

Harmonia axyridis (Coleoptera: Coccinellidae): 13 jaar gevolgd met lichtvangsten in De Kaaistoep, Noord-Brabant

Paul S. van Wielink

TREFWOORDEN

Dispersie, fenotypen, *Hesperomyces virescens*, natuurlijke vijanden, reproductie

Entomologische Berichten 77 (3): 97-105

Het Aziatisch lieveheersbeestje, *Harmonia axyridis*, is een invasieve exoot die in 2002 voor het eerst in Nederland is waargenomen en snel tot de algemeenste kevers van Nederland is gaan behoren. In dit artikel wordt ingegaan op de aantalsontwikkeling, het formaat, de fenologie, de kleurvormen, de natuurlijke vijanden en de invloed van het weer op de activiteit van deze soort. Dit gebeurt op basis van gegevens die sinds 1997 in het Noord-Brabantse natuurgebied De Kaaistoep zijn verzameld. Sinds dat jaar zijn op steeds dezelfde locatie lieveheersbeestjes die 's nachts op een verlicht laken afkwamen verzameld en onderzocht. Daaronder bevonden zich in de periode 2003-2015 bijna achtduizend Aziatische lieveheersbeestjes, rond de 70% van het totaal aantal op licht gevangen lieveheersbeestjes. Bijna 72% van de gevangen *H. axyridis*-exemplaren is man en de verdeling over de fenotypen (forma) is als volgt: 81% f. *succinea*, 15% f. *spectabilis* en 4% f. *conspicua*. Dit is in de loop van de jaren niet veranderd. Het percentage mannen en de verdeling over de fenotypen komen overeen met die elders in Europa en in Noordoost-China. De periode waarin er eitjes in het abdomen aanwezig zijn en dieren met niet-uitgeharde elytra worden verzameld suggereert dat er twee of drie generaties per jaar zijn. De 's nachts op licht verzamelde *H. axyridis*-exemplaren zijn niet geïnfecteerd met mijten, nematoden of vliegen, maar wel werd tweemaal een larve van een parasitaire schildwesp aangetroffen. Infectie met *Hesperomyces virescens*, een obligaat-parasitaire ascomycete (Laboulbeniales), werd voor het eerst vastgesteld in 2008 en nam sindsdien toe. De verdeling van *H. virescens* over het lichaam is geslachtsafhankelijk: mannetjes hebben er meer ventraal. Dit suggereert dat copulatie een rol speelt bij de overdracht van de infectie.

Inleiding

In 1995 startte een onderzoek naar flora en fauna in De Kaaistoep, een natuurontwikkelingsgebied ten westen van Tilburg (Van Wielink 1999, 2011). Inmiddels zijn in deze ATBI (Alle Taxa Biodiversiteit Inventarisatie) meer dan 7.000 soorten vastgesteld (Van Wielink 2010). Eén van de inventarisatiemethodes is het vangen van insecten die 's nachts op een verlicht wit laken afkomen. Deze methode heeft in zeventien jaar (1995-2011) geleid tot de vaststelling van 2.180 soorten waaronder ruim 700 soorten kevers (Van Wielink & Spijkers 2013). Vanaf het voorjaar van 1997 worden alle soorten kevers systematisch verzameld, gedetermineerd en geteld. Tijdens deze nachten zijn onder meer 23 soorten Coccinellidae (lieveheersbeestjes) waargenomen. Op 14 juli 2003 verscheen een tot dan toe onbekende soort op het doek. Het bleek *Harmonia axyridis* (Pallas) (Aziatisch lieveheersbeestje) te zijn, een voor Nederland en België nieuwe, en naar snel bleek invasieve exoot (Adriaens et al. 2003, Cuppen et al. 2004, 2017). Vanaf 2003, het eerste jaar dat hij opdook, is het Aziatisch lieveheersbeestje het meest voorkomende lieveheers-

beestje en zelfs de meest voorkomende kever op het verlichte laken in De Kaaistoep (Van Wielink & Spijkers 2013). Van 2003 tot 2015 is er op een systematische manier informatie verzameld over de aantalsontwikkeling, ook ten opzichte van alle lieveheersbeestjes, het formaat, de fenologie, de kleurvormen, de natuurlijke vijanden en de invloed van het weer op de activiteit van het Aziatisch lieveheersbeestje. De gegevens hiervan worden in dit artikel gepresenteerd. Informatie verzameld over andere soorten lieveheersbeestjes is verwerkt in een apart artikel (Van Wielink 2017).

Harmonia axyridis is in Europa en daarbuiten gebruikt voor biologische controle van bladluizen (Koch 2003, Roy & Brown 2015, Raak-van den Berg 2017). De soort heeft zich vanaf eind jaren 1990 vanuit Noordwest-Europa in alle richtingen uitgebreid en komt nu voor van Ierland tot in de Oekraïne en Georgië (Brown et al. 2008, Roy et al. 2016). *Harmonia axyridis* wordt door velen beschouwd als een modelsoort om invasieve processen te begrijpen (Roy & Wajnberg 2007) en heeft tot wereldwijde samenwerking geïnspireerd (Haelewaters et al. 2016, Roy et al.



1. Een kleine aggregatie van *H. axyridis* in de bossen van Oisterwijk. De drie algemeen voorkomende vormen zijn te herkennen en ook de plooi achter op de elytra is zichtbaar. Foto: Peter van Heeswijk
1. A small aggregation of *H. axyridis* near Oisterwijk. The various colour morphs found during this research are shown; the elytral ridge can be seen in some individuals.

2016). Er komen veel kleurvormen voor (zie Mader 1926-1937), waarvan de genetische achtergrond in de jaren 1950 werd onttrafeld (Komai 1956). In Europa en de Verenigde Staten zijn *f. succinea*, *f. spectabilis* en *f. conspicua* veruit de meest voorkomende fenotypen (figuur 1).

Coccinellidae worden belaagd door allerlei natuurlijke vijanden, waaronder mijten, sluipwespen, schimmels en vliegen (Ceryngier et al. 2012, Harding et al. 2011, Riddick et al. 2009) en *H. axyridis* is ook een geschikte gastheer (De Kesel 2011, Roy et al. 2011). Vooral de obligaat parasitaire schimmel *Hesperomyces virescens* (Ascomycota: Laboulbeniales) is algemeen en vaak zichtbaar op het lieveheersbeestje aanwezig. Infectie van *H. axyridis* met *H. virescens* komt in Europa veel voor en neemt aanzienlijk toe (De Kesel 2011, Haelewaters & De Kesel 2017, Haelewaters et al. 2012). In België is in de winter van 2007 de eerste geïnfecteerde *H. axyridis* waargenomen en op dezelfde overwinteringslocatie was in de winter van 2010-2011 maar liefst 96,5% besmet met *H. virescens* (De Kesel 2011). *Hesperomyces virescens* is ook aangetoond op *H. axyridis* in het oorspronkelijke verspreidingsgebied (Haelewaters et al. 2014). Wij vonden in De Kaaistoep het eerste

geïnfecteerde exemplaar in 2008; in de jaren daarna nam de infectiegraad toe.

Methode

Alle in dit artikel behandelde gegevens hebben betrekking op dieren die op licht afkwamen. Steeds werd op dezelfde locatie op een vergelijkbare manier gewerkt. Daarbij werden vier lampen van elk 500 W ontstoken op het tijdstip van zonsondergang. De lampen verlichten een verticaal laken van 2 × 3,5 m met daaronder een op de grond liggend laken. De vangsten vonden plaats in De Kaaistoep, ten westen van Tilburg, steeds op exact dezelfde plaats: 51° 32' 25" N 5° 00' 37" O (RDM 128.8-394.6). Voor het laken strekt zich een open grasland uit op droge, arme zandgrond, achter het laken bevinden zich de werkhut en een rij zomereiken. In de directe nabijheid zijn uitgestrekte dennenpercelen, maar ook gedeelten met lariks en sparren. Zie Felix & Van Wielink (2008) voor een uitgebreide beschrijving van het terrein.

