

DE MIER *CREMATOGASTER SCUTELLARIS*
ALS BIOLOGISCHE BESTRIJDER VAN
***SPODOPTERA LITTORALIS* EN HAAR**
INTERACTIE MET DE GAASVLIEG
CHRYSOPERLA CARNEA

Mathijs Hast

Stamnummer: 01704102

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

Tutor: Ir. Christophe Noppe

Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad Master of Science in de
Bio-ingenieurswetenschappen

Academiejaar: 2021 – 2022

Auteursrecht

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

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

Gent, 10 juni 2022

De auteur,

Mathijs Hast

De promotoren en tutor,

Prof. dr. ir. Patrick De Clercq

Dr. Bruno Gobin

Ir. Christophe Noppe

Dankwoord

Πάντα ῥεῖ.

Het einde bereiken betekent omkijken. De bestemming is slechts een gefixeerd objectief. De weg ernaar toe is de echte beloning. Tempus fugit. Vijf jaar. Magistraal, meedogenloos, memorabel. Deze masterthesis is het papiergeworden einde, de allerlaatste horde. Een wedstrijd waarin de tijd me heeft ingehaald. Deze zweem van nostalgie is een geschikt moment om dankbaar te zijn. Een tocht is maar zo fraai als de metgezellen die je begeleiden.

Ir. Christophe Noppe, de tutor die me bijstond in raad en arbeid. Van bij het ochtendlied van de eerste zangvogels mieren verzameland, tot bij het ondergaan van de zon wederkerend van het Proefcentrum voor Sierteelt. De tutor met de drukste agenda van allemaal, die toch elke keer opnieuw tijd wist vrij te maken. De tutor die me de fascinatie voor mieren doorgaf, een verwondering die me in de kleren is gekropen. En nooit volledig zal loslaten.

“It’s just men and ants. There’s the ants builds their cities, live their lives, have wars, revolutions, until men want them out of the way, and then they go out of the way. That’s what we are now - just ants.” — H.G. Wells, *The War of the Worlds*

Prof. dr. ir. Patrick De Clercq, de promotor die met zijn waardevolle feedback dit werk onmiskenbaar naar een hoger niveau getild heeft. Die me de fascinatie voor de entomologie heeft ingelepeld. Dr. Bruno Gobin, de promotor die ons de mogelijkheid gaf om in optimale omstandigheden aan praktijkonderzoek te doen. Joachim Audenaert en Ruth Verhoeven voor de behulpzaamheid op het Proefcentrum. Iedereen op het labo voor Agrozoölogie die me de weg wees en Olivier Berteloot, die me ervan weerhield om alles te serieus te nemen.

“You teach me, I forget. You show me, I remember. You involve me, I understand.”
— Edward O. Wilson

Mijn volledige familie en vrienden. Allen onder hen die tot vervelens toe aanhoorden ‘hoe het met de mieren ging’. Eline Eeckhout, die me hielp op momenten dat er handen tekort waren en met dezelfde verwonderde blik naar mieren kijkt. Jakob Huys, die een wereld zonder dt-fouten ambieert. Mijn ouders die me altijd steunen. Mijn grootouders die me alle vier een passie voor de natuur hebben meegegeven, mes grands-parents qui m’ont tous les quatres transmis une passion pour la nature. Liselot De Praetere, met wie ik zo graag naar de zonsondergang kijk.

Πάντα ῥεῖ.

ἔν οἶδα ὅτι οὐδὲν οἶδα

Toegewezen aan Socrates door Plato

INHOUDSOPGAVE

Dankwoord	i
Inhoudsopgave	iii
Samenvatting	v
Abstract	vi
Inleiding	vii
1 Literatuurstudie	1
1.1 Biologische bestrijding	1
1.1.1 Algemene beschrijving	1
1.1.2 Onderverdeling	2
1.1.3 Voor- en nadelen	4
1.1.4 Toekomstperspectieven: " <i>Nec temere, nec timide</i> "	5
1.2 Gewasbescherming in de sierteelt	6
1.2.1 Uitdagingen	6
1.2.2 Biologische bestrijding	6
1.2.3 Kassen als omgeving voor biologische bestrijding	7
1.3 Mieren als biologische bestrijders	10
1.3.1 Wat maakt mieren aantrekkelijk?	10
1.3.2 Potentieel van <i>Crematogaster scutellaris</i>	12
1.4 Bestudeerde organismen	17
1.4.1 De katoenuil <i>Spodoptera littoralis</i> (Boisduval, 1833)	17
1.4.2 De groene gaasvlieg <i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens, 1836)	19
2 Materiaal en methoden	23
2.1 Kweek van bestudeerde organismen	23
2.1.1 Kolonies van <i>Crematogaster scutellaris</i>	23
2.1.2 Kweek van <i>Chrysoperla carnea</i>	24
2.1.3 Kweek van <i>Spodoptera littoralis</i>	25
2.2 Experiment 1: Predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> door <i>Chrysoperla carnea</i> in laboratoriumomstandigheden	27

2.2.1	Doelstelling	27
2.2.2	Proefopstelling	27
2.3	Experiment 2: Predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> door <i>Crematogaster scutellaris</i> in laboratoriumomstandigheden	28
2.3.1	Doelstelling	28
2.3.2	Proefopstelling	28
2.4	Experiment 3: Effect van de interactie tussen <i>Chrysoperla carnea</i> en <i>Crematogaster scutellaris</i> op de predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> in laboratoriumomstandigheden	31
2.4.1	Doelstelling	31
2.4.2	Proefopstelling	31
2.5	Experiment 4: Bestrijding van <i>Spodoptera littoralis</i> door <i>Chrysoperla carnea</i> en <i>Crematogaster scutellaris</i> in een serreomgeving	32
2.5.1	Doelstelling	32
2.5.2	Proefopstelling	32
2.6	Statistische analyse	36
3	Resultaten	38
3.1	Experiment 1: Predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> door <i>Chrysoperla carnea</i> in laboratoriumomstandigheden	38
3.2	Experiment 2: Predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> door <i>Crematogaster scutellaris</i> in laboratoriumomstandigheden	39
3.3	Experiment 3: Effect van de interactie tussen <i>Chrysoperla carnea</i> en <i>Crematogaster scutellaris</i> op de predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> in laboratoriumomstandigheden	40
3.4	Experiment 4: Interactie tussen <i>Chrysoperla carnea</i> en <i>Crematogaster scutellaris</i> op de predatie van <i>Spodoptera littoralis</i> in een serre	41
4	Discussie	45
5	Conclusie	48
	Literatuur	49
	Literatuur	49

Samenvatting

Mieren zijn polyfage predatoren die territoriaal en coöperatief gedrag vertonen, eigenschappen die hen interessant maken voor de biologische bestrijding van plaagsoorten. Deze masterproef had als doel om de capaciteit van de Mediterrane mierensoort *Crematogaster scutellaris* als biologische bestrijder van de katoenuil (*Spodoptera littoralis*) te onderzoeken en de interactie met de groene gaasvlieg *Chrysoperla carnea* op de bestrijding te bestuderen. Uit de eerste twee proeven in laboratoriumomstandigheden bleken beide predatoren apart evenwaardige bestrijders van *S. littoralis* bij een verhouding van 1:1 tussen de plaag en de predator. In de behandelingen met tien, vijftien en twintig tweede stadium larven van *C. carnea* waren er na 30 uur van de tien larven van *S. littoralis* respectievelijk nog $3,0 \pm 1,58$, $1,6 \pm 1,52$ en $0,6 \pm 0,89$ in leven. In de behandelingen met tien, twintig en vijftig werksters van *C. scutellaris* waren er na 24 uur nog respectievelijk $0,50 \pm 0,55$, $0,17 \pm 0,41$ en 0 ± 0 tweede stadium larven van *S. littoralis* in leven. Daarnaast zorgt een groter aantal werksters van *C. scutellaris* voor een verlaging van het gemiddelde percentage en de variabiliteit van het bladoppervlakte dat aangevreten wordt. In de derde laboratoriumproef bleek het aantal *S. littoralis* larven na 24 uur niet significant verschillend tussen de behandelingen met enkel *C. carnea*, enkel *C. scutellaris* en beide predatoren samen. In de serreproef hadden verschillende combinaties van *C. scutellaris*, *S. littoralis* en *C. carnea* in vaste aantallen toegang tot een afgebakende foerageerzone. Enkel de behandelingen met *C. carnea* alleen en *C. carnea* samen met *C. scutellaris* resulteerden in de volledige bestrijding van de twintig uitgezette tweede stadium larven van *S. littoralis* per herhaling. Het aantal *S. littoralis* larven was niet significant verschillend tussen de controlebehandeling zonder predatoren en de behandeling met vijfhonderd werksters van *C. scutellaris*. Verder onderzoek is nodig om de invloedsfactoren van het predatiegedrag van *C. scutellaris* op rupsen te bestuderen.

Abstract

Ants are polyphagous predators that exhibit territorial and cooperative behavior. These characteristics make them interesting as biological control agents of pest species. This master's thesis aimed to investigate the capacity of the Mediterranean ant species *Crematogaster scutellaris* as a biological control agent of the cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) and to study its interaction with the green lacewing *Chrysoperla carnea*. From the first two trials under laboratory conditions, both predators separately proved to be good controllers of *S. littoralis* at a 1:1 ratio between the pest and the predator. In the treatments with ten, fifteen, and twenty second instar larvae of *C. carnea*, of the ten second instar larvae of *S. littoralis*, respectively $3,0 \pm 1,58$, $1,6 \pm 1,52$, and $0,6 \pm 0,89$, were still alive after 30 hours. In the treatments with ten, twenty, and fifty workers of *C. scutellaris*, each with ten second instar larvae of *S. littoralis*, $0,50 \pm 0,55$, $0,17 \pm 0,41$, and 0 ± 0 second instar larvae of *S. littoralis* were still alive after 24 hours, respectively. In addition, a greater number of workers of *C. scutellaris* reduced the mean percentage and variability of leaf area eaten. In the third laboratory trial, the number of *S. littoralis* larvae after 24 hours was found to be not significantly different between treatments with *C. carnea* only, *C. scutellaris* only, and both predators combined. In the greenhouse experiment different combinations of *C. scutellaris*, *S. littoralis* and *C. carnea* had access to a enclosed foraging zone. Only the treatments with *C. carnea* alone and *C. carnea* together with *C. scutellaris* resulted in the complete control of the twenty second instar larvae of *S. littoralis* released per replicate. The number of *S. littoralis* larvae was not significantly different between the control treatment without predators and the treatment with five hundred workers of *C. scutellaris*. Further research is needed to study the influencing factors of *C. scutellaris* predation behavior on caterpillars.

Inleiding

Het telen van (sub)tropische gewassen in West-Europa vereist een omgeving die het klimaat van de plaats van herkomst nabootst. Om de temperatuur en de luchtvochtigheid te verhogen ten opzichte van de buitenwereld zijn kassen ontworpen. Niet alleen gewassen, maar ook plagen en ziekten ontwikkelen zich sneller in deze omstandigheden, met een grote druk op het gezond houden van het finale product als gevolg. In het kader van geïntegreerde gewasbescherming is biologische bestrijding in kassen de laatste jaren aan een opmars bezig. Voor bepaalde vruchtgroenten die in kassen geteeld worden is het gebruik van biologische bestrijding al goed ingeburgerd. In de sierteelt zorgen de lage schadedrempels ervoor dat biologische bestrijding het moeilijk heeft om te wedijveren met chemische bestrijding.

Mieren zijn alomtegenwoordig in de meeste ecosystemen. Dat deze polyfage predatoren mits goed beheer als biologische bestrijders kunnen ingezet worden, is al meer dan duizend jaar geweten. Hun coöperatieve en territoriale gedrag zijn potentieel enorme troefkaarten voor het bestrijden van plagen, ook in een kasomgeving. Diezelfde troefkaarten maken hen echter ook moeilijk te beheren: zo ontzien ze het niet om organismen vele malen groter dan zichzelf - inclusief de mens - aan te vallen, wat de praktische inzetbaarheid belemmert.

In deze masterproef wordt de predatiecapaciteit van *Crematogaster scutellaris*, een mier van Mediterrane oorsprong, op de katoenuil (*Spodoptera littoralis*) onderzocht. Het warme oorsprongsgebied van de mierensoort doet vermoeden dat de soort zich in een kasomgeving thuis zou kunnen voelen. De katoenuil is gekozen als modelsoort voor een rupsenplaag in een kasteelt, aangezien de verwante florida-uil (*Spodoptera exigua*) incidenteel voorkomt in de Belgische tuinbouw. Bij optimale omstandigheden duurt de larvale ontwikkeling slechts twee en een halve week waarbij de larven van <1 tot 40-45 mm groeien. Deze gezwinde groei zorgt er voor dat bestrijding een uitdaging is, door de snelle verandering in de verhouding van de lichaamsgrootte tussen een potentiële predator en de rups. Daarnaast wordt de interactie met de groene gaasvlieg (*Chrysoperla carnea*), een gevestigde waarde als biologische bestrijder, op de bestrijding van de larven van *Spodoptera littoralis* bestudeerd. Deze wisselwerking wordt zowel in laboratoriumomstandigheden als in een serreomgeving onderzocht.

In het eerste deel van deze masterproef is een overzicht terug te vinden van de literatuur over biologische bestrijding, mieren als biologische bestrijders en het potentieel van *Crematogaster scutellaris*, alsook een beschrijving van *Spodoptera littoralis* en *Chrysoperla carnea*. In het tweede deel is in detail beschreven hoe de proeven zijn opgezet en uitgevoerd. Het derde deel beslaat de verwerking van de resultaten, gevolgd door een discussie daarvan in deel vier. Het vijfde en laatste deel vormt de conclusie van dit onderzoek en bekijkt de mogelijkheden voor de verdere ontwikkeling van *Crematogaster scutellaris* als biologische bestrijder.

1 Literatuurstudie

1.1 Biologische bestrijding

1.1.1 Algemene beschrijving

Biologische bestrijding is volgens de eerste - vrij nauwe - definitie uit 1919 van Smith (1919) "het inzetten van natuurlijke vijanden om schadelijke insecten te bestrijden". In later geponeerde definities verbreedt het begrip. De natuurlijke vijanden kunnen insecten, mijten, nematoden, fungi, bacteriën of virussen zijn (Tu et al., 2001; De Clercq et al., 2011). In ruimere zin rekenen sommigen ook genen en genproducten tot de biologische bestrijdingsmiddelen, al is daar discussie over omdat dit geen levende organismen zijn (Eilenberg et al., 2001; Pal & Gardener, 2006; Sharma et al., 2013; Stenberg et al., 2021). Virussen bezitten niet alle kenmerken eigen aan levende organismen. De kenmerken die ze wel bezitten, zoals muteren en evolueren, het bevatten van nucleïnezuren en eiwitten en het reproduceren via levende organismen, zorgen ervoor dat ze tot de biologische bestrijders behoren volgens Stenberg et al. (2021).

