

# De schimmel *Hesperomyces virescens*, een natuurlijke vijand van lieveheersbeestjes

Danny Haelewaters  
André De Kesel

## TREFWOORDEN

Coccinellidae, ectoparasieten, Laboulbeniales

Entomologische Berichten 77 (3): 106-118

Laboulbeniales zijn obligaat ectoparasitaire schimmels (Ascomycota, Pezizomycotina) met Arthropoda als gastheren. Naar schatting zijn er 15.000 tot 75.000 soorten, waarvan er zo'n 2.100 beschreven zijn. Zeven soorten, in de geslachten *Hesperomyces* (6) en *Laboulbenia* (1), hebben lieveheersbeestjes (Coleoptera, Coccinellidae) als gastheer. Dit artikel geeft een korte bespreking van de biologie en ecologie van Laboulbeniales en de geschiedenis van het Laboulbeniales-onderzoek in Nederland. De verzamelde kennis wordt gegeven betreffende *Hesperomyces virescens*, een parasiet van lieveheersbeestjes die gekend is van 20 geslachten verdeeld over vijf subfamilies. De morfologie en de ecologie van deze schimmel worden besproken. Recent moleculair onderzoek toont aan dat deze schimmelsoort eigenlijk bestaat uit een aantal cryptische soorten die morfologisch nauwelijks of niet van elkaar te onderscheiden zijn. Deze cryptische soorten blijken echter gespecialiseerd te zijn op specifieke gastheersoorten. Op basis van de literatuur en originele data wordt een wereldwijd overzicht gegeven van het gastheerspectrum van het *Hesperomyces virescens* 'soortencomplex'. Belangrijke inzichten betreffende de gastheerspecificiteit worden besproken en een stand van zaken betreffende *Hesperomyces virescens* en 'hoofdgastheer' *Harmonia axyridis* in Nederland wordt gegeven.

## Inleiding

Schimmels zijn onwaarschijnlijk divers. Recente schattingen gaan uit van 5,1 miljoen soorten, maar tot op heden zijn er slechts 100.000 formeel beschreven (Blackwell 2011). Op basis van genetisch onderzoek weten we dat die diversiteit er is, maar ze is niet altijd duidelijk af te leiden uit de morfologie van de schimmels. Daarom is er in de schimmelwereld vaak sprake van cryptische diversiteit, waarbij men complexen van fylogenetische soorten erkent, zonder dat deze soorten morfologisch te onderscheiden zijn (Adamcik et al. 2016, Hagen et al. 2015, Pringle et al. 2005). Recente ontwikkelingen hebben er ook voor gezorgd dat bepaalde groepen schimmels zijn beschreven enkel en alleen op basis van DNA-sequenties (Hibbett et al. 2017).

Ten gevolge van die diversiteit en de genetische verwantschappen zijn er verschillende groepen schimmels die een grondige revisie moeten ondergaan. Door hun geringe afmetingen en gebrek aan economisch nut en met slechts een handjevol laboulbeniologen in de wereld, staat het werk omtrent de Laboulbeniales ver achter in vergelijking met vele andere groepen schimmels.

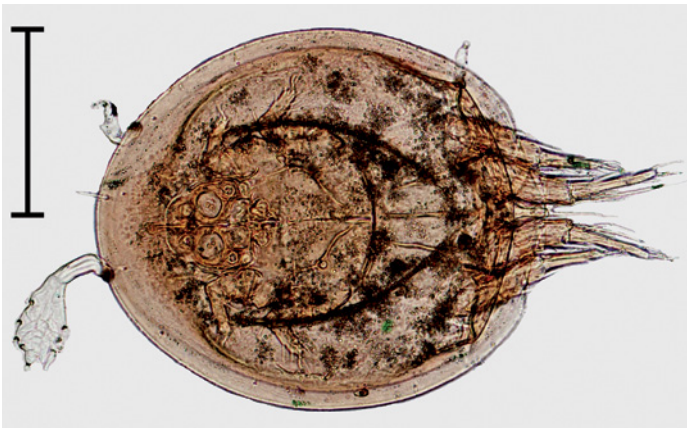
In dit overzichtsartikel introduceren we de orde Laboulbeniales en gaan we dieper in op *Hesperomyces virescens*, een Laboulbeniales-soort die op lieveheersbeestjes voorkomt. Wat volgt is een overzicht van de literatuur, al zijn bepaalde stukken ook gebaseerd op ongepubliceerd onderzoek.

## Laboulbeniales

Laboulbeniales zijn microscopisch kleine schimmels die behoren tot het fylum Ascomycota (de zakjeszwammen), subfylum Pezizomycotina, klasse Laboulbeniomycetes. Het zijn obligaat parasitaire schimmels van geleedpotigen (Arthropoda) die, in tegenstelling tot de meeste parasitaire schimmels, geen mycelium vormen en enkel vruchtlichamen (thalli, enkelvoud thallus) maken op de buitenzijde van het chitinepantser van de gastheer. Omdat ze niet kunnen overleven op een dode gastheer en ook geen vrijlevend stadium hebben, doden ze hun gastheer niet. Wereldwijd zijn er naar schatting 15.000 tot 75.000 soorten (Weir & Hammond 1997), waarvan er tot op heden ongeveer 2.100 beschreven zijn.

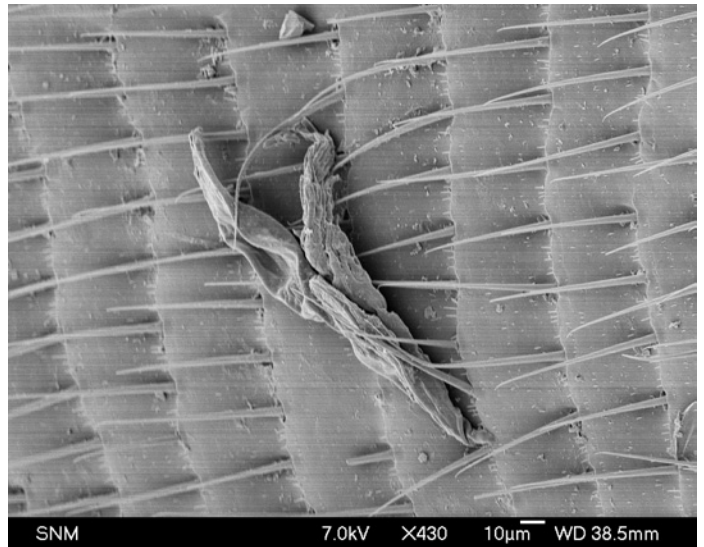
Het volledige gastheerspectrum van Laboulbeniales omvat drie subfyla in de Arthropoda: Chelicerata (orde Acari: mijten), Myriapoda (klasse Diplopoda: miljoenpoten) en Hexapoda (verschillende orden). De grote meerderheid, ongeveer 80% van alle beschreven soorten, komt voor op Coleoptera (kevers, Weir & Hammond 1997). Daarnaast komen Laboulbeniales ook voor op Blattodea (kackerlakken en termieten), Dermaptera (oorwormen), Diptera (vliegen), Hemiptera (snavelinsecten), Hymenoptera (Formicidae: mieren), Phthiraptera (luizen), Orthoptera (rechtvleugeligen) en Thysanoptera (tripsen).

Het vruchtlichaam (thallus) van Laboulbeniales is steeds opgebouwd uit een receptaculum, dat met één enkele cel, de 'voetcel', stevig vastzit aan de gastheer. Het receptaculum



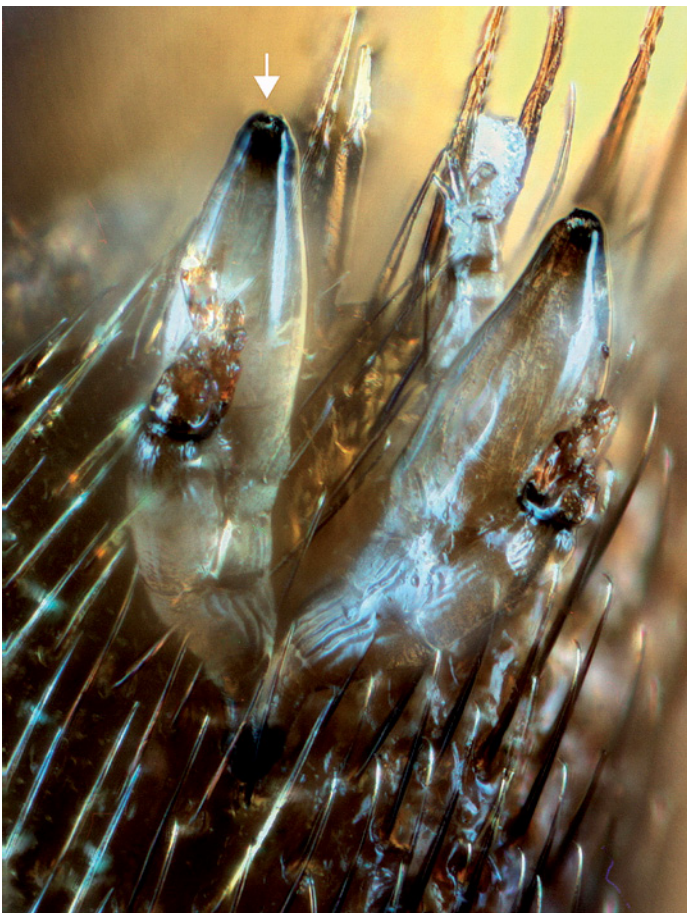
1. Een deutonimf van de Acaridae-familie met drie onvolwassen thalli van *Rickia wasmannii*, een soort die normaal enkel voorkomt op mieren uit het geslacht *Myrmica*. Maatstreek = 100 µm. Foto: Walter P. Pfliegler

1. A deutonymph of the Acaridae family with three immature thalli of *Rickia wasmannii*, a species that normally only infects ants of the genus *Myrmica*. Scale bar = 100 µm.



2. Een opname van een dekschild van het *Speonemadus algarvensis* (Coleoptera, Leiodidae) holotype met behulp van rasterelektronenmicroscopie. Zichtbaar is een volwassen thallus van *Stichomyces conosomatis*. Deze schimmel wordt over het algemeen slechts gevonden op *Sepedophilus*-kortschildkevers (Staphylinidae). Echter, in Portugese grotten werden enkele specimens van *S. algarvensis* aangetroffen met vruchtlichamen van deze schimmel. In die grotten waren ook kevers van het geslacht *Sepedophilus* aanwezig, en vermoedelijk kunnen gastheerswissels plaatsvinden in dit microhabitat. Foto: Ana Sofia P.S. Reboleira

2. A scanning electron micrograph of an elytron of the *Speonemadus algarvensis* (Coleoptera, Leiodidae) holotype. Visible is a mature thallus of *Stichomyces conosomatis*. This fungus is generally only found on *Sepedophilus* rove beetles (Staphylinidae). However, a few specimens of *S. algarvensis* were observed with fruiting bodies of this fungus in Portuguese caves. In the same caves also beetles of the genus *Sepedophilus* occur, and presumably host shifts can occur in this microhabitat from the 'typical' to the new host.