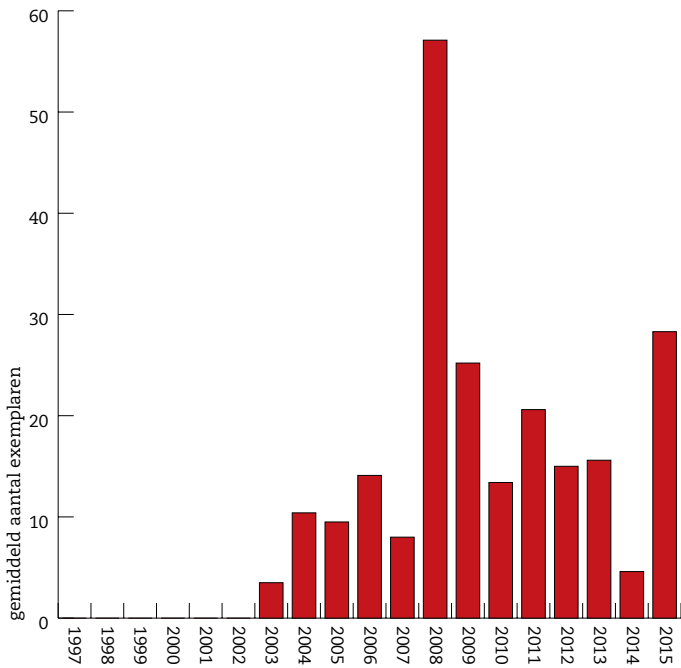
Nachten waarop alle kevers zijn verzameld en gedetermineerd worden in dit artikel verzamelnachten genoemd. In de periode 2003 tot en met 2015 zijn van 449 nachten alle kevers verzameld en gedetermineerd. Daarnaast is er op 24 nachten op licht gevangen maar omdat tijdens deze nachten niet alles van het laken is verzameld zijn deze in dit artikel buiten beschouwing gelaten. De kevers werden verzameld met een exhauster en gedood met ethylacetaat. Na een nacht werden ze overgebracht in 70% ethanol (zie Van Wielink & Spijkers 2013 voor meer details). Halverwege 2012 zijn de Coccinellidae niet meer in ethanol bewaard, maar droog opgeslagen bij -18 °C tot determinatie kon plaatsvinden.

Exemplaren van *H. axyridis* werden gesorteerd op fenotype (forma): *f. succinea* (rood/oranje met 19 of minder zwarte vlekken), *f. spectabilis* (zwart met vier rood/oranje vlekken) en *f. conspicua* (zwart met twee rood/oranje vlekken) (figuur 1). Ze werden uitwendig gesekeerd op kenmerken aan de laatste abdominale sternieten (Riddick & Schaefer 2005). Indien de sekse niet eenduidig kon worden bepaald, is het abdomen geopend. Exemplaren zijn gescreend op de aanwezigheid van Laboulbeniales. Van sommigen zijn aantal thalli en hun locatie genoteerd. De vrouwtjes zijn inwendig onderzocht op het voorkomen van eitjes; daarbij werd ook gelet op infecties (larven van Diptera en

Tabel 1. Aantal verzamelnachten (= nachten waarop alle *H. axyridis* zijn verzameld) per maand en per jaar (2003-2015).

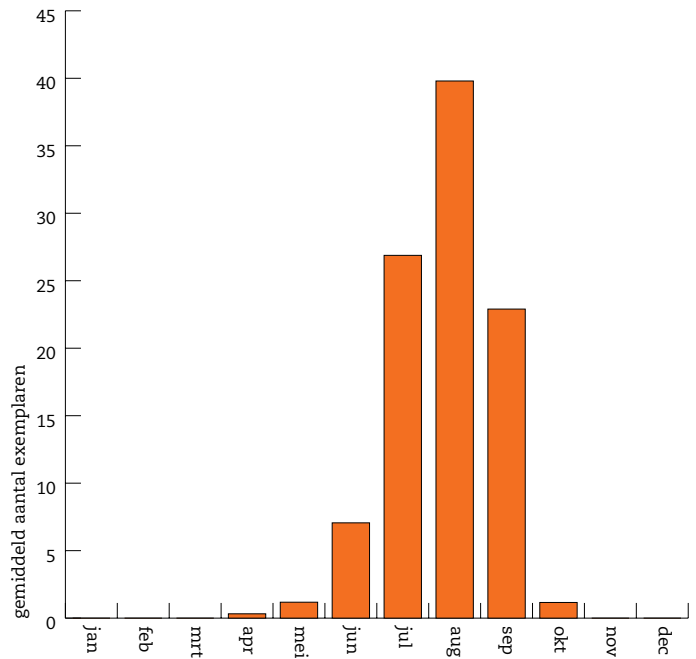
Table 1. Number of collecting nights (= nights on which all *H. axyridis* were collected) for each month and each year (2003-2015).

Jaar	Verzamelnachten	Maand	Verzamelnachten
2003	10	januari	1
2004	59	februari	0
2005	76	maart	15
2006	77	april	46
2007	22	mei	76
2008	35	juni	60
2009	34	juli	81
2010	19	augustus	76
2011	18	september	51
2012	22	oktober	36
2013	33	november	6
2014	22	december	1
2015	22		
totaal	449	totaal	449



2. Gemiddeld aantal exemplaren van *H. axyridis* (aantal gedeeld door aantal verzamelnachten) per jaar voor de periode 1997 tot en met 2015.

2. Average number of specimens of *H. axyridis* each year (number divided by number of collecting nights) in the period 1997 to 2015.



3. Fenologie van *H. axyridis* (aantal gedeeld door aantal verzamelnachten) op basis van exemplaren 's nachts aangetrokken door licht in De Kaaistoep, 1997-2015.

3. Phenology of *H. axyridis* (number divided by number of collecting nights) based on specimens attracted to light in De Kaaistoep, Noord-Brabant, 1997-2015.

Braconidae). Daarnaast is de aanwezigheid van Acari genoteerd. Een gedeelte van dit werk is verricht in samenwerking met de Universiteit van Wageningen. Vanaf 2011 is ook het abdomen van de mannetjes van *H. axyridis* geopend op zoek naar inwendige infecties. De uitharding van de elytra, een maat voor de fase

in de levenscyclus, is getest door er met twee prepareernaalden op te drukken: bij volledig zachte exemplaren kunnen zo de elytra niet doorboord worden en bij niet volledig uitgeharde elytra ontstaat een mooi rond gaatje. Bij uitgeharde elytra gaat de naald met een schok door de elytra heen en ontstaat een gat met breukscheuren. Het onderzochte materiaal is in 70% ethanol bewaard en opgeslagen bij de auteur.