Het doel is plagen of ziekten te onderdrukken door de doelorganismen in aantal te reguleren, of te verhinderen dat ze schade aanrichten (Tu et al., 2001; Bale et al., 2008). Deze driehoeksverhouding tussen een biologische bestrijder, een plaag en een menselijke stakeholder die een voordeel ondervindt van de plaagbestrijding is eigen aan biologische bestrijding (Stenberg et al., 2021). Een eerste kenmerk is dat het doel niet is de plaag uit te roeien, maar ze slechts toe te laten schade aan te richten onder de economische schadedrempel (Bale et al., 2008; De Clercq et al., 2011). De menselijke hand in dit proces is het tweede aspect dat biologische bestrijding onderscheidt van natuurlijke bestrijding, de autonome regulatie van populatieaantallen in de vrije natuur (Bale et al., 2008). Deze regulatie treedt op via mechanismen zoals pathogeniciteit, parasitisme of predatie (DeBach, 1964).

Biologische bestrijding is samen met andere methoden een onderdeel van geïntegreerde gewasbescherming (Eng.: Integrated Pest Management (IPM), een kader dat een waaier aan methoden omvat om aan gewasbescherming te doen. De selectie van de beste (combinatie van) bestrijdingsmethode(n) gebeurt na afweging van factoren zoals productie, ecologie en maatschappij (Eilenberg et al., 2001). Voorbeelden van andere methoden binnen IPM zijn resistente planten, cultuurtechnische maatregelen, fysische barrières en als laatste redmiddel, chemische bestrijding. Van de methoden binnen geïntegreerde gewasbescherming heeft biologische gewasbescherming het imago een progressief en milieuvriendelijk alternatief te bieden voor chemische bestrijding (Tu et al., 2001). De kortetermijneffecten zijn minder spectaculair dan bij fysische of chemische methoden, maar op langere termijn is er vaak een stabiel effect (Baker & Cook, 1974).

Biologische gewasbescherming is van alle tijden. In het oude China van 304 v.C. is beschreven hoe kolonies van de wevermier *Oecophylla smaragdina* op de markt verkocht werden voor gebruik in citrusboomgaarden (Huang & Yang, 1987). Volgens verhalen is ook

de gele faraomier *Monomorium pharaonis* ingezet in het oude China om voorraadbescha- digers te weren door nesten in schuren te plaatsen (Simmonds et al., 1976). Het begin van de huidige 'klassieke' biologische gewasbescherming situeert zich volgens Simmonds et al. (1976) in 1888. In het decennium daarvoor was de schildluis *Icerya purchasi* vanuit Australië met *Acacia* bomen meegereisd naar de Verenigde Staten waar ze de jonge citrus- industrie bedreigde. De entomoloog Albert Koebele vertrok naar het oorsprongsgebied en vond ter plaatse twee soorten die de populatie binnen de perken hielden: de vedelia-kever (*Rodolia cardinalis*) en de parasitaire vlieg *Cryptochaetum iceryae* (Doutt, 1958). De in- troductie van beide soorten zorgde voor een spectaculaire afname van de plaagdruk. Dit succesverhaal markeert het wereldwijde begin van het enthousiasme voor biologische ge- wasbescherming, aangewakkerd door het permanente, simpele en goedkope karakter van de strategie (Simmonds et al., 1976; Bale et al., 2008; Sharma et al., 2013).

1.1.2 Onderverdeling

Binnen de biologische gewasbescherming vallen, afhankelijk van de auteur, drie of vier strategieën te onderscheiden (Eilenberg et al., 2001; Bale et al., 2008; De Clercq et al., 2011). De drie strategieën zijn klassieke biologische bestrijding, bestrijding door conser- vatie en bestrijding door vermeerdering. Eilenberg et al. (2001) verdelen bestrijding via vermeerdering verder onder in inoculatie en inundatie en beschouwen zo vier strategieën.

Natuurlijke bestrijding is de eerste vorm van bestrijding die sinds de evolutie van het eerste ecosysteem soortevenwichten regelt zonder menselijke tussenkomst (Bale et al., 2008). Deze vorm vertegenwoordigde op het eind van de vorige eeuw reeds een economische waarde van minstens 400 miljard dollar per jaar, tegenover 8,5 miljard dollar voor de in- secticidenmarkt (Costanza et al., 1997). Voor de bestrijding van de bladluis *Aphis glycines* komt bij de productie, het transport en het toepassen van chemische middelen ongeveer 10,6 kg CO₂-equivalenten vrij per hectare soja. Natuurlijke vijanden van *A. glycines* zorgen ervoor dat er minder toepassingen met chemische middelen nodig zijn. Voor de teelt van soja in de Verenigde Staten daalt de jaarlijkse uitstoot naar schatting met 200 miljoen kg CO₂-equivalenten door natuurlijke bestrijding (Heimpel et al., 2013). In bepaalde geval- len volstaat natuurlijke bestrijding om een exotische plaagsoort te controleren, in andere niet. In figuur 1 is weergegeven hoe de drie andere strategieën als doel hebben natuur- lijke bestrijding te versterken. Een voorbeeld van succesvolle natuurlijke bestrijding is deze van de vuurdoornvouwmot (*Phyllonorycter leucographella*), een exotische bladmineerder die voorkomt in het Verenigd Koninkrijk. Inheemse parasitoïden kunnen deze mineerder parasiteren (Godfray et al., 1995). Daartegenover staat het voorbeeld van de paardenkas- tanjemineermot (*Cameraria ohridella*), een andere exotische bladmineerder die in Europa schade aanricht, maar waarvoor het aanpassingsvermogen van inheemse bestrijders aan de exoot laag is (Nováková et al., 2016). Het aanpassingsvermogen van inheemse be- strijders neemt toe in de tijd, maar volstaat op korte tijd zelden om de plaag onder de economische schadedrempel te houden (Kenis et al., 2017).

De klassieke bestrijdingsstrategie begint bij de zoektocht naar een co-geëvolueerde na- tuurlijke vijand in het oorsprongsgebied van het plaagorganisme. De bedoeling is dat een



Figuur 1: Natuurlijke bestrijding treedt op zonder menselijke tussenkomst en staat centraal. De drie strategieën rondom vormen een versterking van natuurlijke bestrijding. Via menselijke tussenkomst trachten ze een hogere graad van bestrijding te bereiken. Figuur aangepast van Stenberg et al. (2021).

beginpopulatie van bestrijders zich na import kan vestigen in de nieuwe inheemse habitat, zichzelf in stand kan houden en op lange termijn een evenwicht bereikt met de plaagsoort waardoor deze onder de economische schadedrempel blijft (Eilenberg et al., 2001; Tu et al., 2001; Bale et al., 2008). Eens een geschikte natuurlijke vijand gevonden is in het oorsprongsgebied, is de volgende stap de import van een relatief laag aantal natuurlijke vijanden. Na het uitzetten van individuen in de omgeving van de plaag houden deze zichzelf in stand. Bij voorkeur heeft de natuurlijke vijand minimale negatieve interacties met de rest van het milieu (Bale et al., 2008). Een term die nauw aansluit bij klassieke biologische bestrijding, is neoklassieke biologische bestrijding, waarbij een nieuwe associatie plaatsvindt tussen een inheemse plaag en een uitheemse bestrijder (Eilenberg et al., 2001; Tu et al., 2001).

De conservatiestrategie omvat alle aanpassingen aan het milieu die als doel hebben de inheemse natuurlijke vijanden te bevorderen in aantal of activiteit (Eilenberg et al., 2001; Bale et al., 2008; De Clercq et al., 2011). Verschillende maatregelen maken het mogelijk deze strategie te implementeren. Voorbeelden zijn het beïnvloeden van het microklimaat in een gewas, het aanbieden van alternatieve gastheren of prooien en het voorzien van overwinteringsplaatsen en aanreiken van voedsel zoals bloemen, voor onder andere adulte parasitoïden of aphidofage zweefvliegen (Bale et al., 2008).

Vermeerdering slaat op het periodiek loslaten van natuurlijke vijanden op plaagpopulaties (van Lenteren, 2000). De gebruikte organismen kunnen zowel inheems als niet-inheems zijn (De Clercq et al., 2011). Eilenberg et al. (2001) onderscheiden hierin inoculatie en inundatie. Bij inoculatie houdt de populatie zich na de uitzetting enige tijd in stand en zorgen de opeenvolgende generaties voor bestrijding, bij inundatie treedt bestrijding alleen

op door de uitgezette individuen. Inundatie vereist een massakweek van organismen om deze keer op keer te kunnen uitzetten, wat niet altijd technisch mogelijk of economisch rendabel is (Bale et al., 2008). De gewenste karakteristieken voor een bestrijder hangen af van de gekozen strategie: een organisme bedoeld voor inoculatie moet zich kunnen vermenigvuldigen en weerstaan aan schommelingen van klimaatparameters. Bij inundatie zullen de eenvoud en de rendabiliteit van de kweek primeren (Mason et al., 2009).

1.1.3 Voor- en nadelen

Een eerste voordeel is dat er geen schadelijke residuen achterblijven, wat wel het geval kan zijn bij toepassing van chemische middelen (Bale et al., 2008). Dit is positief voor het milieu en de gezondheid van de gebruiker, de plant en de consument (Sharma et al., 2013). Klassieke biologische bestrijding is goedkoop, aangezien de voornaamste kosten toe te schrijven zijn aan het initiële onderzoek naar de potentiële neveneffecten. Indien de soort zichzelf in stand kan houden, volstaat een eenmalige kost om een grote oppervlakte te beschermen (Tu et al., 2001). In het ideale geval is de gekozen bestrijder selectief voor het plaagorganisme, waardoor er geen verstoring optreedt van het ecosysteem waarin de plaag aanwezig is. In dergelijke gevallen kan biologische bestrijding zelfs bijdragen tot een verhoging van de biodiversiteit of bescherming van het evenwicht in het ecosysteem door een plaag te beteugelen (De Clercq et al., 2011). De selectiedruk voor resistentieontwikkeling ligt lager dan bij het gebruik van chemische middelen. De kosten-batenverhouding van klassieke biologische bestrijding kan zeer gunstig zijn, tot een verhouding 1:250. Voor vermeerdering is de verhouding 1:2-5. Dit is gelijkaardig aan deze van insecticiden, maar van die laatste liggen de ontwikkelingskosten hoger (Bale et al., 2008).

Biologische gewasbescherming is veelbelovend, desalniettemin is uitgebreid onderzoek naar de potentiële risico's nodig. Een eerste waaier aan mogelijke neveneffecten betreft de interacties met andere organismen. De biologische bestrijder kan een antagonistische band hebben met een natuurlijke vijand, de plaag rechtstreeks bevorderen of een synergetische band aangaan met een ander organisme waardoor de plaag het beter doet. Daarnaast kan een biologische bestrijder de volksgezondheid beïnvloeden of niet-doelorganismen aanvalen en daarbij het evenwicht in het ecosysteem verstoren (Howarth, 1991). Een ideale biologische bestrijder kan potentieel op zijn beurt tot een plaag uitgroeien. De introductie van het Aziatische lieveheersbeestje (*Harmonia axyridis*) is een typevoorbeeld van mogelijke ongewenste neveneffecten van biologische bestrijding. De soort uit Zuidoost-Azië is herhaaldelijk geïmporteerd vanaf 1916 in de Verenigde Staten en sinds de jaren 1980 in Europa om blad- en schildluisplagen te lijf te gaan (Haelewaters et al., 2017). Tayeh et al. (2015) toonden aan dat invasieve populaties van *H. axyridis* in een andere richting evolueren dan soortgenoten die in gevangenschap gekweekt zijn voor biologische bestrijding. Onder de selectiedruk van de omgeving alloceren invasieve populaties meer middelen aan reproductie en spreiden ze deze middelen over een langere levenscyclus. De in laboratoria gekweekte populaties vertonen een kortere levenscyclus, de vrouwtjes initiëren sneller hun reproductieve cyclus en leggen meer eitjes per dag, maar minder in hun totale levenscyclus dan hun invasieve soortgenoten. Deze kwaliteiten zijn wenselijk voor biologische bestrijders en zijn in die richting geëvolueerd tijdens de kweek in laboratoria, maar kunnen ook de

overlevingskansen in het wild verhogen. De expansiedrang van de invasieve *H. axyridis* populaties kan tot wel 442 km per jaar gaan (Mccorquodale, 1998). Bij voorkeur consumeert *H. axyridis* bladluizen en andere zachte insecten, maar in nood kan de soort zowat alles verorberen dat zijn pad kruist: andere insecten, fruit, granen, pollen etc. (Goetz, 2008). De larven nemen de bovenhand op larven van inheemse lieveheersbeestjes, zowel door zich te voeden in hetzelfde trofische niveau als door rechtstreekse predatie (Koch & Galvan, 2008). Bij verkortende dagen en dalende temperaturen troepen individuen in groten getale samen in beschermde omgevingen, zoals huizen. Daar kunnen ze een echte plaag vormen door vlekken achter te laten, mensen te bijten en allerhande allergische reacties te veroorzaken (Goetz, 2008; Koch & Galvan, 2008). Ook inheemse soorten zoals het tweestippelig lieveheersbeestje (*Adalia bipunctata*) komen huizen binnen om te overwinteren, maar de grootteorde van de overlast is doorgaans kleiner (De Clercq et al., 2011). Verschillende predatoren en parasitoïden van *H. axyridis* zijn gedocumenteerd. Door adaptatie van natuurlijke vijanden aan *H. axyridis* lijkt het invasieve karakter van de soort te verminderen (Knapp et al., 2019). Alle biotische en abiotische factoren vormen samen een complex en onstabiel geheel, waardoor alle interacties voorspellen een berg onderzoekswerk vereist die nooit volledige zekerheid kan bieden (Simberloff & Stiling, 1996; Barratt et al., 2010). Naast de potentiële neveneffecten vormt de tragere werkzaamheid ten opzichte van pesticiden een van de grootste beperkingen (Bale et al., 2008).

1.1.4 Toekomstperspectieven: "*Nec temere, nec timide*"

De perceptie van landbouwers kan onterecht gekant zijn tegen biologische bestrijding. Hen informeren over de kosten-batenverhouding van biologische bestrijding kan hen overtuigen om het als alternatief te verkiezen voor de chemische methoden (Baker et al., 2020).

