

Université de Lille 1 Sciences et Technologies

Ecole doctorale Science de la Matière, du Rayonnement et de l'environnement

Thèse de doctorat pour obtenir le grade de :

Docteur de l'Université de Lille 1 Sciences et Technologies

Discipline : Géosciences, Ecologie, Paléontologie, Océanographie

par

Marc ARANCIO

Etude théorique des interactions entre des dinoflagellés et des parasitoïdes eucaryotes en environnement mélangé : persistance du système et succession phytoplanctonique.

Thèse dirigée par : Sami SOUISSI et Marc SOURISSEAU

Thèse soutenue le : 16 octobre 2014

Membres du jury :

Jean-Christophe POGGIALE (PR) Aix-Marseille Université	Rapporteur
Sandrine CHARLES (PR) Université Claude Bernard	Rapporteur
François G. SCHMITT (DR CNRS) Université Lille 1 Sciences et Technologie	Examineur
Laure GUILLOU (DR CNRS) Université Pierre et Marie Curie	Examineur
Sami SOUISSI (PR) Université Lille 1 Sciences et Technologie	Directeur de thèse
Marc SOURISSEAU Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer	Co-encadrant



Résumé

De nombreuses espèces de dinoflagellés autotrophiques peuvent être parasitées par de multiples parasitoïdes eucaryotes comme *Amoebophrya* spp. ou *Parvilucifera* spp. Ces parasitoïdes ont un cycle de vie particulier avec une alternance obligatoire entre un stade libre infectieux, appelé zoospore, et un stade endocellulaire pendant lequel le parasitoïde se développe. Le stade endocellulaire, pendant lequel le parasite consomme l'hôte et se multiplie, dure entre 2 et 4 jours. Il aboutit à la mort de l'hôte et à la libération de plusieurs dizaines, voir plusieurs centaines de zoospores. Chacun des zoospores est capable d'infecter un nouvel hôte ce qui fait de ces parasitoïdes des pathogènes très infectieux avec une grande capacité de prolifération. Plusieurs études ont ainsi pu démontrer leur fort potentiel pour contrôler la population de leurs hôtes en quelques jours. Les observations effectuées dans l'estuaire de la Penzé, dans le nord-ouest de la France, ont également montré que les hôtes et les parasitoïdes de ce milieu sont génétiquement très diversifiés. Cette diversité génétique et phénotypique suggère des interactions très variées ainsi qu'une dynamique d'infection très complexe dans ce système.

L'objectif de cette thèse consiste à appréhender cette dynamique d'infection parasitoïdes-dinoflagellés dans un estuaire fortement mélangé tel que celui de la Penzé ainsi qu'une meilleure compréhension des différentes interactions ayant lieu au sein de ce système. Afin de répondre à cette problématique de ce système nous avons utilisé l'approche de la modélisation individu-centrée (IBM).

Dans la première partie de cette étude, le modèle simulant la dynamique d'infection dinoflagellé-*Amoebophrya* a été paramétré avec des données de la littérature et utilisé pour évaluer différents processus pouvant mener à la persistance à long terme du système hôte-parasitoïde. Les trois processus les plus à même d'intervenir dans la dynamique ont été testés : la diminution de l'infectivité, l'action d'un brouteur sur les parasites et le processus de désenkystement. La persistance du système a été obtenue dans tous les cas mais les conditions nécessaires pour l'obtenir en diminuant l'infectivité n'étaient pas réalistes par rapport à la variabilité observée des paramètres modifiés. L'action des brouteurs a produit des cycles courts et stables d'une dizaine de jour grâce à un contrôle de la population des parasites. Ce processus reste cependant difficile à observer dans l'environnement. Le processus de désenkystement semble responsable de la persistance interannuelle du système. Des cycles durables d'une période de 50 jours ont été produits même en présence

de conditions instables. Ces cycles peuvent être obtenus avec une forte proportion de kystes infectés tant qu'une partie d'entre eux reste saine.

Dans la seconde partie de ce travail, l'influence que peuvent avoir différents types de parasitoïdes sur la dynamique d'infection et la succession des espèces de dinoflagellés est étudiée à l'aide du modèle IBM. La paramétrisation des différentes espèces de parasites a été effectuée sur la base de plusieurs dynamiques d'infection suivies en laboratoire pendant plusieurs jours. Ainsi les paramètres d'infection (temps de maturation, production de parasites par cellule infectée, probabilité d'infection par contact et taux de mortalité) de plusieurs couples ont été estimés et d'autres comme le paramètre de rencontre ont été calculés théoriquement. Une communauté de dinoflagellés artificielle constituée de différents phénotypes (définie par leur taux de croissance ou fitness) a ensuite été mise en présence des différents parasitoïdes (spécifiques ou généralistes) lors de plusieurs simulations durant un cycle annuel avec des forçages réalistes de lumière, de température, de marée et de débit de rivière. En présence de parasites spécifiques, la communauté de dinoflagellés a produit une succession de phénotypes. Chaque phénotype peut alors devenir le phénotype dominant et ce même avec une fitness inférieure. Au contraire lors de l'introduction des parasites généralistes, la dynamique d'infection résulte en une série d'extinction de la communauté entière. Dans ce scénario, seuls les phénotypes avec une fitness élevée ont la possibilité de se développer à de fortes abondances.

Dans la dernière partie de cette étude, nous avons tenté d'améliorer l'estimation du paramètre utilisé pour calculer le taux de rencontre entre les hôtes et les parasites. Plusieurs méthodes d'observations ont été utilisées pour tenter d'estimer ce paramètre. Comme l'événement à observer est rare et que les méthodes d'observations ne permettent pas de suivi assez long pour avoir une bonne représentativité statistique de l'événement, une méthode numérique intermédiaire (simulation du comportement natatoire de l'hôte et du parasite) a été utilisée. Les observations ont donc servi à analyser le comportement de nage des organismes pour l'implémenter dans un modèle numérique et estimer le paramètre de rencontre. Pour les divers comportements simulés, le modèle a démontré une modification non négligeable de ce paramètre (environ 10%) du au changement de la trajectoire théorique rectiligne à hélicoïdale de l'hôte et également l'importance de prendre en compte le comportement des parasitoïdes (modification du même ordre de grandeur). Les comportements hétérogènes des organismes sont donc à prendre en compte pour une paramétrisation plus efficace.

En conclusion, cette étude a démontré la complexité et la diversité des interactions ayant lieu dans ce type de système, comme l'influence de la spécificité d'un pathogène sur la dynamique de la population hôte, ou la capacité de ces pathogènes à modifier la niche réalisée de leur hôte en contrôlant efficacement sa population et offre également des possibilités supplémentaires pour modéliser des systèmes complexes et concevoir des modèles dynamiques théoriques.

Theoretical study of dinoflagellates and eukaryot parasitoids interactions in mixed environment : system persistence and phytoplanktonic succession.

Abstract

Many species of autotrophic dinoflagellates can be parasitized by multiple parasitic eukaryotes as *Amoebophrya* spp. or *Parvilucifera* spp. These parasitoids have a specific life cycle with an obligatory alternation between a free infective stage called zoospore, and an intracellular stage of sporulation. Sporulation stage, during which the parasite consumes the host and multiplies, lasts between 2 and 4 days. It results in the death of the host and the release of several dozens to hundreds of zoospores. Each zoospore is able to infect a new host, making these parasitoids highly infectious pathogens with high proliferative capacity. Several studies have demonstrated their potential to control the population of their hosts in a few days. The observations made in the estuary of the Penzé, in the northwest of France, also showed that the hosts and parasitoids of this environment have a high genetic diversity. This genetic and phenotypic diversity suggests various interactions and very complex infection dynamics in this system.

The aim of this thesis is to understand the infection dynamics parasitoid-dinoflagellates in a highly mixed estuary such as the Penzé and a better understanding of the different interactions taking place within the system. To address this problem of this system we used the approach of self-centered modeling (IBM).

In the first part of this study, the model simulating the infection dynamics dinoflagellate-*Amoebophrya* was parameterized with data from the literature and used to evaluate different processes that can lead to long-term persistence of host-parasitoid system. The three most likely to be involved in the dynamic process were tested : the reduction of infectivity, the action of a grazer on parasitoids and the excystment process. The system persistence was obtained in all cases but the conditions required to obtain decreasing infectivity were not realistic in relation to the observed variability of the modified parameters. The action

of grazers produced short and stable cycles of ten days with a control of the parasites population. However, this process remains difficult to observe in the environment. The excystment process seems responsible for interannual persistence of the system. Durable cycles of 50 days period were produced even under unstable conditions. These cycles can be obtained with a high proportion of infected cysts until a part of them remain healthy.

In the second part of this work, the influence of different types of parasitoids on the infection dynamics and succession of dinoflagellate species is studied using the IBM model. Parameterization of different species of parasites was performed on the basis of several dynamic infection monitored in laboratory for several days. Thus infection parameters (maturation time, production of parasites per infected cell, infection probability per contact and mortality) of several couples were estimated and other parameter like the encounter kernel were theoretically calculated. An artificial community of dinoflagellates consisted of different phenotypes (defined by their growth rate or fitness) was then put in the presence of different parasitoids (specialists or generalists) in several simulations during an annual cycle with realistic forcings of light, temperature, tide and river flow. In the presence of specialist parasites, dinoflagellates community has produced a succession of phenotypes. Each phenotype can then become the dominant phenotype even with a lower fitness. Instead when introducing generalist parasites, the dynamics of infection results in a series of extinction of the entire community. In this scenario, only phenotypes with high fitness have the opportunity to develop to high abundances.

In the last part of this study, we tried to improve the estimation of the parameter used to calculate the encounter rate between hosts and parasites. Several methods of observations were used to try to estimate this parameter. Since the event to observe is rare and observation methods do not allow monitorings long enough to have a good statistical representation of the event, an intermediate numerical method (simulation of the swimming behavior of the host and the parasite) was used. The observations were therefore used to analyse the swimming behavior of the organisms to implement it in a numerical model and estimate the encounter parameter. For various simulated behaviors, the model showed a significant change in this parameter (about 10%) due to the modification of the host swim from a theoretical straight trajectory to a helical trajectory and also the importance of taking into account the behavior of parasitoids (modification of the same order of magnitude). Heterogeneous behavior of organisms are to be considered for a more efficient parameterization.

To conclude this study has demonstrated the complexity and diversity of interactions that take place in this type of system like the influence of the specialization of a pathogen on the dynamics of the host population or the ability of these pathogens to modify the realized niche their host by effectively controlling its population and also provides additional option to modelize complex systems and design theoretical dynamics models.

Mots clefs : Hôte-parasitoïde, Dinoflagellés, Modèle basé sur l'individu, *Amoebophrya*, *Parvilucifera*, Persistance, Succession phytoplanctonique, Comportement nata-toire.

Key words : Host-parasitoid, Dinoflagellates, Individual based model, *Amoebophrya*, *Parvilucifera*, Persistence, Phytoplanktonic succession, Swimming behavior.

Cette thèse s'est déroulée au sein du :

Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences - UMR LOG 8187
Station Marine - BP 80 - 28 avenue FOCH - 62930 Wimereux

Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer
Technopôle Brest Iroise - BP 70 - 29280 Plouzané

Remerciements

J'adresse mes sincères remerciements aux rapporteurs ainsi qu'aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Je tiens aussi à remercier mes deux encadrants Sami Souissi et Marc Sourisseau pour m'avoir aidé, guidé et encouragé tout au long de cette épreuve, pour avoir pris le temps de discuter et débattre de mes idées fausses et justes et pour avoir permis cette thèse.

Je remercie aussi le projet ANR PARALEX qui a entièrement financé cette thèse et Laure Guillou pour son aide lors de la rédaction de mon papier ainsi que l'équipe de Roscoff pour leur aide lors de l'observation des cultures hôte-parasite.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire dyneco-pélagos pour la bonne ambiance qu'il y régnait et les agréables pauses café. Merci à Julien qui m'a beaucoup aidé avec mes cultures, Michel pour son aide dans mes tentatives pour observer mes bêtes avec plein de lasers, Raffaele pour ses conseils et son soutien quand je faisais des présentations dans les conférences et Agnès et son humour olé. Je remercie aussi Anne-Laure pour toutes les fois où elle m'a aidé pour la paperasse administrative et pour sa bonne humeur toujours présente. Merci à Erwan pour m'avoir aidé à me maintenir en forme et plus encore. Merci aussi à toutes les autres personnes que j'ai pu côtoyer pendant ces trois ans et demi et plus particulièrement ma collègue de bureau Aurélie avec qui j'ai pu discuter et échanger beaucoup d'idées. Je remercie aussi Lourdes et Virginie pour leurs conseils et leur soutien pendant ma thèse.

Enfin je souhaite remercier mes proches. Je remercie Adeline qui ma soutenue tous les jours depuis que je l'ai rencontré et qui a supporté mes régulier "c'est bientôt fini". Je remercie aussi ma famille : mon père, ma mère, Jean-Louis et mes grands parents pour leur soutien et leurs conseils.

Table des matières

Introduction générale	10
Chapitre 1 : Introduction du modèle IBM et analyse des processus menant à la coexistence entre <i>Amoebophrya</i> spp. et son hôte dinoflagellé.	17
1 Introduction	19
2 Materials and methods	21
2.1 Purpose.	21
2.2 Entities, state variables, and scales.	21
2.3 Process overview and scheduling.	21
2.4 Design concepts.	21
2.5 Initialization.	22
2.6 Input data.	22
2.7 Submodels.	22
2.8 Simulations.	32
3 Results	33
3.1 Model response to experimental parameters and validation	33
3.2 Sensitivity test	35
3.3 Coexistence in a basic system : Model A	36
3.4 Coexistence with a grazer : Model B	39
3.5 Coexistence with excystment : Model C	40
4 Discussion	41

4.1	Simulation of in vitro dynamics, validation with experimental data	42
4.2	Coexistence processes	43
5	Conclusion	45
Chapitre 2 : Impact de la spécificité d'un parasitoïde sur la dynamique et la succession de son hôte dinoflagellé.		47
6	Introduction	48
7	Material and method	52
7.1	Host/parasitoid parameters	52
7.2	IBM model	57
7.3	Simulations	60
8	Results	62
8.1	Infection parameters	62
8.2	Simulations	63
9	Discussion	69
9.1	Model approximations/hypotheses	69
9.2	Development window and selection pressure	71
9.3	Observed phenology and monitoring data set.	73
Chapitre 3 : Estimation de l'influence du comportement natatoire sur le noyau de rencontre.		75
10	Introduction	75
11	Mesures	76
11.1	Trajectoires 2D par autofluorescence	76
11.2	Méthode 3D : Holographie digitale en ligne	77
11.3	Cultures :	79
11.4	Modèle de nage :	79
12	Résultats et discussion	84
12.1	Observation des nages	84

12.2	Modèle de nage	87
	Discussion générale, conclusions et perspectives	89
13	Amélioration potentielle de la simulation des dynamiques d'infection : . .	93
14	Perspectives	94

Introduction générale

Le parasitisme est une des relations les plus répandues entre deux organismes dans la nature. C'est une relation bénéfique pour le parasite et nuisible pour l'hôte. Les parasites sont quasiment présents dans l'ensemble du monde vivant sous des formes très variées (virus, bactéries, eucaryote unicellulaire et multicellulaire). Leur cycle de vie a majoritairement lieu sur ou à l'intérieur d'un ou plusieurs hôtes avec lesquels ils sont intimement liés. Ce lien aboutit à une forte coévolution (l'hypothèse de la reine rouge ; Van Valen, 1973) entre le parasite et l'hôte. Les parasites nuisent généralement à leurs hôtes sans les tuer ou tout du moins pas à court terme (Begon et al., 2009). Lorsqu'un parasite tue obligatoirement son hôte pour achever son cycle de vie, il est appelé parasitoïde. Ce genre de parasite se trouve facilement chez les insectes et la capacité de certaines espèces à réguler efficacement la population de leur hôte a donné lieu à de nombreuses recherches expérimentales (ex. Maron and Harrison, 1997, Holt and Lawton, 1993) et théoriques (ex. Mills and Getz, 1996, Hassell and May, 1974). Plusieurs types de parasitoïdes ont aussi été observés dans le milieu marin, et dans le cadre de cette thèse nous sommes intéressés en particulier à un système hôte-parasitoïde d'un milieu estuarien peu profond dont les hôtes sont des dinoflagellés autotrophes.

De nos jours, plus de 2000 espèces de dinoflagellés ont été identifiées (Burkholder et al., 2006, Gómez, 2005). La plupart font partie des écosystèmes marins ou estuariens et participent à la production primaire. Dans les zones tempérées, les dinoflagellés phytoplanctoniques prolifèrent au printemps et sont particulièrement abondants près des côtes avec de forts apports en nutriments. Toutes les espèces de dinoflagellé possèdent deux flagelles (transverse et longitudinale) et un grand nombre sont caractérisés par une paroi cellulaire couverte de plaques rigides appelées thèque. Ils peuvent être autotrophiques, hétérotrophiques ou mixotrophiques. Les dinoflagellés ont une nage distinctive et peuvent répondre à différents stimuli (chimiques, gravitationnels et lumineux). Toutes les espèces

nagent selon une trajectoire hélicoïdale avec des vitesses allant de 200 à 500 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Certaines espèces photosynthétiques peuvent même effectuer des voyages de plusieurs mètres dans la colonne d'eau pour augmenter leur compétitivité en milieu stratifié (16 $\text{m}\cdot\text{j}^{-1}$, Kamykowski et al., 1998), nageant vers la surface le jour pour augmenter la quantité de lumière pouvant être reçus et vers le fond la nuit pour capter les nutriments nécessaires à leur croissance.

Les dinoflagellés ont un cycle de vie divisé en deux phases (c.à.d. haploïde et diploïde ; Evitt, 1985) et certains d'entre eux produisent une forme de résistance en réponse à des facteurs environnementaux stressants (Anderson et al., 1985) appelée kyste. Pendant la croissance de la population, la fission végétative (phase asexué) domine avec des cellules haploïdes mobiles. Un phénomène stressant (limitation en nutriments, lumière, etc.) déclenche alors la formation de gamètes qui fusionnent (phase sexué) pour former un planozygote diploïde. Pour la majorité des espèces de dinoflagellés, le planozygote formera un kyste de repos avec une thèque calcifiée ou plus épaisse mais dans certains cas il peut se diviser par méiose en cellules végétatives (très rarement observé). Lorsqu'un kyste est formé, il sédimente jusqu'à l'interface sédimentaire et entre dans une période de sommeil obligatoire (Cosgrove et al., 2014). Un kyste est alors capable de rester en vie pendant plusieurs mois voir plusieurs années dans le sédiment. Lorsque les conditions physico-chimiques sont adéquates, il germe et se divise par méiose pour produire des cellules mobiles haploïdes. Cette forme de résistance permet la survie d'une grande partie de la population dans des conditions défavorables et une recolonisation rapide du milieu lorsque les conditions environnementales sont favorables à un développement de la population (Garcés et al., 1998).

Lorsque les conditions leur sont favorables, certaines espèces de dinoflagellés sont capables de proliférer de manière importante et nuisent, par leur surpopulation ou leur capacité de synthèse de molécules toxiques, aux organismes qui les côtoient ou à l'activité humaine proche (Burkholder et al., 2006, Zingone and Enevoldsen, 2000). Cette nuisance est d'autant plus fréquente lorsque l'espèce ne nécessite qu'une faible concentration pour avoir un effet notable. Ces événements toxiques sont de plus en plus récurrents et souvent causés par les modifications anthropiques de certains écosystèmes (Anderson, 2005). Cependant dans certains milieux, des événements toxiques réguliers se sont arrêtés soudainement grâce à un contrôle de la population phytoplanctonique en cause par des parasitoïdes (Montagnes et al., 2008). Avec le développement des sondes moléculaires, du séquençage et d'autres techniques d'observation, de plus en plus d'études montrent l'influence impor-

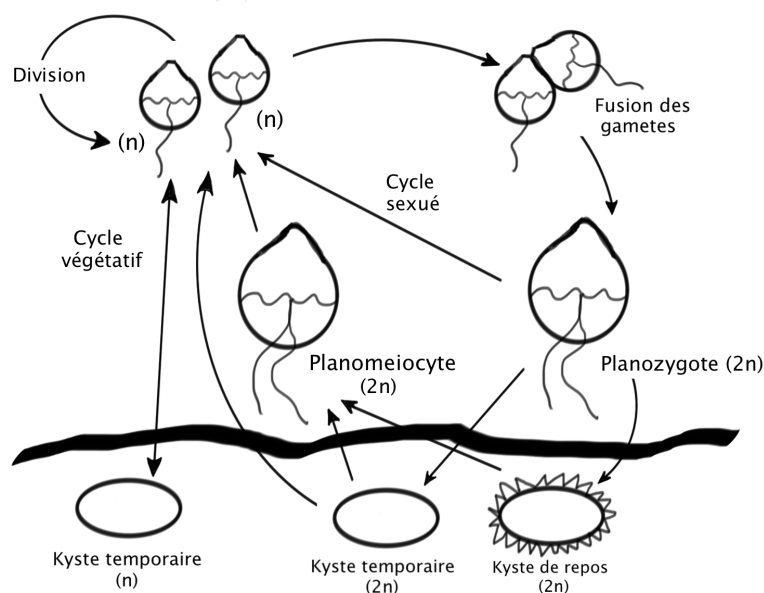


Figure 1 – Cycle de vie des dinoflagellés.

tante et variée du parasitisme sur le développement et la dynamique des communautés de phytoplancton. Trois groupes de pathogènes peuvent être responsables d'un tel contrôle : les virus, les bactéries et les parasitoïdes eucaryotes. Les virus sont les plus abondants des pathogènes dans le milieu marin (c.à.d. environ 10^9 virus.l⁻¹ ; Suttle, 2005). Ils parasitent tous les organismes des écosystèmes marins avec, la plus part du temps, une grande spécificité (Brussaard, 2004). Ils peuvent contrôler l'abondance d'une espèce en diminuant sa compétitivité et favorisent la compétition ainsi que la diversité en limitant les abondances des espèces dominantes. Les bactéries ne sont pas à proprement parler des parasites des dinoflagellés mais en empêche indirectement le développement en libérant des composés algicides dans l'eau (Mayali and Azam, 2004, Gachon et al., 2010). Selon la sensibilité de l'algue aux composés libérés, il peut également y avoir un fort contrôle de la population. Enfin les parasitoïdes eucaryotes tels que les champignons et d'autres dinoflagellés (Park et al., 2004), présent dans de nombreux milieux côtier (Mazzillo et al., 2011, Coats et al., 1996, Chambouvet et al., 2008, Figueroa et al., 2008), tuent obligatoirement leur hôte pour achever leur cycle de vie. Ils sont capables d'augmenter rapidement leur population et ont démontré une infectivité importante et une forte capacité à contrôler la population de leur hôte (Coats and Park, 2002).

Dans le cadre de cette thèse nous nous sommes intéressés aux milieux estuariens et

plus particulièrement celui de la rivière Penzé, en France, un site surveillé hebdomadairement par le réseau REPHI et à plus haute fréquence pendant la période de développement des dinoflagellés par les membres du projet ANR PARALEX. Des observations sur plusieurs années dans cet estuaire ont montré qu'une espèce toxique de dinoflagellé, ayant proliféré de manière incontrôlable durant plusieurs années, s'est stabilisée à des concentrations non toxiques depuis 2004 (Montagnes et al., 2008). Cette stabilisation a été suivie par une prolifération de parasitoïdes eucaryotes (Chambouvet et al., 2008). Les études qui ont suivie ont permis d'identifier deux genres de parasitoïdes capables d'infecter plusieurs espèces de dinoflagellé dans cet estuaire. L'un d'eux *Amoebophrya* spp. (Syndiniales, Dinophyceae) est très spécifique et capable de n'infecter que quelques souches d'une ou de plusieurs espèces de dinoflagellé. Le second parasitoïde appartient au genre *Parvilucifera* (Perkinsozoa) et est capable d'infecter un grand nombre d'espèces de dinoflagellé (Figueroa et al., 2008). Ces parasitoïdes sont extrêmement virulents et capables, en laboratoire, de provoquer l'extinction de leur hôte en quelques jours (Coats and Park, 2002). Certains chercheurs ont même suggéré leur utilisation pour réguler la population de certaines espèces d'algues nuisibles ou HABs (Granéli, 1987).

Amoebophrya spp. est un parasitoïde intracellulaire capable d'infecter plus de 40 espèces de dinoflagellé unicellulaire (Park et al., 2004, Salomon et al., 2009). L'infection commence lorsqu'un dinospore (forme libre biflagellé d'*Amoebophrya* spp.) rencontre et injecte une partie de son matériel cellulaire (dont le noyau et la mitochondrie) dans son hôte. A l'intérieur de la cellule, le parasitoïde se développe en trophont et utilise le matériel cellulaire hôte pour croître. Selon l'espèce infectée, le trophont se développe dans le noyau ou dans le cytoplasme de son hôte et dans tous les cas l'empêche de se reproduire. La maturation dure environ 2 jours et produit un stade multi-flagellé et multi-nucléé appelé vermiforme. Après maturation, le vermiforme perfore la membrane de la cellule hôte et produit, après une courte période de temps (moins d'une heure), plusieurs dizaines, voir milliers de dinospores par cytokinèse (Chambouvet et al., 2008, Coats and Park, 2002). Ce nombre peut varier en fonction des souches de parasitoïde et hôte ainsi que de l'état de la cellule hôte. Une description plus précise du cycle de vie d'*Amoebophrya* spp. est disponible dans les articles de Cachon (1964), Cachon and Cachon (1987), Coats and Bockstahler (1994), Miller et al. (2012).

Amoebophrya ceratii a été pendant longtemps considéré comme un parasitoïde avec un large spectre d'hôtes mais de récentes études ont montré qu'*Amoebophrya* spp. est un genre génétiquement complexe (Janson et al., 2000, Chambouvet et al., 2008, Guillou

et al., 2008, Kim et al., 2008) avec une très grande spécificité (Coats et al., 1996, Coats and Park, 2002). Certaines souches de ce parasitoïde sont toutefois capables d'infecter plusieurs espèces d'hôtes (Kim, 2006). La spécificité de ce genre implique un mécanisme de survie en l'absence de l'hôte, notamment en hiver lorsqu'ils ne sont présents que sous forme de kystes dans le sédiment. Une étude a montré qu'*Amoebophrya* spp. est capable d'infecter le stade diploïde des dinoflagellés (planozygote) juste avant leur enkystement et d'entrer en dormance avec leur hôte (Chambouvet et al., 2011). Ce mécanisme permettrait au parasitoïde de survivre et de se développer l'année suivante avec la germination de l'hôte dans des conditions d'infection favorables.

Contrairement au genre *Amoebophrya*, les espèces de *Parvilucifera* sont très généralistes et capables d'infecter une grande variété de dinoflagellé (Figuerola et al., 2008). Les espèces de *Parvilucifera* présentes en Penzé ont un cycle de vie grossièrement similaire à celui d'*Amoebophrya* spp. Lorsque la forme libre biflagellé du parasitoïde rencontre son hôte, il pénètre à l'intérieur de celui-ci et utilise le matériel cellulaire de l'hôte pour croître. A un certain stade de la maturation le parasitoïde, alors appelé sporange, devient trop volumineux et éclate la thèque de son hôte. A ce stade il est encore impossible de distinguer les spores à l'intérieur du sporange qui apparaît alors transparent au microscope optique (sporange blanc). Après une certaine durée, la formation des spores colore le sporange qui apparaît noir (sporange noir) ce qui est un signe de la maturation du sporange. Lorsque le sporange est mature, les spores se mettent à nager et sortent par plusieurs ouvertures pour infecter de nouveaux hôtes. Le cycle de vie de *Parvilucifera* spp. est décrit plus en détails dans les articles de Lepelletier et al. (2014b), Norén et al. (1999). Certains chercheurs suspectent ces parasitoïdes d'avoir la possibilité de survivre pendant de longue période sous forme de sporange. Ils détectent la présence d'hôte potentiel grâce à des composés chimiques présent dans l'eau lorsque ces derniers se développent et déclenchent la libération des formes infectieuses facilitant ainsi une nouvelle vague d'infection (Garcés et al., 2013). Ce processus serait alors similaire à celui d'*Amoebophrya* spp. avec une phase de repos en absence d'hôte et une phase d'infection lorsque celui-ci est présent dans le milieu.

Toutefois la compréhension de la dynamique de ces interactions hôte-parasitoïde demande des efforts de recherche sur les différents processus impliqués (cycle de vie, spécificité, comportement, etc.). Dans cette étude, nous nous sommes donc intéressés aux interactions entre des dinoflagellés et leurs parasitoïdes eucaryotes dans un milieu estuarien mélangé, plus particulièrement la manière dont le système hôte-parasitoïde coexiste à

long-terme et l'impact que peut avoir la communauté de parasitoïdes sur la dynamique de la population des dinoflagellés. Il est difficile de réaliser ce travail en se basant seulement sur des observations ou des expériences en laboratoire, et un modèle hôte-parasitoïde a donc été utilisé. Ce travail s'effectue dans le cadre du projet ANR PARALEX, qui tente d'identifier les pathogènes responsables du contrôle de la population des dinoflagellés dans la Penzé. L'objectif initial de ce projet est d'étudier la spécificité de ces pathogènes à différentes échelles spatiales et temporelles et de démontrer de manière concluante qu'ils peuvent efficacement contrôler les populations des espèces invasives de dinoflagellés toxiques.