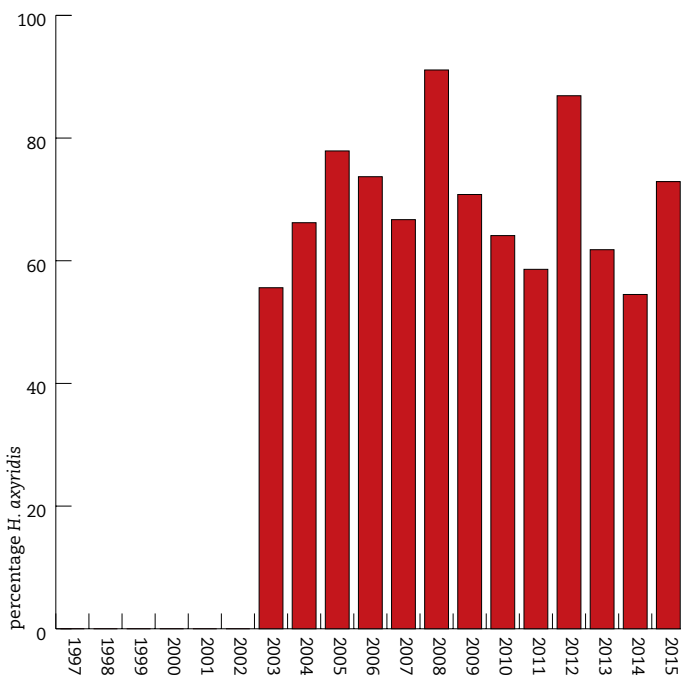
Van 2003 tot en met 2015 zijn er 449 verzamelnachten geweest (tabel 1) waarbij het aantal per jaar uiteenloopt van 10 tot 77. Dit grote verschil wordt vooral veroorzaakt door het hoge aantal verzamelnachten in de jaren 2004 tot en met 2006, onmiddellijk na de eerste waarnemingen van *H. axyridis* (tabel 1). Het aantal verzamelnachten per maand loopt uiteen van 0 tot 81. In de wintermaanden zijn de minste waarnemingen verricht, in juli de meeste (tabel 1).

De gebruikte waarnemingsmethode heeft enkele bezwaren: zo is er niet elke nacht van het jaar verzameld en is er vooral gevangen bij gunstig weer. Gezien het grote aantal verzamelnachten, 449 waarvan 260 met *H. axyridis*, en het grote aantal waargenomen dieren (bijna 8.000) zijn de gegevens desondanks zeer informatief.

Resultaten en discussie

Aantallen en fenologie

Op 14 juli 2003 werd het eerste exemplaar van *H. axyridis* verzameld en in dat jaar verschenen er totaal 35 exemplaren. *Harmonia axyridis* vliegt 's nachts massaal en wordt door licht aangetrokken. Vanaf 2003 tot en met 2015 zijn 7.989 *H. axyridis* waargenomen waarvan er 7.630 verzameld zijn. *Harmonia axyridis* is daarmee vanaf 2003 veruit de meest aangetroffen kever (Van Wielink & Spijkers 2013). Het gemiddeld aantal per verzamelnacht op het laken aangetroffen exemplaren schommelt sterk per jaar (figuur 2). Het hoogste aantal *H. axyridis* op één



4. Percentage *H. axyridis* van het totaal aantal Coccinellidae 's nachts op licht gevangen in De Kaaistoep van 2003 tot en met 2015.

4. Percentage *H. axyridis* relative to all Coccinellidae sampled at light in De Kaaistoep, Noord-Brabant, in the years 2003 till 2015.

Tabel 2. Sekse en fenotype van *H. axyridis* in veldexperimenten in De Kaaistoep, in winteraggregaties in de Tilburgse watertoren en in Rucphen. Het percentage *succinea* en *spectabilis* staat vermeld, het resterende deel heeft betrekking op *conspicua*.

Table 2. Gender and phenotype of *H. axyridis* in field experiments in De Kaaistoep, in winter aggregations in the Tilburg water tower and in Rucphen. The percentage of *succinea* and *spectabilis* is given, the remainder is *conspicua*.

Datum	Aantal	% ♂♂	% <i>succinea</i>	% <i>spectabilis</i>	Details
29.x.2004	196	46,4	79,6	14,8	Kaaistoep wit laken overdag
29.x.2004	137	48,9	85,4	10,2	Kaaistoep grijze deur overdag
28.iii.2007	378	59,5	84	13,5	Aggregatie watertoren Tilburg
21.xii.2007	216	51	74,5	23,2	Aggregatie watertoren Tilburg
10.xii.2007	662	46,2	81,3	13,7	Aggregatie dak in Rucphen

nacht in De Kaaistoep was ongeveer 600 (582 verzameld); dat was op 31 augustus 2008. Het was die nacht een uur na zonsondergang nog 21 °C, vochtig en drukkend, en er dreigde onweer.

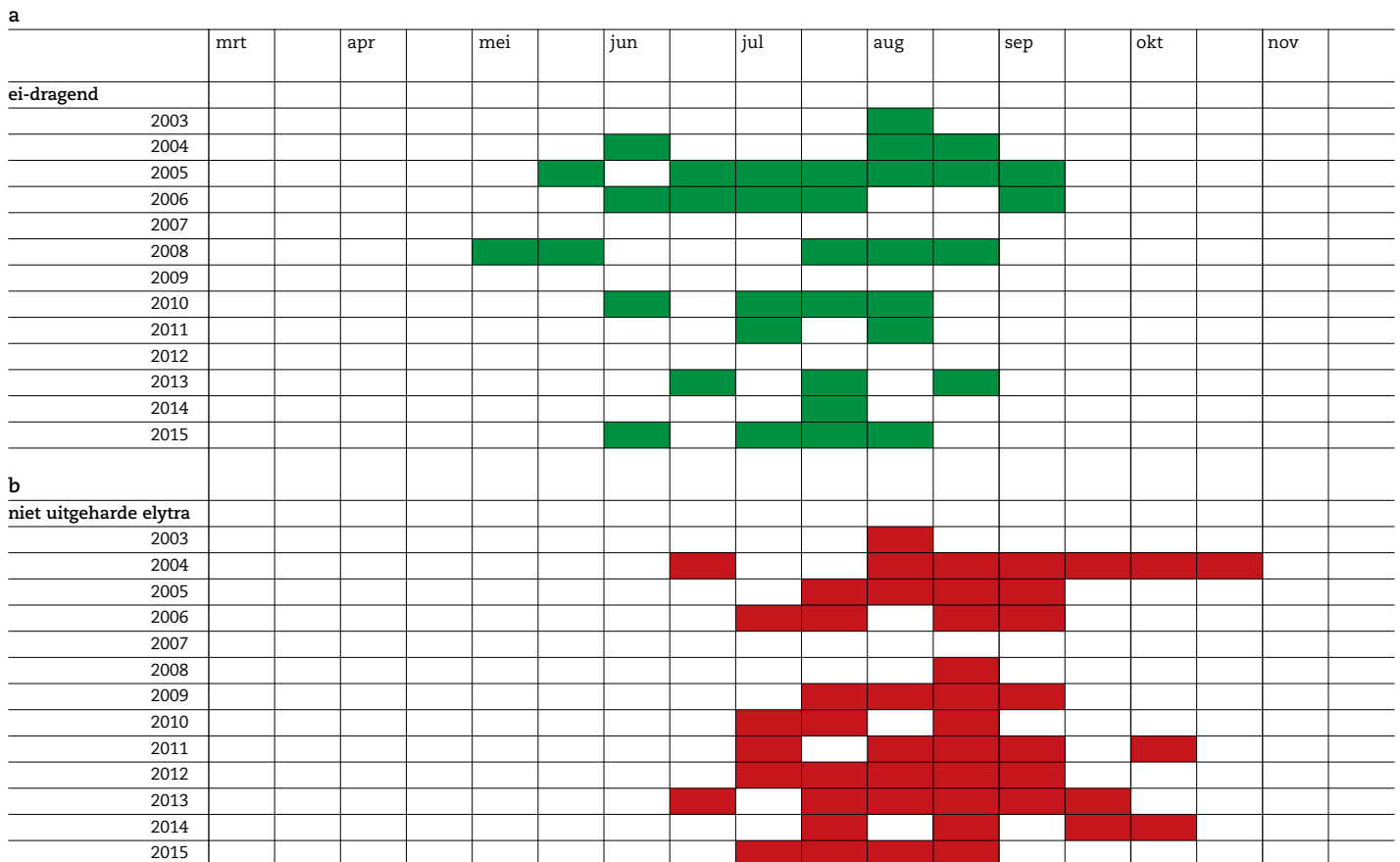
De vroegste waarneming in alle jaren was 10 april 2009, de laatste 29 oktober 2005 (figuur 3). Na een aarzelend begin in het late voorjaar valt de piek in augustus; in oktober is het vrijwel gedaan.