Vandaag de dag is de risicoanalyse de meest tijdrovende stap in de ontwikkeling van nieuwe klassieke biologische bestrijders (Kenis et al., 2017). De nadruk bij de ontwikkeling van nieuwe biologische bestrijders ligt op het testen van de gastheerspecificiteit en potentiële neveneffecten als een gevolg van de toenemende bezorgdheid over een negatieve milieu-impact. Voor slechts 1,5% van de uitgezette biologische bestrijders was tot 1999 de gastheerspecificiteit getest (Bale et al., 2008). Nu bestaat er in een twintigtal landen regelgeving voor de import en vrijlating van biologische bestrijders (Maes et al., 2013). In de Europese Unie is er geen algemene richtlijn, waardoor het regelgevende kader doorschuift naar de lidstaten (De Clercq et al., 2011). In België is er op federaal niveau geen regelgeving. Op Vlaams niveau is het verboden om een exotische soort te introduceren, tenzij in een milieueffectenrapport aangetoond is dat de soort geen neveneffecten met zich meebrengt. Het Agentschap voor Natuur en Bos is verantwoordelijk voor de autorisatie, maar beschikt niet over richtlijnen voor een te volgen methodologie (Maes et al., 2013). De evolutie naar een te uitgebreid regelgevend kader in de toekomst is potentieel een afknapper voor bedrijven die investeren in biologische gewasbescherming. Bij te stringente regelgeving ontzien bedrijven het om tijd en geld te investeren waardoor veelbelovende bestrijders niet tot op de markt raken (De Clercq et al., 2011).

1.2 Gewasbescherming in de sierteelt

1.2.1 Uitdagingen

Sierteelt omvat het telen van planten voor hun decoratieve eigenschappen. Verdere opdelingen kunnen zijn: voor binnen- of buitenomgevingen, teelt in substraat, potten of volle grond en in openlucht of onder bedekking (Lecomte et al., 2016). De esthetische eigenschappen zijn voor siergewassen het belangrijkste kenmerk, in tegenstelling tot gewassen voor consumptie waar een maximalisatie van opbrengst en/of nutritionele eigenschappen van belang zijn. Consumenten eisen een hoge kwaliteit en hebben een lage tolerantie voor schade en insecten, inclusief nuttige insecten (Marsh, 2009). De economische schadedrempel voor deze teelten ligt door de hoge eisen van de consument zeer laag (de Moraes & Tamai, 1999). Dit heeft een impact op de beheersing van ziekten en plagen, waarvoor een hoge efficiëntie en betrouwbaarheid vereist zijn (Paulitz & Belanger, 2001). Chemische bestrijding voldoet het meest aan deze criteria en is de dominante vorm van bestrijding in de sierteelt (Parrella et al., 1999; Bueno & van Lenteren, 2010). Siertelers bespuiten het gewas op basis van de kalender (Parrella et al., 1999). De voornaamste nadelen van chemische bestrijding zijn de verlaagde doeltreffendheid van insecticiden wanneer plagen zich verschuilen in bloemknoppen of andere plantendelen waar ze beschermd zijn tegen contactmiddelen, en de toenemende resistentie van plagen (Souza & Marucci, 2021).

De diversiteit aan teeltomstandigheden, soorten en cultivars geteeld in een beschermde omgeving in de sierteelt is groter dan deze in de groententeelt. Dit heeft als gevolg dat er een bredere waaier aan gewasbeschadigers voorkomt (Parrella et al., 1999). Veel siergewassen zijn exoten. Natuurlijke vijanden die normaal in de natuurlijke habitat voorkomen zijn vaak afwezig in de intensief beheerde teeltomgeving (Hanson & Miller, 1984).

1.2.2 Biologische bestrijding

De lange teeltduur, die doorgaans weken tot maanden duurt, zorgt voor een grote investering voor de telers (De Courcy Williams, 2001). De kost van plaag- en ziektebestrijding voor siergewassen is verantwoordelijk voor minder dan 1% van de totale productiekost (Parrella et al., 1999). De grote toegevoegde waarde van siergewassen maakt biologische bestrijding interessant voor telers. Naast de kost van de toepassing zijn drie factoren cruciaal voor het aanwenden van biologische bestrijding door siertelers. Als het de efficiëntie, de betrouwbaarheid en het gemak van toepassen van chemische bestrijding niet kan evenaren zullen telers het niet implementeren (Parrella et al., 1999; Paulitz & Belanger, 2001). Binnen een context van IPM kunnen chemische en biologische bestrijding evenwel complementair zijn om tot een aanvaardbaar niveau van bestrijding te komen in siergewassen (Gobin et al., 2013). Biologische bestrijders die resistent zijn tegen pesticiden zijn hierbij interessant (de Moraes & Tamai, 1999). Het brede toxiciteitsspectrum van bepaalde chemische middelen zorgt er evenwel voor dat deze compatibiliteit er niet altijd is (Parrella et al., 1999).

Voor biologische plaagbestrijders is het omgaan met lage densiteiten aan beschadigers in siergewassen de grootste uitdaging. Er zijn technieken om natuurlijke vijanden te laten overleven en de efficiëntie van bestrijding te verhogen zoals het voorzien van kunstmatige prooien, habitats voor eileg en bescherming, banker plants en supplementatie met pollen of andere voeders (Pijnakker et al., 2020). Soorten die gebruik kunnen maken van meerdere voedingsbronnen (bijvoorbeeld pollen en nectar) zijn bevoordeeld ten opzichte van soorten die zich alleen op het plaagorganisme kunnen voeden. Weinig siergewassen voorzien de biologische bestrijders zelf van voedsel, in tegenstelling tot bijvoorbeeld paprika, dat pollen en nectar voor bepaalde roofmijten voorziet (Gonzalez et al., 2016). Sommige sierpepers zoals 'Black Pear' of 'Purple Flash' en het meerjarige zilverschildzaad (*Lobularia maritima*) zijn gebruikt om roofwantsen van het genus *Orius* te bevorderen. Het gebruik hiervan is echter beperkt gebleven omdat ook beschadigers die zich met pollen kunnen voeden, zoals trips, hier mee van profiteren. De complexiteit van het gebruik van dergelijke 'banker plants', die de bestrijders helpen omgaan met lage prooidensiteiten, is een rem op de grootschalige implementatie (Pijnakker et al., 2020). Naast 'banker plants', bestaan er ook 'trap plants'. De voorkeur van gewasbeschadigers voor bepaalde soorten, cultivars of groeistadia zorgt ervoor dat ze zich naar bepaalde planten richten, en andere links laten liggen. Geel bloeiende chrysanten zijn aantrekkelijker voor Californisch trips (*Frankliniella occidentalis*) dan vegetatieve. Het gebruik van deze bloeiende chrysanten verlaagt de incidentie op de vegetatieve gewasplanten. Op deze manier daalt de plaagdruk (Brownbridge et al., 2012). Supplementatie van pollen aan roofmijten is uitvoerig beschreven. Bij supplementatie blijkt de bestrijding van fytofage mijten, trips en wittevlieg succesvoller. Pollen is een eiwitrijk voedsel dat populaties van natuurlijke vijanden in leven houdt bij lage prooidensiteiten. Daarnaast kunnen ook kunstmatige prooien predatoren doen overleven. Voedermijten, eitjes van de grauwe meelmot (*Ephestia kuehniella*) en *Artemia*-cysten zijn in gebruik (Pijnakker et al., 2020). Een alternatief voor voedselsupplementatie is de mas-sakweek en herhaalde uitzetting van bestrijders. Het afwegen van de kost en haalbaarheid van het bijvoederen van de bestrijders ten opzichte van de kosten van het kweken ervan is hierbij belangrijk. (Gonzalez et al., 2016).

Voor de biologische bestrijding van ziekten in siergewassen zijn bacteriën, fungi en virussen beschikbaar. Voor de bestrijding van *Fusarium oxysporum* zijn specifieke strains van antagonistische micro-organismen uit de genera *Bacillus*, *Gliocladium*, *Pseudomonas*, *Pythium*, *Streptomyces* en *Trichoderma* voor sierteelten gecommercialiseerd. Het potentieel voor toekomstige biologische bestrijding is evenwel groot in dit gebied (Lecomte et al., 2016).

1.2.3 Kassen als omgeving voor biologische bestrijding

Al in 1734 is voor het eerst telers aangeraden om gaasvliegen (Neuroptera) in kassen in te zetten ter bestrijding van bladluizen (de Reaumur, 1734). In 1800 suggereerde Erasmus Darwin, grootvader van Charles Darwin, dat zweegvlieglarven bladluispopulaties onder controle kunnen houden (Darwin, 1800). Naar schatting 80% van de wereldwijde omzet van commerciële biologische bestrijding is toe te wijzen aan het gebruik in kasteelten (van Lenteren, 2007). De hoge mate van controle over de omgevingsparameters door het afschermen van het gewas van de buitenwereld onderscheidt een kasteelt van een volleeldsteelt

(Schumacher et al., 2006). Het doel van kasteelten is de geteelde gewassen continu in optimale omstandigheden te laten groeien. Enerzijds is de warme, vochtige omgeving met een hoge plantdensiteit ideaal voor de ontwikkeling van plagen en ziekten (Marsh, 2009; Gullino et al., 1999). Anderzijds biedt de verhoogde controle over de omgevingsparameters zoals temperatuur, lichtintensiteit en luchtvochtigheid de kans om deze variabelen op de noden van de natuurlijke vijanden af te stemmen. Een compromis vinden tussen de optimale omgevingsparameters voor de biologische bestrijders en de plantproductie is hierin de uitdaging (Jarvis, 1989).

Kasteelten zijn kapitaalsintensief, maar ook de return is hoog. De haalbaarheid van biologische bestrijding is er groter, omdat de uitgaven voor gewasbescherming relatief laag zijn ten opzichte van de totale productiekost (Parrella & Lewis, 2017). Siergewassen geteeld voor het zaad of voor verkoop als snijbloem lenen zich tot het inzetten van biologische bestrijding, omdat de esthetische waarde van de bladeren van ondergeschikt belang is (Osborne & Oetting, 1989; Parrella & Lewis, 2017).

De meest voorkomende plagen in kasteelten zijn bladluizen, trips, wittevlies en spintmijten (Knapp et al., 2020). De plaagsoorten zijn weinig divers, enerzijds door de afscherming die de constructie biedt, anderzijds doordat niet alle plaagorganismen van een gewas al mee zijn geïmporteerd. Het beperkte aantal benodigde soorten natuurlijke vijanden vergemakkelijkt de biologische bestrijding (van Lenteren, 1992). Plagen bezitten kenmerken die hen voordelen geven in kasteelten. Een typische plaagsoort is polyfaag, heeft een uitgebreide reeks waardplanten en zorgt voor meer problemen onder glas dan in het veld. Dit laatste is te wijten aan de warme, vochtige omstandigheden, de afscherming van natuurlijke vijanden (Pilkington et al., 2010) of de aanleg voor het ontwikkelen van resistentie aan veel gebruikte pesticiden door een kort generatie-interval, een hoge vruchtbaarheid of de mogelijkheid tot haplodiploïde reproductie (Bielza, 2008).

Vroege detectie en adequate cultuurtechnische maatregelen zijn van cruciaal belang om tot een succesvolle bestrijding te komen (Osborne & Oetting, 1989; Marsh, 2009). Typerend voor siergewassen is het vroegtijdig uitzetten van natuurlijke vijanden, om de plagen met korte levenscycli en een hoog reproductief potentieel een stap voor te blijven (Daughtrey & Buitenhuis, 2020). In een kasteelt foerageert een natuurlijke vijand in een dynamische omgeving. Een breed gamma aan reproductie- en gedragskenmerken is vereist om commercieel inzetbaar te zijn in een gewas onder glas (Calvo et al., 2012). Afhankelijk van het seizoen kan de voorkeur voor een natuurlijke vijand ten opzichte van een andere veranderen. Telers gebruiken de roofmijt *Amblyseius swirskii* in de zomer omdat deze beter presteert dan *Neoseiulus cucumeris* in warme omstandigheden. In de winter geven ze echter de voorkeur aan de goedkopere *N. cucumeris*, gezien de gelijkaardige prestatie van beide predatoren in koelere omstandigheden (Daughtrey & Buitenhuis, 2020).

Het gebruik van biologische bestrijding van plagen voor de sierteelt in kassen neemt toe. In 2001 gebruikte 26% van de Canadese telers minstens één biologische bestrijder. Tegen 2014 groeide dit verder tot 69% en in 2018 implementeerde al 92% van de telers natuurlijke vijanden in kassen (Daughtrey & Buitenhuis, 2020).

De voornaamste biologische bestrijdingsstrategie gebruikt voor plagen in kasteelten is deze van de vermeerdering. In beperkte mate is ook de conservatiestrategie mogelijk. Organisch materiaal, bijvoorbeeld oogstresten, takken of rottend hout, aanbrengen langs de wanden van de kas vergroot de populaties van natuurlijke vijanden (Xu et al., 2008).

De internationale handel van stekken en planten zorgt voor een verspreiding van plagen en ziekten (Osborne & Oetting, 1989; Marsh, 2009). De voornaamste uitdagingen voor verdere implementatie van biologische bestrijding zijn de perceptie van de telers, de kost en de praktische haalbaarheid. Bij menig teler leeft de gedachte dat biologische bestrijding te duur is. Vorming kan een manier zijn om hen te overtuigen van het omgekeerde. Telers geven namelijk aan biologische boven chemische bestrijding te verkiezen als hun winstmarge er niet door wijzigt (Marsh, 2009). Schumacher et al. (2006) toonden met een bio-economisch model aan dat bij een verlaagde frequentie van toepassing van chemische middelen in combinatie met de introductie van predatoren een optimale winst gegarandeerd kan blijven. Hierbij hoeft de teelt niet aan esthetische kwaliteit in te boeten. Bio-economische modellen zijn evenwel niet in staat om de niet-kwantificeerbare voordelen van biologische bestrijding in rekening te brengen.

Het combineren van biologische en chemische bestrijding in kassen binnen een context van IPM vereist informatie over de toxiciteit van chemische middelen om de neveneffecten naar de natuurlijke vijanden toe te minimaliseren. Zo kunnen insecticiden niet enkel voor de plaag schadelijk zijn, maar ook voor de biologische bestrijder. Over fungiciden zijn minder gegevens beschikbaar, al suggereren studies toch nadelige effecten van sommige fungiciden op biologische bestrijders (Yardim & Edwards, 1998; Youn et al., 2003). Gradish et al. (2011) onderzochten het effect van residuen van nieuwe, laagrisico-insecticiden op adulte *O. insidiosus*, *A. swirskii* en *E. eremicus* in kasteelten. Daaruit blijkt een veilige toepassing voor of tijdens het uitzetten mogelijk te zijn. Dergelijke middelen met nieuwe werkingsmechanismen en een lage residuele toxiciteit zijn veelbelovend voor IPM programma's.