La plupart des modèles utilisés pour l'étude des systèmes hôte-parasitoïde sont basés sur les modèles du type Lotka-Volterra ou Nicholson-Bailey. Fait avec un duo d'équations différentielles continues ou discrétisées, ces modèles nécessitent des processus particuliers ou une spatialisation pour obtenir une dynamique d'infection stable (Briggs and Hoopes, 2004). L'aspect spatial fut le premier introduit et a été identifié comme important moteur de la coexistence via différents processus : patches non synchrones, agrégation, interférence mutuelle et dispersion (Briggs and Hoopes, 2004, Hassell and May, 1973, 1974, Rohani et al., 1994). Cependant d'autres processus doivent être impliqués dans l'environnement choisi car l'existence de plusieurs sous-populations est peu probable en raison de la faible profondeur et du fort mélange par la marée. Les modèles non-spatialisés semblent donc être mieux adaptés à cette étude mais ceux-ci ont besoin d'un facteur stabilisant tel qu'une carrying capacity, une classe d'âge invulnérable, des attaques de parasitoïde non-aléatoires, une reproduction sexuelle ou bien encore de la migration (Beddington et al., 1975, Doebeli and Ruxton, 1997, Flatt and Scheuring, 2004). Toutefois les modèles classiques n'arrivent pas à reproduire les délais de maturation lorsque les échelles de temps sont trop petites à cause de problèmes de diffusion numérique et les modèles à temps discret simulent mal des infections asynchrones. Pour faire cette étude, nous avons donc choisis d'utiliser un modèle non spatialisé et capable de reproduire facilement le temps de maturation des parasitoïdes. Notre choix s'est porté sur de la modélisation basé sur l'individu en 0 dimension avec une représentation individuelle des dinoflagellés et eulérienne de la forme infectieuse des parasitoïdes. Ce modèle a été spécifiquement développé pour ce système lors d'une étude précédente pour évaluer l'influence de la migration verticale des dinoflagellés sur la dynamique d'infection d'*Amoebophrya* spp. dans un milieu stratifié (Sourisseau et al., 2010).

Le présent manuscrit de thèse se compose de trois chapitres :

Dans cette étude, nous avons cherché à estimer l'intensité du contrôle de ces parasitoïdes sur leurs hôtes.

Pour ce faire, nous avons dans un premier temps rechercher le processus principalement impliqué dans la coexistence de ce système dans le chapitre 1. Ce chapitre est une étude théorique sur la persistance du système hôte-parasitoïde dans un milieu homogène. Plusieurs hypothèses pouvant être à l'origine de la coexistence entre les hôtes et les parasitoïdes y sont testées. Ce chapitre sert également de présentation et de validation du modèle IBM.

Ensuite, nous avons cherché à identifier les différences entre les parasitoïdes généralistes et spécialistes au niveau de leurs paramètres d'infection et leur impact respectif sur la dynamique d'infection dans le milieu de la Penzé. Ce travail est traité dans le chapitre 2. C'est une étude plus ciblée utilisant le modèle IBM pour analyser l'impact de plusieurs types de parasitoïdes sur la dynamique d'une communauté de dinoflagellé. Dans ce chapitre les paramètres d'infections de plusieurs couples hôte-parasitoïde isolés en Penzé en 2011 ont été estimés pour paramétrer le modèle. Puis la dynamique annuelle d'une communauté de dinoflagellé a été simulée avec des forçages réalistes et en présence de différents types de parasitoïdes.

Le chapitre 3 est une étude préliminaire dans laquelle nous avons tenté d'améliorer l'estimation du paramètre de rencontre du modèle à l'aide des comportements natatoire des hôtes et des parasitoïdes. Ce paramètre, normalement calculer à partir d'une approximation, est estimé à l'aide d'un modèle dans lequel plusieurs comportements théoriques ont été programmés. Nous avons préféré aborder ce chapitre en dernier car c'est une étude qui est toujours en cours.

Chapitre 1 : Introduction du modèle IBM et analyse des processus menant à la coexistence entre *Amoebophrya* spp. et son hôte dinoflagellé.

Les kystes de repos sont produits lors de la reproduction sexuée de certains dinoflagellés autotrophiques. Ils se forment principalement en réponse à des conditions environnementales stressantes (Anderson et al., 1985) et sont issus de l'enkystement des planozygotes, eux même issus de la fusion de deux gamètes. Les kystes sont capables de survivre à l'interface sédimentaire pendant de nombreuses années. Ils sont à l'origine de la persistance interannuelle de multiples espèces de dinoflagellés dans le milieu naturel en fournissant un inoculum pendant la période favorable de croissance. De récentes études ont montré que des parasitoïdes spécialistes du genre *Amoebophrya* pouvaient infecter leur hôte dinoflagellé lorsqu'ils sont au stade de planozygote juste avant l'enkystement (Chambouvet et al., 2011). Cette infection résulte alors par l'entrer en phase de repos du parasitoïde à l'intérieur de la cellule hôte enkystée. Ces kystes, lors de la germination, produisent des parasitoïdes au lieu de cellules saines et sont suspectés d'être à l'origine du maintien du parasitoïde en l'absence d'hôte et de sa coexistence avec celui-ci.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à trois processus pouvant entrainer la persistance du système dinoflagellé-*Amoebophrya* spp. dans un milieu estuarien mélangé : la variation d'infectivité, la prédation sur le parasitoïde et bien sûr le désenkystement. Ces processus ont été évalués à l'aide d'un modèle basé sur l'individu développé pour simuler la dynamique d'infection de ce système. Ce modèle a été paramétré et validé au cours de ce travail avec des données de la littérature.

Trois configurations ont été utilisées en fonction des processus simulés. Le modèle de base a été utilisé dans la première configuration pour analyser l'impact de l'infectivité sur la persistance. Pour faire varier cette infectivité, les paramètres les plus sensibles (le succès d'infection par rencontre et le nombre de parasitoïdes produits par infection) ont été modifiés. Dans la seconde configuration, un cilié capable de brouter les parasitoïdes (Johansson and Coats, 2002) a été ajouté au modèle de base. Lors des simulations, le taux de croissance du cilié a été le seul paramètre à être modifié. Dans la dernière configuration, le processus de désenkystement a été ajouté au modèle de base. D'après Chambouvet et al. (2011), les hôtes et les parasitoïdes sont produits par les kystes. Un désenkystement constant ($8000 \text{ cellules.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$) et une banque de kyste inépuisable ont été considérés.

La persistance du système a été obtenue avec toutes les configurations. Toutefois une baisse considérable des paramètres (en dessous de 1% de la valeur de base) a été nécessaire avec la première configuration. La persistance du système due à une modification de l'infectivité semble donc irréaliste. La seconde configuration, avec un modèle tri-trophique, a permis la persistance du système avec une croissance intermédiaire du brouteur et un contrôle suffisant de la population du parasitoïde. Des oscillations de 10-12 jours ont été générées lors des simulations avec cette configuration. Avec le processus de désenkystement, la coexistence entre les hôtes et les parasitoïdes est obtenue tant qu'une partie de la banque de kyste reste saine. Des oscillations moyennes de 44.8 ± 5.0 jours ont été obtenues et peuvent expliquer la persistance interannuelle du système.

Processes leading to the coexistence of a host and its parasitoid in homogeneous environments : the role of an infected dormant stage.

Marc Arancio^{1*,2}, Marc Sourisseau¹, Sami Souissi²

1-IFREMER Brest, Laboratoire de Dynamique de L'Environnement Côtier. CS 10070, 29280 Plouzané. France

2-UMR CNRS LOG 8187– Université Lille 1 Sciences et Technologies – Station Marine, 28 avenue Foch 62930 Wimereux. France

1 Introduction

Parasitism is one of the key types of interactions that can occur between two organisms. A specialist category of parasite known as a parasitoid kills its hosts to survive and reproduce. Mechanisms allowing the host-parasitoid system to persist have been most studied in the insect community (Hassell et al., 1991a, Kraaijeveld and Godfray, 1997, Stiling, 1987). In these systems, experimental and theoretical studies generally predict unstable dynamics without incorporating external interactions or specific conditions in homogeneous environments into the relevant models (Getz and Mills, 1996, May and Hassell, 1981). Some heterogeneity is needed to enable these systems to persist, a feature that has been principally explained by patchy population distributions and different behavioral patterns of the host and parasitoid (Auger et al., 2000, Coats and Bockstahler, 1994, Hassell and May, 1988, Hassell et al., 1991b, Hassell, 2000, Murdoch and Briggs, 1996).

However, several of these persistent host-parasitoid systems have been found in mixed environments. Samples taken from mixed shallow estuaries have contained *Syndiniales Amoebophrya* spp., obligate parasitoids of dinoflagellates (Chambouvet et al., 2008, Coats et al., 1996). *Amoebophrya* species are widespread intracellular parasitoids that can infect more than 40 free-living dinoflagellate species (Park et al., 2004, Salomon et al., 2009). However, most isolated parasitoid strains are very specialized and can infect only a few species or strains of host species. The infection begins when a dinospore (a biflagellate free-living form of *Amoebophrya* spp.) encounters and penetrates its host. Inside the host cell, the parasitoids develop into trophonts and use the cellular material of the host to grow. The trophont develops in the nucleus or in the cytosol of the host (depending on the species of host). Infection prevents host division and always leads to cell death. Maturation takes approximately two days and produces a multinucleate and multflagellate stage known as a vermiform. After maturation, the vermiform ruptures through the host cell membrane and produces dozens to thousands of dinospores by cytokinesis after a short time (less than 1 h) (Chambouvet et al., 2008, Coats and Park, 2002). A more in-depth description of the life cycle of *Amoebophrya* spp. was produced by Cachon (1964), Cachon and Cachon (1987) and Coats and Bockstahler (1994).

The conditions in which *Amoebophrya* and its host interact in mixed estuaries are, in theory, incompatible with the persistence of the system. Above all, the high infectivity and reproductive output of *Amoebophrya* should not allow the host population to maintain it-

self in the water column. The host can develop each year because it produces cysts that can survive for several years in the sediment. Cysts accumulate in the sediment and germinate in favourable conditions. The dinospores cannot survive without their hosts, yet hosts and parasitoids are observed every year. A more recent study (Chambouvet et al., 2011) suggested that parasitoids such as *Amoebophrya* spp. could infect their dinoflagellate hosts just before encystment (in the planozygote stage) and enter into dormancy within the host. The cyst stage represents a survival stage for both the host and the parasitoid that might be responsible for the long-term persistence of the system.

The aim of this paper was to study the effects of different processes that allow the coexistence of hosts and parasitoids (dinoflagellates and *Amoebophrya*, respectively) in a homogeneous environment. Three main processes were studied : the modification of infection parameters, the control of the parasitoid by grazers and the excystment process. An individual-based model (IBM) approach was developed to simulate short synchronous dynamics, thus overcoming the problem of rapid parasitoid generation time in a non-IBM model (Salomon and Stolte, 2010) ; in particular, a parasitoid maturation time was introduced into a phytoplankton ecophysiological model. The individual approach ensures that complex behaviors and intracellular process modifications can be introduced into the model. The representation of the parasitoid-host dynamics (*Amoebophrya* spp. / dinoflagellate host) was primarily validated with experimental data from Coats and Park (2002) in an initial basic configuration. Three different hosts (*Akashiwo sanguinea*, *Gymnodinium instriatum* and *Karlodinium veneficum*) were used in the validation process. Subsequently, using the best simulated host-parasitoid couple, different processes that enabled coexistence were studied in three different model configurations : the basic configuration (validated with experimental data) with different parameterizations (model A), a configuration with a parasitoid grazer (model B ; tritrophic model) and a configuration with hosts and parasitoids produced by cysts (model C). The model description follows the ODD (Overview, Design concepts, Details) protocol for describing individual and agent-based models (Grimm et al., 2006, 2010).

2 Materials and methods

2.1 Purpose.

The purpose of this model was to introduce a precise and unbiased maturation time with stochastic and changing biological processes (i.e., infection) into an ecophysiological model of the host and to simulate infection dynamics.

2.2 Entities, state variables, and scales.

Host cells were individually simulated in a fixed volume of water and characterized by their cell age (d), size (cm), carbon mass (pmolC.host^{-1}), infected state (true or false), number of infections, infection time (d) and type of death (natural or parasitoid-induced mortality). Depending on the model configuration, parasitoids concentrations (Par - parasitoids. ml^{-1}), grazers concentrations (G - grazers. ml^{-1}) and non-individual host concentrations (H_e - hosts. ml^{-1}) were also simulated. The time step used in the model is 30 sec. Simulations length ranged from 3.5 d to 150 d.

2.3 Process overview and scheduling.

After initialization, at every time step (30 sec), each host cell undergoes an infection test and is subjected to growth and mortality processes. The parasitoid concentration is modified by parasitoid mortality and the number of infections. If a host cell becomes infected, its infected state changes, its growth stops and the parasitoid responsible for the infection is removed from the water concentration. At each time step until maturation, an infected cell can be re-infected (multi-infection) and subjected to the same mortality process as that of a healthy cell (i.e., density-dependent mortality with a carrying capacity). As soon as the maturation time is reached, the infected cell dies and produces p_{out} parasitoids. The model is summarized in a schematic diagram (Fig. 2).

2.4 Design concepts.

The main parameters and state variables (carbon mass, maximum growth rate, maturation time) of host cells are randomly drawn from an empirical range of values (population

parameter $\pm 12.5\%$) of a uniform distribution at the initiation and during cell division to represent inter-individual variability. This assigned randomization avoids a numerical synchronization of cells (Hellweger and Kianirad, 2007, Kreft et al., 1998).

Cell infections are the main stochastic processes of the model and are determined at each time step for each host cell using the infection rate. Infections depend on the behavior of the host and parasitoid and on the infectivity and concentration of parasitoids. The infection process is further explained in the submodel section.

The outputs of the model were produced every 15 minutes. Host cell states, concentrations and death types and parasitoid concentrations were recorded.

2.5 Initialization.

Initial conditions were modified according to the model configuration and the simulation objective. For clarity reasons, the details about initialization are presented after the description of the different configurations in the section 2.8. Simulations.

2.6 Input data.

All of the simulations were carried out in nutrient replete conditions with non-limiting light at a temperature of 20°C.

2.7 Submodels.

Population variables.

Because we assumed nutrient replete conditions, nutrient equations were not described. The changes in free dinospore concentrations (Par) were described by Equation (1) :

$$Par(t + dt) = \underbrace{Par(t)\exp(-m_p dt)}_{\text{natural mortality}} + \underbrace{\frac{p_{out}}{V} \sum_{dt} N_{mih}}_{\text{production by infected cells}} - \underbrace{\frac{1}{V} \sum_{dt} N_i}_{\text{successful infection}} \quad (1)$$

where m_p is the natural mortality rate of free parasitoids (d^{-1}), dt is the time step duration (d), V is the water volume (2 ml), p_{out} is the trophont size (number of dinospores produced

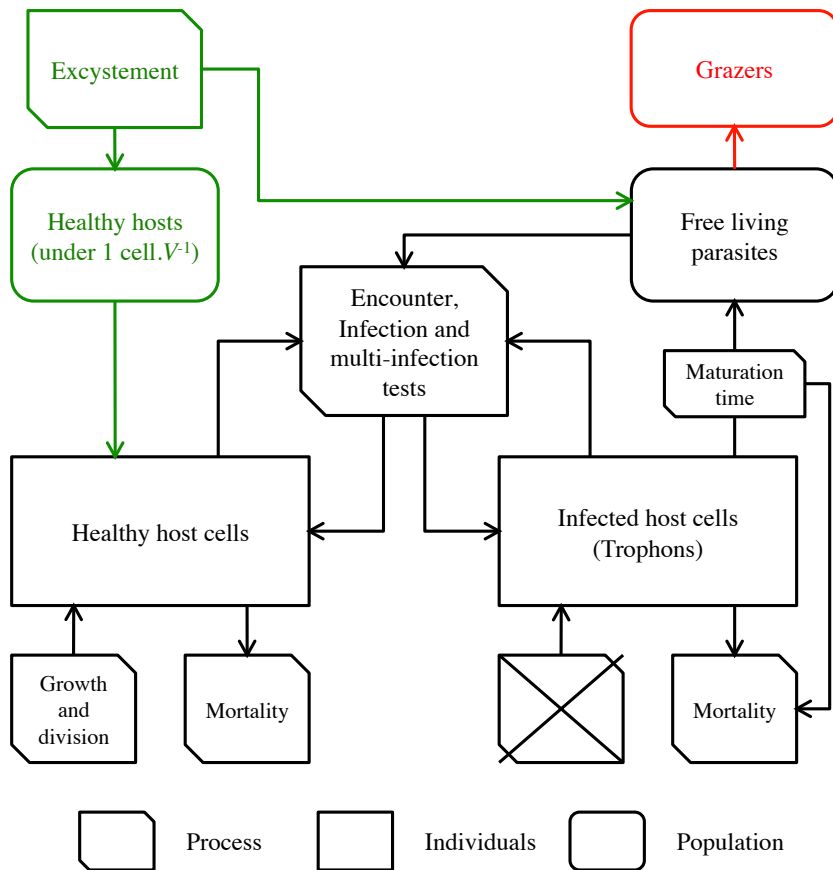


Figure 2 – Schematic diagram of the IBM model structure at each time step. Each part of the model that is interacting with another part of the model during a time step is represented by its category. Squares represent individually simulated host cell populations (either healthy or infected). Squares with rounded corners represent population variables that were not individually simulated. Squares with cut corners represent all biological and physical processes linking to and interacting with individual and population-level variables. Black compartments represent model A, black and red compartments represent model B and black and green compartments represent model C.

by one infected host cell) inside each of the infected dead cells, N_{mih} is the number of mature infected host cells that died from parasitoid lysis and N_i is the number of dinospores that successfully infected host cells.

Host growth.

Host cell growth was estimated using a “deterministic cell size” (m) as proposed by Hellweger and Kianirad (2007). Cell size was estimated by cell carbon (pmolC.cell⁻¹) levels, and cell division occurred when $m \geq 2m_0$ (m_0 is the minimal cell size of 75 pmolC.cell⁻¹). For each cell, the following system is thus defined :

$$m(t + dt) = m(1 + \mu dt) \quad (2)$$

$$\mu = l_h \mu_{max} \quad (3)$$

where μ_{max} is the maximum growth rate (d⁻¹) and l_h is the maximum limitation threshold.

Host mortality.

Two types of mortality were defined. $mort_1$ (d⁻¹) was estimated by a carrying capacity (c_{cell} ; hosts.ml⁻¹) and represents all of the sources of mortality or population losses not caused by parasitoids. $mort_1$ is defined as follows :

$$mort_1 = \mu H / c_{cell} \quad (4)$$

where H is the host concentration. A carrying capacity of 10,000 hosts.ml⁻¹ was chosen to reach a compromise between a realistic culture concentration and computing resource limitations. $mort_2$ (d⁻¹) was exclusively associated with parasitism and estimated by the number of infected cells that released parasitoids per day.

Parasite model.

The life cycle of *Amoebophrya* spp. was divided into two stages : the free-living (dinospore) stage in the water column and the vermiform (or trophont) stage in the host cells. The life span of dinospores (i.e., several days) is longer than that of the vermiform outside the host cell (<1 h) (Coats and Park, 2002). An instantaneous cytokinesis was assumed to

occur after host cell death, and trophonts were assumed to transform directly into dinospores. The maturation time (t_{mat} ; d), the number of produced parasitoids per host after maturation (p_{out} ; parasitoids.host⁻¹) and the dinospore mortality rate (m_p ; d⁻¹) were set according to the host and parasitoid species (see Table 1).

Encounters and infections.

In our model, for every successful infection, one free-living dinospore was removed from the parasitoid concentration (integrated during one time step; represented by N_i in Eq. 1). Infections were conditioned by the infection rate I (successful parasitoids.host⁻¹.time step⁻¹) which is defined as follows :

$$I = \beta\chi Par \quad (5)$$

where β is the encounter kernel or host clearance rate (ml.host⁻¹.d⁻¹) and χ is the dinospore fixation probability (the probability of a dinospore infecting a host upon encounter; %; see section 2.7 **Experimental data and parameterization.**).

Kiørboe and Saiz (1995) proposed a simple kernel based on the volume in which a predator and its prey can encounter each other. β is used to estimate the probability of encounter of two particles and is associated with the swimming behavior and size of both organisms and the turbulence field. Havskum et al. (2005) applied this kernel to a model of a dinoflagellate prey-predator system (*Fragilidium subglobosum*/*Ceratium tripos*). We applied this kernel to our model of similarly sized microalgae. The kernel is defined as follows :

$$\beta = \beta_{turbulent} + \beta_{behavior} \quad (6)$$

with :

$$\beta_{behavior} = \pi(r_h + r_p)^2 \left(\frac{v_p^2 + 3v_h^2}{3v_h} \right) \quad (7)$$

calculated with the radius and velocity of hosts (r_h , v_h , respectively) and parasitoids (r_p , v_p , respectively). The kind of organisms considered develops in highly turbulent environments with high dissipation rates ($\sim 10^{-1}$ cm².s⁻³). In those conditions $\beta_{turbulent} = 2.10^{-6}$ cm³.s⁻¹ and can be neglected in comparison to the behaviour part of the kernel ($\sim 10^{-2}$ cm³.s⁻¹). Moreover during the experiments conducted by Coats and Park, the culture media remained static and turbulence-free most of the time and was only brie-

Table 1 – Parameter sets used to validate the dynamics of different host-parasitoid couples and other calculations. Some of the parameters were derived from data produced by Coats and Park (2002), Salomon and Stolte (2010) and Nielsen (1996).

Parameter	<i>Akashiwo sanguinea</i>	<i>Gymnodinium instriatum</i>	<i>Karlodinium veneficum</i>	Unit
p_{out}	1085	1026	84	parasites.host ⁻¹
m_p	0.48	1.02	0.26	d ⁻¹
μ_{max}	0.21	0.24	0.63	d ⁻¹
l_h	0.9	0.9	0.9	%
c_{cell}	10	10	10	10 ³ hosts.ml ⁻¹
t_{mat}	59	54	50	h
β	0.0275	0.0573	0.0054	ml.d ⁻¹ .host ⁻¹
χ	0.83	0.28	1.41	%
r_h	20.0	30.0	7.5	μ m
r_p	2.5	2.5	2.5	μ m
v_h	200	200	200	μ m.s ⁻¹
s_{exp}	18	9	9	%
ni_{max}	4	4	4	parasites.host ⁻¹
p_{tot}	413	739	14	10 ³ parasites.ml ⁻¹
k	5.53	10.70	4.61	d ⁻¹

fly mixed before sampling to obtain representative samples. To simulate experimental conditions in the model, a still water hypothesis ($\beta_{turbulent} = 0$) and a homogeneous environment (0 dimension) were set as parameters.

Hosts were assumed to swim in a straight path and parasitoids were assumed to be unable to swim. The final expression of behavior is :

$$\beta_{behavior} = \pi(r_h + r_p)^2 \times v_h \quad (8)$$

r_p was fixed at $2.5 \cdot 10^{-4}$ cm and v_h was fixed at $0.02 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ for the three species because of their fixed size and because of a lack of knowledge of instantaneous swimming speeds.

Infection tests.

Infection tests were carried out at each time step for every host cell with the relevant infection rate (I). For values lower than 1, I can be assimilated to the host infection probability during that time step (i.e., infection probability.host⁻¹.time step⁻¹). A short enough time step ensures infection rates of less than 1. The maximum time step is defined as follows :

$$dt_{max} = \frac{1}{\beta \times p_{out} \times c_{cell}} \quad (9)$$

$p_{out} \times c_{cell}$ is the theoretical maximum parasitic concentration in the model. The minimum dt_{max} is 34.8 s for the species *A. sanguinea* ; as a result, a time step of 30 s was chosen to fulfill the condition $I < 1$ with the parameters and initial conditions used in this work. Subsequently infection was determined stochastically at each step with a random draw. If the uniform random draw ($\Omega =]0; 1[$) was inferior to the infection probability (infection rate I), the tested cell became infected.

Multi-infections.

Multi-infections were observed in some experiments (Coats and Park (2002)) and are thought to have different effects on the development of the parasitoid ; for example, such infections could increase or decrease the vermiform maturation time depending on the infected species (Coats and Park, 2002). We considered that parasitoids could not develop when the cell was already infected because it was unclear what effects multi-infection had on infection and maturation time. Thus, multi-infection does not affect the host infection

and only results in the death of other multi-infecting dinospores. Based on microscopic observations, a maximum of four multi-infections (ni_{max} ; $\text{infection.host}^{-1}$) could occur.

Model B : Incorporation of a parasitoid grazer.

The impact of grazing on *Amoebophrya* was tested with a tritrophic configuration. Predator pressure was added to the parasitoid population with Lotka-Volterra type equations. The chosen predator was a ciliate species (i.e., *Strobilidium* sp.) that was able to graze *Amoebophrya* spp. (Johansson and Coats, 2002). As a new state variable, the concentration of grazers (G ; grazers.ml^{-1}) was introduced in model A with the following equations :

$$Par(t + dt) = Par(t)\exp(-m_p dt) + \frac{p_{out}}{V} \sum_{dt} N_{mih} - \frac{1}{V} \sum_{dt} N_i - g dt G Par \quad (10)$$

$$G(t + dt) = G(t) \underbrace{\exp(\mu_g(Par)dt)}_{\text{growth}} \underbrace{\exp(-m_p dt)}_{\text{mortality}} \quad (11)$$

with

$$\mu_g(Par) = \mu_{gmax}(1 - \exp(-k_g Par)) \quad (12)$$

where g is the grazer clearance rate ($0.864 \text{ ml.d}^{-1}.\text{grazer}^{-1}$), m_g is the grazer mortality (0.56 d^{-1}), μ_{gmax} is the maximum grazer growth rate (1.8 d^{-1}) and k_g is the parameter that defined the slope of the growth rate function ($6.26.10^{-5} \text{ ml.parasitoids}^{-1}$). All of the parameters were provided by Johansson and Coats (2002) and Montagnes (1996).

Model C : Excystment.

In this configuration, excystment is added to model A. According to (Chambouvet et al., 2011), some cysts are infected and produce parasitoids instead of healthy cells at cyst germination. Among the three species studied, only *G. instriatum* produced cysts; this species was thus used for all of the simulations of model C. Because of the chosen excystment rate, the small simulated volume (5 and 10 ml) and the IBM approach of the hosts, an intermediate state variable (H_e) was created to simulate low host concentrations ($< 1 \text{ cell.V}^{-1}$). H_e is the concentration of hosts originating from excystment. Concentra-

tions varied according to the following equation :

$$H_e(t + dt) = H_e(t)\exp(\mu dt) + \frac{h_e dt}{V}(1 - c_p) \quad (13)$$

$$Par(t + dt) = Par(t)\exp(-m_p dt) + \frac{p_{out}}{V} \sum_{dt} N_{mih} - \frac{1}{V} \sum_{dt} N_i + \frac{1}{V} \underbrace{h_e dt c_p p_{out}}_{\text{parasitoid from excystment}} \quad (14)$$

where h_e is the excystment rate (4000 to 8000 hosts.m⁻².d⁻¹) and c_p is the parasitic prevalence in the cysts (10 to 20%).

When H_e exceeds 1 cell.V₋₁ (i.e., the minimum host concentration for individual simulation) one individual cell is created :

$$H_e(t) = H_e(t) - 1/V \quad (15)$$

and

$$H(t) = H(t) + \underbrace{1/V}_{\text{1 host cell}} \quad (16)$$

Excystment rates were found in the literature (Ishikawa and Taniguchi (1996), Ishikawa and Taniguchi (1997)) and the prevalence was set to values that corresponded to an advanced *in situ* infection of vegetative cells. The excystment rate was assumed to be constant because the influence of the parasitoid on encystment dynamics and the parasitoid's ability to "infect" cysts (i.e., planozygote infection just before encystment) are unknown.

Experimental data and parameterization.

Coats and Park (2002) provided an advanced analysis of the host-parasitoid dynamics of three host species (*A. sanguinea*, *G. instriatum* and *K .veneficum*) and their specialist parasitoids of the same genus (*Amoebophrya* spp.) using data obtained from laboratory experiments. These experimental data were used to test the ability of our model to reproduce the maturation time and host-parasitoid dynamics for different host species. The parameterization was performed as independently as possible from the data used for the validation ; however, some parameters had to be estimated from the infection dynamics (i.e., p_{out} , μ_{max} and t_{mat}). The independent parameters were derived from one part of the experiments conducted by Coats and Park (2002) and from the literature (Nielsen, 1996,

Salomon and Stolte, 2010) at a temperature of 20°C and a salinity of 15. Several parameters had to be calculated or modified because of the individual and stochastic nature of the model. Those modifications are described in this section. The specific parameter sets are presented in Table 1.

The maturation time was modified to match the model specifications. Because of random modifications ($\pm 12.5\%$) in the model, the minimum time required for an infected host to produce parasitoids is $t_{mat}/1.125$. Consequently, we estimated the maturation time differently from Coats and Park (2002) or Salomon and Stolte (2009). Using data from Coats and Park (2002), we estimated the minimum time required for the parasitoid density to surpass 10^3 parasitoids.ml⁻¹. The results are presented in Table 1.

Salomon and Stolte (2010) estimated parasitoid reproductive outputs using data from the dynamics experiments conducted by Coats and Park (2002) without taking into account parasitoid mortality. Their outputs were thus greatly underestimated. In this study, an equation describing parasitoid concentrations taking parasitoid mortality into account was used to determine a new estimate of the parasitoid production (p_{out}). At the beginning of parasitoid production (after the first wave of infection), this equation is as follows :

$$Par(t) = p_{tot} \underbrace{(1 - \exp(-kt))}_{\substack{\text{dinospores released} \\ \text{overtime}}} \underbrace{\exp(-m_p t)}_{\substack{\text{parasitoid} \\ \text{mortality}}} \quad (17)$$

where p_{tot} is the total parasitoid production for one generation of infected cells (number of dinospores) and k is a host death rate (d⁻¹) representing the staggering of the parasitoid production. p_{out} estimates were approximately 1,000, 1,000 and 80 parasitoids.host⁻¹ for *A. sanguinea*, *G. instriatum* and *K. veneficum*, respectively. The new production values were used in the simulation to validate the model and are presented along with parameters estimated in Eq. 17 in Table 1.

