterait une analyse d'images de placettes en photogrammétrie, ce qui dépassait le cadre de ce travail mais représente une perspective intéressante.

ABSTRACT

The main objective of this study was to investigate the dreissenid densities in Lake Geneva in a water column from the surface to less than 100 m deep. Three complementary approaches were used and compared to meet this objective. First of all, DNA and environmental RNA molecular targeting protocols were developed in the laboratory and deployed in the field down to 230 m deep (samples taken 2 m from the bottom) to assess their efficacy. Then divers took quantitative samples of quadrats sampled in the coastal zone (5–50 m), directly above the sites sampled using DNA/environmental RNA. Finally, images (photos and videos) were taken using a tethered ROV to examine the area of coverage down to 125 m deep, at the same stations as DNA/eRNA investigations. These approaches were implemented at two different times during the year (March and June 2022) along the two transects compared (Excenevex and St Disdille). The complementarity of the three methods makes it possible to (i) discuss the determinants of the densities and biomasses and (ii) provide original information on the densities in place and the expansion of the quagga.

Primers designed specifically for this project effectively distinguished the two species in eDNA and eRNA, and semi-quantitatively (ddPCR). The zebra mussels' signal was very weak, and the densities observed in the quadrats were low: 1–25 individuals in the 15 quadrats out of 48 where this mussel was present, i.e., a maximum of 2% of the dreissenids, almost exclusively at 5 m deep. Analysis of the images acquired by ROV showed the contrast between the first 40–50 m, saturated or nearly saturated with dreissenids, and at greater depths. The coverage values at 125 m were around 10% of the surface examined and it is certain that the progression front is situated beyond this point.

In terms of density, it is extremely rare to have less than 1000 ind./m² between 5 and 50 m deep, with mean densities at 5000 ind./m² and a maximum of 18,000 ind./m². The fewest quagga were found at 5 m (perhaps the depth with the strongest water mixing) and the most were found at 15 m. In these shallow waters, small or very small individuals, coming from winter reproduction, were observed by March. Contrasts in growth were observed between the two sites, slight for example at Excenevex, at 30 and 40 m deep between March and June, but a clear contrast was observed at St Disdille.

The biomasses of dreissenids (with shells) at the bottom were a mean 660 g/m² at Excenevex and 1340 g/m² at St Disdille. The maximum biomass observed at St Disdille (3 kg/m²) at 30 m did not correspond to the highest density (2000 ind./m²) because of the age structure. The weight of the soft bodies was approximately 3.2 times less than the total weight: 205 g/m² on average of soft body at Excenevex and 415 g/m² at St Disdille.

In terms of method, the eDNA primers performed well and the method makes it possible to assess the broad trends, including on the quantitative level. However, hydrodynamics and reproduction (emissions of gametes, planktonic stages) make it impossible to obtain a detailed evaluation of the densities at the lake bottom. ROV image capture is simple and rapid to set up for rapid assessment of coverage surfaces. A more quantitative approach, expressed in terms of densities, would require photogrammetry image analysis of plots, which was beyond the scope of this study but nonetheless offers an interesting perspective.

1. INTRODUCTION : CONTEXTE ET OBJECTIFS

Depuis sa première observation en 2015 (Lods-Crozet, 2020), la moule quagga (*D. r. bugensis*) se surajoute à la présence déjà ancienne (1962 - Matthey, 1966) de la moule zébrée (*D. polymorpha*) pour constituer des populations denses au sein du Léman. Les premières observations et suivis mis en place ont révélé un développement explosif avec des densités devenues importantes en seulement quelques années. Par exemple, un an après la première observation de la quagga sur des sites de la côte vaudoise, des estimations d'abondances moyennes atteignaient plus de 5000 ind./m², et jusqu'à plus de 20.000 ind./m² à 10 m de profondeur (Lods-Crozet & Chevalley, 2018).

Il est certain que la colonisation du Léman est antérieure à 2015, date du premier signalement, et la présence d'individus de grande taille en atteste. Très vite, les assemblages de dreissènes sur des sites comme St Prex ont été dominés à 70 % au moins par de la quagga (observation de 2016 - Lods-Crozet, 2020). Labat (2020) a rapporté dès 2019 une dominance de la quagga par rapport à la zebra sur toute la zone littorale suivie.

Si les densités augmentent très rapidement sur la zone littorale, la quagga présente la particularité de coloniser aussi des milieux très profonds où elle pourrait peut-être se reproduire. Ainsi, sur le Lac de Constance, la première observation de la quagga a été faite fortuitement en 2016 à 25 m de profondeur. Les densités étaient alors très faibles, tout juste détectables. Cinq ans plus tard, elle était devenue abondante et sa présence est aujourd'hui avérée jusqu'à 250 m de profondeur, sur des substrats meubles (article de J. Hesselschwerdt & P. Teiber-Sießeger sur le site <http://www.neozoen-bodensee.de/index.php/news> et communication personnelle). Dans le Léman, dès 2021, des photographies de plongeurs amateurs réalisées à plus de 100 m de profondeur montraient également de grandes densités et la colonisation de substrats meubles qui est commune dans le Léman mais rare dans d'autres milieux.

Le retour d'expérience de suivis pendant plus de 30 ans de lacs profonds nord-américains (Lacs Ontario, Michigan, Huron) nous apprend qu'investiguer au-delà de la zone littorale est primordial pour comprendre les évolutions futures du système (voir la synthèse de Beisel, 2021). Le cas du Lac Ontario est sans doute le mieux documenté, avec un historique déjà long suite à l'arrivée de la zebra en 1989 et de la quagga en 1990. L'extrapolation de la cinétique des dreissènes aux lacs européens est possible selon Karatayev *et al.* (2020, voir aussi Kraemer *et al.*, 2023). Le pic de densité de la quagga a été atteint dans le Lac Ontario 13 ans après son arrivée dans le milieu, puis a diminué aux profondeurs inférieures à 50 m (Birkett *et al.*, 2015; Karatayev *et al.*, 2020). Ce patron avait déjà été observé dans d'autres lacs nord-américains, lac Michigan, lac Huron (Karatayev *et al.*, 2020). C'est à ce moment-là (2003) que la zone profonde (> 90 m) a été la plus largement colonisée. A des profondeurs de 50 à 90 m, les densités ont pu décliner de 2003 à 2018 mais les biomasses ont augmenté par un quasi doublement de la taille moyenne des moules fixées. Au-delà de 90 m de profondeur, les densités et les biomasses ont sans cesse augmenté au fil du temps. Or 48 % du fond du lac Ontario se situe à une profondeur inférieure à 90 m et la résultante de ces évolutions d'effectifs et de biomasse est une augmentation constante des stocks de dreissènes à l'échelle de l'écosystème. La biomasse record a ainsi été observée 28 ans après l'arrivée de l'espèce.

Il est donc très important de pouvoir quantifier les stocks de dreissènes au sein de la tranche d'eau allant de la surface à au moins 100 m de profondeur mais les moyens d'investigation peuvent être difficiles à mettre en œuvre pour avoir des estimations de densités de qualité. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était d'investiguer comment quantifier les densités de dreissènes. Pour cela nous avons utilisé trois approches susceptibles d'être complémentaires et comparées :

- Le développement en laboratoire de protocoles de ciblage moléculaire par ADN et ARN environnemental et de quantification des signaux ADNe (+ ARNe). Dans un second temps, il s'agissait de les déployer *in situ* pour faire la preuve de concept de leur efficacité.
- Un échantillonnage quantitatif sur le fond par des plongeurs dans la zone littorale (5 à 50 m) à l'aplomb des endroits échantillonnés pour l'ADN/ARN environnemental.
- La prise de vues (photos et vidéos) avec un ROV de manière à examiner des profondeurs plus importantes pour évaluer si la quagga y est déjà installée et dans quelles proportions.

Ces trois approches ont été déployées à deux périodes de l'année, en mars et juin 2022, le long de deux transects contrastés en termes de bathymétrie et d'habitats. Notre parti pris était que ces habitats couvrent une large gamme de changements de proportions entre zebra et quagga, tout en incluant des zones à très faibles biomasses de moules. La comparaison des trois approches permet à la fois de discuter des estimations de densité et de biomasse, et fournit des informations originales sur les densités en place et l'expansion de l'espèce après plusieurs années de présence.

2. MÉTHODE

2.1. DÉMARCHE GÉNÉRALE

Trois approches complémentaires d'estimations des densités et/ou biomasses de dreissènes ont été mises en œuvre de manière synchrone le long de deux transects. Le tableau 1 résume les objectifs et le cadre de réalisation de chacune.

Tableau 1 : Description des trois approches utilisées pour estimer les stocks de dreissènes le long de deux transects.

Table 1. Description of the three approaches used to estimate the dreissenid stocks along the two transects.