3. Enkele (3) thalli van *Laboulbenia littoralis*, nog vastgehecht op hun gastheerkever *Cafius xantholoma* (Gravenhorst), een kortschildkever. Verschillende details zijn goed zichtbaar, zoals de septa tussen de verschillende cellen en de opening van het perithecium (ostiole, pijltje), waarlangs de sporen het vruchtlichaam verlaten. *Laboulbenia littoralis* is een zustersoort van *L. slackensis*, een soort die strikt *Pogonus chalceus* (Marsham) als gastheer heeft, een loopkever. Beide gastheersoorten komen voor in brakke milieus tussen de vloed- en springtij-zone. Foto: André De Kesel

3. A few thalli of *Laboulbenia littoralis*, still attached to their host *Cafius xantholoma* (Gravenhorst), a rove beetle. Several morphological features are visible, such as the septa between the difference cells and the opening of the perithecium (ostiole, arrow), through which the ascospores leave the fruitbody. Interestingly, *Laboulbenia littoralis* is a sister species of *L. slackensis*, a species that strictly occurs on *Pogonus chalceus* (Marsham), a ground beetle. Both host species occupy brackish habitats in the upper tidal zone.

draagt bij de meeste soorten één of een reeks steriele aanhangsels met zeer uiteenlopende morfologie. Er bestaan één- en tweehuizige soorten. Bij de éénhuizige soorten draagt het receptaculum mannelijke (antheridia) en vrouwelijke (één perithecium of meerdere perithecia) voortplantingsorganen. Bij tweehuizige soorten is er seksueel dimorfisme omdat de mannelijke en vrouwelijke voortplantingsorganen nooit samen op hetzelfde receptaculum voorkomen en omdat de steriele aanhangsels verschillend kunnen zijn tussen de sexen. Laboulbeniales vermenigvuldigen zich enkel geslachtelijk (karyogamie gevolgd door plasmogamie) waarbij tweecellige, kleverige sporen worden geproduceerd. De vruchtlichamen van Laboulbeniales zijn zodanig gevormd dat de verspreiding van hun ascosporen wordt getriggerd of gepromoot door de activiteit van de gastheer (poetsen, copulatie of andere contacten). Ongeachtelijke voortplanting werd tot hertoe niet aangetoond bij Laboulbeniales.

De succesvolle vestiging en ontwikkeling van Laboulbeniales op een gastheer is grotendeels afhankelijk van de aard en de habitatkeuze van die gastheer. Anderzijds is transmissie van Laboulbeniales sterk afhankelijk van de levenscyclus, het gedrag en de activiteiten van de gastheer. Veel Laboulbeniales zijn daarom ook strikt gastheerspecifiek. Deze specificiteit wordt gestuurd door verschillende factoren zoals de condities ter hoogte van het integument, de aard en beschikbaarheid van nutriënten en de aard van het habitat, dat wordt gekozen door de gastheer. Er is duidelijk sprake van ecologische specificiteit omdat totaal verschillende gastheren dezelfde soort *Laboulbenia* kunnen dragen indien deze in hetzelfde microhabitat voorkomen. Dit is experimenteel aangetoond (De Kesel 1996), maar ook in de natuur gevonden (Scheloske 1969). Dit kan het geval zijn in mierennesten

**Tabel 1.** De acht soorten Laboulbeniales die tot op heden werden beschreven op basis van materiaal uit Nederland.  
**Table 1.** The eight species of Laboulbeniales that were described up until now based on material from the Netherlands.

Soort	Gastheer	Classificatie	Publicatie
<i>Asaphomyces tubanticus</i> [als <i>Barbariella tubantica</i> ]	<i>Catops nigricans</i> (Spence)	Coleoptera, Leiodidae, Cholevinae	Middelhoek (1949)
<i>Bordea denotata</i>	<i>Bibloporus bicolor</i> (Denny)	Coleoptera, Staphylinidae, Pselaphinae	Haelewaters et al. (2014b)
<i>Cantharomyces elongatus</i>	<i>Syntomium aeneum</i> (Müller)	Coleoptera, Staphylinidae, Oxytelinae	Haelewaters & De Kesel (2013)
<i>Diphymyces</i> sp. nov.	<i>Choleva fagniezi</i> Jeannel	Coleoptera, Leiodidae, Cholevinae	D. Haelewaters ongepubliceerd
<i>Laboulbenia barbara</i>	<i>Philonthus punctus</i> (Gravenhorst)	Coleoptera, Staphylinidae, Staphylininae	Middelhoek (1943)
<i>Laboulbenia littoralis</i> (paratype)	<i>Cafius xantholoma</i> (Gravenhorst)	Coleoptera, Staphylinidae, Staphylininae	De Kesel & Haelewaters (2014b)
<i>Mimeomyces zeelandicus</i>	<i>Heterothops binotatus</i> (Gravenhorst)	Coleoptera, Staphylinidae, Staphylininae	Middelhoek (1943)
<i>Rickia laboulbenioides</i>	<i>Cylindroiulus latestriatus</i> (Curtis)	Diplopoda, Julida, Blaniulidae	De Kesel et al. (2013)

(bijvoorbeeld *Rickia wasmannii*, een soort die op mieren maar ook op mijten voorkomt; Pfliegler et al. 2016, figuur 1), grotten (*Stichomyces conosomatis* op *Speonemadus*-kevers; Reboleira et al. 2017, figuur 2), of zeewier en plantenafval (twee zustersoorten in het geslacht *Laboulbenia* op een kortschildkever en een loopkever; De Kesel & Haelewaters 2014b, figuur 3).

Er is ook sprake van groeiplaatspecificiteit. Hierbij komt een soort uitsluitend voor op een zeer strikt omschreven positie van het gastheerlichaam. Dit is het geval bij soorten in het aquatisch geslacht *Chitonomyces* (Goldmann & Weir 2012). De thalli van *Chitonomyces paradoxus* en *Ch. melanurus* komen uitsluitend voor op *Laccophilus* spp. (waterroofkevers). We vinden hun thalli nauwelijks 50 µm uit elkaar, maar steeds volledig gescheiden en respectievelijk onder en boven de zijrand van het linker elyter van de gastheer (bijv. De Kesel & Haelewaters 2014a, De Kesel & Werbrouck 2008). Deze extreme vorm van specificiteit bij Laboulbeniales is het gevolg van zeer strakke transmissiepatronen van sporen tussen copulerende gastheren. Volgens Goldmann & Weir (2012) heeft dit geleid tot genetische isolatie en speciatie. De Kesel & Haelewaters (2014a) sluiten niet uit dat het in het geval van *Ch. paradoxus* and *Ch. melanurus* gaat over één morfologisch variabele soort, die in functie van de groeiplaats een andere en meer aangepaste vorm aanneemt. Omdat morfologische plasticiteit veel voorkomt bij Laboulbeniales is meer morfologisch-moleculair onderzoek vereist.

## Laboulbeniales-onderzoek in Nederland

De aanwezigheid van Laboulbeniales in Nederland werd voor het eerst gemeld door Lafontijn (1877), zonder echter identificaties te leveren. Pas in de jaren 1940 en '50 werden door A.M. Middelhoek de eerste taxonomische bijdragen geleverd over Laboulbeniales in Nederland. In twaalf artikelen, gepubliceerd tussen 1941 en 1957, beschreef en illustreerde hij 26 Laboulbeniales soorten nieuw voor Nederland.

Sinds 2010 dragen de auteurs van dit stuk bij aan het onderzoek over Laboulbeniales in Nederland. Dit gebeurt vaak in samenwerking met entomologen (Paul van Wielink, Oscar Vorst, Jan Willem van Zuijlen, Peter Boer). Mede door hun bijdragen is het aantal uit Nederland bekende Laboulbeniales gestegen tot 80 (Haelewaters et al. 2015c). Tot dusver zijn uit Nederland acht nieuwe soorten voor de wetenschap beschreven (tabel 1).

De focus van het recente onderzoek in Nederland ligt vooral op twee soorten: *Hesperomyces virescens* (zie verder) en *Rickia wasmannii* (figuur 4, zie Haelewaters et al. 2015a, 2015b). *Rickia wasmannii*, de steekmierschimmel, is bekend uit 17 Europese landen (De Kesel et al. 2016) en komt voor op negen mierensoorten, allemaal van het geslacht *Myrmica*. De afgelopen jaren hebben we onder andere achterhaald dat *R. wasmannii* in verschillende geografische gebieden verschillende hoofdgastheren heeft (*M. sabuleti* Meinert in Nederland versus *M. scabrinodis* Nylander in Hongarije) en dat parasietprevalentie (de fractie



**4.** Een *Myrmica sabuleti*-werkster, zwaar geïnfecteerd met *Rickia wasmannii* op verschillende lichaamsdelen. Foto: Theodoor Heijerman

**4.** A worker of *Myrmica sabuleti*, densely infected with *R. wasmannii* on different body parts.

**Tabel 2.** Overzicht van alle gastheergeslachten voor *Hesperomyces virescens*, met aanduiding van de geslachten en *H. virescens*-geïnficeerde soorten in Nederland.

**Table 2.** Overview of all host genera for *Hesperomyces virescens*, with indication of genera and *H. virescens* infected species in the Netherlands.

Gastheergeslacht	In Nederland vastgesteld op	Publicatie
<b>In Nederland voorkomende geslachten</b>		
<i>Adalia</i>	<i>Adalia bipunctata</i>	Ceryngier & Twardowska (2013) (overzichtsartikel)
<i>Chilocorus</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Coccinella</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Coccinula</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Epilachna</i>		Haelewaters et al. (2017)
<i>Exochomus</i>		Castaldo et al. (2004)
<i>Halyzia</i>	<i>Halyzia sedecimguttata</i>	Haelewaters & van Wielink (2016)
<i>Harmonia</i>	<i>Harmonia axyridis</i>	Haelewaters et al. (2014a, 2016b)
<i>Hippodamia</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Hyperaspis</i>		Thaxter (1931), Bernardi et al. (2014)
<i>Propylea</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Psyllobora</i> (als <i>Thea</i> in Balazuc 1974)		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Tytthaspis</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<b>Niet in Nederland voorkomende geslachten</b>		
<i>Azya</i>		Haelewaters et al. (2017)
<i>Brachiacantha</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Cheilomenes</i>		Haelewaters et al. (2016a)
<i>Cycloneda</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)
<i>Eriopis</i>		Ceryngier et al. (2012)
<i>Erythroneda</i>		Bernardi et al. (2014)
<i>Olla</i>		Ceryngier & Twardowska (2013)

geparasiteerde individuen in de bemonsterde populatie) van de schimmel hoger is in de lente dan in de zomer en de herfst. Deze conclusie was gebaseerd op materiaal verzameld in potvallen (Haelewaters et al. 2015a). De Kesel et al. (2016) raadden aan om voor sociale insecten direct uit de nesten te monstern, om een zo volledig mogelijk beeld te krijgen van prevalentie per individueel nest.

### Laboulbeniales op lieveheersbeestjes

Er zijn zeven soorten Laboulbeniales bekend die lieveheersbeestjes (familie Coccinellidae) parasiteren: zes van het geslacht *Hesperomyces* (*H. chilomenes*, *H. coccinelloides*, *H. coleomegillae*, *H. papuanus*, *H. palustris*, *H. virescens*) en één onbeschreven soort van het geslacht *Laboulbenia*. Een achtste soort, *Hesperomyces hyperaspidis*, werd recent in synonymie gebracht met *H. virescens* (Bernardi et al. 2014). Dit was echter op basis van morfologische kenmerken en het is mogelijk dat moleculair onderzoek uitwijst dat het toch twee aparte soorten zijn.

