

**Reproductie en predatie van de roofkever**  
***Cryptolaemus montrouzieri* op de wolluizen**  
***Pseudococcus longispinus* en *Planococcus citri***

Sander Fleerackers

Promotors: Prof. dr. ir. Patrick De Clercq, Dr. Bruno Gobin

Tutor: ir. Laura Golsteyn

Academiejaar 2018-2019

Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad van  
Master of science in de bio-ingenieurswetenschappen: Landbouwkunde



**Reproductie en predatie van de roofkever**  
***Cryptolaemus montrouzieri* op de wolluizen**  
***Pseudococcus longispinus* en *Planococcus citri***

Sander Fleerackers

Promotors: Prof. dr. ir. Patrick De Clercq, Dr. Bruno Gobin

Tutor: ir. Laura Golsteyn

Academiejaar 2018-2019

Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad van  
Master of science in de bio-ingenieurswetenschappen: Landbouwkunde



*De auteur en de promotors geven de toelating deze masterproef voor consultatie beschikbaar te stellen en delen van de masterproef te kopiëren voor persoonlijk gebruik. Elk ander gebruik valt onder de beperkingen van het auteursrecht, in het bijzonder met betrekking tot de verplichting de bron uitdrukkelijk te vermelden bij het aanhalen van resultaten uit de masterproef.*

*The author and the promotors give permission to use this thesis for consultation and to copy parts of it for personal use. Every other use is subject to the copyright laws, more specifically the source must be extensively specified when using results from this thesis.*

*Gent, juni 2019*

*De promotors*

*De auteur*

*Prof. dr. ir. Patrick De Clercq*

*Dr. Bruno Gobin*

*Sander Fleerackers*

## Samenvatting

Wolluizen zijn afkomstig uit warme gebieden, maar zijn verspreid geraakt in gematigde gebieden in verwarmde serres. Zo vormen ze tegenwoordig ook een moeilijk te bestrijden plaag in de Vlaamse sierteelt. Met hun aanwezigheid, wasstructuren en honingdauw bevuilen wolluizen sierplanten waardoor die hun waarde verliezen. Chemische bestrijding van wolluizen wordt gehinderd door hun verborgen levenswijze en overvloedige wassecreties en interfereert bovendien met bestaande IPM-systemen in serreteelten. Biologische bestrijding van wolluizen staat nog niet op punt en is daardoor vaak niet rendabel.

Deze masterproef bestudeert de biologische bestrijding door *Cryptolaemus montrouzieri*, een vaak ingeschakelde natuurlijke vijand van wolluis. Dit onderzoek bekijkt of deze roofkever een geschikte bestrijder is van de langstaartwolluis *Pseudococcus longispinus*, een van de meest voorkomende wolluissoorten in de Vlaamse sierteelt. Een andere veel voorkomende en meer gekende wolluissoort in de Vlaamse sierteelt is *Planococcus citri* en dient in deze proeven als referentie.

De predatiecapaciteit van *C. montrouzieri* t.o.v. beide wolluissoorten werd bepaald in laboproeven. Adulte kevers vertonen weinig verschillen tussen de twee soorten, maar gemiddeld blijkt de predatie op *P. longispinus* iets lager te zijn. De gemiddelde predatie van keverlarven van het derde larvaal stadium op *P. longispinus* adulten blijkt wel half zo laag als de predatie op *P. citri* adulten, wat mogelijk veroorzaakt wordt door het defensief gedrag van *P. longispinus*.

Ovipositie van *C. montrouzieri* wordt gestimuleerd door prikkels geassocieerd met eizakken van wolluizen. Bij *P. longispinus* zijn eizakken echter afwezig. In een serreproef op geïnfecteerde *Ficus benjamina* planten blijkt de reproductie van *C. montrouzieri* op deze wolluissoort mogelijk, maar veel beperkter dan op *P. citri*, een soort die wel eizakken maakt. Twaalf dagen na het uitzetten van *C. montrouzieri* vrouwtjes werden vijf tot vijftien keer minder larven geobserveerd op *Ficus* planten besmet met *P. longispinus* in vergelijking met planten met *P. citri*. Het gebrek aan ovipositiestimuli bij *P. longispinus* is de meest waarschijnlijke oorzaak voor dit contrast. Het gebruik van een semi-artificieel kweekstelsel voor *C. montrouzieri* blijkt geen significante invloed te hebben op de reproductie van de adulte kevers wanneer zij verder worden gevoed op *P. longispinus*.

Tijdens het onderzoek werd gebruik gemaakt van de breedte van het kopkapsel van *C. montrouzieri* larven. Dit blijkt een makkelijke en betrouwbare parameter om het stadium van de keverlarven te identificeren.

## Woord vooraf

*De schoonheid, verscheidenheid, de levenswijze en het bijzondere gedrag van insecten fascineren mij al jarenlang. Het was een aangename ontdekking dat er in de richting die ik studeerde een hele onderzoeksgroep bestaat die draait rond entomologie en ik ben dan ook blij dat ik hier dit jaar deel van mocht uitmaken. Het is een voorrecht wanneer je van je passie ook je dagelijkse bezigheid en uiteindelijk je eindwerk kan maken. Ik heb het geluk dat ik de hulp en steun kreeg van verschillende mensen en dat ik veel heb kunnen leren van hen. Daarvoor wil ik deze mensen graag bedanken.*

*Ten eerste bedank ik prof. dr. ir. Patrick De Clercq om mij steeds bij te sturen in de goede richting, om mijn complexe gedachten enigszins te vereenvoudigen en vele suggesties te geven om mijn proeven en tekst te optimaliseren. Ik heb veel van hem geleerd over insecten en het wetenschappelijke onderzoek hiermee. Ik bedank hem om altijd voor mij klaar te staan.*

*Daarnaast bedank ik Laura om de kweek van de kevers te verzorgen tijdens mijn examens en vanaf de paasvakantie, om mijn tekst ook telkens na te lezen, om samen oplossingen te zoeken voor problemen bij de proeven en voor de hulp bij het praktisch werk wanneer de tijd beperkt was.*

*Ik bedank ook graag Bruno Gobin en het Proefcentrum voor Sierteelt voor het aanbieden van materiaal en insecten en voor het gebruik van hun ruimte. In het bijzonder bedank ik Joachim en Ruth voor hun tijd, hun kennis die ze met mij gedeeld hebben en de hulp die ze geboden hebben bij mijn proeven. Het was een aangename samenwerking met hen.*

*Verder wil ik ook alle toffe collega's in het labo bedanken voor hun hulp, ideeën en interesse in mijn onderzoek. Ik bedank hen ook voor de goeiemorgen die ik elke dag kreeg en de leuke gesprekken. Bedankt Rik, Christophe, Ha, Lore, Gokul, Sabina, Marilou, Berdien, Wenxin, Catherine, Wim, Ibrahim en Agnes. Ook Leen, Stephanie, Rik en Bjorn wil ik bedanken voor hun ondersteuning van het werk in het labo en het aangename contact.*

*Tenslotte wil ik mijn gezin, familie en vrienden bedanken voor alle steun, maar ook voor de interesse in mijn onderzoek en hun vragen die mij steeds nieuwe invalshoeken gaven. Als laatste, maar minstens even belangrijk, bedank ik ook mijn vriendin Paulien voor de vele steun, de bereidwilligheid om mij altijd te helpen, om foto's te nemen, om alle frustraties te ~~willen~~ moeten aanhoren en om mij steeds te doen geloven dat alles goed komt.*

Sander Fleerackers  
Gent, juni 2019

# Inhoudsopgave

SAMENVATTING.....	v
WOORD VOORAF .....	vi
INHOUDSOPGAVE .....	vii
<b>1. INLEIDING.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LITERATUURSTUDIE .....</b>	<b>3</b>
2.1.  Wolluizen in de Vlaamse sierteelt .....	3
2.1.1.  Inleiding.....	3
2.1.2. <i>Planococcus citri</i> .....	5
2.1.2.1.  Dimorfisme en ontwikkeling .....	5
2.1.2.2.  Paring en reproductie .....	7
2.1.2.3.  Ecologie.....	8
2.1.2.4.  Waardplanten .....	8
2.1.2.5.  Interacties met andere organismen.....	9
2.1.2.6.  Verspreiding.....	9
2.1.3. <i>Pseudococcus longispinus</i> .....	10
2.1.4. <i>Pseudococcus viburni</i> .....	11
2.1.5.  Schade .....	12
2.2.  Bestrijding van wolluis.....	13
2.2.1.  Preventie en monitoring .....	13
2.2.2.  Chemische bestrijding .....	13
2.2.3.  Biologische bestrijding .....	15
2.2.3.1.  Inleiding.....	15
2.2.3.2.  Predators.....	16
2.2.3.3.  Parasitoïden .....	17
2.2.3.4.  Entomopathogene schimmels en nematoden.....	19
2.2.3.5.  Risico's van biologische bestrijders.....	19
2.3. <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> .....	20
2.3.1.  Inleiding.....	20
2.3.2.  Biologie.....	20
2.3.2.1.  Ontwikkeling en reproductie .....	20
2.3.2.2.  Ovipositie .....	21
2.3.3.  Gebruik als biologische bestrijder .....	22
2.3.3.1.  Succes van <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> .....	22
2.3.3.2.  Prooibereik.....	24

2.3.3.3.	Zoekvermogen .....	25
2.3.3.4.	<i>Cryptolaemus montrouzieri</i> versus parasitaire wespen .....	26
<b>3.</b>	<b>INSECTENKWEEK.....</b>	<b>27</b>
3.1.	Kweek van wolluis .....	27
3.2.	Kweek van <i>Cryptolaemus montrouzieri</i> .....	27
<b>4.</b>	<b>KARAKTERISERING VAN DE LARVALE STADIA VAN <i>C. MONTROUZIERI</i> .....</b>	<b>28</b>
4.1.	Inleiding .....	28
4.2.	Materiaal en methode.....	28
4.3.	Resultaten.....	28
4.4.	Discussie .....	30
<b>5.</b>	<b>PREDATIECAPACITEIT .....</b>	<b>32</b>
5.1.	Inleiding .....	32
5.2.	Materiaal en methode.....	32
5.3.	Resultaten.....	34
5.4.	Discussie .....	37
<b>6.</b>	<b>REPRODUCTIEPOTENTIEEL .....</b>	<b>40</b>
6.1.	Inleiding .....	40
6.2.	Materiaal en methode.....	41
6.3.	Resultaten.....	43
6.3.1.	Paringsperiode .....	43
6.3.2.	Reproductiepotentieel in serreproef .....	43
6.3.3.	Ontwikkelingsstadium larven .....	45
6.4.	Discussie .....	46
<b>7.</b>	<b>ALGEMEEN BESLUIT .....</b>	<b>49</b>
	<b>REFERENTIES.....</b>	<b>52</b>



# 1. Inleiding

Van het totale Belgische sierteeltareaal ligt 5862 ha, of bijna 90%, in Vlaanderen. Het grootste areaal in de Vlaamse sierteelt wordt ingenomen door teelten in open lucht (92%). De teelten onder glas nemen de overige oppervlakte in. De sierteelt kan onderverdeeld worden in twee grote sectoren: namelijk de boomkwekerij en de overige sierteelt met belangrijke teelten zoals azalea's, potchrysanthen, snijbloemen en kamerplanten. De sierteelt in de serres (zonder beschutte boomkwekerij) beslaat in Vlaanderen een oppervlakte van 379 ha (cijfers 2017; Statbel, 2017). In heel België zijn er 299 bedrijven actief in de sierteelt in serres, uitgezonderd de boomkwekerij. Deze zorgen samen voor een geschatte totale productiewaarde van 220 miljoen euro. Het Vlaamse aandeel is hierin zeer groot en bedraagt 211 miljoen euro (cijfers 2017; Vlam vzw, 2017).

In de sierteelt is het net als in andere sectoren belangrijk het gewas te beschermen tegen ziekten en plagen. Sinds 1 januari 2014 worden de siertelers samen met alle andere plantaardige producenten door Europa verplicht om aan geïntegreerde gewasbescherming (IPM, *Integrated Pest Management*) te doen. Deze vorm van gewasbescherming houdt in dat de bestrijding van ziekten en plagen op een ecologisch en economisch verantwoorde manier gebeurt. Dit wil men bereiken door o.a. meer selectieve middelen te gebruiken en het totale gebruik van chemische gewasbeschermingsmiddelen te minderen. Belangrijk hierbij is preventie, monitoring en alternatieve bestrijdingsmethoden, zoals biologische bestrijding. Voor de sierteelt bestaat er een checklist die telers ondersteunt in hun toepassing van IPM (PCS, 2014).

De sierteelt ondervindt extra uitdagingen met deze vorm van gewasbescherming. De reden hiervoor is dat de sector gericht is op het esthetische aspect, waarbij de minste schade of aanwezigheid van plaaginsecten ervoor kan zorgen dat de planten niet meer verkoopbaar zijn. Door deze lage tolerantie zullen siertelers traditioneel heel wat chemische bestrijdingsmiddelen toepassen (Vilt, 2016). In het IPM-systeem is het de bedoeling deze chemische bestrijding tot een minimum te beperken en te combineren met onder andere biologische bestrijding. Het is dus niet noodzakelijk chemische bestrijding volledig uit te sluiten. De combinatie van chemische en biologische bestrijding brengt echter moeilijkheden met zich mee, aangezien de chemische middelen ook een ongunstig effect kunnen hebben op de bestrijders. Een aantal plagen zijn tegenwoordig reeds goed te bestrijden binnen een IPM-systeem. Er bestaan efficiënte biologische methoden om bijvoorbeeld spint, weeshuidmijten, wittevlieg of bladluizen te bestrijden. Desondanks zijn er toch nog plagen die voor grote problemen binnen dit systeem zorgen. Wolluizen zorgen tot op vandaag dat het bestaande IPM-systeem opgegeven moet worden bij hun aanwezigheid (Audenaert *et al.*, 2017a).

Wolluizen hebben hun naam te danken aan hun wit en wollig uitzicht, wat veroorzaakt wordt door de wasstructuren op hun lichaam. Het zijn kleine insecten die behoren tot de superfamilie van de schildluisachtigen. Via hun stekend-zuigende monddelen voeden ze zich met het floëemsap van planten. De honingdauw die ze nadien excreteren kan roetdauwschimmels aantrekken. Wolluizen zijn afkomstig uit warme streken, zoals het Middellands zeegebied, maar tegenwoordig zijn ze verspreid over de hele wereld. Zo komen ze nu ook in gematigde streken voor in verwarmde serres. In de Vlaamse sierteelt is wolluis een belangrijk probleem, voornamelijk bij kamerplanten en snijbloemen. De esthetische schade die veroorzaakt wordt louter door hun aanwezigheid, zorgt dat de planten niet meer verkocht kunnen worden. Ook bij warme kasgroenten (zoals tomaat en komkommer) komt wolluis sporadisch voor (Vlaams innovatienetwerk, z.d.).

Door hun kleine formaat en hun verborgen levenswijze zijn ze moeilijk waar te nemen in een vroeg stadium. In een later stadium wordt het zeer moeilijk ze volledig te bestrijden. De verborgen levenswijze, samen met de aanwezigheid van lichaamsbedekkende wasstructuren zorgt dat wolluis een van de moeilijkst te bestrijden plagen is (Biobest, z.d.-b). Tegenwoordig zijn commercieel reeds tal van natuurlijke vijanden van wolluis beschikbaar. De biologische bestrijding is momenteel nog niet voldoende werkzaam noch rendabel door de hoge kosten, waardoor nog vaak naar chemische middelen wordt gegrepen. Doch ook chemische bestrijding wordt belemmerd door de waslaag en de verdoken levenswijze van wolluizen. Bovendien interfereren de chemische middelen met het bestaande IPM-systeem bij de controle van andere plagen (Audenaert *et al.*, 2017a).

Aan het Proefcentrum voor Sierteelt te Destelbergen (PCS) loopt momenteel een project in samenwerking met de Universiteit Gent, waarin gezocht wordt naar duurzame en rendabele oplossingen voor de bestrijding van wolluis binnen het systeem van geïntegreerde gewasbescherming. Belangrijke onderdelen van het project zijn preventie, methoden voor monitoring en het efficiënt inzetten van biologische bestrijders. De focus ligt op de teelt van warme kasplanten en de meest voorkomende soorten wolluis hierin (Audenaert *et al.*, 2017a).

Deze masterproef kadert in dit project en concentreert zich op de biologische bestrijdingsmogelijkheden. Een van de meest ingeschakelde bestrijders van wolluis is het Australisch lieveheersbeestje *Cryptolaemus montrouzieri*. Er is reeds uitgebreid onderzoek gevoerd naar de capaciteiten van deze kever, waarbij de bestrijding van verschillende wolluissoorten onderzocht werd. De twee meest voorkomende wolluizen in de Vlaamse sierteelt zijn *Planococcus citri* en *Pseudococcus longispinus* (Audenaert *et al.*, 2018). De bestrijding van *P. citri* door *C. montrouzieri* is goed gedocumenteerd in de wetenschappelijke literatuur, terwijl dit eerder beperkt is bij *P. longispinus*. Deze laatste soort toont bovendien biologisch enkele essentiële verschillen met *P. citri*.

Het doel van deze masterproef is bijgevolg onderzoeken of *C. montrouzieri* geschikt is als biologische bestrijder van *P. longispinus*. Predatie en reproductie van de roofkever, twee fundamentele aspecten bij de bestrijding, worden hiervoor benaderd. Ten eerste werden proeven uitgevoerd op laboschaal, waarbij nagegaan werd of de predatiecapaciteit van de roofkever verschillend is tussen beide soorten wolluis. Daarnaast werd een serreproef op plantniveau uitgevoerd die moest achterhalen hoe succesvol de reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* is in teeltcondities, waarbij opnieuw vergeleken werd met *P. citri*. Dit onderzoek gaat na of er problemen verwacht kunnen worden bij de bestrijding van *P. longispinus* met *C. montrouzieri* en participeert hiermee in de zoektocht naar een efficiënte biologische bestrijding van wolluis.

Deze masterproef start met een literatuuroverzicht met uitgebreide achtergrondinformatie over de biologie en bestrijding van wolluizen, met bijzondere aandacht voor *C. montrouzieri*. Nadien wordt dieper ingegaan op de uitgevoerde proeven en de resultaten hiervan.

## 2. Literatuurstudie

### 2.1. Wolluizen in de Vlaamse sierteelt

#### 2.1.1. Inleiding

Wolluizen kunnen makkelijk herkend worden door hun typisch wit en pluizig uitzicht waarnaar ze vernoemd zijn. Dit wordt veroorzaakt door de productie van wassecreties die het lichaam bedekken. Deze wassecreties zijn het sterkst ontwikkeld bij vrouwelijke adulten maar komen ook in beperkte mate voor bij de onvolwassen stadia. De graad van ontwikkeling van deze wassecreties is daarnaast ook afhankelijk van de omgeving van de wolluis. Wanneer ze meer beschermd zijn (bv. tussen spleten of in oksels van de plant) zullen de wassecreties beperkter of zelfs bijna afwezig zijn. Wolluizen zijn kleine en sedentaire insecten. Ze hebben een week, uitwendig gesegmenteerd en ovaalvormig lichaam en hebben stekend-zuigende monddelen waarmee ze zich voeden met het floëemsap van planten (Mani & Shivaraju, 2016).

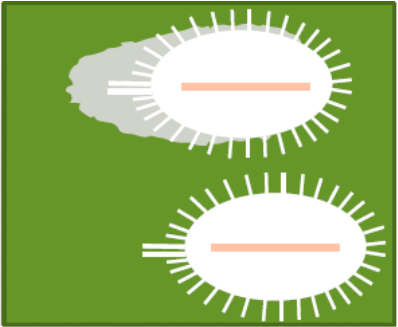

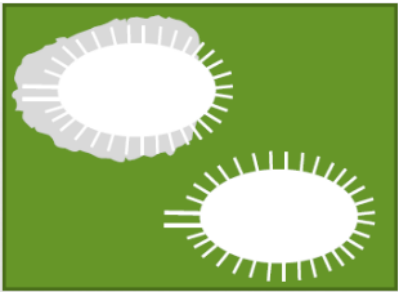
Wolluis is een verzamelnaam voor een groot aantal verschillende species. Deze soorten behoren tot de families Pseudococcidae en Putoidae (Williams, 2004). Beide families maken deel uit van de superfamilie Coccoidea (schildluizen), binnen de orde Hemiptera (halfvleugeligen). De familie Pseudococcidae is veruit de grootste, best beschreven en economisch belangrijkste familie. Volgens García Morales *et al.* (2016) zijn er momenteel bijna 2000 soorten bekend in deze familie behorende tot 259 genera. De familie Putoidae zou volgens dezelfde bron slechts uit twee genera bestaan met 48 bekende species. Downie & Gullan (2004) deelden de Pseudococcidae in via moleculaire data in drie subfamilies: Pseudococcinae, Phenacoccinae en Rhizoecinae. De Rhizoecinae zijn een groep van wolluizen met een ondergrondse levenswijze (hypogaeïsche wolluizen of wortelwolluizen). Een recentere studie (Hardy *et al.*, 2008), waarbij gebruik werd gemaakt van meer moleculaire data samen met morfologische informatie, erkent slechts twee subfamilies binnen de Pseudococcidae: Pseudococcinae en Phenacoccinae. De wortelwolluizen worden hierbij als monofyletische tak (Rhizoecini) onderverdeeld binnen de Phenacoccinae.

Enkel Pseudococcidae en Putoidae worden beschouwd als echte wolluizen (Williams, 2004). Er bestaan een aantal insectensoorten die op wolluizen lijken en vaak foutief als wolluis benoemd worden. De meeste verwarring gebeurt bij genera behorende tot andere families binnen de superfamilie Coccoidea. Een aantal van deze genera maken net als wolluizen eizakken, zoals de wollige dopluizen (*Pulvinaria* sp.). Andere genera hebben een uiterlijk dat in meer of in mindere mate lijkt op wolluizen, zoals *Dactylopius* sp., *Icerya* sp. of *Drosicha* sp. (Mani & Shivaraju, 2016).

Audenaert *et al.* (2018) voerden staalnames van wolluis uit bij 62 Vlaamse bedrijven in de sierteelt. Uit dit onderzoek bleek dat er in de Vlaamse sierteelt drie soorten zijn die domineren: *Pseudococcus longispinus*, *Planococcus citri* en *Pseudococcus viburni*. Deze waren goed voor respectievelijk 43%, 40% en 8% van de genomen stalen. Andere soorten die occasioneel voorkomen in de Vlaamse sierteelt zijn onder andere de bamboewolluis (*Trionymus bambusae*), de citrophiluswolluis (*Pseudococcus calceolariae*) en de katoenwolluis (*Phenacoccus solenopsis*) (Audenaert *et al.*, 2017a; Audenaert *et al.*, 2017b). De twee laatstgenoemde soorten komen voor op importplanten. De genera *Planococcus*, *Pseudococcus* en *Trionymus* behoren tot de subfamilie Pseudococcinae, het genus *Phenacoccus* behoort tot de subfamilie Phenacoccinae (Hardy *et al.*, 2008). Ook wortelwolluizen, zoals *Rhizoecus* sp., komen voor in Vlaanderen (Audenaert *et al.*, 2017b).

De focus van dit onderzoek ligt op de meest voorkomende soorten in de Vlaamse sierteelt, de andere soorten worden niet verder besproken. De adulte vrouwtjes van de drie belangrijkste soorten zijn vrij goed te onderscheiden op basis van een aantal morfologische kenmerken (Audenaert *et al.*, 2017b). Ten eerste kan men kijken naar de lijn(en), dit is een zone van het lichaam die minder bedekt is met was of zelfs onbedekt is. Hierdoor is deze zone doorgaans donkerder gekleurd dan de rest van het lichaam. Daarnaast zijn de filamenten een belangrijk kenmerk, dit zijn afzonderlijke lateraal uitstekende wasstructuren die het lichaam al dan niet omgeven. Het aantal filamenten en de lengte van deze filamenten (en dan voornamelijk van het laatste paar) is kenmerkend voor de soort. Tenslotte is de aan- of afwezigheid van eizakken een nuttige karakteristiek. Een eizak is een wasachtige afscheiding die de eieren en vaak een deel van het lichaam van het vrouwtje omgeeft. Tabel 2.1 geeft per wolluissoort de morfologische kenmerken weer van de volwassen vrouwtjes, ondersteund door een simpele schematische figuur van de soort.

**Tabel 2.1.** Enkele morfologische kenmerken ter onderscheid van de adulte vrouwtjes van de drie meest voorkomende wolluissoorten in de Vlaamse sierteelt (Figuren uit Audenaert *et al.*, 2017b).

Soort	Morfologische kenmerken	Figuur
<i>Planococcus citri</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eén lijn centraal</li> <li>- In totaal 18 paar korte filamenten, alleen laatste paar iets langer (tot 25% lichaamslengte)</li> <li>- Produceert een eizak</li> </ul>	
<i>Pseudococcus longispinus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Eén brede lijn centraal, twee smalle lijnen lateraal</li> <li>- In totaal 17 paar filamenten, laatste paar zeer lang (langer dan lichaamslengte), paar ernaast half zo lang</li> <li>- Produceert geen eizak</li> </ul>	
<i>Pseudococcus viburni</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bezit geen lijn</li> <li>- In totaal 17 paar korte filamenten, alleen laatste paar langer</li> <li>- Produceert een eizak</li> </ul>	

Het is belangrijk op te merken dat de waslaag en de filamenten geen vast gegeven zijn. Deze structuren zijn fragiel en kunnen afwezig zijn, waardoor men moet opletten bij identificatie. De gegeven kenmerken zijn daarboven voldoende om de drie meest voorkomende wolluizen van elkaar te onderscheiden, maar geven geen uitsluitsel over de soort. Om zekerheid te hebben dient men een genetische karakterisatie uit te voeren (bv. Malausa *et al.*, 2011 of Pieterse *et al.*, 2010) of

gebruik te maken van een goed gedocumenteerde determinatiesleutel (bv. Cox, 1987; Williams & Granara de Willink, 1992 of Millar, 2002). Het voordeel van een genetische identificatie is dat deze ook toepasbaar is op andere stadia dan de volwassen vrouwtjes, in tegenstelling tot de morfologische determinatie.

### 2.1.2. *Planococcus citri*

De citruswolluis *Planococcus citri* (Risso) is een van de meest voorkomende wolluissoorten in Vlaanderen en de rest van de wereld. Deze soort is uitgebreid beschreven in de wetenschappelijke literatuur. *Planococcus citri* dient hier als model voor de wolluis. De kenmerken van *Pseudococcus longispinus* en *Pseudococcus viburni* komen hier grotendeels mee overeen maar kennen toch belangrijke verschillen welke in verdere hoofdstukken aangehaald worden.