Méthode		Avantages	Points à investiguer
ADNe/ARNe	1 échantillon d'eau prélevé à partir d'un bateau à l'aplomb de chaque station	Rapide sur le terrain. Identification à l'espèce.	Efficacité et spécificité des amorces. Approche quantitative par ddPCR. Poids des larves dans le résultat.
Quantification après prélèvement en plongée du fond au sein de quadrat	3 quadrats de 0,5 m x 0,5 m conservés indépendamment les uns des autres sur chaque station	Estimations précises des densités et mesure des individus autorisant des analyses par structure d'âges.	Variabilité inter-quadrats (échelle fine) et structure de taille. Etat des densités.
Prise de vue à l'aide d'un ROV	ROV filaire piloté depuis un bateau. Photo et vidéo prises avec une échelle 2D. Possibilité de prise d'un petit échantillon.	Assez rapide à déployer sur de vastes étendues et théoriquement à des profondeurs importantes.	Possibilité d'acquérir des données en grande profondeur. Qualité d'image suffisante pour une quantification. Test de prélèvements d'individus par ROV.

Les transects vont jusqu'à 50 m de profondeur pour la plongée, 125 m pour la prise de vue et 230 m pour l'ADNe. Il a été choisi de ne pas poser de balises sur les transects lors de la plongée (pas d'autorisations pour laisser des balises pendant 1 à 2 semaines) mais de réaliser un repérage GPS par chacun des opérateurs. Le détail de chaque approche est décrit ci-après.

2.2. LOCALISATION DES SITES D'ÉTUDE ET DATES D'ÉCHANTILLONNAGE

Les deux transects choisis, Excenevex et Saint-Disdille, sont contrastés en fonction de la bathymétrie et des habitats/substrats disponibles (Figure 1). L'idée de départ était que le changement de proportions entre zebra et quagga pouvait être différent selon les contextes, y compris au niveau de zones *a priori* à très faibles biomasses de moules (zone sableuse d'Excenevex).

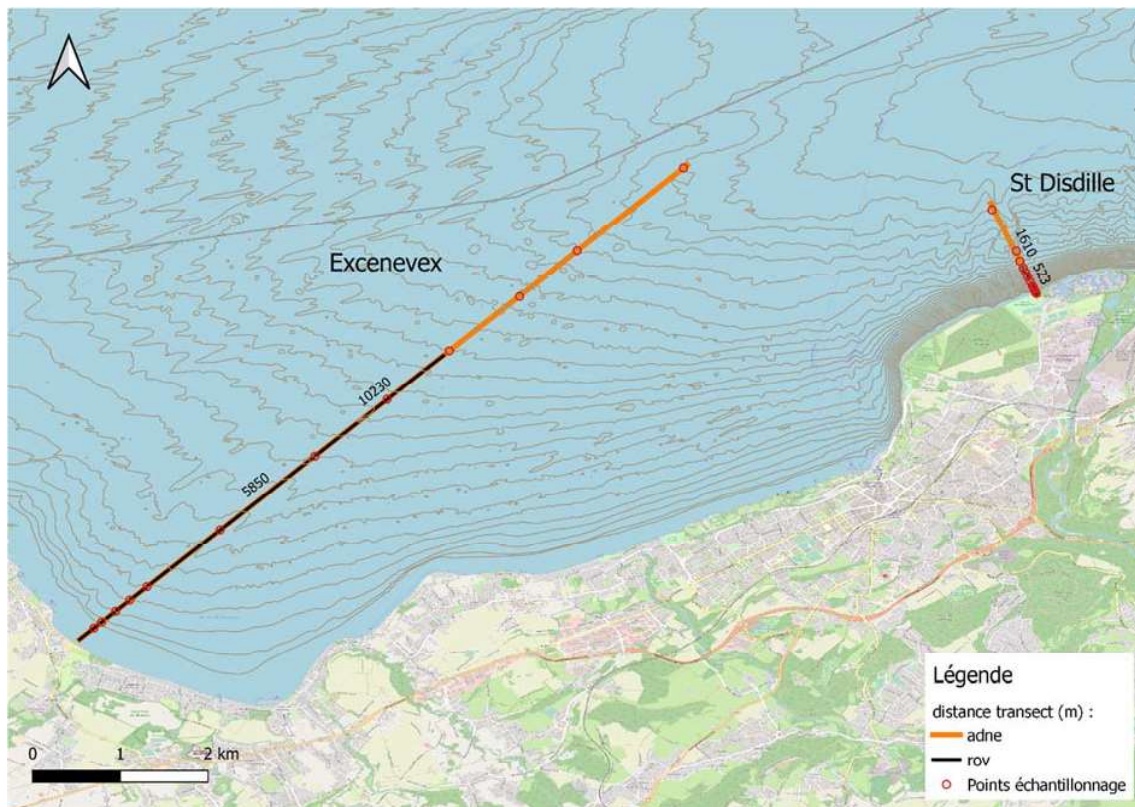


Figure 1. Localisation des deux transects suivis dans cette étude : Excenevex et Saint-Disdille.

Figure 1. Location of the two transects monitored in this study: Excenevex and Saint-Disdille.

Excenevex est un site avec une pente relativement douce et un substrat à dominante sableuse en début de transect. Au contraire, le site de St Disdille présente dès sa zone proche littorale une forte pente, avec une zone caillouteuse s'étendant sur environ 5 m, suivi par une bande riche en macrophytes sur environ 15 m et, ensuite, à partir de 7 m de fond (soit moins de 30 m du bord) du sédiment nu (ou colonisé par la quagga). Ainsi, il est possible d'atteindre 150 m de profondeur à environ 600 m du bord à St Disdille *versus* 6 km à Excenevex (Figure 1).

Les deux dates de prélèvements ont été choisies pour encadrer, en théorie, un épisode de reproduction et avoir des données immédiatement post-hivernales, juste après un arrêt supposé ou un ralentissement de la croissance.

2.3. ADN/ARNE

La matrice 'eau' a été choisie pour rechercher le signal ADN des dreissènes, les acides nucléiques pouvant être sous forme d'ADN relargué dans l'environnement ou d'ADN massal lié par exemple à la présence d'une/de larve(s) véligère(s) dans l'échantillon d'eau.

L'eau est prélevée à l'aide de bouteilles fermantes manipulées depuis un bateau pour échantillonner 2 m au-dessus du fond ; le choix de prélever en proximité du fond vise à capter l'ADNe au plus près de sa zone d'émission. Le dispositif est équipé de mesures de la profondeur et deux échantillons indépendants de 2 l réalisés successivement sont regroupés pour être filtrés (porosité 0,45µm) sur le bateau et congelés directement dans de l'azote liquide afin de préserver au mieux l'ADNe et l'ARNe.

Ces prélèvements ont été l'occasion de récolter un échantillon planctonique afin de vérifier la présence de véligères de dreissènes (Figure 2) ; les larves présentes dans les échantillons ont été dénombrées en microscopie.

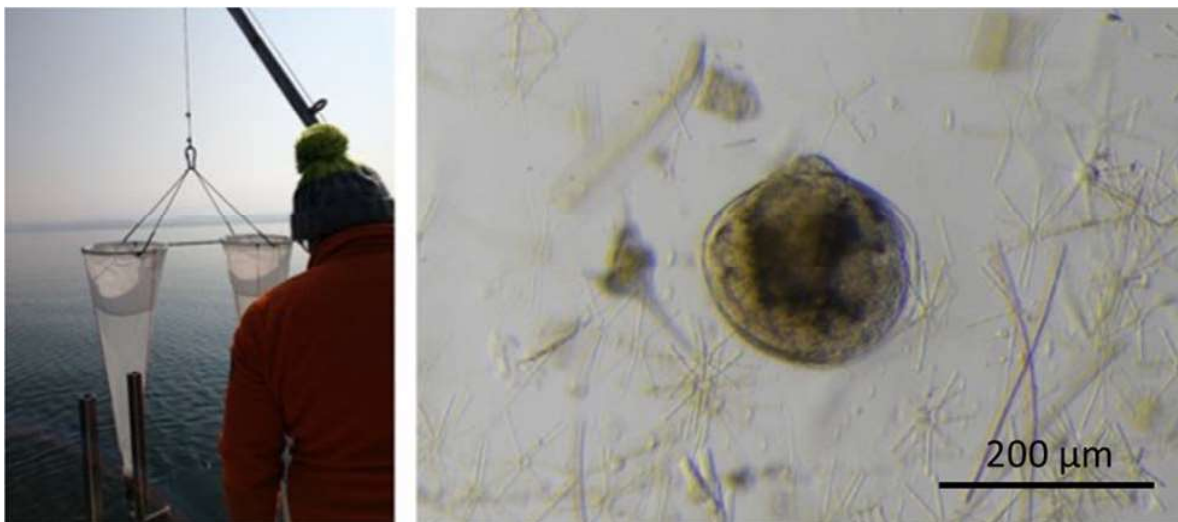


Figure 2. Échantillonnage du plancton en vue de l'identification et du comptage des larves de Dreissènes par microscopie. Crédit Photo : Isabelle Domaizon (gauche) et Leslie Laine (droite).