De soorten *Hesperomyces chilomenes* (Thaxter 1918) en *H. papuanus* (Majewski & Sugiyama 1985) zijn enkel bekend van het type-materiaal. Studie van zowel morfologische kenmerken als het DNA zal moeten uitwijzen of dit 'goede' soorten zijn. *Hesperomyces coccinelloides* is de kleinste soort en is gevonden op kleine gastheren uit de subfamilie Scymninae. Tot nu toe is deze soort gerapporteerd uit Noord-, Centraal- en Zuid-Amerika, Europa (België, Polen en Spanje), Azië (Borneo) en Oceanië (Fiji).

*Hesperomyces coleomegillae* en *H. palustris* werden onlangs op basis van morfologische en moleculaire kenmerken beschreven uit Ecuador en Costa Rica (Goldmann et al. 2013). Deze twee soorten zijn de enige in de hele orde, van een totaal van 2.100 soorten, waarvan de morfologische beschrijving ondersteund wordt door DNA. Recent werd in Panama ook een nieuwe *Laboulbenia*-soort gevonden op *Exochomus* lieveheersbeestjes (Haelewaters et al. 2017). Ondanks dat dit geslacht een enorm aantal soorten en een zeer breed gastheerspectrum heeft werd ze nooit eerder op Coccinellidae aangetroffen.

*Hesperomyces virescens* is de bekendste en meest verspreide soort en wordt hieronder uitgebreid behandeld.

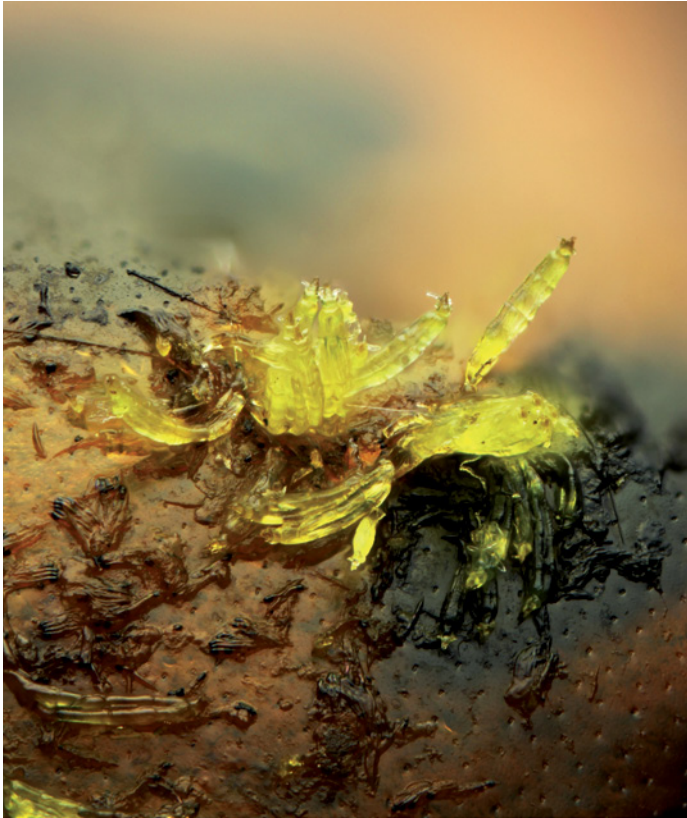
### *Hesperomyces virescens*

De meeste waarnemingen van Laboulbeniales op lieveheersbeestjes hebben betrekking op *Hesperomyces virescens*. Deze soort is alleen bekend van lieveheersbeestjes en heeft meer dan 30 gastheersoorten in 20 geslachten (tabel 2). *Hesperomyces virescens* is op elk continent gekend, behalve Antarctica. De hoofdgastheer van *H. virescens* is *Harmonia axyridis*, het invasieve Aziatische lieveheersbeestje. De eerste keer dat *H. virescens* werd gemeld op *H. axyridis* was in 2004 op basis van materiaal verzameld in 2002 in Ohio in de Verenigde Staten (Garcés & Williams 2004). Later meldden Haelewaters et al. (2014a) de schimmel op *H. axyridis* in diens inheemse verspreidingsgebied (China), op basis van museumcollecties verzameld in de jaren 1930.

De thalli van *H. virescens* zien er flesvormig uit en zijn meestal opvallend geel-groenig gekleurd (figuur 5). Ze kunnen met het blote oog verward worden met gele pollen. Bij sterk geïnficeerde lieveheersbeestjes zijn de schimmels goed te zien met het blote oog, vooral bij een donker gekleurde gastheer. *Hesperomyces virescens* is een van de weinige soorten Laboulbeniales die het chitinepantser van de gastheer doorboren en contact maken met de lichaamsholte (hemocoel) van hun gastheer voor de opname van nutriënten (Tavares 1985, Weir & Beakes 1996, Santamaría 2003). Zie kader 1 en figuur 6 voor meer informatie over de opbouw en morfologie.

### Gastheerspecificiteit

De overgrote meerderheid van Laboulbeniales is strikt gastheerspecifiek. Een vergelijking van de gastheerrelaties in verschillende gebieden laat zien dat deze door het hele verspreidingsgebied gelijk zijn, zie bijvoorbeeld Huldén 1983 (Finland), Santamaría et al. 1991 (Europa), De Kesel & Rammeloo 1992 (België) en Majewski 1994 (Polen). Soorten van Laboulbeniales



5. Thalli en sporen van *Hesperomyces virescens* op het uiteinde van een elytreer. Foto: André De Kesel  
5. Thalli and spores of *Hesperomyces virescens* near the tip of an elytron.

met een relatief groot gastheerspectrum en een bijna wereldwijde verspreiding zijn zeldzaam. *Hesperomyces virescens* is een van de uitzonderingen. Tabel 2 toont alle gekende gastheerslachten voor deze soort: het zijn er 20, verdeeld over vijf subfamilies. Het is echter mogelijk dat *H. virescens* een complex is van cryptische soorten, dit wil zeggen soorten die morfologisch niet of met geringe zekerheid onderscheiden kunnen worden. In de mycologische wereld worden, nog steeds, veel soorten beschreven op basis van morfologische eigenschappen. Vooral bij organismen kleiner dan één millimeter, meestal met weinig morfologische kenmerken, ontstaat regelmatig de discussie of morfologische kenmerken wel volstaan om de onderliggende diversiteit effectief te detecteren (Pringle et al. 2005).

Om de vraag over cryptische diversiteit op te lossen hebben we eerst moleculaire protocollen uitgetest (Haelewaters et al. 2015d) om daarna DNA te extraheren van zoveel mogelijk monsters van *H. virescens* afkomstig van verschillende gastheersoorten. In de dataset zitten momenteel meerdere monsters afkomstig van *Adalia bipunctata*, *Cheilomenes propinqua*, *Cycloneda sanguinea*, *Halyzia sedecimguttata*, *H. axyridis* en *Olla v-nigrum*. Na DNA-extractie, amplificatie en sequentie van de 'internal transcribed spacer' regio (afgekort ITS) van het ribosomaal DNA werd een fylogenetische boom opgesteld. Deze toont aan dat alle monsters afkomstig van dezelfde gastheersoort samen clusteren. De clusters van verschillende gastheersoorten blijken meer dan 3% te verschillen, wat suggereert dat elke gastheersoort zijn eigen parasietsoort heeft. Dit betekent dat *H. virescens* een complex is van meerdere soorten (D. Haelewaters ongepubliceerd).

Als *Hesperomyces virescens* inderdaad een complex is van gastheerspecifieke cryptische soorten, dan veronderstellen we dat dit weerspiegeld wordt in bepaalde aanpassingen. Een belangrijke indicatie hiervoor is dat *H. virescens*, in tegenstelling tot de meeste Laboulbeniales, voedingsstoffen rechtstreeks

onttrekt aan het hemocoel van de gastheer. Andere Laboulbeniales, zoals alle vertegenwoordigers van het geslacht *Laboulbenia*, doen dit niet of althans niet uitsluitend. Het thallus van deze soorten heeft een reproductieve maar ook een belangrijke nutritionele functie. Deze soorten halen al hun water en wateroplosbare nutriënten uit het microhabitat via een systeem van steriele aanhangsels en zijn dus meer aangepast aan de biotoop die de gastheer prefereert. Het uit de omgeving halen van voedingsstoffen vergt aanzienlijke morfologische aanpassingen aan het thallus, veel meer in vergelijking met soorten die voedingsstoffen uit de gastheer halen. Deze morfologische verschillen in het thallus worden door taxonomen gebruikt om soorten te herkennen.

Omdat *H. virescens* in staat is om vocht rechtstreeks uit de gastheer te halen heeft deze soort geen nood aan een uitgebreid systeem van aanhangsels. Daardoor is het thallus gereduceerd tot voortplantingsstructuren en een eenvoudig driecellig receptaculum. Vermits het thallus daardoor een louter reproductieve functie heeft moet het strikt voldoen aan functionele minimumvoorwaarden verbonden aan de vorm van de voortplantingsorganen. Meestal is er zeer weinig 'speling' toegelaten wat betreft de vorm van de voortplantingsstructuren. Een klassiek voorbeeld bij Laboulbeniales is de vorm van de sporen die bij de 2.100 soorten nagenoeg identiek is. De reden hiervoor is dat de huidige sporenvorm optimaal lijkt voor transmissie. Een andere vorm zou de transmissie kunnen bemoeilijken en zodoende nadelig zijn voor de soort. Omdat *Hesperomyces* de gastheer perforereert, verwachten we dat deze intrusie stuit op afweermechanismen van de gastheer en zodoende belangrijke fysiologische aanpassingen vergt van de schimmel. Dergelijke aanpassingen werken specialisatie en isolatie in de hand die zichtbaar wordt in het DNA, maar niet noodzakelijkerwijs in de morfologie. Bij Laboulbeniales die de gastheer niet perforeren gaan we er van uit dat dergelijke mechanismen minder of zelfs niet aanwezig zijn en verwachten we dat niet-natuurlijke gastheren relatief gemakkelijk kunnen worden geïnfecteerd op voorwaarde dat het microhabitat geschikt is voor de schimmel. Op deze manier werd door De Kesel (1996) aangetoond dat een soort *Laboulbenia* die in de natuur alleen op *Pogonus*-soorten (een soortenarm loopkevergeslacht) voorkomt, zich in laboratoriumomstandigheden perfect kan ontwikkelen op minstens 20 andere loopkeversoorten (in 12 geslachten, 5 subfamilies).

Cottrell & Riddick (2012) en A. De Kesel (ongepubliceerd) hebben getest in hoeverre *H. virescens* strikt gebonden is aan bepaalde gastheren. Hieronder worden de uitkomsten van deze experimenten kort samengevat (tabel 3).

In een eerste experiment (Cottrell & Riddick 2012) werd telkens één geïnfecteerde kever (bron) gecombineerd met één niet-geïnfecteerde kever (doel) in een petrischaal. Elke combinatie (*H. axyridis* + *Coleomegilla maculata*, *H. axyridis* + *H. axyridis*, enz.) werd vijf keer herhaald voor een totaal van 30 bron-kevers, 15 *H. axyridis* en 15 *O. v-nigrum*. Na zeven dagen werden de bronkevers uit de petrischaal gehaald en werden de doelkevers behouden en geobserveerd voor infectie met *H. virescens*, gedurende één maand. Het tweede experiment werd anders opgesteld om de fysieke contacten tussen bron-kever en doel-kever te verhogen (Cottrell & Riddick 2012). Telkens werd een bronkever met een doel-kever ondergebracht in een glazen proefbuis. De proefbuizen werden een uur lang op een hotdogmachine met draaimechanisme geplaatst. Op deze manier bleven de kevers actief en werd het aantal fysieke contacten artificieel opgedreven, veel meer dan in experiment één. Opnieuw werden de doelkevers na het tuimelen één maand ter observatie in een petrischaal gehouden.