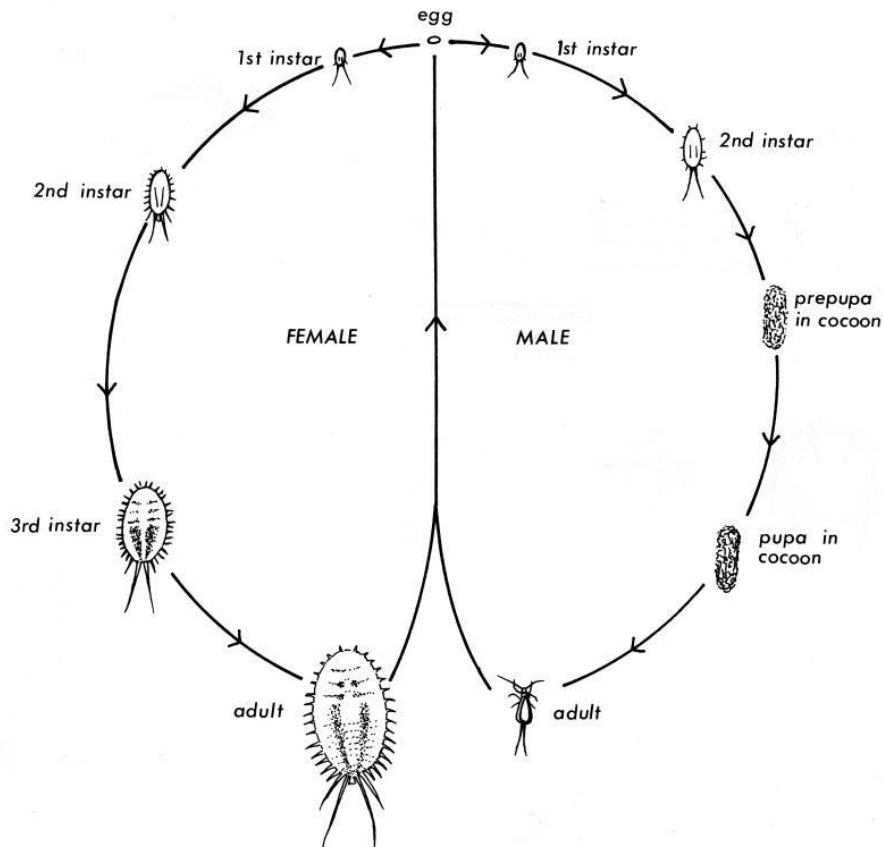
#### 2.1.2.1. Dimorfisme en ontwikkeling

Alle wolluizen kennen een groot seksueel dimorfisme. Vanaf het tweede nimfaal stadium kunnen mannetjes en vrouwtjes onderscheiden worden, maar het dimorfisme is het grootst in het adult stadium. Vrouwtjes hebben een ovaalvormig dorsoventraal afgeplat lichaam en zijn sterk bedekt met wasecreties. Ze zijn vleugelloos en leven over het algemeen sessiel. Adulte mannelijke wolluizen daarentegen zijn gevleugeld en erg actieve vliegers. Ze hebben een smalle en langwerpige bouw. In Figuur 2.1 worden beide geslachten afgebeeld. In het veld zal men vooral de veelvuldig aanwezige vrouwtjes tegenkomen. De mannetjes hebben geen monddelen waardoor ze slechts enkele dagen leven. Deze korte levensduur gecombineerd met het feit dat mannetjes veel mobieler zijn, zorgt dat mannelijke wolluizen veel zeldzamer zijn in veldpopulaties en heel wat minder worden waargenomen dan de vrouwtjes. Hieronder wordt de ontwikkeling van *Planococcus citri* beschreven, deze is vrij representatief voor veel wolluissoorten. Figuur 2.2 geeft bovendien een grafische weergave van de verschillende ontwikkelingsstadia van *P. citri*.



**Figuur 2.1.** De citruswolluis (*Planococcus citri*). Foto links: adult vrouwtje met nimfen (bron: [entnemdept.ufl.edu](http://entnemdept.ufl.edu)). Foto rechts: adult mannetje (bron: [www.entnemdept.ufl.edu](http://www.entnemdept.ufl.edu)).

**Eitjes** worden gelegd in eizakken door adulte vrouwtjes van *P. citri*. Deze eizakken zijn wollige filamenteuze structuren. De eitjes ontluiken na drie tot dertien dagen, afhankelijk van de temperatuur en vochtigheid van de omgeving (Goldasteh *et al.*, 2009). Ontluikingspercentages zijn gewoonlijk hoog (vaak boven 90%) (Polat *et al.*, 2008), maar zullen sterk dalen bij temperaturen boven 30°C en onder 15°C (Goldasteh *et al.*, 2009).



**Figuur 2.2.** Ontwikkelingsstadia van vrouwelijke en mannelijke wolluizen (bron: Cox, 1987).

Vrouwtjes hebben een hemimetabole ontwikkeling en ontwikkelen over drie nimfale stadia. De nimfen lijken sterk op het adult stadium, maar zijn kleiner en hebben een beperktere wasbedekking. Het grote verschil tussen de adulten en de nimfen is de aanwezigheid van een vulva. Het eerste nimfale stadium wordt ook wel crawler genoemd. Deze naam krijgen ze omdat ze sterk mobiel zijn en migreren naar een andere plaats op de gastheerplant of zelfs naar een nieuwe gastheer. Crawlers hebben geen of slechts zeer weinig wasbedekking en proportioneel lange poten en antennen t.o.v. andere stadia. Het onderscheid tussen de verschillende stadia kan bovendien gemaakt worden via het tellen van de antennesegmenten. Het eerste en tweede stadium hebben zes segmenten, het derde stadium zeven en de adulten acht. De totale ontwikkelingsduur van ei tot volwassen vrouwtje duurt gemiddeld zo'n twintig tot dertig dagen voor temperaturen tussen 23°C en 30°C. De levensduur als adult is daarna nog gemiddeld 32 dagen bij deze temperaturen (Goldasteh *et al.*, 2009). Onbevuchte vrouwtjes kunnen zelfs enkele maanden blijven leven (Franco *et al.*, 2009).

Ook bij mannetjes is de ontwikkeling hemimetabool, maar verloopt ze over vier nimfale stadia. Vanaf het tweede nimfaal stadium kunnen mannetjes onderscheiden worden van vrouwtjes. Mannetjes verliezen namelijk hun rostrum bij de eerste vervelling (MacGillivray, 1921). Op het einde van het tweede stadium zal het mannetje een wollige cocon vormen rond zijn lichaam, gemaakt van wasdraden. In deze cocon zal het mannetje vervellen tot achtereenvolgens het derde en vierde nimfaal stadium, waarbij de vervellingshuid telkens naar achter in de cocon geschoven wordt. Het derde en vierde nimfaal stadium bij mannetjes wordt respectievelijk prepup en pup genoemd. Tijdens het derde en vierde nimfaal stadium ontwikkelen de vleugels uitwendig als kleine stompjes. Beide stadia voeden zich niet. De totale ontwikkelingsduur van ei tot mannelijke adult bedraagt

gemiddeld 19 dagen bij een optimale temperatuur van 25°C, maar kan oplopen tot meer dan vijftig dagen in minder gunstige omstandigheden (Goldasteh *et al.*, 2009). Ook de mannelijke adulten hebben geen functionele monddelen en voeden zich niet. Hierdoor leven ze doorgaans slechts één tot twee dagen. Mannetjes die niet gepaard hebben zouden tot vier à vijf dagen kunnen blijven leven (da Silva *et al.*, 2009). Mannetjes hebben één paar vleugels en zijn actieve vliegers. Ze hebben lange antennen met tien segmenten en hebben achteraan hun lichaam twee witte wasfilamenten. Mannelijke wolluizen kunnen voorlopig morfologisch niet correct tot op soortniveau gedetermineerd worden (CABI, 2018).

#### 2.1.2.2. Paring en reproductie

*Planococcus citri* heeft een seksuele reproductie en is ovipaar net als de meeste soorten wolluis. De beide geslachten ontwikkelen uit bevruchte (diploïde) eitjes. Wolluizen hebben echter geen geslachtschromosomen. Het geslacht wordt bepaald door een mechanisme dat paternale genoom-eliminatie of parahaploïdie wordt genoemd. Tijdens het klievingsstadium van de embryogenese zal bij een deel van de eitjes de hele paternale reeks van chromosomen geëlimineerd worden door heterochromatisatie. Uit de eitjes waarbij dit gebeurt ontstaan mannetjes. Het paternale set blijft aldus aanwezig, maar is genetisch inactief. Bijgevolg zijn mannetjes functioneel haploïd, waarbij enkel de chromosomen die overgeërfd werden van de moeder actief zijn. De overdracht van de genen gebeurt hierdoor zoals bij haplodiploïde organismen (Khosla *et al.*, 2006).

Wegens dit complexe systeem, wordt het geslacht en bijgevolg de geslachtsverhouding bepaald door verschillende factoren, in tegenstelling tot een meer willekeurig systeem in het geval van geslachtschromosomen. (Omgevings-)factoren die een invloed hebben op de geslachtsverhouding zijn o.a. temperatuur, de leeftijd van de moeder en de populatiedensiteit (Goldasteh *et al.*, 2009; Ross *et al.*, 2010).

Adulte vrouwtjes van wolluizen geven seksferomonen af om mannetjes te lokken. Dit seksferomoon werd bij *P. citri* geïsoleerd en geïdentificeerd door Bierl-Leonhardt *et al.* (1981). Het verloop van de copulatie werd beschreven door da Silva *et al.* (2013), hierin staat o.a. vermeld dat vrouwtjes een actieve rol spelen, door de paring te stimuleren dan wel te inhiberen. Mannelijke wolluizen kunnen in hun korte leven meerdere vrouwtjes bevruchten. Vrouwelijke wolluizen paren op hun beurt met meerdere mannetjes (Waterworth *et al.*, 2011b).

Na de paring duurt het gemiddeld drie dagen voor vrouwtjes met de eileg starten (da Silva *et al.*, 2013). Adulte vrouwtjes van *P. citri* leggen hun eitjes in eizakken. Deze eizakken zijn wollige filamenteuze structuren gemaakt van wassecreties die gevormd worden door talrijke poriën op het lichaam van het adulte vrouwtje. Voornamelijk de waskanalen en –poriën rond de genitaalopening spelen een rol in de vorming van de eizak (Mani & Shivaraju, 2016). De eizak groeit naarmate de eileg vordert en kan bij *P. citri* tweemaal zo lang worden als het lichaam van het vrouwtje. Bij sommige wolluissoorten zal deze eizak zich niet enkel ventraal bevinden zoals bij *P. citri*, maar ook boven en rond het vrouwtje. Het gemiddeld aantal eitjes dat vrouwtjes van *P. citri* tijdens hun levensduur leggen varieert van minder dan 100 bij temperaturen boven 30°C tot meer dan 400 bij 18°C (Copland *et al.*, 1985). Naast de temperatuur zijn er nog andere factoren die de hoeveelheid eitjes per vrouwtje bepalen, zo heeft de waardplant bijvoorbeeld een grote invloed (Polat *et al.*, 2008).

### 2.1.2.3. Ecologie

De ontwikkeling van wolluispopulaties doorheen de seizoenen is afhankelijk van heel wat biotische en abiotische factoren. Een factor die een grote rol speelt is de temperatuur. Goldasteh *et al.* (2009) bestudeerden de ontwikkeling van *Planococcus citri* bij verschillende temperaturen bij 70% relatieve vochtigheid. Ze concludeerden dat de ontwikkeling bij beide geslachten mogelijk was tussen 18°C en 32°C. Vrouwlijken zouden ook bij 15°C kunnen ontwikkelen maar waren dan niet in staat zich voort te planten. Daarnaast bleek uit hun resultaten dat de ideale temperatuur voor ontwikkeling 25°C is. Niet alleen de ontwikkelingsduur is hier kortst, de sterfte bij het eerste en tweede nimfale stadium is hierbij bovendien het laagst. Populaties van *P. citri* hebben doorgaans meerdere generaties per jaar. Volgens Myers (1932) kan *P. citri* tot wel acht generaties voortbrengen per jaar. In populaties zullen deze generaties overlappend voorkomen.

De ontwikkeling en reproductie van floëemvoeders zoals wolluizen worden beïnvloed door de samenstelling van het floëem. Een belangrijke factor hierbij is de stikstofconcentratie, die in relatie staat tot de hoeveelheid aminozuren in het floëem. Hogendorp *et al.* (2006) ontdekten dat de ontwikkeling en reproductie van *P. citri* bevorderd worden door een hoge stikstofconcentratie, het gevolg van een hoge bemesting. Daarnaast zou ook waterinhoud een rol spelen. Studies bij andere wolluissoorten vermelden dat de reproductie hoger is op planten in waterstress (Calatayud *et al.*, 2002; Oliveira *et al.*, 2014), en dat ook de ontwikkeling lichtjes sneller zou zijn (Calatayud *et al.*, 2002). Huberty & Denno (2004) vullen deze bevindingen aan. Volgens hun synthese zouden floëemzuigers enkel positief beïnvloed worden wanneer de waterstress slechts periodiek is. Bij continue droogte zouden ze eerder negatief beïnvloed worden.

Wolluizen overwinteren door zich te verstoppen op beschutte plaatsen, zoals onder spleten in de schors bij houtachtige planten. Wolluizen kennen geen diapauze, waardoor de ontwikkeling traag verder kan gaan tijdens de winter, zeker op warmere dagen. Volgens Myers (1932) zal *P. citri* voornamelijk overwinteren als ei, hoewel alle stadia aanwezig blijken te zijn tijdens de winter. In verwarmde serres kunnen wolluizen zich jaarrond ongestoord verder ontwikkelen.

### 2.1.2.4. Waardplanten

*Planococcus citri* is enorm polyfaag. García Morales *et al.* (2016) vermelden meer dan 200 species van planten behorende tot 83 families die als waardplant kunnen dienen. In warme regio's zoals het Middellands zeegebied is *P. citri* bijvoorbeeld een belangrijke plaag in fruitplantages zoals citrusbomen (Cox, 1989). In meer gematigde gebieden zoals Vlaanderen zal *P. citri* eerder een probleem vormen op sierplanten in verwarmde serres. Waardplanten zijn hier bijvoorbeeld *Ficus* sp., *Schefflera* sp. of *Dieffenbachia* sp., maar het spectrum is veel breder dan dit (García Morales *et al.*, 2016). De meeste wolluizen, zoals ook *P. citri*, leven op de bovengrondse delen van de planten. Hierbij hebben ze een voorkeur voor beschermde plaatsen (zoals bladoksels of spleten) en jonge plantendelen (zoals nieuwe scheuten of bloemknoppen) (McKenzie, 1967).



### 2.1.2.5. Interacties met andere organismen

Wolluizen voeden zich met het floëmsap van de waardplant, de overtollige suikers worden geëxcreteerd als honingdauw. Indien er geen andere organismen in de buurt zijn zal de wolluis deze honingdauw opslaan in de rectale holte. Wanneer deze holte vol is, zal deze zich openen en zullen de spieren samentrekken. Hierdoor zal de honingdauw op een afstand van het lichaam terecht komen. Dit zorgt ervoor dat de schadelijke roetdauwschimmels, die op de honingdauw groeien, niet in contact komen met de wolluizen (McKenzie, 1967). Wanneer wolluizen zich bedreigd voelen of verstoord worden zullen ze vaak via dorsale openingen achteraan het lichaam (dorsale ostiolen) een ostiolaire vloeistof excreteren. Volgens McKenzie (1967) is deze vloeistof honingdauw, terwijl meer recente studies (Gullan & Kosztarab, 1997; Gillani & Copland, 1999) vermoeden dat deze vloeistof geen honingdauw maar gemodificeerde hemolymfe is. De verschillende studies zijn het er over eens dat deze ostiolaire vloeistof een rol speelt in het verdedigingsmechanisme van de wolluis.

Naast het excreteren van deze ostiolaire vloeistof, wat soms ook wordt aangeduid met de term reflexbloeden, hebben wolluizen nog andere defensiemechanismen. Weglopen en het omhoog bewegen van het achterlijf zijn twee gedragingen die ook behoren tot dit afweermechanisme. In het onderzoek van Bugila *et al.* (2014) bleek dat *P. citri*, in vergelijking met vier andere wolluissoorten, deze gedragingen het minst vertoont (onderzoek t.o.v. de parasitaire wesp *Anagyrus pseudococci*). Reflexbloeden werd bij deze soort hier zelfs niet geobserveerd. Er is dan ook te zien dat *P. citri* het meest onderhevig was aan parasitering. *Pseudococcus viburni* vertoonde in deze studie het meeste defensief gedrag. Naast defensief gedrag bezitten wolluizen ook een immuunsysteem dat hen beschermt tegen parasitering via inkapseling van de eitjes of larven van de parasitoïden in het lichaam (zie 2.2.3.3).

Mieren worden aangetrokken door de honingdauw die de wolluizen produceren, en gebruiken dit als voedselbron. Hierdoor ontstaan er vaak associaties tussen mieren en wolluizen. De mieren op hun beurt beschermen de wolluizen tegen hun vijanden en kunnen zo wolluispopulaties bevorderen (Daane *et al.*, 2007). Dit kan ervoor zorgen dat biologische bestrijding van wolluis moeilijk is in populaties die in associatie met mieren leven. Er zijn predators die zich hieraan aangepast hebben. Bepaalde larven van lieveheersbeestjes hebben een uiterlijk dat lijkt op dat van de wolluis (bv. *Cryptolaemus montrouzieri*, hoofdstuk 2.3). Door deze vermomming herkennen mieren de predators soms niet (McKenzie, 1967; Daane *et al.*, 2007).

### 2.1.2.6. Verspreiding

*Planococcus citri* zou volgens Bartlett (1978) oorspronkelijk afkomstig zijn van China. Doorheen vele jaren is deze soort verspreid, zodat ze momenteel bijna in alle landen van de wereld voorkomt. Enkel een aantal eilanden in het zuiden van de Stille Oceaan blijven gespaard van deze plaagsoort (CABI, 2018). In koudere streken zoals Noord-Europa of Noord-Amerika komt *P. citri* vooral voor in verwarmde serres.

De internationale verspreiding van wolluizen gebeurt voornamelijk onopzettelijk door handel van geïnfecteerde planten. Hun verborgen levenswijze en klein formaat maken het moeilijk om wolluizen op te sporen bij inspectie van verhandelde planten, waardoor quarantainemaatregelen vaak falen (CABI, 2018). Bovendien zijn wolluizen in staat bepaalde extreme omstandigheden te overleven. Hara *et al.* (1997) vermelden bijvoorbeeld dat *P. citri* een heetwaterbehandeling (49°C)

wist te overleven, doordat een voorgaande heteluchtbehandeling de thermotolerantie verhoogde. Dit zou mogelijk kunnen liggen aan de productie van heat shock proteïns of extra wasproductie. De polyfaag natuur van *P. citri* samen met zijn capaciteit om zich aan verschillende omgevingen aan te passen zorgen dat verspreiding van deze wolluissoort makkelijk verloopt.

Alle stadia van wolluis zijn in staat zich voort te bewegen. Lokale verspreiding van wolluis gebeurt echter voornamelijk door de migratie van het eerste nimfaal stadium (crawlers) naar andere delen van de plant of naar nieuwe waardplanten. Volgens Nestel *et al.* (1995) gebeurt deze migratie via thigmotaxis en negatieve fototaxis. Volwassen mannetjes kunnen vliegen en zo grotere afstanden overbruggen. Andere stadia zullen eerder een sessiel bestaan leiden. Mensen kunnen met werktuigen of hun kleding wolluizen (ook voornamelijk de kleine crawlers) overbrengen van geïnfecteerde planten naar niet-geïnfecteerde planten en zo de verspreiding in de hand werken. Wanneer populaties in associatie leven met mieren, gebeurt het soms dat mieren de wolluizen actief zullen verplaatsen naar gunstigere plaatsen (Daane *et al.*, 2007).

### 2.1.3. *Pseudococcus longispinus*

De langstaartwolluis *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti) is volgens de studie van Audenaert *et al.* (2018) de meest voorkomende soort in de Vlaamse sierteelt, hoewel het verschil met *Planococcus citri* niet groot is. Net als *P. citri* is deze soort polyfaag en kosmopolitisch (García Morales *et al.*, 2016). Flanders (1940) beweert dat deze soort oorspronkelijk afkomstig is uit Australië.



**Figuur 2.3.** *Adulte vrouwtjes van de langstaartwolluis (Pseudococcus longispinus) (bron: www.entnemdept.ufl.edu).*

*Pseudococcus longispinus* heeft een levenscyclus die vrij gelijkaardig is aan deze van *P. citri*. Een belangrijk verschil is echter de wijze van reproductie, *P. longispinus* is namelijk ovovivipaar. De eitjes ontwikkelen grotendeels in het lichaam van het vrouwtje en komen snel uit na ovipositie. Hierdoor produceert het adulte vrouwtje geen eizak, maar brengt ze bijna meteen crawlers ter wereld. Gedurende een korte tijd na de ontluiking worden de crawlers beschermd onder het lichaam van de moeder (Clausen, 1915). Bij temperaturen tussen 20°C en 28°C brengt een vrouwtje gemiddeld 130 tot 190 crawlers voort in een periode van twintig dagen tot iets meer dan een maand (Gillani *et al.*, 2011). Clausen (1915) vermeldt een iets hogere reproductie van gemiddeld 200 jongen over een periode van gemiddeld 15,8 dagen, of bijna 13 per dag. *Pseudococcus longispinus* heeft wel, net als *P. citri*, nood aan bevruchting om nakomelingen voort te brengen (Waterworth *et al.*, 2011b).

*Pseudococcus longispinus* produceert geen eizak, maar de vrouwtjes secreteren wel een los netwerk van filamenteuze wasdraden over het hele lichaam. Dit netwerk vormt een extra bescherming voor de jonge crawlers (Clausen, 1915).

Gillani & Copland (1999) voerden onderzoek uit naar het defensief gedrag van *P. longispinus* tegenover gaasvlieglarven van *Symphorobius fallax*. Nimfen van het derde stadium en adulten van *P. longispinus* bewogen hun achterlijf omhoog wanneer ze aangevallen werden, hiermee slaagden ze erin om de kleinste larven van de gaasvlieg steeds weg te duwen. Ook weglopen was een werkzame strategie tegen jongere larven. Tweede en derde stadium nimfen en adulte vrouwtjes produceerden bovendien een ostiolaire vloeistof. Vrouwtjes tijdens en na reproductie en crawlers vertoonden dit gedrag niet. De vloeistof stolt snel wanneer ze wordt blootgesteld aan de lucht (15 tot 45 seconden). Soms wanneer jongere gaasvlieglarven toevallig in contact kwamen met de vloeistof werden hun monddelen aan elkaar gekleefd door de vloeistof en stierven ze door uithongering. Veel eerste stadium gaasvlieglarven stierven door dit laatste afweermechanisme.

#### **2.1.4. *Pseudococcus viburni***

De serrewolluis *Pseudococcus viburni* (Signoret) wordt nog regelmatig benoemd met zijn synoniemen *Pseudococcus affinis* en *Pseudococcus obscurus* (García Morales *et al.*, 2016). In het Nederlands wordt de soort ook benoemd als tomatenwolluis of ook wel kortstaartwolluis. In de Vlaamse sierteelt komt deze soort in mindere mate voor dan voorgaande twee soorten (Audenaert *et al.*, 2018). De levenscyclus en overige kenmerken zijn in grote lijnen gelijk aan die van *Planococcus citri*. *Pseudococcus viburni* valt bovendien buiten het bereik van deze masterproef en wordt daarom niet verder in detail besproken.



**Figuur 2.4.** Adult vrouwtje van de serrewolluis (*Pseudococcus viburni*) (foto auteur).

### 2.1.5. Schade

Directe schade wordt aan de plant toegebracht door het feit dat wolluizen floëemvoerders zijn. Ze zuigen het floëemsap uit de planten met hun stekend-zuigende monddelen, waardoor de groeikracht van de plant zal dalen. Dit kan resulteren in kleinere planten. In extreme gevallen zal dit leiden tot vergeling, vervormingen, ontbladering of zelfs verwelking van de plant. In de meeste gevallen zal de plaag niet zo uitgebreid zijn en wordt de voornaamste schade indirect veroorzaakt. Wolluizen excreteren namelijk honingdauw. Deze vloeistof is zeer suikerrijk doordat de vele koolhydraten in het floëemsap niet allen worden opgenomen door de wolluis. De honingdauw wordt door de wolluis weg geprojecteerd, maar komt in vele gevallen toch op de plant terecht. De roetdauwschimmels die ontwikkelen op deze honingdauw zullen de plant bevuilen en zullen zorgen voor een lagere fotosynthesecapaciteit (Gausman & Hart, 1974).

De esthetische schade wordt bovendien niet enkel veroorzaakt door de honingdauw en roetdauwschimmels. Bij sierplanten is de belangrijkste esthetische schade immers de aanwezigheid van de plaaginsecten zelf en de productie van hun wassubstanties. Sierplanten waarop plaaginsecten aanwezig zijn zullen niet verkocht kunnen worden, waardoor een nultolerantie ten opzichte van de plaag ontstaat. Verder worden geïnfecteerde planten vaak geweigerd door quarantainemaatregelen, waardoor internationale handel van de planten niet meer mogelijk is.

Daarnaast zijn er veel gevallen bekend waarbij wolluizen virussen overdragen. CABI (2018) geeft een overzicht van enkele virussen waarvan geweten is dat *P. citri* ze overdraagt. Een aantal van deze virussen zijn pathogeen voor voedselgewassen, zoals Cacao Swollen Shoot Virus, Cucumber Mosaic Virus of Grapevine Leafroll Associated Virus 3 (Bigger, 1981; De Silva *et al.*, 2002; Cabaleiro & Segura, 1997). Een ander virus dat door *P. citri* wordt overgedragen is Schefflera Ringspot Virus (Lockhart & Olszewski, 1996). Dit virus komt voor bij de sierplanten *Schefflera* en *Aralia* en veroorzaakt chlorotische en necrotische bladvlekken. Klimop (*Hedera helix*), ook behorende tot de Araliaceae, zou niet vatbaar zijn voor het virus. Albouy & Devergne (1998) melden de aanwezigheid van dit virus in Europa. Ook *Pseudococcus longispinus* en *Pseudococcus viburni* dragen virussen over (Charles *et al.*, 2006).

De schade wordt veroorzaakt door de nimfale stadia en vrouwelijke adulten. Adulte mannetjes zijn onschadelijk, maar verraden wel de aanwezigheid van de plaag en zorgen voor bevruchting.

## 2.2. Bestrijding van wolluis

### 2.2.1. Preventie en monitoring

In de strategie van geïntegreerde gewasbescherming is de eerste en heel belangrijke stap preventie. Preventie komt tot stand via quarantainemaatregelen en een goede hygiëne. Alle voorwerpen waar wolluis op kan zitten, zoals potten, tafels, gereedschap, kleding en schoenen, moeten goed ontsmet worden voor ze in contact komen met onbesmette planten. Daarnaast moet plantmateriaal dat het bedrijf binnenkomt grondig gecontroleerd worden op infecties. Planten besmet met wolluis worden best zo snel mogelijk verwijderd. Door de verborgen aard van de kleine wolluisen is het mogelijk dat een infectie over het hoofd gezien werd, daarom is permanente monitoring belangrijk.

In andere teelten monitort men de wolluisen om een plaagsituatie te voorkomen en ze onder de economische schadedrempel te houden (Franco *et al.*, 2004). De schadedrempel in de sierteelt is vaak heel laag tot zelfs een nultolerantie (PCS, 2014). Hierdoor is de monitoring vooral noodzakelijk om de aanwezigheid op te sporen. Deze monitoring gebeurt door het gewas regelmatig te inspecteren (scouten) op de aanwezigheid van wolluis. Hierbij kan het voorkomen van honingdauw en roetdauwschimmels helpen. Deze inspectie is erg arbeidsintensief en niet altijd betrouwbaar, zeker bij kleine populatiedensiteiten worden haarden vaak over het hoofd gezien, vanwege de verborgen levenswijze.