In het voorjaar wordt *H. axyridis* nauwelijks op het laken aangetroffen. Zo werden er op 11 mei 2015 geen exemplaren op licht waargenomen (temperatuur 15,5 °C een uur na zonsondergang) terwijl enkele dagen eerder (7 mei) verschillende dieren werden geklopt van fijnsparren dicht bij de lichtopstelling. Blijkbaar vliegt de overwinterende generatie niet 's nachts, of wordt niet door licht aangetrokken. Ook Nalepa (2013) komt tot de conclusie dat *H. axyridis* niet vliegt in het voorjaar, maar geeft daar geen verklaring voor.

Veranderingen in aantal

Er is geen sprake van een duidelijke toe- of afname van *H. axyridis* ten opzichte van het totale aantal gevangen Coccinellidae sinds 2003 (figuur 4) en het percentage schommelt tussen 55% (2014) en 91% (2008). Wel verschilt het gemiddeld aantal exemplaren sterk tussen de jaren (figuur 2). Dergelijke grote jaarlijkse schommelingen zijn bekend van insecten, ook lieveheersbeestjes (Owen 1991). In North-Carolina in de Verenigde Staten waar met blacklight-vallen wordt verzameld is het aandeel *H. axyridis* met >98% nog hoger (Nalepa 2013).

In België en het Verenigd Koninkrijk gingen respectievelijk vijf en zeven van de acht onderzochte soorten lieveheersbeestjes achteruit na de binnenkomst van *H. axyridis* (Roy et al. 2012). In De Kaaistoep lijkt alleen *Adalia bipunctata* sterk negatief beïnvloed te zijn door de binnenkomst van *H. axyridis* (Van Wielink 2017).



5. (a) Aanwezigheid van eitjes in het achterlijf bij *H. axyridis* per tweeweekse periode per jaar. (b) Exemplaren met niet uitgeharde elytra per tweeweekse periode per jaar.

5. (a) Presence of eggs in abdomen per fortnight each year. (b) Individuals with soft elytra per fortnight each year.



6. (a) De ectoparasitaire schimmel *Hesperomyces virescens* op *Harmonia axyridis* en (b) detail van de vruchtlichamen op de achterrand van de elytra. Foto's: Bart Horvers

6. (a) The ectoparasitic fungus *Hesperomyces virescens* on *Harmonia axyridis* and (b) detail of thalli on the elytral ridge.

Grootte, sekseverhouding en fenotypen

In 2015 zijn 373 exemplaren van *H. axyridis* gemeten. De vrouwtjes zijn gemiddeld wat groter dan de mannetjes, respectievelijk $7,1 \pm 0,5$ mm ($n=97$) en $6,4 \pm 0,5$ mm ($n=276$). Het kleinste exemplaar was 4,9 mm, het grootste 8,2 mm. De afmetingen van de mannetjes en vrouwtjes zijn niet anders dan ruim tien jaar eerder (Cuppen et al. 2004) en komen overeen met die vermeld in buitenlandse literatuur (Klausnitzer 2002, zie ook het overzicht in Roy et al. 2016).

Mannetjes van *H. axyridis* komen 's nachts vaker op het laken dan vrouwtjes. Van de in totaal 7.775 exemplaren waarvan de sekse bepaald is, was 72% man. De jaarlijkse variatie bedraagt 65-79%. Bij overdag in De Kaaistoep op dezelfde locatie vliegende exemplaren is dat 46-49%, terwijl in drie verschillende winteraggregaties, onder andere in de watertoren van Tilburg, het percentage uiteenloopt van 46-59,5% (tabel 2). Het is onduidelijk of mannetjes meer op het verlichte laken verschijnen dan vrouwtjes omdat ze meer vliegen of omdat ze meer geneigd zijn om op licht af te komen.

Van in totaal 7.160 exemplaren die 's nachts op licht in De Kaaistoep verzameld zijn is het fenotype bepaald. Dat leverde de volgende verhouding op: *f. succinea* 81,3%, *f. spectabilis* 15,0% en *f. conspicua* 3,7%. De jaarlijkse spreiding loopt uiteen van 75,9-86,8% voor *f. succinea*, 11,3-18,9% voor *f. spectabilis* en 1,8-5,2% voor *f. conspicua*. Er zijn geen duidelijke veranderingen van deze verhoudingen in de tijd. Andere vormen zijn in De Kaaistoep niet 's nachts op licht waargenomen. De verdeling over de fenotypen is conform elders in Europa (Roy et al. 2016). Ook is er geen verschil met de verdeling over de fenotypen op licht, veldwaarnemingen en in winteraggregaties (tabel 2). Deze fenotypering komt overeen met die in Beijing-Harbin, Noordoost-China (Komai et al. 1950).

Reproductiecyclus

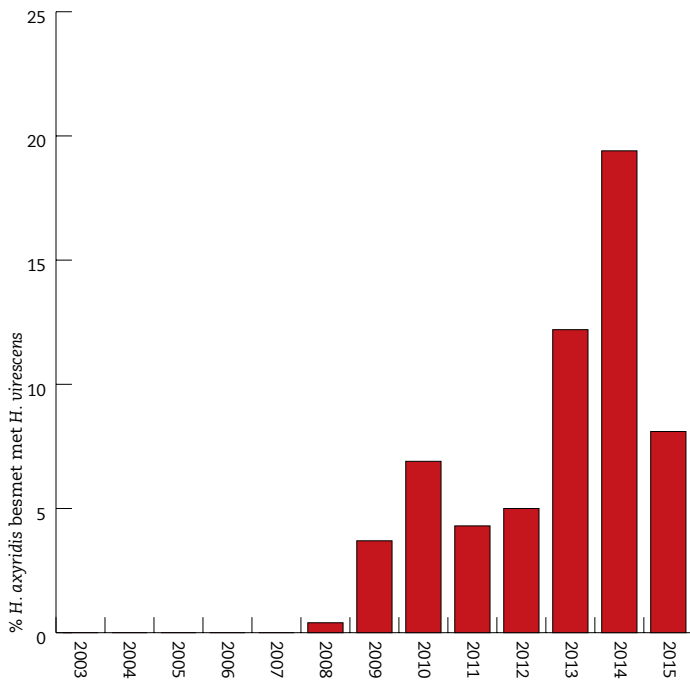
Vanaf 2003 zijn vrouwtjes nagezien op het dragen van eitjes. Ongeveer 8% van de 2.177 op licht verzamelde vrouwtjes bleek eieren te bevatten. Vrouwtjes met eitjes werden aangetroffen van de eerste helft van mei tot en met de eerste helft van september, met een grote jaarlijkse variatie (figuur 5a). In het abdomen van ei-dragende vrouwtjes zijn 5-30 eitjes aangetroffen. In de literatuur wordt een legselgrootte van 10 tot 50 eitjes gemeld (Roy et al. 2016).