Het derde experiment (A. De Kesel ongepubliceerd) werd uitgevoerd met geïnfecteerde *H. axyridis*, verzameld aan het eind

Kader 1

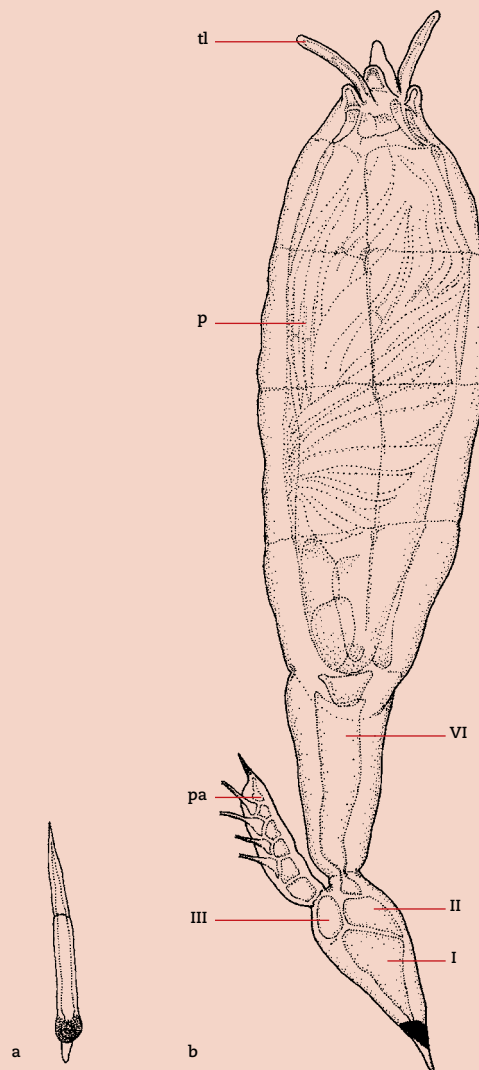
## Morfologische beschrijving

*Hesperomyces virescens* is éénhuizig en de thalli zijn meestal tussen 200 en 400 µm lang. Ze bestaan uit een driecellig receptaculum dat een langwerpig perithecium draagt en een kort enkelvoudig aanhangsel (figuur 6). Cel I van het receptaculum is langwerpig en draagt cellen II en III. Cel III draagt het primaire aanhangsel dat 4-cellig is. De laatste 3 van deze 4 cellen dragen elk 1 antheridium dat naar buiten toe is gericht (de bovenste cel draagt apicaal een tweede antheridium). De flesvormige antheridia produceren de spermatia.

Cel II draagt cel VI, de basiscel (of steuncel) van het perithecium. Deze cel is vaak verlengd en soms opvallend verdikt naar boven toe. Het perithecium zelf is het grootste orgaan van het thallus, is vaak symmetrisch en eindigt apicaal in 2 korte subterminale lobben, 2 terminale lobben en 2 lippen rond de apicale opening. Eén lip is vaak driehoekig terwijl de andere meer stomp is. De terminale lobben zijn vermoedelijk *trigger*-organen om sporen op het geschikte moment vrij te laten. De lengte van deze twee terminale lobben is geen constant kenmerk, ze varieert van thallus tot thallus en heeft weinig of geen taxonomisch belang.

De ascosporen zijn groot, kleverig en tweecellig. Ze ontwikkelen tot volwassen thalli in 13 tot 26 dagen bij 25 °C (Cottrell & Riddick 2012). De ontwikkelingsduur hangt af van de gastheersoort. Op *H. axyridis* duurt de ontwikkeling langer dan op *O. v-nigrum*.

*Hesperomyces virescens* is een van de weinige soorten Laboulbeniales die het chitinepantser van de gastheer doorboort (Tavares 1985, Weir & Beakes 1996, Santamaría 2003). Dit gebeurt met behulp van een haustorium, een enkelvoudige of vertakte rhizoïdale structuur die het chitinepantser van de gastheer doorboort om stabiliteit te verlenen en voedsel op te nemen (Gaümman & Dodge 1928, Benjamin 1971). Haustoria maken contact met de lichaamsholte (hemocoel) van hun gastheer voor nutriënten. Benjamin (1971) veronderstelde dat alle Laboulbeniales vermoedelijk haustoria produceren. Dit is in tegenspraak met Tragust *et al.* (2016), die met behulp van lichtmicroscopie en elektronenmicroscopie voor vier soorten Laboulbeniales hebben aangetoond dat zij géén penetratie veroorzaken bij hun gastheer.



6. *Hesperomyces virescens*. (a) Een tweecellige ascospore. (b) Een volwassen thallus, met aanduiding van cellen I, II en III van het receptaculum, het primaire aanhangsel (pa), cel VI en het perithecium (p) met de terminal lobben (tl). Tekening: André De Kesel

6. *Hesperomyces virescens*. (a) A two-celled ascospore. (b) A mature thallus, with indication of cells I, II en III of the receptacle, the primary appendage (pa), cell VI and the perithecium (p) with its terminal lobes (tl).

**Tabel 3.** Specificiteitstesten met *Hesperomyces virescens* en diverse soorten Coccinellidae. Experimenten één en twee werden uitgevoerd door Cottrell & Riddick (2012), experiment drie door A. De Kesel (ongepubliceerd). (\*) Het derde experiment werd na vier maanden gestopt.

**Table 3.** Specificity tests with *Hesperomyces virescens* and different species of Coccinellidae. Experiments one and two were performed by Cottrell & Riddick (2012), experiment three by A. De Kesel (unpublished). (\*) The third experiment was discontinued after four months.

Gastheersoorten in experiment	Bron	Doel	Experiment één		Experiment twee		Experiment drie
			Geïnfecteerd [%]	Duur	Geïnfecteerd [%]	Duur	
<i>H. axyridis</i>	<i>C. septempunctata</i>		-	-	11	21.0 ± 0.0 d	4 maanden
<i>H. axyridis</i>	<i>C. maculata</i>		0		0		-
<i>H. axyridis</i>	<i>H. axyridis</i>		46	25.8 ± 1.5 d	52	17.9 ± 0.9 d	-
<i>H. axyridis</i>	<i>H. convergens</i>		-	-	0		-
<i>H. axyridis</i>	<i>O. v-nigrum</i>		0		0		-
<i>O. v-nigrum</i>	<i>C. septempunctata</i>		-	-	14	22.5 ± 1.5 d	-
<i>O. v-nigrum</i>	<i>C. maculata</i>		0		0		-
<i>O. v-nigrum</i>	<i>H. axyridis</i>		0		0		-
<i>O. v-nigrum</i>	<i>H. convergens</i>		-	-	0		-
<i>O. v-nigrum</i>	<i>O. v-nigrum</i>		87	15.0 ± 0.4 d	61	14.5 ± 0.33 d	-

**Tabel 4.** De zeven soorten Laboulbeniales op lieveheersbeestjes, met aanduiding van alle gekende gastheersoorten en locaties.**Table 4.** The seven species of Laboulbeniales that are associated with ladybirds, with indication of all known host species and geographic locations.

Soort	Gastheer	Subfamilie	Eerste observatie	Land	Publicatie
<i>Hesperomyces chilomenes</i> (Thaxt.) Thaxt.	<i>Cheilomenes lunata</i> (Fabricius)	Coccinellinae	< 1918	Kenia	Thaxter (1918, 1931)
<i>Hesperomyces coccinelloides</i> (Thaxt.) Thaxt.	<i>Diomus seminulus</i> Mulsant)	Scymninae	1998	Brazilië	Rossi & Bergonzo (2008)
	<i>Diomus</i> sp.	Scymninae	2006	Ecuador	Proaño Castro & Rossi (2008)
	<i>Scymnus tardus</i> Mulsant	Scymninae	< 1931	Panama	Thaxter (1931)
	<i>Scymnus</i> sp.	Scymninae	< 1995	Spanje	Santamaría (1995)
	<i>Scymnus</i> sp.	Scymninae	1998	Verenigde Staten	Goldmann et al. (2013)
	<i>Stethorus pusillus</i> (Herbst)	Scymninae	1993	Canada	D. Haelewaters ongepubliceerd
			2010	België	De Kesel (2011)
			2012	Polen	Ceryngier (2013)
	<i>Scymninae</i> sp.	Scymninae	< 1931	Grenada	Thaxter (1931)
	<i>Scymninae</i> sp.	Scymninae	< 1931	Jamaica	Thaxter (1931)
	<i>Scymninae</i> sp.	Scymninae	< 1931	Filippijnen	Thaxter (1931)
	<i>Scymninae</i> sp.	Scymninae	< 1931	Maleisisch Borneo	Thaxter (1931)
	Coccinellidae gen. & sp. undet.	-	< 1989	Verenigde Staten	Benjamin (1989)
<i>Hesperomyces coleomegillae</i> W. Rossi & A. Weir	<i>Coleomegilla maculata</i> (De Geer)	Coccinellinae	2009	Costa Rica	Goldmann et al. (2013)
			2009	Ecuador	Goldmann et al. (2013)
<i>Hesperomyces palustris</i> W. Rossi & A. Weir	<i>Coleomegilla maculata</i> (De Geer)	Coccinellinae	1951	Cuba	Haelewaters et al. 2017
			2009	Costa Rica	Goldmann et al. (2013)
			2009	Ecuador	Goldmann et al. (2013)
<i>Hesperomyces papuanus</i> T. Majewski & Sugiy.	<i>Cryptolaemus affinis</i> Crotch	Scymninae	1978	Papoea-Nieuw-Guinea	Majewski & Sugiyama (1985)
<i>Hesperomyces virescens</i> Thaxt.	<i>Adalia bipunctata</i> Linnaeus	Coccinellinae	jaren 1960	Frankrijk	Hodek (1973)
			1995-1997	Duitsland	Webberley et al. (2006)
			< 1996	Engeland	Weir & Beakes (1996)
			1996	Italië	Webberley et al. (2006)
			1999-2001	Oostenrijk	Christian (2001)
			2002	Zweden	Webberley et al. (2006)
			< 2006	Nederland	Webberley et al. (2006)
			2007	Polen	Ceryngier & Twardowska (2013)
			winter 2007/2008	Denemarken	Steenberg & Harding (2010)
			2008	Argentinië	Bernardi et al. (2014)
	<i>Adalia decempunctata</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	1961-1962	Frankrijk	Iperti (1964)
			1999	Engeland	Goldmann et al. (2013)
			2001	Italië	Castaldo et al. (2004)
	<i>Adalia</i> sp.	Coccinellinae	< 2012	België	Ceryngier et al. (2012)
	<i>Azya orbigera</i> (Mulsant)	Coccidulinae	2015-2016	Panama	Haelewaters et al. (2017)
	<i>Brachiacantha quadripunctata</i> (Melsheimer)	Scymninae	2004	Verenigde Staten	Harwood et al. (2006a)
	<i>Brachiacanthini</i> sp.	Scymninae	1992	Panama	Haelewaters et al. (2017)
	<i>Cheilomenes propinqua</i> (Mulsant)	Coccinellinae	2013-2015	Zuid-Afrika	Haelewaters et al. (2016a)
	<i>Chilocorus bipustulatus</i> (Linnaeus)	Chilocorinae	1934	Israel	Hecht (1936)
			< 1937	Marokko	Maire & Werner (1937)
	<i>Chilocorus renipustulatus</i> Scriba	Chilocorinae	2011	Engeland	Hubble (2011)
	<i>Chilocorus stigma</i> (Say)	Chilocorinae	< 1891	Verenigde Staten	Thaxter (1931)
	<i>Coccinella septempunctata</i> Linnaeus	Coccinellinae	2004-2005	Verenigde Staten	Harwood et al. (2006b)
	<i>Coccinula crotchi</i> (Lewis)	Coccinellinae	< 2012	Japan	Ceryngier et al. (2012)
	<i>Coccinula quatuordecimpustulata</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	2001	Griekenland	Castaldo et al. (2004)
	<i>Coccinula sinensis</i> (Weise)	Coccinellinae	< 2012	Japan	Ceryngier et al. (2012)
	<i>Cycloneda munda</i> Say)	Coccinellinae	2004	Verenigde Staten	Harwood et al. (2006a)
	<i>Cycloneda sanguinea</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	-	Cuba	Haelewaters et al. (2015e)
			2006	Ecuador	Bernardi et al. (2014)
			< 1979	Engeland	Tavares (1979)
			2015	Panama	Haelewaters et al. (2017)
<i>Cycloneda sanguinea limbifer</i> Casey		Coccinellinae	1979	Puerto Rico	D. Haelewaters ongepubliceerd
			1987	Verenigde Staten	D. Haelewaters ongepubliceerd
			2004	Bahamas	D. Haelewaters ongepubliceerd
<i>Cycloneda sanguinea sanguinea</i> (Linnaeus)		Coccinellinae	1988	Puerto Rico	D. Haelewaters ongepubliceerd
			1989	Verenigde Staten	D. Haelewaters ongepubliceerd
			2009	Kaaimaneilanden	D. Haelewaters ongepubliceerd
			2013	Guatemala	Haelewaters et al. (2015e)