Figure 2. Plankton sampling to identify and count the Dreissena larvae using microscopy. Photo: Isabelle Domaizon (left) and Leslie Laine (right).

12 stations ont été échantillonnées le long de chacun des 2 transects: les 5 premiers au niveau des quadras de plongée (5, 15, 30, 40 et 50 m), puis à des profondeurs de 75, 100, 125, 150, 175, 200 et 230 m.

Les prélèvements d'eau pour la détection des dreissènes par ADNe/ARNe ont été réalisés les 9 et 10 mars (Excenevex puis Saint-Disdille respectivement) puis les 15 et 16 juin, soit à des dates différentes des prélèvements par plongée, de manière à éviter que l'échantillon ne soit impacté par la remise en suspension des sédiments. Les extractions ADN et ARN ont eu lieu en juin et juillet 2022, les analyses ddPCR en septembre 2022.

2.4. QUADRATS PAR PLONGEURS: MÉTHODE ET DÉPOUILLEMENT

La partie plongée a été assurée par le Bureau d'Etudes Subbear et INRAE CARRTEL. Un test *in situ*, qui s'est avéré concluant, de la manière de prélever a été réalisé en février 2022 dans le Léman afin de valider la méthode avant de l'appliquer sur l'ensemble des transects. Il a permis d'apprécier qu'une grande quantité de particules fines est inévitablement remise en suspension quelle que soit la procédure appliquée par les plongeurs (Figure 3).

Les stations ont été positionnées en surface à partir du bateau et les plongeurs sont descendus à la verticale de manière à prélever systématiquement à 5, 15, 30, 40 et 50 m. Les campagnes ont été réalisées les 2 et 3 mars (respectivement Excenevex et Saint-Disdille (Thonon)) et les 21 et 22 juin (idem).

Les emplacements à prélever ont été matérialisés par un cadre en inox de 50 cm de côté, permettant de prélever précisément 0,25 m² et d'obtenir des valeurs de densités. Les 3 réplicats d'une station donnée ont été prélevés côte-à-côte. Les échantillons ont été réalisés soit avec une petite pelle métallique, soit directement à la main, en passant en dessous délicatement dans les deux cas. D'une campagne à l'autre, les emplacements choisis pour l'échantillonnage étaient dans le voisinage de ceux déjà prélevés.

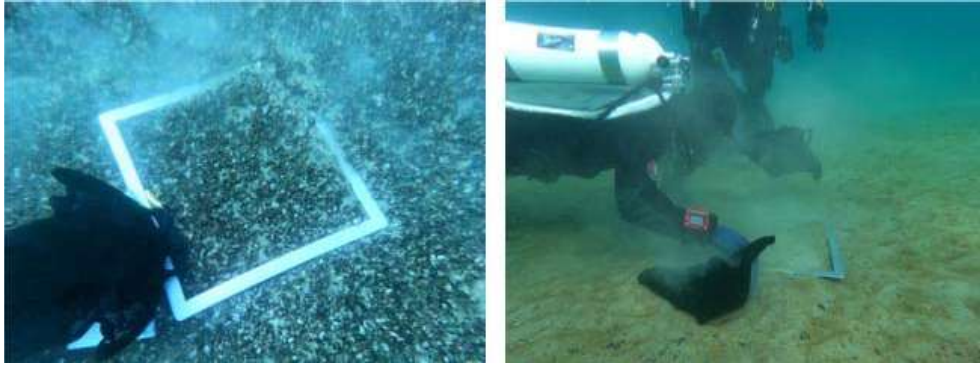


Figure 3. Les quadrats sont matérialisés (gauche) avant récolte de l'ensemble qui est alors placé dans un sac dédié (droite). ©sjacquet

Figure 3. The quadrats are set up (left) before harvest of the sample, which is then placed in a dedicated bag (right). ©sjacquet

Les échantillons de moules récoltés représentent ainsi 5 stations x 3 quadrats x 2 dates soit 30 échantillons. Ils ont été conservés par congélation dès le retour au laboratoire pour être triés ultérieurement. Lors du tri, chaque individu a été identifié et mesuré à 0,1 mm près avec un pied à coulisse numérique. Ce travail fastidieux a duré 10 semaines complètes.

2.5. PRISE DE VUES ET QUADRATS SURFACIQUES PAR ROV

Le ROV CHASING M2 PRO utilisé dans cette étude était un matériel nouveau pour l'équipe (Figure 4), déployé pour la première fois début 2022 après une prise en main du pilotage de l'appareil. Il peut être utilisé théoriquement jusqu'à des profondeurs de 150 m et son déploiement est rapide. Un laser projeté permet l'intégration d'une échelle dans la prise de photos afin d'estimer quantitativement la surface colonisée par les dreissènes.



Figure 4. Vue du ROV CHASING M2 PRO utilisé dans cette étude. Crédit photo : a) Site internet chasing, b) Rautureau C.

Figure 4. View of the ROV CHASING M2 PRO used in this study. Photo: a) Site internet chasing, b) Rautureau C.

Systématiquement, sur chaque station, 2 photos verticales ont été prises à 50 cm du fond, 1 plan à 45° et 1 vidéo à 360°. L'idée était que les prises à l'aplomb des stations représentent les prélèvements par quadrat, que la vue à 45° permettent d'affiner l'épaisseur, et que la vidéo à 360° montre la singularité potentielle du contexte.

Les photos verticales ont été mises à l'échelle, puis découpées sous forme de quadrat de 25 cm de côté à l'aide du logiciel ImageJ. Sur ce quadrat de l'IA a été utilisée (logiciel ilastik) pour différencier les moules du substrat. Le fichier binaire ainsi généré a permis le calcul des aires de recouvrement en moules sous ImageJ.

Les prises de vue (photos et vidéos) ont été réalisées à Excenevex aux mêmes points que les prélèvements d'eau pour l'ADNe/ARNe le 9 mars 2023, soit à des profondeurs de 5, 15, 30, 40, 50, 75, 100 et 125 m. Un problème technique n'a pas permis d'utiliser le ROV sur le second transect en mars. En juin, les deux transects ont été faits en même temps que les prélèvements d'ADNe (15 et 16 mars) de 5 à 125 m de profondeur.

Le ROV a une capacité de levage de 3 kg et de traction de 12 kg mais les volumes prélevables de quagga (par leur structuration) ne peuvent pas être très importants. Des échantillons ont cependant été réalisés au cours de cette étude à titre de test.

3. RÉSULTATS

3.1. ADN/ARNE

Sur un plan méthodologique, des amorces ont été conçues pour discriminer la quagga de la zebra au sein d'échantillons d'ADNe/ARNe (Tableau 2). Les amorces développées ciblent le gène mitochondrial codant pour la cytochrome oxydase 1 (COI). Des tests sur des échantillons environnementaux du Léman ont permis de valider leur fonctionnalité en vue d'une utilisation en ddPCR (méthode quantitative *droplet digital* PCR). Le signal quagga était extrêmement fort (plus que les témoins positifs) et contrastait avec le signal très faible obtenu pour les zebra.

Tableau 2. Résultats des tests d'amorces quagga/zebra développées pour réaliser cette étude.

Table 2. Results of quagga/zebra primers developed for the study

Echantillon	Amorces Quagga	Amorces Zébrée
ADN quagga	++	-
ADN zébrée	-	++
ADNe fond (eau prélevée au niveau d'un tapis de moules)	+++	+
ADNe eau libre (eau prélevée au milieu de la colonne d'eau)	+++	-

Des quantités d'ADNe et d'ARNe ont été extraites pour chaque combinaison station x date (Figure 5). En termes de tendance, les quantités sont plus importantes pour les profondeurs les plus faibles, c'est-à-dire la zone euphotique. Il semble y avoir une corrélation forte ADN/ARNe ce qui suggère que l'ADNe est de proximité.