Een goed hulpmiddel voor monitoring zijn feromoonvallen. Dit zijn kleverige vangplaten met een rubberen lokaas dat het seksferomoon bevat. Feromoonvallen vangen de vliegende mannetjes en kunnen zo een kleine initiële wolluispopulatie snel en efficiënt detecteren. De feromonen zijn soortspecifiek. Voor *Planococcus citri* zijn zo'n vallen commercieel beschikbaar (o.a. Biobest, Koppert). De feromonen van *Pseudococcus longispinus* en *Pseudococcus viburni* zijn ook bekend (Millar *et al.*, 2005, 2009) en kunnen gebruikt worden voor monitoring (Waterworth *et al.*, 2011a). Feromoonvallen zijn een geschikt hulpmiddel om de aanwezigheid van wolluis te bepalen, maar zouden volgens Pijnakker *et al.* (2013) ongeschikt zijn om de locatie van de haard te bepalen of de populatiedynamica op te volgen.

Een potentieel alternatieve manier voor detectie is gebruik maken van de geurstoffen die planten afscheiden. Het is reeds aangetoond dat het geurprofiel dat planten afscheiden verandert wanneer ze aangevallen worden door wolluis (Messelink *et al.*, 2015). Bovendien blijkt dit profiel afhankelijk te zijn van o.a. de populatiedichtheid en zou er een zekere specificiteit zijn voor de plaagsoort. De door de planten geproduceerde stoffen (synomonen) kunnen natuurlijke vijanden van wolluis aantrekken maar kunnen ook voor wolluisdetectie gebruikt worden. Deze methode zit nog volop in de onderzoeksfase, maar biedt perspectieven.

### 2.2.2. Chemische bestrijding

De bestrijding van wolluis gebeurt meestal nog met chemische middelen. Interne gegevens van het PCS op basis van een enquête bij 31 Vlaamse siertelers vertellen dat 90% van deze telers wolluisen chemisch bestrijdt. Chemische bestrijding van wolluis is echter weinig effectief. Hun verdoken levenswijze zorgt er ten eerste voor dat ze slecht geraakt kunnen worden met insecticiden. Daarnaast beschermen de vele waterafstotende wassecreties op hun lichaam hen van contact-insecticiden. Ook eitjes zijn goed beschermd in de wasachtige eizakken. Enkel de crawlers, die

slechts een beperkte wasbedekking hebben, zijn effectief te bestrijden met chemische middelen. De overlappende generaties zorgen er dan weer voor dat een populatie nooit volledig te bestrijden is en dat toepassingen regelmatig herhaald moeten worden.

Daarbij verliezen steeds meer middelen hun erkenning. Tabel 2.2 geeft weer welke actieve stoffen nog toegelaten waren eind 2018. Recent (december 2018) zijn bijvoorbeeld de neonicotinoïden imidacloprid (bv. Confidor) en thiamethoxam (bv. Actara) verdwenen van deze lijst. Deze middelen lagen onder hoge druk wegens hun verondersteld verband met bijensterfte, waardoor de toepassing enkel onder zeer strikte regels nog mogelijk is (Fytoweb, 2018a). De overblijvende middelen hebben vaak een minder goede werking tegen wolluizen (bv. Arshad *et al.*, 2015). Oliën worden soms als weinig effectief beschouwd tegen wolluizen (bv. Bartlett, 1957). De oliën zijn wel in staat de wasecreties van de wolluizen op te lossen, waardoor ze in combinatie met insecticiden vaak wel goede resultaten geven (Franco *et al.*, 2009). Het afnemende spectrum aan middelen en het vaak herhalen van weinig effectieve behandelingen werken bovendien resistentie in de hand.

**Tabel 2.2.** Toegelaten actieve stoffen (op 21/12/2018) met een werking tegen wolluizen bij sierplanten onder bescherming, ingedeeld volgens hun IRAC resistentiegroep (Fytoweb, 2018b).

<b>Resistentiegroep</b>	<b>Actieve stof</b>
<b>Carbamaten</b>	Methiocarb
<b>Pyrethroïden en pyrethrinen</b>	Cypermethrin Deltamethrin Lambda-cyhalothrin Pyrethrinen
<b>Tetronic en tetramic zuurderivaten</b>	Spirodiclofen
<b>Flonicamid</b>	Flonicamid
<b>Ongeklasseerd</b>	Koolzaadolie Paraffineolie

In Tabel 2.2 bezit enkel flonicamid (bekendste handelsproduct: Teppeki) een selectieve werking en is dit bovendien het enige systemische middel. Spirodiclofen heeft naast zijn werking tegen wolluis ook een algemene acaricidewerking. De overige stoffen zijn allemaal breedwerkende contactinsecticiden. Dit heeft als gevolg dat ze zeer schadelijk zijn voor natuurlijke vijanden. De uitschakeling van de natuurlijke vijanden en de vaak beperkte werking tegen wolluis kan het tegengestelde effect hebben van wat men wil bereiken. Morishita (2005) bemerkte bijvoorbeeld een hogere wolluispopulatie op planten behandeld met cypermethrin t.o.v. onbehandelde planten. Wegens de verplichting van IPM wordt het alleen nog belangrijker om rekening te houden met de nuttige insecten, waarbij ook de bestrijders van andere plagen beschouwd moeten worden. Het effect van de chemische middelen op bestrijders werd in sommige gevallen al onderzocht. Zo blijkt flonicamid bijvoorbeeld weinig schadelijk te zijn voor de roofkever *Cryptolaemus montrouzieri* en de parasitaire wesp *Leptomastix dactylopii* (Cloyd & Dickinson, 2006).

Wegens al deze redenen vragen de Vlaamse siertelers naar onderzoek naar alternatieve bestrijdingsmethoden, zoals biologische bestrijding. De chemische bestrijding zal moeten ingebouwd worden in een IPM-systeem, waarbij men enkel lokaal behandelt met middelen met korte nawerking of meer selectieve middelen die natuurlijke vijanden niet schaden.

### **2.2.3. Biologische bestrijding**

#### **2.2.3.1. Inleiding**

Wolluizen hebben een ruim complex aan natuurlijke vijanden die potentieel kunnen dienen als biologische bestrijder. Hiertoe behoren predators zoals verschillende soorten lieveheersbeestjes, gaasvliegen, galmuggen en zelfs rupsen van vlinders. Wolluizen zijn daarnaast de gastheer van heel wat soorten parasitaire wespen en zijn gevoelig voor een aantal entomopathogene organismen.

Biologische bestrijding van wolluis kan op verschillende manieren gebeuren. Een eerste methode is klassieke biologische bestrijding, of de eenmalige introductie van een bestrijder in een nieuwe habitat. Deze methode wordt wereldwijd frequent en vaak succesvol toegepast (Franco *et al.*, 2009; Kairo *et al.*, 2000). Ze kent vooral haar toepassing in warme streken zoals het Middellandse zeegebied waar wolluizen als invasieve plaag voorkomen in bijvoorbeeld fruitboomgaarden. In de Vlaamse sierteelt hanteert men eerder de strategie van vermeerdering, het meer commercieel gerichte systeem waarbij artificieel gekweekte bestrijders regelmatig worden uitgezet. Ook deze strategie kent soms succes, vooral met de roofkever *Cryptolaemus montrouzieri* en de sluipwespen *Leptomastix dactylopii* en *Leptomastidea abnormis* (Franco *et al.*, 2004; Hennekam *et al.*, 1987). In andere gevallen valt de biologische bestrijding van wolluis dan weer sterk tegen. In een interne enquête van PCS bleek dat een derde van de siertelers reeds biologische bestrijders tegen wolluis uitgeprobeerd heeft, slechts in 30% van deze toepassingen was dit een succes. Biologische bestrijding van wolluis in de sierteelt kent namelijk heel wat moeilijkheden. Ten eerste zorgen de verdoken levenswijze, de wassetreties en het verdedigingsmechanisme van de wolluis ervoor dat ze niet de makkelijkste prooi of gastheer zijn. Daarnaast zijn er nog heel wat bijkomende redenen die kunnen zorgen dat bestrijdingspogingen tevergeefs zijn, deze worden verder in de tekst aangehaald.

In vele gevallen kan men wolluispopulaties sterk verminderen via natuurlijke vijanden, maar is de huidige toepassing onvoldoende om de populaties volledig uit te roeien (Pijnakker *et al.*, 2013). Een bijkomend probleem in de sierteelt is dat de restanten van de plaag ook esthetische schade veroorzaken, dus zelfs indien men de plaag volledig zou kunnen uitroeien, kunnen de overblijvende wasstructuren en geparasiteerde wolluizen de verkoopwaarde doen dalen. Bij een nultolerantie zijn curatieve methoden bijgevolg ongeschikt en stelt men voor bestrijders preventief uit te zetten (Pijnakker *et al.*, 2013). Doch bij lage populatiedensiteiten kunnen de nuttige insecten zich niet in het gewas vermeerderen en moeten ze herhaaldelijk uitgezet worden. Dit doet uiteraard de kostprijs sterk stijgen. Ondanks de hoge prijs ziet men dat telers toch vaak de stap zetten naar biologische bestrijding wanneer er in de praktijk succesvolle resultaten te zien zijn. Bij wolluis zijn deze resultaten beperkt en is er dus nood aan meer onderzoek om de toepassing succesvoller en rendabel te maken.



### 2.2.3.2. Predators

Een eerste klasse van biologische bestrijders zijn predators, waarbij vooral roofinsecten belangrijk zijn. Veel van deze predators zijn generalisten, die veel verschillende prooien accepteren, vaak kleine en zachte soorten (Daane *et al.*, 2012). Wolluizen hebben een uitgebreid complex aan natuurlijke vijanden, waardoor veel predators potentieel hebben als biologisch bestrijder. Enkel de meest succesvolle zijn commercieel beschikbaar.

De predator die commercieel best beschikbaar is, is *Cryptolaemus montrouzieri*. Deze soort wordt aangeboden tegen wolluis bij alle beschouwde producenten van biologische bestrijders (Biobest, Koppert, Entocare, Bioline Agrosiences, Bioplanet, Bio-bee, Wyebugs). De soort behoort tot de familie van de lieveheersbeestjes, Coccinellidae (Coleoptera). Binnen deze familie zitten ook andere predators van wolluis, waarvan enkele ook beperkt commercieel beschikbaar zijn, zoals *Nephus includens*, *Scymnus* sp. en *Lindorus* sp. Zowel de larven als de adulten van deze roofkevers zijn vraatzuchtige predators van alle stadia van wolluis. Ze accepteren daarnaast heel wat andere soorten prooien, hoewel ontwikkeling en voortplanting niet op hen allemaal mogelijk is (Franco *et al.*, 2009). De larven zijn vaak bedekt met wasfilamenten, wat hen op wolluis doet lijken. Verder in de tekst wordt meer informatie gegeven over de bestrijder *C. montrouzieri*.



**Figuur 2.5.** Enkele natuurlijke vijanden van wolluis. Van links naar rechts en van boven naar onder: adult van *Cryptolaemus montrouzieri* (bron: [www.ladybirdplantcare.co.uk](http://www.ladybirdplantcare.co.uk)), larve van *Cryptolaemus montrouzieri* (bron: [www.koppert.be](http://www.koppert.be)), adult van *Nephus includens* (bron: [bioplanet.eu](http://bioplanet.eu)), adult van *Chrysoperla carnea* (bron: [www.freenatureimages.eu](http://www.freenatureimages.eu)), larve van *Chrysoperla carnea* (bron: [www.koppert.be](http://www.koppert.be)), adult van *Sympherobius barberi* (bron: [www.bugguide.net](http://www.bugguide.net)), larve van een galmug voedend op wolluis (bron: Daane *et al.*, 2012), larve van *Spalgis epius* (bron: Dinesh *et al.*, 2010), adult vrouwtje van *Spalgis epius* (bron: Dinesh *et al.*, 2010).



Vier van de zeven beschouwde bedrijven bieden verder ook de groene gaasvlieg *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) aan. De larven van deze soort zijn vraatzuchtig en zeer polyfaag, ze worden meestal verkocht als bestrijders van bladluizen, maar kunnen ook ingezet worden tegen o.a. trips, wittevlieg en wolluis. In het overzicht van Miller *et al.* (2004) bleek dat ze minstens 27 soorten Coccoidea prederen, waaronder *P. citri* en *P. longispinus*. Adulten van *C. carnea* zijn geen predators, maar voeden zich onder andere op pollen en nectar. In tegenstelling tot *C. montrouzieri* is *C. carnea* een inheemse soort en is daardoor beter inzetbaar bij lagere temperaturen (Biobest, z.d.-a). De gaasvlieg families Chrysopidae (groene gaasvliegen) en Hemerobiidae (bruine gaasvliegen) omvatten nog andere natuurlijke vijanden van wolluis (Mani & Shivaraju, 2016). Bij het genus *Symphorobius* (Hemerobiidae) zijn zowel de larven als de adulten predators. De soorten binnen dit genus zouden bovendien een voorkeur hebben voor wolluis (MacLeod & Stange, 1981).

Naast de commercieel beschikbare soorten, bezitten wolluizen heel wat andere natuurlijke vijanden. Zo zijn er ook vijanden bekend bij de Diptera en zelfs bij de Lepidoptera. Voorbeelden zijn de larven van *Diadiplosis koebeleii* (Cecidomyiidae, galmuggen) (Charles, 1985) en de rupsen van *Spalgis epius*, een vlindersoort in de familie Lycaenidae (Dinesh *et al.*, 2010).

Volgens Moore (1988) zijn er zes hoofdoorzaken waarom biologische bestrijding van wolluis met predators niet steeds succesvol is: (1) de predator is niet aangepast aan het klimaat, (2) negatieve effecten van gewasbeschermingsmiddelen, (3) de populatiedensiteit van de prooi is onvoldoende hoog, (4) effecten van de gastheerplant, (5) de prooi is onbereikbaar, (6) interferentie met andere organismen. De eerste oorzaak, het klimaat, zou wereldwijd vaakst aanleiding geven tot mislukking bij klassieke biologische bestrijding (Franco *et al.*, 2004; Stiling, 1993). Ook bij de vermeerderingsstrategie in de sierteelt blijkt deze oorzaak een rol te spelen, zeker in de winter (Hennekam *et al.*, 1987). Ad (3), men onderzoekt hoe men de overlevingskansen van de predators kan verhogen via bv. bijvoeding. Ad (4), zo zouden bijvoorbeeld de vorm en bouw van de plant en structuren zoals haren predatie kunnen bemoeilijken. Het is ook bekend dat sommige herbivore insecten secundaire plantmetaboliëten kunnen opslaan, die hen onsmakelijk maken voor hun natuurlijke vijanden (Mendel *et al.*, 1992).

### 2.2.3.3. Parasitoïden

Een tweede type nuttige organismen zijn parasitoïden. De economisch belangrijkste parasitoïden zijn sluipwespen van de familie Encyrtidae (Hymenoptera). De soort die vaakst beschikbaar is bij producenten van biologische bestrijders is *Anagyrus pseudococci*. Daarnaast zijn ook *Leptomastix dactylopii* en *Leptomastidea abnormis* belangrijke en succesvolle bestrijders van wolluis. Verder zijn er nog een aantal andere soorten beperkt beschikbaar (o.a. *Anagyrus fusciventris*, *Acerophagus maculipennis*). Het aantal parasitaire wespen waarbij wolluizen als gastheer dienen is echter veel groter dan dit, met o.a. ook soorten binnen de families Aphelinidae en Platygastridae.

Encyrtidae zijn koinobionte endoparasitoïden van wolluizen. Dit wil zeggen dat ze hun eitjes in hun gastheer leggen en dat de larven hierin opgroeien, maar dat de gastheer nog een tijd in leven blijft tijdens parasitering. Dit zorgt voor een extra hindernis voor de sluipwespen. Wolluizen bezitten namelijk een immuunsysteem dat de eitjes of larven kan inkapselen. Inkapseling is de vorming van een laag plasmatocyten (soort bloedcellen) rond de eitjes of larven die zullen verharderen en melanine vormen (De Clercq, 2018). Op deze manier zijn ze soms in staat de sluipwesp te doden (Blumberg, 1997).



**Figuur 2.6.** Drie economisch belangrijke sluipwespen. Van links naar rechts: vrouwtje van *Anagyrus pseudococci* (bron: [www.entnemdept.ufl.edu](http://www.entnemdept.ufl.edu)), mannetje en vrouwtje van *Leptomastix dactylopii* (bron: [www.entocare.nl](http://www.entocare.nl)) en vrouwtje van *Leptomastidea abnormis* ([www.entocare.nl](http://www.entocare.nl)).

In tegenstelling tot predators zijn parasitoïden veelal specialisten. Ze zijn steeds in zekere mate gastheerspecifiek. De specificiteit van de verschillende sluipwespen is nog niet helemaal uitgeklaard, maar het is duidelijk dat veel soorten zich beperken tot slechts enkele wolluissoorten. Dit maakt een goede determinatie van de plaagsoort belangrijk. De commerciële soort *A. pseudococci* zou volgens Entocare bijvoorbeeld *P. citri* en een aantal andere soorten (bv. *Planococcus ficus*) kunnen bestrijden, maar niet werkzaam zijn tegen *P. longispinus* en slechts deels tegen *P. viburni*. Sommige bronnen bevestigen deze specificiteit, hoewel er volgens García Morales *et al.* (2016) ook meldingen zijn dat *P. longispinus* geparasiteerd werd door *A. pseudococci*. De sluipwespen die in staat zijn om verschillende gastheren te parasiteren zijn logischerwijze meest interessant als biologische bestrijder.

Sluipwespen vertonen bovendien vaak een kairomoonrespons, wat wil zeggen dat ze aangetrokken worden door de seksferomonen van bepaalde wolluizen. Zo zou *Anagyrus* sp. nr. *pseudococci* bijvoorbeeld aangetrokken worden door het seksferomoon van *P. ficus* maar niet tot dat van *P. citri* (Franco *et al.*, 2008). Dit wijst erop dat *A. pseudococci* minder goed aangepast is aan *P. citri*, wat ook bevestigd wordt door een hogere graad van inkapseling bij *P. citri* t.o.v. *P. ficus* (Blumberg *et al.*, 1995). *Leptomastix dactylopii* en *Leptomastidea abnormis* zouden dan weer wel aangetrokken worden tot *P. citri* en *L. dactylopii* zou bovendien reageren op synomonen die bepaalde planten produceren wanneer ze aangevallen worden door deze wolluis (van Alphen & Xu, 1990). Door dit effectieve zoekgedrag en het feit dat ze slechts één gastheer nodig hebben, zouden deze sluipwespen meer geschikt zijn dan predators bij lage populatiedensiteiten van de plaag. Zo zouden ze vrij effectief bestrijden wanneer ze regelmatig preventief in hoge aantallen worden uitgezet (Messelink *et al.*, 2015). Dit zorgt dan weer voor hoge kosten. Een mogelijke oplossing is de voorziening van een extra voedselbron of het gebruik van bankerplanten (Pijnakker *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2011), om de levensduur van de (populatie van) natuurlijke vijanden te verlengen.

Ook voor parasitoïden heeft Moore (1988) een lijst gemaakt van oorzaken die kunnen zorgen dat biologische bestrijding mislukt. Belangrijke oorzaken zijn incompatibiliteit tussen de sluipwesp en zijn gastheer (bv. door misidentificatie), hyperparasitisme (i.e. de sluipwesp wordt zelf geparasiteerd) en ongunstige klimaatomstandigheden. Ook mieren en gewasbeschermingsmiddelen kunnen voor moeilijkheden zorgen.

#### **2.2.3.4. Entomopathogene schimmels en nematoden**

Tot slot bestaan er enkele entomopathogenen die potentieel dienst kunnen doen bij de biologische bestrijding. Hoewel er al heel wat studies naar entomopathogenen gedaan werden, blijkt het aanbod dat wolluis effectief kan bestrijden tot nu toe erg klein. Bij de micro-organismen zouden enkel de schimmels wolluizen kunnen infecteren. Schimmels zijn vaak redelijk soortspecifiek, waardoor ze integreerbaar zouden zijn met natuurlijke vijanden. Mani & Shivaraju (2016) voorzien een overzicht van een aantal schimmels die wolluizen infecteren. Ook Messelink *et al.* (2015) voerden hier onderzoek naar uit. Zij ontdekten in laboproeven dat een aantal isolaten de wolluizen effectief kunnen infecteren, maar ze zagen geen effect bij plantproeven. Hun hypothese is dat de schimmels de wolluizen infecteren via zwakke plekken (zoals gewrichten of ademhalingsgaten), maar dat de levenswijze en de waslaag van wolluizen dit verhinderen. Het toevoegen van een uitvloeier kon de werking soms verhogen.

Naast de schimmels werd er ook onderzoek gedaan naar entomopathogene nematoden. Ook hier is het succes zeer beperkt, waarschijnlijk nogmaals door de beschermende waslaag. Nematoden kunnen in bepaalde gevallen een negatieve werking hebben op andere natuurlijke vijanden, maar zouden wel integreerbaar zijn met chemische middelen (van Niekerk & Malan, 2014).

#### **2.2.3.5. Risico's van biologische bestrijders**

Verder moet er ook gewezen worden op de potentiële risico's voor het milieu die de introductie van exotische polyfage predators met zich meebrengt. Exotische predators kunnen mogelijk, als ze in staat zijn zich te vestigen in het milieu, het natuurlijk evenwicht verstoren door niet-doelorganismen aan te vallen of te concurreren met andere predators (De Clercq, 2002). Om dezelfde redenen zouden ze in het gewas kunnen interfereren met andere nuttigen. In bepaalde gevallen kunnen ze ook schadelijk zijn voor planten en sporadisch ook voor mens of dier (De Clercq *et al.*, 2011).

## 2.3. *Cryptolaemus montrouzieri*

### 2.3.1. Inleiding

Het lieveheersbeestje *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) behoort tot de onderfamilie van de Scymninae (Nederlands: dwergkapoentjes). *Cryptolaemus montrouzieri* is oorspronkelijk afkomstig van Australië (Bartlett, 1978) en krijgt daarom ook de naam 'Australisch lieveheersbeestje'. In het Engels wordt *C. montrouzieri* 'mealybug destroyer' genoemd, wat verwijst naar zijn vraatzuchtige aard tegenover wolluizen. In 1891 werd *C. montrouzieri* voor het eerst geïntroduceerd (in Californië) als biologische bestrijder tegen *Planococcus citri* (Bartlett, 1978). Sindsdien werd de roofkever veelvuldig gebruikt als biologische bestrijder in veel andere landen over de hele wereld (Kairo *et al.*, 2013).

### 2.3.2. Biologie

#### 2.3.2.1. Ontwikkeling en reproductie

De ontwikkeling van *C. montrouzieri* verloopt over vier larvale stadia. De larven (Figuur 2.5) zijn bedekt met witte wasachtige structuren, wat hen doet lijken op wolluizen. Wanneer larven niet genoeg voedsel vinden is kannibalisme niet ongewoon. Op het einde van het vierde larvale stadium brengen ze een aantal dagen inactief door alvorens ze tenslotte verpoppen. Sommige auteurs benoemen deze inactieve fase als het prepopstadium, hoewel dit stadium nooit duidelijk gedefinieerd wordt. Bij de adulten (Figuur 2.5) zijn de geslachten van elkaar te onderscheiden door de kleur van het voorste paar poten (Figuur 2.7). Bij vrouwtjes zijn deze namelijk zwart, in tegenstelling tot de mannetjes, die oranje voorpoten hebben (Booth & Pope, 1986). De laatste twee paar poten zijn bij beide geslachten zwart. *Cryptolaemus montrouzieri* heeft bovendien als enige bekende soort binnen zijn genus zwarte tibiae (Kairo *et al.*, 2013).



**Figuur 2.7.** Geslachtsdimorfisme van *C. montrouzieri*. Links: mannetje, rechts: vrouwtje (foto auteur).

Kairo *et al.* (2013) geven een overzicht van studies die de ontwikkeling en reproductiecapaciteit van *C. montrouzieri* bestudeerden op verschillende wolluissoorten. Bij condities tussen 25°C en 30°C en een relatieve vochtigheid van 55% tot 70%, was de ontwikkelingstijd van ei tot adult gemiddeld 27

tot 30 dagen. Adulten blijven bij benadering nog een dag in de pophuid voor ze ontluiken. De levensduur van adulten na ontluiking varieert van 50 tot 110 dagen.

Gewoonlijk is de geslachtsverhouding 1:1, maar afwijkingen kunnen voorkomen. Mannetjes zouden vruchtbaar zijn vanaf vijf dagen na ontluiking, bij temperaturen van 24 tot 28°C (Fisher, 1963). Vrouwtjes zouden daarentegen snel na ontluiking kunnen paren (Malais & Ravensberg, 2002). Zowel mannetjes als vrouwtjes zullen gewoonlijk meerdere keren paren in hun leven. Een vrouwtje dat meerdere keren gepaard heeft zal meer eitjes leggen dan een vrouwtje dat slechts een keer heeft gepaard. Vrouwtjes verkiezen hierbij om meerdere keren te paren met hetzelfde mannetje, hoewel er geen verschil is in vruchtbaarheid wanneer ze een gelijk aantal keer met verschillende mannetjes paren (polyandrie) (Xie *et al.*, 2014). Enkel in de eerste paar dagen van ovipositie zou polyandrie een positieve invloed hebben op de vruchtbaarheid (Jayanthi *et al.*, 2013). Het ontluikingspercentage van de eieren noch de conditie van de nakomelingen wordt beïnvloed door het paringspatroon (Xie *et al.*, 2014). Vrouwtjes die niet gepaard hebben leggen onbevuchte eieren af (Malais & Ravensberg, 2002).

Vrouwtjes starten met ovipositie na een pre-ovipositieperiode van gemiddeld 10-16 dagen (Kairo *et al.*, 2013), hoewel andere bronnen soms veel kortere periodes geven (4-6 dagen volgens Ghorbanian *et al.* (2011) en Fisher (1963)). Een vrouwtje legt in haar hele leven gemiddeld ruwweg 200 eitjes, waarbij maxima tot 500 eitjes kunnen voorkomen. Gemiddeld over de hele ovipositieperiode legt een vrouwtje 3-4 eitjes per dag (Ghorbanian *et al.*, 2011; Kairo *et al.*, 2013).

*Cryptolaemus montrouzieri* is aangepast aan tropische temperaturen. Ontwikkeling zou optimaal verlopen bij temperaturen tussen 25°C en 30°C (Kairo *et al.*, 2013). Lagere temperaturen hebben vaak een negatief effect op de kever. Temperaturen onder 20°C zouden zowel ontwikkeling, reproductie als de effectiviteit van de bestrijding negatief beïnvloeden (Kairo *et al.*, 2013). Bij 10°C zou *C. montrouzieri* nog kunnen overleven (Babu & Azam, 1987), maar bij een temperatuur van 5°C zouden alle individuen binnen 24 dagen sterven (Maes *et al.*, 2015). De kans dat *C. montrouzieri* zich in Vlaanderen buiten kan vestigen is dus klein, aangezien de kever een normale winter hier niet zal overleven.

### 2.3.2.2. Ovipositie

Vrouwtjes van *Cryptolaemus montrouzieri* leggen hun eitjes vaak dichtbij of in de eizakken van wolluizen (Jayanthi *et al.*, 2013; Mani & Shivaraju, 2016). Ontluikende larven hebben hierdoor een voedselbron in de buurt waardoor kannibalisme vermindert. Ook zou de eizak van de wolluis bescherming bieden voor de jonge stadia van de predator tegen mieren (Daane *et al.*, 2007). Finlay-Doney & Walter (2012) bewezen reeds dat eizakken niet strikt noodzakelijk zijn. In experimenten waar de vrouwelijke kevers nimfen van *P. citri* aangeboden kregen maar geen eizakken van de wolluis voorzien werden, legden de vrouwtjes wel eitjes in beschutte plaatsen (bv. tussen deksel en basis van petriplaat). Niettemin legden ze in deze situatie significant minder eitjes dan wanneer ze ook eizakken aangeboden kregen.