Ongeveer 20% van de onderzochte dieren bleek niet uitgeharde of zelfs zachte elytra te hebben. De periode waarin *H. axyridis* niet uitgeharde elytra heeft valt tussen de tweede helft van juni en de tweede helft van oktober (figuur 5b). Het aantal exemplaren met niet uitgeharde elytra varieert per nacht van 0 tot 76%. Van de 240 waargenomen exemplaren op 30 augustus 2015 bleken er 183 niet uitgehard te zijn. Het relatief hoge percentage dieren waarbij de elytra nog niet zijn uitgehard suggereert dat veel dieren op het doek terecht komen tijdens een dispersievlucht. Deze vindt 's nachts afhankelijk van voedselaanbod en weersomstandigheid plaats. Bij een dispersievlucht vliegen veel insecten hoger en verder dan bij een normale vlucht (Johnson 1969). Ook bij Coccinellidae en met name bij *H. axyridis* is dit recent aangetoond met radarbeelden (Jeffries et al. 2013). Hoge luchttemperatuur en een gering aanbod van bladluizen blijken de belangrijkste factoren ten gunste van een dispersievlucht over grote afstand te zijn.

Er worden op licht 's nachts in het voorjaar bijna geen *H. axyridis* verzameld (figuur 3). Ook Nalepa (2013) komt tot deze bevinding. Het relatief hoge percentage dieren met nog geen uitgeharde elytra suggereert dat vooral jonge dieren 's nachts vliegen en op licht afkomen. Aangezien er in het voorjaar nog geen jonge dieren zijn zou dit kunnen verklaren waarom er tijdens de voorjaarsnachten zo weinig *H. axyridis* worden aangetroffen. *Harmonia axyridis* heeft in Nederland, gebaseerd op bovenstaande gegevens, ten minste twee generaties per jaar. In Europa zijn twee-drie generaties normaal (Roy et al. 2016).

Natuurlijke vijanden

In de nacht van 24 juli 2008 is er voor het eerst een *H. axyridis* aangetroffen met de obligaat parasitaire schimmel *Hesperomyces virescens* (figuur 6). De infectiegraad nam in de jaren daarna geleidelijk toe, van 0,4% in 2008 tot 19,4% in 2014. In 2015 was slechts 8,1% van *H. axyridis* besmet, een afwijking van de trend (figuur 7). Ook in de ons omringende landen werd na vestiging een toename van de besmettingsgraad geconstateerd (Haelewaters et al. 2016, Haelewaters & De Kesel 2017). Van de 2.701 mannetjes verzameld in 2008 tot en met 2015 was 5,1% besmet, van de 1.046 ♀♀ 4,9%. In winteraggregaties in Nederland zijn mannetjes significant meer geïnfecteerd dan vrouwtjes (Raakvan den Berg et al. 2014).



7. Percentage met *Hesperomyces virescens* geïnfecteerde *H. axyridis* in de periode 2003-2015.

7. Percentage of *H. virescens* infected *H. axyridis* with *H. virescens* in the period 2003-2015.

Hesperomyces virescens is veruit de meest voorkomende parasiet op *H. axyridis* in Nederland en daar buiten (Haelewaters et al. 2016, Haelewaters & De Kesel 2017).

Bij 47 mannetjes en 13 vrouwtjes is het aantal vruchtlichamen (in totaal respectievelijk 1.063 en 151) en de plaats ervan bepaald. Mannetjes dragen aanzienlijk meer vruchtlichamen van *H. virescens* dan vrouwtjes, gemiddeld 23 versus 12. Bij beide geslachten zaten de meeste vruchtlichamen op de elytra, vooral rond de elytrale plooi. Er is echter een aanzienlijk geslachtsgebonden verschil in het percentage *H. virescens* aan dorsale en ventrale zijde. Indien de bezetting van de poten buiten beschouwing wordt gelaten dan bevindt zich 49% van de *H. virescens* bij mannetjes aan de dorsale zijde; bij vrouwtjes is dit 98%. Aan de ventrale zijde is bij 38% van de mannetjes sprake van besmetting terwijl dit maar in 1% van de vrouwtjes het geval is. Deze geslachtsgebonden lokalisatie van vruchtlichamen (figuur 8) komt overeen met de overdracht van *H. virescens* tijdens copulatie (Riddick 2006, Riddick et al. 2009, Welch et al. 2001).

Overdracht van *Hesperomyces virescens* vindt ook plaats tijdens contact tussen dieren in overwinterende aggregaties (Nalepa & Weir 2007). Op enkele Nederlandse overwinteringslocaties was in 2010 tot meer dan 50% van *H. axyridis* besmet (Raak-van den Berg et al. 2014). Uit Duitsland zijn besmettingspercentages van 79% bekend (Ceryngier & Twardowska 2013) en uit België van meer dan 95% (winter 2010-2011; De Kesel 2011). Overwinterende aggregaties hebben dus een veel hogere besmetting dan de door ons 's nachts op licht verzamelde exemplaren. Het lagere besmettingspercentage in De Kaaistoep is verklaarbaar. *Harmonia axyridis* komt in het voorjaar nauwelijks op licht. De dieren die hebben overwinterd en dus relatief vaak besmet zijn worden daarom weinig op het doek aangetroffen. De dieren die wel 's nachts door het licht worden aangetrokken zijn relatief vaak dieren in dispersievlucht, die vers uit de pop zijn gekomen en nog niet zichtbaar besmet zijn.

In winteraggregaties van *H. axyridis* in de watertoren van Tilburg (ongeveer 4 km van het laken in De Kaaistoep), is een

gering aantal exemplaren aangetroffen met een infectie van de nematode *Parasitylenchus bifurcatus* Poinar & Steenberg (Tylenchida, Hexatylina: Parasitylenchidae) en eveneens enkele met een infectie van de ectoparasitaire mijt *Coccipolipus hippodamiae* (McDaniel & Morrill) (Acarina: Podapolipidae) (Raak-van den Berg et al. 2014). Ondanks het grote aantal gecontroleerde dieren zijn er geen parasitaire mijten of aaltjes aangetroffen op het in De Kaaistoep met licht verzamelde materiaal van *H. axyridis*. Een verklaring daarvoor kan zijn dat door infectie met mijten de lichamelijke conditie van *H. axyridis* verslechtert (Rhule et al. 2010) waardoor ze minder geneigd zijn om te vliegen. Dat kan ook het geval zijn bij met nematoden besmette exemplaren.

Er werden twee larven van schildwespen (Braconidae) aangetroffen, waarvan er één kon worden gedetermineerd als *Dinocampus coccinellae* (Schrank) (Raak-van den Berg et al. 2014). In naburige winteraggregaties werden drie braconidelarven gevonden; twee ervan bleken *D. coccinellae* (Raak-van den Berg et al. 2014). Hieruit blijkt dat de infectiedruk met *D. coccinellae* in Nederland nog steeds erg laag is.

Twee andere van *H. axyridis* bekende parasieten werden niet waargenomen. De sluipvlieg *Medina separata* (Meigen) (Diptera: Tachinidae) kan imago's van *H. axyridis* parasiteren (Roy et al. 2011). In Nederland is dat nog niet vastgesteld, hoewel de sluipvlieg wel inheems is (Zeegers 2002). In het Verenigd Koninkrijk is deze parasiet wel aangetroffen in *H. axyridis* (Roy et al. 2016). De poppen van *H. axyridis* kunnen ook geïnfecteerd worden met *Phalacrotophora* (Diptera: Phoridae). In Nederland zijn al in 2005 twee exemplaren van *Phalacrotophora fasciata* (Fallén) en een exemplaar van een onbekende *Phalacrotophora*-soort uit poppen van *H. axyridis* geweest (A. Loomans persoonlijke mededeling). Ook in Italië en het Verenigd Koninkrijk is infectie met *Phalacrotophora* vastgesteld (Roy et al. 2016). In China, waar *H. axyridis* van oorsprong voorkomt, zijn zowel infecties met *Medina* als *Phalacrotophora* bekend (Roy et al. 2016).