The dinospore fixation probability (χ) is a parameter that is very specific to the individual nature of the model and had to be calculated because it was never measured. The value of this probability was indirectly estimated from data produced by Coats and Park with a similar quantity, namely the dinospore population infection success (s_{exp}). This dinospore population infection success, or the percentage of successful parasitoids among the total population, was used as follows to calculate χ with the final equivalence

relationship (Eq. 20) :

$$s_{exp} = \frac{\text{successful parasitoids}}{\text{total parasitoids}} = \frac{N_{h,t_1}}{N_{p,t_0}} \int_{t_0}^{t_1} I dt \quad (18)$$

Where t_1 is the Coats and Park experiment end time (1.5 day), N_{h,t_1} is the total host population at time t_1 , N_{p,t_0} is the total parasitoid population at t_0 and $\int_{t_0}^{t_1} I dt$ is the number of infections per host during the experimental period. Eq. 18 is combined with Eq. 5 to give :

$$s_{exp} = \frac{N_{h,t_1} \beta \chi}{N_{p,t_0}} \int_{t_0}^{t_1} Par(t) dt \quad (19)$$

Par is integrated during the infection and before the maturation of the infected cells ; thus Par was defined without parasitoid production as follows :

$$Par(t) = Par(t_0) \exp(-m_p t) - \frac{1}{V} \sum_{t_0}^t N_i(t)$$

To resolve $\int_{t_0}^{t_1} Par(t) dt$, we hypothesize a linear host population infection with

$$\frac{1}{V} \sum_{t_0}^t N_i(t) = \frac{s_{exp} Par(t_0)}{t_1} t$$

and

$$Par(t_0) = N_{p,t_0}/V$$

Eq. 19 is thus equivalent to :

$$\begin{aligned} s_{exp} &= \frac{N_{h,t_1} \beta \chi}{N_{p,t_0}} \times \frac{N_{p,t_0}}{V} ((1 - \exp(-m_p t_1))/m_p - \frac{1}{2} s_{exp} t_1) \\ \Leftrightarrow \chi &= \frac{s_{exp}}{H(t_1) \beta} \times \frac{1}{(1 - \exp(-m_p t_1))/m_p - s_{exp} t_1/2} \end{aligned} \quad (20)$$

$H(t_1)$ is the host concentration (hosts.ml⁻¹) at time t_1 . Values of s_{exp} are presented in Table 1.

Table 2 – Initial simulation conditions. Numbers below the species name represent the parasitoid-host ratio reported by Coats and Park (2002).

species / model:	validation						coexistence tests		
	<i>A. sanguinea</i>		<i>G. instriatum</i>		<i>K. veneficum</i>		Model A	Model B	Model C
	1:1	20:1	1:1	115:1	1:1	40:1			
Host initial density (cells.ml ⁻¹)	1094	1125	746	720	947	1012	1000	1000	0
Parasites initial density (10 ³ cells.ml ⁻¹)	1.625	18.75	0.875	71	1	40.5	1	prevalence 10%	0

2.8 Simulations.

Five types of simulations were performed in this study : validation simulations, sensitivity tests and coexistence simulations with model A, model B and model C configurations.

Validation simulations were run with *A. sanguinea*, *G. instriatum* and *K. veneficum* parameterizations for 3.5 d. Initial host and parasitoid concentrations were identical to the mean experimental densities (Table 2). A sensitivity test was conducted to identify the main parameters controlling the population dynamics. Oscillation tests were then carried out by modifying these parameters. The extinction time of the host population was modified to identify the parameters that maximize the life span of the host population and allow potential coexistence. Each simulation was run ten times for a duration of 20 days with initial host and parasitoid concentrations of 1,000 cells.ml⁻¹. *G. instriatum* was used for all simulations.

In the model A coexistence tests, two parameters (χ and p_{out}) were independently modified to assume values equal to 0.5% to 100% of their reference value (i.e., *G. instriatum* parameters). Simulations were run ten times for 150 days for each set of values. Initial host and parasitoid concentrations were set at 1,000 cells.ml⁻¹ (Table 2). The carrying capacity was lowered to 5,000 hosts.ml⁻¹, a concentration closer to *in situ* values.

In the tritrophic configuration (model B), the system persistence was tested with three different grazer growth rates for 30 days. Three increasing values of k_g were used to change and improve grazer growth. Values ranged from 6.26×10^{-5} to 6.26×10^{-4} ml.parasitoids⁻¹. All simulations were performed with *G. instriatum* parameterization. The initial grazer concentration was arbitrarily fixed at 100 grazers.ml⁻¹ because of the

lack of relevant experimental data. Standard initial conditions did not provide enough resources to sustain the grazer concentration during the first maturation time. The initial prevalence of parasitoids was thus set at 10% to prevent infection synchronization and the large decline in the concentration of grazers at the beginning of the simulations. The carrying capacity was lowered to 5,000 hosts.ml⁻¹.

In the excystment configuration (model C), different simulated volumes (5 and 10 ml) were tested to identify the simulations that were most consistent with the hypothesis of unlimited cysts in sediment. Initial concentrations were fixed at 0. Host and parasitoid populations originated only from cysts. All simulations were performed with *G. instriatum* parameterization. Dynamics were simulated for 90 days.

3 Results

3.1 Model response to experimental parameters and validation

The model simulations and experimental data (Coats and Park, 2002) for each species are presented in Fig. 3, 4 and 5. In all cases, the principal dynamic events fit the experimental data. All of the simulations respect the parasitoid maturation time ; no parasitoids were produced prematurely (Fig. 3c, 4c and 5c) and the different cohorts of parasitoids and infected hosts were clearly separated. The two waves of infection at a low parasitoid-host ratio (1 :1) were correctly simulated (Fig. 3b, 4b and 5b). The host concentrations had similar orders of magnitude. The R² for the infection concentration varied from 0.66 to 0.96. The total infection of *A. sanguinea* and *G. instriatum* with a prevalence of 100% (Fig. 3e ; 4e) and the strong but incomplete infection (96% at 48 h) of *K. veneficum* (Fig. 5e) with high initial parasitoid concentrations were also represented in the simulations.

The differences between the model output and experimental results of all species are represented by the over or under-estimation of the parasitoid concentrations (c and f graphics of Fig. 3, 4 and 5) ; these differences are associated with different production rates (slope) and a time lag (approximately 6 h) in infection at the beginning of each infection. The time lag is particularly noticeable during the first ten hours (Fig. 3e ; 4e) and at the beginning of the second wave of infection of *A. sanguinea* (1 :1) (Fig. 3b ; 60 h). The model also underestimates the prevalence of parasitoids in *A. sanguinea* (1 :1) at 24 h by 1/3 (288 instead of 464 cells infected.ml⁻¹ ; Fig. 3b). Healthy cells remain at a ratio of 20 :1

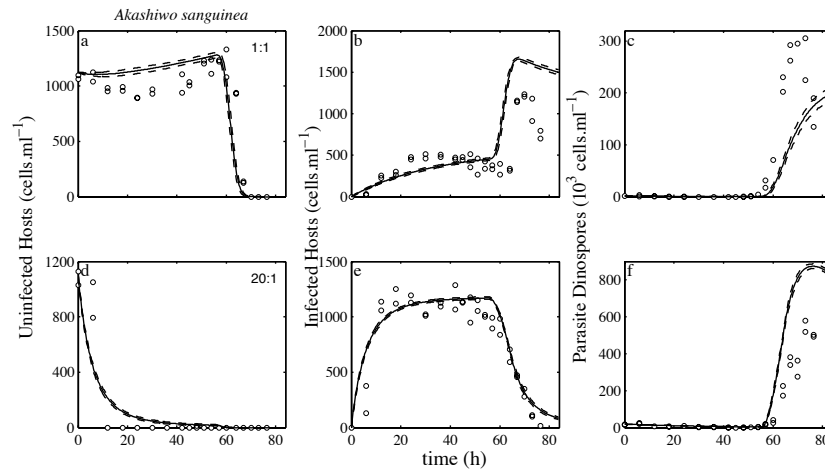


Figure 3 – Time series of the infection of *Akashiwo sanguinea* by *Amoebophrya* spp. Experimental data (open circles) from Coats and Park (2002) and model simulations (black lines) with a 99 percentile confidence interval (dashed lines). Healthy host concentrations (a and d), infected host concentrations (b and e) and parasitoid concentrations (c and f). Differences in parasitoid-host ratios are indicated in the top right corner of a and d.

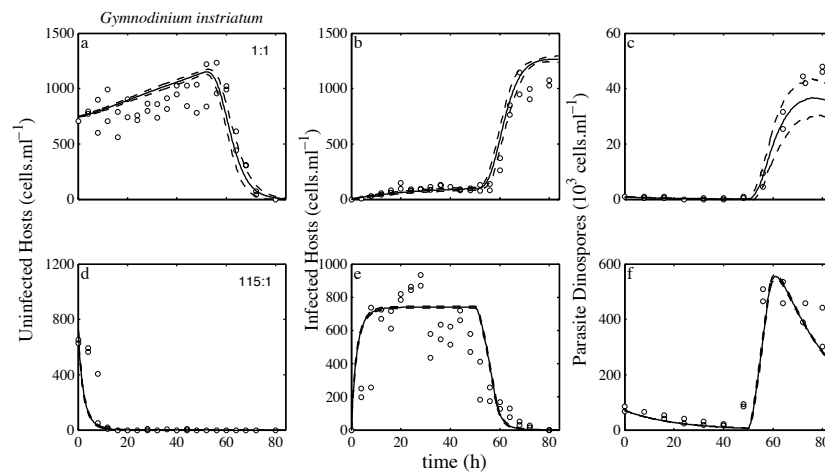


Figure 4 – Time series of the infection of *Gymnodinium instriatum* by *Amoebophrya* spp. Experimental data (open circles) from Coats and Park (2002), model simulations (black lines) with a 99 percentile confidence interval (dashed lines). Healthy host concentrations (a and d), infected host concentrations (b and e) and parasitoid concentrations (c and f). Differences in parasitoid-host ratios are indicated in the top right corner of a and d.

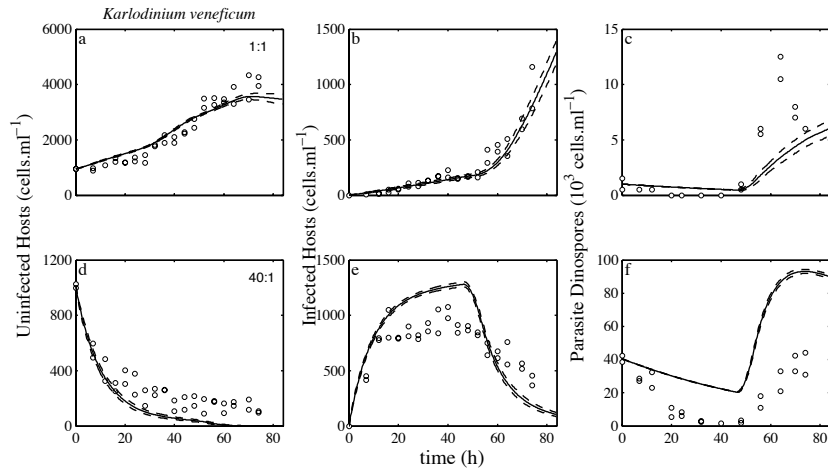


Figure 5 – Time series of the infection of *Karloodium veneficum* by *Amoebophrya* spp. Experimental data (open circles) from Coats and Park (2002) and model simulations (black lines) with a 99 percentile confidence interval (dashed lines). Healthy host concentrations (a and d), infected host concentrations (b and e) and parasitoid concentrations (c and f). Differences in parasitoid-host ratios are indicated in the top right corner of a and d.

after 24 h (Fig. 3d). An unexpected wave of mortality, that is most likely the result of infection, strikes the hosts during the second wave of infection at a low ratio and decreases the population by half (i.e., 790 instead of 1,560 hosts. ml^{-1}). The parasitoid concentration in *K. veneficum* was underestimated at a low ratio and overestimated at a ratio of 40 :1. Computed values are 20 times greater than experimental values at 40 h because of a lower predicted mortality (22.55×10^3 instead of 1.5×10^3 parasitoids. ml^{-1} ; Fig. 5f). At a ratio of 40 :1 (as was observed in the experiments), the model does not predict the infection of the entire population during the first wave of infection (96 % at 48 h); however, the prevalence of the parasitoid is higher (87 % vs. 74 % for experiments at 24 h), and as soon as new parasitoids are produced, all of the remaining healthy hosts become infected (Fig. 5e). These differences suggest that the best parameterization is achieved with *G. instriatum*.

3.2 Sensitivity test

Results of the sensitivity test for the six tested parameters are shown in Fig. 6. The maximum growth rate (μ_{max}), the parasitoid mortality (m_p) and the maximum number of multi-infections (ni_{max}) did not affect (or only very slightly affected) the host extinc-

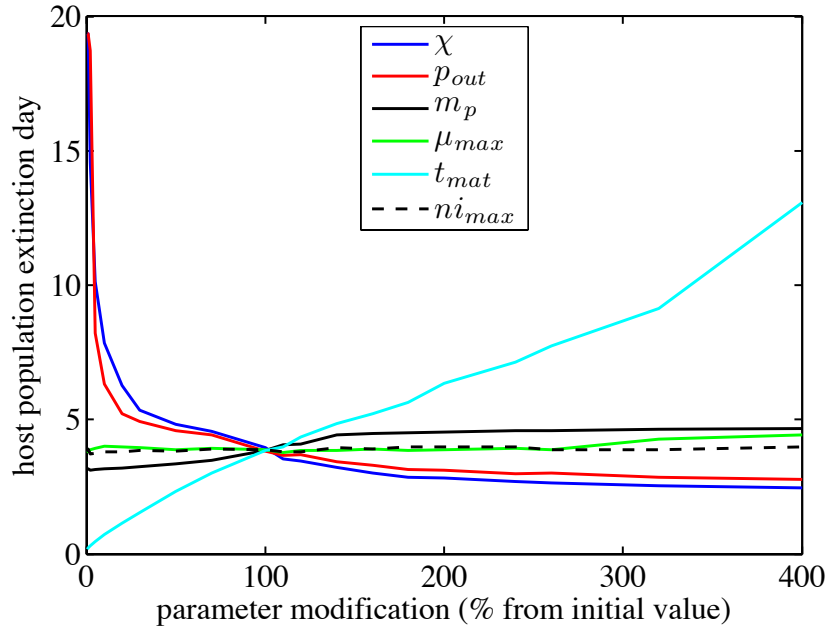


Figure 6 – Diagram of the sensitivity of the host (*G. instriatum*) extinction time with a 1 :1 parasitoid-host ratio. Six different parameters were tested : parasitoid fixation probability (χ), dinospore production (p_{out}), dinospore mortality (m_p), host maximum growth rate (μ_{max}), trophont maturation time (t_{mat}) and maximum number of multi infections (ni_{max}).

tion time. The trophont maturation time (t_{mat}) has a positive and linear influence on the criterion (host extinction time). The parasitoid fixation probability (χ) and the dinospore production (p_{out}) also have significant influence on the host extinction time but with negatively exponential relation. Only χ and p_{out} were used in the coexistence tests because they naturally present more variability among the studied species.

3.3 Coexistence in a basic system : Model A

When the main two parameters χ and p_{out} are modified, the model can simulate a total of five different dynamics (Fig. 7). Fig. 8 shows the transition among these five dynamics as a function of the variations in parameter. Parameters were assigned values ranging from 0.5% to 100% of their initial values. If the parameter value surpassed 100% of its reference value, the simulated outcome did not change. The most common scenario was the host extinction, which occurred when only one parameter was assigned values ranging from 3% to 100% of its reference value (Fig. 8). The other four dynamics appeared for

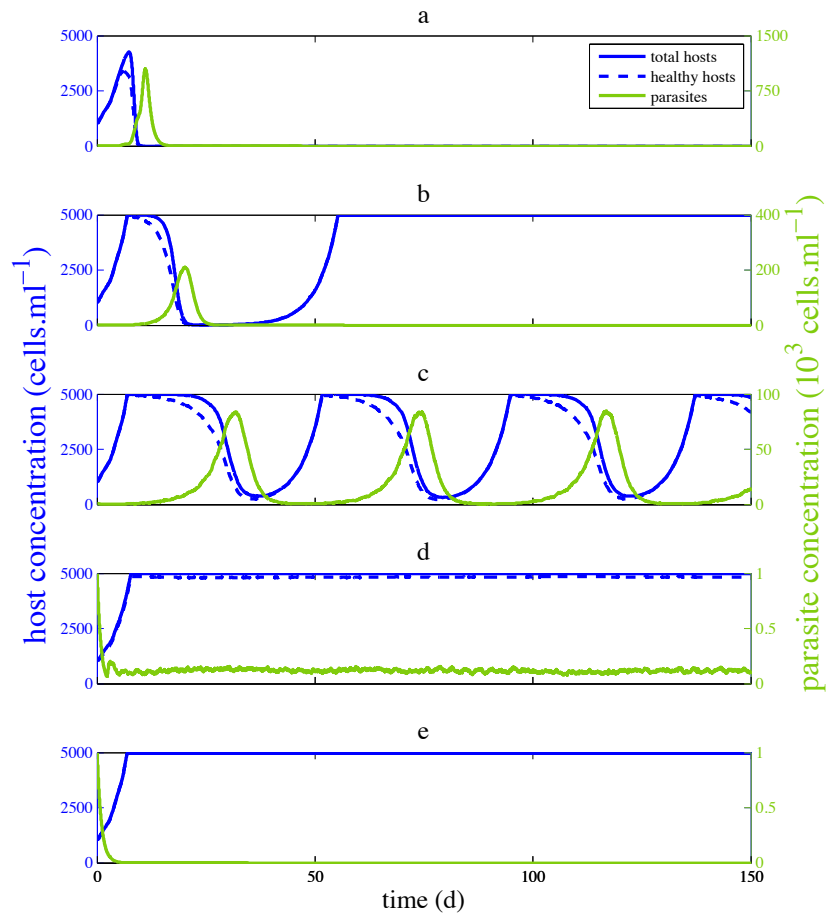


Figure 7 – Illustration of the different dynamics simulated by modifying χ and p_{out} . Host (blue and blue dashed lines) and parasitoid (green lines) dynamics for a 150-day simulation with the species *G. instriatum*. The different dynamics presented are : host extinction (a), parasitoid extinction post-infection (b), oscillation (c), stable coexistence (d) and parasitoid extinction (e).

lower values. The dynamics obtained were two types of unstable oscillations (i.e., the host extinction ; Fig. 7a and the parasitoid extinction post-infection ; Fig. 7b), stable oscillation (Fig. 7c), coexistence without oscillation (Fig. 7d) and parasitoid extinction (Fig. 7e). Values of p_{out} lower than 1% of the original value or of χ lower than 0.7% of the original value were necessary to obtain persistence in the system.

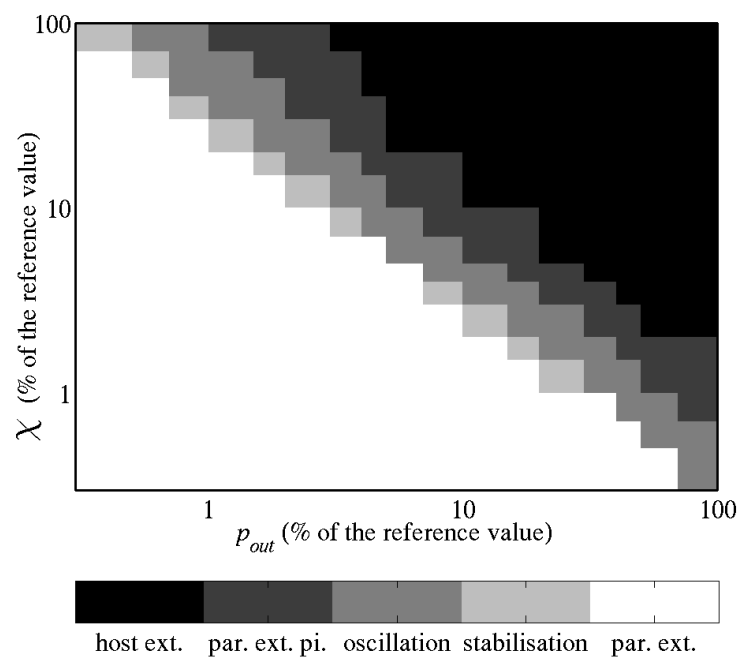


Figure 8 – Diagram of the modifications in dynamics associated with modifications in χ and p_{out} for 150-day simulations. The most frequently obtained dynamics from among ten simulations with the species *G. instriatum* and a parasitoid-host ratio of 1 :1 are presented. Five different dynamics were simulated : host extinction (host ext.), parasitoid extinction post-infection (par. ext. pi.), oscillation, stabilization and parasitoid extinction (par. ext.).

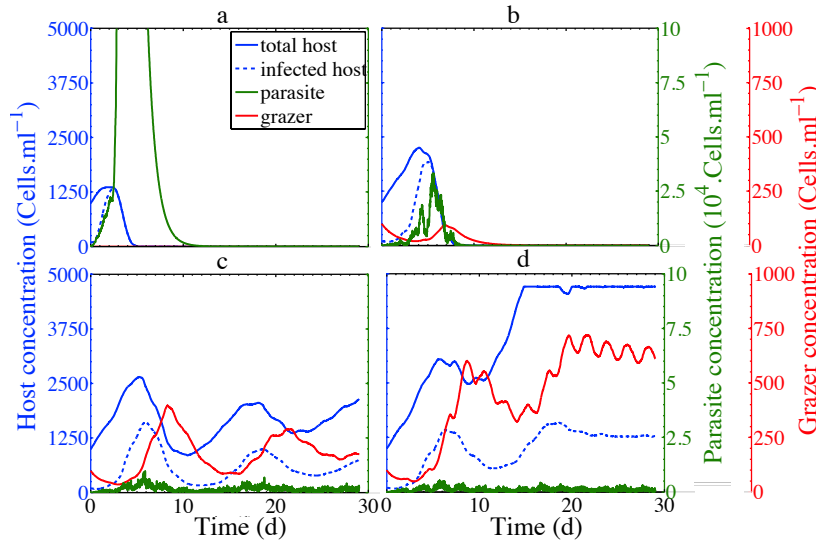


Figure 9 – 30-day simulations of *G. instriatum* (blue lines and blue dashed lines) infected with *Amoebophrya* spp. (green) and *Strobilidium* sp. (red) grazing on the parasitoid. Simulation without a grazer (a) and with a grazer (b to d). Grazer growth rates (k_g) assume values of 6.26×10^{-5} (b), 3.13×10^{-4} (c) and 6.26×10^{-4} ml.parasitoids $^{-1}$ (d).

3.4 Coexistence with a grazer : Model B

The introduction of a parasitoid grazer lowered the maximum parasitoid concentration and increased the maximum host concentrations in function of the grazer growth rate (modified through k_g ; Fig. 9). The maximum parasitoid concentration decreased from 59×10^4 parasitoids.ml $^{-1}$ without grazing to 3.32, 0.97 and 0.53×10^4 parasitoids.ml $^{-1}$ with grazing and k_g values of 6.26×10^{-5} , 3.13×10^{-4} and 6.26×10^{-4} ml.parasitoids $^{-1}$, respectively. The maximum concentrations of hosts and grazers increased from 1,356 hosts.ml $^{-1}$ to values ranging between 2,248 and 5,000 hosts.ml $^{-1}$ and from 0 to values ranging from 399 to 719 grazers.ml $^{-1}$. Even when k_g was assigned low values (Fig. 9b), the parasitoid production levels and concentrations were high enough to completely infect the hosts (100% parasitoid prevalence). With higher grazer growth rates, coexistence arose for periods of 10 to 12 days (Fig. 9c). At its highest value, k_g yielded concentrations that converged and oscillated around stable mean values for a short period (52 h; Fig. 9d); this outcome is likely linked to the parasitoid maturation time.

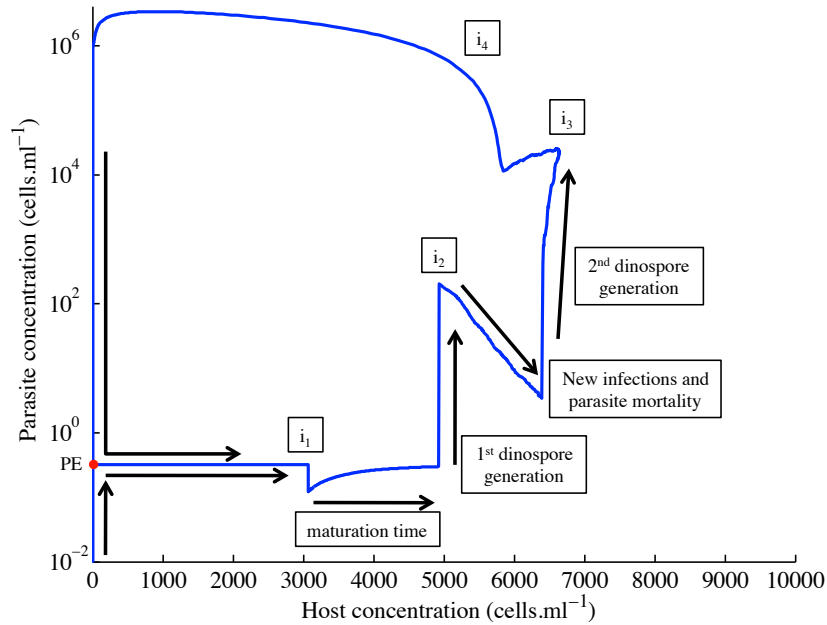


Figure 10 – Phase diagram of the host-parasitoid dynamics with one oscillation caused by excystment during a 90-day simulation. PE is the parasitoid concentration when an equilibrium between production by excystment and mortality is attained. I_n corresponds to the n^{th} wave of infection.

3.5 Coexistence with excystment : Model C

The configuration with a production of hosts and parasitoids by excystment generates a non-converging cyclic coexistence in all of the 500 simulations at 5 ml. The mean cycle duration is 44.8 ± 5.0 days in 5 ml of water, with $8,000$ hosts $\text{excysted.m}^{-2}.\text{day}^{-1}$ and a prevalence of 20%. Strong heterogeneous blooms were simulated with maximum concentrations ranging from 46.8 to $8,772.8$ hosts.ml^{-1} and a mean concentration of $2,286 \pm 1,919$ hosts.ml^{-1} . This variability is associated with the stochasticity of the initial infection time (37 ± 6.1 days after the first host appearance) and explains the non-converging nature of this cycle. In the excystment model, all of the dynamics have similar values at the beginning of each development (i.e., 0 host.ml^{-1} and low parasitoid concentrations; point PE, Fig. 10). The initial infection time conditions the maximum concentration reached during the bloom: blooms with early initial infections will produce lower host concentrations, whereas blooms with late initial infections will reach high host concentrations.

An example infection cycle is presented in a phase diagram in Fig. 10. Dynamic

events are strongly amplified and exaggerated because of the size of the simulated volume. The simulation begins with 0 hosts and 0 parasitoids. Initially, during the period of host growth, the parasitoid concentration reaches an equilibrium between production and mortality ($0.32 \text{ parasitoids.ml}^{-1}$; position PE in Fig. 10); during this period, the parasitoids are not able to infect cells. A decrease in the excystment rate or cyst prevalence modifies the parasitoid concentration equilibrium. As soon as an individual host is produced, the host concentration increases exponentially. The first infection (i_1 , Fig. 10) is visible with the loss of one parasitoid. V^{-1} (at $3,065 \text{ hosts.ml}^{-1}$) and a return to equilibrium during the maturation time. Three consecutive parasitoid generations follow the first infection until the death of all of the hosts nine days later. The initial infections of each parasitoid generation are indicated by i_2 , i_3 and i_4 . The host concentration reaches its maximum value (i.e., $6,640 \text{ hosts.ml}^{-1}$) during the infection of the second generation of parasitoids. During the maturation time of each wave of infection, parasitoid production ceases and the concentration of parasitoids decreases. A decline in the host concentration without parasitoid production during the maturation of the third generation occurred because of unbalance between the growth rate (μ_{max}) and the natural mortality ($mort_1$) of the host. Most of the infected hosts are unable to reproduce; therefore, the net population growth rate decreases and the mortality of the host population (which is close to its carrying capacity) increases. After the third generation is produced and all of the hosts die, parasitoid concentrations return to equilibrium (PE) and a new cycle begins as soon as a host is produced by excystment.

A greater simulated volume decreases the initial infection times (33.8 ± 5.9 days at 10 ml) and thus the mean maximum host concentrations (from $2,286 \pm 1,919 \text{ hosts.ml}^{-1}$ in 5 ml to $1,371 \pm 1,121 \text{ hosts.ml}^{-1}$ in 10 ml) without interrupting the cyclic coexistence. The same result is obtained with an increased prevalence of the cyst population (increasing the infection probability); however, as long as some cysts remain uninfected, cyclic dynamics will occur.

4 Discussion

In this paper, the persistence of the host-parasitoid system on relatively short time-scale (< 2 years) in a homogeneous estuarine ecosystem was investigated by modifying three different oscillatory factors. For this purpose, an IBM model was developed and

parameterized for specific species. These species as well as some other dinoflagellates are well studied and known to be recurrently infected by the same parasitoid (Chambouvet et al., 2008, Coats et al., 1996, Velo-Suarez et al., 2013). In the first step of this study, the model accurately simulated the different dynamics observed in laboratory experiments. Subsequently, the different model configurations produced oscillating dynamics in spite of the homogeneous environment.