Merlin *et al.* (1996) achterhaalden welke stimuli de ovipositie induceren. Zij besluiten dat vrouwtjes van *C. montrouzieri* eerst chemische contactprikkels (1) nodig hebben om hen aan te zetten tot het zoeken naar een ovipositieplaats. Hierna zouden ze met hun legboor het substraat onderzoeken, waarbij fysische prikkels (2) bepalen of de locatie al dan niet geschikt is voor ovipositie.

- Ad (1): de ovipositie werd gestimuleerd door alle stadia van *P. citri*, maar bij de wollige dopluis *Eupulvinaria hydrangeae* waren eizakken nodig om eileg te induceren (individuen van *E. hydrangeae* bezitten geen wassecreties). Bovendien werden geen eitjes gelegd wanneer wolluizen met aceton gewassen werden (aceton lost de wasfilamenten op) of in onbehandelde katoenwol. Katoenwol behandeld met deze aceton-oplossing van wasfilamenten induceerde ovipositie dan weer wel. Dit deed de auteurs besluiten dat de chemische prikkel geassocieerd is met de wassecreties. Daarbij zou het essentieel zijn dat deze stoffen gerelateerd zijn met filamenteuze structuren.

- Ad (2): na correcte chemische prikkels blijkt thigmotaxis bepalend voor de eileg. Vrouwtjes zullen hun eitjes leggen op beschutte plaatsen. Merlin *et al.* (1996) vonden eitjes in wasmassa's (zoals eizakken), in propjes katoenwol en tussen aggregaties van wolluizen. Bij hogere plaagdichtheden zijn er meer beschutte plaatsen, waardoor ovipositie hier succesvoller zou zijn.

Bij afwezigheid van de correcte stimuli zijn vrouwtjes van *C. montrouzieri* in staat om ovipositie uit te stellen door volgroeide eitjes te weerhouden in hun oviducten. Dit houden ze één tot twee dagen vol, daarna zullen de vrouwtjes hun eitjes op een willekeurige plaats leggen en direct kannibaliseren (Merlin, 1992).

In tegenstelling tot Merlin *et al.* (1996), die suggereerden dat ovipositie onmogelijk is in de afwezigheid van wolluis of wassecreties voor de juiste prikkels, vonden Maes *et al.* (2014a) een doeltreffend kweekstelsel voor *C. montrouzieri* zonder wolluis. Ze ontwikkelden een systeem met eitjes van de meelmot *Ephestia kuehniella* als kunstmatig voedsel en synthetische watten als kunstmatig ovipositie-substraat. Op deze manier kon *C. montrouzieri* minstens 15 generaties gekweekt worden in de volledige afwezigheid van wolluis. Het bleek dat evenveel eitjes gelegd werden in een systeem met wolluizen en hun eizakken als in dit artificiële systeem. Waarom het gebruik van een kunstmatig ovipositie-substraat hier lukte en niet in de studie van Merlin *et al.* (1996) werd niet achterhaald, maar ligt mogelijk aan het feit dat de blootstelling bij Merlin *et al.* (1996) heel wat korter was dan bij Maes *et al.* (2014a) (20 uur t.o.v. 30 dagen).

### **2.3.3. Gebruik als biologische bestrijder**

#### **2.3.3.1. Succes van *Cryptolaemus montrouzieri***

*Cryptolaemus montrouzieri* werd reeds in talloze bestrijdingsprogramma's gebruikt, zowel in klassieke biologische bestrijding van wolluizen als de vermeerderingsstrategie (Kairo *et al.*, 2013). De kever wordt soms bestempeld als de meest efficiënte predator om omvangrijke wolluisplagen te reduceren (Bartlett & Lloyd, 1958). Ook in de sierteelt onder glas wordt gemeld dat *C. montrouzieri* werkzaam is ter bestrijding van wolluis (van Velden, 2017).

Het succes van een bestrijder wordt bepaald door een aantal factoren. De Clercq (2002) lijstte een aantal kenmerken op die zorgen dat predators plagen succesvol kunnen bestrijden in de vermeerderingsstrategie:

- (1) De predator moet de plaagpopulatie snel kunnen terugdringen
- (2) De predator is in staat de prooi snel te lokaliseren, voornamelijk bij lage plaagdichtheid
- (3) De predator kan zich goed aanpassen aan het heersende klimaat
- (4) De predator weet te overleven bij schaarste van zijn prooi
- (5) De predator kan gemakkelijk en goedkoop gekweekt worden

- Ad (1): de predatie- en/of voortplantingssnelheid van de predator zou hoger moeten zijn dan de groeisnelheid van de plaagpopulatie (De Clercq, 2002). *Cryptolaemus montrouzieri* voldoet aan deze voorwaarde wegens een snelle ontwikkeling en hoog voortplantingsvermogen, maar vooral door zijn vraatzuchtig gedrag (Kairo *et al.*, 2013). Zowel de larven als de adulte kevers van *C. montrouzieri* zijn vraatzuchtige predators van alle stadia van wolluis. Een larve kan tijdens zijn ontwikkeling wel 4539 eitjes, 838 nimfen of 230 adulten van *Planococcus citri* consumeren en een adult vrouwtje kan dagelijks wel 186 eitjes, 19 nimfen of 10 adulte wolluizen consumeren (Attia *et al.*, 2011).

- Ad (2): de eigenschap om bepaalde signalen (bv. kairomonen) te gebruiken om de prooi te vinden wordt voornamelijk toegeschreven aan specialisten zoals parasitoïden (zie eerder, hoofdstuk 2.2.3.3). De veronderstelde willekeurige zoektocht van generalistische predators zou ook effectief kunnen zijn wegens hun hoge mobiliteit (De Clercq, 2002). Niettemin blijkt deze zoektocht niet volledig willekeurig te zijn, ook generalisten zouden op o.a. chemische signalen reageren (Dickens, 1999; zie verder, hoofdstuk 2.3.3.3).

- Ad (3): *Cryptolaemus montrouzieri* zou goed gedijen bij verschillende tropische en subtropische klimaten. Echter, bij temperaturen onder 20°C vermindert zijn efficiëntie sterk, waardoor bestrijding bij deze lagere temperaturen minder doeltreffend zou zijn (zie eerder, hoofdstuk 2.3.2.1).

- Ad (4): polyfagie en facultatieve fytofagie laten een predator toe tijdelijk te overleven op alternatieve voedselbronnen wanneer zijn voorkeursprooi schaars wordt. Polyfagie laat bovendien toe de predator te commercialiseren voor verschillende plaagsoorten (De Clercq, 2002). *Cryptolaemus montrouzieri* zou prooien accepteren in minstens acht families binnen de Hemiptera en zelfs prooien in andere ordes (Kairo *et al.*, 2013; zie verder, hoofdstuk 2.3.3.2). Facultatieve fytofagie wordt bij *C. montrouzieri* niet gerapporteerd.

- Ad (5): de polyfage natuur van *C. montrouzieri* laat ook toe de kever te kweken in een systeem met een artificiële dieet. Succesvolle kweeksystemen werden ontwikkeld waarbij *C. montrouzieri* een dieet krijgt van eitjes van *Ephestia kuehniella* (Maes *et al.*, 2014a) of een pollen-gebaseerd dieet met o.a. bijenpollen, eitjes van *E. kuehniella* en artemiacysten (Xie *et al.*, 2017).

Biologische bestrijdingsprogramma's met *C. montrouzieri* slagen niet altijd. Kairo *et al.* (2013) sommen een aantal oorzaken op waarom deze programma's soms mislukken, deze komen overeen met de eerder gegeven oorzaken voor predators in het algemeen (hoofdstuk 2.2.3.2): slechte aanpassing aan het klimaat, interferentie of predatie door andere organismen, effecten van gewasbeschermingsmiddelen of morfologische en chemische karakteristieken van de gastheerplant.

*Cryptolaemus montrouzieri* zou bovendien enkel efficiënt zijn wanneer de plaagpopulatie omvangrijk is (Bartlett, 1978; Moore, 1988). Bij een hoge plaagdichtheid zou *C. montrouzieri* ten eerste een hogere predatiecapaciteit hebben, omdat ze de prooien slechts gedeeltelijk zouden consumeren in tegenstelling tot een meer volledige consumptie van de prooi bij lagere dichtheden (Fand *et al.*, 2010). Ook zou ontwikkeling en reproductie lager liggen bij een lage plaagdichtheid (Kairo *et al.*, 2013), wat deels toe te schrijven is aan een gereduceerde ovipositie (Merlin *et al.*, 1996). Een laatste oorzaak die zorgt dat *C. montrouzieri* een lage persistentie kent bij lage plaagdichtheden is kannibalisme. Dit komt voor bij larven wanneer ze niet genoeg prooien vinden (Kishore *et al.*, 1993). Een soms lage persistentie zorgt dat de kevers regelmatig uitgezet moeten worden, wat de kost van de bestrijding doet toenemen.

### 2.3.3.2. Prooibereik

Kairo *et al.* (2013) geven een overzicht van een heel aantal prooiorganismen waarvan bekend is dat *C. montrouzieri* ze predeert. De prooien worden hierbij in twee groepen onderverdeeld: prooien die ontwikkeling en reproductie van de roofkever ondersteunen (essentieel voedsel) en prooien die wel geconsumeerd worden, maar ontwikkeling en reproductie niet ondersteunen (of waarbij dit niet geweten is) (alternatief voedsel). Ontwikkeling en reproductie is mogelijk als de voedselbron nutritioneel voldoet en er een geschikt substraat is voor ovipositie (Maes *et al.*, 2014a). De meeste species in het overzicht behoren tot de familie van de wolluizen (Pseudococcidae), die de voorkeursprooi van *C. montrouzieri* blijken uit te maken.

De drie belangrijkste wolluissoorten in de Vlaamse sierteelt (*P. citri*, *P. longispinus* en *P. viburni*) blijken volgens Kairo *et al.* (2013) zowel ontwikkeling als reproductie te ondersteunen. Deze veronderstelling steunt grotendeels op observaties in het veld en niet steeds op gecontroleerde proeven. Attia *et al.* (2011) bevestigen de ontwikkeling op *P. citri* in gecontroleerde omstandigheden. De interactie tussen *C. montrouzieri* en *P. longispinus* is nog niet uitgebreid onderzocht. Volgens de commerciële sites van Koppert en Entocare zou *C. montrouzieri* inzetbaar zijn ter bestrijding van de drie soorten. Bestrijding van *P. longispinus* toont in het veld echter wisselend succes. *Cryptolaemus montrouzieri* kon zich bijvoorbeeld niet vestigen in een populatie van *P. longispinus* in een avocadoplantage (Swirski *et al.*, 1980). Ook in een kasteelt van *Dracaena* bleek een populatie *P. longispinus* helemaal niet geremd bij een introductie van *C. montrouzieri* (Boertjes *et al.*, 2003). Anderzijds werden in een bestrijdingsprogramma in orchideeën goede resultaten behaald. Bij een introductie van *C. montrouzieri* nam hier het aantal planten aangetast met *P. longispinus* snel af. Ontwikkeling van de larven tot adulten werd hierbij bevestigd, maar reproductie op *P. longispinus* is onzeker (Hennekam *et al.*, 2014). De problemen bij de andere bestrijdingsprogramma's liggen dus niet noodzakelijk bij de soort, maar zouden het resultaat kunnen zijn van bijvoorbeeld een beperkte plaagdensiteit. Bij Swirski *et al.* (1980) bleken ook gewasbeschermingsmiddelen een rol te spelen.

Naast wolluizen zou *C. montrouzieri* ook andere prooiorganismen accepteren. De prooien lijken vooral sedentaire soorten binnen de Hemiptera te zijn, zoals verschillende families schildluisachtigen (o.a. Coccidae, Dactylopiidae, Monophlebidae), wittevliegen (Aleyrodidae) of bladluizen (Aphididae). Ook eitjes van Lepidoptera (o.a. *Sitotroga cerealella* en *Galleria mellonella*) en van lieveheersbeestjes (Coleoptera: Coccinellidae) kunnen tot het dieet van *C. montrouzieri* behoren (Kairo *et al.*, 2013; Maes *et al.*, 2014b). Het prooibereik steunt tegenwoordig grotendeels op enkele waarnemingen in het veld en de invloed van de prooien op de roofkever zijn weinig onderzocht. Wel hebben Maes *et al.* (2014b) reeds bewezen dat niet elke prooi even geschikt is. Niet alle prooien dragen bij tot ontwikkeling en reproductie van *C. montrouzieri* en bij de prooien die dat wel doen zijn er grote verschillen onderling. Uit dit onderzoek bleek nogmaals dat vooral de Hemiptera, met in het bijzonder wolluizen maar ook bijvoorbeeld bladluizen (*Myzus persicae*), geschikte prooien zijn.

De eerder generalistische natuur van *C. montrouzieri* zorgt ervoor dat de kever kan overleven op alternatieve prooien wanneer wolluis tijdelijk afwezig is of de populatiedichtheid hiervan laag is. Bovendien zou hij hierdoor mogelijk kunnen bijdragen tot de bestrijding van andere plagen dan wolluis (bv. bladluis). Anderzijds zorgt dit er ook voor dat eventueel interferentie ontstaat met andere bestrijders, door het rechtstreeks prederen hiervan of het ontnemen van hun voedsel.





**Figuur 2.8.** Enkele door *C. montrouzieri* geaccepteerde prooien. Van links naar rechts: *Myzus persicae* (bron: [www.koppert.be](http://www.koppert.be)), *Dactylopius* sp. (*Dactylopiidae*) (bron: [www.commons.wikimedia.org](http://www.commons.wikimedia.org)), *Pulvinaria hydrangeae* (*Coccidae*) (bron: [www.entocare.nl](http://www.entocare.nl)), *Icerya purchasi* (*Monophlebidae*) (bron: [www.commons.wikimedia.org](http://www.commons.wikimedia.org)).

### 2.3.3.3. Zoekvermogen

Een efficiënt zoekvermogen om prooien op te sporen is belangrijk voor een stabiele en integrale bestrijding. Deze eigenschap wordt vooral toegeschreven aan parasitoïden en werd hier ook reeds best bij bestudeerd. Onterecht werd soms gepostuleerd dat roofinsecten een volledig willekeurige zoekstrategie hebben en enkel prooien detecteren bij fysiek contact. Ondertussen blijkt namelijk dat ook roofinsecten specifieke mechanismen ontwikkeld hebben om hun prooien te lokaliseren, hoewel deze mechanismen nog maar weinig doorgrond zijn (Heidari & Copland, 1992; Finlay-Doney & Walter, 2012). Reeds in 1980 werd opgemerkt dat leden van de Coccinellidae hun prooien kunnen vinden vóór fysiek contact optreedt. Zo zouden ze zowel visuele als chemische prikkels gebruiken om hun prooien op te sporen (Stubbs, 1980).

Ook bij *C. montrouzieri* werden een aantal studies uitgevoerd naar zijn zoekvermogen. Heidari & Copland (1992) bewezen in licht/donker- en olfactometrische experimenten dat adulte kevers zowel reageren op visuele stimuli als chemische stoffen die door wolluizen geproduceerd worden. Larven zouden volgens hen de prooi enkel waarnemen bij fysiek contact. Dit laatste wordt tegengesproken door Kotikal & Sengonca (1999). In olfactometrische studies toonden zij aan dat zowel de adulten als de larven hun prooi bereiken via chemische signalen. Bovendien reageerde *C. montrouzieri* in deze studie meer op de chemische stoffen van *P. citri* dan die van prooien binnen andere families, wat opnieuw een aanwijzing is dat wolluizen de voorkeursprooi zijn.

Bij de chemische stimuli horen allicht de seksferomonen die wolluizen produceren. In dat opzicht vormen synthetische feromonen een mogelijk hulpmiddel in de bestrijdingsstrategie om de predator te lokken. De reactie van de kever op de seksferomonen is bovendien afhankelijk van de soort wolluis die ze aanmaakt (Urbina *et al.*, 2018), waardoor er potentieel een verschil ontstaat in de efficiëntie van bestrijding van verschillende soorten. De reactie op de chemische stimuli zou sterker zijn wanneer de kevers uitgehongerd zijn (Sengonca *et al.*, 1995).

Naast zijn functie als additionele voedingsbron, zou de aanwezigheid van honingdauw ook dienen als aanwijzing in de zoektocht van *C. montrouzieri* naar een prooi. Zowel adulten als larven blijken namelijk langer te zoeken in de buurt van honingdauw (Heidari & Copland, 1993). Of *C. montrouzieri* ook reageert op geurstoffen die planten afscheiden wanneer ze aangevallen worden door wolluis is nog onduidelijk.

#### 2.3.3.4. *Cryptolaemus montrouzieri* versus parasitaire wespen

De commercieel meest gebruikte biologische bestrijders van wolluis kunnen ingedeeld worden in twee groepen: predators, waarbij *C. montrouzieri* de belangrijkste is, en sluipwespen. Panis (1979) wijst op de voordelen van sluipwespen t.o.v. de roofkever. Zowel sluipwespen als roofkevers reageren op chemische signalen. Panis (1979) stelt dat sluipwespen efficiënter reageren op deze signalen en zo een sterker zoekvermogen bezitten, hoewel hier nog geen objectief vergelijkende studie over gedaan werd. Aangezien sluipwespen daarnaast slechts één gastheer nodig hebben voor hun ontwikkeling, kunnen ze zich beter in stand houden bij een lage populatiedensiteit en zijn minder grote hoeveelheden wolluis nodig om populaties van sluipwespen te ondersteunen. Hierdoor is ook de kweek gemakkelijker en goedkoper dan deze van roofkevers. Deze situatie is tegenwoordig gewijzigd, wegens de ontwikkeling van (semi-) artificiële kweeksystemen voor *C. montrouzieri* (zie eerder). Anderzijds is *C. montrouzieri* veel vraatzuchtiger en zal de kever veel sneller populaties van wolluis kunnen reduceren, wat een snel resultaat oplevert. Een tweede voordeel van de roofkever is zijn generalistische natuur, waardoor hij ingezet kan worden tegen verscheidene soorten wolluis, in tegenstelling tot de meeste soorten sluipwespen.

In dit opzicht hebben *C. montrouzieri* en de verschillende parasitaire wespen een complementaire werking en zou het interessant zijn om beide soorten tegelijkertijd in te zetten. *Cryptolaemus montrouzieri* doet hierbij eerder dienst als haardbestrijder die clusters van wolluizen en eitjes verorbert, terwijl de sluipwespen verspreide individuen goed kunnen opsporen en parasiteren, om zo in totaal een zo compleet mogelijke bestrijding te verkrijgen. In citrusboomgaarden zou deze strategie bijvoorbeeld een goed idee zijn (Panis, 1979). Ook in de sierteelt kan deze strategie mogelijk zijn, om hiermee een meer complete bestrijding te bekomen. De verhoogde kosten wegens de aanschaf van in dit geval twee soorten natuurlijke vijanden kunnen een belemmering vormen bij de vermeerderingsstrategie.

Studies hebben inderdaad al aangetoond dat het gezamenlijk inzetten van meerdere soorten natuurlijke vijanden (bv. combinatie lieveheersbeestjes en sluipwespen) een betere bestrijding kan geven (Cardinale *et al.*, 2003). Sommige auteurs betwijfelen echter de compatibiliteit van deze twee soorten bestrijders. Incompatibiliteit kan veroorzaakt worden door competitie voor dezelfde prooi/gastheer. Ten tweede is er aangetoond dat *C. montrouzieri* ook voedt op geparasiteerde wolluizen (in het Engels 'intraguild predation' genoemd), en zo de populatiegroei van sluipwespen benadeelt (Muştu *et al.*, 2008). Deze redenen kunnen er voor zorgen dat de prestatie van sluipwespen tot wel de helft daalt bij uitzetten van *C. montrouzieri* (Chong & Oetting, 2007; Prakasan & Bhat, 1985).

Aangezien *C. montrouzieri* en sluipwespen regelmatig samen waargenomen worden in het veld (Panis, 1981), moet het ook mogelijk zijn beide organismen simultaan in te zetten in een bestrijdingsprogramma. Muştu *et al.* (2008) en Chong & Oetting (2007) stellen voor om het inzetten van de predator in zo'n programma uit te stellen tot één à twee weken na vrijlating van sluipwespen om de kansen van beide bestrijders te optimaliseren.

## 3. Insectenkweek

### 3.1. Kweek van wolluis

De twee soorten wolluis die in de proeven gebruikt worden, *Pseudococcus longispinus* en *Planococcus citri*, werden gekweekt in het Laboratorium voor Agrozoölogie (UGent, Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Vakgroep Plant en Gewas). De populatie van *P. citri* en een deel van de populatie van *P. longispinus* waren oorspronkelijk afkomstig van het Proefcentrum voor Sierteelt (PCS), waar de wolluissoorten op *Ficus benjamina* vermeerderd werden. De populatie van *P. longispinus* was daarnaast ook deels afkomstig uit een woonkamer waar de wolluis gevonden werd op *Cordyline australis*, een plant die zelf ook afkomstig was van het PCS. Beide wolluissoorten werden gekweekt op aardappelscheuten. De aardappelen met wolluis werden gehouden in plastic dozen van verschillende formaten, die bekleed waren met keukenpapier. De dozen waren afgesloten, maar hadden bovenaan een fijnmazig gaas om uitwisseling met de buitenlucht mogelijk te maken. De wolluisen kregen regelmatig nieuwe aardappelen met scheuten aangeboden en het keukenpapier werd geregeld vervangen. Alle dozen werden gehouden in een klimaatkast die ingesteld stond op  $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$  en een relatieve vochtigheid van 65%. In de klimaatkast was het voortdurend donker, opdat de aardappelen niet groen worden.

### 3.2. Kweek van *Cryptolaemus montrouzieri*

Naar het voorbeeld van Maes *et al.* (2014a) werd *C. montrouzieri* gekweekt in een artificieel systeem met eitjes van *Ephestia kuehniella* en watten. De volwassen kevers zaten per generatie in groep samen in plastic dozen (grondvlak 28x14 cm, hoogte 10 cm), die bekleed waren met keukenpapier. Voor luchtuitwisseling zat er in het deksel een opening, afgesloten met keukenpapier. In de dozen bevond zich een lege keukenrol, opgevuld met opgerold keukenpapier, als schuilplaats. De kevers kregen eitjes van *E. kuehniella* (UV-behandeld en diepgevroren) aangeboden als voedsel. Daarnaast werd een potje met vochtige watten in de doos geplaatst als waterbron. Ook kregen de kevers watten aangeboden ("Rolta® soft" polsterzachtels) als artificieel ovipositie-substraat. Driemaal per week werd nieuw voedsel toegediend, de watten herbevochtigd en het ovipositie-substraat vernieuwd.

Het ovipositie-substraat met eitjes werd dan in afzonderlijke plastic potjes gelegd (diameter 9 cm, hoogte 4 cm), waarin de uit de eitjes ontloken larven van *C. montrouzieri* werden opgegroeid tot het adult stadium. Onderin deze potjes werd keukenpapier gelegd. In het deksel zat gaas met een maaswijdte van 0,12 mm. De larven kregen driemaal per week eitjes van *E. kuehniella*. Wanneer de larven verpopt waren, werden ze overgeplaatst in de doos met adulten van dezelfde generatie. Zowel de larven als de adulten werden gehouden in een klimaatkast die ingesteld staat op  $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , een relatieve vochtigheid van 65% en een lichtregime van 16:8 uur (licht:donker). Alle kevers en larven die in de proeven gebruikt zijn werden voor 12 tot 22 generaties gekweekt volgens dit systeem, tenzij anders vermeld.

## 4. Karakterisering van de larvale stadia van *C. montrouzieri*

### 4.1. Inleiding

Bij de verdere proeven zal het belangrijk blijken om het stadium van de larven van *Cryptolaemus montrouzieri* te kunnen bepalen op een makkelijke en betrouwbare manier. Larven opvolgen vanaf ontluiking uit het ei en vervellingen registreren is een solide mogelijkheid, maar is een tijdrovende methode en soms onmogelijk. Een andere optie is biometrie, of karakterisering via lichaamsafmetingen van de larven. Wegens de sclerotisatie van het integument van insectenlarven is de postembryonale groei stapsgewijs. Sterk gesclerotiseerde delen van het lichaam van de larve, zoals het kopkapsel bij keverlarven, zullen daardoor dezelfde afmetingen behouden binnen een stadium. Hierdoor is het mogelijk een constante relatie te vinden tussen deze afmetingen en het ontwikkelingsstadium. Bij *C. montrouzieri* werd de relatie tussen de breedte van het kopkapsel en het stadium reeds eerder onderzocht (Deokar, 2011; Torres *et al.*, 2012; Surwase, 2014). De variabiliteit tussen de verschillende auteurs is echter groot en de breedte van het kopkapsel blijkt bovendien afhankelijk van de temperatuur (Torres *et al.*, 2012) en de proisoort (Surwase, 2014). Daarom wordt de kopkapselbreedte hier opnieuw onderzocht onder de omstandigheden waarin *C. montrouzieri* gekweekt wordt om deze parameter te kunnen gebruiken ter voorspelling van het stadium.

### 4.2. Materiaal en methode

Voor deze proef werden larven van *Cryptolaemus montrouzieri* opgevolgd doorheen hun vier larvale stadia. Wanneer de larven uit het ei ontloken, werden ze individueel in kleine plastic potjes gehouden (diameter 5 cm, hoogte 1,2 cm). Voor luchtuitwisseling was het deksel voorzien van een opening (diameter 1,3 cm) met gaas voor. De bodem was bekleed met keukenpapier dat aan de bodem werd vastgekleefd met kneedlijm. De larven werden ad libitum gevoerd met eitjes van *Ephestia kuehniella* en werden gehouden in een klimaatkast, ingesteld op  $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , 65% relatieve vochtigheid en een lichtregime van 16:8 uur (licht:donker).