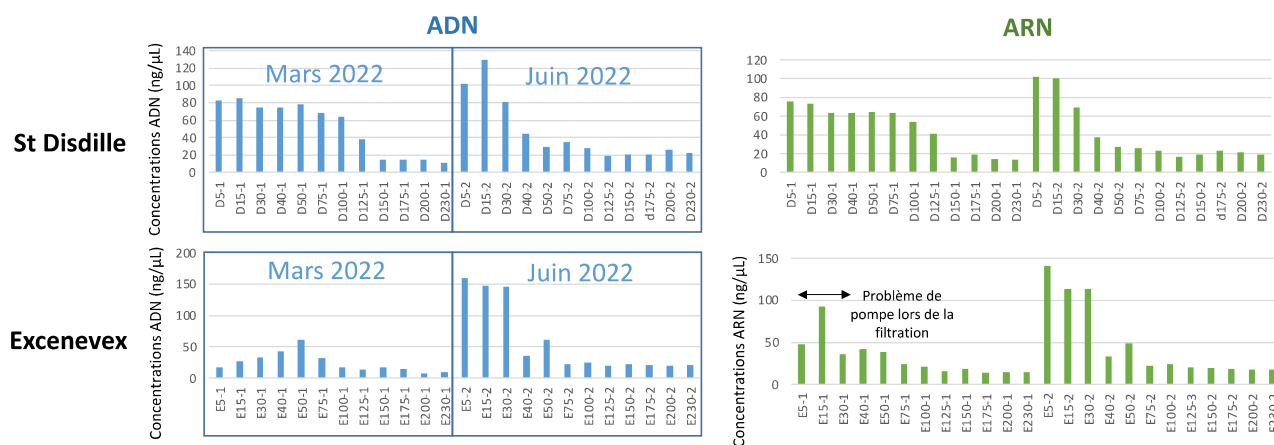


Figure 5. Concentrations ADNe et ARNe (ng/μL) extraites des prélèvements d'eau pour chacune des stations et des campagnes.

Figure 5. eDNA and eRNA concentrations (ng/μL) extracted from water samples for each of the stations and campaigns.

En juillet 2022, les échantillons ADNe et ARNe ont été analysés en *droplet digital* PCR (ddPCR), avec les amorces développées dans ce projet et permettant de distinguer les deux espèces de moules (quagga et zebra) (Figure 6).

Pour la quagga, en mars, le signal est plus fort à St Disdille qu'à Excenevex mais très logiquement, il est beaucoup plus faible en profondeur (<150 m pour St Disdille et <75 m pour Excenevex). En juin, le signal est nettement plus fort à Excenevex qu'à St Disdille. De nouveau, la zone littorale est celle où le signal est le plus important, cette fois-ci jusqu'à 30 m seulement.

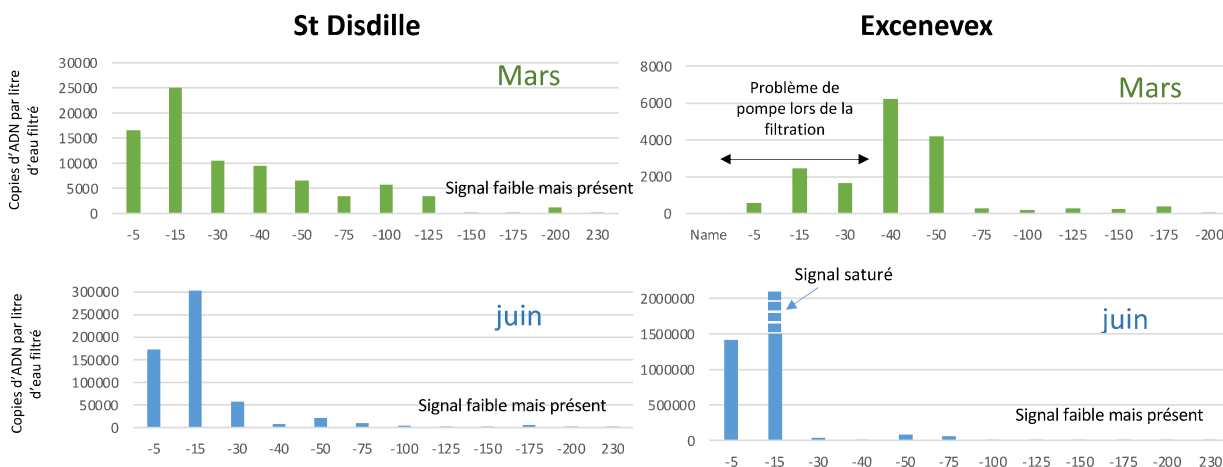


Figure 6. Résultats issus de l'analyse des échantillons par ddPCR pour la quagga : copies d'ADN par litre d'eau filtré.

Figure 6. Results from the ddPCR analysis of samples for the quagga mussel: DNA copies per liter of filtered water.

Pour la zebra, le signal ADNe n'est détecté que dans 4 (3 en juin, 1 en mars) des 48 échantillons, à 5, 15 et 50 m (Figure 7). Le signal ADNe de la moule quagga est ainsi beaucoup plus fort que celui de la zebra (6500 fois en moyenne), détecté dans tous les sites (48/48) et à des profondeurs plus importantes (jusqu'à 230 m).

Les premières analyses montrent un signal ARNe faible en ddPCR pour les deux espèces de dreissènes, mais des vérifications sont en cours (vérification de l'efficacité des amorces sur des échantillons ARN).

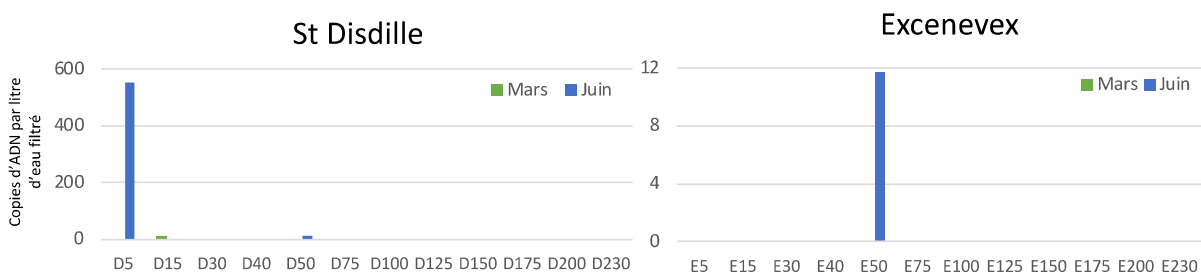


Figure 7. Résultats issue de l'analyse des échantillons par ddPCR pour la zebra : copies d'ADN par litre d'eau filtré.

Figure 7. Results from the ddPCR analysis of samples for the zebra mussel: DNA copies per liter of filtered water.

Les échantillons de plancton destinés à vérifier la présence de véligrès ont montré dès les campagnes de mars l'abondance forte de larves à 30 et 40 m sur les deux transects. Un problème technique n'a pas permis d'acquérir des données quantitatives pour aller plus loin dans l'interprétation hormis qu'à 30 m à Excenevex en mars il y avait deux fois plus de larves par litre d'eau filtrée qu'en juin (91 contre 41 larves/l.).

3.2. QUADRATS PAR PLONGEURS

Les plongeurs ont constaté lors des prélèvements un recouvrement quasi complet du substrat par les dreissènes à 15 m. Au-delà (30, 40 et 50 m), les distributions peuvent être assez « patchy », avec des grappes de moules en taches au sein d'un fond à dominante sableuse.

Chaque individu présent au sein d'un quadrat récolté par les plongeurs (3 par profondeur) a été identifié (critères décrits dans Beisel, 2021) et mesuré. Très peu de zebra ont été observées en profondeur : hormis 1 individu à 30 m et 2 à 40. La plupart ont été observées jusqu'à 5 m de profondeur. Les zebra représentaient au maximum 2 % de l'échantillon, soit 1 à 25 individus dans les 15 quadrats sur 60 où l'espèce était présente.

Les résultats obtenus sur les différents quadrats d'une même profondeur montrent une certaine hétérogénéité des densités sur le fond, qui peuvent souvent varier du simple au double. En termes de tendances moyennes, à Excenevex

en mars les densités sont les plus importantes à 15 m avec 4000 à 8000 ind./m² environ, et minimales à 50m (~1000 ind/m²) (Figure 8 et Tableau 3). Il en est de même en juin : des valeurs moyennes de 5100 ind./m² à 15 m diminuent pour atteindre ~1000 ind./m² à 50 m.

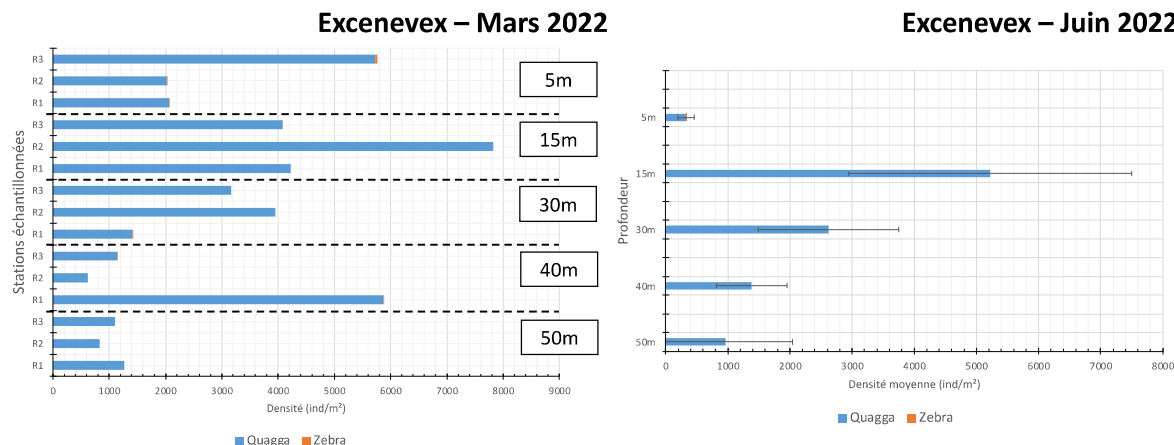


Figure 8. Densités de quagga et zebra par quadrat (notés arbitrairement R1 à R3) et par profondeur sur le site d'Excenevex en mars (valeurs brutes) et en juin (moyennes et écart-types des 3 quadrats).