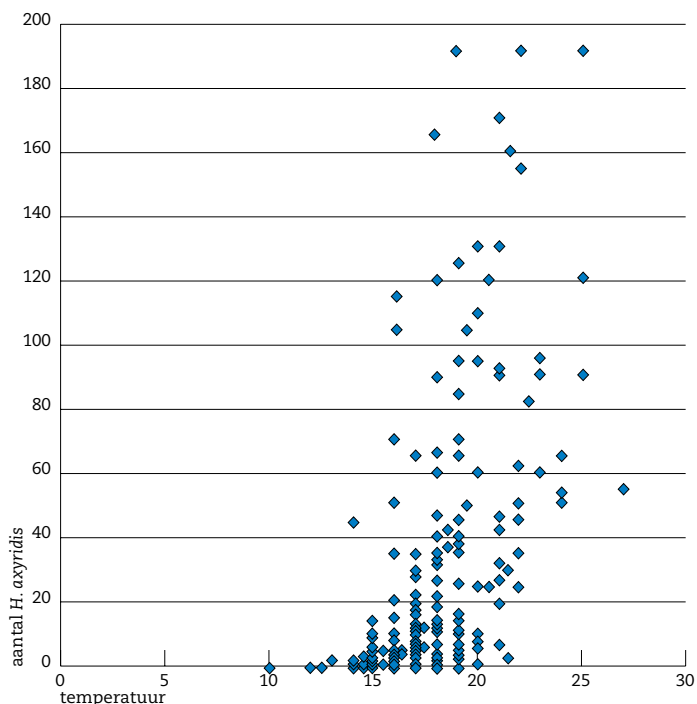
Weersomstandigheden, nachtelijke vlucht

Harmonia axyridis is gevoelig voor de lokale weersomstandigheden; temperaturen lager dan 14 °C, windkracht groter dan 4 Beaufort, regen en mist hebben een negatief effect op de waargenomen aantallen per nacht. Daarentegen zijn hoge tempera-



8. Een mannetje *H. axyridis* met thalli van *H. virescens* ventraal. Zo veel vruchtlichamen werden nooit bij vrouwtjes op die plaats waargenomen. Foto: Bart Horvers

8. A male *H. axyridis* with ventrally placed thalli of *H. virescens*. This amount of ventrally placed thalli was never observed on females.



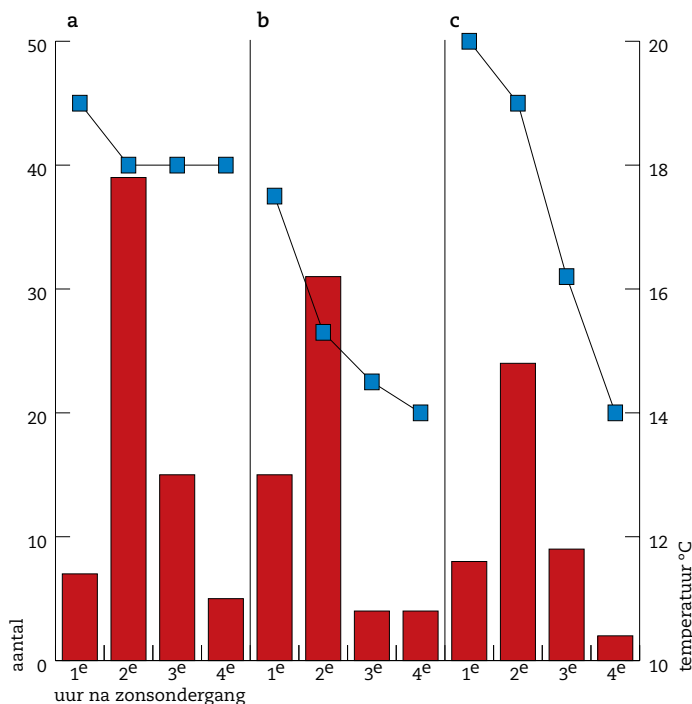
9. Relatie tussen aantal *H. axyridis* en de luchttemperatuur. Vangsten 's nachts op licht in De Kaaistoep, 2003-2015. Drie nachten met meer dan 200 exemplaren zijn weggelaten.

9. Relation between number of *H. axyridis* and the air-temperature. Nightly sampling at light at De Kaaistoep, Noord-Brabant, 2003-2015. Three nights with over 200 specimens are omitted.

turen, hoge luchtvochtigheid, weinig wind en drukkend weer factoren die het aantal doen toenemen. Vanaf 2003 zijn op drie nachten meer dan 200 exemplaren verzameld. Op 26 juli 2006 (259 exemplaren) was het één uur na zonsondergang 23 °C, windstil en drukkend; op 31 augustus 2008 (582 exemplaren) was het 21 °C met weinig wind, drukkend met dreigend onweer en op 30 augustus 2015 (240 exemplaren) was het 22,5 °C met weinig wind, vochtig en drukkend met dreigend onweer. In figuur 9 staat de relatie tussen temperatuur en aantallen *H. axyridis* gebaseerd op 208 nachten in de maanden juli, augustus en september, de maanden waarin *H. axyridis* het meest voorkomt (figuur 3). Tijdens 176 van de 208 nachten werd *H. axyridis* gevonden met in totaal 7.329 exemplaren. Tijdens nachten met een temperatuur beneden de 15 °C worden vrijwel geen *H. axyridis* waargenomen. De laagste temperatuur een uur na zonsondergang waarbij *H. axyridis* is waargenomen bedroeg 10,5 °C (één exemplaar) en de hoogste 27 °C. Er worden meer *H. axyridis* verzameld bij hoge temperaturen. Er zijn geen verschillen in temperatuurgevoeligheid tussen de seksen. In het buitenland worden met blacklight-vallen bij hogere temperatuur ook meer *H. axyridis* verzameld (Nalepa 2013). Met radar is vastgesteld dat de vliegactiviteit toeneemt met de temperatuur (Jeffries et al. 2013).

Het jaar 2015 vormt voor *H. axyridis* een trendbreuk: dat jaar zijn er relatief veel exemplaren aangetroffen (figuur 2), het aantal exemplaren met niet-uitgeharde elytra is het hoogst en de infectiegraad met *H. virescens* is relatief laag (figuur 7). Waarschijnlijk is dit te verklaren uit de weersomstandigheden in 2015 waarin records werden gebroken. Het begon met een extreem zachte winter en het jaar was zacht en zonnig.

Drie keer is 's nachts het aantal *H. axyridis* per uur geteld. Daarbij is ook per uur de temperatuur gemeten (figuur 10). De eerste 45 minuten na zonsondergang werden er geen *H. axyridis* waargenomen, de piek viel in het tweede uur, en daarna nam het aantal snel af. Hetzelfde is vastgesteld door Nalepa (2013).



10. Aantal *H. axyridis* op licht in De Kaaistoep (staven, linker y-as) per uur verzameld vanaf zonsondergang en de luchttemperatuur (lijn, rechter y-as). Gegevens van 13 augustus 2012 (a: n=66), 9 september 2012 (b: n=54) en 6 augustus 2015 (c: n=43).

10. Number of *H. axyridis* at light in De Kaaistoep (bars, left y-axis) collected every hour after sunset and the air temperature (line, right y-axis). Data collected on 13 August 2012 (a: n=66), 9 September 2012 (b: n=54) and 6 August 2015 (c: n=43).