4.1 Simulation of in vitro dynamics, validation with experimental data

The introduction of the parasitoid maturation time into an IBM ecophysiological model of the host was successful. The resultant model produced distinct waves of infection and no premature production of parasitoids. Moreover, the model was able to simulate the host and parasitoid extinction observed in laboratory experiments. Even with the use of a very simple encounter model with model parameterizations obtained from population measures, the dynamics were correctly simulated, with concentration values close to those observed in the experiments and a better adjustment than achieved in a non-IBM model (Salomon and Stolte 2010).

The simple simulation of encounters was able to recreate all of the effects of density dependence observed in natural pathogen-host dynamics (Murdoch and Briggs, 1996). All of the simulated dynamics were influenced by this density dependence. First, modifications in cell density at a constant host :parasitoid ratio produced variations in the duration of the dynamics. Second, parasitoid mortality increased with multi-infections. Lastly, minimal host and/or parasitoid densities were needed to maintain the infections. All of the density-dependent effects were tested in the model (results not presented) and were found to be controlled by biological parameters (i.e., principally χ , β and p_{out}). Density dependence was realistically applied in all of the simulations and contributed to the good correspondence between model outputs and observed experimental dynamics. The small remaining biases presented in the results section were associated with inaccuracies in the encounter simulation and/or parameterization and with non-simulated biological processes.

The delay in infection observed at the beginning of each infection wave is the main biological process that was not represented in the model. In experiments, a time lapse

is observed in parasitoid concentrations (at the end of the first infection) and in prevalence (during the second wave of infection). Coats and Park (2002) refer to this gap as an external maturation time during which parasitoids cannot infect hosts. For example, experimental parasitoid production in *A. sanguinea* (Fig. 3) began at 57 h; in contrast, the experimental prevalence of the parasitoid increased only after 64 h. For seven hours, newly formed parasitoids were not able to infect hosts and/or early infections could not be identified by the chosen staining techniques (Park et al. 2004). Because the high concentrations of parasitoids (10^6 parasitoids.ml⁻¹) rendered the simulation of individual parasitoids impossible, it was difficult to rigorously treat this time lag in the model.

The remaining differences between the model output and the experimental data arise from the parameterization. In particular the parameters that could not be estimated experimentally (χ and p_{out}). Both were calculated from population parameters (s_{exp} and m_p) and experimental data (see Eq. 20 and 17). This process thus compounded the uncertainty associated with all of the parameters used in the relevant equations and, because they are directly used in the encounter model, small estimation errors greatly affect the simulated dynamics. Other species-specific biases may be produced by inaccurate parameter estimates that are difficult to estimate experimentally. For example, the overestimation of the parasitoid concentration in *K. veneficum* (Fig. 5f) could be explained by an underestimation of parasitoid mortality.

4.2 Coexistence processes

With appropriate parameterization, the model with the simplest configuration (model A) was able to simulate stable oscillations with periods of approximately 44 days. The parameter sets that produce these oscillations encompass a range of values in which the parasitoid growth rate is higher than the host growth rate (Getz and Mills (1996) but not high enough to cause unstable oscillations and host or parasitoid extinctions. These results show that even a parasitoid species with weak infectivity can persist in a system. However, the length of the oscillation periods is much longer than the observed *in situ* blooming window (Chambouvet et al., 2008, Mazzillo et al., 2011, Wang et al., 2007); furthermore, the parameter values required to obtain stable oscillations are not realistic (Fig. 8) for the specialist parasitoids used in this study (although they are encountered with certain strains of *Amoebophrya* that are able to infect suboptimal hosts). If the infection efficiency associated with a suboptimal host is low enough, the parasitoid could maintain

a minimal concentration of infective units in the water column and coexist with this host with a low infection rate. The parasitoid could thus occupy the suboptimal host while waiting for its main host to develop.

The tritrophic configuration of the IBM model also enabled the coexistence of host and parasitoid species under realistic conditions and parameterizations. Only one type of tritrophic food web was tested in this study ; however, other interactions such as host grazing (Rosenheim et al., 1995) or parasitoid/parasitoid competition (May and Hassell, 1981, Hogarth and Diamond, 1984) could lead to system persistence. The introduction of a parasitoid grazer also resulted in an extended intensity and duration of the host bloom (Fig. 9). These two results are consistent with observations made by other investigators (e.g., Johansson and Coats, 2002), with simulations of other marine models (Montagnes et al., 2008) and with theoretical tritrophic host-parasitoid-hyperparasitoid models (Beddington and Hammond, 1977, May and Hassell, 1981). Short oscillations created by the addition of a grazer can thus be considered realistic. This phenomenon could explain the origin of oscillations ranging from 8 to 15 days that can be observed in a mixed shallow estuary such as the Penzé river. However, this type of oscillation can only be observed when the grazer growth is high enough to respond to changes in the parasitoid population.

The excystment process can also represent a source of oscillation, and even the strong infection of cyst populations can produce cycle dynamics from any initial conditions. The cycle is constituted by a host bloom of variable intensity followed by the bloom decay caused by infections and finally by a dormancy period of healthy and infected encysted hosts (not simulated). The encysted minimum residence time (several months according to (Anderson, 1980) and the density dependence of the system are key factors that produce varying cycle dynamics as long as a portion of the cyst population remains healthy. The long residence time of the cysts ensures the removal of most of the parasitoid population by depriving them of their host. Then during the excystment, the hosts can develop because of the low encounter rate with parasitoids (proportional refuge ; Hochberg and Holt, 1995). The host population can thus reach high concentrations before being infected. The encystment, triggered *in situ* by stressful conditions (e.g., high host concentrations, predation, nutrient limitation ; Chambouvet et al., 2011, Toth et al., 2004, Wang et al., 2007) and the ability of the parasitoid to enter a dormancy period within its host (Chambouvet et al. 2011) allows parasitoids to survive during periods of low host abundance and cease propagation as soon as the cysts are formed. Encystment represents a refuge during

conditions of poor host and parasitoid growth and causes inter-annual oscillatory dynamics. Some temporary cysts that may be resistant to the infection (Bravo and Figueroa, 2014) or not (Chambouvet et al., 2011) can also be produced. Although their residence time in the sediment is shorter than resting cyst (Bravo et al., 2010) it could be long enough to start a second infection cycle if the temporary cysts are resistant to parasitoid infections. However the mean bloom length (45 days) is too long and prevents successive development in the same year. The encystment process therefore cannot be the source of short *in situ* oscillations during the dinoflagellate bloom periods. Moreover, the minimum residence time of the resting cyst stage enables the inter-annual coexistence of the host-parasitoid system in an estuary, even when strong infection and host vegetative cell extinction occurs.

5 Conclusion

In this study, we investigated the influence of three parameters that allow host-parasitoid coexistence in homogeneous environments. Two sources (parameter modifications and tritrophic interactions) were previously studied in non-IBM models and similar results as those produced by our model were observed. Short-term coexistences were caused by agents or phenomena external to the host-parasitoid system that controlled the parasitoid population or weakly infective parasitoids. In this paper, the coexistence of these species of hosts was impossible with the range of parameter values estimated from experimental data without a parasitoid control. Because of the high decline in host concentrations during winter, classical processes (parameter modification and tritrophic interactions included) cannot explain the interannual persistence of the host-parasitoid system in homogeneous environments. However, the encystment-excystment process (during which the parasitoid does not divide or infect the host) allows the host and parasitoid to passively survive during the winter. To our knowledge, this process has not been investigated in previous theoretical studies. This process appears to effectively maintain the system with very infective parasitoids and represents a strategy commonly encountered in the marine dinoflagellate community. The sharing of a resistant form or the ability of a host-parasitoid couples to enter into dormancy at the same time (for example : dinoflagellate-*Parvilucifera* spp. system) should enable the persistence of several host-parasitoid systems and should be investigated in different hosts with a resting stage similar to the cyst stage of dinoflagellates.

Acknowledgments. We would like to thank Dr. Wayne Coats for providing and discussing the data set used in this study and Dr. Lourdes Velo-Suarez and Dr. Robin Raine, who helped with corrections. We also thank the anonymous reviewers for their constructive comments. This work was supported by PARALEX ANR project no. 2009-PEXT-01201.

Chapitre 2 : Impact de la spécificité d'un parasitoïde sur la dynamique et la succession de son hôte dinoflagellé.

Pendant plusieurs années, dans l'estuaire de la Penzé, les efflorescences de dinoflagellé ont été prédites en fonction des conditions lumineuses et de la température de l'eau. Depuis quelques années cependant, ces facteurs abiotiques ne suffisent plus à prédire l'arrivée des efflorescences avec suffisamment de précision. Des études ont alors mis en évidence la présence de plusieurs types de parasitoïdes infectant des dinoflagellés dans ce milieu (Chambouvet et al., 2008, Lepelletier et al., 2014b). Ces parasitoïdes participent fortement au contrôle de la population de leurs hôtes (Montagnes et al., 2008, Arancio et al., 2014) et pourraient modifier la niche réalisée (Vandermeer, 1972) de ces dinoflagellés ainsi que le moment de leur apparition dans l'estuaire. Les deux genres observés en Penzé ont des spécificité variée : *Parvilucifera* spp. est très généraliste (Lepelletier et al., 2014b, Figueroa et al., 2008) alors qu'*Amoebophrya* spp. est plutôt spécifique (Chambouvet et al., 2008, Coats and Park, 2002). Ils doivent donc influencer différemment la cinétique et la succession d'une communauté de dinoflagellés.

Dans ce travail, l'influence de plusieurs types de parasitoïdes sur cette cinétique et cette succession est étudiée à l'aide d'un modèle IBM. Les paramètres d'infections des genres *Parvilucifera* et *Amoebophrya* ont été estimés expérimentalement avec différents hôtes et utilisés comme paramétrisation. Par la suite, une communauté de dinoflagellé fictive a été mise en présence des différents parasitoïdes (spécifiques ou généralistes) durant un cycle annuel avec des forçages réalistes de lumière, de température, de marée et de débit de rivière.

En présence de parasitoïdes spécialistes, la communauté de dinoflagellés a produit

une succession de phénotypes. Chaque phénotype a la possibilité de se développer suite à l'infection des phénotypes abondants et peut alors devenir le phénotype dominant même avec une fitness inférieure. L'ordre d'apparition dans le milieu reste toutefois dépendant du fitness. Au contraire lors de l'introduction des parasitoïdes généralistes, la dynamique d'infection résulte en une série d'extinctions de la communauté entière. Dans ce scénario, seuls les phénotypes avec une fitness élevée ont la possibilité de se développer à de fortes abondances. Ces résultats très différents suggèrent que la pression de sélection exercée par les parasitoïdes sur la communauté de dinoflagellés varie fortement en fonction de la spécialisation de ces parasitoïdes.

Dinoflagellate host-parasitoid dynamics : simulation of the impact of the specificity on host species succession

Marc Arancio^{1,2*}, Laure Guillou^{3,4}, Frédéric Lepelletier^{3,4}, Margaux Vastra¹, Mathieu Guri^{3,4}, Sami Souissi², Marc Sourisseau¹

1-IFREMER Brest, Laboratoire de Dynamique de L'Environnement Côtier. CS 10070, 29280 Plouzané. France

2-UMR CNRS LOG 8187– Université Lille 1 Sciences et Technologies – Station Marine, 28 avenue Foch 62930 Wimereux. France

3- CNRS, UMR 7144, Laboratoire Adaptation et Diversité en Milieu Marin, Place Georges Teissier, CS90074, 29688 Roscoff cedex, France

4- Sorbonne Universités, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, UMR 7144, Station Biologique de Roscoff, Place Georges Teissier, CS90074, 29688 Roscoff cedex, France

6 Introduction

Understanding species successions and coexistence is a redundant question in ecology and particularly in marine ecology for coastal environment. Harmful Algal Blooms (HABs ; Granéli, 1987) result from the rapid increase and accumulation of opportunistic and sometimes toxic microalgae and their associated microflora are monitored since several decades. A lot of studies have aimed at understanding and predicting the conditions

leading to the induction and development of toxic algal blooms. Anthropogenic nutrient enrichment and climatic changes have been pointed out as one of the main factors enhancing HAB frequency, intensity and geographical extension (Hallegraeff, 1993). Ecological niche and phenology of phytoplanktonic species are traditionally compared to nutrient uptake rates, light and temperature optima (bottom up factors) of the dominant and/or toxic species. These parameters are usually estimated from controlled experimental conditions in the laboratory using few monocultural strains. Once those parameters are compared to *in situ* conditions, they define the fundamental niche by the abiotic conditions that theoretically allow the development of the phytoplanktonic species. However, if the fundamental niches defined by these factors are well described, their realized niches (Vandermeer, 1972) much more depend on complex abiotic and biotic interactions in nature. Pathogens are one of those interactions and can be strong drivers of the species successions. In coastal environment, pathogens and particularly microeukaryotic parasitoid are thus more and more observed as an important biological control during dinoflagellate blooms (Coats et al., 1996, Chambouvet et al., 2008, Velo-Suarez et al., 2013). Such parasitoids are determinant not only during outbreak of blooms, but play also a fundamental role in specie succession and diversity (Chambouvet et al., 2008).

Microeukaryotic parasitoids of dinoflagellates include a wide range of species, belonging to Syndiniales (*Amoebophrya* spp., dinoflagellates, Alveolata, Cachon, 1964), Perkinsozoa (*Parvilucifera* spp., Alveolata, Lepelletier et al., 2014b), and fungi (*Dinomyces* spp., Chytridiomycota, Fungi, Lepelletier et al., 2014b). Some are rather specialists, i.e. with a narrow host spectra like the genus *Amoebophrya* (Coats et al., 1996, Chambouvet et al., 2008), whilst others, as *Dinomyces* and *Parvilucifera*, are definitely generalists (Lepelletier et al., 2014b,a). Interestingly, different parasitoid species have been repeatedly observed to coexist in the same ecosystem (*Amoebophrya* and *Parvilucifera* spp, Chambouvet et al., 2008, Lepelletier et al., 2014b). However, it is still unclear how specialist and generalist parasitoids can coexist in nature.

The life cycle of the dinoflagellate hosts included both clonal and sexual reproductions (alternance between haploid and diploid phases ; Evitt, 1985). During the growth of the population, the vegetative asexual division (i.e. haploid) is the main reproduction process. In some case the production of gamete, visibly indistinguishable from vegetative cells, start the sexual reproduction. Gametes then fuse to form planozygotes (i.e. diploid) and either divide by meiosis to form vegetative cells or encyst into temporary or resting cysts (Figueroa et al., 2006). The sexual reproduction is favored by adverse en-

vironmental conditions (Anderson et al., 1985, Garcés et al., 2004) and may lead to the rapid encystment of the population. Resting cysts have an obligate dormant period (Cosgrove et al., 2014) and can survive several years in sediment. Resting cysts is otherwise the only remnant form for most dinoflagellates during winter. Germination then ensures the recolonisation of environments when conditions become favorable.

In this study, we estimate the impact of two types of parasitoid, having different host specialization but sharing at least a common host, into a fixed host community with a large phenotypic variability through a seasonal period. Models are two parasitoids, *Amoebophrya* spp. and *Parvilucifera* spp., both observed from the same ecosystem (the Penzé estuary and Rance river, smalls estuaries located on the north of the French Brittany), and known for their high infectivity and their different host specialization (Chambouvet et al., 2008, Lepelletier et al., 2014b). The infection cycle of these two parasitoids is rather comparable, although differences appear at the end of the maturation during sporulation. Both genera have an obligate free-living stage (i.e. spore) used to propagate the infection among the host population. The duration of this stage can last few hours to several days depending on the parasitoid strain (Coats and Park, 2002). The infection starts when a spore encounters and successfully infects a host. Mechanisms use to penetrate the host are rather conserved among Alveolata, with structures resembling to the one described in the apical complex of human-parasite as *Plasmodium falciparum*, the malaria agent (Lepelletier et al., 2014b, Miller et al., 2012) and leads to the intracellular development of the parasite (the trophont stage). Sporulation starts inside the host for *Amoebophrya* and finalizes outside as a long multicellular elongated structure (i.e. vermiform). Corresponding stage occurs for the genus *Parvilucifera* into a sporangium, a very resistant and long-term survival stage, released outside the host. These sporangia are suspected to survive in sediments for a long period of time as they can be stored in the fridge for months and cryopreserved (Lepelletier et al., 2014b). Zoospore released is then potentially chemically-activated by the presence of algal metabolite (the dimethylsulphide, Garcés et al., 2013). In absence of similar resistant stage in *Amoebophrya*, survival of this parasitoid could be ensured by their capacity to encyst inside their host cyst (Chambouvet et al., 2008). Infected host cysts were able to germinate after months and novel infective cycles were observed. Sporulation ends in both genera by the production of dozens to thousands of spores, directly released into waters. The newly formed spores will then seek for a new host to infect. A more precise description of those two parasitoids infection and life cycle is available in Cachon (1964), Miller et al. (2012), Norén et al. (1999), Lepelletier et al. (2014b).

Host-parasite systems can exhibit a complex dynamics and host-parasitoid models, which are particular cases of host-parasite models, have been mainly studied to understand dynamics and species coexistence in terrestrial ecology. These theoretical approaches can be extended to coastal marine environment with precaution, as corresponding time scale ratio between the generation time and mixing intensity is not necessarily adapted to aquatic environment and could lead to wrong interpretation of persistence conditions. Previous effort in that direction was previously recently made in a model specifically designed for a host-parasitoids system targeting dinoflagellate communities that inhabit tidal mixed and shallow estuaries (Arancio et al., 2014).

Estuaries have singular peculiarities. Non-spatial and simple host-parasitoid models never lead to a stable equilibrium (Briggs and Hoopes, 2004). Non-spatial and discrete time models such as Nicholson (1933), Nicholson and Bailey (1935) show unstable dynamics leading to the extinction of one or both species whereas a non-spatial and continuous time model (Lotka-Volterra) shows stable oscillations with an amplitude depending on the size of the perturbations from equilibrium. To permit coexistence of the two partners, the spatial aspect was firstly introduced and identified as an important driver of species coexistence via different processes : asynchronous patches, spatial aggregation, mutual interference and dispersal (Briggs and Hoopes, 2004, Hassell and May, 1973, 1974, Rohani et al., 1994). However other processes must be involved because the existence of several sub-local populations is unlikely in estuaries due to the strong tidal mixing. As a first assumption, non-spatial model seems to be more adapted to study these systems but they need a stabilizing factor such as a carrying capacity, an invulnerable age class, non random parasitoid attack, sexual reproduction or migration (Beddington et al., 1975, Doebeli and Ruxton, 1997, Flatt and Scheuring, 2004). Low carrying capacity (K) was the first introduced process and strong density dependence is required to promote stability in Nicholson-Bailey model (Beddington et al., 1975). In a marine estuary the notion of high or low carrying capacity remains hard to define but, due to the high inputs of nutrients linked to the human activity, this environment can be considered as an environment with a high carrying capacity for microphytoplankton. In the Penzé estuary, dinoflagellates are thus able to reach very high concentrations during the blooming period ($> 10^6$ cells.l⁻¹). Invulnerable age class provides another stabilizing factor. However, for the considered group of species (dinoflagellates) all the stages can be infected including the cysts, likely just before their formation (Chambouvet et al., 2011). This sexual reproduction could firstly be considered as a break into the dynamic but remains however the first stabili-

zing factor because the next germination, after several months into the sediment, can be compared to colonization into a new environment (case of spatial model). The sexual reproduction can be also a stabilizing factor through the “arms race” (Doebeli and Ruxton, 1997, Flatt and Scheuring, 2004). However, the intensity of the process, at the first order and for the considered species, should occur mainly at the end of a bloom (Anderson et al., 1985, Garcés et al., 2004). A strong selection should occur during the blooming period, between the different hosts and parasitoid phenotypes. One of the last processes is the top-down control by grazers (Beddington and Hammond, 1977) which can be assumed in the estuary (Montagnes et al., 2008) but that is not discussed here.

In the considered estuary, important infection parameters (i.e. parasitoid output, mortality, maturation time and infection success) required for the simulation of infection dynamics are missing. The genus *Amoebophrya* is the better known parasitoids, but parameters have been estimated only from stratified environment (Chesapeake bay ; Coats and Park, 2002) with local dinoflagellate strains and no estimation of the infection parameters is available for the genus *Parvilucifera*. The infection parameters of both parasitoid species were then estimated using several strains isolated from the similar ecosystems, the Penzé estuary and Rance river, in comparable laboratory culture conditions. This starting point enabled us the first comparison of infection strategy between those two parasitoids. These parameters were then incorporated into a host-parasitoid IBM model (Aranco et al., 2014) to estimate the impact of those parasitoids on a theoretical autotrophic dinoflagellates community.

7 Material and method

7.1 Host/parasitoid parameters

Experiments

Experimentations were similar to the ones described by Coats and Park (2002), with few modifications described after.

Cultures. Six strains of microeukaryotic parasitoids (three strains of *Amoebophrya* spp. and three strains of *Parvilucifera* spp.) have been isolated from similar and close environments (Penzé river : 48°38'N 3°57'W ; Rance river : 48°29'N 1°60'W) and du-

ring the same period of the year (spring 2009-2011) following the procedure explained in Chambouvet et al. (2011). Three monoclonal host strains belonging to three different species were used in this experiment : *Alexandrium minutum* (AM176), *Scrippsiella trochoidea* (ST161) and *Heterocapsa triquetra* (HT150). In total, eight host-parasite couples have been tested (see Table 3). All cultures were maintained in an F/2 medium prepared with the Penzé river water (salinity 27) enriched with soil extract (5%), see detailed protocol in Chambouvet et al. (2011). All stock cultures and experiments were maintained at 19°C and on a L :D cycle of 12 :12 h at 80 μ Einstein $m^2 s^{-1}$.

Dynamics. Parasitoid zoospores were produced using their respective main host (i.e. the host uses to maintain the parasitoid in cultures, Table 3). Freshly produced zoospores were harvested within 6 hours after their production. In order to remove remains of the initial host, zoospores were filtered through a 5- μ m cellulose acetate filter (Minisart, Sartorius, Germany). Parasite cultures were then inoculated in triplicate with a ratio of 20 :1 (parasite :host) (Table 4) and compared to controls (non-infected host cultures). For a better estimation of the maturation time, remaining zoospores were removed 4 h after the inoculation using a tangential filtration throughout a 10 μ m-nylon filter (NY1004700) to prevent further infections. Infection dynamics were then monitored during 90 h by sampling 6 ml fixed with 10% PFA every 3 hours. Intra-cellular infections by *Amoebophrya* spp. were monitored by CARD-FISH (oligonucleotide probe ALV01 ; Chambouvet et al. (2008)) whilst infections by *Parvilucifera* spp. were monitored by counting sporangium production using an inverted microscopy (OLYMPUS). Host cells and zoospores densities were estimated by flow cytometer (FACSAria, Becton Dickinson), from 1ml of sample fixed with glutaraldehyde (0.25% final concentration) for at least 15 minutes and stained with SYBR Green-I at a final dilution of 1/50,000 (Marie et al., 2001)

Parasite mortality m_p (d^{-1}).

Amoebophrya spp. dinospore viability was estimated using their natural bright green autofluorescence using an epifluorescence microscope (BX51, Olympus) equipped with the U-MWB2 cube (450 to 480nm excitation, 500nm emission). A filtered culture containing freshly produced zoospores was sampled every 6h and fluorescent dinospores were counted using a Malassez hemocytometer (0.76 ml). Mortality rate was calculated by fitting, with the least-squared method, a negative exponential function to data. *Parvilucifera* spp. mortality was not estimated because of the absence of easy criteria for their

Table 3 – Detail of parasitoid strains information : Reference number, primary host, origin and isolation time.

Strain number	Roscoff culture collection number	Species	Main host	Other host(s)
A92	∅	MALVII, clade 2, sub-clade 4 ¹	<i>Heterocapsa triquetra</i> (HT150; Penzé river; RCC3596; 06/07/2007)	<i>Scrippsiella trochoidea</i> (ST161)
A101	∅	MALVII, clade 2, sub-clade 1 ¹	<i>Scrippsiella trochoidea</i> STR1 (ST161; Penzé river; RCC1627; 2005)	Unknown
A124	∅	MALVII, clade 2, sub-clade 1 ¹	<i>Scrippsiella trochoidea</i> STR1 (ST161; Penzé river; RCC1627; 2005)	Unknown
P100	RCC2800	<i>Parvilucifera rostrata</i>	<i>Alexandrium minutum</i> (AM176; Bay of Morlaix; RCC3018; 1989)	Generalist ²
P118	RCC2817	<i>Parvilucifera rostrata</i>	<i>Alexandrium minutum</i> (AM176; Bay of Morlaix; RCC3018; 1989)	Generalist ²
P128	RCC2826	<i>Parvilucifera infectans</i>	<i>Alexandrium minutum</i> (AM176; Bay of Morlaix; RCC3018; 1989)	Generalist ²

¹ Following the nomenclature published by Guillou et al. (2008). ² All dinoflagellates, with few exceptions ; Lepelletier et al. (2014b)

Table 4 – Host-parasitoid couples used in the parameter estimations.

Couple	Parasite strain	Host
A	A124	ST161; RCC1627
B	A92	ST161; RCC1627
C	A92	HT150; RCC3596
D	A101	ST161; RCC1627
E	P128; RCC2826	AM176; RCC3018
F	P100; RCC2800	AM176; RCC3018
G	P118; RCC2817	AM176; RCC3018
H	P118; RCC2817	ST161; RCC1627

viability (zoospores are not auto-fluorescence). We observed in culture that *Parvilucifera* zoospores were not able to start a novel infection 7h after their production. We therefore used this value as reference to fix the mortality rate of all *Parvilucifera* strain, and a mortality rate of 2.5 d^{-1} was thus empirically fixed to correspond to a decrease of 50% of the population after 7h.

Maturation time t_{mat} (h).

Maturation time is classically inferred by comparing the maximal density of the host to the maximal density of the parasite dinospores. However, this is not a good proxy for the maturation time of such parasitoids, as freshly produced zoospores are rapidly recruited for novel infections in culture. The number of infected cells dying (i.e. maturing) from infection was assumed to follow a normal law. However because infections were detected early and distinction between early and late infection cannot be done, the total host decay was used instead as a proxy. The maturation time of the genus *Amoebophrya* was then estimated by using the total host abundance curve and assuming that its decay is following a normal law when the maturation period of the parasitoid is reached. A Gaussian function was then fitted with the least square method to the total host cells concentration during the declined due to the infected host death. When infection was weak, the maturation time was exceptionally estimated using the zoospores concentration instead of the host concentration.

As the sporangium is also a resting stage in *Parvilucifera*, the release of zoospores cannot be used as proxy for the end of the parasite maturation time. It was then estimated using the proportion of white (immature) and black (mature) sporangia (Lepelletier et al., 2014b). The black sporangia maturation rates were assumed to be identical to the transformation rates of undetermined infected cells (i.e. early infection and healthy host) into white sporangia (assumed to follow a Normal law). A Gaussian function was thus fitted on the white sporangia population during the transformation of undetermined infected cells into white sporangia to obtain the mean transformation time (t_{wm} ; h) of white sporangia. The time of the first appearance of white sporangia (t_{w0} ; h) was then subtracted from t_{wm} to obtain the time needed to transform 50% of infected cells into white sporangia. The average maturation time (t_{mat}) was then estimated by summing the result to the time of

the first appearance of black sporangia ($t - b_0$; h) :

$$t_{mat} = t_{wm} - t_{w0} + t_{b0} \quad (21)$$

Parasite production p_{out} .

The parasite production (p_{out} ; mean number of zoospores released per infected host) were estimated with the help of the following numerical integration :

$$P(t)/p_{out} = \sum_{k=0}^{t/dt} G(k) \exp(-m_p(t - kdt)) \quad (22)$$

$P(t)$ is the parasite concentration and $G(k)$ is the Gaussian host death rate. $G(k)$ was estimated directly from the total host concentrations for the genus *Amoebophrya* and from the white sporangia proportion for the genus *Parvilucifera*. t is the time and k is the generation. The temporal integration was done with a time step (dt) of 180 sec. p_{out} is then calculated by dividing the maximum of the experimental parasite population by the maximum of the numerical integration.

$$p_{out} = \frac{C_{pmax}}{(P(t)/p_{out})_{max}} \quad (23)$$

Infection success χ (%).

The infection success (χ) is the probability of infection per contact. The estimation of this parameter was explained in Arancio et al. (2014) :

$$\chi = \frac{s_{exp}}{H(t_1)\beta} \times \frac{1}{(1 - \exp(-m_p t_1))/m_p - s_{exp} t_1/2} \quad (24)$$

Where s_{exp} is the parasite population success (total parasite load divided by the inoculum parasite population) and t_i is the time when s_{exp} is estimated (inferior to the maturation time ; 4h in our case).

β is the encounter kernel, the water volume mutually covered by host and parasitoid zoospores during a given period of time. This parameter was introduced by Kiørboe and Saiz (1995) to estimate prey and predator encounter rates depending on the organism behavior and the water turbulence field. We only estimated the behavior part of this pa-

parameter because experiments have been done in flasks (still water hypothesis ; Arancio et al., 2014). The encounter kernel below the Kolmogorov length scale is defined as :

$$\beta = \pi(r_h + r_p)^2 \left(\frac{v_p^2 + 3v_h^2}{3v_h} \right) \quad (25)$$

Where r_h and v_h are the host radius (cm) and velocity (cm.s^{-1}) and r_p and v_p the parasite radius and velocity. A radius of $2.5 \mu\text{m}$ was used for the parasite without any velocity ($v_p \ll v_h$). Host radiuses were set to 12.5, 12.5 and $10 \mu\text{m}$ respectively for *S. trochoidea*, *A. minutum* and *H. triquetra*. Host velocities were fixed based on 2D observations with CCD camera.