Naast het onderdrukken van plagen is het beheersen van ziekten in kasteelten een uitdaging. De verliezen in de sierteelt door ziekten lopen naar schatting op tot 10 miljard dollar. De biologische bestrijding van ziekten hinkt evenwel achterop ten opzichte van het inzetten van nuttige insecten en mijten tegen plagen (Daughtrey & Buitenhuis, 2020). Paulitz en Belanger (2001) sommen de belangrijkste redenen op die van een kas een uitdagende omgeving maken voor ziektebestrijding. Ten eerste is het onmogelijk om pathogenen volledig te weren. Sporen komen binnen via ramen of deuren, bodempathogenen via stof of gecontamineerde grond op schoenen of gereedschap. Ook besmette zaden of stekken en insectvectoren zijn een bron van pathogenen. Daarnaast zijn de warme, vochtige omstandigheden ideaal voor de ontwikkeling van bladziekten zoals *Botrytis* en echte meeldauw. Daarenboven is de microbiële diversiteit in het substraat, zeker na sterilisatie, gereduceerd. In dit biologische vacuüm gedijen bodempathogenen zoals *Pythium* en *Rhizoctonia* goed. Tenslotte is in een systeem van gesloten recirculatie een volledige ontsmetting van belang om de verspreiding van zoösporen te vermijden. Voor een efficiënte bestrijding dient de actieve component op de plaats van inwerking te zijn vóór infectie door de pathogeen. Tot nu toe richtte het onderzoek naar biologische bestrijding van ziekten zich op

pathogenen waarvoor chemische bestrijding onvoldoende effect had. Breder onderzoek is in de toekomst nodig (Daughtrey & Buitenhuis, 2020).

1.3 Mieren als biologische bestrijders

1.3.1 Wat maakt mieren aantrekkelijk?

Mieren zijn algemene predatoren van een brede waaier aan organismen, wat hen interessant maakt als biologische bestrijders (Symondson et al., 2002; Ramos et al., 2012). Voornamelijk in de tropen zijn ze in groten getale aanwezig, maar ook daarbuiten vertolken ze een onmiskenbare ecologische rol (Perfecto, 1991; Way & Khoo, 1992). Naar schatting omvatten ze minstens een derde van de biomassa aan insecten, wat elke positieve interactie potentieel interessant maakt. Volgende kenmerken onderscheiden hen van andere predatoren (Offenberg, 2015). Mieren kunnen hun koloniegenoten opvorderen om samen prooien te lijf te gaan en zo snel in te spelen op hoge prooidensiteiten. Ze zijn polyfaag en coöperatief. De werksters zijn polymorf, waardoor de kleinste bijvoorbeeld eieren kunnen aanvallen en de grotere de omvangrijkere prooien. Het territoriale gedrag van mieren zorgt voor een afschrikkeffect op organismen vele malen groter dan henzelf. De savanneolifant (*Loxodonta africana*) vermijdt het eten van acaciabladeren, omdat de boom in symbiose leeft met mieren. Mieren leggen niet alleen broed aan om zich te vermenigvuldigen, maar kunnen dit kannibaliseren bij een tekort aan voedsel om te overleven (Nonacs, 1991). Het teveel aan voedsel dat ze verkrijgen zullen ze aanleggen als voorraad in de vorm van trofische eieren of broed. Dit zorgt ervoor dat ze zelfs na lange blootstelling aan hoge prooidensiteiten zullen blijven jagen. Naast de predatie-eigenschappen kunnen mieren nog andere ecosysteemdiensten voorzien in landbouwcontext. Mieren kunnen zorgen voor bestuiving, een verbetering van de bodemstructuur en een verhoging van de nutriëntengehalten in bodems (Choate & Drummond, 2011). In rijstvelden is geobserveerd hoe mieren zaden van onkruiden kunnen verwijderen (Carroll & Risch, 1984). De individuen zijn georganiseerd als 'superorganisme' (Wheeler, 1911; Hölldobler & Wilson, 1990; Beilhe et al., 2018). Bij de beschouwing van mieren als biologische bestrijders in het veld betreft het steeds de volledige kolonie (Perfecto & Castiñeiras, 1998). De levensverwachting van een kolonie, tot meer dan tien jaar, overtreft doorgaans deze van andere invertebraten (Hölldobler & Wilson, 1990).

Mieren kunnen een mutualistische band aangaan met planten. Ze beschermen de planten tegen herbivoren in ruil voor bescherming, voedsel of nestplaatsen (Dejean et al., 2008). De richting waarin mieren foerageren is manipuleerbaar door artificieel voedsel te verschaffen. Planten met extraflorale nectarklieren produceren een complexe oplossing van suikers en aminozuren. Suikerbronnen aanbrengen zoals planten met extraflorale nectarklieren, gemalen suikerriet of artificiële suikerwaterverdelers, maakt het aantrekken van mieren naar een deel van een gewas mogelijk (Leston, 1973; Schifani et al., 2020). De beschermende rol die mieren voor planten vervullen kan via predatie of via secretie van componenten die fytofage organismen afweren. De afweermechanismen die mieren bezitten zijn gebaseerd op secreties uit gespecialiseerde klieren op de kop, de poten of het abdomen. Zo is de secretie van antibiotica om plantpathogene micro-organismen af te weren beschreven (Billen

& Morgan, 1997). Daarnaast zijn moleculen geïdentificeerd als alarmferomoon, of dienen ze in de sociale organisatie van een kolonie of ter herkenning van koloniegenoten. Een vijand afweren kan via een chemisch of visueel signaal. De aanwezigheid van feromonen die door mieren zijn uitgescheiden kan volstaan om indringers te weren (Diamé et al., 2018).

De mutualistische band die sommige mierensoorten aangaan met honingdauw producerende Hemiptera geeft hen een slechte naam als biologische bestrijders. Honingdauw is een vloeistof die suiker, aminozuren en water bevat, onttrokken uit het floëem van planten waar veel Hemiptera zich mee voeden. Planten ondervinden hiervan schade. Mieren beschermen de Hemiptera tegen predatoren en parasitoïden in ruil voor honingdauw, aangezien het voor hen een verzekerde bron van voedsel is (Way, 1963).

In bepaalde gevallen binnen een context van biologische bestrijding betekent de aanwezigheid van mieren dat de efficiëntie van bestrijding door andere bestrijders achteruitgaat. De aanwezigheid van mieren verlaagt het parasitisme van sluipwespen door hen te verjagen tijdens de ovipositie (Itioka & Inoue, 1996). Spinnen zijn predatoren van bepaalde plaagsoorten, maar komen minder voor in aanwezigheid van mieren (Vandermeer et al., 2002). Daarnaast kunnen mieren prederen op eieren geparasiteerd door *Trichogramma* spp. (Kergunteuil et al., 2013). De aanwezigheid van mieren kan ook onrechtstreeks de bestrijding verminderen. In normale omstandigheden predeert de dwergvuurmier (*Wasmannia auropunctata*) op bladmineerders. In bepaalde gebieden is een positieve correlatie geobserveerd tussen de populaties aan mieren en bladmineerders. Dit viel te verklaren door het afstotende effect van mieren op de lokale hagedissen, die gebieden met deze agressieve mierensoort mijden en zodoende niet prederen op de bladmineerders (Perfecto et al., 2021).

In de fruitteelt bemoeilijken mieren de oogst door fysieke overlast, bijvoorbeeld door werknemers te bijten. De secretie van mierenzuur zorgt er dan weer voor dat vruchten een minder aantrekkelijk uitzicht krijgen (Choate & Drummond, 2011).

Tenslotte voeden sommige mieren zich onrechtstreeks met planten. Bladsnijmieren behoren tot de genera *Atta* en *Acromyrmex*. Deze mierensoorten versnijden bladeren die ze naar hun nest brengen en daar aan schimmels behorend tot de basidiomyceten aanbieden. De mieren voeden zich op de schimmels, een vorm van landbouw van wel 50 miljoen jaar oud (Schultz & Brady, 2008). In Argentinië is *Acromyrmex lundii* één van de hardnekkigste plagen in sierteelten. Populaties met chemische middelen beheersen gaat moeizaam, omdat ze ook de natuurlijke vijanden van de mieren treffen en het moeilijk is om de koningin te bereiken (Folgarait et al., 2011).

Mieren bezitten een onmiskenbaar potentieel als biologische bestrijders. Om ongewilde interacties te vermijden dient een onderscheid van de eigenschappen op soortniveau te gebeuren. Het bewijs van dit potentieel is de wevermier (*Oecophylla smaragdina*), die al in het oude China van 304 v.C. ingezet werd om citrusboomgaarden te beschermen (Huang & Yang, 1987). Vandaag de dag komen twee soorten wevermieren voor in de natuur: *Oecophylla longinoda* in Sub-Sahara-Afrika en *Oecophylla smaragdina* in Zuidoost-Azië en Australië (Way, 1954; Way & Khoo, 1992; Van Mele, 2007; Diamé et al., 2018). *Oecophylla longinoda* is het hele jaar door actief en vormt nesten in minstens 76 soorten bomen en

struiken (Varela, 1992; Way & Khoo, 1992). Een kolonie kan tot 1600 m² inpalmen en daarbij een miljoen werkers en broed tellen. Het zijn agressieve predatoren die intensief foerageren in het gebied dat ze bezetten. Ze doden een brede waaier aan insecten om zich te voeden (Way & Khoo, 1992). Om tot bestrijding van plagen te komen is een aangepast beheer nodig om de populatieniveaus van wevermieren boven de natuurlijke te laten uitkomen. Simpele, goedkope technieken om dit te doen zijn: (i) het beperken van pesticidengebruik, (ii) het verplaatsen van kolonies naar boomgaarden, (iii) het voorzien van verbindingen tussen bomen om verplaatsingen mogelijk te maken, (iv) het snoeien van bomen om de concurrentie tussen kolonies te minimaliseren, (v) het supplementeren van voedsel (suiker, water en eiwitten) gedurende bepaalde perioden van het jaar en (vi) het voorzien van kunstmatige nestplaatsen (Offenberg, 2015). *O. longinoda* beheerst plagen en ziekten zowel direct als indirect. In de directe vorm predeert ze op plagen of neutraliseert ze pathogenen met antibiotica. In de indirecte vorm verjagen ze schadelijke insecten met feromonen, zo weren ze onder andere fruitvliegen (Offenberg, 2007). Wevermieren inzetten is niet risicool voor landbouwers. Ze kunnen Hemiptera beschermen, al is de schade die deze aanrichten op teelten zoals mango klein. De personen die de oogst uitvoeren krijgen te maken met bijtende mieren. Deze overlast beperken kan door langere stokken te gebruiken om mee te oogsten, beschermend materiaal te dragen (vb. handschoenen), as op de handen aanbrengen of te oogsten op het koudste of warmste moment van de dag (Van Mele et al., 2009). Desalniettemin wegen de nadelen niet op tegen de voordelen. Vietnamese telers van citrusvruchten die deze wevermieren inzetten spenderen de helft minder aan chemische gewasbeschermingsmiddelen dan telers die geen *O. smaragdina* in hun boomgaard herbergen, zonder in te boeten aan opbrengst. In Australië zijn wevermieren in staat om alle plagen van cashewbomen te controleren, wat de winst voor de landbouwer met 35% vergroot (Van Mele, 2007).

1.3.2 Potentieel van *Crematogaster scutellaris*

De mierensoort *Crematogaster scutellaris* (Olivier) (NL: rode schorpioenmier, EN: acrobat ant) is in 1792 voor het eerst beschreven (Olivier, 1792). Binnen de Formicidae (mieren) behoort de soort tot de subfamilie van de Myrmicinae, genus *Crematogaster* (Blaimer, 2012). De soort is abundant in het Middellandse Zeegebied, van halverwege Frankrijk, langs Oost-Europa, over het Midden-Oosten tot in Noord-Afrika (Bernard, 1968). Na onvrijwillige import zijn uitzonderlijk kolonies teruggevonden in Nederland en Duitsland, maar deze breiden zich nooit uit (Boer & Vierbergen, 2008).

Op figuur 2 is de morfologie van *C. scutellaris* te zien. Werksters zijn 3,5-5,2 mm groot met een bruinrode kop en vaak ook een bruinrode prothorax. De rest van het lichaam is donkerbruin of zwart. De koningin is 8-9,5 mm groot met bruinrode mandibels, de rest van het lichaam is donkerbruin. Mannetjes zijn 3-3,5 mm groot en volledig donkerbruin (Bernard, 1968). De larven zijn wit tot lichtgeel, subcilindrisch en weinig behaard. Er zijn drie larvale stadia tussen het eistadium en het popstadium (Casevitz-Weulersse, 1983).

Kolonies zijn actief tussen 7 en 44°C, met een optimum bij 25°C. Bij temperaturen lager dan 7°C gaan kolonies in diapauze, 45°C is de letale temperatuur waarbij de helft van de



Figuur 2: Morfologie van *C. scutellaris*. Bovenaan is een werkster te zien, onderaan een koningin. Bron: Kukla (2018)

werksters sterft (Soulié, 1956a; Arnan & Blüthgen, 2015). Observaties van de soort gaan van 1200 meter boven zeeniveau in Zuid-Frankrijk tot 2000 meter meer naar het zuiden toe (Bernard, 1968). In de maanden augustus tot oktober vliegen de nieuwe koninginnen uit (Casevitz-Weulersse, 1972; Ant Flights, 2021). Kolonies vertonen een grote genetische segregatie, wat erop wijst dat koninginnen lange afstanden afleggen. Naburige kolonies kunnen genetisch erg verschillen doordat koninginnen uit verschillende richtingen aanvliegen (Frizzi et al., 2015). Na de bruidsvlucht scheurt het bevruchte vrouwtje haar eigen vleugels af en gaat ze op zoek naar een geschikte nestplaats (Casevitz-Weulersse, 1979). Een nest van *C. scutellaris* is typisch terug te vinden in hout. Van de meer dan honderd nesten die Soulié (1956b) onderzocht, was slechts één niet terug te vinden in hout. *C. scutellaris* bewerkt alleen afgetakeld, zacht hout. Ze hebben een voorkeur voor bestaande gangen die door andere insecten (voornamelijk xylofage Coleoptera) zijn gegraven om een nest in te beginnen (Soulié, 1956b; Casevitz-Weulersse, 1972). Soulié (1965) en Casevitz-Weulersse (1972) onderscheiden vier soorten nesten. In een eerste geval nestelt *C. scutellaris* zich in een levende boom in goede staat, waarbij de werksters een beperkt aantal gaten boren in de schors als in- en uitgangen. De nesten liggen ondiep, opdat hars niet in de gangen zou vloeien, waardoor ze tot 1 m² in oppervlakte kunnen innemen. Deze nesten zijn in *Pinus*-soorten en de kurkeik (*Quercus suber*) terug te vinden, aangezien deze een zachte schors hebben. De voorkeur gaat uit naar grotere bomen, omdat die meestal ouder zijn en na verloop van tijd holten ontwikkelen met zacht, dood hout dat makkelijk uit te graven is (Santini et al., 2011). Het vaakst zijn nesten van het tweede type te zien. Daarbij is de kolonie geïnstalleerd in een levende boom, dewelke in slechte staat verkeert. De diepte van het nest is afhankelijk van de staat van de boom en de ouderdom van de kolonie. De werksters graven verbindingen tussen bestaande kamers, achtergelaten door xylofage Coleoptera. Ten derde zijn nesten in dood en droog hout gezien. Deze zijn zowel in onbewerkt of bewerkt hout geobserveerd, zowel in de natuur als in de balken van huizen. Bij dit type nest graven de werksters zelf de gangen. In enkele gevallen zijn nesten teruggevonden in een hoop stenen, waarin de naalden van coniferen en zelfgemaakt karton de kamers begrenzen, of in een verdroogde kegel van *Pinus pinea* waar een kleine kolonie had plaatsgenomen. *C. scutellaris* vertoont een hoge mate van flexibiliteit als het aankomt op het bouwen van

zijn nest. Kolonies houden in artificiële nesten en onder laboratoriumomstandigheden is mogelijk (Casevitz-Weulersse, 1972).