Figure 8. Densities of quagga and zebra per quadrat (arbitrarily denoted R1–R3) and by depth on the Excenevex site in March (raw values) and in June (means and standard deviations of the three quadrats).

A St Disdille, les différences fortes de densités entre mars et juin soutiennent le principe de répartitions très hétérogènes sur cette station par rapport à Excenevex. Le patron de densité en fonction de la profondeur en juin est très similaire à celui d'Excenevex avec un record de 18.400 ind./m² en moyenne à 15 m à St Disdille contre 5000 environ en mars (Tableau 3). A 5 m, les densités moyennes sont deux fois plus importantes en mars qu'en juin (~7700 versus 4100 ind./m²). A 30 m les densités moyennes observées en mars sont au contraire très faibles par rapport à celles de juin. Finalement on ne peut pas conclure à une distribution selon la profondeur qui soit différente de celle d'Excenevex (une campagne sur les deux y est très similaire) mais une grande hétérogénéité de répartition, et donc de densités, existe le long de ce tronçon.

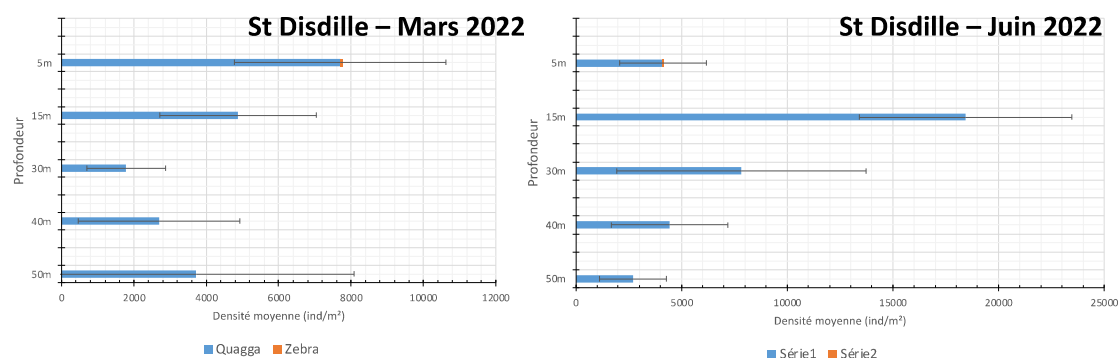


Figure 9. Densités de quagga et zebra observées au sein des quadrats sur le site de St Disdille (densités moyennes et écart-types) par profondeur.

Figure 9. Densities of quagga and zebra mussels observed within the quadrats on the St Disdille site (mean densities and standard deviations) by depth.

Tableau 3. Densités moyennes de quagga par site, par profondeur et par date.

Table 3. Mean densities of quagga per site, by depth and date.

	Profondeur				
Transects-Saison	5m	15m	30m	40m	50m
<i>Excenevex-Mars 2022</i>	3271	5376	2844	2547	1068
<i>Excenevex-Juin 2022</i>	327	5224	2620	1380	960
<i>St Disdille-Mars 2022</i>	7701	4880	1785	2693	3712
<i>St Disdille-Juin 2022</i>	4120	18433	7824	4425	2711

L'examen des distributions de tailles informe sur la structure d'âge, en discriminant les cohortes qui constituent la population (Figure 10). A Excenevex, le premier élément important qui en ressort concerne la présence d'individus de petite taille (<7 mm, recrutement) qui ne sont observés qu'à 5 ou 15 m. Ailleurs la structure de tailles est bien plus large, avec des individus qui mesurent pour la grande majorité entre 15 et 27 mm. Le second élément important est que l'on devine une croissance rapide à 15 m (déplacement des cohortes vers la droite entre mars et juin), ce qui n'est pas visible à 30, 40 ou 50 m. L'échantillon faible en effectifs observé à 5 m en juin rend hasardeuse l'interprétation des différences de cohortes à cette profondeur. Si l'on se fie aux modes des cohortes majoritaires identifiées, la croissance entre mars et juin est quasi nulle sur le site d'Excenevex à 30, 40 et 50 m.

A St Disdille, les jeunes individus (> 7mm) sont également retrouvés majoritairement à 5 et 15 m mais à 50 m les individus sont étonnamment plus petits en moyenne qu'à 30 ou 40 m (Figure 11, présence d'une cohorte de taille moyenne d'environ 13 mm). La différence des tailles moyennes entre mars et juin pour 30 et 40 m est assez marquée et révèle sans doute une croissance bien plus forte que sur le site d'Excenevex.

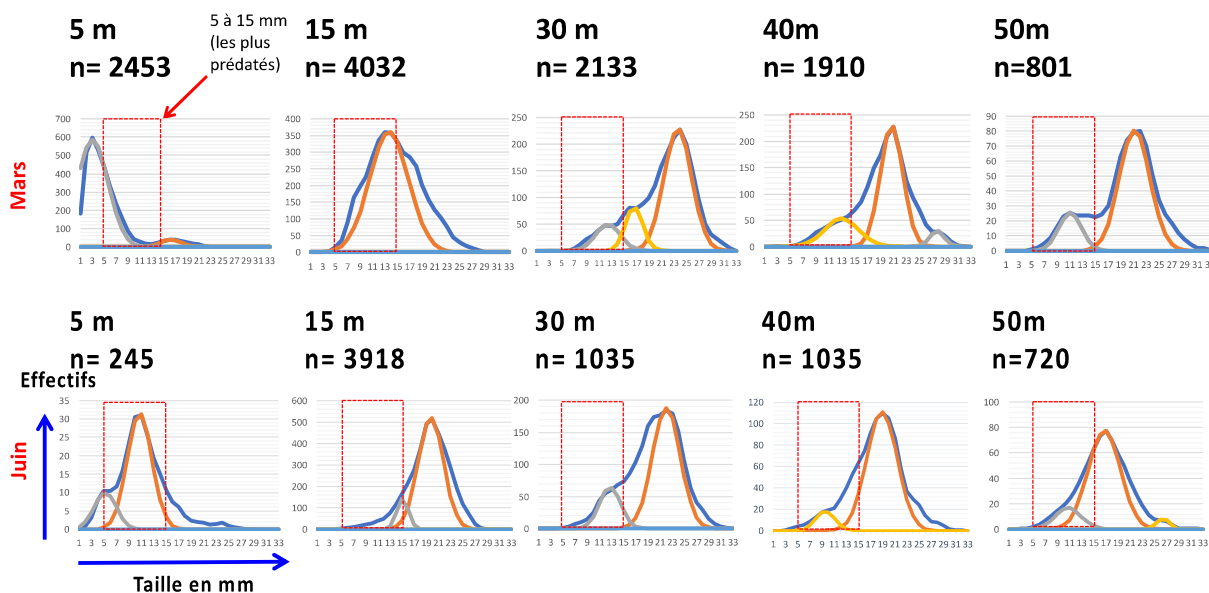


Figure 10. Distribution des classes de taille des quagga mesurées au sein des échantillons récoltés à différentes profondeurs le long du transect d'Excenevex. Les couleurs, arbitrairement choisies d'un graphique à l'autre, représentent des cohortes. Les tailles 5 à 15 mm sont matérialisées par un cadre rouge pointillé car elles représentent les tailles les plus prédatées selon la littérature.

Figure 10. Distribution of quagga size categories measured within the samples harvested at different depths along the Excenevex transect. The colors, arbitrarily selected from one graph to another, represent the cohorts. The 5- to 15-mm sizes are shown by a red dotted box because they represent the sizes that are the most subjected to predators according to the literature.