7.2 IBM model

Integration of abiotic environmental forcing

In the Penzé river, maximal densities of the hosts during blooms strongly depend on the light intensity, the temperature, the river inputs and the tidal effects (Anderson, 1998). Nutrients are usually in excess and do not limit the dinoflagellate growth. Mechanical loss of cells produces both by the tides and the river effects were estimated through a dilution index (d^{-1} ; Figure 11a). Tidal and river dynamics have been measured in 2006. A regular 2D grid was then used to interpolation these parameters in the river. Dilution values were numerically estimated with a 3D model of the Penzé estuary with the e-flushing time method (Jouon et al., 2006). For that, a tracer was added into the model at salinity 27, where maximal concentrations of the toxic microalga *Alexandrium minutum* and other main dinoflagellate species were frequently observed over salinity transects (Mauger et al., 2004). Other parameters influencing the host growth (light and temperature) were estimated using time series data acquired during 2006 within the REPHY monitoring in the Penzé and by a weather station located at Sibiril (météo France). The limitation function by light ($f(I)$) was adjusted with growth experiments at different light intensity (unpublished data) :

$$\begin{cases} I < 100 & f(I) = I \times 0.00632 + 0.368 \\ I \geq 100 & f(I) = 1 \end{cases} \quad (26)$$

where I is the light intensity ($\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$).

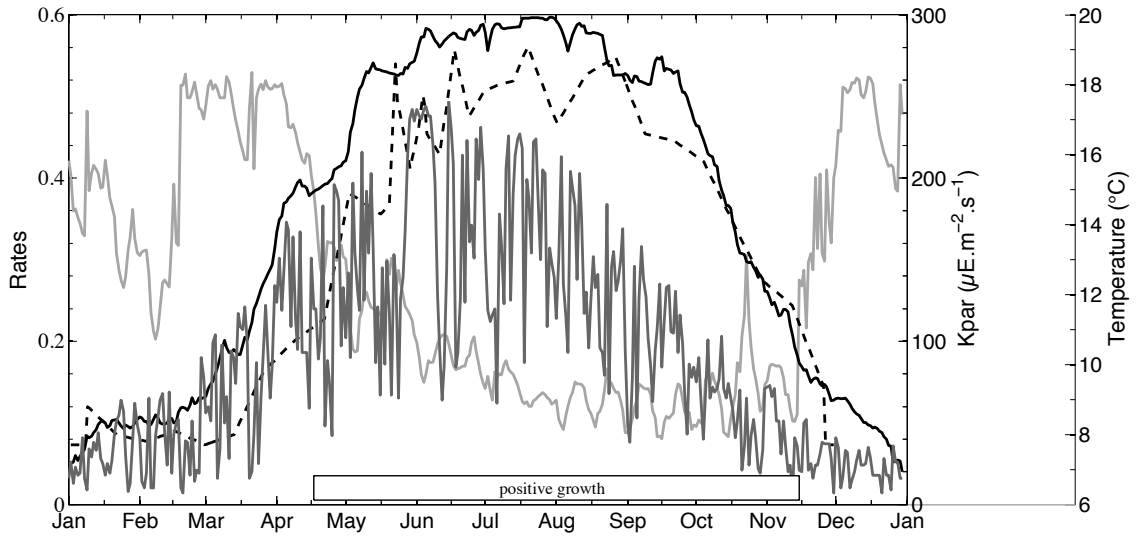


Figure 11 – Dilution index (light gray line), light intensity (dark grey line) and temperature (black dotted line) in the Penzé river in 2006). The black line is the simulated growth of one dinoflagellate phenotype (taking into account modifications by light and temperature i.e. Eq. 26 and 27) with a $\mu_{max} = 0.6 \text{ d}^{-1}$.

The limitation function by temperature ($f(T)$) was empirically fixed with an optimal growth temperature at 18°C :

$$\begin{cases} T < 18 & f(T) = 1 - 0.9 \times ((T - 18)/(5 - 18))^2 \\ T \geq 18 & f(T) = 1 - 0.9 \times ((T - 18)/(22 - 18))^2 \end{cases} \quad (27)$$

Integration of the host/parasitoid system

10 host populations were considered in the simulations. The number of populations was chosen to avoid periods without host in the environment when there is extinction of several populations. Each host has its own phenotype, described by its maximal growth rate. This value was randomly selected (Uniform law) in a range of realistic value recorded for local dinoflagellate species (between $0.5\text{-}0.7 \text{ d}^{-1}$; Labry et al., 2008). In nutrient repleted conditions, the maximal growth rate is then comparable to the fitness of the strain (its capacity to invade; Metz et al., 1992) in the simulated environment. As we worked over a short-term period (seasonal scale), we arbitrarily chose to ignore evolutionary processes and postulated that vegetative (clonal) division is the main growing process (no sexual reproduction).

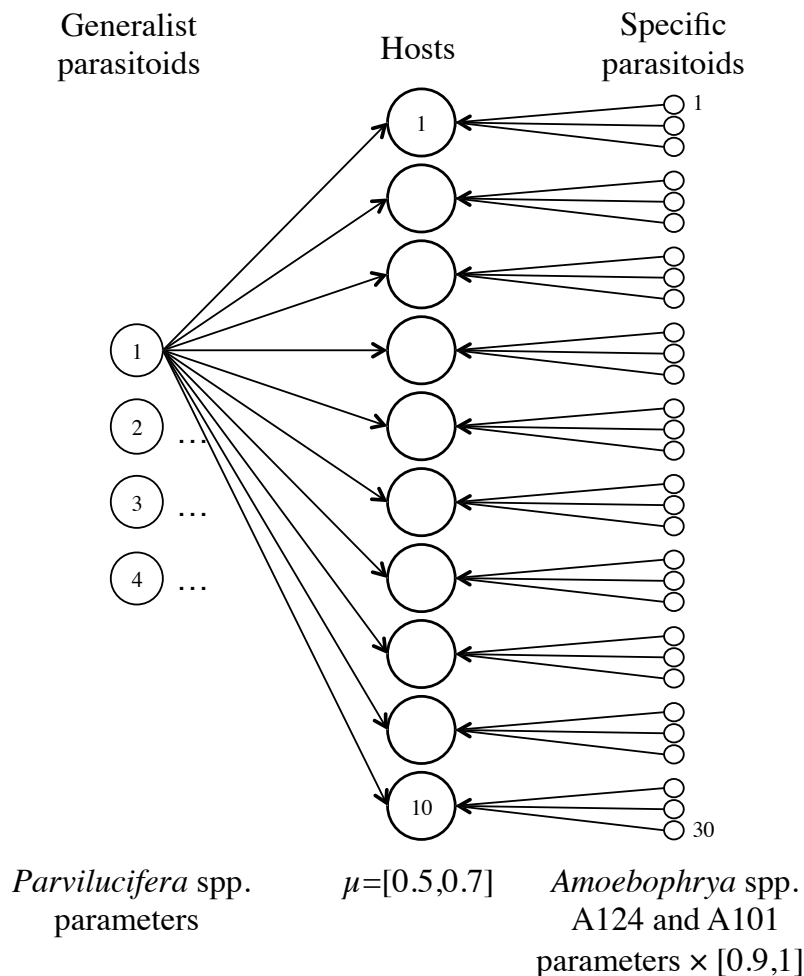


Figure 12 – Host-parasitoid infection diagram.

Regarding parasitoids, simulation considered together 30 specialists and 4 generalists. Each host phenotype was infected by 3 different specialist parasitoids to evaluate their respective success. The four generalists were able to infect all host phenotypes (Figure 12). For specialists, basic parameters were randomly selected from the range observed for *Amoebophrya* strains A101 and A124 and each parameter was modified using a multiplication factor (randomly selected from 0.9 to 1). Both strain characteristics were always represented among the three parasitoids specialist of a given host. The original trade-offs between the observed parameters (parasite production, infection success, etc.) remained closed to the observations. The high number of specialists and the variability of their parameters were fixed to reflect the high diversity observed in the environment. We used results obtained in the 4 cross-infection tests to parameterize the four generalists.

Table 5 – Parasitoid strains used in idealized situation.

	Parasitoid strain 1	Parasitoid strain 2	Parasitoid strain 3	Host shared
system 1	A124	A92	A101	ST161
system 2	P128	P100	P118	AM176
system 3	A92	A101	P118	ST161

Initialization

The individual based model used in this study was fully described in Arancio et al. (2014). The same seeding process based on excystment of the host and the parasitoid was used. When germination occurs, cysts infected by *Amoebophrya* spp. produce parasitoids instead of healthy hosts. The parasitoids can then start novel infections. The sporangia of the genus *Parvilucifera* act similarly and the model assumed that this stage is similar to an infected cyst. Same parameters were thus used for the input of the both types of parasitoids. Capacity of a pathogen to proliferate was thus only driven by its physiological parameters and the availability of its host during simulations.

7.3 Simulations

Two numerical experiments were performed. First experiment was done to evaluate the impact of physiological parameters and initial concentrations of parasitoids on the competition. Those simulations were done with simplified host-parasitoid systems in idealized scenario (constant forcing) with shared resources (i.e. hosts) and with or without the excystment process. The second experiment was done to estimate the impact of the parasitoid host range on the overall annual dynamics of autotrophic dinoflagellate community with external forcings. A carrying capacity of $5,000 \text{ hosts.ml}^{-1}$ was used in all simulations. Host development were considered as bloom when the concentration exceeded $100 \text{ cells.ml}^{-1}$

Simulations in idealized situation :

In each simulation, one host phenotype was exposed to three parasitoid strains in a homogeneous water column (20°C and salinity 30).

Infection dynamics started firstly with identical initial conditions (ratio host :parasitoid) for all parasitoid strains. Simulation duration was fixed to 15 days because no more hosts remained after this duration. Initial host concentrations were fixed to 10^3 hosts.ml⁻¹ and initial host :parasitoid ratio varied from 1 : 1×10^{-5} to 1 : 1×10^5 . The initial concentrations for the three parasite strains were identical and no cell input was done after the initialization. The maximum concentration attained by each parasitoid strain during the simulation was the parameter selected to compare the parasite effectiveness. A second set of simulations was done to estimate the potential of each parasitoid to invade from an excystment process. Hosts and parasites cells were produced only by excystment with 8×10^3 hosts.cm⁻².d⁻¹ produced (Ishikawa and Taniguchi, 1996) and 10% and 20% of infected cysts by each strain of parasitoid. Since results are similar between 10% and 20% of infected cysts, only the results of 10% infection are presented. Because of the excystment process, hosts and parasitoids were able to recolonize the environment after extinction. Then to allow several development cycles to occur (Arancio et al., 2014), the simulations length was set to 500 days. One hundred simulations were processed and several hundreds of bloom events were recorded. The number of blooms efficiently controlled by each parasitoid was the selected parameter to define species effectiveness. To be consistent, the germination rate of *Parvilucifera* sporangia, not located inside their dinoflagellate host cysts, was considered identical to the germination rate of cysts infected by *Amoebophrya* spp.

Annual simulations :

Annual infection dynamics were simulated by applying realistic temperature, light and dilution forcings. In those simulations, the host-parasitoid system presented before (i.e. 10 host phenotypes, 30 specialist parasitoids and 4 generalist parasitoids ; Figure 12) was used with and without the generalist parasitoids. Host and parasitoid inocula were only produced through the excystment process into a small volume of water (4 ml). Hosts' excystment rates were set to 8×10^3 hosts.m⁻².d⁻¹ per species with 20% of the cysts infected by specialist parasitoids. The germination rate of all sporangia is equal to the germination rate of the infected cysts of one host phenotype and is equally distributed among the four generalist strains.

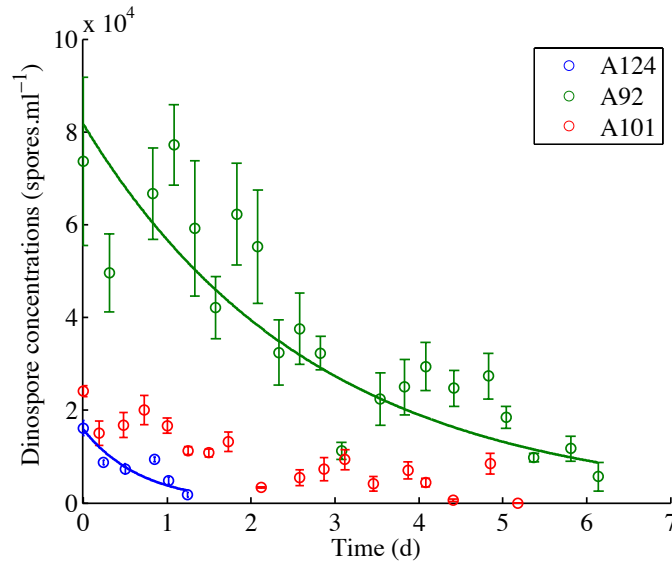


Figure 13 – Fitted curves of the parasitoid mortality on the experimental data. A linear regression was performed on the concentrations logarithm to estimate this parameter.

8 Results

8.1 Infection parameters

Parasitoid survival. *Amoebophrya* mortality rate of is highly variable among strains. From the onset of the survival experiment, *Amoebophrya* free-living stage exhibited an exponential decay (Figure 13). Some strains (A92 and A101) could keep one-tenth of their initial population after 6 days whilst strain A124 was almost entirely dead after only 3 days. The intraspecific variability observed in this parameter was yet reported by Coats and Park (2002). Estimated mortalities were $1.43 \pm 0.28 \text{ d}^{-1}$ ($r^2 = 0.622$; $P = 0.0001$), $0.36 \pm 0.04 \text{ d}^{-1}$ ($r^2 = 0.556$; $P < 0.0001$) and $0.40 \pm 0.07 \text{ d}^{-1}$ ($r^2 = 0.40$; $P < 0.0001$) for A124, A92 and A101, respectively (Table 6).

Maturation times. Mean maturation times and corresponding standard deviation are indicated in Table 6. This parameter shows the lowest variability. Most of strains produced new flagellates between 60 and 79 h (Table 6; Figure 14 and Figure 15). Only one strain (A101) had a shorter and less variable maturation time (i.e. 49 h; $\sigma=2.34$ h). The maturation time depend on the host strain (60 h with ST161 and 79 h with HT150) for the genus *Amoebophrya*. This not seems to be the case for the genus *Parvilucifera* (74 h with AM176 and 76 h with ST161).

Table 6 – Estimation of infection parameters.

Parasitoid strain	A124	A92	A92	A101	P128	P100	P118	P118
Host	ST161	ST161	HT150	ST161	AM176	AM176	AM176	ST161
m_p (d ⁻¹)	1.43	0.36	0.36	0.40	2.5	2.5	2.5	2.5
t_{mat} (h)	69	60	79	49	63	69	74	76
σ (h)	7.99	12.45	9.05	2.34	7.64	10.13	11.26	15.35
p_{out} (spores.host ⁻¹)	316	474	344	83	625	468	452	1190
β (cm ³ .d ⁻¹ .host ⁻¹)	0.0159	0.0159	0.0038	0.0159	0.0159	0.0159	0.0159	0.0159
χ (%)	11.02	9.30	6.78	49.13	1.31	4.46	3.19	3.30

Parasitoid production. The parasitoid spore productions changed a lot according to the parasitoid strain. On average, spore production per infected host was higher in *Parvilucifera* than in *Amoebophrya*. *Amoebophrya* spp. produced 80 to 500 spores per infected host (Table 6) but three out of four couples produced more than 300 spores.host⁻¹. *Parvilucifera* spp. produced 450 to 1200 spores per infected host (Table 6). The three couples tested with the same host species (AM176) had a spore production inferior to 650 spores.host⁻¹. the infection of a different host altered the amount of spores produced per infected cell in both genera : from 475 to 344 spores.host⁻¹ for A92 (ST161 to HT150) and from 452 to 1190 spores.host⁻¹ for P118 (AM176 to ST161).

Infection success. Host velocities were fixed according to the most frequently estimated instantaneous speed : 260 $\mu\text{m.s}^{-1}$ for *S. trochoidea* and *A. minutum* and 90 $\mu\text{m.s}^{-1}$ for *H. triquetra*. Obtained β values are presented in Table 6. The infection success was the most variable parameter. Values varied from 1.31% to 49.13% of infection per encounter (Table 6). *Amoebophrya* spp. had higher infection successes (> 6%) than *Parvilucifera* spp. (< 5%). The infection of a different host species decreased the infection success by one third for *Amoebophrya* spp. whereas a very slight increase was observed for *Parvilucifera* spp.

8.2 Simulations

Simulations in idealized situation : In all of the system considered (Table 5), two out of the three parasitoid strains of the system were able to dominate the infection. The dominance of the two strains switched in function to the initial ratio with 4 shifts between ratio 1 :10⁻³ and 1 :10² for the systems 1 and 3 and between ratio 1 :10⁻⁴ and 1 :10¹ for the

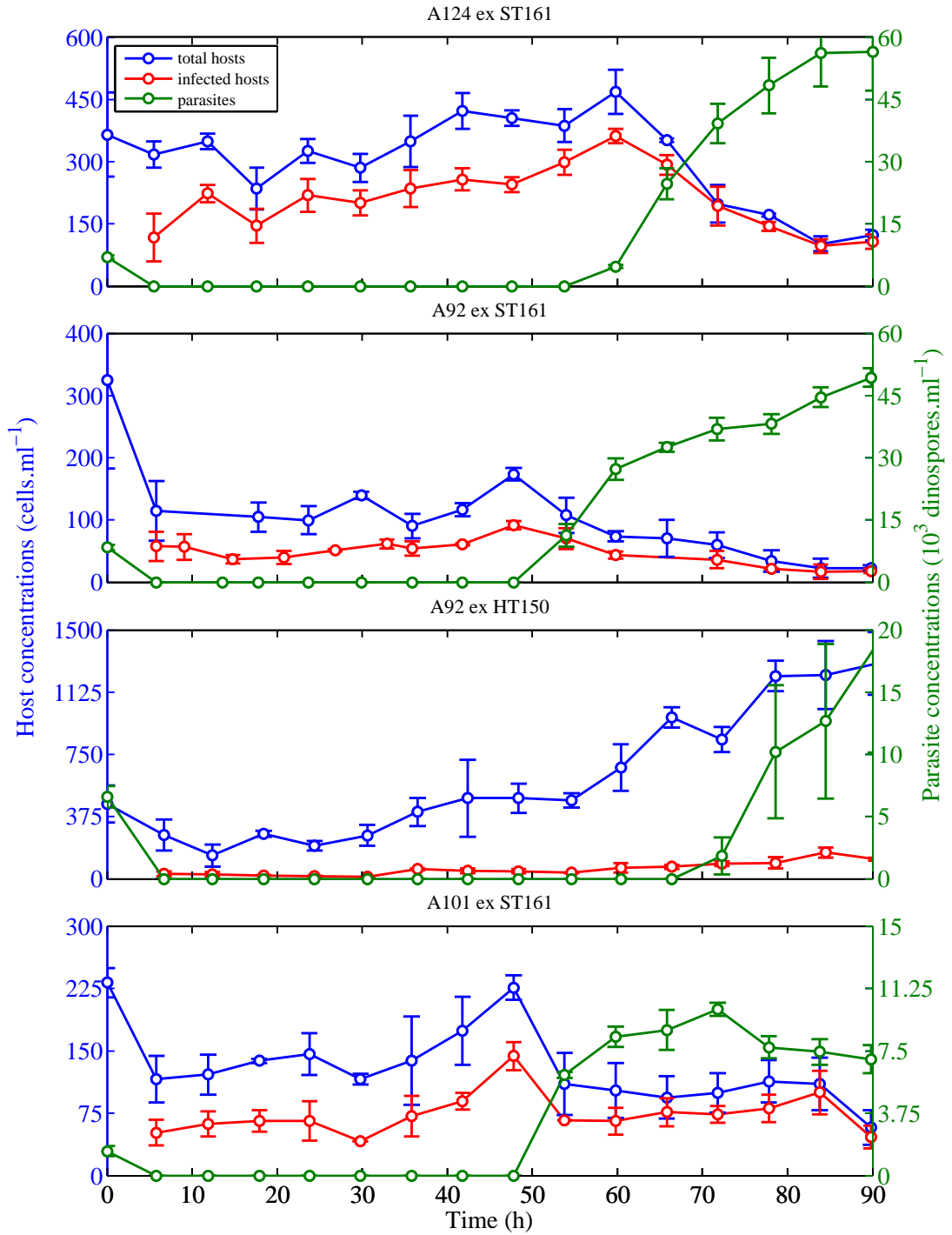


Figure 14 – *Amoebophrya* spp. infection dynamics.

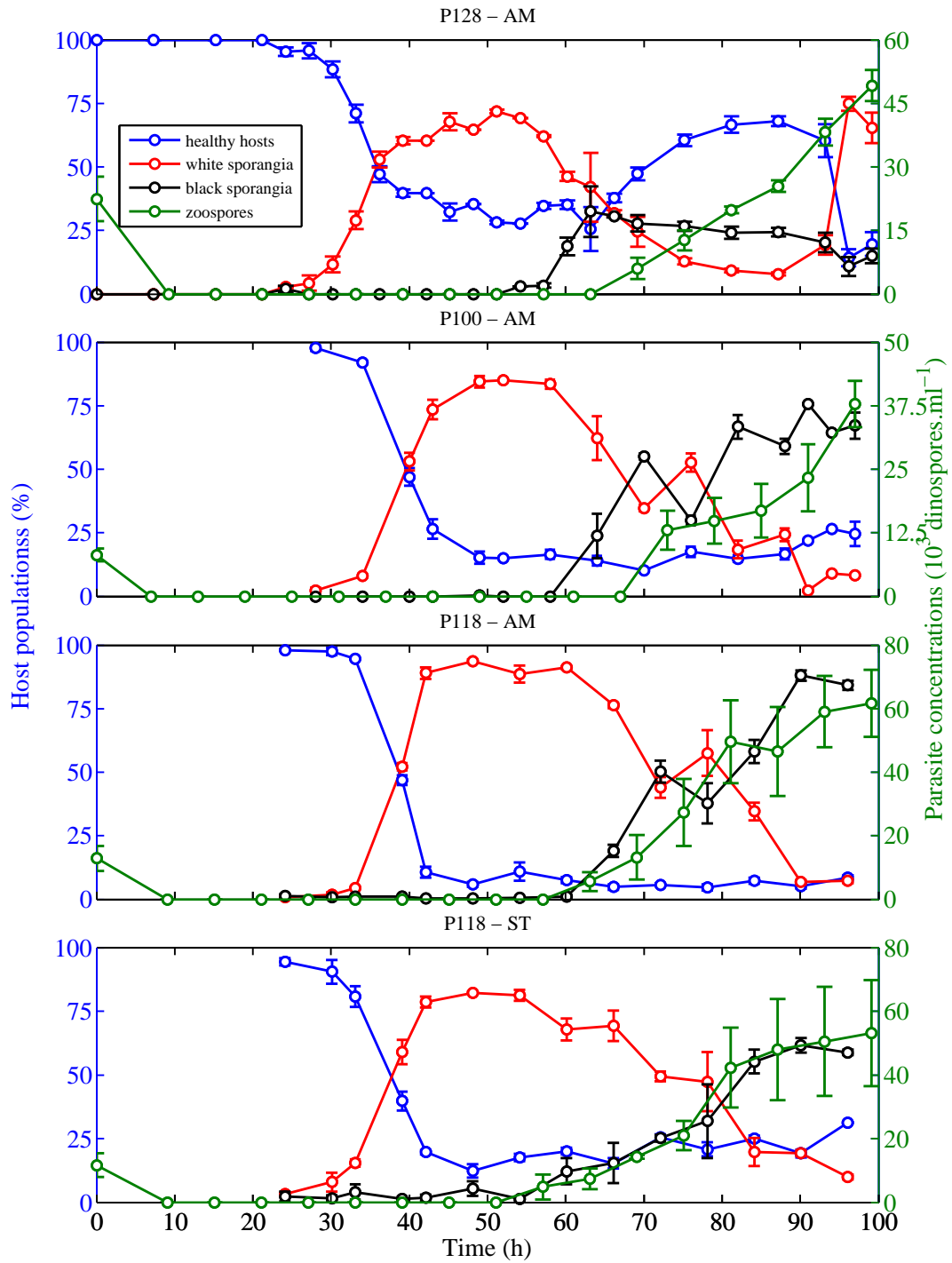


Figure 15 – *Parvilucifera* spp. infection dynamics. Host curves represent the proportion of each category in the total population.

system 2. The dominating strains were characterized by a shorter maturation times. In the simulations with three strains of *Amoebophrya* (system 1), the strains A92 and A101 dominated. In the simulations with three strains of *Parvilucifera* (system 2), the strains P128 and P100 dominated. With initial parasitoid concentration over 5×10^3 parasitoids.ml⁻¹, the strain P118 turned out to be the second dominant parasitoid. For the interspecific competition (system 3) *Amoebophrya* spp. (A92 and A101) always dominated *Parvilucifera* species.

The simulations with excystment resulted in successions of host growth and extinctions as described by Arancio et al. (2014). Demise of blooms were provoked by infection by one or several parasitic strains. Capacity for parasitic strains to infect available host and control their blooms is summarized in Table 7. Finally, the percentage of blooms controlled by a parasitoid strain was close to the theoretical infection probability of this strain (Table 7). The parasitoid strains with the greatest number of host controls had either high parasitoid productions, high infection successes or a low mortality rates. In the intraspecific simulations, A92 and P100, respectively for the genera *Amoebophrya* and *Parvilucifera*, were responsible for the highest number of controlled developments. The interspecific simulations were dominated by the two strains of the genus *Amoebophrya* (A92 and A100) with more than 90% of the blooms controlled.

Annual simulations : Without pathogens, host phenotypes having the highest growth rate obviously occupied the entire environment (up to the carrying capacity) due to an exclusive competition process. Maximal density fluctuated according to the dilution effect. After the introduction of a specialist parasitoid community, interspecific successions of hosts are observed (Figure 16a). On average 23 successions of phenotypes occurred in a quasi-random order during the period of positive development. The phenology depended on growth rate but some phenotypes could not bloom because of the presence of parasitoids. The peaks in the mean concentrations (Figure 17a) indicated that some phenotypes could recurrently bloom at the same time in several simulations. Blooms with high intensity and close to the carrying capacity were produced by all host phenotypes, although these densities were not strong enough to induce the exclusive competition of other phenotypes. Instead, sudden host extinctions occurred as soon as abundances reached high values and were always associated with an infection by one or several parasitoid strains (Figure 16b). The infection processes allowed the hosts with low growth rate to dominate more frequently than usual the dinoflagellate community (Figure 18a). Due to the density dependence and stochasticity of the infection process (encounter rate model), bloom

Table 7 – Capacity of parasitic strains to infect available host and control their blooms estimated using intra and interspecific simulation results with excystment (system 1 to 3 ; Table 5). Percentages show the part of infected bloom out of 100 simulations of 500 days. Percentages between parentheses show the theoretical probability of one host individual to be infected by the parasitoid strain.

	Parasitoid strain 1	Parasitoid strain 2	Parasitoid strain 3
Intraspecific simulation with <i>Amoebophrya</i> spp. (system 1)	A124: 9% (10%)	A92: 51% (49%)	A101: 40% (41%)
Intraspecific simulation with <i>Parvilucifera</i> spp. (system 2)	P128: 21% (19%)	P100: 47% (48%)	P118: 32% (33%)
Interspecific simulation with <i>Amoebophrya</i> spp. And <i>Parvilucifera</i> spp. (system 3)	A92: 54% (51%)	A101: 39% (42%)	P118: 7% (7%)

intensities of each host phenotypes during one simulation were not directly linked with their maximal growth rate (Figure 16a) however mean abundances were still related (Figure 18b). According to the relative short period of blooms in presence of parasitoids, these specialist pathogens and increased significantly the environmental selection pressure and were the main drivers of the species successions in spite of the rather short time period of control by phenotypes.

The parasitoid and host diversity was strongly affected by the introduction of generalist parasitoids (Figure 19). Simulated successions were stopped due to the capacity of the generalists to infect all the host phenotypes. Host phenotypes having the highest growth rates obtained the highest probabilities to bloom and the highest mean densities (Figure 17b) and were generally able to develop before the infection of all the vegetative populations by a generalist. Frequently, specialist parasitoids were able to infect and prevent the bloom formation of one or several phenotypes before the global infection by the generalists but the simulated competition is strong enough to exclude specialists. Phenotypes with low growth rate were not able to grow to high concentrations before the generalist apparition. On average, succession of 13 phenotypes occurred per year with a general dominance of fast growing phenotypes and mean host concentrations decreased with the

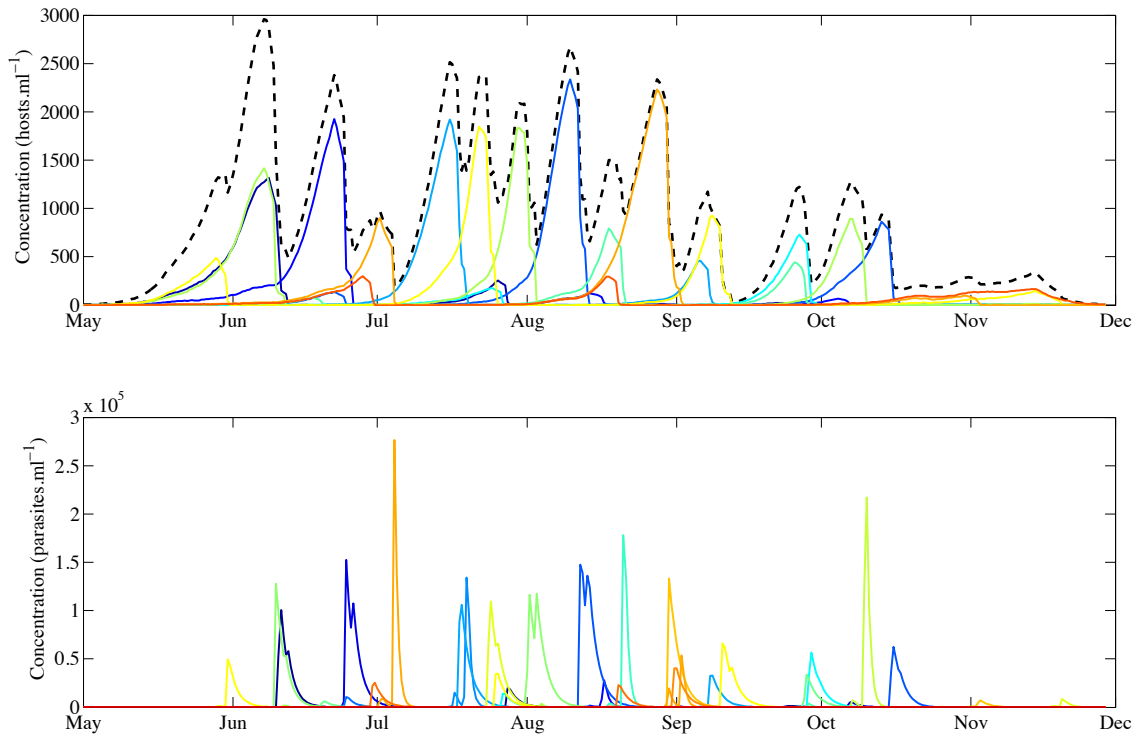


Figure 16 – Example of an annual infection dynamics of a dinoflagellate community by specialist parasitoids. The concentrations of 10 host phenotypes are presented (a) along with the 30 parasitoid strains associated (b). Each host phenotype is represented by a different color and parasitoid strain colors correspond to the color of their susceptible host phenotypes. The dotted black line (a) is the total host concentration.