Bij *C. scutellaris* zijn monogynie en monoandrie de norm, voorkomend in respectievelijk 90% en 95% van de gevallen (Frizzi et al., 2015; Masoni et al., 2019). Doorgaans sticht elke koningin een eigen nest, maar bij een tekort aan nestplaatsen kunnen meerdere koninginnen aan pleometrose doen, het samenkruijen in een nest (Masoni et al., 2018). Een kolonie kan tientallen jaren leven in de natuur (López-Sebastian et al., 2004). *C. scutellaris* is polydroom. Een kolonie heeft naast een hoofdnest vaak meerdere satellietnesten in de nabijheid van voedselbronnen. De verschillende nesten van verschillende kolonies zijn in de ruimte georganiseerd in clusters. Binnen een cluster zijn twee mieren van verschillende nesten minder agressief tegen mekaar dan twee mieren van verschillende clusters (Santini et al., 2011; Frizzi et al., 2015). Het agressieve gedrag van *C. scutellaris* varieert aanzienlijk, en is mogelijk gestuurd door meerdere mechanismen zoals in andere mierensoorten (Frizzi et al., 2015). Er is aangetoond hoe de beschikbaarheid van nutriënten (Grover et al., 2007), ervaringen uit voorgaande gevechten (Ravary et al., 2007; van Wilgenburg et al., 2009), de morfologie en de rolverdeling van een werkster binnen de kolonie (Parmentier et al., 2015), de productiviteit van een kolonie (Modlmeier & Foitzik, 2011) en de aanwezigheid van een koningin (Vander Meer & Alonso, 2002) de agressiviteit binnenin en tussen kolonies sturen.

Twee theorieën trachten de agressie tussen twee aangrenzende kolonies te verklaren. Er is de 'liefste vijand' verklaring, waarbij naburige kolonies elkaar met rust laten om de energetische kost van gevechten te beperken en de 'vervelende buurman' verklaring, waarbij naburige kolonies elkaar bekampen om de nutriënten in hun gedeelde leefomgeving (Frizzi et al., 2014). Vooral de 'vervelende buurman' uitleg is aannemelijk, blijkt uit agressiviteitstesten (Frizzi et al., 2015).

De herkenning tussen mieren is gebaseerd op chemische componenten, die ze via fysiek contact of trophallaxis aan elkaar kunnen doorgeven. Cuticulaire koolwaterstoffen (CK) spelen een belangrijke rol bij de herkenning van koloniegenoten (Bonavita-Cougourdan et al., 1987; Lahav et al., 1999; Frizzi et al., 2015). Deze CK zijn divers en komen bij veel insecten voor. Ze zorgen naast herkenning ook voor een waterafstotend effect en beschermen het insect tegen uitdroging (Blomquist & Bagnères, 2010). Onder selectiedruk kan de samenstelling aan verschillende CK, in tegenstelling tot andere biosynthese pathways, snel veranderen (Menzel et al., 2017). De CK van *C. scutellaris* bestaan uit ongeveer 35 verschillende alkanen met ketenlengtes tussen de C21 en C35 (Menzel et al., 2010). *C. scutellaris* kan een variatie tot op het niveau van één enkel verschil in CK detecteren om te bepalen of een mier al dan niet van dezelfde kolonie afkomstig is (Frizzi et al., 2015). Parallel aan de chemische communicatie is stridulatie aangetoond. Stridulatie is het schrapen van twee gesclerotiseerde lichaamsdelen tegen mekaar om vibraties te produceren. Bij het uitvoeren van verschillende taken produceren werksters verschillende types vibraties tussen de 250-4000 Hz. Deze vibroakoestische signalen vormen een flexibel communicatiekanaal, even relevant als de chemische communicatie (Masoni et al., 2021).

Om zich te verdedigen berust *C. scutellaris* zowel op gedragsresponsen als abdominale secreties. Geobserveerde gedragsresponsen zijn het grijpen van de vijand, het optillen van het gaster waarbij de punt van het gaster naar het lichaam van de aanvaller is gericht of het

maken van een U-bocht. Dit optillen van het gaster is een gedeelde karakteristiek bij alle mieren van het genus *Crematogaster*. Dit gedrag is te zien in figuur 3. De productie van secreties vraagt een samenwerking tussen de gif- en de Dufourklier (Marlier et al., 2004). Deze laatste produceert moleculen gekarakteriseerd door een (E,E)-transgeconjungeerde dienone binding verbonden met een primaire acetaatfunctie. Bij het naar buiten treden geven twee esterases uit de gifklier het gif een elektrofiel karakter, wat van deze componenten een krachtig contactgif maakt (Daloze et al., 1987; Pasteels et al., 1989; Daloze et al., 1991). Azijnzuur, gevormd tijdens de productie van het gif, heeft een functie als alarmferomoon (Pasteels et al., 1989). In tegenstelling tot primitievere mieren die hun gif injecteren, brengt *C. scutellaris* het gif aan op het integument van aanvallende insecten (Daloze et al., 1991; Marlier et al., 2004). Het gif is toxisch voor andere insecten, waaronder andere mieren, al varieert de toxiciteit naargelang de doelsoort (Daloze et al., 1987; Marlier et al., 2004). *C. scutellaris* is selectief in het gebruik van dit gif. Het optillen van het gaster leidt in slechts 10-30% van de ontmoetingen met andere mieren tot secretie van gif. Het gif dient niet om prooien mee te vangen, aangezien de vijand pas na enkele uren toxische gevolgen ondervindt. Het gif is eerder bedoeld als afschrikmiddel (Marlier et al., 2004). Schatz en Hossaert-McKey (2003) observeerden hoe de aanwezigheid van andere mieren negatief gecorreleerd is met het aantal werksters van *C. scutellaris*, net omwille van het afstotende effect van deze secreties en hun agressieve gedrag. Naast insecticidale activiteit is ook antimicrobiële en antifungale werkzaamheid van de kliersecreties aangetoond. De hypothese is dat deze volatiele componenten dienen om de nestomgeving te ontsmetten (Perito et al., 2018).



Figuur 3: Typisch gedrag ter verdediging van *C. scutellaris*: het optillen van het gaster waarna een druppel gifsecretie tevoorschijn komt. Onderaan is het broed van de soort te zien. Bron: Gritche (2020).

C. scutellaris bezit eigenschappen die interessant zijn voor het gebruik als biologische bestrijder (Frizzi et al., 2020). Op macroscopisch niveau is bewezen dat predatie door mieren afneemt met een toenemende hoogte boven zeeniveau en de lengtegraad, dat laatste

geeft *C. scutellaris* een voordeel ten opzichte van de mierensoorten die van nature in België voorkomen (Jeanne, 1979; Camacho & Avilés, 2019). De mierensoort is een van de meest competitieve en dominante binnen de mierengemeenschappen rond het Mediterraanse Zeegebied (Bernard, 1968; Frizzi et al., 2016; Giannetti et al., 2021). De relatief kleine werksters compenseren voor hun grootte door het aantal individuen dat een prooi aanvalt (Blaise et al., 2021). Ze bijten of gebruiken hun gif tegen eenieder die hun nest opent (Bernard, 1968). Het is bekend dat *C. scutellaris* de verspreiding van invasieve mieren, een belangrijke bedreiging voor autochtone mieren, vertraagt of tegengaat (Frizzi et al., 2009). De soort voedt zich voornamelijk met de honingdauw van blad- en schildluizen of met levende insecten (Bernard, 1968; Redolfi et al., 1999). Predatie van eitjes van de dennenprocessierups (*Thaumetopoea pityocampa*) door *C. scutellaris* bedraagt gemiddeld 27,5%, maar zonder een speciale interesse of aantrekking tot de eitjes te vertonen (López-Sebastian et al., 2004). De bruingemarmerde stinkwants *Halyomorpha halys* is een invasieve exoot in Italië, waar bestrijding met de inheemse *C. scutellaris* een langetermijnoptie is. Op alle pre-imago stadia behalve de eitjes is in laboratoriumomstandigheden een significant predatie-effect te zien. De daling in overlevingspercentage ligt tussen 95 en 85 % voor het eerste en tweede larvale stadium en tussen 38 en 52% voor het derde, vierde en vijfde larvale stadium. Dit suggereert een potentieel succesvolle bestrijding indien gecombineerd met andere strategieën (Castracani et al., 2017).

Zoals andere mierensoorten leeft ook *C. scutellaris* in mutualisme met blad- en schildluizen. Recent is aangetoond hoe de werksters bladluizen naar het nest transporteren en herbergen in kamers voorbehouden voor de bladluizen. De reden hiervoor is nog onbekend (Giannetti et al., 2021). De voedselvoorkeur van *C. scutellaris* varieert in functie van het seizoen. Frizzi et al. (2016) onderzochten de acceptatie van oplopende concentraties aan koolhydraten en eiwitten in de lente en de zomer. In de lente gaat de voorkeur uit naar de bron met de hoogste concentratie aan sucrose en is er weinig behoefte aan extra eiwitten. Tijdens de zomer is elke bron van koolhydraten of eiwitten gegeerd, ongeacht de concentratie. Dit reflecteert enerzijds de schaarste aan ongewervelde prooien en de nood aan water tijdens de zomer in het Middellandse Zeegebied. Schildluizen komen twaalf keer vaker voor op bomen waar een nest van *C. scutellaris* aanwezig is dan wanneer dit niet het geval is. Zelfs in kolonies die drie dagen lang voldoende koolhydraten en een tekort aan eiwitten hebben, stappen de mieren niet over van bescherming naar predatie, een fenomeen dat bij andere soorten wel geobserveerd is. Waarschijnlijk is voor deze omschakeling meer tijd nodig. Desondanks zorgt de aanwezigheid van *C. scutellaris* ervoor dat schadelijkere insecten dan de schildluizen wegblijven, zoals de olijfmot (*Prays oleae*) en in mindere mate ook de olijfvlieg (*Bactrocera oleae*) (Frizzi et al., 2020). Op de witte paardenkastanje (*Aesculus hippocastanum*) is geobserveerd hoe jagende werksters de mineergangen van de paardenkastanjemineermot (*Cameraria ohridella*) kunnen openen om de larven en poppen te verwijderen. Hier is het effect opnieuw beperkt tot de bomen gekoloniseerd door *C. scutellaris* (Radeghieri, 2004).

1.4 Bestudeerde organismen

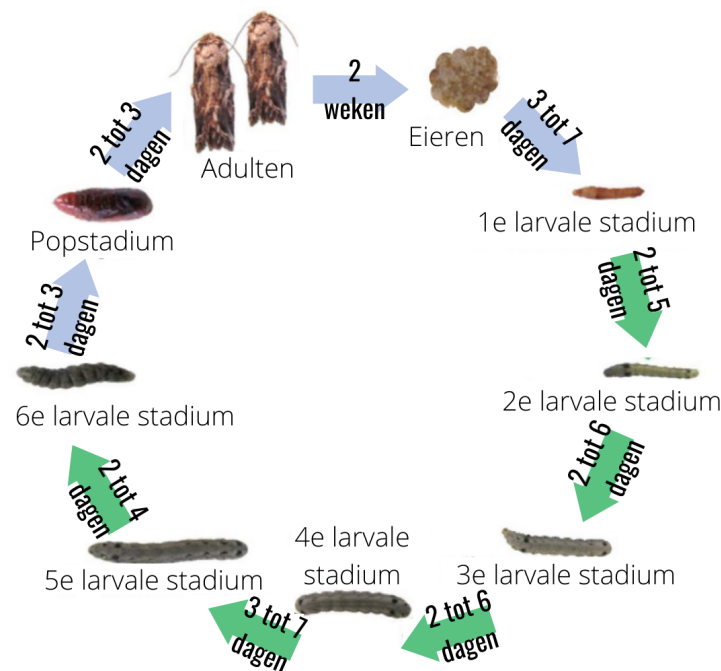
1.4.1 De katoenuil *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833)

De katoenuil of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) is een polyfage plaagsoort die in de larvale stadia schade aanricht op groenten en siergewassen. De soort is door EPPO (European Plant Protection Organisation) aangeduid als A2 quarantaine plaag, d.w.z. een plaag die reeds aanwezig is in het gebied. *S. littoralis* is inheems in het Middellandse Zeegebied, Afrika en het Midden-Oosten (EPPO, 2021). Het is ook in dit gebied dat deze soort voorlopig de grootste schade aanricht. Verdere verspreiding vormt een risico op de introductie in kassen doorheen Europa (CABI, 2020). In het verleden is de soort meermaals geïmporteerd en verspreid via chrysanten waarop eipakketjes aanwezig waren (Baker & Miller, 1974; Kimber, 2011; CABI, 2020). Om dit te vermijden, verblijven geïmporteerde chrysanten in het Verenigd Koninkrijk minimum tien dagen bij 1-2°C (Miller, 1976). *S. littoralis* is extreem polyfaag en kan op minstens 112 plantensoorten uit 44 families schade aanrichten (Salama et al., 1971).

De levenscyclus is weergegeven in figuur 4. Adulte vrouwtjes leggen de eieren aan de onderzijde van jonge bladeren. De jonge larven kunnen zich naast de bladeren ook voeden met de stengels, knoppen, bloemen en vruchten (Noma et al., 2010). De kwaliteit van het bladmateriaal is van belang voor de ontwikkeling van de larven (Adham et al., 2009). De larven voeden zich in het donker, tenzij ze uitgehongerd zijn (Baker & Miller, 1974). De voornaamste parameters van belang voor de ontwikkeling van de larven zijn de plantensoort waarop ze zich voeden en de temperatuur (Baker & Miller, 1974). De plantensoort beïnvloedt de groei, larvale ontwikkeling, levensduur van de adulten en vruchtbaarheid (Salama et al., 1971; Mohamed et al., 2019). von Mérey et al. (2013) toonden aan dat herbivoor-geïnduceerde volatiele organische componenten uitgestuurd door maïsplanten de larven lokken. De minimale constante temperatuur voor een normale ontwikkeling is 13°C (Miller, 1977). Eens volgroeid graven de larven zich drie tot vijf centimeter diep in de grond om te verpoppen (CABI, 2020). Adulten leven vijf tot tien dagen en kunnen anderhalve kilometer ver vliegen per nacht (Salama & Shoukry, 2009a). Tot zeven generaties per jaar zijn geobserveerd in Egypte (Noma et al., 2010).