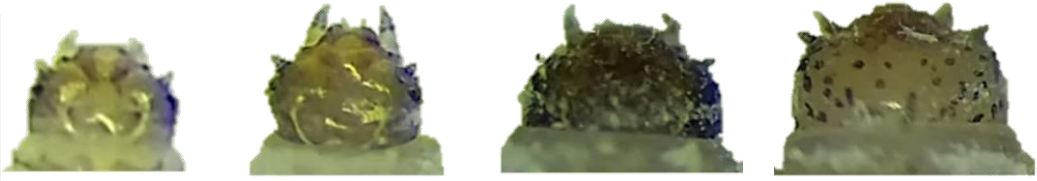
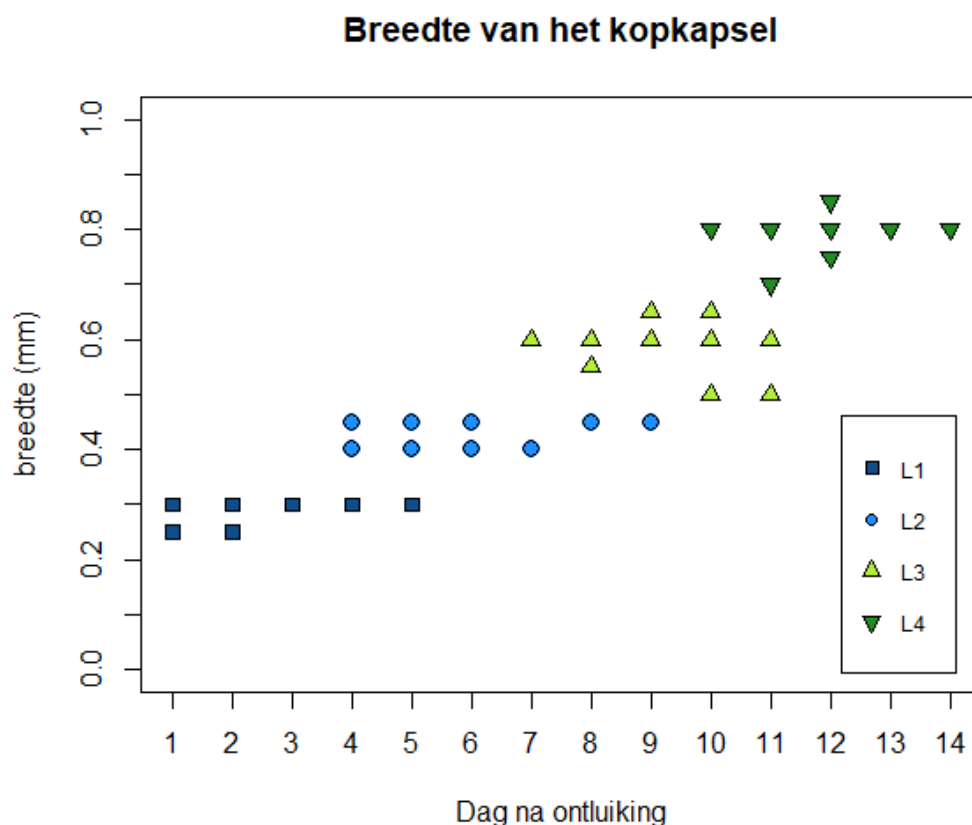
Vijftien larven werden opgevolgd tot veertien dagen na ontluiking. Er werd geregistreerd wanneer vervelling plaatsvond. Daarnaast werd de breedte van het kopkapsel van de larven gemeten, op meerdere dagen binnen elk stadium. Deze meting gebeurde door de larven op een meetlat (resolutie: 0.1 mm) te plaatsen en een foto te nemen onder een trinoculaire stereomicroscoop (via programma *Las V4.0*), waarna de foto manueel geanalyseerd werd. De maximale breedte van het kopkapsel werd gemeten met een precisie van 0,05 mm. Wasdraden rond de kop van de larve werden weggehaald met een penseel en de larve werd met een penseel lichtjes gepord, opdat ze in beweging kwam en de kop niet onder het halsschild verborgen zat.

### 4.3. Resultaten

De resultaten van de metingen van de kopkapselbreedte staan samengevat in Tabel 4.1. Figuur 4.1 geeft een overzicht van alle meetpunten in relatie tot het stadium en het aantal dagen na ontluiking (opmerking: in de meetpunten is veel overlap aanwezig). Deze figuur kan gebruikt worden om af te leiden welke stadia men kan verwachten op een bepaalde dag na ontluiking bij de gegeven temperatuur. Na veertien dagen bevonden quasi alle larven zich in de inactieve prepofase.

**Tabel 4.1.** Gemiddelde kopkapselbreedte ( $\pm$ SD) en gemeten minimum en maximum per larvaal stadium (L1-L4); n geeft het aantal metingen weer waarop de cijfers gebaseerd zijn.

Stadium	L1 (n=47)	L2 (n=26)	L3 (n=39)	L4 (n=35)
Gemiddelde breedte (mm)	0.30 $\pm$ 0.01	0.41 $\pm$ 0.03	0.59 $\pm$ 0.03	0.79 $\pm$ 0.03
Min – Max (mm)	0.25 – 0.30	0.40 – 0.45	0.50 – 0.65	0.70 – 0.85

**Figuur 4.1.** Overzicht van de meetpunten van de kopkapselbreedte in functie van de larvale ontwikkeling, met aanduiding van het larvaal stadium (L1-L4).

## 4.4. Discussie

De larven van *C. montrouzieri* laten niet makkelijk toe hun kopkapselbreedte te meten. Dit komt door de vele wasachtige structuren boven het hoofd, de snelheid van de larven en het feit dat het hoofd deels onder het halsschild zit wanneer de larve in rust is. De methode die hier gebruikt wordt is vrij omslachtig en inefficiënt, maar ze is nodig om nauwkeurige metingen te bekomen. Nu de breedte van het kopkapsel van elk stadium bepaald is, is het gebruik van een gegradeerd en gekalibreerd oculair bij een stereomicroscoop mogelijk om een snellere inschatting van de kopkapselbreedte te bekomen. De resolutie van de foto's en de onderverdeling van het gebruikte latje lieten niet toe accurater te meten dan 0,05 mm, wat een lage precisie is t.o.v. de absolute waarden van de kopkapselbreedte.

Ondanks deze beperkingen, wordt toch een vrij lage variabiliteit geobserveerd (Tabel 4.1). Nog belangrijker om op te merken is dat, wanneer de minimum en maximum gemeten waarden beschouwd worden, er geen overlap bestaat tussen de kopkapselbreedtes van verschillende stadia (ook te zien in Figuur 4.1). Bijgevolg kan bij een gegeven kopkapselbreedte het bijhorend stadium bepaald worden met zekerheid, wanneer de omstandigheden gelijk zijn aan deze hier.

De gemeten gemiddelde kopkapselbreedtes komen sterk overeen met de bevindingen van Torres *et al.* (2012). De resultaten van Deokar (2011) zijn lichtjes verschillend van de hier berekende gemiddelden, wat voornamelijk blijkt toe te schrijven aan het effect van het dieet. Toch is het belangrijk op te merken dat geen van zijn kopkapselbreedtes van een bepaald stadium binnen het hier gemeten interval van een ander stadium valt. Een vergelijking van de huidige resultaten met het onderzoek van Torres *et al.* (2012) en Deokar (2011) geeft aan dat de kopkapselbreedte van een stadium binnen een bepaald interval blijft in niet te extreem afwijkende situaties. De resultaten van Surwase (2014) zijn om onverklaarbare redenen sterk afwijkend van de huidige metingen, waardoor toch steeds voorzichtig omgegaan moet worden met het extrapoleren van deze resultaten naar andere omstandigheden.

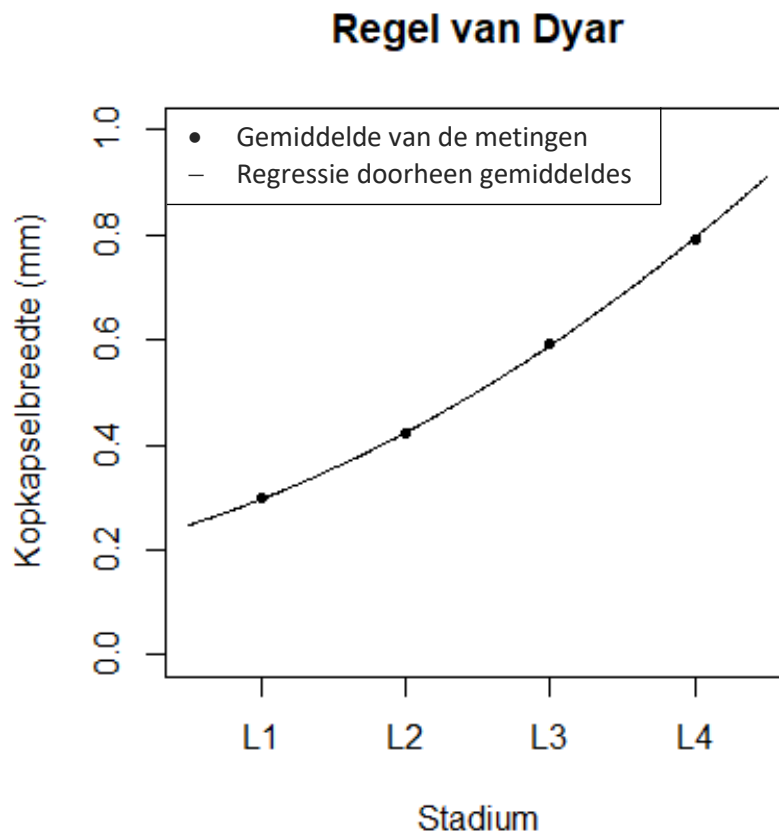
Dyar (1890) stelde vast dat de kopkapselbreedtes van opeenvolgende larvale stadia een meetkundige reeks vormen. Dit staat bekend als de regel van Dyar. De metingen in dit onderzoek werden onderworpen aan deze regel en blijken eraan te voldoen. Een tweedegraadsvergelijking (meetkundige reeks) kan de gemiddeldes bijna foutloos beschrijven (Figuur 4.2). Dit bevestigt dat de resultaten, zoals voorgesteld in Tabel 4.1, correct zijn. Omgekeerd, aangezien de vervellingen gecontroleerd opgevolgd werden, bevestigen deze resultaten de regel van Dyar.

Andere metingen op het lichaam van de larve, zoals de totale lengte of de breedte van het halsschild, werden hier niet onderzocht. Deze delen tonen meer variabiliteit wegens een beperktere sclerotisatie, en zijn daarom ongeschikt om de larven van *C. montrouzieri* eenduidig in te delen in stadia (Torres *et al.*, 2012).

Naast kwantitatieve kenmerken kunnen de larvale stadia ook gekarakteriseerd worden aan de hand van kwalitatieve morfologische kenmerken. Zo kan het vierde larvaal stadium ook herkend worden aan de zwarte stippen die enkel bij dit stadium aanwezig zijn op het kopkapsel (zie foto in Tabel 4.1). Daarnaast zijn pas vervelde larven van *C. montrouzieri* duidelijk te onderscheiden van larven later in elk stadium. Juist vervelde larven zijn namelijk niet bedekt met wasachtige structuren en de sclerotisatie van de lichaamswand is niet voltooid (Figuur 4.3). Dit laatste is best waarneembaar bij

het kopkapsel, dat een lichtgele kleur heeft net na vervelling in tegenstelling tot de normaal erg donkere kleur. Deze verdere onderverdeling van de ontwikkelingsgraad binnen het stadium werd toegepast bij de bepaling van de predatiecapaciteit (zie verder).

Samengevat blijkt de kopkapselbreedte een uiterst geschikte parameter ter bepaling van het larvaal stadium van *C. montrouzieri*. De methode is veel sneller dan het opvolgen van vervellingen en toch erg betrouwbaar.



**Figuur 4.2.** Illustratie van de regel van Dyar, toegepast op de gemiddelde kopkapselbreedtes van de respectievelijke larvale stadia (L1-L4)(Regressie:  $y = 0.209 + 0.069*x + 0.019*x^2$ ;  $R^2 = 0.9999$ ).



**Figuur 4.3.** Derde stadium larven van *C. montrouzieri*: net verveld (links), drie uur na vervelling (midden) en 24 uur na vervelling (rechts).

## 5. Predatiecapaciteit

### 5.1. Inleiding

Het gebruik van *Cryptolaemus montrouzieri* tegen de langstaartwolluis *P. longispinus* in serre- en veldomstandigheden werd reeds een aantal keer gerapporteerd (Swirski *et al.*, 1980; Boertjes *et al.*, 2003; Hennekam *et al.*, 2014; Nimmo, 2016). In enkele gevallen bestrijdt de roofkever de wolluis vrij goed, maar vaak reduceert hij de wolluispopulaties slechts weinig of zelfs helemaal niet. In de artikels werd niet uitgeklaard wat de exacte oorzaak is voor deze beperkte werking. In de gegeven testomstandigheden spelen veel factoren een rol en kan de oorzaak bij (een combinatie van) verschillende aspecten liggen. Veel wordt bepaald door de situatie zelf zoals het klimaat, de waardplant, de populatiekarakteristieken van zowel de prooi als de predator,... Doch de predatie van de soort *P. longispinus* door *C. montrouzieri* is nog niet in gecontroleerde omstandigheden getest, noch gekwantificeerd.

In de zoektocht naar waar de problemen bij de bestrijding zitten is het belangrijk de interactie tussen de prooi en de predator in detail te onderzoeken. Het is duidelijk dat *C. montrouzieri* langstaartwolluis predeert (o.a. Hennekam *et al.*, 2014), maar er is een gebrek aan kwantificatie van deze predatie. Bij andere wolluissoorten, zoals *P. citri*, werd hierover wel reeds onderzoek gedaan, en het blijkt dat de predatiecapaciteit van *C. montrouzieri* sterk kan verschillen tussen verschillende wolluissoorten (bv. Ambule *et al.*, 2014). Daarom werd in deze proef de predatiecapaciteit van *C. montrouzieri* t.o.v. *P. longispinus* bepaald, waarbij vergeleken wordt met *P. citri* als referentie.

### 5.2. Materiaal en methode

De predatiecapaciteit wordt hier gedefinieerd als het aantal wolluizen dat de predator binnen 24 uur kan afdoden (en daarbij volledig of gedeeltelijk consumeert). De predatiecapaciteit van zowel adulten als larven van *C. montrouzieri* werd in deze labotesten nagegaan. Beide stadia werden getest t.o.v. wolluisnimmfen en adulte wolluizen, zowel van *P. longispinus* als van *P. citri*. Bij de keveradulten werd bovendien een onderscheid gemaakt tussen vrouwtjes en mannetjes. Alle proeven verliepen bij  $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , een relatieve vochtigheid van 65% en een lichtregime van 16:8 uur licht:donker.

In de proefopzet dienden drie bladeren van *Ficus benjamina* als substraat. De bladeren werden gewassen en in een plastic petrischaal gelegd met een hoogte van 2 cm, een diameter van 9 cm en gaas in het deksel met een maaswijdte van 0,12 mm. Bij de proeven met adulte kevers werden 25 adulte wolluizen of 80 wolluisnimmfen in de petrischaal overgebracht. Voor proeven met keverlarven werden slechts 20 adulte wolluizen of 60 wolluisnimmfen in de petrischaal gezet.

Beide stadia van *P. citri* en de nimmfen van *P. longispinus* werden rechtstreeks uit de kweek geselecteerd. Vrouwtjes van *P. longispinus* zijn ovovivipaar, waardoor ze tijdens de proef crawlers zouden kunnen voortbrengen die de resultaten kunnen beïnvloeden. In een klein experiment kregen volwassen kevers een hoeveelheid crawlers of een combinatie van wolluisnimmfen en crawlers aangeboden (*P. longispinus*). In beide situaties was het na 24 uur duidelijk dat de kevers ook een groot aantal crawlers hadden geconsumeerd, waardoor de crawlers inderdaad een invloed kunnen hebben op predatiecijfers bij de proeven met adulte wolluizen. Om dit te voorkomen werden langstaartwolluizen apart op aardappelscheuten opgegroeid, waarbij mannelijke wolluizen steeds weggehaald werden voor ze volwassen waren. Op deze manier werden enkel onbevruichte vrouwtjes



van *P. longispinus* gebruikt in het experiment. Adulte wolluizen werden overgedragen via een fijn penseel. Bij *P. citri* werden adulte wolluizen geselecteerd die geen eizak hadden. Nimfen werden uit de kweek gehaald met een fijn penseel en via een aspirator (Figuur 5.1) in de petrischaal gebracht.

Het onderscheid tussen wolluisnimfen en adulte wolluizen werd gemaakt op basis van grootte, kleur en de ontwikkeling van de waslaag. Op deze manier werd bij de nimfen een mix van de verschillende nimfale stadia bekomen. De kleinste nimfen (crawlers) werden niet geselecteerd.



**Figuur 5.1.** Aspirator gebruikt voor het overbrengen van de wolluisnimfen (foto auteur).

Uit de kweek werden net ontpopte adulten van *C. montrouzieri* gehaald en in groepjes van tien tot dertig kevers gezet, waarbij steeds beide geslachten aanwezig waren. Gedurende een week kregen de kevers de kans geslachtsrijp te worden en te paren, waarbij ze voorzien werden van eitjes van *E. kuehniella* als voedsel, watten en water. Voor de aanvang van de proef werden de kevers 24 uur uitgehongerd. Net voor de start van de proef werden de kevers gewogen (Sartorius Genius ME215P,  $\pm 0,01$  mg), waarna in elke petrischaal met wolluizen één kever gezet werd. Vrouwelijke kevers kregen bovendien een klein stuk watten ("Rolta® soft" polsterzwachtels) aangeboden voor eileg. Bij ieder geslacht werd de proef in zeven herhalingen uitgevoerd. Na 24 uur werden de kevers uit de petrischaal gehaald en onmiddellijk gewogen. De overblijvende wolluizen werden geteld, waarbij een onderscheid gemaakt werd tussen levende wolluizen, die nog in staat waren te bewegen, dode wolluizen en gedeeltelijk geconsumeerde wolluizen. De laatste twee categorieën verschillen in respectievelijk de af- of aanwezigheid van predatiesporen. Het aantal volledig geconsumeerde wolluizen werd afgeleid uit het verschil met de initieel aangeboden wolluizen.

Bij de proeven met larven van *C. montrouzieri* werd het derde larvaal stadium gebruikt. Op basis van de bleke kleur van het kopkapsel werden net vervelde keverlarven uit de kweek geselecteerd en via de breedte van het kopkapsel werd gecontroleerd of ze tot het derde stadium behoren (zie hoofdstuk 4). De keverlarven werden gewogen en rechtstreeks in de petrischaal met wolluizen gebracht (geen uithongering). 24 uur later werden de larven uit de petrischaal gehaald en gewogen. De telling van de wolluis gebeurde op dezelfde manier als bij de adulten. Iedere behandeling met larven werd acht keer herhaald.

In de proeven werden ook controles opgenomen, waarbij wolluizen (nimfen en adulten van *P. citri* en *P. longispinus*) getest werden volgens de beschreven proefopzet, maar in de afwezigheid van *C. montrouzieri*. Dit heeft als doel de natuurlijke mortaliteit na te gaan. Deze controles werden in viervoud uitgevoerd.

De totale predatie (de som van zowel de volledig als de gedeeltelijk geconsumeerde wolluizen) werd tenslotte vergeleken tussen de twee wolluissoorten. De resultaten binnen iedere behandeling waren normaal verdeeld (Shapiro-Wilk test). Bij ieder stadium en geslacht van *C. montrouzieri* en bij ieder wolluisstadium werd de totale predatie op beide wolluissoorten vergeleken via de two-sample t-test met gelijke variantie. Levene's test wees uit dat de totale predatie telkens homoscedastisch was. De percentages gedeeltelijke en volledige consumptie werden bekomen door per behandeling de gemiddelde gedeeltelijke of volledige consumptie te delen door de gemiddelde totale predatie.

Alle kevers werden willekeurig geselecteerd uit de kweek, ter controle werd toch nagegaan of het gemiddelde startgewicht niet significant verschilde tussen de twee wolluissoorten bij ieder stadium en geslacht van *C. montrouzieri* en bij ieder wolluisstadium. Dit werd paarsgewijs uitgevoerd met de two-sample t-test met gelijke variantie. De startgewichten waren normaal verdeeld (Shapiro-Wilk test) en paarsgewijs homoscedastisch (Levene's test). De procentuele gewichtstoename van *C. montrouzieri* werd berekend door het verschil tussen start- en eindgewicht te delen door het startgewicht. De gewichtstoenames waren normaal verdeeld (Shapiro-Wilk test). Met de one-sample t-test werd nagegaan of de gemiddelde gewichtstoename van de kever bij iedere behandeling verschillend was van nul of niet. Bij de larven van *C. montrouzieri* werd bovendien onderzocht of er significante verschillen aanwezig waren door de gewichtstoename tussen beide wolluissoorten als prooi te vergelijken met de two-sample t-test met ongelijke variantie (behandelingen waren normaal verdeeld, Shapiro-Wilk test). Alle tests werden uitgevoerd op het 5% significantieniveau. De statistische analyse werd uitgevoerd in R (versie 3.5.3).

### 5.3. Resultaten

De natuurlijke mortaliteit van de wolluizen in de proef was steeds vrij laag (maximaal 10%). Aangezien bij de telling reeds een onderscheid gemaakt werd tussen dode wolluizen met en zonder predatiesporen, werd geen bijkomstige correctie uitgevoerd op basis van de natuurlijke mortaliteit in de controlebehandelingen. De gemiddelde predatiecapaciteit van verschillende stadia van *C. montrouzieri* t.o.v. adulten en nimfen van *P. citri* en *P. longispinus* wordt weergegeven in Tabel 5.1. Significante verschillen tussen de twee wolluissoorten worden waargenomen bij de totale predatie van adulte wolluizen door keverlarven ( $t = -2,27$ ;  $df = 14$ ;  $p = 0,039$ ) en de predatie van wolluisnimfen door adulte vrouwtjes van *C. montrouzieri* ( $t = -2,19$ ;  $df = 12$ ;  $p = 0,049$ ).

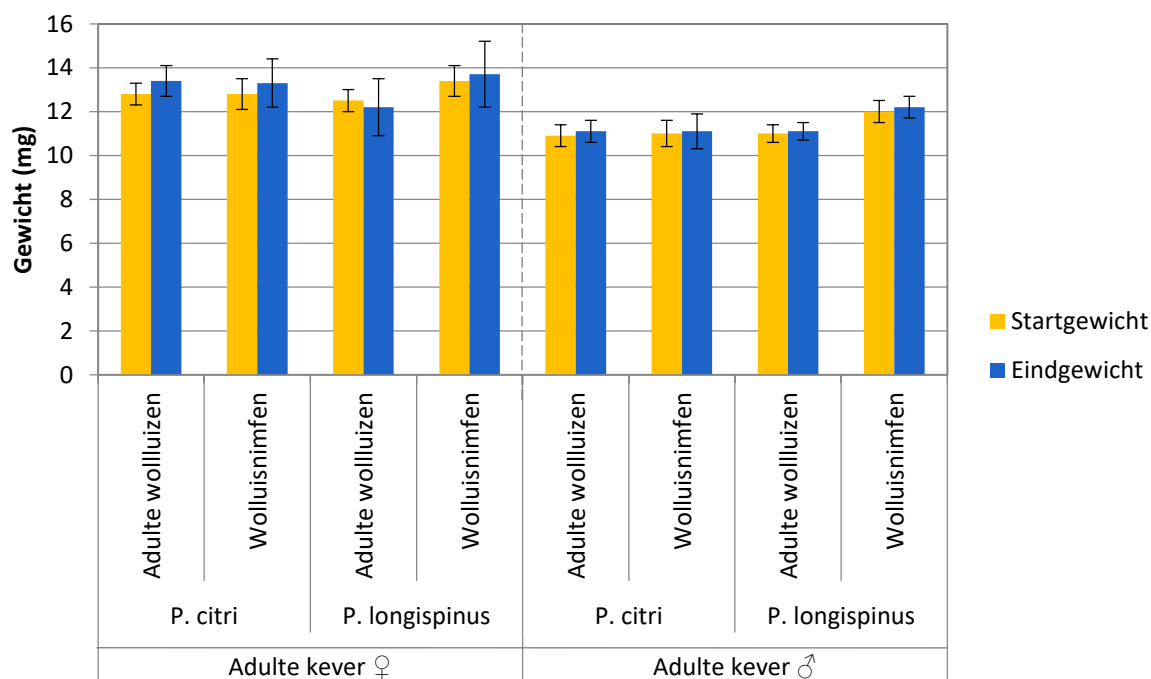
Ondanks dat de kevers willekeurig uit de kweek geselecteerd werden en dezelfde behandeling ondergingen, blijken de adulte mannetjes in de proeven met nimfen van *P. longispinus* gemiddeld significant zwaarder bij aanvang van de proef dan de mannetjes in de proeven met nimfen van *P. citri* ( $t = 3,35$ ;  $df = 12$ ;  $p = 0,0058$ ). Bij alle andere combinaties blijkt het startgewicht van de stadia van *C. montrouzieri* niet significant te verschillen ( $p > 0,05$ ; two-sample t-test).

Figuren 5.2 en 5.3 tonen het gemiddelde start- en eindgewicht van de adulte kevers en keverlarven bij de verschillende behandelingen. De gemiddelde gewichtstoename van *C. montrouzieri* tijdens de proef wordt weergegeven in Tabellen 5.2 en 5.3. De gemiddelde gewichtstoename is significant verschillend van nul bij de vrouwelijke kevers op adulten van *P. citri*, bij de mannelijke kevers op adulten en nimfen van *P. longispinus* en bij alle keverlarven ( $p < 0,05$ ; one-sample t-test). Bij de keverlarven is de gewichtstoename op *P. citri* nimfen bovendien significant groter dan op nimfen van *P. longispinus* ( $t = 2,56$ ;  $df = 8,93$ ;  $0,031$ ). De gewichtstoenames van de keverlarven op adulten van *P. citri* en *P. longispinus* zijn niet significant verschillend ( $t = 2,14$ ;  $df = 7,46$ ;  $p = 0,067$ ).

**Tabel 5.1.** Gemiddelde predatiecapaciteit ( $\pm$ SD) van *C. montrouzieri* t.o.v. *P. citri* en *P. longispinus*, met vermelding welk deel van de wolluizen gedeeltelijk/volledig geconsumeerd is.

<i>C. montrouzieri</i>	Wolluissoort	Totale predatie	<i>p</i>	% Gedeeltelijk geconsumeerd	% Volledig geconsumeerd
<b>Adulten</b>					
Adult ♀	<i>P. citri</i>	8,6 ± 2,9	(0,59)	45 %	55 %
	<i>P. longispinus</i>	7,6 ± 3,8		14 %	86 %
Adult ♂	<i>P. citri</i>	5,1 ± 1,8	(0,56)	57 %	43 %
	<i>P. longispinus</i>	4,6 ± 1,8		50 %	50 %
Larve (L3)	<i>P. citri</i>	4,0 ± 2,0	* (0,039)	90 %	10 %
	<i>P. longispinus</i>	1,7 ± 1,7		76 %	24 %
<b>Nimfen</b>					
Adult ♀	<i>P. citri</i>	64,4 ± 9,7	* (0,049)	1 %	99 %
	<i>P. longispinus</i>	52,1 ± 11,2		4 %	96 %
Adult ♂	<i>P. citri</i>	35,0 ± 14,9	(0,61)	6 %	94 %
	<i>P. longispinus</i>	39,0 ± 13,6		10 %	90 %
Larve (L3)	<i>P. citri</i>	37,9 ± 5,6	(0,65)	23 %	77 %
	<i>P. longispinus</i>	39,3 ± 6,1		15 %	85 %

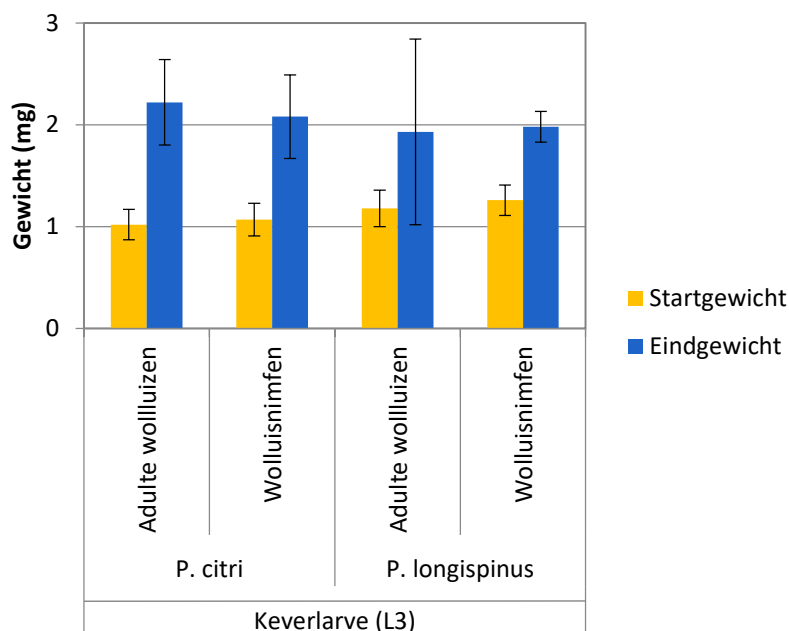
*P*-waarden van de two-sample *t*-test van de totale predatie zijn gegeven. *P*-waarden kleiner dan 0,05 worden aangeduid met een asterisk.