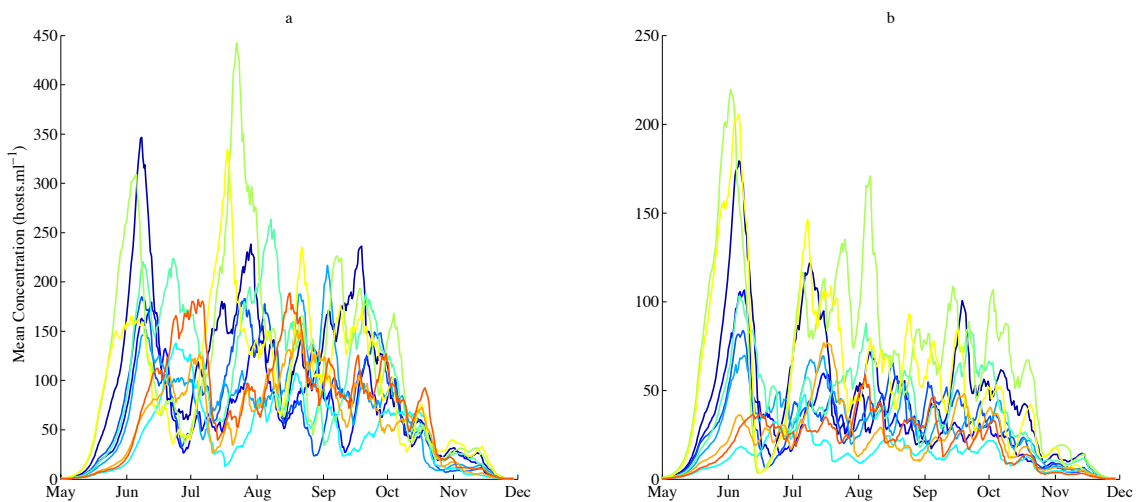


Figure 17 – Hosts concentration of annual infection dynamics by specialist parasitoids (a) and generalist parasitoids (b) averaged on 100 simulations. Each host phenotype is represented by a different color.

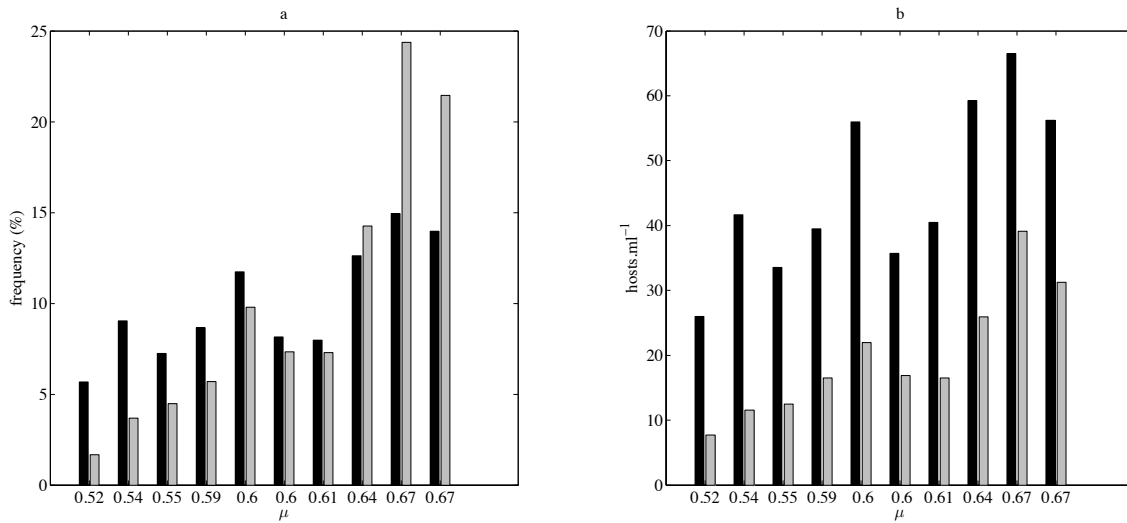


Figure 18 – (a) Dominance (most abundant) by phenotypes and (b) mean concentrations per year of each host species. Only periods with dinoflagellate concentrations higher than 20 hosts.ml^{-1} were analyzed. Black bars were obtained from simulations with only specialist parasitoids and grey bars from simulations with generalists.

introduction of the generalist (Figure 18).

9 Discussion

9.1 Model approximations/hypotheses

Three mechanisms are generally described in literature to explain host-parasitoid system stabilization in spatial models (Briggs and Hoopes, 2004) : a high number of population out of phase (Nicholson, 1933), non-linear response to density and spatial heterogeneity (Murdoch et al., 2013) and immigration with a limited dispersal (Reeve, 1988). The first two processes can occur in marine environment and on short time scale through some behavior modifications. Some small changes in swimming behavior for infected hosts (Park et al., 2002) could thus separate vertically the host population in an efficient way. However, as indicated in the method section, due to the mixing by tide regime, they cannot be considered in this study. Only the immigration process could then be used to stabilize the system and can modify the simulated dynamics. An immigration by a nearby bays (exp : Morlaix bay or Rance estuary respectively a few and 150 kilometers further)

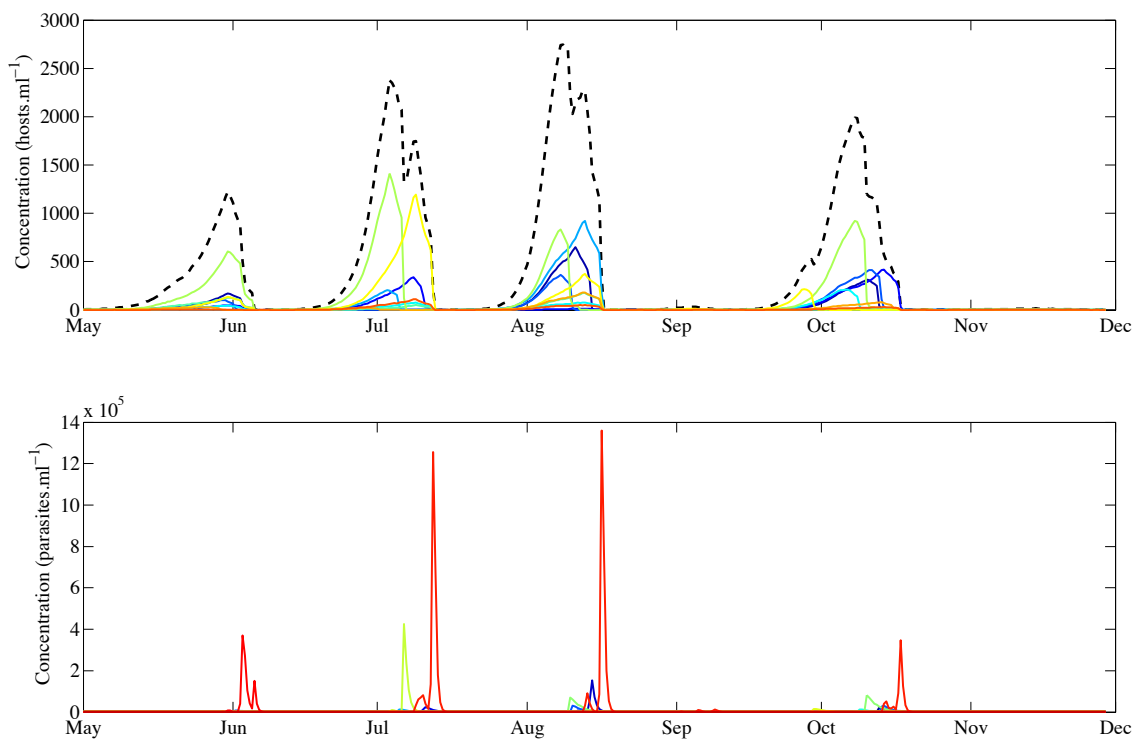


Figure 19 – Example of an annual infection dynamics of a dinoflagellate community by specialist and generalist parasitoids. Dynamics of 10 host phenotypes are presented (a) along with the 30 specialists and 4 generalists parasitoid strains associated (b). Colors of parasitoid strains correspond to the color of their host phenotypes when they are specialists. Generalist parasitoid strains are in red. The dotted black line (a) is the total dinoflagellate concentration.

could be assumed. The migratory fluxes between the closed bays are however unknown but the variability of the genetic diversity of dinoflagellate populations from this estuary indicates a genetic isolation during the blooming period (Dia et al., 2014) that goes against some immigration fluxes during blooms. Most of the observed migration processes between bays should thus occur between the autumn and the winter through cysts advection and less probably by rain leaching before the bloom and could explain that the observed interannual genetic differentiation was greater than intrabloom differentiation (Dia et al., 2014) at the seasonal scale. The cysts bank is suspected to be the main process stabilizing the system (Arancio et al., 2014, Murdoch et al., 1987) and contribute in maintaining the genetic diversity of host and pathogen (Weinbauer and Rassoulzadegan, 2004). The conditions required to infect the dinoflagellate cyst are such that cysts in the model act as an invulnerable age class with a proportion of infected individuals. The excystment process with a fixed prevalence was then used into the IBM model and could be compared with a population model (or a meta-population of a model) integrating a constant migration process (e.g. Ruxton, 1994).

This migration was strongly linked to one of the infection parameters (i.e. p_{out}). To get closer to *in situ* conditions, the variability of p_{out} was evaluated from strains cultures isolated from the same kind of environment. Due to this limited number of strains, no trade-off could be clearly identified even if specialist dinospores tend to infect more successfully and to have less offspring. Some strong hypotheses were also done to estimate several parameters. The encounter kernel, for example, was estimated by considering a straight swimming trajectory of all hosts and no movement of parasitoids but the true behavior of these organisms may modify the value of this parameter in a large extend. Another example is the mortality rate of the genus *Parvilucifera*. It was arbitrarily fixed using an indirect estimation to an identical value for all strains. Accurate estimation of those parameters is difficult because of the need of specific method of observation or the difficulties to estimate zoospore abundances (see 2.1.2.). However these uncertainties are not strong enough to radically change the model behavior (Arancio et al., 2014) and do not change the conclusions on phenotypes coexistence and successions.

9.2 Development window and selection pressure

This study focused on blooming dinoflagellate species that can be controlled by microeukaryotic parasitoids. Of course, other phytoplanktonic groups, not regulated by these

kinds of parasitoids, are able to bloom. Moreover, the model parameters fit hosts phenotypes having similar life cycles (i.e. cyst production), close blooming period and physiological rates (Labry et al., 2008). Therefore the number of species monitored is low and the phenotypes simulated are not representative of the phytoplanktonic diversity in estuaries. The development period simulated in the model was thus too long and nutrients would be limiting after few months because of the phytoplanktonic uptake and the decreasing river inputs during the summer. The simulated phenotypes succession can however occur during a large period while cysts germinate in repleted nutrient conditions. The real blooming period is then shorter and about 30 days. This duration prevents the same phenotype to bloom several times contrarily to the simulations. Moreover, a bigger simulated volume fasten the infection dynamics and decrease the maximal concentration reached by the hosts (Arancio et al., 2014). The dynamics in more realistic conditions should thus be viewed as a shorter dynamics with less intense blooms and with probably only one development for each phenotype at the seasonal scale.

Some other interactions can also reduce the temporal windows for host growth like allelopathy or sexual reproduction. This last process is probably the more relevant one. Sexual reproduction was firstly ignored in the model in order to focus on the impact of the infective cycle but the ability of the pathogen to exert a strong selection pressure on its dinoflagellate host should be a strong regulator of the sexual reproduction timing for his host (Velo-Suarez et al., 2013). Both infection and sexual reproduction follow bloom events, are density dependent and were cited as responsible in bloom termination (Ishikawa and Taniguchi, 1996, Wang et al., 2007). In some case reproduction can lead to the meiosis of planozygotes instead of encystment (Figuerola et al., 2010). This process results in the formation of new phenotypes with inherited resistance and a new host development until a new parasitoid selection. Initiation of the gametogenesis remains poorly understood : some studies associate the apparition of gametes with stress conditions (e.g. depleted phosphorus (Anderson et al., 1985) but it was never clearly associated with infectious diseases (Chambouvet et al., 2011). The duration of the sexual reproduction, from planozygote apparition to encystment was estimated to be 5 to 7 days long (Anderson et al., 1985) and chances of infection are high in the meantime. If the sexual reproduction is somewhat triggered enough time before the infection, bloom terminations could be caused by encystment rather than parasitoid infection. Selection pressure by parasitoid would be low in spite of strong host mortality (Dia, 2014) and sexual reproduction can be thus a strong regulator of coexistence (Doebeli and Ruxton, 1997).

9.3 Observed phenology and monitoring data set.

The phenology of host community strongly varied depending on coexisting parasitoids. Association of specialist parasitoids allows the successions of host phenotypes depending on their respective growth rate, but with high variability. Each blooming species were controlled by one or several specialist parasitoids following the “kill the winner” theory (Thingstad and Lignell, 1997). The frequency-dependent selection allowed each phenotype to dominate the dinoflagellate community in abundance at least once during a simulated period and a continuous presence of autotrophic dinoflagellates in the environment. Specialist pathogens are increasing the observed diversity (Hechinger and Lafferty, 2005) by reducing the fundamental niche to a very small-realized niche. On the contrary, the introduction of generalist parasitoids in the system caused punctual extinctions of the dinoflagellate community and a positive relation between the phenotype abundances and their growth rate. The host phenotypes with the higher growth rates also prevented the development of the other hosts through exclusive competition at one order below the carrying capacity during the period without control by generalists and through apparent competition during the infection (Holt and Lawton, 1993). The apparition of generalists should thus strongly change the infection dynamics and return the observed phenology to a state close to an environment without parasitoid.

This observation must be however moderated because two extreme host-parasitoid interactions are considered in the model : the susceptibility of all the phenotypes to one or several generalists or a community of fully specialist parasitoids. These assumptions are probably too strong and a continuum of host specialization in the parasitoid community likely exists. The model parameters were estimated to be as realistic as possible but the hosts and parasitoids couples maintained in those cultures are probably not representatives of the *in situ* hosts/parasitoids populations. The most efficient couples are probably more easily isolated than others. This setup could explain the absence, in the literature as well as in our data set, of a cost function linking the growth rate of the host to the infectivity of parasitoids for our specific system. In the same way some secondary host of a specialist parasitoid inefficient in laboratory should exist in the environment and several phenotypes of/or several host species should probably resist to generalist pathogens. The species phenology must have a gradient of response strongly controlled by the phenotypes diversity of the hosts, the characteristics of the parasitoid community and the local introduction or extinction of some key parasitoid that could radically change the species succession.

Host-parasitoid systems composed of unicellular organisms with fast generation rate are also likely to coevolve on short time scale and adapt the infectivity/resistance in function of resources and intra and interspecific competition (Gandon and Michalakis, 2002). This process can then modify the density dependence threshold of the interactions and generalist/specialist alternation. However recent laboratory experiments have shown a slow adaptation of the parasitoid to a new host in a system *Scrippsiella* sp.- *Amoebophrya* spp. (unpublished data) suggesting that this process may only have implication on very long-term for this system.

Since several years, researchers try to predict toxic algae's blooming window with abiotic factors such as temperature, light and/or nutrients. If the potential niche is well defined with those quantities, the model results show that the predictability of the bloom of a specific species can be more complex and a lot of other interactions may have to be taken into account to forecast a realized niche. In the studied system, a species bloom is then also regulated by the exclusive competition of other host with higher fitness, the apparent competition of hosts sharing parasitoids and the population control by specialist infectious parasitoids. The control of the dinoflagellate community by parasitoids then prevents the identification of the realized niche with abiotic factors alone and requires us to measure (with regular molecular methods) at least the hosts-parasitoids system and its variation over time to predict the timing and intensity of a species development.

Chapitre 3 : Estimation de l'influence du comportement natatoire sur le noyau de rencontre.

10 Introduction

Dans les parties précédentes, une grande partie du travail a été consacrée à la paramétrisation du cycle de vie des pathogènes du modèle IBM. Beaucoup des paramètres ont une influence sur la dynamique d'infection du système parasitoïde-dinoflagellé et sont liés à des processus physiologiques du parasitoïde ou de l'hôte. Toutefois le comportement natatoire peut aussi modifier cette dynamique en changeant les chances de rencontre entre les hôtes et les parasitoïdes. Une différence de comportement entre les cellules hôtes saines et les cellules hôtes infectées peut, par exemple, séparer verticalement la population hôte, protégeant ainsi les hôtes sains des parasitoïdes issues des cellules infectées (Park et al., 2002, Sourisseau et al., 2010). Cette composante comportementale a été prise en compte dans le modèle IBM de manière simplifiée avec le noyau de rencontre β . Dans notre modèle l'estimation de ce paramètre est importante puisqu'il a la même sensibilité que le paramètre χ . Il a été calculé de manière théorique avec un comportement simplifié puisqu'à ce jour aucune étude n'a permis de quantifier l'effet réel du comportement des organismes de ce système sur sa dynamique d'infection. Les hôtes ont donc été considérés comme nageant en ligne droite et les parasitoïdes comme inertes. Toutefois l'importance du comportement natatoire dans l'estimation du taux de rencontre a été démontrée dans d'autres systèmes aquatiques (MacKenzie and Kiorboe, 1995). Plusieurs méthodes d'observations (2D et 3D) ont donc été utilisées pour analyser par quel moyen et jusqu'à quel degré un comportement plus réaliste peut modifier ce paramètre. Pour compléter ces

analyses, un modèle recréant la nage hélicoïdale des hôtes et des parasitoïdes a été développé. Il a servi à estimer le noyau de rencontre en fonction de différents comportements programmés à partir des observations de nage.

11 Mesures

Lors de cette étude, deux types de mesures de nage ont été effectués. Ces deux mesures reposent sur l'utilisation de caméra numérique pour capturer les trajectoires de nage des parasitoïdes et des hôtes. La première est une mesure en 2D développée à l'Ifremer et permise par l'autofluorescence naturelle des organismes étudiés. La seconde méthode s'appelle l'holographie digitale en ligne (HDL) et permet d'enregistrer simultanément la nage en 3D de plusieurs centaines d'individus de taille similaire avec une seule caméra. Les observations faites avec l'HDL ont été réalisées dans le laboratoire Institute of Marine and Environmental Technology suite à un séjour aux Etats-Unis dans le cadre d'une collaboration (Allen Place et Jian Sheng ; Univ. of Maryland).

11.1 Trajectoires 2D par autofluorescence

L'analyse 2D du système hôte-parasitoïde repose sur l'utilisation de l'autofluorescence naturelle de la chlorophylle des dinoflagellés et celle du genre *Amoebophrya* (Coats and Bockstahler, 1994) lorsqu'ils sont exposés à une longueur d'onde proche de l'ultraviolet (405 nm). La chlorophylle et le parasitoïdes fluorescent alors respectivement dans le rouge (600 nm) et le vert (470 nm). Ce phénomène permet non seulement de distinguer très clairement les deux organismes mais aussi d'identifier les cellules hôtes en état avancé d'infection (fluorescence à la fois rouge et verte) et d'exclure les autres particules présentes dans la culture.

Le montage utilisé est constitué d'une caméra CCD, avec un objectif télécentrique et un Dualview, dirigé vers une cellule d'échantillonnage dans laquelle se trouvent la culture d'hôte et de parasitoïde à observer. Un laser ($\lambda=405\text{nm}$) est alors placé perpendiculairement au montage camera-cellule en direction de la cellule d'échantillonnage et manipulé à l'aide de plusieurs lentilles pour n'éclairer que la partie nette du volume observé (Figure 20). Le Dualview équipé de deux filtres (600 et 470nm) est utilisé pour ne retenir que les objets émettant dans les longueurs d'ondes des filtres. Après enregistrement, chaque

image a été traitée successivement à l'aide des logiciels Matlab (séparation des images par longueur d'onde) et ImageJ (reconstitution des trajectoires des particules ; plugin ParticleTracker) pour reconstruire les trajectoires 2D des hôtes et des parasitoïdes.

Lors des observations en 2D, les cultures ont été suivies dans une cuve fluorimétrique standard en quartz. Avec ce montage et la cuve utilisé, le volume observé est d'environ 100 mm^3 ($1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times \sim 1 \text{ mm}$) avec des concentrations variant de 10^2 à 10^3 hôtes. ml^{-1} et 10^3 à 10^5 parasitoïdes. ml^{-1} . Les temps d'observations ont été limités à 15 sec par le comportement des organismes.

11.2 Méthode 3D : Holographie digitale en ligne

Le principe de l'holographie digitale repose sur la capture avec une caméra numérique de l'interaction d'objets avec une source de lumière cohérente (c.à.d. avec une phase identique). L'hologramme, qui sert à reconstituer en 3D un objet, est obtenu en enregistrant sur une surface sensible (ici une camera CCD) les franges d'interférences obtenues en combinant l'onde émise par une source laser (onde de référence) et l'onde diffractée par l'objet. L'hologramme est ensuite traité par ordinateur pour reproduire une image numérique 3D de l'objet.

L'HDL qui tient son nom du montage en ligne de tous ses composants (c.à.d. source lumineuse / objet / capteur ; Figure 21) a été utilisée plusieurs fois pour étudier la nage et le comportement des dinoflagellés (Lewis et al., 2006, Sheng et al., 2007). Cette méthode permet l'acquisition à haute fréquence ($>30 \text{ Hz}$) des trajectoires de plusieurs centaines de particules en même temps avec un faible effet d'ombrage. La possibilité de mesurer la taille des objets permet de distinguer les trajectoires des hôtes et des parasitoïdes. Cependant, contrairement à la méthode 2D décrite plus haut, il n'est pas possible de distinguer un hôte infecté d'un hôte sain.

Avec cette méthode nous avons observé les comportements dans une cuve de spectrophotomètre dans un volume approximatif de 500 mm^3 ($1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm} \times 5 \text{ mm}$). Les nages ont été enregistrées pendant 40 à 60 sec avec des concentrations de 100 à 500 hôtes. ml^{-1} et de 3.10^4 à 8.10^4 parasitoïdes. ml^{-1} .

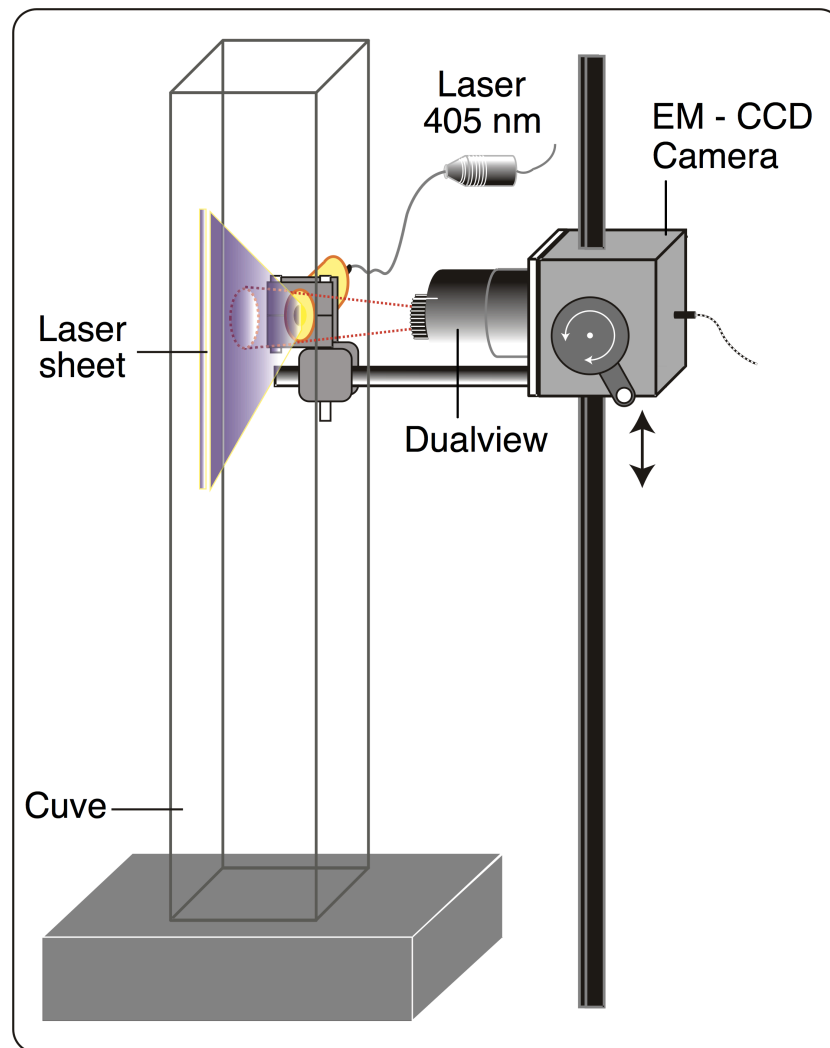


Figure 20 – Montage optique pour observation de nage 2D du système hôte-parasitoïde dinoflagellé-*Amoebophrya* spp.

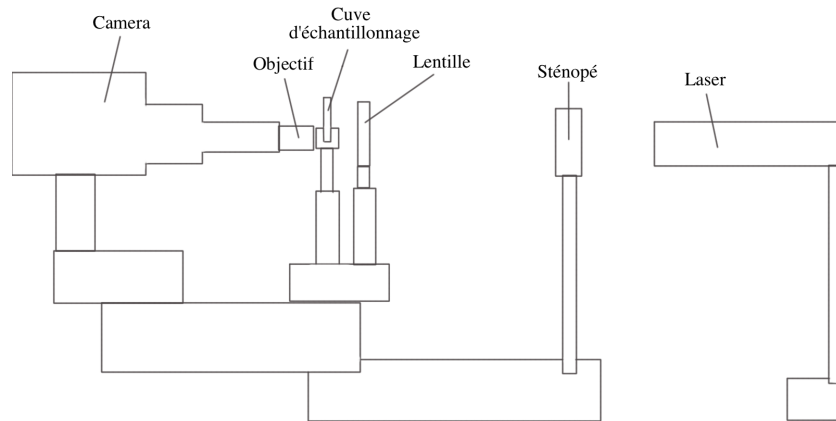


Figure 21 – Montage optique de l’holographie digitale en ligne.

11.3 Cultures :

Lors des observations plusieurs cultures d’hôtes et de parasitoïdes ont été utilisées. Pour la méthode d’observation 2D, le couple *Scrippsiella trochoidea*-*Amoebophrya* spp. a été principalement utilisé à cause de la fluorescence nécessaire du parasitoïde et la facilité d’entretien de la culture. Pour l’observation 3D tous les couples, utilisés pour estimer les paramètres d’infection dans le chapitre 2, ont été réutilisés. Le comportement de plusieurs genres de parasitoïdes (*Amoebophrya*, *Parvilucifera*) et de plusieurs espèces d’hôtes (*A. minutum*, *S. trochoidea*, *H. triquetra*) a pu ainsi être analysé.

11.4 Modèle de nage :

Les deux méthodes d’observation utilisées permettent d’étudier le comportement de nage mais pas d’estimer le taux de rencontre. Le volume observé, les concentrations et le temps d’observation doivent rester suffisamment petits pour permettre le suivi et le discernement de chaque individu sans trop altérer leur comportement. Ces contraintes limitent la fréquence d’observation de la rencontre entre un hôte et un parasitoïde et empêchent l’estimation précise du taux de rencontre en se basant sur des observations directes. Un modèle simulant la nage des hôtes et des parasitoïdes a donc été développé pour estimer

ce taux de rencontre. Il recrée les nages hélicoïdales de chaque organisme à partir de différents paramètres (direction, vitesse angulaire, taille des hélices, rayon de la trajectoire) et comptabilise de manière théorique le nombre de rencontres entre hôte et parasitoïde qui devrait avoir lieu. Des nages complexes peuvent être simulées avec des changements de comportement basés sur un temps de résidence moyen modifié aléatoirement.

Fonctionnement du modèle.