Het bestrijden van *S. littoralis* in het kader van IPM kan op drie manieren: biologisch, chemisch en mechanisch (CABI, 2020). In de periode 1980-2000 zijn door het Egyptische ministerie van Landbouw kinderen ingezet om elke drie dagen de eieren van *S. littoralis* met de hand te verzamelen en te vernietigen (Campion & Hosny, 1987). Human Rights Watch (2001) stelde dat "Meer dan één miljoen kinderen uit rurale gebieden jaarlijks ingezet worden van mei tot juli [...] om haarden van de katoenuil te beheersen", en dit in "erbarmelijke omstandigheden".

Chemische bestrijding van *S. littoralis* is uitvoerig gerapporteerd (Abo-el-Ghar et al., 1986; Bayoumi et al., 1998; Aydin & Gürkan, 2006; Korrat et al., 2012; Mokbel et al., 2017). Het is nog steeds de voornaamste controlemethode (Miranda-Fuentes et al., 2019). Chemische middelen zorgen voor een selectiedruk wanneer individuen de toepassing kunnen overleven. *S. littoralis* is onder meer resistent aan organofosfaten, carbamaten en pyrethroïden



Figuur 4: Levenscyclus van *Spodoptera littoralis*. Aangepast van Chen et al. (2016).

(El-Zemaity et al., 2003). De snelheid van de resistentieontwikkeling is afhankelijk van factoren zoals de genfrequentie (het aantal keer dat een allel dat resistentie veroorzaakt in de populatie voorkomt), de aard van de resistentiegenen en de relatieve fitness van resistente individuen. Afwisseling of vermengen van actieve stoffen kan de ontwikkeling van resistentie vertragen (Aydin & Gürkan, 2006).

Door resistentieontwikkeling blijft *S. littoralis* economische schade aanrichten, wat ervoor zorgt dat er zich nieuwe, effectieve methoden opdringen (Hazaa et al., 2019). De biologische bestrijding van *S. littoralis* maakt gebruik van predatoren, parasitoïden en pathogenen (bacteriën, fungi en virussen). Een waaier aan soorten predeert op *S. littoralis*. De spin *Chiracanthium mildei* veroorzaakt directe mortaliteit via predatie op de larven. Als gevolg hiervan verspreiden de larven zich in alle richtingen en hangen ze met een zelf gesponnen draad aan het blad, met indirecte mortaliteit tot gevolg (Mansour et al., 1981). Lieveheersbeestjes prederen op eieren en jonge larven van *S. littoralis* (CABI, 2020). Talrijke andere predatoren zijn verder beschreven (CABI, 2020). Naast predatoren zijn ook parasitoïden zoals *Spodophagus lepidopterae* (Delvare & Rasplus, 1994) en *Hyposoter didymator* (Miranda-Fuentes et al., 2019) gerapporteerd. Hegazi et al. (1977) vonden vijf soorten parasitoïden van *S. littoralis* in katoenvelden.

Een volgende resem biologische bestrijders van *S. littoralis* bestaat uit fungi, nematoden, bacteriën en virussen.

Entomopathogene fungi kunnen alle larvale stadia en het popstadium infecteren en zijn niet toxisch voor mensen. Ze hebben de mogelijkheid om de gastheer te infecteren via de cuticula, wat hen het voordeel geeft niet uitsluitend via inname actief te zijn (Hallsworth &

Magan, 1999). Toxiciteit van *Metarhizium anisopliae* (Quesada-Moraga et al., 2006), *Isaria fumosorosea* (Zemek et al., 2012) en *Beauveria bassiana* (El-Hawary & Abd, 2009) op larven van *S. littoralis* is aangetoond. Entomopathogene nematoden behoren tot de genera *Steinernema* en *Heterorhabditis* (Orozco et al., 2014). Ze leven in symbiose met toxineproducerende bacteriën zoals *Photorhabdus* en *Xenorhabdus*. Na het binnendringen via natuurlijke openingen of de cuticula groeien ze in de hemolymfe van het insect, dat na 24-72 uur sterft (Ehlers, 2001). Het gebruik van entomopathogene nematoden is onschadelijk voor de mens, landbouwdieren of nuttige insecten (van Zyl & Malan, 2014).

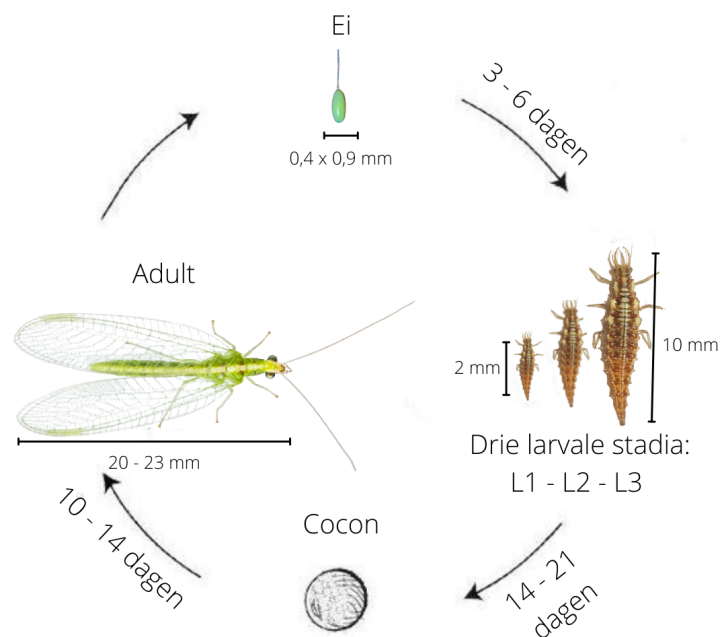
Salama et al. (2009b) onderzochten in laboratoriumomstandigheden het effect van met *Bacillus thuringiensis* behandelde larven van *S. littoralis* op predatoren en parasitoïden. De parasiet *Microplitis demolitor* vertoonde een verlaagd percentage uitgekomen eieren en een verlaagde vruchtbaarheid terwijl de predatoren *Chrysoperla carnea* en *Coccinella undecimpunctata* negatieve effecten ondervonden op vlak van voedselinname en de duur van de larvale ontwikkeling. Daarnaast zijn combinaties van biologische bestrijders in de literatuur beschreven. Het doel hiervan is een hogere graad van bestrijding te behalen. De combinaties zijn: nematoden en fungi (Shairra & Noah, 2014; Shaurub et al., 2016), parasitoïden en fungi (Miranda-Fuentes et al., 2019), parasitoïden en bacteriën (Sneh et al., 2009), bacteriën en fungi (Shaurub et al., 2016), bacteriën met ander bacteriën (Benfarhat-Touzri et al., 2014) en bacteriën met virussen (Salama et al., 1987). Een laatste categorie biologische bestrijders zijn de virussen. Virussen zijn specifiek, hetgeen een voor- of nadeel kan zijn. De trage werking is het voornaamste nadeel (Khan & Ahmad, 2015).

Tenslotte zijn er controlemethoden gebaseerd op feromonen. De verspreiding van een spoor aan vrouwelijke feromonen kan de mannetjes verwarren (Eng.: Mating disruption) zodat ze de vrouwtjes niet meer vinden om mee te paren (Kehat et al., 1983; Rama et al., 2009). Daarnaast kunnen feromonen mannetjes lokken. Het doel hiervan kan de massavangst zijn (Eng. Mass trapping) of het monitoren van de plaagdruk om de toepassing van pesticiden gericht te kunnen uitvoeren (Salem & Salama, 2009). Een feromoonval kan in combinatie met een pesticide ook dienen om *S. littoralis* te bestrijden (Eng. Lure and kill) (De Souza et al., 1992).

1.4.2 De groene gaasvlieg *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836)

De groene gaasvlieg *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) is de verzamelnaam voor een groep van meer dan twintig morfologisch nagenoeg identieke species met een holarctische verspreiding. De enige manieren om de species van elkaar te onderscheiden zijn het karakteristiek, vibrationeel baltslied en DNA-analyse (Henry, 1983; Lourenço et al., 2006; Price et al., 2015; Henry et al., 2019). Vier kenmerken zorgen ervoor dat de soort interessant is voor inundatieve biologische bestrijding. *C. carnea* is wijdverspreid, extreem polyfaag, compatibel met chemische pesticiden en eenvoudig in massa te kweken (Ridgway et al., 1970; Ridgway & Murphy, 1984; Obrycki et al., 1989; Uddin et al., 2005).

De levenscyclus van *C. carnea* is in figuur 5 te zien. Adulten zijn 23-30 mm lang, slank en lichtgroen gekleurd. Ze hebben goudkleurige ogen en fijn geaderde, doorzichtige vleugels (van Schelt & van Rijn, 2007). Ze prederen niet en voeden zich met pollen en honingdauw



Figuur 5: Levenscyclus van *Chrysoperla carnea*. Aangepast van University of California (2018) en Tauber en Tauber (2022).

(Stelzl & Devetak, 1999; Batool et al., 2014). Adulten kunnen tot wel 40 km vliegen per nacht, overdag vliegen ze enkel na verstoring om de dichtstbijzijnde schuilplaats te bereiken (Duelli, 1984). De vrouwtjes paren in de derde of vierde nacht na het uitkomen en kunnen de eerste eitjes afleggen vanaf dag vijf (Duelli, 1984). Het vrouwtje legt de groene, ovaalvormige eitjes van 0,9 mm lang en 0,4 mm breed apart of in groep op doorzichtige steeltjes. Een vrouwtje kan 400-500 eitjes leggen. De eitjes zijn gehecht aan de boven- of onderkant van bladeren, bij voorkeur waar er prooien aanwezig zijn zoals bladluizen. De steeltjes bieden bescherming tegen predatie door predatoren en soortgenoten. De larven doorlopen drie stadia en groeien hierbij van 2 tot 10 mm (van Schelt & van Rijn, 2007). Ze prederen op verschillende organismen met weke lichamen zoals bladluizen, rupsen, cicaden, bladwantsen, wolluizen, witte vliegen, trips, spinnen en mijten (Huang & Enkegaard, 2010; Batool et al., 2014). Sengonca en Grooterhorst (1985) toonden aan dat *C. carnea* een predator is van de eieren van *S. littoralis*. Tijdens het larvale stadium kan een larve een duizendtal eitjes van *S. littoralis* opeten, ongeveer 45 mg. Waar de larven een constante vraatzucht vertonen, voeden de adulten zich de eerste dagen na het verpoppen weinig (Donegan & Lighthart, 1989). Een larve legt gemiddeld 1,7 meter af bij een lage beschikbaarheid aan prooien en 1 meter bij een hoge beschikbaarheid (Duelli, 1984). De larven hebben vooruitstekende, zuigende mandibels (Rosenheim et al., 1993; van Schelt & van Rijn, 2007). Een larve die een prooi vastheeft, injecteert speeksel in het insectenlichaam voor de vertering en zuigt daarna de inhoud op. Het chitineus exoskelet van het insect blijft hierbij intact (van Schelt & van Rijn, 2007). De sexferomonen van bladluizen trekken *C. carnea* aan (Koczor et al., 2010). Bij schade aan de voornaamste waardplant van *S. littoralis*, katoen, komt het terpenoïd β -caryophyleen vrij, hetgeen de larven lokt (Flint

et al., 1979). Gedurende de volledige ontwikkeling kan een larve 300-400 bladluizen opeten (Atlihan et al., 2004). De prooiconsumptie stijgt met de densiteit aan prooien. Om bij lage prooidensiteiten aan voldoende energie te geraken om het adulte stadium te bereiken, duurt de larvale ontwikkeling langer (Atlihan et al., 2004; Batool et al., 2014). Ongeveer 60-90% van de totale consumptie tijdens de larvale ontwikkeling vindt plaats in het derde stadium (Sengonca & Grooterhorst, 1985; Balasubramani & Swamiappan, 1994). De larven zijn 's nachts actief en schuilen overdag (van Schelt & van Rijn, 2007). Ze verpoppen in een bolvormige, zijdeachtige cocon (Batool et al., 2014). Bij 16°C duurt de volledige cyclus 69 dagen, bij 21°C 35 dagen en bij 28°C 25 dagen (Bay et al., 1993), waardoor in West- en Midden-Europa meestal twee en in Zuid-Europa drie tot vier generaties per jaar voorkomen (van Schelt & van Rijn, 2007). Adulten gaan in diapauze vanaf de herfst, geïnduceerd door verkortend daglicht (Tauber & Tauber, 1976).

Het kweken van *C. carnea* op grote schaal om de larven te verkopen voor inundatieve biologische bestrijding is wijdverspreid (Huang & Enkegaard, 2010). De soort bezit natuurlijke kenmerken die de kweek economisch interessant maken. In de natuur zwerven de adulten rond en verspreiden ze de eitjes over een grote oppervlakte. Deze constante verplaatsingen impliceren drastische, onvoorspelbare veranderingen in de habitat van de soort, die daarom flexibel is als het op de omgevingsparameters aankomt. Dit maakt de soort relatief gemakkelijk te kweken in laboratoriumomstandigheden (Duelli, 1984). In optimale condities zijn twaalf generaties per jaar te halen, waarbij vrouwtjes tot wel 700 eitjes kunnen leggen (Stelzl & Devetak, 1999; Sattar & Abro, 2011). Om een maximale groeikracht te bereiken is het nodig de larven van een overdaad aan voedsel te voorzien, om kannibalisme te voorkomen (Zheng et al., 1993). De oudere larven eten de jongere, de gevoede eten de hongerige en de grotere eten de kleinere. Evolutionair is dit proces een voordeel, want de sterkste en gezondste individuen blijven over. Vooral bij de kweek in hoge densiteiten in laboratoriumomstandigheden is dit fenomeen een belangrijke oorzaak van mortaliteit (Bar & Gerling, 1985). Om een maximale bestrijding te behalen is het uitzetten van de eerste twee larvale stadia het interessantst. Het derde larvale stadium consumeert veruit het meest, maar is slechts een week actief, onvoldoende om plagen te bestrijden (Sarwar, 2014). Het is mogelijk om eitjes twintig dagen te bewaren bij 8°C zonder aan levensvatbaarheid in te boeten (Osman & Selman, 1993).