vervolg

Soort	Gastheer	Subfamilie	Eerste observatie	Land	Publicatie
	<i>Epilachna mexicana</i> (Guérin-Méneville)	Epilachninae	2015	Panama	Haelewaters et al. (2017)
	<i>Eriopis connexa</i> Mulsant	Coccinellinae	< 1931	Argentinië	Thaxter (1931)
	<i>Erythroneda bugaboo</i> Vandenberg & Gordon	Coccinellinae	2008	Ecuador	Bernardi et al. (2014)
	<i>Exochomus laeviusculus</i> Weise	Chilocorinae	2001	Réunion	Castaldo et al. (2004)
	<i>Halyzia sedecimpunctata</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	2015	Nederland	Haelewaters & van Wielink (2016)
	<i>Harmonia axyridis</i> (Pallas)	Coccinellinae	1930-1939	China	Haelewaters et al. (2014a)
			2002	Verenigde Staten	Garcés & Williams (2004)
			winter 2006/2007	België	De Kesel (2011)
			2008	Nederland	Haelewaters et al. (2012)
			2008-2009	Duitsland	Herz & Kleespiel (2012)
			2010	Canada	Haelewaters et al. (2016b)
			2011	Verenigd Koninkrijk	Haelewaters et al. (2014a)
			2013	Frankrijk	Haelewaters et al. (2016b)
			2013	Kroatië	Ceryngier et al. (2013)
			2013	Tsjechië	Ceryngier & Twardowska (2013)
			2013-2015	Zuid-Afrika	Haelewaters et al. (2016a)
			2014	Ecuador	Cornejo & González (2015, figuur 2C)
			2014	Hongarije	Pfliegler (2014)
			2014-2015	Polen	Gorczak et al. (2016)
			2015	Slovakije	Haelewaters et al. (2016b)
			2016	Oostenrijk	Haelewaters et al. (2016b)
			2016	Argentinië	Haelewaters et al. (2016b)
	<i>Hippodamia convergens</i> Guérin-Méneville	Coccinellinae	< 1931	Verenigde Staten	Thaxter (1931)
	<i>Hippodamia tredicimpunctata tibialis</i> (Say)	Coccinellinae	1917	Canada	Haelewaters et al. (2015e)
	<i>Hyperaspis festiva</i> Mulsant	Scymninae	2003	Frans-Guyana	Bernardi et al. (2014)
	<i>Hyperaspis</i> sp.	Scymninae	< 1931	Trinidad	Thaxter (1931)
	<i>Olla v-nigrum</i> (Mulsant)	Coccinellinae	< 1996	Fiji	Weir & Beakes (1996)
			2007	Verenigde Staten	Riddick & Cottrell (2010)
	<i>Propylea quatuordecimpunctata</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	1985	Spanje	Santamaría (1989)
	<i>Propylea</i> sp.	Coccinellinae	1918	Japan	Haelewaters et al. (2015e)
	<i>Psyllobora vigintiduopunctata</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	< 1974	Frankrijk	Balazuc (1974)
			1994	België	De Kesel (2011)
			< 2003	Spanje	Santamaría (2003)
	<i>Psyllobora vigintimaculata</i> (Say)	Coccinellinae	2004	Verenigde Staten	Harwood et al. (2006a)
	<i>Tytthaspis sedecimpunctata</i> (Linnaeus)	Coccinellinae	2001	Griekenland	Castaldo et al. (2004)
<i>Laboulbenia</i> sp. nov.	<i>Exochomus childreni</i> Mulsant	Chilocorinae	1992	Panama	Haelewaters et al. (2017)
	<i>Exochomus</i> sp. 1	Chilocorinae	1973	Panama	Haelewaters et al. (2017)

van de winterperiode (in februari). De bedoeling was om aan te tonen dat *H. virescens* zich in koudere omstandigheden (verder) kan ontwikkelen op *H. axyridis* maar ook op *Coccinella septempunctata*. Deze laatste wordt soms aangetroffen in de overwinteringsplaatsen van *H. axyridis*. In een eerste reeks werd de transmissie van de schimmel geforceerd door de sterk geïnfecteerde bron-kevers (*H. axyridis*) tegen de niet-geïnfecteerde *C. septempunctata*'s te wrijven. Er werd op gelet dat de inhoud van een aantal perithecia geledigd werd op de doel-kevers (door middel van controle onder de stereoscoop). In een tweede reeks werden bron- en doel-kevers samen gehouden, zonder ze vooraf tegen elkaar te wrijven. De kevers verbleven gedurende vier maanden in ruime potten (1 L), bij slechts 15°C, met normale daglengte (12u/12u), luchtvochtigheid niet boven 80% met erwtenluizen in overmaat. Deze omstandigheden stemmen relatief goed overeen met 'betere' overwinteringsomstandigheden in gebouwen.

In experimenten één en twee waren de doel-kevers van

dezelfde soort als de bron-kevers het meeste geïnfecteerd. In experiment één waren er geen andere soorten geïnfecteerd op het einde van het experiment. In experiment twee droegen *C. septempunctata* doel-kevers na één maand ook thalli (bij zowel *H. axyridis* als *O. v-nigrum* als bron-kever). Het percentage geïnfecteerde *C. septempunctata* was wel veel lager dan dat van geïnfecteerde *H. axyridis* en *O. v-nigrum*. Ook duurde de ontwikkeling tot volwassen thalli langer op *C. septempunctata*. Deze observaties ondersteunen de moleculaire data; de cryptische soorten hebben mogelijk soortspecifieke eisen en zijn het meeste succesvol op hun 'eigen' gastheer.

In het derde experiment werd enkel transmissie van de schimmel vastgesteld in de reeks waar de overdracht geforceerd werd. Het duurde daarenboven meer dan twee maanden vooraleer op slechts een fractie van de *C. septempunctata*-specimens infectie met *H. virescens* werd vastgesteld. Echter de thalli waren vier maanden na het in contact brengen met sporen nog





7. *Harmonia axyridis* (Aziatisch lieveheersbeestje), twee specimens geïnfecteerd met *Hesperomyces virescens*. Tijdens overwintering zijn er vele contacten tussen geïnfecteerde en niet-geïnfecteerde exemplaren, waardoor de schimmel efficiënt kan worden overgedragen via de kleverige sporen. Foto: André De Kesel

7. *Harmonia axyridis* (Asian multicolored or harlequin ladybird), two specimens infected with *Hesperomyces virescens*. During overwintering many contacts take place between infected and uninfected specimens, leading to efficient transmission of the fungus through its sticky ascospores.

steeds niet volledig volwassen. Dit is een groot verschil met het tijdsbestek dat nodig was voor ontwikkeling tot adult op *C. septempunctata* in Cottrell & Riddick (2012). De reden hiervoor is mogelijk de lage temperatuur, maar ook andere experimentele omstandigheden kunnen een rol spelen.

In het derde experiment bereikte de meerderheid van de juveniele thalli op de bron-kevers de maturiteit, zonder dat het aantal thalli per kever opvallend toenam. De conclusie kan zijn dat thalli bij lage temperaturen verder 'rijpen' maar niet overgaan tot sporenproductie. Op deze manier blijft de schimmelpopulatie relatief constant en bereidt ze zich voor om maximaal sporen te produceren op het moment dat de gastheer de overwinteringsplaats verlaat. Voor de verspreiding en transmissie van de schimmel is dit zeer belangrijk omdat deze periode overeenstemt met het begin van de copulatieperiode. Verhoogde thallusmaturiteit bij de aanvang van de copulatieperiode van de gastheer is een strategie van *Laboulbeniales* die door De Kesel (1995) werd aangetoond bij *Laboulbenia clivialis* op de gastheer *Clivina fossor* (Linnaeus, 1758) (Carabidae). Vermits copulatie intraspecifiek contact en transmissie verhoogt, werkt ze ook gastheerspecificiteit in de hand.