Les différents comportements, le nombre d'hôtes et de parasitoïdes, le volume simulé et les autres paramètres de la simulation sont fixés à l'initialisation. Chaque particule est placée aléatoirement dans le volume avec les paramètres de nage respectif à sa classe (hôte ou parasitoïde). Après la fin de l'initialisation, à chaque itération de temps il y a mise à jour du temps de résidence des comportements et de la position de chaque particule. Ensuite les rencontres entre hôtes et parasitoïdes sont déterminées en fonction de la position des particules. Si la distance entre un hôte et un parasitoïde est plus petite que la distance de contact (distance maximale entre les centres d'un hôte et d'un parasitoïde lors d'une rencontre ; $15 \mu\text{m}$) alors il y a rencontre. Les trajectoires des particules sont modifiées aux limites du domaine (miroir) pour les contenir dans la zone de simulation. Le comportement natatoire est modifié selon la programmation à chaque fois que le temps de résidence d'une cellule est fini. Lorsque la boucle sur le temps est terminée, les rencontres entre chaque hôte et chaque parasitoïde sont comptabilisées (les rencontres continues avec un même parasitoïde ne sont prises en compte qu'une fois) et le noyau de rencontre calculé. Un diagramme explicatif récapitule les différentes étapes du modèle (Figure 22).

Simulation de la nage hélicoïdale.

Les nages hélicoïdales sont définies par 3 paramètres : la vitesse de l'hélice dans son axe directionnel \vec{d} (v_d ; m.s^{-1}), le rayon de l'hélice (r_r ; m) et la vitesse angulaire de l'hélice (α , rad.s^{-1}). Ainsi dans le repère orthonormé $(\text{O}, \vec{i}, \vec{j}, \vec{d}) \in \mathbb{R}$ une trajectoire hélicoïdale est définie par :

$$\begin{cases} i(t) = \vec{i}r_r \cos(\alpha t) \\ j(t) = \vec{j}r_r \sin(\alpha t) \\ d(t) = \vec{d}v_d t \end{cases} \quad (28)$$

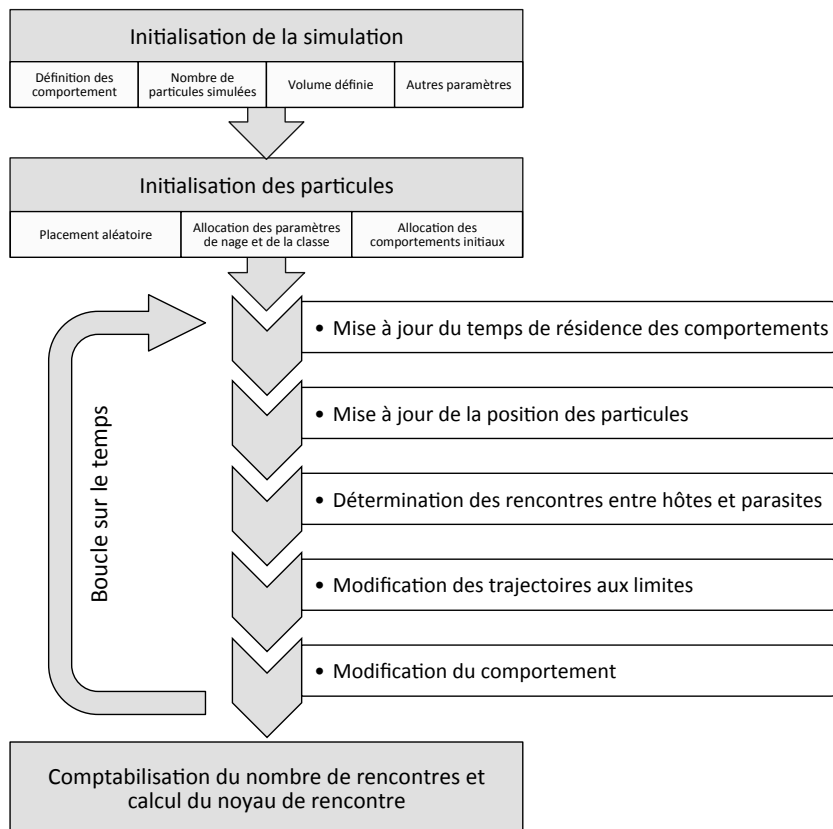


Figure 22 – Diagramme explicatif du modèle de simulation natatoire.

En considérant la matrice de changement de repère C telle que :

$$\begin{pmatrix} \vec{i} \\ \vec{j} \\ \vec{d} \end{pmatrix} = C \begin{pmatrix} \vec{x} \\ \vec{y} \\ \vec{z} \end{pmatrix} \quad (29)$$

avec

$$C = \begin{pmatrix} x_i & y_i & z_i \\ x_j & y_j & z_j \\ x_d & y_d & z_d \end{pmatrix} \quad (30)$$

L'équation paramétrique de l'hélicoïde dans $(O, \vec{x}, \vec{y}, \vec{z})$ est alors :

$$\begin{cases} x(t) = x_d v_d t + r_r (x_i \cos(\alpha t) + x_j \sin(\alpha t)) \\ y(t) = y_d v_d t + r_r (y_i \cos(\alpha t) + y_j \sin(\alpha t)) \\ z(t) = z_d v_d t + r_r (z_i \cos(\alpha t) + z_j \sin(\alpha t)) \end{cases} \quad (31)$$

Comportements de nage.

Due à l'indisponibilité des données des observations avec l'holographie digitale en ligne et à l'impossibilité d'utiliser la méthode 2D pour caractériser les nages (voir Résultats et discussion), des comportements simplifiés basés sur des observations au microscope ont été utilisés. En tout, 4 comportements ont été définis (Tableau 8) et simulés dans un volume de 1cm^3 avec des concentrations en hôtes et en parasitoïdes de $10^4 \text{cellules.ml}^{-1}$. Le comportement 1 est identique à celui utilisé pour calculer le paramètre de rencontre du modèle IBM et sert à comparer les résultats du modèle de nage avec le calcul théorique. Dans les 3 autres comportements l'hôte nage de manière hélicoïdale avec des paramètres définis pour que la vitesse instantanée corresponde avec celle de la nage rectiligne. Seule la nage du parasitoïde est changée parmi ces trois comportements. Pour évaluer l'impact de la nage du parasitoïde sur le taux de rencontre, l'organisme est soit immobile, soit avec une nage hélicoïdale ou soit balistique (alternance nage hélicoïdale, nage immobile). Chacun des comportements est illustré dans la Figure 23.

Tableau 8 – Comportements programmés dans le modèle de nage.

Comportement	Nage hôte	Nage parasitoïde
1	Rectiligne $v_d = 397\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 0\mu\text{m}$, $\alpha = 0.\text{s}^{-1}$	Pas de nage $v_d = 0\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 0\mu\text{m}$, $\alpha = 0.\text{s}^{-1}$
2	Hélicoïdale $v_d = 280\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 15\mu\text{m}$, $\alpha = 6\pi.\text{s}^{-1}$	Pas de nage $v_d = 0\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 0\mu\text{m}$, $\alpha = 0.\text{s}^{-1}$
3	Hélicoïdale $v_d = 280\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 15\mu\text{m}$, $\alpha = 6\pi.\text{s}^{-1}$	Hélicoïdale $v_d = 200\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 3\mu\text{m}$, $\alpha = 17\pi.\text{s}^{-1}$
4	Hélicoïdale $v_d = 280\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 15\mu\text{m}$, $\alpha = 6\pi.\text{s}^{-1}$	Balistique $v_d = 200\mu\text{m.s}^{-1}$, $r_r = 3\mu\text{m}$, $\alpha = 17\pi.\text{s}^{-1}$

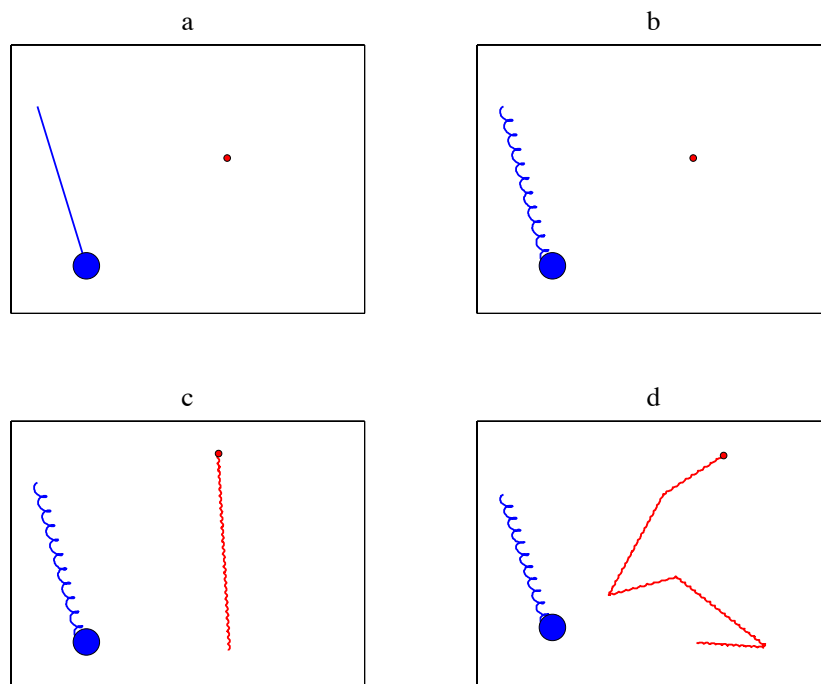


Figure 23 – Illustration des comportements de nage simulés. a) nage rectiligne de l'hôte et immobile du parasitoïde. b) nage hélicoïdale de l'hôte et immobile du parasitoïde. c) nage hélicoïdale de l'hôte et du parasitoïde. d) nage hélicoïdale de l'hôte et balistique du parasitoïde (alternance hélicoïdale/immobile).

12 Résultats et discussion

12.1 Observation des nages

La méthode d'observation 2D a de nombreux avantages tels que la possibilité de discerner des cellules en état avancé d'infection et une utilisation simple. Elle a permis d'obtenir de nombreuses trajectoires comme celles illustrées sur la Figure 24. Les trajectoires utilisables sont cependant apparues très biaisées. Pour pouvoir suivre des cellules suffisamment longtemps (plusieurs secondes), une grande profondeur de champ est nécessaire. Afin d'obtenir cette profondeur, l'iris de l'objectif télécentrique doit donc être fortement réduite et l'intensité du laser augmentée pour palier au manque de lumière en résultant. Toutefois la forte intensité du laser provoque alors une fuite des cellules vers les parties non éclairées de la cuve d'échantillonnage (diminution du nombre de particules présentes à l'écran) ainsi qu'une mortalité des organismes à plus long terme. De plus une convection se met très vite en place dans la cuve d'échantillonnage dès la mise en marche du laser augmentant d'avantage la complexité de l'analyse. Une influence non négligeable du laser a été noté sur le comportement des hôtes et des parasitoïdes. Et augmenter la sensibilité de la caméra diminue fortement la vitesse d'acquisition des images et empêche la résolution correcte des trajectoires de nage. Ainsi aucuns des réglages n'a permis d'empêcher les effets du laser sur les organismes et la cuve sans trop dégrader l'acquisition des trajectoires de nage. Nous avons donc opté pour une méthode d'observation différente ayant déjà été utilisé sur ce type d'organisme.

Contrairement à la méthode d'observation 2D, l'HDL ne permet pas d'identifier les cellules infectées mais en exposant des hôtes à une concentration en parasitoïdes suffisamment importante, il est possible de supposer une infection totale de la population après un certain délai. L'holographie permet par contre d'obtenir toutes les composantes nécessaires à la reconstitution des nages des hôtes et des parasitoïdes en 3 dimensions pour une estimation optimale du taux de rencontre. Plusieurs couples hôte-parasitoïde ont ainsi pu être filmé à des stades d'infection variés (Figure 25). Malheureusement les données ne sont pas disponibles à ce jour, mais une fois traitées, les trajectoires seront analysées pour connaître les différents comportements des organismes ainsi que leur propriétés statistiques. Ces analyses donneront des informations sur les différences de comportement intra et interspécifique et leur possible implication lors de l'interaction hôte-parasitoïde.

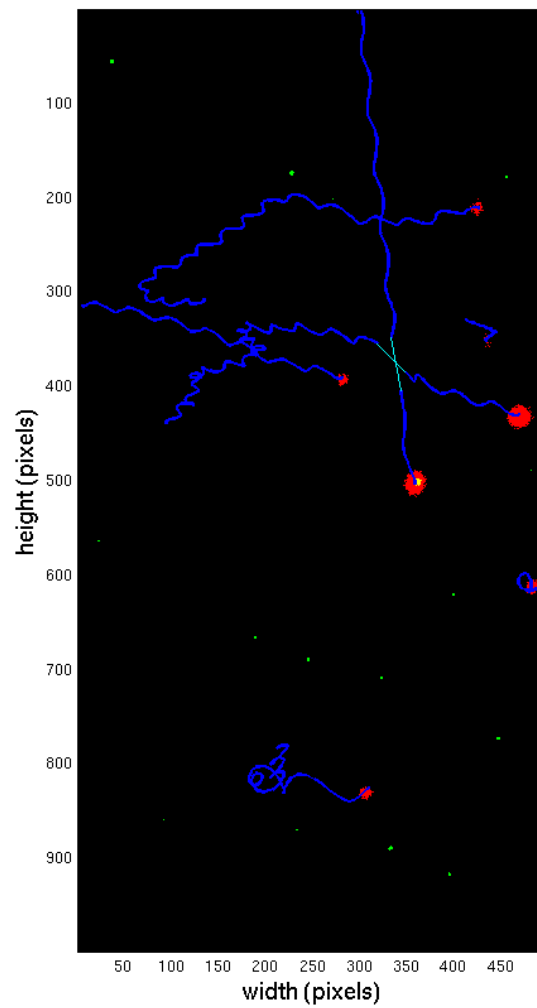


Figure 24 – Représentation 2D des trajectoires de plusieurs cellule de *Scrippsiella trochoidea* (rouge) en présence des dinospores d' *Amoebophrya* spp. (vert). Une de ces cellules de *S. trochoidea* est infectée par *Amoebophrya* spp. à la hauteur 500 et longueur 350.

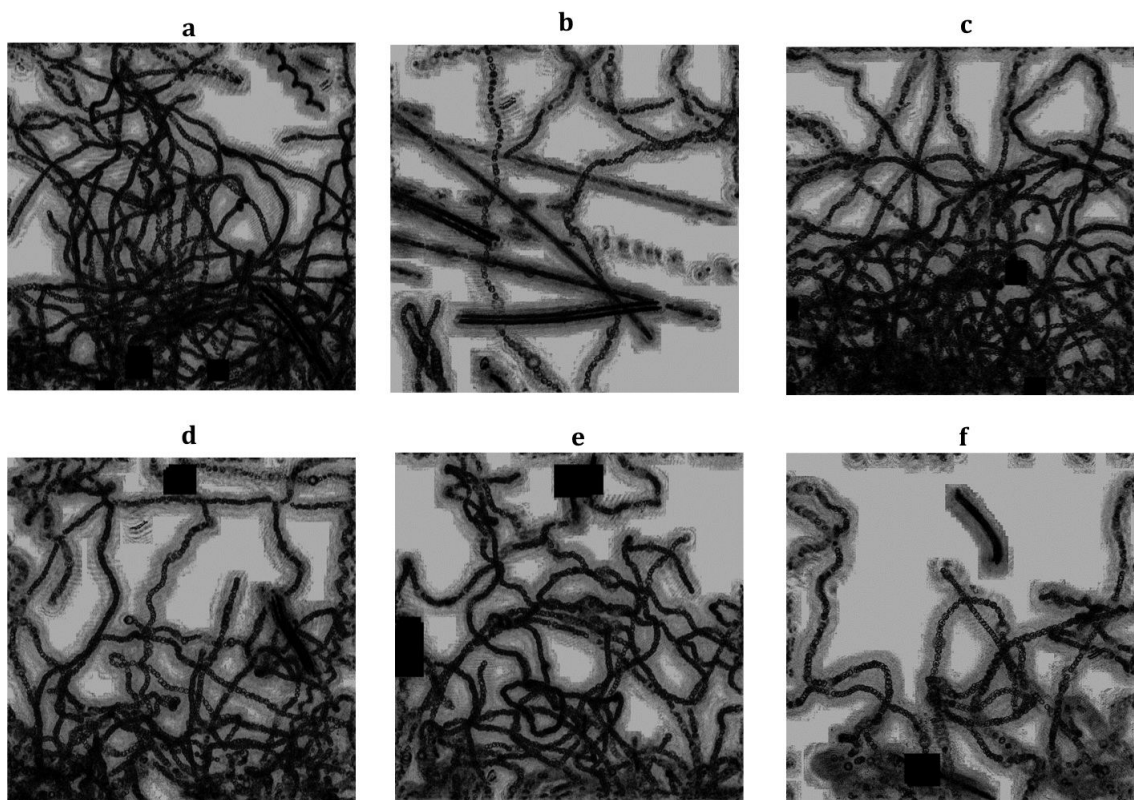


Figure 25 – Trajectoires d'une culture d'*Alexandrium minutum* (AM176) sans parasitoïdes (a), lors de l'introduction des parasitoïdes *Parvilucifera infectans* (P128) (b) puis 15 minutes (c), 30 minutes (d), 45 minutes (e) et 60 minutes (f) après l'inoculum.

Tableau 9 – Valeurs estimées du noyau de rencontre en fonction des différents comportements. L'intervalle de confiance a un degré de confiance de 95%.

Comportement	noyau de rencontre ($\text{cm}^3 \cdot \text{j}^{-1} \cdot \text{hôte}^{-1}$)
1	0.02394 ± 0.00248
2	0.02161 ± 0.00196
3	0.02456 ± 0.00259
4	0.02264 ± 0.00353

12.2 Modèle de nage

Chaque comportement a été simulé 25 fois pendant une durée de 5 minutes dans un volume de 9 mm^3 . Les concentrations en hôtes et parasitoïdes ont été fixées à $10^4 \text{ cellules} \cdot \text{ml}^{-1}$. Les valeurs moyennes obtenues du noyau de rencontre avec un intervalle de confiance à 95% pour chaque comportement sont indiquées dans le Tableau 9.

Le calcul théorique du noyau de rencontre (Arancio et al., 2014) avec les paramètres du comportement 1 a pour valeur $0.02425 \text{ cm}^3 \cdot \text{j}^{-1} \cdot \text{hôte}^{-1}$. Les trois types de simulation dans lesquels seul la nage du parasitoïde change (comportements 2, 3, 4) ont des moyennes significativement différentes. C'est également le cas entre les simulations 1 et 2 ou seul le comportement de l'hôte change. La comparaison des valeurs des simulations du comportement 1 avec le résultat du calcul théorique (1.3% de différence) indique que le modèle simule correctement les nages programmées. Les valeurs moyennes montrent aussi qu'une nage hélicoïdale de l'hôte diminue le noyau de rencontre alors que les vitesses instantanées des deux trajectoires sont identiques. Avec les paramètres utilisés, la moyenne du noyau diminue de 9.7%. Au contraire, la nage du parasitoïde augmente le nombre de rencontres et influence positivement le noyau de rencontre. La valeur du paramètre augmente ainsi de 12%, passant de 0.02161 à $0.02456 \text{ cm}^3 \cdot \text{j}^{-1} \cdot \text{hôte}^{-1}$ lorsque les parasitoïdes nagent constamment.

Ces résultats montrent bien que le comportement des hôtes et des parasitoïdes peut avoir une influence non négligeable sur le noyau de rencontre (β) et donc sur les succès d'infection observés. Sa modification n'entraîne cependant pas de modification directe de la dynamique simulée par le modèle IBM lorsqu'il est constant durant toute la simulation car il est utilisé pour calculer le succès d'infection χ . Les modifications effectuées sur β se répercutent alors sur χ et puisqu'ils sont utilisés de manière conjointe dans l'équation

Eq 5, aucune différence n'apparaît dans la dynamique. Il change cependant la manière d'interpréter les valeurs de ces deux paramètres. En effet χ représente la probabilité d'infection des parasitoïdes lors d'une rencontre avec leur hôte et intègre de manière implicite, la différence d'infectivité due au comportement. C'est l'égalité du paramètre β , entre chaque couple avec un hôte identique, lors du calcul de χ qui entraîne cette relation. Il représente alors le succès d'infection lors d'un contact plus, les avantages liés au comportement. Une estimation fiable du noyau de rencontre permettrait de séparer les avantages sur l'infection liés à la capacité d'infection après contact au travers du paramètre χ et ceux liés au comportement au travers du noyau de rencontre β . Ces informations pourraient permettre le discernement de différentes stratégies d'infection là où précédemment il n'y avait aucunes différences en mettant en avant l'efficacité de la nage du parasitoïde (meilleur β) ou sa meilleure adaptation à la biologie de l'hôte (meilleur χ).

Cette étude reste un travail préliminaire mais nous informe sur les possibles modifications qu'un comportement réaliste peut apporter au noyau de rencontre et aux résultats des chapitres précédents. Avec les paramètres de nage utilisés, les modifications apportées par la nage de l'hôte ont été équilibrées par la nage des parasitoïdes. Il serait intéressant de savoir si d'autres paramètres réalistes pourraient modifier ce paramètre plus fortement. De plus les comportements utilisés dans les simulations de nage sont relativement simples avec seulement deux états possibles pour les plus complexes. L'analyse des observations 3D pourrait mettre en évidence des comportements très variés qui pourraient entraîner des différences intra et interspécifique de ce paramètre de rencontre.

Discussion générale, conclusions et perspectives

Pendant plusieurs années, l'espèce de dinoflagellé toxique *Alexandrium minutum* s'est fortement développée ($> 110^6$ cells.l⁻¹) en Penzé provoquant des événements toxiques ayant des répercussions économiques sur l'aquaculture locale. A partir de 2004, les efflorescences, jusque là prédites grâce à des facteurs abiotiques (lumière et température), n'ont plus dépassé le seuil de toxicité. Des observations postérieures à 2006 ont également révélé la prolifération de pathogènes lors des déclin des populations. Ils participent au contrôle de la population de l'algue toxique ainsi que celle de plusieurs autres dinoflagellés en Penzé. L'objectif initial de cette thèse qui se déroule dans le cadre du projet ANR PARALEX a été de démontrer et d'estimer l'intensité de ce contrôle. Etant donné la diversité des organismes impliqués, la complexité du milieu et la difficulté à l'observer (distinction des souches de parasitoïde difficile sans méthode moléculaire), une modélisation prédictive à l'aide d'observation *in situ* et *in vitro* a été privilégiée. Un modèle basé sur l'individu a été choisi pour éviter certains problèmes liés aux schémas des modèles classiques (ex. diffusion numérique accélérant la production de parasites) et pour avoir la possibilité d'introduire une composante comportementale aux hôtes. Comme attendu le modèle a démontré, avec les paramètres trouvés dans la littérature, la grande capacité des parasites à réguler la population hôte grâce à leur forte infectivité. Cette capacité a été démontrée à de multiples reprises dans des études antérieures (Coats and Bockstahler, 1994, Montagnes et al., 2008, Mazzillo et al., 2011). Cependant cette grande infectivité nous a amené à nous poser une question : Comment ces pathogènes peuvent ils coexister avec leur hôte s'ils sont tellement infectieux ? En effet, en exterminant la population de leur hôte, les parasites, très spécialisés, se retrouvent sans ressource pour subsister. De plus, plusieurs genres de parasitoïdes avec des stratégies d'infection différentes peuvent être présent dans le même milieu et partager des hôtes (Chambouvet et al., 2008, Lepelletier

et al., 2014b). Cette diversité en parasites va même plus loin puisque d'autres pathogènes comme les virus et les bactéries algicides participent également à ce contrôle. Cette diversité en pathogènes et en hôtes implique qu'une dynamique d'infection complexe a lieu dans cet environnement ciblé par notre étude mais également dans d'autres écosystèmes aquatiques. Le degré d'implication des virus et des bactéries dans cette dynamique reste cependant méconnu à cause des difficultés pour observer et cultiver ces organismes. La dynamique d'infection impliquant seulement les parasitoïdes a alors été analysée dans différents scénarios simulés, en se basant sur plusieurs expériences en laboratoire (notamment pour paramétrer le modèle), pour comprendre certaines des interactions de ce système.

L'une de ces interactions est la capacité des parasitoïdes du genre *Amoebophrya* à infecter et entrer en dormance avec l'hôte lorsque celui-ci s'enkyste (Chambouvet et al., 2011). Ce processus d'enkystement est normalement utilisé par les dinoflagellés pour se protéger contre les conditions environnementales stressantes et pour recoloniser un milieu (Anderson, 1998). Les parasitoïdes utilisent alors cette forme pour survivre en l'absence d'hôte et recoloniser le milieu en même temps que celui-ci. Le modèle IBM a donc permis de démontrer que les processus d'enkystement et de déenkystement étaient à l'origine de la persistance interannuelle du système dinoflagellé-*Amoebophrya* spp. Ce résultat important de point de vue écologique offre également des possibilités supplémentaires pour modéliser des systèmes complexes et concevoir des modèles dynamiques théoriques.

Le suivi réalisé en Penzé et en Rance (travail réalisé par les partenaires du projet) a permis l'isolement de nombreuses cultures d'hôtes et de parasitoïdes interagissant dans des milieux similaires. Ces observations ont également permis de générer de nombreuses séries temporelles sur l'évolution des abondances de chaque espèce hôte et des abondances globales des parasitoïdes (*Amoebophrya* spp. et *Parvilucifera* spp.) pendant la période de développement des hôtes (mai-juillet) pouvant servir de référence pour valider les simulations. Même si notre étude était focalisée sur l'algue toxique *A. minutum*, les parasites spécialistes de cette espèce ont été seulement observés et n'ont pas pu être maintenues en culture. D'autres couples ont donc été utilisés comme substitues. Les nombreuses cultures disponibles ont permis l'estimation expérimentale de la variabilité des paramètres d'infections de plusieurs parasitoïdes avec différents degrés de spécificité. Aucune véritable différence n'a été observée au niveau des paramètres d'infection entre les parasitoïdes spécialistes et les parasitoïdes généralistes suggérant l'absence de trade-off quelconque. L'absence de ce trade-off est un peu contradictoire avec les hypothèses générales suggé-

rant que les parasitoïdes spécialistes ont une infectivité plus élevée que les généralistes ou une production moindre. Cette observation est probablement biaisée par la représentativité des couples testés. En effets, seule les souches « efficaces » (forte infectivité, faible résistance de l'hôte) ont pu être maintenues en culture. Pour cette raison aucun trade-off n'a non plus été trouvé entre le taux de croissance des hôtes et leur résistance à l'infection ce qui va à l'encontre des hypothèses de la littérature (Fellowes et al., 1998).

Ces paramètres d'infection ont été ensuite utilisés pour montrer que la spécificité des parasites pouvait modifier de façon notable la dynamique d'infection d'une population de dinoflagellés. Ainsi, lors des simulations du modèle, les parasitoïdes spécialistes ont favorisé les successions et le développement successif de tous les phénotypes hôtes présents, alors que les parasitoïdes généralistes ont favorisé les phénotypes avec une fitness élevée au travers d'une compétition exclusive et apparente des hôtes. Les paramètres d'infection étant très proches, les parasites généralistes ont été responsables du plus grand nombre d'infections lorsque les deux types de parasites étaient présents dans la même simulation. Le nombre de parasitoïde spécialiste ne semble cependant pas diminuer dans le milieu et suggère qu'un processus permet aux parasitoïdes spécialistes de compenser cette compétition. Le signal permettant la germination des sporanges de *Parvilucifera* spp. (Garcés et al., 2013) pourrait, par exemple, retarder l'arrivée de celui-ci par rapport à *Amoebophrya* spp. et lui permettre d'infecter suffisamment la population de son hôte pour persister. En effet une population suffisante d'hôte devrait être nécessaire pour que le signal chimique soit assez fort alors que la germination des kystes infectés par *Amoebophrya* spp. se fait en même temps que celle des kystes sains. Les observations effectuées pendant le suivi ont aussi montré que la spécificité d'une communauté de parasitoïde pouvait fortement évoluer à l'échelle saisonnier et interannuelle. La dynamique d'infection d'une population de dinoflagellés a donc de fortes chances d'évoluer en même temps qu'une communauté de parasitoïdes si elle est fortement contrôlée par cette dernière.

Lors des observations en Penzé, un travail remarquable a été effectué pour suivre l'évolution de la population de plusieurs dizaines d'espèces de dinoflagellés, durant leur période de prolifération, ainsi que celle de leur parasitoïdes associés. Ces observations ont montré qu'une des espèces de dinoflagellé présente dans l'estuaire était génétiquement très hétérogènes (Dia et al., 2014) avec des phénotypes variées (Dia, 2014). Le contrôle exercé par les parasitoïdes spécialistes sur cet hôte ne devrait pas être appliqué à toute l'espèce mais seulement sur la partie des phénotypes susceptibles à l'infection. L'hétérogénéité d'une espèce peut donc être à l'origine de la prévalences plus faibles ob-

servée *in situ* (Chambouvet et al., 2008, Coats and Bockstahler, 1994, Fritz and Nass, 1992, Velo-Suarez et al., 2013) plutôt qu'en laboratoire sur des cultures monoclonales ou constituées seulement de quelques souches et fortement infectées. Cette diversité phénotypique intraspécifique laisse supposée qu'une grande variété de parasitoïdes peut réguler une espèce à l'image de la succession de phénotypes simulée. D'autres pathogènes (virus et bactéries) présents dans l'écosystème peuvent aussi participer à cette régulation cependant leur implication n'a pas pu être estimée lors du suivi. Ainsi seuls les phénotypes les plus abondants ou partageant des parasitoïdes (compétition apparente) seraient exposés à l'infection provoquant un turnover important des phénotypes dominants de l'espèce. Elle laisse aussi supposer qu'une partie de la population de l'espèce pourrait éventuellement résister à l'infection d'un parasitoïde généraliste (Lepelletier et al., 2014b). Toutes ces interactions ensemble peuvent causer, une alternance entre des successions, et des extinctions de plusieurs phénotypes sans extinction de l'espèce. Si l'on tient compte du processus de désenkystement qui réintroduit de nouveaux hôtes dans le milieu, la pression de sélection d'un parasitoïde, en particulier, ne devrait pas être visible entre le moment où il exerce cette pression et la fin de l'efflorescence.