**Figuur 5.2.** Gemiddelde start- en eindgewicht ( $\pm$ SD) van *C. montrouzieri* adulten.

**Tabel 5.2.** Gemiddelde procentuele gewichtstoename ( $\pm$ SD) van *C. montrouzieri* adulten.

Vrouwelijke kevers		Mannelijke kevers	
Behandeling	Toename gewicht (%)	Behandeling	Toename gewicht (%)
<b>Adulten</b>		<b>Adulten</b>	
<i>P. citri</i>	<b>5,2 <math>\pm</math> 2,2</b>	<i>P. citri</i>	1,8 $\pm$ 2,3
<i>P. longispinus</i>	-2,4 $\pm$ 9,2	<i>P. longispinus</i>	<b>1,6 <math>\pm</math> 1,7</b>
<b>Nimfen</b>		<b>Nimfen</b>	
<i>P. citri</i>	4,4 $\pm$ 5,5	<i>P. citri</i>	0,6 $\pm$ 5,0
<i>P. longispinus</i>	2,5 $\pm$ 9,2	<i>P. longispinus</i>	<b>2,1 <math>\pm</math> 1,9</b>

Gemiddelden significant verschillend van nul zijn vet gedrukt ( $p < 0,05$ ; one-sample t-test).

**Figuur 5.3.** Gemiddelde start- en eindgewicht ( $\pm$ SD) van *C. montrouzieri* larven.**Tabel 5.3.** Gemiddelde procentuele gewichtstoename ( $\pm$ SD) van *C. montrouzieri* larven (L3).

Behandeling	Toename gewicht (%)
<b>Adulten</b>	
<i>P. citri</i>	<b>121 <math>\pm</math> 13</b>
<i>P. longispinus</i>	<b>66 <math>\pm</math> 72</b>
<b>Nimfen</b>	
<i>P. citri</i>	<b>90 <math>\pm</math> 31</b>
<i>P. longispinus</i>	<b>61 <math>\pm</math> 12</b>

Gemiddelden significant verschillend van nul zijn vet gedrukt ( $p < 0,05$ ; one-sample t-test).

## 5.4. Discussie

In Tabel 5.1 is het duidelijk dat de gemiddelde predatiecapaciteit van de *C. montrouzieri* vrouwtjes steeds hoger ligt dan deze van de mannetjes. Vrouwtjes van de Coccinellidae worden verondersteld meer voedsel nodig te hebben dan mannetjes voor de productie van eitjes (Mills, 1981). Het zoekgedrag van vrouwelijke lieveheersbeestjes zou gericht zijn op het vinden van geschikte prooien, terwijl mannetjes eerder op zoek gaan naar een partner (Hemptinne *et al.*, 1996).

De predatie van *P. citri* door *C. montrouzieri* werd ook onderzocht door Attia *et al.* (2011). Het aantal geconsumeerde adulten van *P. citri* door volwassen kevers was in die studie gelijkaardig aan de resultaten in Tabel 5.1 (in Attia *et al.* (2011) gemiddeld 10 en 7,5 adulte wolluizen per dag door vrouwtjes en mannetjes van *C. montrouzieri*, respectievelijk). De consumptie van wolluisnimmfen door adulte kevers lag in die studie anderzijds twee tot drie keer lager (gemiddeld 19 en 16 wolluisnimmfen per dag door vrouwtjes en mannetjes van *C. montrouzieri*, respectievelijk). Kevelarven van het derde stadium consumeerden in Attia *et al.* (2011) dan weer meer nimfen van *P. citri* (gemiddeld 48 per dag) en heel wat meer adulte wolluizen (gemiddeld 17 per dag).

De verschillen zijn groot, maar de proefopzet van Attia *et al.* (2011) wijkt ook af van deze hier. De adulte kevers werden bij de studie van Attia *et al.* (2011) geen 24 uur uitgehongerd, wat kan verklaren waarom ze minder wolluisnimmfen consumeerden. Bovendien wordt hier de predatierespons getest wanneer *C. montrouzieri* gekweekt werd op eitjes van *E. kuehniella*, terwijl de kevers in Attia *et al.* (2011) gedurende hun hele ontwikkeling *P. citri* aangeboden kregen. Antoons (2012) toonde echter aan dat het semi-artificiële kweekstelsel geen significante invloed heeft op de predatierespons. De predatiecijfers van de kevelarven waren bij Attia *et al.* (2011) een gemiddelde over het hele stadium, terwijl hier larven vroeg in het stadium gebruikt werden. Dit kan een verschil creëren, aangezien larven van *C. montrouzieri* op het einde van het derde stadium en aan het begin van het vierde stadium het meest vraatzuchtig zijn volgens Malais & Ravensberg (2002). Ook werd de proef bij Attia *et al.* (2011) uitgevoerd in heel wat kleinere arena's (oppervlakte 4 cm<sup>2</sup>) dan hier (oppervlakte 64 cm<sup>2</sup>). De geleidelijke en hemimetabole ontwikkeling van wolluizen maakt een vergelijking bovendien moeilijk omdat ook de gemiddelde grootte van de als prooi geselecteerde wolluizen kan verschillen tussen beide experimenten.

De experimenten in dit hoofdstuk waren bedoeld om de predatiecapaciteit van *C. montrouzieri* t.o.v. de twee wolluissoorten *P. citri* en *P. longispinus* te vergelijken. Er bestaat geen eenduidig onderscheid in predatie van de roofkevel op de twee soorten (zie Tabel 5.1). Zeker bij adulten van *C. montrouzieri* is de predatiecapaciteit bij beide wolluissoorten in dezelfde grootte-orde en heeft de kevel geen moeite met het prederen op *P. longispinus*. Dit is niet verrassend wegens de generalistische natuur van *C. montrouzieri* (Kairo *et al.*, 2013; Maes *et al.*, 2014b). In de resultaten zijn weinig significante verschillen te zien, maar wanneer er een verschil aanwezig is, is de predatiecapaciteit t.o.v. *P. longispinus* steeds iets lager dan die t.o.v. *P. citri*. Volgens Ambule *et al.* (2014) kunnen er verschillen in predatiecapaciteit optreden door o.a. een verschil in de omvang van de wassecreties op het lichaam en/of de grootte van de wolluizen.

Slechts eenmaal was de gemiddelde totale predatie op *P. longispinus* meer dan 10% hoger dan op *P. citri*, namelijk bij de predatie van mannelijke *C. montrouzieri* op wolluisninfen. Opvallend is dat net hier het startgewicht van de kever significant hoger ligt bij *P. longispinus* t.o.v. *P. citri*, wat mogelijk een invloed kan hebben. Anderzijds dient vermeld te worden dat er bij de predatie op *P. citri* bij een herhaling een erg lage totale predatie van slechts vijf wolluisninfen geobserveerd werd.

Bij de totale predatie door derde stadium keverlarven op *P. longispinus* adulten blijkt de predatiecapaciteit half zo laag te zijn als bij *P. citri* adulten. Het is opmerkelijk dat de totale predatie van *P. longispinus* door keverlarven in drie van de acht herhalingen gelijk is aan nul, terwijl er steeds minstens één adult van *P. citri* geconsumeerd werd.

*Pseudococcus longispinus* bezit verschillende mechanismen om zich te verdedigen tegen belagers. Gillani & Copland (1999) ontdekten dat deze wolluissoort in staat is te ontsnappen aan jongere gaasvliegglarven door ze weg te duwen, zelf weg te lopen of een vloeistof te excreteren die de monddelen van de gaasvliegglarve aan elkaar kleeft. Ook wanneer *P. longispinus* door *C. montrouzieri* wordt aangevallen vertoont de wolluis dit gedrag, wat blijkt uit observaties tijdens dit onderzoek. Bewegingen van het achterlijf zijn weinig succesvol tegen de veel grotere adulte roofkevers, maar eenmalig werd geobserveerd hoe een *P. longispinus* adult kon ontsnappen door uit zijn rectum een vloeistof te excreteren die op de monddelen van de adulte roofkever terecht kwam waardoor deze achteruit deinsde en een tijd lang zijn monddelen poetste. Bij *P. citri* werd het defensief gedrag hier niet geobserveerd, maar dit lijkt volgens de literatuur minder sterk ontwikkeld (Bugila *et al.*, 2014).

Lindemann & Richter (2007) vonden dat nimfen van *P. longispinus* goed bestrijdbaar zijn met larven van gaasvliegen, maar dat er meer moeilijkheden zijn bij adulten van *P. longispinus*. Ze vermoeden dat het defensief gedrag aan de basis ligt van dit verschil. Ook in deze predatieproeven wordt dit verschil opgemerkt bij de larven van *C. montrouzieri* (zie Tabel 5.1). De verdedigingsstrategie kan mogelijk verklaren waarom de keverlarven in drie van de acht herhalingen na 24 uur geen enkele adulte *P. longispinus* hebben geconsumeerd. In deze proeven werd gewerkt met *C. montrouzieri* larven van het derde stadium. Het zou kunnen dat jongere larvale stadia van *C. montrouzieri*, net als bij gaasvliegen, nog meer moeite hebben met de predatie op *P. longispinus* door dit defensief gedrag. Dit dient onderzocht te worden.

Er is steeds een deel van de wolluizen dat slechts gedeeltelijk geconsumeerd wordt. Vooral de larven van *C. montrouzieri* consumeren hun prooi vaak onvolledig. Volgens Hodek (1973) zullen uitgehongerde lieveheersbeestjes hun eerste prooi(en) die ze tegenkomen volledig verorberen, waarna ze hun prooien steeds minder volledig consumeren. Bij een hogere dichtheid van de prooi zal *C. montrouzieri* bovendien meer prooien slechts gedeeltelijk consumeren (Fand *et al.*, 2010).

Bij adulte kevers zijn er weinig trends te zien in de gewichtstoename (Tabel 5.2), wat niet abnormaal is aangezien dit een reeds volgroeid stadium is. Bij de keverlarven (Tabel 5.3) zijn er wel grote verschillen: de procentuele gewichtstoename van *C. montrouzieri* larven is gemiddeld bijna dubbel zo hoog op *P. citri* adulten als op *P. longispinus* adulten. Dit is niet onlogisch aangezien er minder tot zelfs geen adulten van *P. longispinus* geconsumeerd werden. De predatie van de larven van *C. montrouzieri* op wolluisninfen was vrij gelijkaardig tussen de soorten, toch is er een significant lagere procentuele gewichtstoename van de keverlarven bij *P. longispinus*. De geselecteerde *P. longispinus* nimfen zijn mogelijk gemiddeld kleiner en/of van lagere nutritionele kwaliteit dan de nimfen van *P. citri*.

*Pseudococcus longispinus* maakt supplementaire wasdraden aan die, bovenop de wassecreties dicht tegen het lichaam, een netwerk vormen rond het lichaam dat extra bescherming biedt aan de vrouwelijke wolluis en haar nakomelingen (Clausen, 1915). Aangezien de wolluizen net voor de proef overgebracht werden in de petrischaal, speelden deze supplementaire wasdraden geen rol in deze experimenten. In eerste observaties, waarbij adulten van *P. longispinus* bedekt waren met dit netwerk van wasdraden en zo aangeboden werden aan *C. montrouzieri*, leek de roofkever echter niet gehinderd door deze extra wassecreties.

In deze proeven werd de predatiecapaciteit van *C. montrouzieri* bepaald in een petrischaal. In dit type proefopzet is het niet abnormaal dat een generalistische en uitgehongerde predator veel proesoorten accepteert. Het is daarom niet zeker dat *C. montrouzieri* op dezelfde manier reageert in het gewas. Nog niet gepubliceerde resultaten van het PCS geven echter aan dat *C. montrouzieri* adulten vrij werkzaam zijn in het gewas tegen *P. longispinus*, maar toch nog iets effectiever zijn tegen *P. citri* (J. Audenaert, persoonlijke mededeling, 15 april 2019). Deze bevindingen komen overeen met de hier bekomen resultaten in het laboratorium.

Bovendien had *C. montrouzieri* in deze proefopzet geen keuze tussen de twee wolluissoorten. Het is mogelijk dat de roofkever wel een voorkeur heeft voor een van beide soorten. Zo bewezen Urbina *et al.* (2018) bijvoorbeeld dat *C. montrouzieri* op een andere manier reageert op de feromonen van verschillende wolluissoorten. Wanneer beide soorten wolluis dan tegelijk voorkomen zou er eventueel selectieve predatie door *C. montrouzieri* kunnen optreden. Verder onderzoek moet uitwijzen of de roofkever inderdaad een voorkeur heeft of niet. Dit kan bijvoorbeeld gebeuren volgens de hier beschreven proefopzet waarbij beide wolluissoorten tegelijk aangeboden worden of in een olfactometrisch keuze-experiment.

## 6. Reproductiepotentieel

### 6.1. Inleiding

Vrouwtjes van *Cryptolaemus montrouzieri* leggen hun eitjes vaak dichtbij of in de eizakken van wolluizen (Jayanthi *et al.*, 2013; Mani & Shivaraju, 2016). Op deze manier hebben jonge larven een voedselbron in de buurt en zijn ze beschermd tegen mieren. Ook is het mogelijk dat de hydrofobe wasdraden van de eizak de eitjes van de predator beschermen tegen uitdroging. De langstaartwolluis *Pseudococcus longispinus* is ovovivipaar en produceert geen eizakken. Bij deze soort is het voor *C. montrouzieri* dus niet mogelijk om zijn eitjes in of nabij eizakken te leggen.

Finlay-Doney & Walter (2012) bewezen reeds dat de aanwezigheid van eizakken niet strikt noodzakelijk is voor de voortplanting van *C. montrouzieri*, hoewel er meer eitjes gelegd werden in de aanwezigheid ervan. Ook in de predatieproeven (hoofdstuk 5) werd eileg geobserveerd op soms willekeurige plaatsen, zoals los op een blad of op een van de wanden van de plastic petrischaal. Finlay-Doney & Walter (2012) hebben in veldpopulaties van ovovivipare wolluissoorten waargenomen dat reproductie van *C. montrouzieri* mogelijk is, maar konden de ovipositieplaats niet lokaliseren. Nimmo (2016) observeerde in boomgaarden dat *C. montrouzieri* zich niet even goed lijkt voort te planten op *P. longispinus* dan wanneer er ook wolluissoorten met eizakken aanwezig zijn.

Merlin *et al.* (1996) identificeerden de vereiste prikkels voor succesvolle ovipositie. Het contact met wasfilamenten zou *C. montrouzieri* aanzetten tot ovipositie, waarna ze hun eitjes meestal op beschutte plaatsen leggen, zoals in een aggregatie van wolluizen of in wasmassa's zoals eizakken. Het contact met wasfilamenten zou geen probleem mogen vormen bij *P. longispinus*. De wolluizen zijn bedekt met was en vrouwtjes produceren bovendien een netwerk van filamenteuze wasdraden rond hun lichaam (Figuur 6.1). De afwezigheid van eizakken maakt daarentegen dat er minder beschutte plaatsen zijn. Bovendien bevinden adulte vrouwtjes van *P. longispinus* zich meestal alleen op een blad, volgens observaties in dit onderzoek, in tegenstelling tot bijvoorbeeld *P. citri* die eerder in groep voorkomt. Het gevolg is dat er bij *P. longispinus* dus ook minder beschutte plaatsen zijn binnen een aggregatie wolluizen. Anderzijds vormen de supplementaire filamenteuze wasdraden in een vervaand stadium een dichts netwerk, dat mogelijk als ovipositieplaats kan dienen.



**Figuur 6.1.** Adult vrouwtje van *P. longispinus* met netwerk van filamenteuze wasdraden (foto auteur).



Reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* lijkt dus zeker mogelijk. Deze proef moet echter uitwijzen in welke mate de reproductie op *P. longispinus* succesvol is, waarbij vergeleken wordt met de reproductie op *P. citri*, een soort die wel eizakken produceert. Daarnaast wordt reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* vergeleken tussen vrouwtjes van de roofkever die reeds een tijd deze wolluizen aangeboden kregen en vrouwtjes die volgens het semi-artificiële kweekstelsel werden gehouden. De gebruikte proefopzet is bedoeld om een idee te krijgen van het reproductiepotentieel van *C. montrouzieri* op beide soorten wolluis in teeltomstandigheden en hierbij te kijken of er eventuele problemen optreden bij een van de behandelingen.

## 6.2. Materiaal en methode

In dit experiment werd de reproductie van *C. montrouzieri* gemeten op *P. longispinus* en *P. citri*, waarbij reproductie omschreven wordt als het voortbrengen van levensvatbare nakomelingen. Vrouwtjes kregen na ontpopping de tijd om te paren en werden nadien uitgezet op *Ficus* planten, geïnfecteerd met *P. longispinus* of *P. citri*. Een aantal dagen later werd geteld hoeveel larven op de planten aanwezig waren en werd gemeten tot welk stadium deze larven behoorden. De proef werd uitgevoerd op planten in een serre van het PCS. De omstandigheden hier zijn minder gecontroleerd dan bij een laboproef, maar laten toe dat de wolluispopulaties zich op een natuurlijke manier ontwikkelen. Bovendien leunen de omstandigheden vrij dicht aan bij teeltcondities, waardoor de resultaten daar eenvoudig naar kunnen geëxtrapoleerd worden.

Voor de proef werden negentien planten van *Ficus benjamina* gebruikt die ongeveer 70 cm hoog waren. Veertien planten werden geïnfecteerd met *P. longispinus*, de overige vijf met *P. citri*. Voor de infectie werden op iedere plant een tiental vrouwelijke wolluizen in ovipositie uitgezet, naast een aantal mannetjes en jongere stadia. Gedurende tien weken kregen de populaties de kans om te groeien, waarbij de planten in groep bij elkaar stonden per wolluissoort. Nadien werden de planten in afzonderlijke kooien gezet. De bovenkant van de potten ( $\varnothing$  18 cm) waarin de planten stonden werd afgeschermd met parafilm, opdat de kevers niet in contact konden komen met de potgrond.

Net ontpopte mannelijke en vrouwelijke kevers werden uit de kweek gehaald en per stel in een plastic potje gezet. Vijf paren werden voorzien van aardappelscheuten met *P. longispinus* op, vijf paren werden voorzien van aardappelscheuten met *P. citri* op en vijf paren werden gehouden volgens het artificiële kweekstelsel, met eitjes van *E. kuehniella* en watten als ovipositie-substraat, zoals beschreven in hoofdstuk 3.2. De vrouwelijke adulten bleven negen dagen in dit systeem, bij een temperatuur van  $25 \pm 0,3^\circ\text{C}$ , een relatieve vochtigheid van 65% en een lichtregime van 16:8 uur licht:donker. Ze kregen zo de tijd om geslachtsrijp te worden en te paren. Deze periode zou moeten volstaan om de pre-ovipositieperiode te overbruggen. Iedere drie dagen werden de mannetjes overgeplaatst naar een nieuw vrouwtje binnen een zelfde behandeling. Op deze manier kon ieder vrouwtje met drie verschillende mannetjes paren. Wanneer een vrouwtje met meerdere mannetjes paart zal ze in het begin van haar ovipositie gemiddeld meer eitjes leggen (Jayanthi *et al.*, 2013).

Elk vrouwtje werd nadien individueel in een kooi op een geïnfecteerde *Ficus* plant gezet. Tabel 6.1 geeft aan welke vrouwtjes op welke wolluissoort werden gezet en geeft zo ook een overzicht van de drie behandelingen. De laatste behandeling (EL) beschouwt het commerciële systeem, waarbij *C. montrouzieri* uitgezet wordt op wolluis na de kweek op eitjes van *E. kuehniella*. De vrouwtjes werden getransporteerd naar de serre in lege plastic potjes, waardoor ze ongeveer vier uur zonder voedsel zaten. De verschillende behandelingen werden gerandomiseerd opgesteld overheen de serre.

**Tabel 6.1.** *Overzicht van de verschillende behandelingen.*

Code behandeling	Substraat + voedsel tijdens paringsperiode	Substraat + voedsel tijdens het experiment	Aantal herhalingen
CC	Aardappelscheuten + <i>P. citri</i>	<i>Ficus</i> plant + <i>P. citri</i>	5
LL	Aardappelscheuten + <i>P. longispinus</i>	<i>Ficus</i> plant + <i>P. longispinus</i>	5
EL	Watten + eitjes <i>E. kuehniella</i>	<i>Ficus</i> plant + <i>P. longispinus</i>	5

Tijdens de proef stonden de planten op tafels en werden ze geïrrigeerd via een eb en vloedstelsel. Via klimaatsturing werd een relatieve vochtigheid beoogd van 75%. Overdag werd er verwarmd onder 25°C en geventileerd vanaf 27°C, 's nachts respectievelijk vanaf 20°C en 22°C. Via verlichting werd gezorgd dat er elke dag 15 uur licht was. De klimaatgegevens werden gemeten en opgeslagen.

De vier overige planten geïnfecteerd met *P. longispinus*, die niet gebruikt werden in de proef, werden aangewend om een inschatting te maken van de populatiedensiteit van *P. longispinus*. Het aantal bladeren en het totaal aantal wolluizen, opgesplitst per stadium, werd op een destructieve manier geteld bij de vier planten, elf weken na de start van de infectie.

Er dient vermeld te worden dat de citruswolluis in deze proef geparasiteerd werd door sluipwespen (*Leptomastidea abnormis*). De parasiteringsgraad lag behoorlijk laag, waardoor de gevolgen van deze interferentie op de resultaten gering worden ingeschat.

Twaalf dagen na het vrijlaten van de vrouwtjes van *C. montrouzieri* op de planten werden hun nakomelingen (larven) geteld. Op iedere plant werden alle larven van *C. montrouzieri* verzameld, door elke tak af te knippen en nauwkeurig te inspecteren, opdat zo weinig mogelijk larven over het hoofd gezien werden. De larven werden geteld en binnen vier uur ingevroren voor bewaring. Ook de adulte kevers werden verzameld en ingevroren. Het aantal larven in de verschillende behandelingen werden onderling vergeleken via ANOVA en Tukey's HSD test, nadat normaliteit en homoscedasticiteit nagegaan werden met respectievelijk de Shapiro-Wilk test en Levene's test (R versie 3.5.3). Alle statistische tests werden uitgevoerd op het 5% significantieniveau.

Later werd het stadium van alle larven bepaald. De breedte van het kopkapsel werd gemeten bij iedere larve via een gegraadend en gekalibreerd oculair. Op basis hiervan en de resultaten uit hoofdstuk 4 werden de larven ingedeeld in de verschillende stadia. In ieder stadium werd het aantal larven geteld en werden ze gewogen. Er dient opgemerkt te worden dat de relatie tussen het stadium en de kopkapselbreedte, zoals in hoofdstuk 4 vastgelegd, geldt wanneer *C. montrouzieri* met eitjes van *E. kuehniella* wordt gevoed. In deze proef hebben de larven zich echter gevoed met wolluizen. Aangezien de gemeten kopkapselbreedtes zich steeds dicht bij de gemiddelde waarden uit hoofdstuk 4 bevonden, werd er verondersteld dat deze relatie bij benadering gelijk is voor deze voedingsbronnen en dezelfde intervallen gebruikt kunnen worden voor de karakterisering.

## 6.3. Resultaten

### 6.3.1. Paringsperiode

Zeven dagen na de verwijdering van de adulte kevers uit de potjes waar paring plaatsvond, werden larven waargenomen in deze potjes. Slechts in een van de vijf potjes waar de kevers gevoed werden met eitjes van *E. kuehniella* werden geen larven gevonden. Dit betekent dat de vrouwtjes in de andere herhalingen en de andere behandelingen allen succesvol bevrucht waren en zich reeds in ovipositie bevonden wanneer ze verplaatst werden naar de planten. De larven werden in ieder potje geteld en de gemiddelde resultaten worden weergegeven in Tabel 6.2.

Tijdens de telling van de larven werden eitjes van de roofkever aangetroffen. Veel eitjes werden aangetroffen in gleuven en holtes van de scheuten van de aardappelen (Figuur 6.2). Blijkbaar werden deze eitjes niet in de nabijheid van eizakken of wasstructuren gelegd. Bij *P. citri* werden daarnaast ook eitjes dichtbij eizakken gevonden.

**Tabel 6.2.** Gemiddeld aantal larven ( $\pm$  SD) in de potjes waar paring plaatsvond, zeven dagen na verwijdering van de adulten.

Substraat	Voeding	Aantal larven
Aardappelscheuten	<i>P. citri</i>	17,4 $\pm$ 14,0
Aardappelscheuten	<i>P. longispinus</i>	14,0 $\pm$ 7,4
Watten	<i>E. kuehniella</i> eitjes	4,4 $\pm$ 5,1



**Figuur 6.2.** Twee eitjes van *C. montrouzieri* op aardappelscheuten (links: larve reeds ontloken, rechts: larve nog niet ontloken) (foto auteur).

### 6.3.2. Reproductiepotentieel in serreproef

De temperatuur tijdens de proef schommelde overdag tussen 23°C en 30°C met een algemeen gemiddelde van 26,1°C. 's Nachts was de gemiddelde temperatuur 21,8°C met een minimum en maximum van ongeveer 20°C en 25°C. De gemiddelde relatieve vochtigheid per dag bleef tussen 54% en 64%, maar varieerde overheen de dag wel tussen 40% en 75%.

De inschatting van de populatiedensiteit van *P. longispinus* op de *Ficus* planten wordt weergegeven in Tabel 6.3. Crawlers werden aangetroffen op het merendeel van de bladeren over de hele plant, maar ook de andere stadia waren vrij homogeen verspreid over de plant.

**Tabel 6.3.** Gemiddeld aantal ( $\pm$  SD) bladeren en wolluizen (*P. longispinus*) op *Ficus* planten, 11 weken na de start van de infectie.

	Aantal per plant
<b>Bladeren</b>	535 $\pm$ 128
<b><i>P. longispinus</i> stadia</b>	
Adulte vrouwtjes	
- met crawlers	29 $\pm$ 11
- zonder crawlers	10 $\pm$ 9
Cocons van mannetjes	46 $\pm$ 14
Nimfen	120 $\pm$ 77
Crawlers	760 $\pm$ 202

De resultaten voor de reproductie van *C. montrouzieri* in deze proef worden voorgesteld in Tabel 6.4. In deze tabel staat het gemiddeld aantal levende larven die één vrouwtje van *C. montrouzieri* heeft voortgebracht op de corresponderende wolluissoort. Deze waarden worden bestempeld als het reproductiepotentieel van de vrouwtjes in de beschreven proefopzet. Tussen de behandelingen blijkt er een significant verschil te bestaan in het aantal larven ( $F = 30,95$ ;  $df = 2, 12$ ;  $p < 0,001$ ), de verschillen worden aangegeven in Tabel 6.4.

**Tabel 6.4.** Gemiddeld aantal levende larven ( $\pm$  SD) voortgebracht door een vrouwtje van *C. montrouzieri* na twaalf dagen in de serreproef.