Deze regelmatigheid kent uitzonderingen en blijktbaar is de temperatuur niet de enige factor die vliegactiviteit bepaalt (figuur 10a). Op avonden met weinig wind, hoge temperatuur, hoge luchtvochtigheid en een drukkende atmosfeer vliegen er niet alleen meer *H. axyridis*-exemplaren, ze blijven ook veel langer vliegen. Williams (1939) toonde al aan dat de meeste insecten op licht afkomen in het tweede uur na zonsondergang.

Dankwoord

Henk Spijkers was onmisbaar bij dit onderzoek. Samen brengen we veel nachten door bij het licht in De Kaaistoep. Vaak heeft hij op mijn verzoek alle lieveheersbeestjes van het doek verzameld, regelmatig geassisteerd door Mike van Zon. TWM Gronden BV verleende toestemming om 's nachts in haar terrein door te brengen en ik ben de beheerder Jaap van Kemenade daarvoor erkentelijk. De Uyttenbogaart-Eliassen Stichting verleende subsidie voor het onderzoek. Natuurmuseum Brabant gaf ondersteuning in de vorm van ruimte en materialen. De leden van de insectenwerkgroep van de KNNV-afdeling Tilburg zijn er op dinsdagavond altijd om mij te stimuleren en met mij te discussiëren. Lidwien Raak-van den Berg heeft met mij de watertoren in Tilburg bezocht en wij hebben op een prettige manier samengewerkt bij het zoeken naar endoparasieten van *Harmonia axyridis*. Danny Haelewaters brengt steeds weer met Laboulbeniales besmet materiaal uit De Kaaistoep op naam. Hij heeft het manuscript van dit artikel nagezien en het was een stuk schraler geweest zonder zijn medewerking. Antoon Loomans heeft al in de beginjaren met mij *H. axyridis* bestudeerd en ook aggregaties uit de watertoren verzameld. Zijn gegevens over infectie van poppen met vliegen mocht ik in dit artikel gebruiken. Eric van Pelt verzamelde voor mij een winteraggregatie bij de renovatie van een dak in Rucphen.

Literatuur

- Adriaens T, Branquart E & Maes D 2003. The multicoloured Asian ladybird *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), a threat for native aphid predators in Belgium? *Belgian Journal of Zoology* 133: 201-202.
- Brown PMJ, Adriaens T, Bathon H, Cuppen J, Goldarazena A, Hägg T, Kenis M, Klausnitzer BEM, Kovář I, Loomans AJM, Majerus MEN, Nedved O, Pedersen J, Rabitsch W, Roy HE, Ternois V, Zakharov IA & Roy DB 2008. *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. *BioControl* 53: 5-21.
- Ceryngier P, Roy HE & Poland RL 2012. Natural enemies of ladybird beetles. In: *Ecology and behaviour of the ladybird beetles* (Hodek I, Van Emden HF & Honěk A eds): 375-442. Blackwell Publishing.
- Ceryngier P & Twardowska K 2013. *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) as a host of the parasitic fungus *Hesperomyces virescens* (Ascomycota: Laboulbeniales, Laboulbeniaceae): a case report and short review. *European Journal of Entomology*: 110: 549-557.
- Cuppen J, Heijerman Th, Van Wielink P & Loomans A 2004. Het lieveheersbeestje *Harmonia axyridis* in Nederland: een aanwinst voor onze fauna of een ongewenste indringer (Coleoptera: Coccinellidae)? *Nederlandse Faunistische Mededelingen* 20:1-12.
- Cuppen JGM, Kalkman VJ & Tacoma-Krist G 2017. Verspreiding, biotoop en fenologie van de Nederlandse lieveheersbeestjes (Coleoptera: Coccinellidae). *Entomologische Berichten* 77: 147-187.
- De Kesel A 2011. *Hesperomyces* (Laboulbeniales) and coccinellid hosts. *Sternbeecia* 30: 32-37.
- Felix R & Van Wielink P 2008. On the biology of *Calodromius bifasciatus* and related species in 'De Kaaistoep' (Coleoptera: Carabidae). *Entomologische Berichten* 68: 198-209.
- Haelewaters D, Van Wielink P, Van Zuijlen JW, Verbeken A & De Kesel A 2012. New records of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) for the Netherlands. *Entomologische Berichten* 72: 175-183.
- Haelewaters D, Comont RF, Zhao SY & Pfister DH 2014. *Hesperomyces virescens* (Fungi, Ascomycota, Laboulbeniales) attacking *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae) in its native range. *Chinese Science Bulletin* 59: 528-532.
- Haelewaters D, Zhao SY, Cottrell TE, De Kesel A, Fiedler L, Herz A, Hesketh H, Hui C, Kleespies RG, Losey JE, Murray KM, Nedved O, Pfiogler WP, Raak-van den Berg CL, Riddick EW, Shapiro-Ilan DI, Smyth RR, Steenberg T, Van Wielink PS, Vigišová S, Zhao Z, Ceryngier P & Roy HE 2016. Parasites of *Harmonia axyridis*: current research and perspectives. *BioControl*, doi: 10.1007/s10526-016-9766-8.
- Haelewaters D & De Kesel 2017. De schimmel *Hesperomyces virescens*, een natuurlijke vijand van lieveheersbeestjes. *Entomologische Berichten* 77: 106-118.
- Harding S, Poinar GO, Dimitrova DV & Steenberg T 2011. *Parasytlenchus* sp. (Tylenchomorpha: Allantonematidae) parasitizing field populations of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 108: 487-488.
- Jeffries DL, Chapman J, Roy HE, Humphries S, Harrington R, Brown PMJ & Lawson Handley L-J 2013. Characteristics and drivers of high-altitude ladybird flight: insights from vertical-looking entomological radar. *PLoS one* 8: e82278.
- Johnson CG 1969. Migration and dispersal of insects by flight. *Methuen*.
- Klausnitzer B 2002/2003. *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) in Deutschland (Col., Coccinellidae). *Entomologische Nachrichten und Berichte* 46: 177-183.
- Koch RL 2003. The multicoloured Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: a review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. *Journal of Insect Science* 3: 32-48.
- Komai T, Chino M & Hosino Y 1950. Contribution to the evolutionary genetics of the lady-beetle, *Harmonia*. I. Geographic and temporal variations in the relative frequencies of the elytral pattern types and in the frequency of elytral ridge. *Genetics* 35: 589-601.
- Komai T 1956. Genetics of ladybeetles. *Advances in Genetics* 8: 155-188.
- Mader L 1926-1937. Evidenz der paläarktischen Coccinelliden und ihrer Aberrationen in Wort und Bild. *Von Leopold Mader*.
- Nalepa CA & Weir A 2007. Infection of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) by *Hesperomyces virescens* (Ascomycetes: Laboulbeniales): role of mating status and aggregation behaviour. *Journal of Invertebrate Pathology* 94: 196-203.
- Nalepa CA 2013. Coccinellidae captured in blacklight traps: seasonal and diel pattern of the dominant species *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 110: 593-597.
- Owen J 1991. The ecology of a garden: the first 15 years. *Press Syndicate of the University of Cambridge*.
- Raak-van den Berg CL, Van Wielink PS, De Jong PW, Gort G, Haelewaters D, Helder J & Van Lenteren JC 2014. Invasive alien species under attack: natural enemies of *Harmonia axyridis* in the Netherlands. *BioControl* 59: 229-240.
- Raak-van den Berg CL 2017. *Harmonia axyridis*: Hoe kan het invasieve succes in Europa verklaard worden? *Entomologische Berichten* 77: 87-96.
- Rhule EL, Majerus MEN, Jiggins FM & Ware RL 2010. Potential role of the sexually transmitted mite *Coccipolipus hippodamiae* in controlling populations of the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *BioControl* 53: 243-247.
- Riddick EW 2006. Influence of host gender on infection rate, density and distribution of the parasitic fungus, *Hesperomyces virescens*, on the multi-coloured Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*. *Journal of Insect Science* 6: 1-15.
- Riddick EW & Schaefer PW 2005. Occurrence, density, and distribution of parasitic fungus *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales: Laboulbeniaceae) on multi-coloured Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the Entomological Society of America* 98: 615-624.
- Riddick EW, Cottrell TE & Kidd KA 2009. Natural enemies of the Coccinellidae: parasites, pathogens and parasitoids. *BioControl* 51: 306-312.
- Roy HE & Wajnberg E 2007. From biological control to invasion: the ladybird *Harmonia axyridis* as a model species. *Springer*.
- Roy HE, Rhule E, Harding S, Lawson Handley L-J, Poland RL, Riddick EW & Steenberg T 2011. Living with the enemy: parasites and pathogens of the ladybird *Harmonia axyridis*. *BioControl* 56: 663-679.
- Roy HE, Adriaens T, Isaacs NJB, Kenis M, Onkelinx T, San Martin G, Brown PMJ, Hautier L, Poland R, Roy DB, Comont R, Eschen R, Frost R, Zindel R, Van Vlaenderen J, Nedved O, Ravn HP, Grégoire J-C, de Biseau J-C & Maes D 2012. Invasive alien predator causes rapid declines of native European ladybirds. *Diversity and Distributions* 18: 717-725.
- Roy HE & Brown PMJ 2015. Ten years of invasion: *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in Britain. *Ecological Entomology* 40: 336-348.
- Roy HE, Brown PMJ, Adriaens T, Berkvens N, Borges I, Clusella-Trullas S, Comont RF, de Clercq P, Eschen R, Estoup A, Evans EW, Facon B, Gardiner MM, Gil A, Grez AA, Guillemaud T, Haelewaters D, Herz A, Honek A, Howe AG, Hui C, Hutchison WD, Kenis M, Koch RL, Kulfan J, Lawson Handley L, Lombaert E, Loomans A, Losey J, Lukashuk AO, Maes D, Magro A, Murray KM, San Martin G, Martinkova Z, Minnaar I, Nedved O, Orlova-Bienkowskaja MJ, Rabitsch W, Ravn HP, Rondoni G, Rorke SL, Ryndevich SK, Saethre M-G, Sloggett JJ, Soares AO, Stals R, Tinsley MC, Vandereycken A, Van Wielink P, Vigišová S, Zach P, Zaviero T & Zhao Z 2016. The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*: global perspectives on invasion history and ecology. *Biological Invasions*, 18: 997-1044.
- Van Wielink PS 1999. KNNV-Tilburg adopteert natuurontwikkelingsgebied: De Kaaistoep onder de loep. *Natura* 96: 35-39.
- Van Wielink PS 2010. Biodiversiteit in de Kaaistoep. In: *Natuurstudie in De Kaaistoep, verslag 2009, 15e onderzoeksjaar* (Cramer T & Van Wielink P eds): 9-20. TWM Gronden BV, Natuurmuseum Brabant & KNNV afdeling Tilburg.
- Van Wielink P 2011. Onder de rook van Tilburg loopt de ark van Noach leeg. 17 jaar onderzoek naar biodiversiteit in de Kaaistoep. *Brabants Landschap* 73: 42-55.
- Van Wielink P & Spijkers H 2013. Insects nightly attracted to light at a single site in De Kaaistoep, The Netherlands. *Orders, families and species identified in 1995-2011*. *Entomologische Berichten* 73: 200-214.
- Van Wielink PS 2017. Negentien jaar lichtvangsten van lieveheersbeestjes in De Kaaistoep (Coleoptera: Coccinellidae). *Entomologische Berichten* 77: 127-139.
- Welch VL, Sloggett JJ, Webberley KM & Hurst GDD 2001. Short-range clinal variation in the prevalence of a sexually transmitted fungus associated with urbanisation. *Ecological Entomology* 26: 547-550.
- Williams CB 1939. An analysis of four years captures of insects in a light trap. Part I. general survey; sex proportion; phenology; and time of flight. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 89: 79-131.
- Zeegers T 2002. Tachinidae. In: *Checklist of the Diptera of the Netherlands* (Beuk PLTh ed): 354-371. KNNV Uitgeverij.