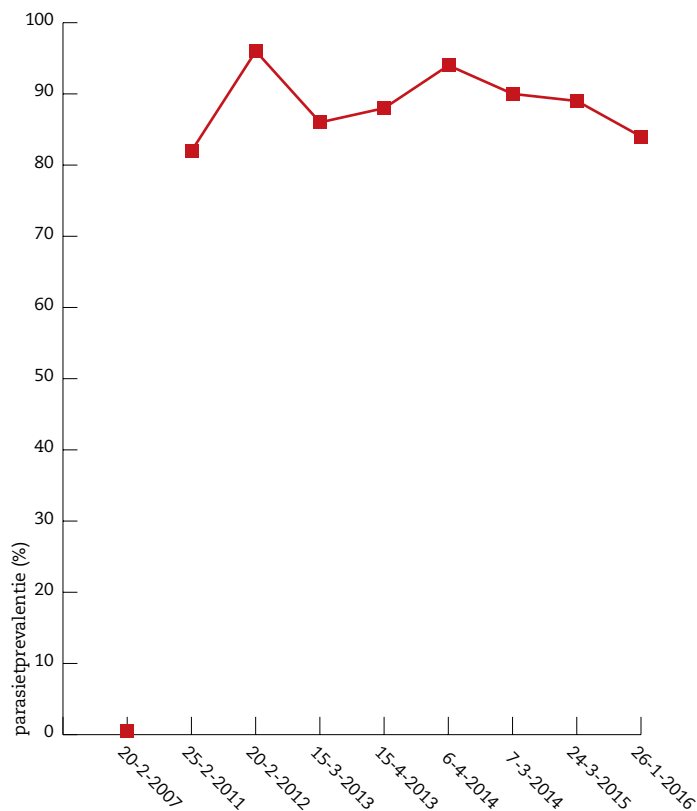
Bij *H. axyridis* komt echter ook interspecifiek copulatiegedrag voor. We zouden dus verwachten dat *H. virescens* afkomstig van *H. axyridis* kan overgezet worden op andere soorten waar *H. axyridis* mee copuleert. Dit is echter niet het geval. In een Belgische overwinteringslocatie (Plantentuin Meise), met verschillende soorten lieveheersbeestjes, wordt *H. virescens* enkel aangetroffen op *H. axyridis*, ongeacht de zeer hoge infectiefrequentie en thallusdensiteit. In Byron, in de Amerikaanse staat Georgia, overlappen geïnfecteerde populaties van *H. axyridis* en *O. v-nigrum* (Riddick & Cottrell 2010). In Zuid-Afrika hebben we geïnfecteerde *H. axyridis* en *Cheilomenes propinqua* samen gevonden in de omgeving van Stellenbosch (Haelewaters et al. 2016a). Moleculaire data van *H. virescens* geïsoleerd van deze verschillende gastheren tonen aan dat er geen overdrachten zijn tussen de gastheersoorten, hoewel er wel degelijk contacten zijn. Dit betekent, alweer, dat deze verschillende isolaten van *H. virescens* soortspecifieke vereisten hebben en wellicht maximaal succesvol zijn op de 'eigen' gastheer.

### Hoofdgastheer *Harmonia axyridis*

Tabel 4 geeft een overzicht van alle gastheren van *H. virescens*. Wat opvalt is dat *Harmonia axyridis* als gastheer pas erg recent wordt gemeld in de invasieve regio's (figuur 7). De allereerste observaties van *H. virescens*-geïnfecteerde *H. axyridis* kwamen uit Ohio, in de Verenigde Staten. Dit was in juli-november 2002 (Garcés & Williams 2004). In een studie van museumspecimens van *H. axyridis* in Noord-Amerika, kwamen ook infecties aan het licht in datzelfde jaar in Tennessee, Virginia en West-Virginia (Haelewaters et al. 2016b). Tijdens deze studie werden kevers geobserveerd voor *H. virescens*-infectie vanaf 1991, dit is drie jaar nadat de eerste gevestigde populatie van *H. axyridis* in het wild werd gerapporteerd in de Verenigde Staten (Louisiana) (Chapin & Brou 1991). Echter, pas sinds 2002 werd infectie met *H. virescens* vastgesteld. Met andere woorden, er zit een periode tussen de vestiging van *H. axyridis* in het wild en het verwerven van de parasiet door deze invasieve gastheer (figuur 8).

*Harmonia axyridis* beschikt over een aantal eigenschappen die verspreiding van *H. virescens* binnen de populatie lijken te bevorderen (Ceryngier & Twardowska 2013, De Kesel 2011, Riddick & Schaefer 2005). *Harmonia axyridis* leeft relatief lang als imago (tot drie jaar, Acorn 2007) en overwintert in omvangrijke groepen van soms honderden individuen, wat maakt dat er willekeurige transmissie van sporen kan plaatsvinden. In deze periode ontstaan geen sekse-gerelateerde infectiepatronen. Echter, tijdens het paarseizoen vindt gerichte transmissie plaats en die leidt tot sterke dorsale infecties bij vrouwtjes en ventrale infecties bij mannetjes (Van Wielink 2017a). Twee andere eigenschappen die infecties promoten zijn de hoge promiscuïteit van *H. axyridis* en een multivoltiene levenswijze (verschillende generaties/jaar). De combinatie van deze factoren zorgt ervoor dat transmissie van ascosporen effectief gebeurt tussen verschillende generaties alsook dat het aantal thalli per gastheer erg hoog kan oplopen (tot > 400 thalli/specimen).

Omwillen van deze, hoofdzakelijk populatie-dynamische, redenen is *H. axyridis*, na het oppikken van *H. virescens* van een lokale gastheer relatief snel diens hoofdgastheer geworden (De Kesel 2011). Zowel in Noord-Amerika als in Europa zien we tegenwoordig hoge infectiefrequenties op *H. axyridis* (overzicht in Haelewaters et al. 2016b). Het is waarschijnlijk dat enkel zuivere, niet-geparasiteerde, *H. axyridis*-imago's werden



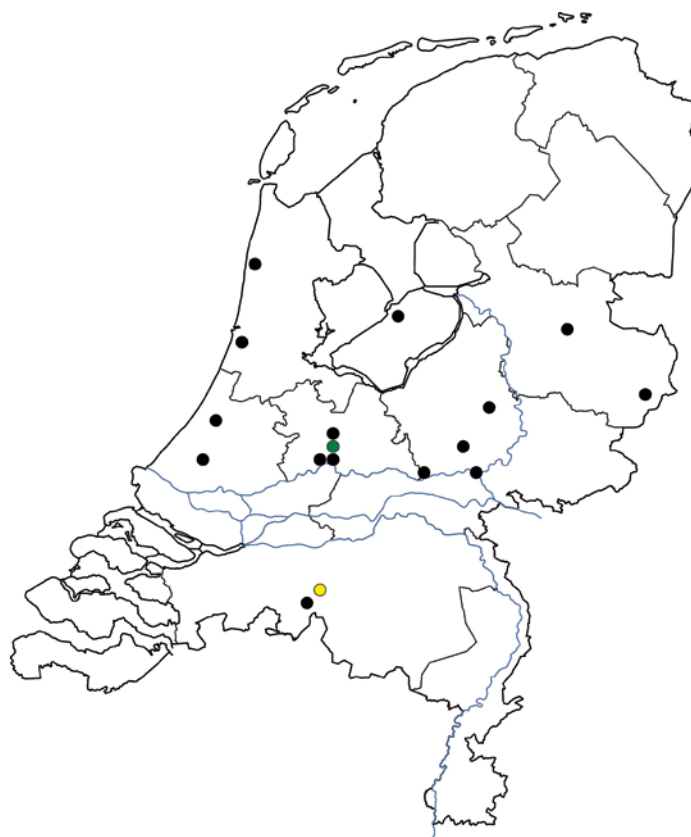
8. Ook in België is er een periode tussen de vestiging van *H. axyridis* in het wild (2001, Roy et al. 2016) en de eerste observatie van *H. virescens* op deze gastheer (20 februari 2007, De Kesel 2011). De parasietprevalentie is op korte tijd heel erg gestegen, tot gemiddeld 89% (op exemplaren die de overwinteringsplaats verlaten). (Data A. De Kesel in Haelewaters et al. 2016b, Tabel S2.)

8. Also in Belgium there is a time lag between the establishment of *H. axyridis* in the wild (2001, Roy et al. 2016) and the first observation of *H. virescens* on this host species (February 20, 2007, De Kesel 2011). During a very short timeframe, the parasite prevalence has considerably increased, until on average 89% (specimens leaving the overwintering location). (Data A. De Kesel in Haelewaters et al. 2016b, Table S2.)

geïntroduceerd vanuit Azië (Raak-van den Berg et al. 2014). *Harmonia axyridis* moet daarom in Europa en/of Noord-Amerika de parasiet hebben opgepikt van een lokale soort. We zouden hiervan een bewijs moeten vinden in de moleculaire data. Als we een isolaat vinden van een inheemse soort waarvan de ITS-sequentie identiek is aan die van *H. virescens* vanop *H. axyridis*, is de puzzel opgelost. Tot dan blijft dit een hypothese.

### Negatieve effecten

Over het algemeen berokkenen Laboulbeniales, ondanks hun parasitaire eigenschappen, weinig of geen schade aan hun gastheer. Omwille van het penetrerende haustorium zijn er echter indicaties dat *H. virescens* hiervan afwijkt. Een aantal studies toont nadelige effecten van infecties met *H. virescens*. Dit gaat van vrouwelijke gastheren die minder frequent copuleren (Nalepa & Weir 2007) tot verlaagde overwinteringskansen bij voornamelijk mannelijke gastheren (Riddick 2010). Kamburov et al. (1967) brachten de schimmel in verband met een 'populatiecrash' van *Chilocorus bipustulatus* in Israël. Echter, Applebaum et al. (1971) kwamen tot een andere conclusie. Zij maten de zuurstofopname, uitstoot van koolstofdioxide en het respiratorisch quotiënt van geïnfecteerde en ongeïnfecteerde lieveheersbeesten en vonden geen noemenswaardige verschillen. Ook



9. Een overzicht van alle vondsten van *Hesperomyces virescens* in Nederland. De groene stip verwijst naar de enige gekende vondst in Nederland van *H. virescens* op *Adalia bipunctata* (in Utrecht). De gele stip is de locatie van het natuurgebied De Kaaistoep, Tilburg. Hier hebben we tot nu toe het grootste aantal lieveheersbeestjes met *H. virescens* voor Nederland gevonden, op *Harmonia axyridis* en een enkele keer op *Halyzia sedecimguttata*.

9. An overview of all records of *Hesperomyces virescens* in The Netherlands. The green dot represents the sole record in the Netherlands of *H. virescens* on *Adalia bipunctata* (in Utrecht). The yellow dot shows the location of nature reserve De Kaaistoep, Tilburg. Here we found the highest numbers of ladybirds infected with *H. virescens* in the Netherlands, on *Harmonia axyridis* and once on *Halyzia sedecimguttata*.

het aantal gelegde eitjes door geïnfecteerde lieveheersbeestjes bleek niet beïnvloed.

Andere nadelige effecten zijn puur mechanisch. We zien soms zware infecties van *H. virescens* op *H. axyridis*, met geregeld meer dan 100 thalli (soms zelfs > 400 thalli) op de dekschilden, monddelen, antennen, of poten (Riddick & Schaefer 2005, Nalepa & Weir 2007). Het kan zijn dat het voor zulke gastheren moeilijk wordt om te vliegen, voedsel en partners te detecteren of predatoren te ontwijken.

### *Hesperomyces virescens* in Nederland

In Nederland is *H. virescens* tot nog toe op drie soorten vastgesteld (figuur 9): *Adalia bipunctata*, *Harmonia axyridis* en *Halyzia sedecimguttata*. De vondst op *A. bipunctata* kwam uit Utrecht (Webberley et al. 2006). *Hesperomyces virescens* werd in Nederland voor het eerst op *H. axyridis* gemeld in Haelewaters & De Kesel (2011), als resultaat van lichtvangsten in De Kaaistoep. Het eerste exemplaar *H. axyridis* met *H. virescens* werd verzameld op licht op 24 juli 2008. Meerdere vondsten van deze combinatie volgden snel (Haelewaters & van Wielink 2016). Ook op de website Waarneming.nl zijn sinds 2013 verschillende observaties van deze combinatie gedeeld door vrijwilligers. Hierdoor is *H. virescens* op *H. axyridis* ondertussen gekend in zeven provincies:

Flevoland, Gelderland, Noord-Brabant, Noord-Holland, Overijssel, Utrecht en Zuid-Holland. Tenslotte werd tijdens de lichtvangst in De Kaaistoep op 11 augustus 2015 één geïnfecteerd exemplaar aangetroffen van *Halyzia sedecimguttata* (Haelewaters & Van Wielink 2016).