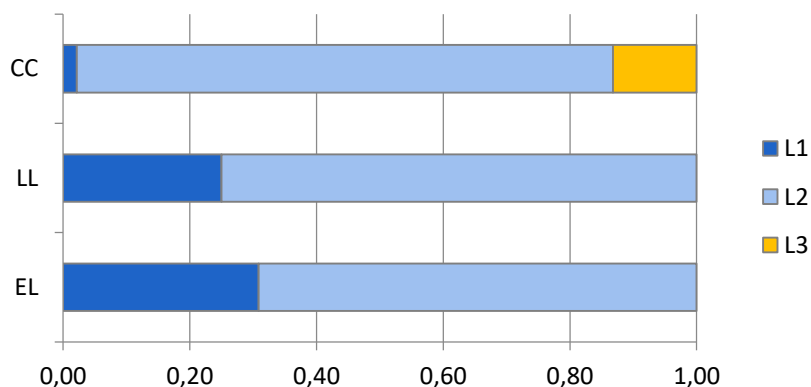
Behandeling	Voeding tijdens paring	Wolluissoort op Ficus	Aantal larven
CC	<i>P. citri</i>	<i>P. citri</i>	30,8 $\pm$ 9,0 <i>a</i>
LL	<i>P. longispinus</i>	<i>P. longispinus</i>	2,2 $\pm$ 1,3 <i>b</i>
EL	<i>E. kuehniella</i> eitjes	<i>P. longispinus</i>	6,0 $\pm$ 5,8 <i>b</i>

Waarden binnen een kolom gevolgd door dezelfde letter zijn niet significant verschillend van elkaar ( $p > 0,05$ ; Tukey's HSD test).

Tijdens het verzamelen van de resultaten werd slechts één ei ontdekt. Dit ei, waaruit de larve reeds ontloken was, werd aangetroffen op het blad nabij een adult vrouwtje van *P. longispinus* met een uitgebreid netwerk van filamenteuze wasdraden. In alle andere gevallen kon de ovipositieplaats niet gelokaliseerd worden. Op het einde van de proef werd nergens een levend vrouwtje van de roofkever teruggevonden. Veel vrouwtjes werden dood aangetroffen (drie, twee en vier dode vrouwtjes gevonden in behandelingen CC, LL en EL, respectievelijk) en de overige werden niet teruggevonden.

### 6.3.3. Ontwikkelingsstadium larven

Tabel 6.5 en Figuur 6.3 geven weer hoe ver de larven van *C. montrouzieri* reeds ontwikkeld waren op het einde van de proef. De graad van ontwikkeling (gemiddelde fractie van de larven in verschillende stadia) wordt grafisch voorgesteld in Figuur 6.3. In Tabel 6.5 staat hoeveel larven zich in ieder stadium bevonden en wat het gemiddelde gewicht was van de larven binnen dit stadium. Het gemiddeld aantal larven in ieder stadium werd bekomen door de gemiddelde fractie in ieder stadium te vermenigvuldigen met het gemiddelde totaal aantal teruggevonden larven.



**Figuur 6.3.** Ontwikkelingsgraad van *C. montrouzieri* larven, twaalf dagen na het uitzetten van de vrouwtjes.

**Tabel 6.5.** Gemiddeld aantal ( $\pm$  SD) en gemiddeld gewicht ( $\pm$  SD) van de *C. montrouzieri* larven in verschillende stadia (L1-L3).

Behandeling	Aantal			Gewicht (mg)		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
CC	0,62 $\pm$ 5,53	26,2 $\pm$ 10,6	4,00 $\pm$ 11,1	0,19 $\pm$ 0,002	0,73 $\pm$ 0,08	1,09 $\pm$ 0,16
LL	0,55 $\pm$ 1,78	1,65 $\pm$ 1,95	-	0,16 $\pm$ 0,00	0,55 $\pm$ 0,17	-
EL	1,86 $\pm$ 4,00	4,14 $\pm$ 4,26	-	0,21 $\pm$ 0,02	0,38 $\pm$ 0,21	-

## 6.4. Discussie

Reeds in de potjes waar paring plaatsvond werden larven van *C. montrouzieri* waargenomen en geteld. Het is belangrijk de waarden voor het aantal larven teruggevonden na de paringsperiode behoedzaam te interpreteren; omwille van een aantal complicerende factoren werden op deze cijfers geen statistische analyses verricht. Zo zijn de waarden ten eerste afhankelijk van de lengte van de pre-ovipositietijd. Een langere pre-ovipositieperiode betekent dat de *C. montrouzieri* vrouwtjes later starten met eileg en er bijgevolg zelfs minder larven zijn al zou de dagelijkse ovipositie even groot zijn. Zo vonden Maes *et al.* (2014a) dat de pre-ovipositieperiode een stuk langer was bij *C. montrouzieri* vrouwtjes gekweekt volgens het artificiële systeem in vergelijking met vrouwtjes gekweekt op wolluis. Dit is waarschijnlijk de voornaamste reden waarom het aantal keverlarven in de behandeling volgens dit kweekstelsel hier lager is. Ook kan de pre-ovipositietijd uiteenlopen tussen *C. montrouzieri* vrouwtjes met verschillende wolluissoorten als prooi (Qin *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2014). Daarnaast mag men zich niet vastklampen aan de absolute hoeveelheid larven hier geteld, maar dienen ze eerder als indicatie voor de grootte-orde. Een aantal aardappelen waar geen wolluis meer op zat werden namelijk weggegooid, zonder controle dat er eitjes van de roofkever waren, en vervangen door nieuwe om voedsel voor de kevers te voorzien. Ook werden er door de moeilijke telling op aardappelscheuten *C. montrouzieri* larven over het hoofd gezien. Wat hier wel afgeleid kan worden, is dat op één na alle *C. montrouzieri* vrouwtjes in ovipositie waren wanneer ze naar de serre verplaatst werden, bij een van de vrouwtjes (in behandeling EL) is dit onzeker. Bovendien bewijzen deze cijfers alvast dat reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* in bepaalde omstandigheden zeker succesvol kan zijn.

Ook de serreproef kent zijn beperkingen, waardoor met voorzichtigheid besluiten getrokken moeten worden; hier werd wel een statistische analyse uitgevoerd. Het aantal herhalingen in de serreproef is ten eerste vrij laag t.o.v. de variabiliteit, waardoor het niet duidelijk is of bepaalde behandelingen van elkaar verschillen of niet. Alle adulte vrouwtjes waren bovendien gestorven voor het einde van de proef. De meest waarschijnlijke reden is verdrinking, doordat er regelmatig een bodem water staat in de tafels ter irrigatie. Indien een gelijkaardige proef zou uitgevoerd worden, wordt best op een andere manier geïrrigeerd.

Ondanks deze beperkingen gaf de statistische analyse een opvallend verschil aan tussen de voortplanting op *P. citri* enerzijds en op *P. longispinus* anderzijds. Het blijkt dat *C. montrouzieri* in staat is om zich voort te planten op *P. longispinus*, maar dat deze reproductie veel beperkter is in vergelijking met *P. citri* in de gegeven omstandigheden. Dit is in lijn met wat voorspeld kon worden aan de hand van de literatuur. Bovendien werden er niet enkel minder larven voortgebracht, maar waren de larven ook minder ver ontwikkeld op *P. longispinus* op het moment van de telling.

Deze resultaten bevestigen het vermoeden van Nimmo (2016), die observeerde dat *C. montrouzieri* zich minder goed leek voort te planten op *P. longispinus* dan wanneer er ook wolluissoorten met eizakken aanwezig zijn. Ook bieden ze een aannemelijke oorzaak waarom de populatie van *C. montrouzieri* in het bestrijdingsprogramma van Swirski *et al.* (1980) zich niet kon vestigen in een populatie van *P. longispinus*. Bij Boertjes *et al.* (2003) werd geen ontwikkeling van een nieuwe generatie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* geobserveerd, terwijl dit uit deze proef wel mogelijk blijkt, zij het in beperkte mate.

Verschillende factoren hebben een invloed op de reproductie van *C. montrouzieri* en kunnen bijgevolg aan de basis liggen van de hier geobserveerde verschillen tussen de reproductie op beide wolluissoorten. De proefopzet is niet geschikt om te achterhalen welke factoren er precies voor zorgen dat de voortplanting van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* beperkter is. Volgende paragrafen geven suggesties van factoren die een mogelijke rol spelen. De verschillen tussen de reproductie van de roofkever op de twee wolluissoorten worden waarschijnlijk bepaald door een combinatie van verschillende factoren, waarbij de ene al meer een rol speelt dan de andere. De factoren zouden afzonderlijk onderzocht moeten worden om hier meer inzicht in te krijgen.

Ten eerste is het mogelijk dat de kevers ovipositie langer uitstellen wanneer ze in een populatie van *P. longispinus* terechtkomen. Dit zou bovendien ook kunnen verklaren waarom de larven in de populaties van *P. longispinus* minder ver ontwikkeld zijn, hoewel dit natuurlijk ook afhankelijk is van de snelheid van de larvale ontwikkeling. Door een tekort aan de juiste prikkels die ovipositie stimuleren in een populatie van *P. longispinus*, zoals ook in de inleiding (hoofdstuk 6.1) werd aangehaald, is het mogelijk dat *C. montrouzieri* ovipositie uitstelt. De kever is namelijk in staat om eitjes een aantal dagen op te houden in de oviducten bij afwezigheid van de nodige stimuli (Merlin *et al.*, 1996). Dit houdt het vrouwtje van *C. montrouzieri* slechts een paar dagen vol. Daarna wordt het eitje wel afgelegd in afwezigheid van de stimuli, maar Merlin (1992) observeerde in dat geval kannibalisme van de eitjes door de moeder. Doch, ovipositie door *C. montrouzieri* blijkt toch succesvol te zijn na een langere periode in de afwezigheid van de juiste chemische (Maes *et al.*, 2014a) of fysische (Finlay-doney & Walter, 2012) prikkels. Wanneer uitsluitend chemische prikkels ontbreken, zou de dagelijkse eileg nog even hoog zijn als wanneer ze wel voorkomen (Maes *et al.*, 2014a). Bij de afwezigheid van enkel fysische prikkels echter blijkt de dagelijkse ovipositie van *C. montrouzieri* significant lager te zijn dan bij de aanwezigheid ervan (Finlay-doney & Walter, 2012). In dat opzicht is het ook mogelijk dat de dagelijkse eileg van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* lager is, wegens de afwezigheid van eizakken. Verder onderzoek zou kunnen bekijken of het verrijken van planten met watten, een artificieel ovipositiesubstraat, de reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* kan ondersteunen.

Daarnaast kunnen er verschillen aanwezig zijn in andere fasen van de voortplanting:

- De nutritionele waarde van *P. longispinus* is mogelijk lager, waardoor vrouwtjes van de roofkever minder eitjes produceren. Eerder onderzoek toonde reeds aan dat de vruchtbaarheid van *C. montrouzieri* afhankelijk is van de wolluissoort waarop de kever zich voedt (Wu *et al.*, 2014).
- Het is mogelijk dat eizakken beschermend werken voor de eitjes van *C. montrouzieri* en bijvoorbeeld uitdroging kunnen voorkomen door hun hydrofobe karakter. De afwezigheid van eizakken zou daarom ook aanleiding kunnen geven tot een lager ontluikingspercentage van de eitjes van de roofkever.
- Eventueel hebben de larven van *C. montrouzieri* minder kans op overleving in een populatie van *P. longispinus*. Wanneer *C. montrouzieri* zijn eitjes legt bij eizakken, beschikken de net ontloken larven over een nabijgelegen voedingsbron, namelijk de eitjes van de wolluis. Aangezien *P. longispinus* ovovivipaar is, zullen de jonge larven van *C. montrouzieri* hierbij meteen moeten jagen op actieve prooien. Ook het defensiemechanisme van *P. longispinus* kan een invloed hebben op de ontwikkeling en zelfs overleving van de keverlarven (Gillani & Copland, 1999).

De populatiedensiteit van de wolluizen zou ook een invloed kunnen hebben op het succes van de ovipositie door *C. montrouzieri* en de overleving van de larven. Merlin *et al.* (1996) vermoeden dat ovipositie bevoordeeld wordt door een hogere plaagdensiteit. In deze proef werd de populatiedensiteit van *P. longispinus* ingeschat, maar deze van *P. citri* niet. Dit verhindert de mogelijkheid om een objectieve vergelijking tussen beide soorten te maken. Observaties doen vermoeden dat er geen beduidend verschil is tussen de populatiegroottes van beide soorten. Het effect van de populatiedensiteit van de prooi kan onderzocht worden door een gelijkaardige proef uit te voeren bij een hogere populatiedensiteit (door een sterkere infectie of door het gebruik van kleinere planten).

Het reproductiepotentieel op *P. longispinus* bij behandeling EL, waarbij de kevers opgekweekt werden volgens het commerciële systeem, blijkt niet significant te verschillen van de reproductie op *P. longispinus* wanneer de kevers deze wolluizen ook vóór de proef als voedsel kregen. Het gebruik van dit artificiële kweekstelsel zou volgens deze resultaten dus geen invloed hebben op de latere reproductiecapaciteiten van de vrouwtjes van *C. montrouzieri*.

Het is opmerkelijk dat het verschil in reproductie van *C. montrouzieri* tussen de twee wolluissoorten minder groot tot onbestaande lijkt wanneer deze zich op aardappelscheuten bevinden (Tabel 6.2). De reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* blijkt op aardappelscheuten minder problemen te ondervinden. Dit wordt mogelijk veroorzaakt door het feit dat de populatiedensiteit van de wolluizen heel wat hoger was op de aardappelscheuten (in het labo) dan op de *Ficus* planten (in de serre), doordat de holtes en gleuven van de scheuten gecombineerd met de beharing ervan misschien geschikte ovipositieplaatsen voor de kevers bieden en/of door een ander klimaat. Dit maakt duidelijk dat de reproductie van *C. montrouzieri* niet enkel afhankelijk is van de soort wolluis, maar dat ook het substraat waarop de wolluis zich bevindt een rol speelt. Reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus* kan dus teeltafhankelijk zijn, waarbij bijvoorbeeld beharing en architectuur van de planten de ovipositie van de roofkever mogelijk beïnvloeden. Bovendien heeft de waardplant van de wolluizen ook een indirect effect op *C. montrouzieri*, doordat hij de nutritionele waarde van de wolluis beïnvloedt (Wu *et al.*, 2014).

Naast *P. longispinus* bestaan er vele andere ovovivipare wolluissoorten. Trapeznikova & Gavrillov (2008) geven een uitgebreide lijst met zo'n 500 ovovivipare wolluissoorten, waarvan vele geen of geen volledige eizak produceren. Aangezien hier aangetoond werd dat reproductie van *C. montrouzieri* (zij het in beperktere mate) mogelijk is in de afwezigheid van eizakken, zou het zeker ook mogelijk zijn dat de roofkever zich op deze andere soorten kan voortplanten. Er kan echter geen veralgemening gemaakt worden over de reproductie van *C. montrouzieri* op deze soorten, aangezien de nutritionele waarde van de wolluizen kan verschillen tussen soorten (Wu *et al.*, 2014).



## 7. Algemeen besluit

Wolluizen behoren tot de moeilijkst te bestrijden plagen in de sierteelt. In een vroeg stadium worden ze door hun klein formaat en verborgen levenswijze vaak over het hoofd gezien. In een later stadium zijn ze dan weer moeilijk volledig te bestrijden. Traditioneel worden veel chemische middelen toegepast, maar de verdoken levenswijze en de wasecreties van wolluizen zorgen dat deze middelen de plaag zelden volledig kunnen bestrijden. Onder meer door de negatieve effecten op natuurlijke vijanden en de verplichting tot geïntegreerde gewasbescherming moeten chemische middelen bovendien zo veel mogelijk gemeden worden. Het relatief grote aanbod aan natuurlijke vijanden van wolluizen biedt perspectieven voor biologische bestrijding. Deze strategie moet bij wolluizen echter nog geoptimaliseerd worden om een goede efficiëntie te garanderen en rendabel te zijn.

In deze masterproef werd het Australisch lieveheersbeestje *Cryptolaemus montrouzieri* bestudeerd, een roofkever die vaak ingezet wordt ter bestrijding van wolluizen. Het concrete doel was nagaan of deze “wolluisvernietiger” ook geschikt is voor de bestrijding van de langstaartwolluis *Pseudococcus longispinus*. Dit werd onderzocht aan de hand van twee fundamentele aspecten: predatie en reproductie van de roofkever. Beide onderdelen werden geëvalueerd om na te gaan of er problemen of beperkingen voorkomen.

### - **Is *Cryptolaemus montrouzieri* geschikt voor de bestrijding van *Pseudococcus longispinus*?**

De langstaartwolluis *P. longispinus* krijgt in dit onderzoek bijzondere aandacht, omdat de biologie van deze wolluissoort enkele essentiële verschillen vertoont t.o.v. de meeste andere hier voorkomende wolluizen, zoals *Planococcus citri*. Deze verschillen zouden de bestrijding kunnen beïnvloeden. Zo is *P. longispinus* ovovivipaar en maakt bijgevolg geen eizak aan, anderzijds produceert deze soort wel supplementaire wasdraden die een beschermende functie hebben. Het defensief gedrag lijkt bij deze soort bovendien sterker ontwikkeld.

De resultaten van dit onderzoek tonen dat er weinig verschillen zijn in de predatiecapaciteit van *C. montrouzieri* adulten tussen *P. longispinus* en *P. citri* als prooien. Gemiddeld blijkt de predatie van adulte kevers op *P. longispinus* slechts ongeveer 10% lager te liggen dan de predatie op *P. citri*. Bij keverlarven van het derde larvaal stadium blijkt er geen onderscheid te bestaan in predatiecapaciteit t.o.v. de nimfen van beide wolluissoorten. De keverlarven schijnen daarentegen moeilijkheden te ondervinden met *P. longispinus* adulten, aangezien de predatie hierop meer dan de helft lager lag dan bij *P. citri* adulten. Dit wordt mogelijk veroorzaakt door het defensief gedrag van *P. longispinus*.

Uit de serreproef op geïnfecteerde *Ficus* planten kan besloten worden dat reproductie van *C. montrouzieri* op *P. longispinus*, in de afwezigheid van eizakken of een daarmee vergelijkbaar ovipositiesubstraat, mogelijk is. Deze reproductie is echter beperkt en veel minder succesvol dan de reproductie op *P. citri*, een soort die wel eizakken produceert. Twaalf dagen na het uitzetten van bevruchte *C. montrouzieri* vrouwtjes werden vijf tot vijftien keer minder larven teruggevonden bij *P. longispinus* vergeleken met *P. citri*. De meest waarschijnlijke oorzaak hiervoor is het gebrek aan juiste ovipositiestimuli.

Deze resultaten bewijzen nogmaals dat niet elke wolluis gelijk is. Determinatie van de soort kan dus belangrijk zijn, niet enkel in geval van soortspecifieke sluipwespen, maar blijkbaar ook bij het gebruik van meer generalistische predators. Met deze nieuwe informatie kan de bestrijdingsstrategie en het type biologisch bestrijder nog beter aangepast worden aan de situatie en de soort wolluis.

Zowel de larven als de volwassen kevers van *C. montrouzieri* zijn commercieel beschikbaar. Wanneer de resultaten van de predatieproeven beschouwd worden blijken de adulten een betere keuze dan de keverlarven om ingezet te worden ter bestrijding van *P. longispinus*. Het reproductiepotentieel doet dan weer geloven dat *C. montrouzieri* minder goed aangepast is aan *P. longispinus*. Door de beperkte voortplanting van de roofkever bij de afwezigheid van ovipositiestimuli zal de predator vermoedelijk onvoldoende stand kunnen houden in het gewas. Een preventieve inzet of langdurige bestrijding wordt daarmee enigszins gehinderd.

Dit hoeft echter niet voor problemen te zorgen in de sierteelt. De adulte roofkevers blijken ook t.o.v. *P. longispinus* erg vraatzuchtig, waardoor op korte termijn al goede bestrijdingsresultaten kunnen behaald worden. In een efficiënt IPM-systeem waar de plaag goed gemonitord wordt en bijgevolg in een vroeg stadium kan ingegrepen worden, hoeft de beperkte reproductie daarom geen probleem te vormen. Bovendien is ook op langere termijn bestrijding mogelijk aangezien *C. montrouzieri* adulten vrij lang leven (tot wel drie maanden) en herhaaldelijk kunnen worden ingezet in het systeem van vermeerdering.

- **Kan wolluis biologisch worden bestreden in de sierteelt?**

De sierteelt staat bekend om zijn erg lage economische schadedrempels, wat IPM in deze sector extra moeilijk maakt. Het is meestal niet de bedoeling een evenwicht te vinden tussen de plaag en zijn vijand, maar eerder een volledige bestrijding te bekomen. Door de verborgen levenswijze is dit vaak niet vanzelfsprekend bij wolluizen. Een bijkomend probleem bij wolluis is dat de restanten van een plaag (wassecreties) ook esthetische schade veroorzaken.

Het is daarom noodzakelijk om in de sierteelt volledig geïntegreerd te werk te gaan om wolluizen op een duurzame en rendabele manier te kunnen bestrijden. Een sterke preventie, hygiënemaatregelen en een goede monitoring om snel te kunnen ingrijpen zijn cruciale stappen in een succesvol bestrijdingsprogramma van wolluis. De bestrijding zelf dient aangepast te worden aan de situatie waarbij alle mogelijke strategieën gebruikt en indien nodig gecombineerd worden. Zo kan biologische bestrijding aangevuld worden met rationele plaatselijke chemische behandeling. De plaatselijke behandeling kan zelfs vervangen worden door hardbestrijders, zoals *C. montrouzieri* of gaasvliegen die de populatie sterk kunnen terugdringen, en gecombineerd worden met sluipwespen die ook de verspreide individuen zullen bestrijden. Deze combinaties drijven uiteraard de kosten op, maar daarbij heeft de sierteelt wel het voordeel dat het hoogwaardige producten levert, waardoor de inzet van biologische bestrijders sneller rendabel is.

- **Wat kan verder nog onderzocht worden?**

De mogelijkheden voor verder onderzoek zijn erg uitgebreid. Hier worden enkele ideeën gegeven die verder bouwen op deze masterproef of die het IPM-systeem kunnen optimaliseren.

- De predatiecapaciteit van de andere larvale stadia van *C. montrouzieri* kan onderzocht worden, zeker deze van de jongste stadia zou meer inzicht geven in het defensief gedrag van adulten van *P. longispinus*. De proeven kunnen ook uitgebreid worden naar *Pseudococcus viburni*, een andere frequent voorkomende wolluissoort in de Vlaamse sierteelt.
- Het is mogelijk dat *P. longispinus* samen voorkomt met *P. citri* (of andere wolluissoorten). In keuze-experimenten (eventueel olfactometrisch) kan nagegaan worden of *C. montrouzieri* een voorkeur heeft voor een bepaalde soort en of er dus selectieve predatie zou optreden.
- De interactie tussen *C. montrouzieri* en *P. longispinus* kan meer uitgebreid beschouwd worden. Verschillende factoren in de reproductie en ontwikkeling van de kever op de wolluis (nutritionele kwaliteit van de prooi, ovipositiestimuli, overleving van jonge larven,...) kunnen ook afzonderlijk bestudeerd worden. Verder kunnen alternatieven, zoals een kunstmatig ovipositiesubstraat, getest worden of ze reproductie ook in het veld kunnen ondersteunen.
  
- Aangezien er waarschijnlijk niet één strategie is die volledige bescherming biedt, zullen strategieën moeten gecombineerd worden. Het is belangrijk om te weten welk effect deze op elkaar hebben. Zo kan onderzocht worden wat het effect is van (residuen van) courant gebruikte gewasbeschermingsmiddelen op de verschillende biologische bestrijders. Ook de interactie tussen verschillende soorten bestrijders onderling ('intraguild predation') is belangrijk te kennen wanneer meerdere bestrijders samen zouden ingezet worden.
- Er kunnen manieren ontwikkeld worden om de biologische bestrijders naar de plaaghaarden te lokken en ze daar te houden (opdat ze minder zouden wegvliegen). Heidari & Copland (1993) stellen het gebruik van honingdauw voor omdat dit het zoekgedrag van bv. *C. montrouzieri* aanwakkert. Ook sexferomonen van wolluizen of synomonen van planten kunnen natuurlijke vijanden aantrekken en eventueel gebruikt worden om bestrijding te ondersteunen. De eventuele rol van de synomonen in monitoring van wolluisplagen kan ook onderzocht worden. Tenslotte kan het voorzien van alternatieve voedselbronnen onderzocht worden om predatorpopulaties te ondersteunen bij schaarste van de prooi.

## Referenties

- Albouy, J., & Devergne, J.C. (1998). *Maladies à virus des plantes ornementales*. INRA, Paris.
- Ambule, A.T., Desai, V.S., Patil, D.L., & Toke, N.R. (2014). Feeding potential of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant on different species of mealybugs. *Int. J. of Plant Protection*, 7, 373-376.
- Antoons, T. (2012). Kweek en prooivoorker van het lieveheersbeestje *Cryptolaemus montrouzieri* [Masterproef]. Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen, Universiteit Gent, Gent.
- Arshad, M., Majeed, M.Z., Ullah, M.I., Tayyab, M., & Yahya, M. (2015). Laboratory evaluation of some insecticides against citrus mealybug *Planococcus citri*, (Homoptera: Pseudococcidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 20, 20-23.
- Attia, A.R., Afifi, A.I., El Arnauty, S.A., & Abd Alla, A.E. (2011). Feeding potential of the predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant on eggs, nymphs and adults of *Planococcus citri* and *Ephestia kuehniella* Eggs. *Egypt Journal of Biol Pest Control*, 21, 291-296.
- Audenaert, J., Verhoeven, R., & Golsteyn, L. (2017a). Beheersing van wolluisproblemen in de sierteelt binnen IPM-systeem. *Sierteelt & Groenvoorziening*, 17, 20-22.
- Audenaert, J., Verhoeven, R., & Golsteyn, L. (2017b). Herkennen van wolluissoorten in de sierteelt [PowerPoint slides]. Geraadpleegd van [http://www.pcsierteelt.be/hosting/pcs/pcs\\_site.nsf/0/D2E99CEDCA0FE605C12581DF004BF396/\\$file/1%20-%20Identificatie%20van%20wolluissoorten%20-%20JA,RV%20en%20LG.pdf](http://www.pcsierteelt.be/hosting/pcs/pcs_site.nsf/0/D2E99CEDCA0FE605C12581DF004BF396/$file/1%20-%20Identificatie%20van%20wolluissoorten%20-%20JA,RV%20en%20LG.pdf).
- Audenaert, J., Verhoeven, R., & Golsteyn, L. (2018). Een geïntegreerde aanpak van wolluis in de sierteelt. *Sierteelt & Groenvoorziening*, 6, 33-35.
- Babu, T.R., & Azam, K.M. (1987). Biology of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, (Coccinellidae: Coleoptera) in relation with temperature. *Entomophaga*, 32, 381-6.
- Bartlett, B.R. (1957). Biotic factors in natural control of citrus mealybugs in California. *Journal of Economic Entomology*, 50, 753-755.
- Bartlett, B.R. (1978). Pseudococcidae. In Clausen, C.P. (Ed.), *Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review* (p. 137-170). Agricultural Handbook of US Department of Agriculture, 480, Washington D.C.
- Bartlett, B.R., & Lloyd, D.C. (1958). Mealybugs attacking citrus in California: a survey of their natural enemies and the release of new parasites and predators. *Journal of Economic Entomology*, 51, 90-93.
- Bierl-Leonhardt, B.A., Moreno, D.S., Schwarz, M., Fargerlund, J., & Plimmer, J.R. (1981). Isolation, identification and synthesis of the sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri* (risso). *Tetrahedron Letters*, 22, 389-392.
- Bigger, M. (1981). The relative abundance of the mealybug vectors (Hemiptera: Coccidae and Pseudococcidae) of Cocoa swollen shoot disease in Ghana. *Bulletin of Entomological Research*, 71, 435-448.
- Biobest. (z.d.-a). Chrysopa-System. Geraadpleegd op 24/12/2018 van <https://www.biobestgroup.com/en/biobest/products/biological-pest-control-4463/beneficial-insects-and-mites-4479/chrysopa-system-4654/>.