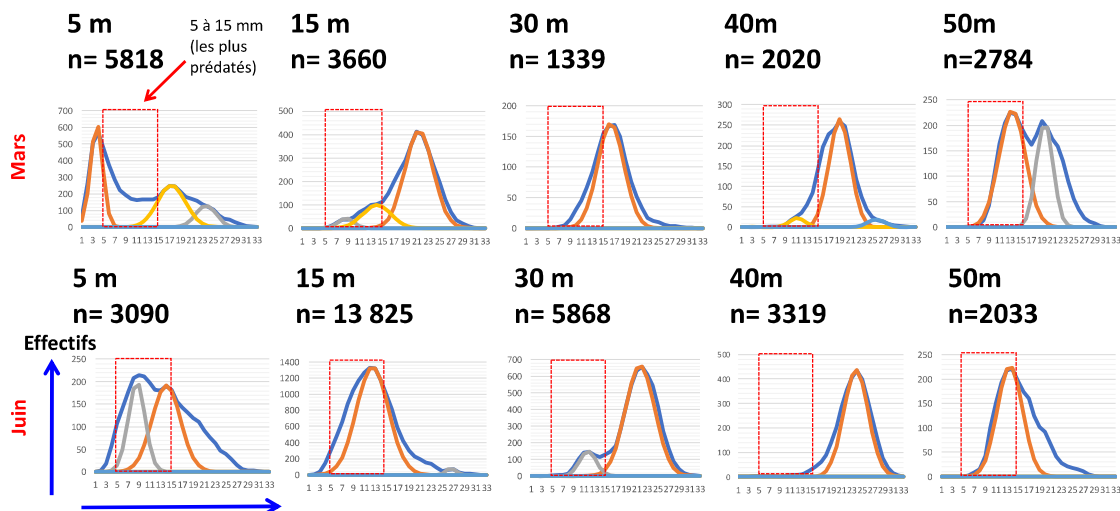


Figure 11. Distribution des classes de taille des quagga mesurées au sein des échantillons récoltés à différentes profondeurs le long du transect de St Disdille. Les couleurs, arbitrairement choisies d'un graphique à l'autre, représentent des cohortes. Les tailles 5 à 15 mm sont matérialisées par un cadre rouge pointillé car elles représentent les tailles les plus prédatées selon la littérature.

Figure 11. Distribution of quagga size categories measured within the samples harvested at different depths along the St Disdille transect. The colors, arbitrarily selected from one graph to another, represent the cohorts. The 5- to 15-mm sizes are materialized by a red dotted box because they represent the sizes that are the most subjected to predators according to the literature.

Compte-tenu des densités et de la structure de tailles, il est possible d'estimer les biomasses présentes sur le fond. Si l'on considère les coquilles et les corps mous des dreissènes, les biomasses sont en moyenne de 660 g/m² à Excenevex et de 1340 g/m² à St Disdille. Le record est observé à St Disdille à 30 m de fond en juin avec 3040 g/m² (Tableau 4, 7800 individus). La biomasse sur la station qui a le record du nombre de dreissènes (18400 en moyenne) représente 2000 g/m² et n'est donc pas la valeur la plus forte. Le contraste est fort entre la biomasse de dreissènes à 5 m à Excenevex (de 26 à 97 g/m²), où les valeurs sont les plus faibles, et à St Disdille (de 601 à 1163 g/m²). Le poids des corps mous est environ 3,2 fois plus faible que le poids total. Cela représente donc 200 g/m² en moyenne de corps mou à Excenevex et 415 g/m² à St Disdille. La filtration étant biomasse dépendante selon la littérature et l'unité standardisée le poids frais du corps mou sans cendres, ces valeurs ont été également fournies (Tableau 4).

Tableau 4. Biomasse fraîche moyenne des quagga par station x date, poids frais des corps mous et poids secs des corps mous sans cendres. Tout est exprimé en g/m².

Table 4. Mean fresh biomass of quagga by station x date, fresh weight of soft bodies and dry weights of soft bodies with no ashes, expressed in g/m².

		Biomasse totale (g)		Poids frais (g)		Poids secs sans cendres (g)	
		Coquille + corps mou		Corps mou		Corps mou	
		Mars	Juin	Mars	Juin	Mars	Juin
Excenevex	5	96,4	26,0	29,6	8	15,4	0,7
	15	868,4	1640,4	268,3	510,3	23,1	45,2
	30	1220,1	926,5	379,9	288,9	34,5	25,9
	40	843,1	368,0	262,9	114,1	23,4	10
	50	376,5	213,8	117,1	66,2	10,5	5,8
St Disdille	5	1163,1	601,5	360,8	186	31,9	16,1
	15	1704,9	2099,7	529,7	647,3	47,5	54,9
	30	357,6	3040,8	110,5	945,6	9,6	85,2
	40	735,2	2306,3	227,9	719,1	20,1	65,7
	50	878,7	488,3	272,3	150,9	23,9	13,1

3.3. QUADRATS SURFACIQUES PAR ROV

Le ratio de recouvrement obtenu à partir des images du substrat est, pour chaque site, relativement similaire entre les 2 campagnes (Figure 12). La distribution littoral-profondeur est toujours marquée, avec de fortes densités dans la zone euphotique, mais elle diffère entre les sites. Sur le site d'Excenevex la dominance dreissènes/substrat s'inverse au voisinage des 40 m alors qu'il se situe vers 75 m sur Saint Disdille.

Sur le site de Saint Disdille, les surfaces couvertes sont saturées à quasi saturées de 5 m jusqu'à des profondeurs de 50 m (Figure 13). Au-delà des 40-50 m, les surfaces colonisées sont bien moindres, la distribution est plus dispersée ou en petites taches pour n'atteindre qu'une dizaine de % à 150 m. Par ailleurs, sur la base des résultats obtenus aux profondeurs les plus importantes, les quagga doivent dès 2022 avoir un front de colonisation au-delà des 150 m de profondeur.

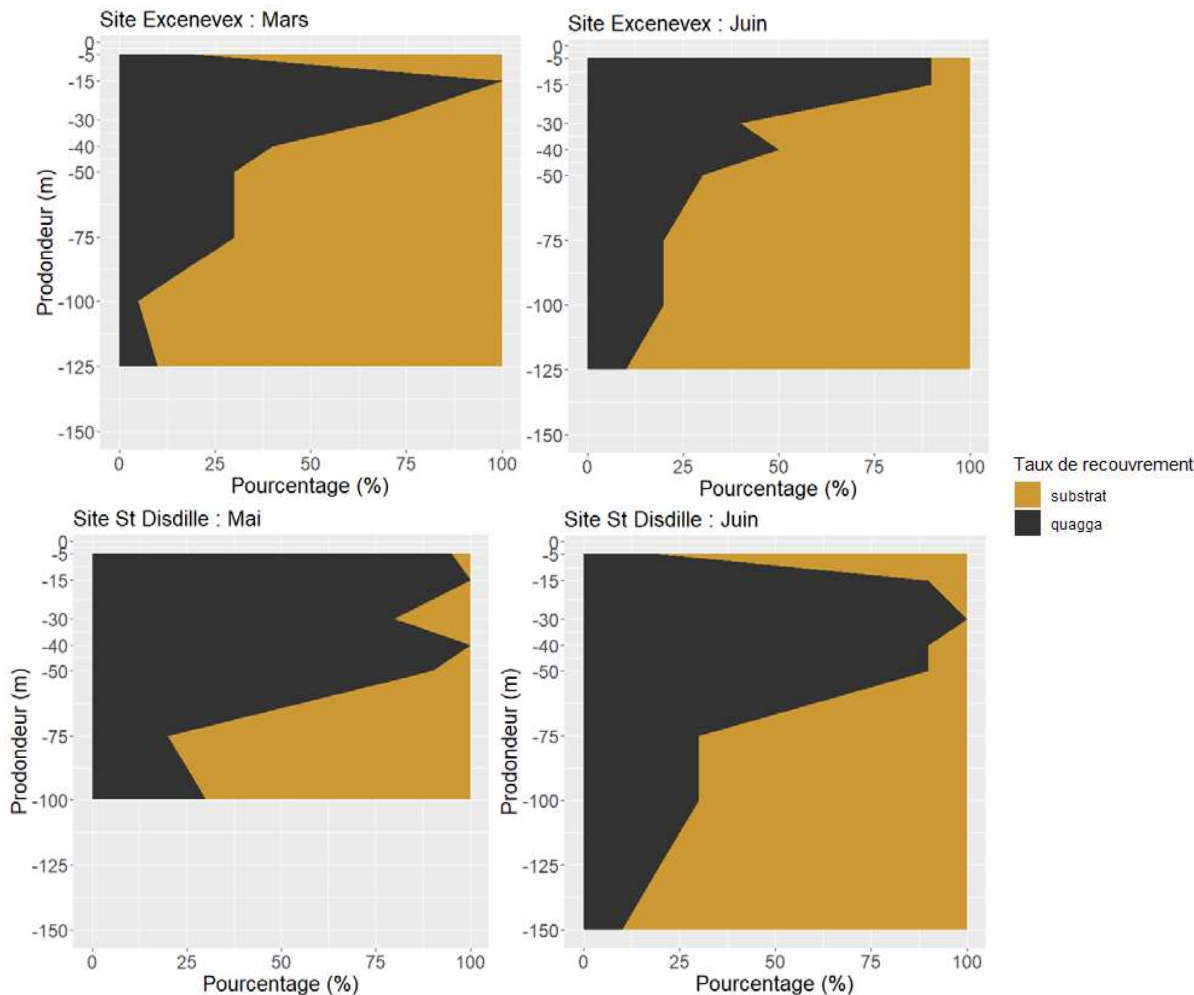


Figure 12. Surfaces de recouvrement obtenues par analyse des images acquises à l'aide du ROV, selon le site (Excenevex ou St Disdille), la campagne (mars ou juin) et la profondeur le long du transect.