Summary

***Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): a 13 years study by light trapping at the De Kaaistoep, Noord-Brabant**

An All Taxa Biodiversity Inventory in De Kaaistoep (Tilburg, the Netherlands) started in 1995 and resulted in more than 7.000 species being identified in this small nature reserve. The quantitative sampling of Coleoptera on an illuminated white screen at night started in 1997 and during 449 nights between 1997 and 2015 a large number of Coleoptera were collected and identified. In July 2003 the first *Harmonia axyridis* was recorded after which it soon became the most common beetle during light trapping. Between July 2003 and the end of 2015 in total 7,630 specimens of this species were collected during 260 of the 449 quantitative sampling nights. Hardly any *H. axyridis* were found attracted to light during spring, and peak abundance occurred from July to September. The portion of *H. axyridis* of the total amount of coccinellids varied between 55% (2014) and 91% (2008). No increase or decrease of this percentage was shown over the 13 constituting years. Also no decrease in the total number of other Coccinellidae was observed, although the numbers of *Adalia bipunctata* showed a clear decline. The body size of *H. axyridis* is measured based on 375 specimens sampled in 2015. The average length is $6,6 \pm 0,6$ mm (extremes 4,9-8,2 mm) and females are larger than males. This equals measurements from 2004 which suggest that body size is stable over the period 2003 to 2015. Of the specimens attracted to light almost 72% is male. This fraction is stable over the years suggesting that *H. axyridis* males are more strongly attracted to light and/or fly more at night than females. The distribution of the phenotypes (colour forms) is as follows: f. *succinea* 81,3%, f. *spectabilis* 15% and f. *conspicua* 3,7%. This distribution is stable from 2003 on and is conform the native population in north-east China. Based on the periods in which females were found with eggs in their abdomen *H. axyridis* has 2-3 generations in the Netherlands a year. Females were found to carry between 5-30 eggs. A rather striking phenomenon is that many specimens (sometimes over 70% on a night) have not yet completely hardened elytra. This strongly suggests that many specimens are attracted to light shortly after their emergence from pupae. This also might explain why so few specimens are attracted to light in spring as in this period of year all specimens are adults from winter aggregations. The presence of not yet fully hardened elytra also suggest the presence of two or three generations a year. *Harmonia axyridis* sampled at night on light in De Kaaistoep show a low degree of infections by parasites. No mites or nematodes were found, although these are known to occur in other Dutch populations. It might be that infections with mites and nematodes negatively influence the capacity to fly. No larva of *Medina separata* (Diptera: Tachinidae) but two Braconidae-larvae were found intra-abdominal. One of them was identified as *Dinocampus coccinellae*. *Hesperomyces virescens*, an obligate parasitic fungus (Laboulbeniales), was found for the first time in July 2008, and the infection degree rapidly increased from 0,4% to 19,4% in 2014. The degree of infection is far lower than found in overwintering aggregations. This is probably because specimens which have hibernated do not seem to be attracted to light. The specimens which are attracted to light are relatively young imago's which have soft and not yet fully hard elytra which are not the ideal substrate for *H. virescens*. The infection degree in males equals that of females, however males have on average almost twice as much thalli. There is a difference between the sexes in location of the fungi over the body. 38% of the males have *H. virescens* ventrally, compared to only 1% of the females, a strong argument for transmission during copulation. The number of *H. axyridis* flying at light is strongly dependent on local weather conditions with high temperature, little or no wind, no rain or fog, high air humidity and oppressive weather forming ideal conditions. *H. axyridis* was not found on light at temperatures below 14 °C.