- Biobest. (z.d.-b). Wolluis. Geraadpleegd op 20/11/2018 van <https://www.biobestgroup.com/nl/biobest/plagen-en-ziekten/wolluis-4988/>.
- Blumberg, D. (1997). Parasitoid encapsulation as a defense mechanism in the Coccoidea (Homoptera) and its importance in biological control. *Biol Cont*, *8*, 225–236.
- Blumberg, D., Klein, M., & Mendel, Z. (1995). Response by encapsulation of four mealybug species (Homoptera: Pseudococcidae) to parasitization by *Anagyrus pseudococci*. *Phytoparasitica*, *23*, 157-163.
- Boertjes, B.C., Bruin, J., & Kok, L. (2003). Biologische bestrijding van de langstaartwolluis (*Pseudococcus longispinus*) in de teelt van *Dracaena marginata*. *Praktijkonderzoek Plant & Omgeving B.V.*, Wageningen UR.
- Booth, R.G., & Pope, R.D. (1986). A review of the genus *Cryptolaemus* (Coleoptera: Coccinellidae) with particular reference to the species resembling *C. montrouzieri* Mulsant. *Bull. Ent. Res.*, *76*, 701-717.
- Bugila, A.A., Franco, J.C., da Silva, E.B., & Branco M. (2014). Defense response of native and alien mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) against the solitary parasitoid *Anagyrus* sp. nr. *Pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae). *J. Insect Behav.*, *27*, 439-453.
- Cabaleiro, C., & Segura, S. (1997). Field transmission of grapevine leafroll associated virus 3 (GLRaV-3) by the mealybug *Planococcus citri*. *Plant Disease*, *81*, 283-287.
- CABI. (2018). *Planococcus citri*. In: *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. [www.cabi.org/isc](http://www.cabi.org/isc).
- Calatayud, P.A., Polanía, M.A., Seligmann, C.D., & Bellotti, A.C. (2002). Influence of water-stressed cassava on *Phenacoccus herreni* and three associated parasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *102*, 163-175.
- Cardinale, B.J., Harvey, C.T., Gross, K., & Ives, A. (2003). Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. *Ecology Letters*, *6*, 857-765.
- Charles, J.G. (1985). *Diadiplosis koebeleri* Koebele (Diptera: Cecidomyiidae), a predator of *Pseudococcus longispinus* T.-T. (Homoptera: Pseudococcidae), newly recorded from New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, *12*, 331-333.
- Charles, J.G., Cohen, D., Walker, J.T.S., Forgie, S.A., Bell, V.A., Breen, K.C. (2006). A review of the ecology of grapevine leafroll associated virus type 3 (GLRaV-3). *New Zealand Plant Protection*, *59*, 330-337.
- Chong, J.-H., & Oetting, R.D. (2007). Intraguild predation and interference by the mealybug predator *Cryptolaemus montrouzieri* on the parasitoid *Leptomastix dactylopii*. *Biocontrol Science and Technology*, *17*, 933-944.
- Clausen, C.P. (1915). Mealybugs of citrus trees. *Bulletin of the California Agricultural Experimental Station*, *258*, 19-48.
- Cloyd, R.A., & Dickinson, A. (2006). Effect of insecticides on mealybug destroyer (Coleoptera: Coccinellidae) and parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), natural enemies of citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae). *Journal of Economic Entomology*, *99*, 1596-1604.

- Copland, M.J.W., Tingle, C.C.D., Saynor, M., & Panis, A. (1985). Biology of glasshouse mealybugs and their predators and parasitoids. *Biological Pest Control*, 82-86.
- Cox, J.M. (1987). Pseudococcidae (Insecta: Hemiptera). *Fauna of New Zealand* 11, 232 pp.
- Cox, J.M. (1989). The mealybug genus *Planococcus* (Homoptera: Pseudococcidae). *Bulletin of the British Museum (Natural History), Entomology*, 58, 1-78.
- Daane, K. M., Almeida, R. P. P., Bell, V. A., Botton, M., Fallahzadeh, M., Mani, M., Miano, J. L., Sforza, R., Walton, V. M., & Zaviezo, T. (2012). Biology and management of mealybugs in vineyards. In: Bostanian, N.J., Isaacs, R., & Vincent, C. (eds.) *Arthropod Management in Vineyards*. Springer, Dordrecht, the Netherlands, 271-308.
- Daane, K.M., Sime, K.R., Fallon, J., & Cooper, M.L. (2007). Impacts of Argentine ants on mealybugs and their natural enemies in California's coastal vineyards. *Ecological Entomology*, 32, 583-596.
- da Silva, E.B., Branco, M., Mendel, Z., & Franco, J.C. (2013). Mating behavior and performance in the two cosmopolitan mealybug species *Planococcus citri* and *Pseudococcus calceolariae* (Hemiptera: Pseudococcidae). *J. Insect Behav*, 26, 304-320.
- da Silva, E.B., Mouco, J., Antunes, R., Mendel, Z., & Franco, J.C. (2009). Mate location and sexual maturity of adult male mealybugs: narrow window of opportunity in a short lifetime. *IOBC WRPS Bull* 4, 3-9.
- De Clercq, P. (2002). Dark clouds and their silver linings: exotic generalist predators in augmentative biological control. *Neotropical Entomology*, 31, 169-176.
- De Clercq, P., Mason, P.G., & Babendreier, D. (2011). Benefits and risks of exotic biological control agents. *BioControl*, 56, 681-698.
- De Clercq, P. (2018). Toegepaste entomologie: anatomie en fysiologie van de insecten. [Cursusnota's bij het opleidingsonderdeel toegepaste entomologie]. Universiteit Gent, Faculteit Bio-ingenieurswetenschappen.
- Deokar, M.D. (2011). *Biology, biometrics and predatory potential of Cryptolaemus montrouzieri Mulsant on Maconellicoccus hirsutus (Green)* [Masterproef]. Department of agricultural entomology, College of Agriculture, Latur.
- De Silva, D.P.P., Jones, P., & Shaw, M.W. (2002). Identification and transmission of Piper yellow mottle virus and Cucumber mosaic virus infecting black pepper (*Piper nigrum*) in Sri Lanka. *Plant Pathology*, 51, 537-545.
- Dickens, J.C. (1999). Predator-prey interactions: olfactory adaptations of generalist and specialist predators. *Agricultural and Forest Entomology*, 1, 47-54.
- Dinesh, A.S., Venkatesha, M.G., & Ramakrishna, S. (2010). Development, life history characteristics and behaviour of mealybug predator, *Spalgis epius* (Westwood) (Lepidoptera: Lycaenidae) on *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae). *J Pest Sci*, 82, 339-345.
- Downie, D.A., & Gullan, P.J. (2004). Phylogenetic analysis of mealybugs (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) based on DNA sequences from three nuclear genes, and a review of the higher classification. *Systematic Entomology*, 29, 238-260.
- Dyar, H.G. (1890). The number of molts of lepidopterous larvae. *Psyche*, 5, 420-422.

- Fand, B.B., Gautam, R.D., & Suroshe, S.S. (2010). Effect of developmental stage and density of *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) on the predatory performance of four coccinellid predators. *J Biol Control*, 24, 35–41.
- Finlay-Doney, M., & Walter, G.H. (2012). Behavioral responses to specific prey and host plant species by a generalist predatory coccinellid (*Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant). *Biological Control*, 63, 270-278.
- Fisher, T. (1963). *Mass culture of Cryptolaemus and Leptomastix - Natural enemies of Citrus Mealybug*.
- Flanders, S.E. (1940). Biological control of the long-tailed mealybug, *Pseudococcus longispinus*. *Journal of Economic Entomology*, 33, 754-759.
- Franco, J.C., da Silva, E.B., Cortegano, E., Campos, L., Branco, M., Zada, A., & Mendel, Z. (2008). Kairomonal response of the parasitoid *Anagyrus* spec. nov. near *pseudococci* to the sex pheromone of the vine mealybug. *Entomol Exp Appl*, 126, 122–130.
- Franco, J.C., Suma, P., da Silva, E.S., Blumberg, D., & Mendel, Z. (2004). Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries. *Phytoparasitica*, 32, 507-522.
- Franco, J.C., Zada, A., & Mendel, Z. (2009). Novel approaches for the management of mealybug pests. In: Ishaaya, I., & Horowitz, A.R. (eds.). *Biorational Control of Arthropod Pests*. Springer, Dordrecht., 233-278.
- Fytoweb. (2018a). Neonicotinoïden. Geraadpleegd op 21/12/2018 via <https://fytoweb.be/nl/gewasbeschermingsmiddelen/gebruik/professionele-gebruiker/neonicotinoïden>.
- Fytoweb. (2018b). Toelatingen van gewasbeschermingsmiddelen raadplegen. Geraadpleegd op 21/12/2018 via <https://fytoweb.be/nl/toelatingen>.
- García Morales, M., Denno, B.D., Miller, D.R., Miller, G.L., Ben-Dov, Y., Hardy, N.B. (2016). *ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics*. Database. <http://scalenet.info>.
- Gausman, H.W., & Hart, W.G. (1974). Reflectance of four levels of sooty-mold deposits produced from the honedew of three insect species. *Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society*, 28, 131-136.
- Ghorbanian, S., Aghdam, H.R., Ghajarieh, H., & Malkeshi, S.H. (2011). Life cycle and population growth parameters of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Col.: Coccinellidae) reared on *Planococcus citri* (Risso) (Hem.: Pseudococcidae) on Coleus. *J. Entomol. Res. Soc.*, 13, 53-59.
- Gillani, W., & Copland, M. (1999). Defensive behaviour of the longtailed mealybug *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti) (Hemiptera: Pseudococcidae) against the brown lacewing *Symphorobius fallax* Navas (Neuroptera: Hemerobiidae). *Entomologica*, 33, 279-285.
- Gillani, W., Copland, M., & Raja, S. (2011). Effect of different temperatures and host plants on the biology of the long-tailed mealy bug *Pseudococcus longispinus* (Targioni and Tozzetti) (Homoptera: Pseudococcidae). *Pak. J. Sci. Ind. Res. Ser. B: Biol. Sci.*, 54, 142-151.
- Goldasteh, S., Talebi, A.A., Fathipour, Y., Ostovan, H., Zamani, A., & Shoushtari, R.V. (2009). Effect of temperature on life history and population growth parameters of *Planococcus citri* (Homoptera, Pseudococcidae) on Coleus [*Solenostemon scuttellarioides* (L.) Codd.]. *Arch. Biol. Sci.*, 61, 329-336.
- Gullan, P., & Kosztarab, M. (1997). Adaptations in scale insects. *Ann Rev Entomol*, 42, 23–50.

- Hara, A.H., Hata, T.Y., Hu, B.K.-S., & Tsang, M.M.C. (1997). Hot-air induced thermotolerance of red ginger flowers and mealybugs to postharvest hot-water immersion. *Postharvest Biology and Technology*, *12*, 101-108.
- Hardy, N.B., Gullan, P.J., & Hodgson, C.J. (2008). A subfamily-level classification of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) based on integrated molecular and morphological data. *Systematic Entomology*, *33*, 51-71.
- Heidari, M., & Copland, M.J.W. (1992). Host finding by *Cryptolaemus montrouzieri* (Col., Coccinellidae), a predator of mealybugs (Hom., Pseudococcidae). *Entomophaga*, *37*, 621-625.
- Heidari, M., & Copland, M.J.W. (1993). Honeydew: a food resource or arrestant for the mealybug predator *Cryptolaemus montrouzieri*? *Entomophaga*, *38*, 63-68.
- Hemptinne, J.L., Dixon, A.F.G., & Lognay, G. (1996). Searching behavior and mate recognition by males of the two-spot ladybird beetle, *Adalia bipunctata*. *Ecological Entomology*, *21*, 165-170.
- Hennekam, M., Joosten, N., & van der Meiracker, R. (2014). Best practices in de bestrijding van wol-, dop- en schildluis. Entocare CV, Wageningen.
- Hennekam, M., Kole, M., van Opzeeland, K., & van Alphen, J.J. (1987). Biological control of citrus-mealybug in a commercial crop of ornamental plants in the Netherlands. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, *52*, 329-338.
- Hodek, I. (1973). *Biology of Coccinellidae*. Academia, Prague and W. Junk, The Hague, 260 pp.
- Hogendorp, B.K., Cloyd, R.A., & Swiader, J.M. (2006). Effect of nitrogen fertility on reproduction and development of Citrus Mealybug, *Planococcus citri* Risso (Homoptera: Pseudococcidae), Feeding on two colors of Coleus, *Solenostemon scutellarioides* L. Codd. *Environ. Entomol.*, *35*, 201-2011.
- Huang, N., Enkegaard, A., Osborne, L.S., Ramakers, P.M.J., Messelink, G.J., Pijnakker, J., & Murphy, G. (2011). The banker plant method in biological control. *Critical Review in Plant Sciences*, *30*, 259-278.
- Huberty, A.F., & Denno, R.F. (2004). Plant Water Stress and Its Consequences for Herbivorous Insects: A New Synthesis. *Ecology*, *85*, 1383-1398.
- Jayanthi, P.D.K., Sangeetha, P., & Verghese, A. (2013). Influence of polyandry on clutch size of the predatory coccinellid, *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae). *Florida Entomologist*, *96*, 1073-1076.
- Kairo, M.T.K., Paraiso, O., Gautam, R.D., & Peterkin, D.D. (2013). *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coccinellidae: Scymninae): a review of biology, ecology, and use in biological control with particular reference to potential impact on non-target organisms. *CAB Reviews*, *8*.
- Kairo, M.T.K., Pollard, G.V., Peterkin, D.D., & Lopez, V.F. (2000). Biological control of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) in the Caribbean. *Integrated Pest Management Reviews*, *5*, 241-254.
- Khosla, S., Mendiratta, G., & Brahmachari, V. (2006). Genomic imprinting in the mealybugs. *Cytogenet. Genome Res.*, *113*, 41-52.
- Kishore, R., Manjunath, D., Kumar, P., & Datta, R.K. (1993). Mass production of Australian lady bird beetle, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coccinellidae: Coleoptera). *Indian Journal of Sericulture*, *32*, 184-8.



- Kotikal, Y.K., & Sengonca, C. (1999). Olfactory responses of mealybug predator, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) to the kairomones of prey arthropods, their host plants and the predator itself. *J. Biol. Control*, *13*, 1-6.
- Lindemann, S., & Richter, E. (2007). Erfahrungen bei der biologischen Bekämpfung von *Pseudococcus longispinus* (Targioni Tozzetti) an *Phalaenopsis*-Hybriden. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, *59*, 77–86.
- Lockhart, B., & Olszewski, N.E. (1996). Schefflera ringspot virus, a widely distributed mealybug-transmitted Badnavirus occurring in Schefflera and Aralia. *Acta Horticulturae*, *432*, 196-203.
- MacGillivray, A.D. (1921). *The Coccidae*. Scarab, Urbana, Ill. 502pp.
- MacLeod, E.G., & Stange, L.A. (1981). The brown lacewings of Florida (Neuroptera: Hemerobiidae). *Entomology Circular*, *227*, 1-4.
- Maes, S., Antoons, T., Grégoire, J.-C., & De Clercq, P. (2014a). A semi-artificial rearing system for the specialist predatory ladybird *Cryptolaemus montrouzieri*. *BioControl*, *59*, 557-564.
- Maes, S., Grégoire, J.-C., & De Clercq, P. (2014b). Prey range of the predatory ladybird *Cryptolaemus montrouzieri*. *BioControl*, *59*, 729-738.
- Maes, S., Grégoire, J.-C., & De Clercq, P. (2015). Cold tolerance of the predatory ladybird *Cryptolaemus montrouzieri*. *BioControl*, *60*, 199-207.
- Malais, M., & Ravensberg, W. (2002). Kennen en herkennen: levenswijze van kasplagen en hun natuurlijke vijanden. Koppert BV.
- Malausa, T., Fenis, A., Warot, S., Germain, J.-F., Ris, N., Prado, E., Botton, M., Vanlerberghe-Masutti, F., Sforza, R., Cruaud, C., Couloux, A., & Kreiter, P. (2011). DNA markers to disentangle complexes of cryptic taxa in mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). *J. Appl. Entomol.*, *135*, 142-155.
- Mani, M., & Shivaraju, C. (2016). *Mealybugs and their Management in Agricultural and Horticultural crops*. New Delhi, Springer.
- McKenzie, H.L. (1967). *Mealybugs of California with Taxonomy, Biology, and Control of North American species (Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae)*. California, University of California Press. 524 pp.
- Mendel, Z., Blumberg, D., Zehavi, A., & Weissenberg, M. (1992). Some polyphagous Homoptera gain protection from their natural enemies by feeding on the toxic plants *Spartium junceum* and *Erythrina corallodendrum* (Leguminosae). *Chemoecology*, *3*, 118-124.
- Messelink, G., Leman, A., Vijverberg, R., Kruidhof, M., Woning, J., de Bruin, A., Mumm, R., & de Kogel, W.-J. (2015). Detectie en bestrijding van wol- en schildluis in de sierteelt onder glas. Wageningen, Wageningen UR Glastuinbouw. Rapport GTB-1339.
- Merlin, J. (1992). *La cochenille Eupulvinaria hydrangeae (Steinw.) (Homoptera: Coccidae) en région bruxelloise: épidémiologie, ennemis naturels et moyens de lutte* [Phd Thesis]. Université Libre de Bruxelles, Belgium, 212 pp.
- Merlin, J., Lemaitre, O., & Grégoire, J.-C. (1996). Oviposition in *Cryptolaemus montrouzieri* stimulated by wax filaments of its prey. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *79*, 141-146.

- Millar, I.M. (2002). Mealybug genera (Hemiptera: Pseudococcidae) of South Africa: identification and review. *African Entomology*, *10*, 185–233.
- Millar, J.G., Midland, S.L., McElfresh, J.S., & Daane, K.M. (2005). (2,3,4,4 Tetramethylcyclopentyl) Methyl Acetate, a Sex Pheromone from the Obscure Mealybug: First Example of a New Structural Class of Monoterpenes. *J. Chem. Ecol.*, *31*, 2999-3005.
- Millar, J.G., Moreira, J.A., McElfresh, J.S., Daane, K.M., & Freund, A.S. (2009). Sex pheromone of the longtailed mealybug: a new class of monoterpene structure. *Org. Lett.*, *11*, 2683-2685.
- Miller, G.L., Oswald, J.D., & Miller, D.R. (2004). Lacewings and scale insects: a review of predator/prey associations between the Neuroptida and Coccoidea (Insecta: Neuroptera, Raphidioptera, Hemiptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, *97*, 1103-1125.
- Mills, N.J. (1981). Essential and alternative foods for some British Coccinellidae (Coleoptera). *Entomologists Gazette*, *32*, 197–202.
- Moore, D. (1988). Agents used for biological control of mealybugs (Pseudococcidae). *Biocontrol News and Information*, *9*, 209–225.
- Morishita, M. (2005). Effect of bark-scraping, dormant spray of petroleum oil and applying pesticide in late spring on density of Japanese mealybug, *Planococcus kraunhiae* (Kuwana), in persimmon. *Annu Rep Kansai Plant Prot Soc*, *47*, 123–124.
- Muştu, M., Kiliñer, N., Ülgentürk, S., & Kaydan, M.B. (2008). Feeding behavior of *Cryptolaemus montrouzieri* on mealybugs parasitized by *Anagyrus pseudococci*. *Phytoparasitica*, *36*, 360-367.
- Myers, L.E. (1932). Two economic greenhouse mealybugs of Mississippi. *Journal of Economic Entomology*, *25*, 891-896.
- Nestel, D., Cohen, H., Saphir, N., Klein, M., & Mendel, Z. (1995). Spatial distribution of scale insects: comparative study using Taylor's power law. *Environmental Entomology*, *24*, 506-512.
- Nimmo, P. (2016). Effectiveness of a mass release of the mealybug *Cryptolaemus montrouzieri* in a Queensland apple orchard. Department of Agriculture and fisheries, State of Queensland.
- Oliveira, M.D., Barbosa, P.R.R., Silva-Torres, C.S.A., Silva, R.R., Barros, E.M., Torres, J.B. (2014). Reproductive performance of striped mealybug *Ferrisia virgata* Cockerell (Hemiptera: Pseudococcidae) on water-stressed cotton plants subjected to nitrogen fertilization. *Arthropod-Plant Interactions*, *8*, 461-468.
- Panis, A. (1979). Mealybugs (Homoptera, Coccoidea: Pseudococcidae) within the framework of integrated control in Mediterranean citrus-growing. *Revue de Zoologie Agricole et de Pathologie Vegetale*, *78*, 88-96.
- Panis, A. (1981). Note on some beneficial insects regulating populations of Pseudococcidae and Coccidae (Homoptera, Coccoidea) on citrus in eastern Provence. *Fruits*, *36*, 49–52.
- PCS (Proefcentrum voor Sierteelt). (2014). Geïntegreerde gewasbescherming (IPM) in de sierteelt. [Brochure]. Destelbergen, PCS.
- Pieterse, W., Muller, D.L., & Jansen van Vuuren, B. (2010). A molecular identification approach for five species of Mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) on citrus fruit exported from South Africa. *African Entomology*, *18*, 23-28.

- Pijnakker, J., Leman, A., & Hennekam, M. (2013). Geïntegreerde bestrijding van citruswolluis *Planococcus citri* in roos. Wageningen UR Glastuinbouw. Rapport GTB-1238.
- Pijnakker, J., Leman, A., & Messelink, G. (2014). Handhaven van sluipwespen tegen wolluis. Wageningen UR Glastuinbouw. Rapport GTB-1313.
- Polat, F., Ulgenturk, S., & Kaydan, M.B. (2008). Developmental biology of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso), (Hemiptera: Pseudococcidae), on ornamental plants. In: Branco, M., Franco, J.C., & Hodgson C. (Eds.). Proceedings of the XI international symposium on Scale Insect Studies, Lisbon, Portugal, 24-27 September 2007, Oeiras, Portugal. ISA Press, Lisbon, Portugal, 177-184.
- Prakasan, C.B., & Bhat, P.K. (1985). Interference of the predator, *Cryptolaemus montrouzieri* with the performance of a newly introduced parasite, *Leptomastix dactylopii*. *Journal of Coffee Research*, 15, 29-32.
- Qin, Z.-Q., Qiu, B.-L., Wu, J.-H., Cuthbertson, A.G.S., & Ren, S.-X. (2014). Effects of three mealybug species on the development, survivorship and reproduction of the predatory lady beetle *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant. *Biocontrol Science and Technology*, 24, 891-900.
- Ross, L., Langenhof, M.B.W., Pen, I., Beukeboom, L.W., West, S.A., & Shuker, D.M. (2010). Sex allocation in a species with paternal genome elimination: the roles of crowding and female age in the mealybug *Planococcus citri*. *Evolutionary Ecology Research*, 12, 89-104.
- Sengonca, C., Kotikal, Y.K., & Schade, M. (1995). Olfactory reactions of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Col., Coccinellidae) and *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neur., Chrysopidae) in relation to period of starvation. *Anzeiger für Schadlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 68, 9-12.
- Statbel. (2017). Land- en tuinbouwbedrijven, Cijfers. Geraadpleegd op 10/11/2018 van <https://statbel.fgov.be/nl/themas/landbouw-visserij/land-en-tuinbouwbedrijven#figures>.
- Stiling, P. (1993). Why do natural enemies fail in classical biological control programs. *Am Entomol*, 39, 31–37.
- Stubbs, M. (1980). Another look at prey detection by coccinellids. *Ecological Entomology*, 5, 179-182.
- Surwase, S.R. (2014). *Biology and predatory potential of Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant on mealy bugs and aphids [Masterproef]. Department of agricultural entomology, College of Agriculture, Latur.
- Swirski, E., Izhar, Y., Wysoki, M., Gurevitz, E., & Greenberg, S. (1980). Integrated control of the long-tailed mealybug, *Pseudococcus longispinus* [Hom.:Pseudococcidae], in avocado plantations in Israel. *Entomophaga*, 25, 415-426.
- Torres, F., Marcano, R., & Torres, R. (2012). Caracterización de los instares larvales de *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) a cuatro temperaturas constantes. *Entomotropica*, 272, 49-56.
- Trapeznikova, I.V., & Gavrilov, I.A. (2008). About ovoviviparity in mealybugs (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) (О ЯЙЦЕЖИВОРОЖДЕНИИ У МУЧНИСТЫХ ЧЕРВЕЦОВ). *Proceedings of the Zoological Institute RAS*, 312, 43-53.
- Urbina, A., Verdugo, J.A., López, E., Bergmann, J., Zaviezo, T., & Flores, M.F. (2018). Searching behavior of *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) in response to mealybug sex pheromones. *Journal of Economic Entomology*, 111, 1996–1999.

- van Alphen, J.J.M., & Xu, C.R. (1990). The role of host-plant odours in the attraction of *Leptomastix dactylopii* and *Leptomastidea abnormis*, parasitoids of the citrus mealybug, *Planococcus citri*. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent*, 55, 343-353.
- van Niekerk, S., & Malan, A.P. (2014). Compatibility of biological control agents and agrochemicals to entomopathogenic nematodes, *Steinernema yirgalemense* and *Heterorhabditis zealandica*. *African Entomology*, 22, 49-56.
- van Velden, P. (2017). Biologische bestrijding wolluis lukt dankzij kleine roofkevers. *Vakblad onder glas*. Geraadpleegd op 30/01/2019, van <https://hortinext.nl/biologische-bestrijding-wolluis-lukt-dankzij-kleine-roofkevers/>.
- Vilt. (2016). Bio-ingenieurs UGent tonen innovaties op Floraliën. Geraadpleegd op 10/11/2018, van <http://www.vilt.be/bio-ingenieurs-ugent-tonen-innovaties-op-floralien>.
- Vlaams Innovatienetwerk. (z.d.). Project: Beheersing van wolluisproblemen in de sierteelt binnen een IPM systeem. Geraadpleegd op 30/9/2018, van <http://www.innovatienetwerk.be/projects/2348>.
- Vlam vzw (Vlaams centrum voor Agro- en Visserijmarketing). (2017). Feiten en cijfers. Bloemen en planten: Belgische sierteeltsector in cijfers. Geraadpleegd op 10/11/2018, van <https://www.vlam.be/nl/feitenencijfers/bloemen-en-planten>.
- Waterworth, R.A., Redak, R.A., & Millar, J.G. (2011a). Pheromonebaited traps for assessment of seasonal activity and population densities of mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) in nurseries producing ornamental plants. *J. Econ. Entomol.*, 104, 555–565.
- Waterworth, R.A., Wright, I.M., & Millar, J.G. (2011b). Reproductive biology of three cosmopolitan mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) species, *Pseudococcus longispinus*, *Pseudococcus viburni*, and *Planococcus ficus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 104, 249-260.
- Williams, D.J. (2004). *Mealybugs of southern Asia*. The Natural History Museum/Southdene Sdn. London/Kuala Lumpur, BHD.
- Williams, D.J., & Granara de Willink, M.C. (1992). *Mealybugs of Central and South America*. CAB International, Wallingford.
- Wu, H., Zhang, Y., Liu, P., Xie, J., He, Y., Deng, C., De Clercq, P., & Pang, H. (2014). *Cryptolaemus montrouzieri* as a predator of the striped mealybug, *Ferrisia virgata*, reared on two hosts. *J. Appl. Entomol.*, 138, 662-669.
- Xie, J., Wu, H., Pang, H., & De Clercq, P. (2017). An artificial diet containing plant pollen for the mealybug predator *Cryptolaemus montrouzieri*. *Pest Manag Sci*, 73, 541-545.
- Xie, J., Zhang, Y., Wu, H., Liu, P., Deng, C., & Pang, H. (2014). Effects of mating patterns on reproductive performance and offspring fitness in *Cryptolaemus montrouzieri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 153, 20-23.