De compatibiliteit van *C. carnea* met (bio)chemische middelen is onderzocht om de soort in een IPM systeem te kunnen inzetten. De effecten van Bt-gevoede prooien op *C. carnea* zijn onderzocht. De driehoeksverhouding *C. carnea*, *S. littoralis* en Bt-toxines is relevant omdat het een realistische situatie in katoenvelden is. *S. littoralis* is er een van de ergste plagen, de wijdverspreide *C. carnea* komt er van nature voor en het areaal met Bt-katoen is sinds de introductie snel toegenomen (Sadashivappa & Qaim, 2009). In een reeks experimenten zijn *S. littoralis*, *Rhopalosiphum padi* en *Tetranychus urticae* gevoed met transgene maïs die het Bt-toxine Cry1Ab tot expressie brengt. Deze zijn als prooien gebruikt voor *C. carnea*. Initieel zijn bij *C. carnea* negatieve effecten zoals een verhoogde mortaliteit, een verlaagd lichaamsgewicht en een vertraagde ontwikkeling geobserveerd, maar alleen bij voeding met *S. littoralis* (Hilbeck et al., 1998, 1999; Dutton et al., 2002, 2003). Later bleken de neveneffecten alleen te wijten aan de lage kwaliteit van *S. littoralis* larven, niet aan het Bt-toxine (Romeis et al., 2004). Subletale effecten op *C. carnea* zoals verlaagde predatie en

morfologische misvormingen na behandeling met azadirachtine-A zijn gerapporteerd. Na behandeling met fenoxycarb waren de larven niet meer in staat om de zijde aan te maken waarvan hun cocon gesponnen is (Bortolotti et al., 2005). Het voeden op eimassa's van *S. littoralis* die behandeld waren met spinosad (Tracer) of teflubenzuron (Nomolt), verlaagde de capaciteit van *C. carnea* om te prederen (El Arnaouty et al., 2010).

Algemene predatoren samen inzetten heeft niet altijd een synergetisch effect op de predatie. Intraguild predatie (IGP) komt voor wanneer twee predatoren van verschillende soorten uit competitie op elkaar prederen in de plaats van op hun gemeenschappelijke prooi. Het is een substantiële oorzaak van mortaliteit voor larven van *C. carnea*. Het aantal larven dat overleefde in het bijzijn van Hemiptera uit de genera *Zelus*, *Nabis*, *Geocoris* en de bladluizen *Aphis gossypii* daalde met meer dan 50%, ten opzichte van hun afwezigheid. In dit geval had de predatie tussen predatoren een stijging van het aantal bladluizen tot gevolg. De verhoogde mortaliteit is vooral aan IGP toe te schrijven. In mindere mate spelen ook competitie, kannibalisme of andere factoren een rol (Rosenheim et al., 1999). Het tweede en vierde larvale stadium van *H. axyridis* prederen op het tweede larvale stadium van *C. carnea*, maar niet op het derde. Dit suggereert een effect van de verhouding in grootte tussen beide predatoren (Wells et al., 2017).

Tenslotte is de associatie van *C. carnea* met mieren voor dit onderzoek van belang. Calabuig et al. (2015) observeerden een negatieve correlatie tussen activiteit van mieren op de beschikbaarheid van honingdauw in de lente voor *C. carnea*. Mieren vallen larven en adulten van *C. carnea* aan en de adulten hebben een sterke neiging om de mieren te mijden. Bij experimenten in kassen verlaagt de rode vuurmier (*Solenopsis invicta*) het overlevingspercentage van *C. carnea* met 38% (Eubanks et al., 2002). *S. invicta* toevoegen aan een systeem met *C. carnea* en bladluizen verhoogt het overlevingspercentage van de bladluizen met 85% (Kaplan & Eubanks, 2002). In olijfboomgaarden komen *C. scutellaris* en *C. carnea* elkaar van nature tegen (Ramires, 2020). Beide bestrijden er plagen zoals de olijfmot (*Prays oleae*). Zowel in het laboratorium als in het veld is predatie van zes mierensoorten waaronder *C. scutellaris* op eitjes van *C. carnea* onderzocht. In laboratoriumomstandigheden vertoonde *C. scutellaris* het hoogste predatiepercentage, in het oljfveld varieerde het overblijvende aantal eitjes tussen de 19 en de 93 %, waarmee het de op een na belangrijkste predator was (Morris et al., 1998).

2 Materiaal en methoden

2.1 Kweek van bestudeerde organismen

2.1.1 Kolonies van *Crematogaster scutellaris*

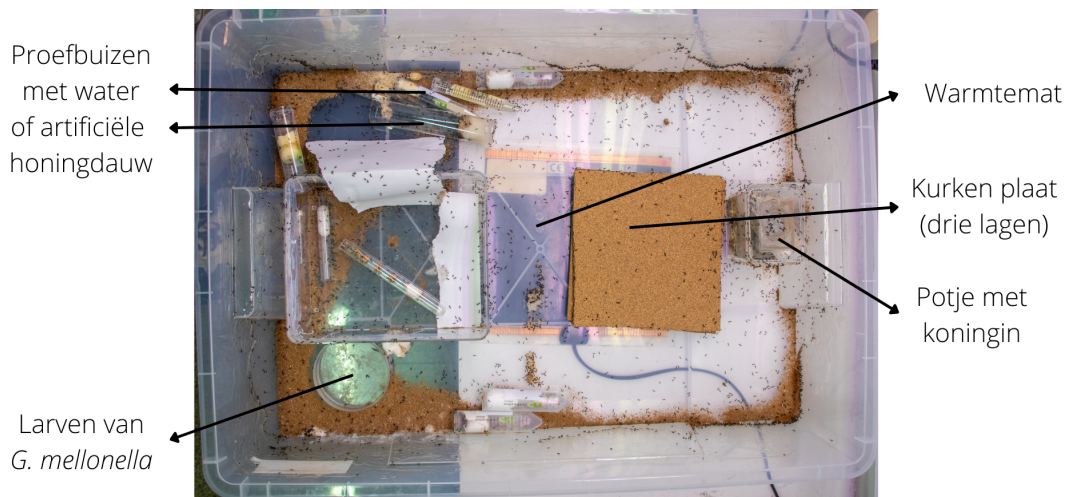
Om proeven in laboratoriumomstandigheden te kunnen uitvoeren werden kolonies van *C. scutellaris* in artificiële nesten gehouden. De foeragerende werksters zijn te zien in figuur 6. In het najaar van 2018 werden koninginnen na de bruidsvlucht gevangen in de omgeving van Sauvebonne, Zuid-Frankrijk. Twee soorten nesten werden gebruikt om een kolonie te houden onder laboratoriumomstandigheden. In een eerste type nest bevindt de kolonie zich in een blok cellenbeton (Ytong met afmetingen 60 x 20 x 7 cm) waarin kamers zijn uitgefreesd. Om de kolonie een donkere nestomgeving te bieden, werd het nest afgedekt met twee tot vijf lagen karton. Het nest bevindt zich in een pvc-bak (afmetingen 78 x 55 x 17 cm) waar aan de bovenrand een band van tien centimeter insectenlijm (Tangle-Trap) werd aangebracht om ontsnapping te verhinderen. In een tweede type nest werd de koningin bij aankomst in het laboratorium overgebracht naar een kleine doorzichtige pot met deksel (Ikea Godmorgon met afmetingen 9,9 x 7,8 x 9,5 cm), te zien in figuur 7. In de kleine pot werd een gaatje ter grootte van een werkster geboord opdat de koningin het nest niet zou kunnen verlaten. De kleine pot werd in de pvc-bak geplaatst. In de pvc-bak bevindt zich een drielaagige stapel kurken platen (20 x 20 x 0,5 cm), van elkaar gescheiden door druppels lijm die aangebracht werden met een lijmpistool. Het broed werd hiertussen opgeslagen. De donkere omgeving simuleert een nest in de bast van de kurkeik, de natuurlijke habitat van *C. scutellaris*. Onder de pvc-bak werd ter hoogte van het kurknest een warmtemat geplaatst. Een overzicht van een dergelijk type nest is te zien in figuur 8. Elke kolonie had ad libitum toegang tot kraanwater en artificiële honingdauw (bestaande uit [V/V%]: 48% kristalsuiker, 40% kraanwater, 8% esdoornsiroop en 4% SANAS Aminobolan Mega Forte). Om contact met de vloeistof mogelijk te maken zonder werksters te verliezen aan verdrinking, werd de plastic tube die de vloeistof bevat afgesloten met watten. Meermaals per week werden levende larven van de grote wasmot (*Galleria mellonella*) aangeboden ter aanvulling van het dieet.



Figuur 6: Werksters die foerageren in het kunstnest. Bron: auteur.



Figuur 7: Kunstnest waarin de koningin van de kolonie zich bevindt. De pijl duidt de in- en uitgang voor de werksters aan. In de pot was te allen tijde kraanwater en artificiële honingdauw beschikbaar. Bron: auteur.

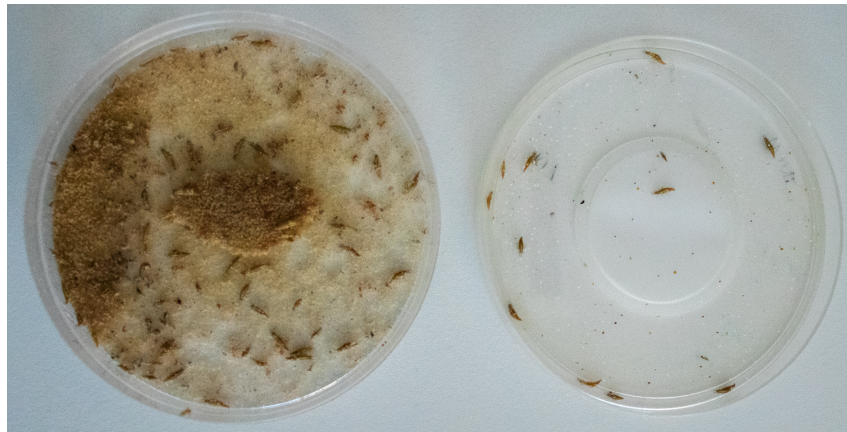


Figuur 8: Overzicht van een kunstnest waarop de verschillende onderdelen zijn aangeduid. Bron: auteur.

2.1.2 Kweek van *Chrysoperla carnea*

Om een continue kweek van *C. carnea* op te zetten, werd op geregelde tijdstippen een populatie aangekocht bij Biobest (Chrysopa-system). Een klimaatkast (SANYO MLR352-H) met drie tl-groeilampen (Mitsubishi Osram FL 40SS) zorgde voor een temperatuur van 24°C, een relatieve vochtigheid (RV) van 65% en een dag:nacht regime van 17:7 uur. In een gesloten petriplaat (SPL Life Sciences, Insect Breeding Dish Cat. No. 310201 met afmetingen 9,5 cm interne diameter x 2 cm hoogte) met in het deksel een gaas (diameter 40 mm) voor gasuitwisseling zatten ongeveer 50 tot 100 larven samen zoals te zien in figuur 9. De larven voedden zich ad libitum op ontdooide eitjes van de grauwe meelmot (*Ephestia kuehniella*). Het aantal larven nam af door kannibalisme naarmate de ontwikkeling vorderde tot er ongeveer vijf tot twintig adulten overbleven. Eenmaal na verpopping de eerste adulten verschenen, werden in elke petriplaat twee schaaltes (1 cm diameter) geplaatst met respectievelijk pollen en een stukje synthetische watten (Rolta soft) waarop met een

pasteurpipet honingwater werd aangebracht. Dit is te zien op figuur 10. Eiafleg door de adulten gebeurt meestal op het deksel van de petriplaat. Tweemaal per week werd een deksel met voldoende groene eieren (= in vroege embryonale ontwikkeling) vervangen door een nieuw deksel, waarna het deksel met hierop de eieren werd overgebracht op een nieuwe petriplaat waarin eitjes van *E. kuehniella* waren toegevoegd. Tijdens het onderhoud werd tevens het honingwater aangevuld bij de adulten en werden de petriplaten waarin de individuen gestorven zijn of er schimmelgroei werd waargenomen uit de kweek gehaald.



Figuur 9: Kweek van *C. carnea* larven op eitjes van *E. kuehniella*. Links is de petriplaat te zien, rechts is het deksel gelegd ter illustratie. Bron: auteur.



Figuur 10: Kweek van de *C. carnea* adulten. Op de linkerfoto is linksonderaan in het schaal-tje het pollen te zien en rechtsonderaan het stukje synthetische watten met honingwater. Rechts zijn de adulten te zien die aan de onderkant van het deksel zitten. Bron: auteur.

2.1.3 Kweek van *Spodoptera littoralis*

De volledige kweek van *S. littoralis* ging door in een klimaatkast (SANYO MLR-352) bij een temperatuur van 25°C, een RV van 65% en een dag:nacht regime van 16:8 uur met behulp van drie tl-groeilampen (Mitsubishi Osram FL 40SS). De larven van *S. littoralis* bevonden zich in plastic dozen (Berry Superfos UniPak 192 x 129 mm, 1200 ml) met deksel waarin een gaas zit voor gasuitwisseling, zoals te zien in figuur 11. Ze voedden zich ad libitum op een artificieel dieet op basis van agar, polenta, tarwekiemen, gist en micronutriënten.

Vanaf het vijfde larvale stadium (L5) werd een laag van een drietal centimeter vlasleem toegevoegd aan de kweekdoos om de vochtigheid te verlagen en de larven een substraat te bieden om in te verpoppen. Met een zeef werden de poppen van het vlas gescheiden en in een petrischaal met deksel opzijgezet in de klimaatkast, zoals te zien in figuur 12. De poppen kwamen na een halve week in een kweekdoos van plexiglas (39 x 25 x 23 cm) terecht. De kweekdoos werd voorzien van een gaas in het deksel voor verluchting. De adulten hadden ad libitum toegang tot een stuk gevouwen keukenpapier in een petrischaal, gedrenkt in honingwater. De binnenkant van de doos werd beplakt met Post-its, waarop de adulte vrouwtjes hun eitjes op kunnen afleggen, zoals te zien is op figuur 13. Het afhalen van de Post-its met eipakketjes gebeurde driemaal per week. De Post-its werden samen met een stuk artificieel dieet van 1 cm³ in een doos gelegd. Daarnaast werd tijdens het onderhoud eten toegevoegd aan dozen waar de voeding verorberd of uitgedroogd was. Verder werd indien nodig vlas toegevoegd, de poppen gescheiden van het vlasleem en het suikerwater van de adulten vervangen.



Figuur 11: Kweek van de larven van *S. littoralis*. Beide hadden ad libitum toegang tot kunstmatige voeding. Rechts werd vlas toegevoegd voor de verpopping die van nature in de bodem doorgaat. Bron: auteur.



Figuur 12: Poppen van *S. littoralis* in een petrischaal, hier even zonder deksel. Na een drietal dagen apart in de petrischaal werden ze in de kweekdoos bij de adulten gelegd. Bron: auteur.