Figure 12. Area of coverage obtained by analysis of images acquired with ROV, according to site (Excenevex or St Disdille), campaign (March or June), and depth along the transect.

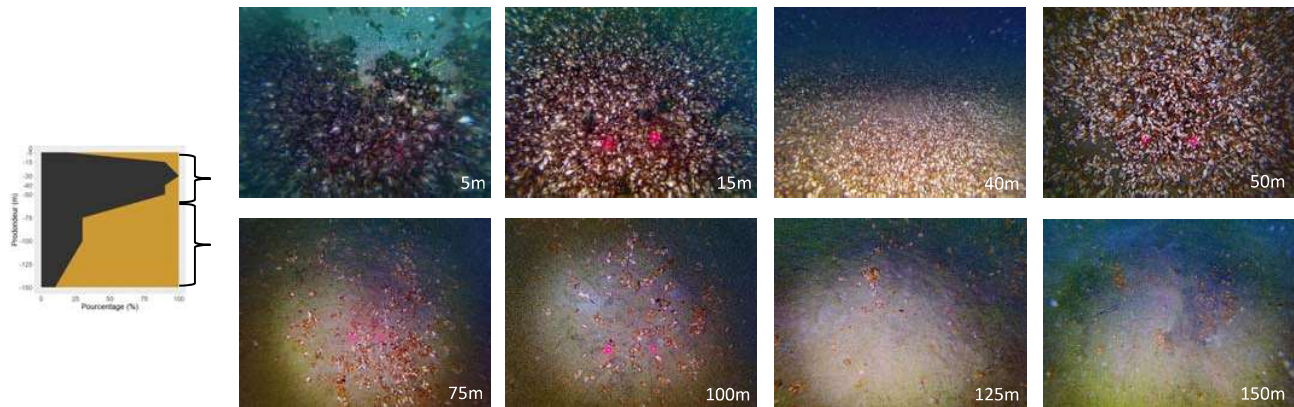


Figure 13. Illustration des recouvrements aux différentes profondeurs sur le site de St Disdille. © C. Rautureau.

Figure 13. Illustration of coverage areas at different depths at the St Disdille site. © C. Rautureau.

4. DISCUSSION

Les trois méthodes se sont avérées très complémentaires les unes des autres pour améliorer nos connaissances sur la répartition des dreissenés et l'évaluation quantitative des densités et/ou biomasses qu'elles représentent.

La méthode ADNe/ARNe a fait l'objet de développements d'amorces spécifiques. Son déploiement *in situ* a permis de mesurer par espèce des différences de signaux selon la saison, la profondeur et la localisation du transect. Les signaux sont les plus importants jusqu'à des profondeurs de 75 m (Excenevex) et 125 m (St Disdille). Les signaux de zebra sont très faibles : 4 détections sur 48 prélèvements (48/48 pour la quagga) et 6500 fois plus faibles en moyenne que ceux de la quagga.

Chez la quagga, les signaux plus forts détectés en juin par rapport à mars peuvent être associés à une reprise de la reproduction (augmentation des températures au-delà de valeurs planchers pour engager la production de gamètes) mais également à une activité de filtration plus importante (reprise d'une croissance rapide). L'hydrodynamie et la reproduction rendent difficile l'exercice de corrélation entre le signal ADN et les densités en place.

Par des prélèvements complémentaires de plancton, la présence en grand nombre de larves début mars 2022 atteste de la reproduction précoce des dreissenés, mais peut-être n'y a-t-il tout simplement pas d'arrêt de reproduction pendant la période hivernale. L'observation de la présence de véligères dans des échantillons de plancton permet à Haltiner et al. (2022) de montrer que la quagga se reproduit toute l'année dans plusieurs lacs péri-alpins.

Les images obtenues par le ROV montrent qu'aux dates des campagnes (mars et juin 2022), la zone euphotique des deux transects était saturée ou quasi-saturée de dreissenés en termes de surface de recouvrement. Une transition dans la dominance de l'espèce s'opère bien dans la tranche des 30 à 90 m, comme dans les lacs laurentiens. Les profondeurs des deux transects étaient cependant encore faiblement colonisées ($\approx 10\%$ à 125-150m). Les résultats soutiennent un front de colonisation à des profondeurs plus importantes encore. L'évaluation des densités sur le fond avec les images du ROV ne s'est pas avérée possible bien que son utilisation se soit avérée simple et rapide à mettre en place pour évaluer rapidement les surfaces couvertes. **Une approche plus quantitative, exprimée en termes de densités, nécessiterait une analyse des images en photogrammétrie, ce qui dépassait le cadre de ce travail mais représente une perspective intéressante.** La qualité des images obtenues doit aussi faire l'objet d'attention particulière pour obtenir des images HD exploitables.

Les relevés réalisés au sein de quadrats par des plongeurs ont permis des mesures précises de densités et de structure de taille. Sur l'ensemble de nos échantillons, très peu de zebra ont été détectés/observés. Hormis 1 individu à 30 m et 2 à 40 m, les quadrats n'ont permis d'en prélever qu'à 5 m de profondeur, avec une abondance qui correspondait au maximum à 2 % des dreissenés de l'échantillon. La bascule zebra-quagga s'avère ainsi beaucoup plus rapide que ce qui a été rapporté dans la littérature et la présence de la zebra n'est plus qu'anecdotique. Ces observations concordent avec des observations sur les cantons de Genève et Vaud (Com. personnelles A. Cordonier, P. Marie).

L'analyse plus fine des densités ne concerne par conséquent que les quagga. Un patron densité-profondeur homologue est apparu à Excenevex en mars et juin ainsi qu'à St Disdille en juin. A 5 m, les densités moyennes sont plus faibles qu'à 15 m où les densités sont les plus fortes. Ces densités diminuent ensuite progressivement à 30, 40 et 50 m. Les valeurs de densités au sein des quadrats d'une même station peuvent varier du simple au triple. Il est rarissime d'avoir moins de 1000 ind./m² en moyenne entre 5 et 50 m de profondeur, les densités avoisinent souvent 5000 ind./m², et sont au maximum de 18.000 ind./m² (observation à 15 m à St Disdille en mars).

Les résultats obtenus à St Disdille en mars sont assez différents du reste, avec des valeurs de densités assez fortes à 5 m et une augmentation progressive des densités entre 30 et 50 m. Ces résultats illustrent la grande variabilité de densité qui peut exister à petite échelle et doit nous inciter à rester prudent sur des variations d'effectifs faibles. Le développement en grappes et un recrutement massif de jeunes individus (petits) expliquent une part de ces variations.

Pour comprendre les évolutions de densités, liées en particulier à un développement en grappes, nous recommandons la **matérialisation (repères physiques sur le fond) et le suivi régulier (annuel) de placettes**. Cela permettrait de s'affranchir de variations liées à l'hétérogénéité au sein d'une station au relief complexe. **Là encore une approche par photogrammétrie permettrait une analyse fine des taux de croissance et de l'évolution des tailles individuelles au sein d'agrégats**, aucun modèle de croissance n'étant à ce jour disponible pour la quagga.

Les structures d'âge sont délicates à interpréter car les jeunes individus sont connus pour être prédatés par des poissons et, dans les zones peu profondes, par des oiseaux. D'après la littérature, la pression de prédation serait la plus grande sur les moules de taille comprise dans un intervalle de 5 à 15 mm (voir la synthèse de Beisel, 2021). La présence de petits individus est ainsi un indicateur robuste d'un épisode de reproduction récent (quelques semaines) et du bon renouvellement de la population. En revanche, l'absence peut être liée à une absence de reproduction, un défaut de fixation ou une mortalité différenciée par prédation ou d'autres facteurs. **La mise en place d'exclos sur le fond**, pour limiter la prédation par des poissons, de section supérieure au vide de maille choisi, **permettrait de réaliser des suivis de placettes avec et sans prédation**. Pouvoir éliminer l'hypothèse d'une prédation sur tout ou partie de la population nous semble un élément clé pour interpréter l'évolution des structures de tailles et comprendre la dynamique de la quagga.