Het geslacht *Halyzia* was een nieuw gastheergeslacht voor Laboulbeniales. Van 1997 tot en met 2015 zijn in De Kaaistoep in totaal 476 exemplaren van *H. sedecimguttata* op licht verzameld en geïnspecteerd, waarvan dus maar één exemplaar geïnfecteerd was (= 0.2%) (Van Wielink 2017b). Interessant is dat dit lieveheersbeestje zachte elytra heeft, heel anders dan de verharde dekschilden van *H. axyridis*. Bovendien heeft *H. sedecimguttata* een andere levenswijze: het eet meeldauwschimmels (Ascomycota, Erysiphales) in tegenstelling tot *H. axyridis* die vooral bladluizen eet (Baugnée et al. 2011). Ook *Psyllobora*

gebruikt de ongeslachtelijke sporen en hyfen van meeldauwschimmels als voornaamste voedselbron (Giorgi et al. 2009). Drie soorten *Psyllobora* zijn gekend als gastheer voor *H. virescens* (tabel 4), echter (nog) niet in Nederland.

*Harmonia axyridis* werd in Nederland voor het eerst in het wild aangetroffen op 4 oktober 2002 (als pop, Cuppen et al. 2004). Op 14 juli 2003 werd het eerste exemplaar waargenomen op licht in De Kaaistoep en op 19 september van datzelfde jaar waren er al 34 specimens verzameld. Pas zes jaar later, op 24 juli 2008, werd het eerste met *H. virescens*-geïnfecteerde exemplaar gevonden, opnieuw in De Kaaistoep. Net zoals in de Verenigde Staten en België hebben we hier te maken met een jarenlange periode tussen de vestiging van de gastheer in het wild en het verschijnen van de parasiet op deze gastheer (Raak-van den Berg et al. 2014, Haelewaters et al. 2016b).

## Literatuur

- Acorn J 2007. Ladybugs of Alberta: Finding the spots and connecting the dots. University of Alberta Press.
- Adamcik S, Cabon M, Eberhardt U, Saba M, Hampe F, Slovák M, Kleine J, Marxmüller H, Jancovicova S, Pfister DH, Khalid AN, Kolarik M, Marhold K & Verbeken A 2016. A molecular analysis reveals hidden species diversity within the current concept of *Russula maculata* (Russulaceae, Basidiomycota). *Phytotaxa* 270: 71-88.
- Applebaum SW, Kfir R, Gerson U & Tadmor U 2011. Studies on the summer decline of *Chilocorus bipustulatus* in citrus groves of Israel. *Entomophaga* 16: 433-444.
- Balazuc J 1974. Laboulbeniales de France (suite et fin). *Bulletin Mensuel de la Société Linéenne et des Sociétés Botanique de Lyon* 43: 346-368.
- Baugnée J-Y, Branquart E, Maes D & Seegers S 2011. (Chilicorinae, Coccinellinae, Epilachninae & Coccidulinae). *Herziene druk met larventabel. Jeugdbond voor Natuur en Milieu, Jeunes & Nature asbl i.s.m. het Instituut voor Natuur- en Bosonderzoek.*
- Benjamin RK 1971. Introduction and supplement to Roland Thaxter's contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae. *Bibliotheca Mycologica* 30: 1-155.
- Benjamin RK 1989. Taxonomy and morphology of *Acompsomyces* (Laboulbeniales), with notes on two excluded species, *Acompsomyces stenichni* and *Acompsomyces lasiochili*. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 49: 210-232.
- Bernardi M, Barragán A & Rossi W 2014. New records of Laboulbeniales (Fungi: Ascomycota) from Ecuador and other countries. *Webbia* 69: 281-289.
- Blackwell M 2011. The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *American Journal of Botany* 98: 426-438.
- Castaldo D, Rossi W & Sabatini F 2004. Contribution to the knowledge of the Laboulbeniales from Greece. *Plant Biosystems* 138: 261-269.
- Ceryngier P 2013. *Stethorus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae) as a host of the ectoparasitic fungus *Hesperomyces coccinelloides* (Ascomycota: Laboulbeniales, Laboulbeniaceae) in Poland. *Polish Journal of Entomology* 82: 13-18.
- 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 red): 375-442. Blackwell Publishing Ltd.
- 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
- Chapin JP & Brou VA 1991. *Harmonia axyridis* (Pallas), the third species of the genus to be found in the United States (Coleoptera: Coccinellidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* 93: 630-635.
- Christian E 2001. The coccinellid parasite *Hesperomyces virescens* and further species of the order Laboulbeniales (Ascomycotina) new to Austria. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 103: 599-603.
- Cornejo X & González G 2015. Contribución al conocimiento de la fauna entomológica de los manglares: *Olla roatanensis* Vandenberg y *Cheilomenes sexmaculata* Fabricius, dos nuevos registros de Coleoptera: Coccinellidae para Ecuador y Perú. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales* 8: 76-80.
- Cottrell TE & Riddick EW 2012. Limited transmission of the ectoparasitic fungus *Hesperomyces virescens* between lady beetles. *Psyche* 2012: article ID 814378.
- Cuppen J, Heijerman T, van Wielink P & Loomans A 2004. Het lieveheersbeestje *Harmonia axyridis* in Nederland: Een aanwinst voor onze fauna of een ongenenste indringer (Coleoptera: Coccinellidae)? *Nederlandse Faunistische Mededelingen* 20: 1-12.
- De Kesel A 1995. Population dynamics of *Laboulbenia clivialis* Thaxter (Ascomycetes, Laboulbeniales) and sex-related thallus distribution on its host *Clivina fossor* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera, Carabidae). *Bulletin et Annales de la Société Entomologique de Belgique* 131: 335-348.
- De Kesel A 1996. Host specificity and habitat preference of *Laboulbenia slackensis*. *Mycologia* 88: 565-573.
- De Kesel A 2011. *Hesperomyces* (Laboulbeniales) and coccinellid hosts. *Sterbeekia* 30: 32-37.
- De Kesel A & Haelewaters D 2014a. Belgian records of Laboulbeniales from aquatic insects (3) – species from *Dryops luridus*. *Sterbeekia* 33: 9-15.
- De Kesel A & Haelewaters D 2014b. *Laboulbenia slackensis* and *L. littoralis* sp. nov. (Ascomycota, Laboulbeniales), two sibling species as a result of ecological speciation. *Mycologia* 106: 407-414.
- De Kesel A, Haelewaters D & Dekoninck W 2016. Myrmecophilous Laboulbeniales (Ascomycetes) in Belgium. *Sterbeekia* 34: 3-6.
- De Kesel A, Haelewaters D & Gerstmans C. 2013. Two interesting species of *Rickia* (Laboulbeniales) from coastal habitats in Belgium and the Netherlands. *Sterbeekia* 32: 6-10.
- De Kesel A & Rammeloo J 1992. Checklist of the Laboulbeniales (Ascomycetes) of Belgium. *Belgian Journal of Botany* 124: 204-214.
- De Kesel A & Werbrout T 2008. Belgian records of Laboulbeniales from aquatic insects. *Sterbeekia* 28: 48-54.
- Garcés S & Williams R 2004. First record of *Hesperomyces virescens* Thaxter (Laboulbeniales: Ascomycetes) on *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 77: 156-158.
- Gäumann EA & Dodge CW 1928. *Comparative morphology of Fungi*. McGraw-Hill Book Company, Inc.
- Giorgi JA, Vandenberg NJ, McHugh JV, Forrester JA, Slipinski SA, Miller KB, Shapiro LR & Whiting MF 2009. The evolution of food preferences in Coccinellidae. *Biological Control* 51: 215-231.
- Goldmann L, Weir A & Rossi W 2013. Molecular analysis reveals two new dimorphic species of *Hesperomyces* (Ascomycota, Laboulbeniomycetes) parasitic on the ladybird *Coleomegilla maculata* (Coleoptera, Coccinellidae). *Fungal Biology* 117: 807-813.
- Goldmann L & Weir A 2012. Position specificity in *Chitonomyces* (Ascomycota, Laboulbeniomycetes) on *Laccophilus* (Coleoptera, Dytiscidae): a molecular approach resolves a century-old debate. *Mycologia* 104: 1143-1158.
- Gorczak M, Tischer M, Pawłowska J & Wrzosek M 2016. First record of *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales, Ascomycota) on *Harmonia axyridis* (Coccinellidae, Coleoptera) in Poland. *Acta Mycologica* 51:1071.
- Haelewaters D, Boer P, Gort G & Noordijk J 2015a. Studies on Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) on *Myrmica* ants (II): variation of infection by *Rickia wasmannii* over habitats and time. *Animal Biology* 65: 219-231.
- Haelewaters D, Boer P & Noordijk J 2015b. Studies of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) on *Myrmica* ants: *Rickia wasmannii* in the Netherlands. *Journal of Hymenoptera Research* 44: 39-47.
- Haelewaters D, Comont RF, Zhao SY & Pfister DH