Cette capacité des parasitoïdes à réguler la population des dinoflagellés a été démontré plusieurs fois (Coats and Park, 2002, Montagnes et al., 2008) cependant les brouteurs participent forcément à ce contrôle. Ils sont toujours présents dans le milieu estuarien et interviennent dans le transfert de matière vers les niveaux trophiques supérieurs. La cinétique de la population des brouteurs potentiels de dinoflagellés n'a pas été suivie en Penzé, et il est donc impossible d'estimer à quel point ils interviennent dans ce contrôle. Néanmoins la concentration de la population d'*A. minutum* nous indique, que lorsque le contrôle par les parasitoïdes n'est pas efficace, les abondances de cet hôte peuvent atteindre des valeurs importantes (Montagnes et al., 2008). La variabilité interannuelle des abondances des hôtes entre les années où les parasitoïdes sont présents et absents du milieu ne devrait pas être aussi importante si le contrôle par les brouteurs était important. Ce contrôle a forcément lieu, mais il est possible qu'un déphasage important entre la croissance de la population des dinoflagellés et celle de leurs brouteurs selon l'état de l'écosystème, provoque une régulation tardive des dinoflagellés au cours de la dynamique.

13 Amélioration potentielle de la simulation des dynamiques d'infection :

Au début de l'étude, le modèle IBM simulait le mouvement vertical des particules provoqué par le mélange et le comportement et nécessitait une simulation individuelle des hôtes. Mais la faible profondeur et l'intensité du mélange de la Penzé nous ont incité à considérer le milieu comme homogène et à passer en 0D. A ce jour, le nombre d'individus simulés dans le modèle ne dépasse pas 10-20 000 individus à cause de problèmes de mémoire et de temps de calcul très fréquents dans ce type de modélisation (Railsback and Grimm, 2011). Le volume simulé est donc limité pour ne pas dépasser ce seuil. Ces limites sont le principal problème de notre modèle et provoquent une mauvaise représentativité des événements rares (l'infection lors de faible abondance dans notre cas). Dans le cas d'une utilisation du modèle en 0D, où la distribution verticale des particules n'importe pas, le passage d'une simulation basée sur l'individu à une simulation basée sur l'agent (c.à.d. un groupe d'individus ayant les mêmes caractéristiques et partageant le même historique représentés par une seule particule) peut permettre facilement l'augmentation du volume simulé. Sans la simulation de plusieurs comportements et/ou espèces pour les hôtes il est même possible de limiter à 1 le nombre d'agent simulant les hôtes sains. Cependant, le nombre minimum de particules à simuler, déterminé par le pas de temps et le temps de maturation du parasite, sera multiplié par le nombre de phénotypes hôtes et de souches de parasites simulés. Un modèle basé sur l'agent pourrait donc ne pas être adapté à la simulation d'une communauté variée de dinoflagellés. Dans le cas d'une simulation 1D verticale, il est également possible de passer à la simulation basée sur l'agent pour augmenter de volume mais le nombre de particules simulées doit rester suffisamment élevé pour représenter correctement la distribution de la population dans la colonne d'eau. Un tel modèle permettrait de simuler un volume de 100 à 1000 fois supérieur à celui actuellement simulé et une meilleure représentation des événements aillant lieu à de faibles concentrations.

Le grand nombre de cellules peut toutefois engendrer des problèmes au travers de la détermination stochastique de chaque infection en engendrant un nombre important de tirages à chaque pas de temps. Le modèle de rencontre peut donc être rendu plus déterministe en calculant directement le nombre d'hôte infecté par pas de temps. Ce calcul se fait simplement en multipliant le taux d'infection I (cf. Chapitre 1) par le nombre total

d'hôtes. Si le nombre d'hôtes est élevé la partie entière du résultat est le nombre d'hôtes infectés sans tirage. Cependant la partie décimale peut être importante dans le cas d'un faible nombre d'infection et peut alors servir à faire un tirage aléatoire pour l'infection d'une cellule. Dans le cas d'un nombre d'hôtes faible, le tirage aléatoire ne prendra pas beaucoup de ressource et peut être fait normalement pour chaque cellule. Il faut toutefois définir un seuil pour déterminer dans quel cas on considère le nombre d'hôtes faible ou pas.

14 Perspectives

Dans cette étude nous avons eu l'occasion de tester différentes hypothèses sur la dynamique d'infection du système dinoflagellés-parasitoïdes cependant, certains processus n'ont pas été explorés. La reproduction sexuée, par exemple, n'est pas prise en compte dans le modèle et devrait aussi être impliquée dans la pression de sélection du parasite d'une année à l'autre. Elle a généralement lieu à la fin des efflorescences (Wang et al., 2007) mais une étude récente suggère la possibilité d'une reproduction continue tout au long de la période de développement sans enkystement (Dia, 2014). En fonction de l'intensité et du moment pendant lequel cette reproduction a lieu, la pression de sélection du parasite et son impact sur la dynamique devraient changer. En effet, si la reproduction n'a lieu qu'à la fin de l'efflorescence, il est possible que seule la pression de sélection effectuée à la fin de celle-ci soit importante pour l'année suivante. Au contraire si la reproduction a lieu tout au long de l'efflorescence, la pression effectuée sur toute la durée de développement pourrait avoir de l'importance, non pas par la production de kyste mais au travers d'une recombinaison du génome des populations hôtes. De plus cette reproduction constante pourrait participer à la diversité phénotypique de la population. Ce processus et le moment où il a lieu sont donc importants pour comprendre l'évolution de ce système et mieux estimer la capacité de contrôle des parasitoïdes. Il pourrait être étudié à l'aide de notre modèle sur la base de résultats expérimentaux.

D'après Kassen (2002) les pathogènes spécialistes sont généralement établis dans un environnement stable (ou « peu hétérogène »). La présence de parasitoïdes extrêmement spécialistes apparaît donc comme un paradoxe dans un milieu où la communauté d'hôte peut changer en seulement quelques semaines voir quelques jours. Nous avons vu que c'est par le biais des kystes que le genre *Amoebophrya* coexistait avec son hôte cependant

les mécanismes qui régissent son éventail d'hôtes sont encore méconnus et potentiellement nombreux : la reconnaissance protéique lors de la rencontre, détection dans la colonne d'eau et capacité à maintenir la machinerie cellulaire de l'hôte après la destruction de son noyau sont autant de possibilités à explorer avec une approche expérimentale.

Bibliographie

- Anderson, D. M. (1980). Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (dinophyceae) hypnozygotes. *Journal of Phycology*, 16(2) :166–172.
- Anderson, D. M. (1998). Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions. *Nato Asi Series G Ecological Sciences*, 41 :29–48.
- Anderson, D. M. (2005). *The ecology and oceanography of harmful algal blooms : multidisciplinary approaches to research and management*. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.
- Anderson, D. M., Coats, D. W., and Tyler, M. (1985). Encystment of the dinoflagellate *Gyrodinium aureolum* : temperature and nutrient effects. *Journal of Phycology*, 21(2) :200–206.
- Arancio, M., Sourisseau, M., and Souissi, S. (2014). Processes leading to the coexistence of a host and its parasitoid in homogeneous environments : The role of an infected dormant stage. *Ecological Modelling*, 279(0) :78–88.
- Auger, P., Poggiale, J.-C., and Charles, S. (2000). Emergence of individual behaviour at the population level. effects of density-dependent migration on population dynamics. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*, 323(1) :119–127.
- Beddington, J. R., Free, C. A., and Lawton, J. H. (1975). Dynamic complexity in predator-prey models framed in difference equations. *Nature*, 255(5503) :58–60.
- Beddington, J. R. and Hammond, P. S. (1977). On the dynamics of host-parasite-hyperparasite interactions. *Journal of Animal Ecology*, 46(3) :811–821.

- Begon, M., Townsend, C. R., and Harper, J. L. (2009). Ecology : from individuals to ecosystems. *John Wiley & Sons*.
- Bravo, I. and Figueroa, R. I. (2014). Towards an ecological understanding of dinoflagellate cyst functions. *Microorganisms*, 2(1) :11–32.
- Bravo, I., Figueroa, R. I., Garcés, E., Fraga, S., and Massanet, A. (2010). The intricacies of dinoflagellate pellicle cysts : The example of alexandrium minutum cysts from a bloom-recurrent area (bay of baiona, nw spain). *Deep Sea Research Part II : Topical Studies in Oceanography*, 57(3-4) :166–174. Phytoplankton Life-Cycles and Their Impacts on the Ecology of Harmful Algal Bloom.
- Briggs, C. J. and Hoopes, M. F. (2004). Stabilizing effects in spatial parasitoid-host and predator-prey models : a review. *Theoretical Population Biology*, 65(3) :299–315.
- Brussaard, C. P. D. (2004). Viral control of phytoplankton populations a review. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2) :125–138.
- Burkholder, J. M., Azanza, R. V., and Sako, Y. (2006). The ecology of harmful dinoflagellates. In Granéli, E., Turner, J. T., Caldwell, M. M., Heldmaier, G., Jackson, R. B., Lange, O. L., Mooney, H. A., Schulze, E.-D., and Sommer, U., editors, *Ecology of Harmful Algae*, volume 189 of *Ecological Studies*, pages 53–66. Springer Berlin Heidelberg.
- Cachon, J. (1964). Contribution à l'étude des péridiniens parasites. cytologie, cycles évolutifs. *Ann Sci Nat Zool*, 6 :1–158.
- Cachon, J. and Cachon, M. (1987). Parasitic dinoflagellates. In (ed), I. T. F., editor, *The Biology of Dinoflagellates*, volume 21, pages 571–611. Blackwell Sci. Publ, Oxford.
- Chambouvet, A., de Souza, C. A., Cueff, V., Marie, D., Karpov, S., and Guillou, L. (2011). Interplay between the parasite amoebophrya sp. (alveolata) and the cyst formation of the red tide dinoflagellate scrippsiella trochoidea. *Protist*, 162(4) :637–649.
- Chambouvet, A., Morin, P., Marie, D., and Guillou, L. (2008). Control of toxic marine dinoflagellate blooms by serial parasitic killers. *Science*, 322(5905) :1254–1257.
- Coats, D., Adam, E., Gallegos, C., and Hedrick, S. (1996). Parasitism of photosynthetic dinoflagellates in a shallow subestuary of chesapeake bay, usa. *Aquatic Microbial Ecology*, 11(1) :1–9.

- Coats, D. W. and Bockstahler, K. R. (1994). Occurrence of the parasitic dinoflagellate amoebophrya ceratii in chesapeake bay populations of gymnodinium sanguineum. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 41(6) :586–593.
- Coats, D. W. and Park, M. G. (2002). Parasitism of photosynthetic dinoflagellates by three strains of amoebophrya (dinophyta) : Parasite survival, infectivity, generation time, and host specificity. *Journal of Phycology*, 38(3) :520–528.
- Cosgrove, S., Rathaille, A. N., and Raine, R. (2014). The influence of bloom intensity on the encystment rate and persistence of alexandrium minutum in cork harbor, ireland. *Harmful Algae*, 31(0) :114–124.
- Dia, A. (2014). *Étude du cycle de reproduction et de la diversité génétique spatio-temporelle chez le dinoflagellé toxique Alexandrium minutum*. PhD thesis, Université Pierre Et Marie Curie.
- Dia, A., Guillou, L., Mauger, S., Bigeard, E., Marie, D., Valero, M., and Destombe, C. (2014). Spatiotemporal changes in the genetic diversity of harmful algal blooms caused by the toxic dinoflagellate alexandrium minutum. *Molecular Ecology*, 23(3) :549–560.
- Doebeli, M. and Ruxton, G. D. (1997). Evolution of dispersal rates in metapopulation models : branching and cyclic dynamics in phenotype space. *Evolution*, 51(6) :1730–1741.
- Evitt, W. R. (1985). Sporopollenin dinoflagellate cysts : Their morphology and interpretation. *Amer. Ass. Strat. Palynol. Found*, page 333.
- Fellowes, M. D. E., Kraaijeveld, A. R., and Godfray, H. C. J. (1998). Trade-off associated with selection for increased ability to resist parasitoid attack in drosophila melanogaster. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 265(1405) :1553–1558.
- Figueroa, R. I., Bravo, I., and Garcés, E. (2006). Multiple routes of sexuality in alexandrium taylori (dinophyceae) in culture. *Journal of phycology*, 42(5) :1028–1039.
- Figueroa, R. I., Garcés, E., Massana, R., and Camp, J. (2008). Description, host-specificity, and strain selectivity of the dinoflagellate parasite parvilucifera sinerae sp. nov.(perkinsozoa). *Protist*, 159(4) :563–578.

- Figuerola, R. I., Garcés, E., and Camp, J. (2010). Reproductive plasticity and local adaptation in the host-parasite system formed by the toxic alexandrium minutum and the dinoflagellate parasite parvilucifera sinerae. *Harmful Algae*, 10(1) :56–63.
- Flatt, T. and Scheuring, I. (2004). Stabilizing factors interact in promoting host–parasite coexistence. *Journal of theoretical biology*, 228(2) :241–249.
- Fritz, L. and Nass, M. (1992). Development of the endoparasitic dinoflagellate amoebophrya ceratii within host dinoflagellate species. *Journal of Phycology*, 28(3) :312–320.
- Gachon, C. M., Sime-Ngando, T., Strittmatter, M., Chambouvet, A., and Kim, G. H. (2010). Algal diseases : spotlight on a black box. *Trends in Plant Science*, 15(11) :633–640.
- Gandon, S. and Michalakis, Y. (2002). Local adaptation, evolutionary potential and host-parasite coevolution : interactions between migration, mutation, population size and generation time. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(3) :451–462.
- Garcés, E., Alacid, E., Rene, A., Petrou, K., and Simo, R. (2013). Host-released dimethylsulphide activates the dinoflagellate parasitoid parvilucifera sinerae. *ISME J*, 7(5) :1065–1068.
- Garcés, E., Bravo, I., Vila, M., Figuerola, R. I., Masó, M., and Sampedro, N. (2004). Relationship between vegetative cells and cyst production during alexandrium minutum bloom in arenys de mar harbour (nw mediterranean). *Journal of Plankton Research*, 26(6) :637–645.
- Garcés, E., Delgado, M., Masó, M., and Camp, J. (1998). Life history and in situ growth rates of alexandrium taylori (dinophyceae, pyrrophyta). *Journal of phycology*, 34(5) :880–887.
- Getz, W. M. and Mills, N. J. (1996). Host-parasitoid coexistence and egg-limited encounter rates. *The American Naturalist*, 148(2) :333–347.
- Granéli, E. (1987). Nutrient limitation of phytoplankton biomass in a brackish water bay highly influenced by river discharge. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 25(5) :555–565.

- Grimm, V., Berger, U., Bastiansen, F., Eliassen, S., Ginot, V., Giske, J., Goss-Custard, J., Grand, T., Heinz, S. K., Huse, G., Huth, A., Jepsen, J. U., Jørgensen, C., Mooij, W. M., Müller, B., Pe'er, G., Piou, C., Railsback, S. F., Robbins, A. M., Robbins, M. M., Rossmanith, E., Rüger, N., Strand, E., Souissi, S., Stillman, R. A., Vabø, R., Visser, U., and DeAngelis, D. L. (2006). A standard protocol for describing individual-based and agent-based models. *Ecological Modelling*, 198(1-2) :115–126.
- Grimm, V., Berger, U., DeAngelis, D. L., Polhill, J. G., Giske, J., and Railsback, S. F. (2010). The odd protocol : A review and first update. *Ecological Modelling*, 221(23) :2760–2768.
- Guillou, L., Viprey, M., Chambouvet, A., Welsh, R. M., Kirkham, A. R., Massana, R., Scanlan, D. J., and Worden, A. Z. (2008). Widespread occurrence and genetic diversity of marine parasitoids belonging to syndiniales (alveolata). *Environmental Microbiology*, 10(12) :3349–3365.
- Gómez, F. (2005). A list of free-living dinoflagellate species in the world's oceans. *Acta Botanica Croatica*, 64(1) :129–212.
- Hallegraeff, G. M. (1993). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, 32(2) :79–99.
- Hassell, M. and May, R. (1974). Aggregation of predators and insect parasites and its effect on stability. *The Journal of Animal Ecology*, 43(2) :567–594.
- Hassell, M. P. (2000). Host-parasitoid population dynamics. *Journal of Animal Ecology*, 69(4) :543–566.
- Hassell, M. P., Comins, H. N., and May, R. M. (1991a). Spatial structure and chaos in insect population dynamics. *Nature*, 353(6341) :255–258.
- Hassell, M. P. and May, R. M. (1973). Stability in insect host-parasite models. *The Journal of Animal Ecology*, 42(3) :693–726.
- Hassell, M. P. and May, R. M. (1988). Spatial heterogeneity and the dynamics of parasitoid-host systems. *Ann. zool. fenn.*, 25 :55–61.
- Hassell, M. P., May, R. M., Pacala, S. W., and Chesson, P. L. (1991b). The persistence of host-parasitoid associations in patchy environments. i. a general criterion. *The American Naturalist*, 138(3) :568–583.

- Havskum, H., Hansen, P. J., and Berdalet, E. (2005). Effect of turbulence on sedimentation and net population growth of the dinoflagellate *ceratium tripos* and interactions with its predator, *fragilidium subglobosum*. *Limnology and Oceanography*, 50(5) :1543–1551.
- Hechinger, R. F. and Lafferty, K. D. (2005). Host diversity begets parasite diversity : bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 272(1567) :1059–1066.
- Hellweger, F. L. and Kianirad, E. (2007). Individual-based modeling of phytoplankton : Evaluating approaches for applying the cell quota model. *Journal of Theoretical Biology*, 249(3) :554–565.
- Hochberg, M. and Holt, R. (1995). Refuge evolution and the population dynamics of coupled host-parasitoid associations. *Evolutionary Ecology*, 9 :633–661.
- Hogarth, W. L. and Diamond, P. (1984). Interspecific competition in larvae between entomophagous parasitoids. *The American Naturalist*, 124(4) :552–560.
- Holt, R. D. and Lawton, J. H. (1993). Apparent competition and enemy-free space in insect host-parasitoid communities. *American Naturalist*, 142(4) :623–645.
- Ishikawa, A. and Taniguchi, A. (1996). Contribution of benthic cysts to the population dynamics of *scrippsiella* spp. (dinophyceae) in onagawa bay, northeast japan. *Marine ecology progress series*, 140 :169–178.
- Ishikawa, A. and Taniguchi, A. (1997). In situ germination patterns of cysts, and bloom formation of some armored dinoflagellates in onagawa bay, north-east japan. *Journal of Plankton Research*, 19(11) :1783–1791.
- Janson, S., Gisselson, L.-A., Salomon, P. S., and Granéli, E. (2000). Evidence for multiple species within the endoparasitic dinoflagellate *amoebophrya ceratii* as based on 18s rRNA gene-sequence analysis. *Parasitology Research*, 86 :929–933.
- Johansson, M. and Coats, W. D. (2002). Ciliate grazing on the parasite *amoebophrya* sp. decreases infection of the red-tide dinoflagellate *akashiwo sanguinea*. *Aquatic Microbial Ecology*, 28(1) :69–78.
- Jouon, A., Douillet, P., Ouillon, S., and Fraunié, P. (2006). Calculations of hydrodynamic time parameters in a semi-opened coastal zone using a 3d hydrodynamic model. *Continental Shelf Research*, 26(12-13) :1395–1415.

- Kamykowski, D., Milligan, E., and Reed, R. (1998). Relationships between geotaxis/phototaxis and diel vertical migration in autotrophic dinoflagellates. *Journal of Plankton Research*, 20(9) :1781–1796.
- Kassen, R. (2002). The experimental evolution of specialists, generalists, and the maintenance of diversity. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(2) :173–190.
- Kim, S. (2006). Patterns in host range for two strains of amoebophrya (dinophyta) infecting thecate dinoflagellates : Amoebophrya spp. ex alexandrium affine and ex gonyaulax polygramma. *Journal of Phycology*, 42(6) :1170–1173.
- Kim, S., Park, M. G., Kim, K.-Y., Kim, C.-H., Yih, W., Park, J. S., and Coats, D. W. (2008). Genetic diversity of parasitic dinoflagellates in the genus amoebophrya and its relationship to parasite biology and biogeography. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 55(1) :1–8.
- Kjørboe, T. and Saiz, E. (1995). Planktivorous feeding in calm and turbulent environments, with emphasis on copepods. *Marine Ecology Progress Series*, 122 :135–145.
- Kraaijeveld, A. R. and Godfray, H. C. J. (1997). Trade-off between parasitoid resistance and larval competitive ability in drosophila melanogaster. *Nature*, 389(6648) :278–280.
- Kreft, J.-U., Booth, G., and Wimpenny, J. W. T. (1998). Bacsim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth. *Microbiology*, 144(12) :3275–3287.
- Labry, C., Erard-Le Denn, E., Chapelle, A., Fauchot, J., Youenou, A., Crassous, M.-P., Le Grand, J., and Lorgeoux, B. (2008). Competition for phosphorus between two dinoflagellates : A toxic alexandrium minutum and a non-toxic heterocapsa triquetra. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 358(2) :124–135.
- Lepelletier, F., Karpov, S. A., Alacid, E., Panse, S. L., Bigeard, E., Garcés, E., Jeanthon, C., and Guillou, L. (2014a). Dinomyces arenysensis gen. et sp. nov. (rhizophydiales, dinomycetaceae fam. nov.), a chytrid infecting marine dinoflagellates. *Protist*, 165(2) :230–244.
- Lepelletier, F., Karpov, S. A., Le Panse, S., Bigeard, E., Skovgaard, A., Jeanthon, C., and Guillou, L. (2014b). Parvilucifera rostrata sp. nov.(perkinsozoa), a novel parasitoid that infects planktonic dinoflagellates. *Protist*, 165(1) :31–49.

- Lewis, N. I., Xu, W., Jericho, S. K., Kreuzer, H. J., Jericho, M. H., and Cembella, A. D. (2006). Swimming speed of three species of alexandrium (dinophyceae) as determined by digital in-line holography. *Phycologia*, 45(1) :61–70.
- MacKenzie, B. R. and Kiorboe, T. (1995). Encounter rates and swimming behavior of pause-travel and cruise larval fish predators in calm and turbulent laboratory environments. *Limnology and Oceanography*, 40(7) :1278–1289.
- Maguer, J.-F., Wafar, M., Madec, C., Morin, P., and Erard Le Denn, E. (2004). Nitrogen and phosphorus requirements of an alexandrium minutum bloom in the penzé estuary, france. *Limnol. Oceanogr.*, 49(4) :1108–1114.
- Marie, D., Simon, N., Guillou, L., Partensky, F., and Vaulot, D. (2001). Dna/rna analysis of phytoplankton by flow cytometry. In *Current Protocols in Cytometry*, pages 1–18. John Wiley & Sons, Inc.
- Maron, J. L. and Harrison, S. (1997). Spatial pattern formation in an insect host-parasitoid system. *Science*, 278(5343) :1619–1621.
- May, R. M. and Hassell, M. P. (1981). The dynamics of multiparasitoid-host interactions. *The American Naturalist*, 117(3) :234–261.
- Mayali, X. and Azam, F. (2004). Algicidal bacteria in the sea and their impact on algal blooms. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2) :139–144.
- Mazzillo, F. F., Ryan, J. P., and Silver, M. W. (2011). Parasitism as a biological control agent of dinoflagellate blooms in the california current system. *Harmful Algae*, 10(6) :763–773.
- Metz, J., Nisbet, R., and Geritz, S. (1992). How should we define 'fitness' for general ecological scenarios ? *Trends in Ecology & Evolution*, 7(6) :198–202.
- Miller, J. J., Delwiche, C. F., and Coats, D. W. (2012). Ultrastructure of amoebophrya sp. and its changes during the course of infection. *Protist*, 163(7) :720–745.
- Mills, N. and Getz, W. (1996). Modelling the biological control of insect pests : a review of host-parasitoid models. *Ecological Modelling*, 92(2-3) :121–143. Ecological Resource Modelling.

- Montagnes, D. (1996). Growth responses of planktonic ciliates in the genera strobilidium and strombidium. *Marine Ecology Progress Series*, 130 :241–254.
- Montagnes, D., Chambouvet, A., Guillou, L., and Fenton, A. (2008). Responsibility of microzooplankton and parasite pressure for the demise of toxic dinoflagellate blooms. *Aquatic Microbial Ecology*, 53(2) :211–225.
- Murdoch, W. W. and Briggs, C. J. (1996). Theory for biological control : Recent developments. *Ecology*, 77(7) :2001–2013.
- Murdoch, W. W., Briggs, C. J., and Nisbet, R. M. (2013). *Consumer-Resource Dynamics*. Princeton University Press.
- Murdoch, W. W., Nisbet, R. M., Blythe, S. P., Gurney, W. S. C., and Reeve, J. D. (1987). An invulnerable age class and stability in delay-differential parasitoid-host models. *The American naturalist*, 129(2) :263–282.
- Nicholson, A. (1933). The balance of animal populations. *J. Anim. Ecol.*, 2 :132–178.
- Nicholson, A. J. and Bailey, V. A. (1935). The balance of animal populations.-part i. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 105(3) :551–598.
- Nielsen, M. (1996). Growth and chemical composition of the toxic dinoflagellate gymnodinium galatheanum in relation to irradiance, temperature and salinity. *Marine Ecology Progress Series*, 136 :205–211.
- Norén, F., Øjvind Moestrup, and Sofi Rehnstam-holm, A. (1999). Parvilucifera infectans norén et moestrup gen. et sp. nov. (perkinsozoa phylum nov.) : a parasitic flagellate capable of killing toxic microalgae. *European Journal of Protistology*, 35(3) :233–254.
- Park, M. G., Cooney, S. K., Kim, J. S., and Coats, D. W. (2002). Effects of parasitism on diel vertical migration, phototaxis/geotaxis, and swimming speed of the bloom-forming dinoflagellate akashiwo sanguinea. *Aquatic Microbial Ecology*, 29(1) :11–18.
- Park, M. G., Yih, W., and Coats, D. W. (2004). Parasites and phytoplankton, with special emphasis on dinoflagellate infections. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51(2) :145–155.
- Railsback, S. F. and Grimm, V. (2011). *Agent-based and individual-based modeling : a practical introduction*. Princeton University Press.

- Reeve, J. D. (1988). Environmental variability, migration, and persistence in host-parasitoid systems. *The American Naturalist*, 132(6) :810–836.
- Rohani, P., Godfray, H., and Hassell, M. (1994). Aggregation and the dynamics of host-parasitoid systems : a discrete-generation model with within-generation redistribution. *American Naturalist*, 144(3) :491–509.
- Rosenheim, J., Kaya, H., Ehler, L., Marois, J., and Jaffee, B. (1995). Intraguild predation among biological-control agents : Theory and evidence. *Biological Control*, 5(3) :303–335.
- Ruxton, G. D. (1994). Low levels of immigration between chaotic populations can reduce system extinctions by inducing asynchronous regular cycles. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 256(1346) :189–193.
- Salomon, P. and Stolte, W. (2010). Predicting the population dynamics in amoebophrya parasitoids and their dinoflagellate hosts using a mathematical model. *Marine Ecology Progress Series*, 419 :1–10.
- Salomon, S. P., Granéli, E., Neves, B. M. H. C., and Rodriguez, G. E. (2009). Infection by amoebophrya spp. parasitoids of dinoflagellates in a tropical marine coastal area. *Aquatic Microbial Ecology*, 55(2) :143–153.
- Sheng, J., Malkiel, E., Katz, J., Adolf, J., Belas, R., and Place, A. R. (2007). Digital holographic microscopy reveals prey-induced changes in swimming behavior of predatory dinoflagellates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(44) :17512–17517.
- Sourisseau, M., Duhaut, T., and Gentien, P. (2010). Sensitivity of an host-parasite dynamic to the physical environment. *ICES CM, N :08* :1960.
- Stiling, P. D. (1987). The frequency of density dependence in insect host-parasitoid systems. *Ecology*, 68(4) :844–856.
- Suttle, C. A. (2005). Viruses in the sea. *Nature*, 437(7057) :356–361.
- Thingstad, T. and Lignell, R. (1997). Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquatic Microbial Ecology*, 13(1) :19–27.

- Toth, G. B., Norén, F., Selander, E., and Pavia, H. (2004). Marine dinoflagellates show induced life-history shifts to escape parasite infection in response to water-borne signals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 271(1540) :733–738.
- Van Valen, L. (1973). A new evolutionary law. *Evolutionary theory*, 1 :1–30.
- Vandermeer, J. H. (1972). Niche theory. *Annual Review of Ecology and Systematics*, pages 107–132.
- Velo-Suarez, L., Brosnahan, M. L., Anderson, D. M., and McGillicuddy Jr, D. J. (2013). A quantitative assessment of the role of the parasite amoebophrya in the termination of alexandrium fundyense blooms within a small coastal embayment. *PloS one*, 8(12) :e81150.
- Wang, Z.-H., Qi, Y.-Z., and Yang, Y.-F. (2007). Cyst formation : an important mechanism for the termination of scrippsiella trochoidea (dinophyceae) bloom. *Journal of Plankton Research*, 29(2) :209–218.
- Weinbauer, M. G. and Rassoulzadegan, F. (2004). Are viruses driving microbial diversification and diversity ? *Environmental Microbiology*, 6(1) :1–11.
- Zingone, A. and Enevoldsen, H. O. (2000). The diversity of harmful algal blooms : a challenge for science and management. *Ocean and Coastal Management*, 43(8-9) :725–748.