Des contrastes forts apparaissent entre les sites d'Excenevex et St Disdille. Il apparaît par exemple qu'à 30 et 40 m de profondeur, il n'y a quasiment pas de croissance de la principale cohorte en place à Excenevex mais qu'une croissance aurait eu lieu à St Disdille entre mars et juin. Il est spéculatif d'attribuer ces différences à des différences abiotiques mais un régime thermique assez différent pourrait exister au niveau de ces stations. **La pose d'enregistreurs (température et oxygène) et des mesures de concentration en chlorophylle-a permettraient de valider ou non l'influence de ces paramètres sur les différences de croissance observées**.

Les biomasses (coquille et corps mou) que représentent les dreissènes sur le fond sont en moyenne de 660 g/m² à Excenevex et de 1340 g/m² à St Disdille, pour une valeur maximale observée à St Disdille à 30 m de 3 kg/m². Le contraste est fort entre la biomasse de dreissènes à 5 m à Excenevex (de 26 à 97 g/m²). Le poids des corps mous est environ 3,2 fois plus faible que le poids total. Cela représente donc 205 g/m² en moyenne de corps mou à Excenevex et 415 g/m² à St Disdille. Les coquilles représentent donc 450 à 920 g/m² en moyenne dont on ne sait quasi rien de la vitesse de décomposition. Les coquilles vides (individus morts) n'ont pas été dénombrées dans notre étude mais avec les individus vivants **les coquilles constituent un stock important d'éléments biogéochimiques essentiels soustraits au reste du réseau trophique**, avec un délai qui pourrait être long entre la mort des individus et une ré-intégration dans le compartiment biodisponible. Cet aspect mériterait des investigations plus poussées. La filtration étant biomasse-dépendante et l'unité standardisée le poids frais du corps mou sans cendres, ces valeurs ont été également fournies (Tableau 2).

Sur les deux transects suivis, la pente, la nature des fonds et leur stabilité sont déterminants vis-à-vis des densités, biomasses et surfaces potentielles de recouvrement. Ainsi, des ruptures de pente marquées localement le long du transect de Saint Disdille engendrent un habitat de qualité très hétérogène pour la quagga. La pente plus douce et plus régulière à Excenevex offre au contraire une surface de colonisation énorme au développement de quagga. Au-delà de 75 m de profondeur, l'habitat est moins occupé quelle que soit la pente, ce qui pourrait être en lien avec la disponibilité du phytoplancton.

Les trois méthodes s'avèrent finalement très complémentaires et la problématique de l'évaluation des densités reste complexe. La quasi-absence de zebra simplifie par contre le problème imaginé au départ car toutes les dreissènes observées peuvent être assimilées à des quagga, au moins pour le moment au-delà d'une profondeur de 5 m. La photogrammétrie d'images acquises par plongeurs et ROV nous semble être une piste pour aller plus loin et envisager des évaluations de taille, croissance et stocks de quagga à grande échelle. Le devenir des coquilles questionne par ailleurs sur la séquestration d'éléments essentiels à la production du lac.

5. CONCLUSION

L'utilisation de trois méthodes pour évaluer les densités de dreissènes se sont montrées très complémentaires. L'ADNe est au point (amorces) pour distinguer efficacement les deux espèces et d'une manière semi quantitative (ddPCR). Le signal très faible obtenu lors de la détection de la zebra est cohérent avec les densités très faibles observées au sein des quadrats. On peut estimer qu'au maximum, à 5 m de profondeur, 2% environ des dreissènes récoltées étaient des zebra (1 à 25 individus dans les 15 quadrats sur 48 où elle était présente). L'analyse d'images acquises par ROV a permis de montrer le contraste entre les 40-50 premiers mètres, saturés ou quasi saturés de recouvrements de dreissènes, et au-delà. Les densités semblent plus importantes sur le site aux pentes les plus fortes (Saint Disdille), ce qui laisse penser que les pentes fortes conditionneraient la densité en réduisant la surface disponible dans la zone des 5 à 50 m. Les valeurs de recouvrement à 125 m avoisinaient 10 % de la surface examinée et il est certain que le front de progression se situe à des profondeurs plus importantes. La survie de la quagga dans ces eaux profondes et la dynamique des populations en place vont être décisifs à moyen terme sur les impacts globaux à l'échelle du lac.

En termes de densité, il est rarissime d'avoir moins de 1000 ind./m² entre 5 et 50 m de profondeur, les densités moyennes sont de 5000 ind./m² et au maximum de 18.000 ind./m² (observation à 15 m à St Disdille en mars). C'est à 5 m (zone de plus fort brassage des eaux ?) qu'il y a le moins de quagga et à 15 m qu'il y en a le plus. Dans ces profondeurs faibles, les petits ou très petits individus ont été observés, y compris en mars (issue d'une reproduction hivernale). La croissance est délicate à suivre compte-tenu d'une prédation potentielle orientée sur certaines classes de taille plus vulnérables, des variations liées à l'échantillonnage et des différences de température entre les sites. Nous observons qu'à 30 et 40 m de profondeur, il n'y a quasiment pas de croissance de la principale cohorte en place à Excenevex mais qu'une croissance existerait à St Disdille entre mars et juin.

Les biomasses que représentent les dreissènes (avec coquilles) sur le fond sont en moyenne de 660 g/m² à Excenevex et de 1340 g/m² à St Disdille, pour une valeur maximale observée à St Disdille à 30 m de 3 kg/m². Le contraste est fort avec la faible biomasse de dreissènes à 5 m à Excenevex (de 26 à 97 g/m²). Le poids des corps mous est environ 3,2 fois plus faible que le poids total soit 205 g/m² en moyenne de corps mou à Excenevex et 415 g/m² à St Disdille. Les coquilles (en moyenne 700 g/m² par station) constituent ainsi un stock important d'éléments biogéochimiques essentiels soustrait au reste du réseau trophique et rendus non biodisponibles.

Sur un plan méthodologique, les amorces ADNe sont performantes et la méthode permet d'évaluer des grandes tendances y compris sur un plan quantitatif. L'hydrodynamique et la reproduction (émissions de gamètes, stades planctoniques) rendent cependant impossible une évaluation fine des densités sur le fond avec la seule méthode ADNe. La prise d'images par ROV s'est avérée simple et rapide à mettre en place pour évaluer rapidement les surfaces couvertes. La possibilité d'atteindre facilement des profondeurs importantes est un atout certain. En perspective, un ROV qui pourrait aller plus profondément et qui serait mieux équipé (photo HD, pinces pour prélèvement) serait essentiel pour mieux cartographier les densités. Une approche plus quantitative, exprimée en termes de densités, à une échelle globale nécessiterait ce type d'engin et d'une analyse des images HD à l'identique de ce que font les géomorphologues en photogrammétrie, ce qui dépassait le cadre de ce travail mais représente des perspectives intéressantes.

BIBLIOGRAPHIE

- Beisel J.-N., 2021. Synthèse bibliographique. Biologie, écologie et impacts potentiels de *Dreissena rostriformis bugensis*, la moule quagga, espèce invasive au sein du Léman. Rapport pour la Commission Internationale pour la Protection des Eaux du Léman (CIPEL), 113 pages.
- Birkett, K., Lozano, S. J., & Rudstam, L. G. (2015). Long-term trends in Lake Ontario's benthic macroinvertebrate community from 1994–2008. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 18(1), 76-88.
- Karatayev, A. Y., Burlakova, L. E., Mehler, K., Elgin, A. K., Rudstam, L. G., Watkins, J. M., & Wick, M. (2020). *Dreissena* in Lake Ontario 30 years post-invasion. *Journal of Great Lakes Research*.
- Kraemer, B. M., Boudet, S., Burlakova, L. E., Haltiner, L., Ibelings, B. W., Karatayev, A. Y., ... & Piet, S. (2023). An abundant future for quagga mussels in deep European lakes. *bioRxiv*, 2023-05.
- Labat, F. 2020. Macrophytes et moules invasives du Léman. Rapp. Comm. Int. Prot. Eaux Léman contre pollut., Campagne 2019. 206-210.
- Lods-Crozet B., 2020. Flux d'espèces exogènes envahissantes benthiques dans le Léman. Rapp. Comm. Int. Prot. Eaux Léman contre pollut., Campagne 2019. 212-221.
- Lods-Crozet B., Chevalley P.A., 2018. Flux d'espèces envahissantes benthiques, implications sur l'écosystème lacustre de grands lacs périalpins. Rapport de la Direction Générale de l'Environnement/Protection des eaux du Canton de Vaud, 20 pp.
- Matthey, G. (1966). Deux espèces nouvelles de la faune du Léman: *Dreissena polymorpha* Pallas (Mollusca, Dreissenidae), *Acerina cernua* (L.)(Pisces, Percidae). Bulletin de la Société vaudoise des Sciences naturelles, 69, 229-232.