- 2014a. *Hesperomyces virescens* (Fungi, Ascomycota, Laboulbeniales) attacking *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae) in its native range. Chinese Science Bulletin 59: 528-532.
- Haelewaters D & De Kesel A 2011. Laboulbeniales van De Kaaistoep. In: Natuurstudie in De Kaaistoep. Verslag 2010, 16e onderzoeksjaar (Cramer T & Van Wielink P red): 107-112. NV Tilburgsche Waterleiding-Maatschappij, KNNV-afdeling Tilburg & Natuurmuseum Brabant.
- Haelewaters D & De Kesel A 2013. A new species of *Cantharomyces* (Laboulbeniales, Ascomycota) from the Netherlands. Mycotaxon 123: 467-472.
- Haelewaters, D, De Kock G & Van Wielink P 2015c. Nieuwe Laboulbeniales in De Kaaistoep: 11-18. In: Natuurstudie in De Kaaistoep. Verslag 2014, 20e onderzoeksjaar (Peeters T, Van Eck A & Cramer T red): 11-18. TWM Gronden BV, Natuurmuseum Brabant & KNNV-afdeling Tilburg.
- Haelewaters D, Gorczak M, Pfliegler WP, Tartally A, Tischer M, Wrzosek M & Pfister DH 2015d. Bringing Laboulbeniales to the 21st century: enhanced techniques for extraction and PCR amplification of DNA from minute ectoparasitic fungi. IMA Fungus 6: 363-372.
- Haelewaters D, Minnaar IA & Clusella-Trullas S 2016a. First finding of the parasitic fungus *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales) on native and invasive ladybirds (Coleoptera: Coccinellidae) in South Africa. Parasite 23: 5.
- Haelewaters D, Van Wielink P, Van Zijlzen JW, Verbeken A & De Kesel A 2012. New records of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) for the Netherlands. Entomologische Berichten 72: 175-183.
- Haelewaters D, Verhaeghen SJC, Ríos González TA, Bernal Vega JA, & Villarreal Saucedo RV 2017. New and interesting Laboulbeniales from Panama and neighboring areas. Nova Hedwigia: doi 10.1127/nova\_hedwigia/2017/0410.
- Haelewaters D, Vorst O & De Kesel A 2014. New and interesting Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) from the Netherlands. Nova Hedwigia 98: 113-125.
- Haelewaters D & Van Wielink P 2016. *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales) op een nieuwe gastheer. In: Natuurstudie in De Kaaistoep. Verslag 2015, 21e onderzoeksjaar (Peeters T, Cramer T & Van Eck A red): 9-12. TWM Gronden BV, Natuurmuseum Brabant & KNNV-afdeling Tilburg.
- Haelewaters D, Zhao SY, Clusella-Trullas S, Cottrell TE, De Kesel A, Fiedler L, Herz A, Hesketh H, Hui C, Kleespies RG, Losey JE, Pfliegler 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. 2016b. Parasites of *Harmonia axyridis*: current research and perspectives. BioControl in press. DOI:10.1007/s10526-016-9766-8
- Haelewaters D, Zhao SY, De Kesel A, Royer IR, Handlin RE, Farrell BD & Pfister DH 2015e. Laboulbeniales (Ascomycota) of the Boston Harbor Islands I: species parasitizing Coccinellidae and Staphylinidae, with comments on typification. Northeastern Naturalist 22: 459-477.
- Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polachek I, Sionov E, Falk R, Parnmen S, Lumbsch HT & Boekhout T 2015. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. Fungal Genetics and Biology 78: 16-48.
- Harwood JD, Ricci C, Romani R, Pitz KM, Weir A & Obyrcki JJ 2006a. Prevalence and association of the laboulbenian fungus *Hesperomyces virescens* (Laboulbeniales: Laboulbeniaceae) on coccinellid hosts (Coleoptera: Coccinellidae) in Kentucky, USA. European Journal of Entomology 103: 799-804.
- Harwood JD, Ricci C, Romani R & Obyrcki JJ 2006b. Historic prevalence of a laboulbenian fungus infecting introduced coccinellids in the United States. Antenna 30: 74-79.
- Hecht O 1936. Studies on the biology of *Chilocorus bipustulatus* (Coleoptera-Coccinellidae) an enemy of the red scale *Chrysomphalus aurantii*. Bulletin de la Société Royale Entomologique d'Égypte 20: 299-326.
- Herz A & Kleespies RG 2012. Occurrence of natural enemies in different populations of the invasive ladybird *Harmonia axyridis* (Pallas, 1771) (Coleoptera, Coccinellidae) in Germany. Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie 18: 201-206.
- Hibbett D, Abarenkov K, Koljalg U, Opik M, Chai B, Cole JR, Wang Q, Crous PW, Robert VARG, Helgason T, Herr J, Kirk P, Luechow S, O'Donnell K, Nilsson H, Oono R, Schoch CL, Smyth C, Walker D, Porras-Alfaro A, Taylor JW & Geiser DM 2017. Sequence-based classification and identification of Fungi. Mycologia in press. DOI:10.3852/16-130.
- Hodek I 1973. Biology of Coccinellidae. Academia.
- Hubble D 2011. Kidney-spot ladybird *Chilocorus renipustulatus* (Scriba) (Coccinellidae), a new host for the parasitic fungus *Hesperomyces virescens* Thaxter (Ascomycetes: Laboulbeniales). The Coleopterist 20: 135-136.
- Huldén L 1983. Laboulbeniales (Ascomycetes) of Finland and adjacent parts of the U.S.S.R. Karstenia 23: 31-136.
- Iperti G 1964. Les parasites des Coccinelles aphidiphages dans les Alpes-Maritimes et les Basses-Alpes. Entomophaga 9: 153-180.
- Kamburov SS, Nadel DJ & Kenneth R 1967. Observations on *Hesperomyces virescens* Thaxter (Laboulbeniales), a fungus associated with premature mortality of *Chilocorus bipustulatus* L. in Israel. Israel Journal of Agricultural Research 17: 131-134.
- Lafontijn N 1877. [Fungi op *Phytonomus variabilis*]. In: Verslag van de 31e Zomervergadering der Nederlandsche Entomologische Vereeniging. Tijdschrift voor Entomologie 20: xxi.
- Maire R & Werner RG 1937. Fungi Marocani. Catalogue raisonné des champignons connus jusqu'ici au Maroc. Mémoires de la Société des Sciences Naturelles du Maroc 45: 1-147.
- Majewski T 1994. The Laboulbeniales of Poland. Polish Botanical Studies 7: 1-466.
- Majewski T & Sugiyama K 1985. Studies on the Laboulbeniomycetes of Papua New Guinea. 2. Transactions of the Mycological Society of Japan 26: 179-188.
- Middelhoek A 1943. Laboulbeniaceae in Nederland. Nederlands Kruidkundig Archief 53: 86-115.
- Middelhoek A 1949. Laboulbeniaceae in Nederland III. Nederlands Kruidkundig Archief 56: 249-260.
- Middelhoek A 1957. Eine neue Gattung der Laboulbeniales. Fungus 27: 72-75.
- 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.
- Pfliegler WP 2014. First Hungarian record of the fungus *Hesperomyces virescens* (Ascomycota: Laboulbeniales), parasitic on the harlequin ladybird (Coccinellidae: *Harmonia axyridis*). e-Acta Naturalia Pannonica 7: 139-142.
- Pfliegler WP, Báthori F, Haelewaters D & Tartally A 2016. Studies of Laboulbeniales on *Myrmica* ants (III): myrmecophilous arthropods as alternative hosts of *Rickia wasmannii*. Parasite 23: 50.
- Pringle A, Baker DM, Platt JL, Wares JP, Latgé JP & Taylor JW 2005. Cryptic speciation in the cosmopolitan and clonal human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. Evolution 59: 1886-1899.
- Proaño Castro AC & Rossi W 2008. New records of Laboulbeniales (Fungi, Ascomycota) from Ecuador. In: Biodiversity of South America, I (Giachino PM red). Memoirs on Biodiversity 1: 11-18.
- 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.
- Reboleira ASPS, Fresneda J & Salgado JM 2017. A new species of *Speonemadus* from Portugal with the revision of the escalerae-group (Coleoptera: Leiodidae). European Journal of Taxonomy 261: 1-23.
- Riddick EW 2010. Ectoparasitic mite and fungus on an invasive lady beetle: parasite coexistence and influence on host survival. Bulletin of Insectology 63: 13-20.
- Riddick EW & Cottrell TE 2010. Is the prevalence and intensity of the ectoparasitic fungus *Hesperomyces virescens* related to the abundance of entomophagous coccinellids? Bulletin of Insectology 63: 71-78.
- 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.
- Rossi W & Bergonzo E 2008. New and interesting Laboulbeniales from Brazil. Aliso 26: 1-8.
- 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, Nedvěd 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, Zaviezo T & Zhao Z 2016. The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*: global perspectives on invasion history and ecology. Biological Invasions 18: 997-1044.

- Santamaría S 1989. El orden Laboulbeniales (Fungi, Ascomycotina) en la Península Ibérica e Islas Baleares. Edicions especials de la Societat Catalana de Micologia. Vol. 3.
- Santamaría S 1995. New and interesting Laboulbeniales (Fungi, Ascomycotina) from Spain, III. *Nova Hedwigia* 61: 65-83.
- Santamaría S 2003. Laboulbeniales, II. *Acompsomyces-Ilyomyces*. *Flora Mycologica Iberica* 5: 1-344.
- Santamaría S, Balazuc J & Tavares II 1991. Distribution of the European Laboulbeniales (Fungi, Ascomycotina). An annotated list of species. *Treballs de l'Institut Botanic de Barcelona* 14: 1-123.
- Scheloske H-W 1969. Beiträge zur Biologie, Ökologie und Systematik der Laboulbeniales (Ascomycetes) unter besondere Berücksichtigung des Parasit-Wirt-Verhältnisses. *Parasitologische Schriftenreihe* 19: 1-176.
- Steenberg T & Harding S 2010. Entomopathogenic fungi found in field populations of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*. *IOBC/wprs Bulletin* 58: 137-141.
- Tavares II 1979. The Laboulbeniales and their arthropod hosts. In: *Insect-fungus symbiosis, nutrition, mutualism, and commensalism* (Batra LR red): 229-258. John Wiley & Sons.
- Tavares II 1985. Laboulbeniales (Fungi, Ascomycetes). *Mycologia Memoir* 9: 1-627
- Thaxter R 1918. Extra-American dipterophilous Laboulbeniales. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 53: 697-749.
- Thaxter R 1931. Contribution towards a monograph of the Laboulbeniaceae. Part V. *Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences* 16: 1-435, Plates I-LX.
- Tragust S, Tartally A, Espadaler X & Billen J 2016. Histopathology of Laboulbeniales (Ascomycota: Laboulbeniales): ectoparasitic fungi on ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 23: 81-89.
- Van Wielink PS 2017a. *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): 13 jaar gevolgd in De Kaaistoep, Noord-Brabant. *Entomologische Berichten* 77: 97-105.
- Van Wielink PS 2017b. Negentien jaar lichtvangsten van lieveheersbeestjes in De Kaaistoep (Coleoptera: Coccinellidae). *Entomologische Berichten* 77: 127-139.
- Webberley KM, Tinsley MC, Sloggett JJ, Majerus MEN & Hurst GDD 2006. Spatial variation in the incidence of a sexually transmitted parasite of the ladybird beetle *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 103: 793-797.
- Weir A & Beakes GW 1996. Correlative light- and scanning electron microscope studies on the developmental morphology of *Hesperomyces virescens*. *Mycologia* 88: 677-693.
- Weir A & Hammond PM 1997. Laboulbeniales on beetles: Host utilization patterns and species richness of the parasites. *Biodiversity and Conservation* 6: 701-719.

Geaccepteerd: 6 februari 2017

## Summary

### The fungus *Hesperomyces virescens*, a natural enemy of ladybirds

Laboulbeniales are obligate ectoparasitic fungi (Ascomycota, Peziziomycotina) using Arthropoda as their hosts. They occur on Blattodea (cockroaches and termites), Coleoptera (beetles), Dermaptera (earwigs), Diptera (flies), Hemiptera (true bugs), Hymenoptera (Formicidae: ants), Mallophaga (lice), Orthoptera (crickets), and Thysanoptera (thrips). The majority of Laboulbeniales (80%) have beetles as hosts. The morphology is very different from other fungi; Laboulbeniales do not form hyphae or mycelia but instead produce individual thalli. It has been estimated that as many as 15.000 to 75.000 species of Laboulbeniales exist, of which currently 2.100 have been formally described. Seven species, in the genera *Hesperomyces* (6) and *Laboulbenia* (1), are known to have hosts in the Coccinellidae (ladybirds). This paper briefly discusses the biology and ecology of Laboulbeniales and the history of Laboulbeniales research in the Netherlands. The available data about *Hesperomyces virescens*, including its morphology and ecology, are reviewed and discussed. This parasite infects over 30 ladybird species belonging to 20 genera from five subfamilies. In the Netherlands, it is reported on *Adalia bipunctata*, *Halyzia sedecimguttata*, and *Harmonia axyridis* (harlequin ladybird). Due to its favorable population dynamics, *H. axyridis* has quickly become the main host of *Hesperomyces virescens*. Host specificity is discussed in the light of recent molecular analysis suggesting that this fungus is in fact composed of several cryptic species, i.e. morphologically not or hardly distinguishable. Based on the literature known to us and original data, we present an actual and worldwide overview of the host spectrum of the *H. virescens* 'species complex'.



Danny Haelewaters

Department of Organismic and Evolutionary Biology  
Harvard University  
22 Divinity Avenue  
Cambridge Massachusetts 02138  
USA  
dhaelewaters@fas.harvard.edu

André De Kesel

Agentschap Plantentuin Meise  
Domein van Bouchout  
Nieuwelaan 38  
1860 Meise  
België