Figuur 13: Links: kweek van de adulten in een kweekdoos van plexiglas. In de petrischaal links liggen de recent toegevoegde poppen, in de schaal rechts ligt een stuk keukenpapier met honingwater. Rechts: de eiafleg gebeurt op de Post-its waarmee de wand beplakt werd om eenvoudig de eieren te kunnen afnemen. Bron: auteur.

2.2 Experiment 1: Predatie van *Spodoptera littoralis* door *Chrysoperla carnea* in laboratoriumomstandigheden

2.2.1 Doelstelling

De eerste proef had als doel om enerzijds de predatie van *C. carnea* in het tweede larvale stadium (L2) op L2-larven van *S. littoralis* aan te tonen en anderzijds de minimale predator-densiteit voor een vast aantal *S. littoralis* larven te kwantificeren. De resulterende minimale densiteit aan predatoren voor een vast aantal *S. littoralis* larven kon gebruikt worden voor verdere laboproeven of geëxtrapoleerd worden voor veldproeven. De keuze voor L2-larven van *S. littoralis* volgde uit het feit dat in dit stadium de plaag en de bestrijder ongeveer even groot zijn. De keuze voor L2-larven van *C. carnea* verhinderde dat de larven tijdens de looptijd van het experiment het popstadium zouden bereiken. Bovendien is dit stadium representatief voor het inzetten van deze bestrijder in de praktijk. Uit persoonlijke communicatie met bedrijven die *C. carnea* verkopen, bleek dat het L2-stadium het meest geschikt is om uit te zetten in het veld, omdat het een compromis vormt tussen vraatzucht en de tijd die de larven nog zullen prederen alvorens te verpoppen. In het veld vervellen de larven naar het L3-stadium, waarin ze het meest vraatzuchtig zijn.

2.2.2 Proefopstelling

De preliminaire proef bestond uit tien behandelingen met een per twee oplopend aantal *C. carnea* gaande van twee tot twintig. Op een, twee en vijf dagen werden telkens het aantal *S. littoralis* en aantal *C. carnea* geteld. Uit de resultaten bleek dat drie densiteiten L2-larven van *C. carnea* binnen een interessant interval lagen om te bestuderen, met name tien, vijftien en twintig. Voor de bepaling van het aantal herhalingen werd een *Test of Power* (power = 0,8, aantal herhalingen = 4,4) uitgevoerd in RStudio en naar boven afgerond op vijf herhalingen. *C. carnea* vertoont erg kannibalistisch gedrag in afwezigheid van prooien. Om dit gedrag te vermijden en omdat individuele afzondering erg omslachtig is, werden de predatoren vooraf niet uitgehongerd.

De gesloten opstelling bestond uit een pet-container met deksel (Ikea - Godmorgen 20 x 10 x 24 cm). In het deksel werd een rechthoekig gaas (150 mesh) op 2 cm van elke rand vastgelijmd om gasuitwisseling mogelijk te maken. De gebruikte waardplant was gewone boon (*Phaseolus vulgaris*) van twaalf tot veertien dagen oud, het stadium waarin de plant twee bladeren telt. Het meristeem en de cotyledonen werden met een mes afgesneden. Elke plant werd in een met kraantjeswater gevulde Drosophila Stock Bottle (Fisher Scientific) geplaatst en net onder de bladeren vastgehouden door een cilindrische tot de helft ingesneden spons. De doos werd op de kleinste zijde naar onder geplaatst. De Drosophila Stock Bottles werden met lijm aan de binnenkant van de doos bevestigd. Door een rand op de Stock Bottles was het voor *C. carnea* onmogelijk om terug omhoog te klimmen wanneer ze van de bonenplant vallen. Het aanbrengen van een horizontaal platform van synthetische watten (Rolta soft, 19 x 9 cm), vastgelijmd aan de binnenranden van de doos, tussen de spons en de bladeren diende te verhinderen dat larven van *C. carnea* naar beneden zouden vallen.

Per plant werden tien L2-larven (acht tot negen dagen oud) van *S. littoralis* zorgvuldig met een nat penseel op de bladeren overgebracht, vijf op elk blad. Wanneer een larve van *S. littoralis* op de plant werd verstoord of zich bedreigd voelde, liet ze zich al dan niet van een zelfgesponnen draad van de plant vallen. Gevallen larven bleken niet meer in staat om tijdens de duur van deze proef terug omhoog te klimmen. Om dit zoveel mogelijk te voorkomen werden bruuske bewegingen met de pet-container vermeden. Finaal werd het deksel aan de pet-container vastgelijmd met behulp van lijmklemmen en een lijmpistool. De doos werd in een klimaatkast geplaatst (SANYO MLR-351H) bij 25°C, een RV van 65% en een dacht:nachtregime van 16:8 uur.

Op verschillende tijdstippen werd het aantal *S. littoralis* en *C. carnea* geteld en genoteerd volgens het meetschema: 0; 2; 4; 6; 8; 20; 22; 24; 26; 28 en 30 uur (d.i. om de twee uur behalve 's nachts).

2.3 Experiment 2: Predatie van *Spodoptera littoralis* door *Crematogaster scutellaris* in laboratoriumomstandigheden

2.3.1 Doelstelling

Het doel van dit experiment was het aantonen van predatie door werksters van *C. scutellaris* op L2-larven van *S. littoralis* en het kwantificeren van de minimale verhouding tussen beide om bestrijding te bekomen in laboratoriumomstandigheden. Bestrijding werd gedefinieerd als het verwijderen van de larven van de modelplant in, hetzij door verjaging, hetzij door predatie. De keuze voor L2-larven van *S. littoralis* zorgde voor een gelijkaardige grootte tussen de rupsen en de werksters.

2.3.2 Proefopstelling

Uit voorgaand werk van Everaert (2021) en eigen preliminaire testen bleek een proefopzet met groepsgrootten van 10, 20 en 50 werksters geschikt. Opnieuw werd een *Test of Power*

(power = 0,8, aantal benodigde herhalingen = 5,9) uitgevoerd die het benodigde aantal herhalingen schatte op zes. Twee dagen (48 uur) voor het experiment werden werksters van *C. scutellaris* uit hetzelfde nest gehaald om ze uit te hongeren. De isolatie van de werksters van de kolonie ging door in een plastic doos (Ikea - Godmorgen 10 x 8 x 10 cm). Een gat in het deksel van 2,3 cm diameter werd geboord en afgesloten met een gaas van roestvrij staal (150 mesh) voor gasuitwisseling. Centraal in de langste zijde van de container werd een gat van 1,6 cm diameter geboord om het nest later te verbinden met de foerageerzone. Tijdens de afzondering werd dit gat afgesloten met een prop van watten. Op de bodem van het kunstnest werd een laag plaaster met een holle uitsparing aangebracht. De uitsparing werd afgedekt met twee dekglazjes, die aan elkaar werden vastgekleefd met plakband. Om de ruimte te verduisteren werd hierop een stukje papier gelegd waarop twee proefbuisjes werden vastgelijmd. Het ene proefbuisje bevatte kraantjeswater, het andere een oplossing van 50 vol.-% kristalsuiker en 50 vol.-% kraantjeswater. Beide werden afgesloten met een suikerwiek. Aan de bovenrand van de container werd een laag teflon aangebracht om tijdens het overbrengen van de werksters van de kolonie naar het kunstnest ontsnapping te verhinderen. Tenslotte werden de werksters zelf overgebracht. Voor aantallen tot twintig gebeurde dit door een stuk papier in de kolonie te houden, hierop werksters te laten kruipen, de werksters te tellen en over te brengen naar het kunstnest. Voor aantallen groter dan twintig werden de werksters geteld in een plastic bak met teflon aan de rand, vier minuten en 30 seconden bij -18°C gehouden om alle activiteit te stoppen en hen eenvoudiger naar het kunstnest over te kunnen brengen. Alle kunstnesten werden 48 uur in een klimaatkast geplaatst bij dezelfde parameters als in experiment 1.

Na twee dagen werd dezelfde opstelling als in experiment 1, met tien larven van *S. littoralis* (L2-stadium) waarvan vijf op elk blad, gebruikt als foerageerzone voor de werksters. Omdat er tijdens dit experiment geen *C. carnea* aanwezig waren, werd geen platform van synthetische watten aangebracht. Voor de proef begon, werden in elk kunstnest twintig mierenlarven toegevoegd om het predatiegedrag van de werksters te stimuleren. Het broed vereist namelijk eiwitten die aangevoerd worden door de werksters die enkel met koolhydraten kunnen overleven (Dussutour & Simpson, 2009). De proef begon door de werksters toegang te verlenen tot de foerageerzone met *S. littoralis* door de watten prop weg te halen en het kunstnest vast te lijmen tegen de foerageerzone. De opstelling is te zien in figuur 14.

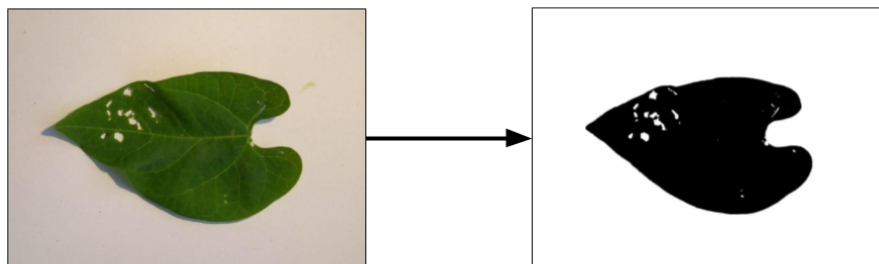
De grote mobiliteit van werksters veronderstelde een snelle interactie met de larven van *S. littoralis*. De meetpunten lagen op 0; 0,5; 2,5; 7; 18; 21 en 24 uur. Tijdens deze meetpunten werd het aantal *S. littoralis* opgemeten. Het aantal werksters van *C. scutellaris* werd niet bijgehouden, omdat mortaliteit minimaal is verondersteld in een tijdspanne van 24 uur. Daarnaast is het tellen van het aantal werksters in de behandelingsomgeving met 50 werksters in de gesloten omgeving moeilijk en kan ontsnapping visueel vastgesteld worden zonder de werksters te tellen. In vijf van de achttien dozen bleken tijdens een eerste uitvoering van het experiment werksters te zijn ontsnapt. Deze vijf herhalingen werden op een later tijdstip onder dezelfde omstandigheden opnieuw uitgevoerd.

Na afloop van de proef werd de schade die *S. littoralis* aan de plant had aangericht tijdens de looptijd van het experiment opgemeten. Van elk blad werd een foto genomen op een



Figuur 14: Opstelling waarbij links het kunstnest werd aangehecht aan de foerageerzone rechts. Via een gat in beide containers hadden de werksters toegang tot de foerageerzone waar de modelplant *Phaseolus vulgaris* staat. Bron: auteur.

witte achtergrond, waarna de schade beoordeeld werd met behulp van ImageJ. In eerste instantie werd elke foto omgezet in grijswaarden (8-bit), waarna een drempelwaarde werd gekozen. De drempelwaarde werd zodanig gekozen dat de pixels onder deze waarde zwart kleuren en boven de waarde wit. De schade was zodoende te zien als witte vlekken in het zwarte blad. De contouren van het blad werden handmatig bepaald en de schade werd berekend als de oppervlakte witte pixels gedeeld door de totale bladoppervlakte. Een weergave van dit proces is te zien in figuur 15. De schade per plant is een gemiddelde van de schade aan de twee bladeren in elke herhaling.



Figuur 15: Bepaling van de schade aan de bladeren in ImageJ. Op de figuur is te zien hoe een drempelwaarde bepaalt in welk kleur - wit of zwart - de pixels worden omgezet. Bron: auteur.

2.4 Experiment 3: Effect van de interactie tussen *Chrysoperla carnea* en *Crematogaster scutellaris* op de predatie van *Spodoptera littoralis* in laboratoriumomstandigheden

2.4.1 Doelstelling

Tijdens dit experiment werden de interacties tussen *Chrysoperla carnea* (L2-stadium) en *Crematogaster scutellaris*-werksters in het bijzijn van *Spodoptera littoralis* (L2-stadium) gekwantificeerd. De minimale aantallen uit experimenten 1 en 2 vormden de basis voor het experimental design van deze proef. Het benodigde aantal herhalingen werd via een *Test of Power* (power = 0,8, benodigde aantal herhalingen = 4,4) geschat op vijf. Een overzicht van de behandelingen en gebruikte aantallen voor elke soort is te zien in tabel 1.

Tabel 1: Behandelingen en bijhorende aantallen van elke soort in experiment 3. Om de predatiedruk gelijk te houden in de behandeling met *C. carnea* en *C. scutellaris* werd de helft van het aantal predatoren van de controlegroep gekozen.

Behandeling	Aantal <i>Crematogaster scutellaris</i>	Aantal <i>Chrysoperla carnea</i> (L2)	Aantal <i>Spodoptera littoralis</i> (L2)
1: <i>C. carnea</i>	0	10	0
2: <i>C. carnea</i> + <i>S. littoralis</i>	0	10	10
3: <i>C. scutellaris</i>	10	0	0
4: <i>C. scutellaris</i> + <i>S. littoralis</i>	10	0	10
5: <i>C. scutellaris</i> + <i>C. carnea</i> + <i>S. littoralis</i>	5	5	10

2.4.2 Proefopstelling

Analoog aan experiment 2 werden 48 uur op voorhand werksters van *C. scutellaris* van de kolonie afgezonderd en in kunstnesten geplaatst volgens de vooraf bepaalde aantallen. Na 48 uur in de klimaatkast werden twintig mierenlarven toegevoegd aan elk kunstnest. De foerageerzone werd analoog opgesteld als beschreven in experiment 1. In de foerageerzone werden alle organismen geïntroduceerd volgens de werkwijze van experimenten 1 en 2. Op elk blad werden vijf L2-larven van *S. littoralis* aangebracht, op het platform van synthetische watten werden tien larven van *C. carnea* geplaatst en als laatste werd het kunstnest met werksters verbonden via een gat dat hen toegang geeft tot de foerageerzone.

Het meetschema werd bijgesteld op basis van de bevindingen van experimenten 1 en 2. De meetpunten bevonden zich op 0; 2; 4; 10; 22 en 24 uur. Het aantal *S. littoralis* larven aanwezig op de bladeren of hangend aan een zelfgesponnen draad van de bladeren werd

geteld als aanwezig op het blad. Daarnaast werden het aantal levende larven van *C. carnea* en levende werksters van *C. scutellaris* geteld. Dat laatste werd gedaan ter controle op ontsnapping. In drie van de 25 dozen waren er tijdens een eerste uitvoering van het experiment werksters ontsnapt. Deze herhalingen werden op een later tijdstip opnieuw uitgevoerd.

2.5 Experiment 4: Bestrijding van *Spodoptera littoralis* door *Chrysoperla carnea* en *Crematogaster scutellaris* in een serreomgeving

2.5.1 Doelstelling

Praktijkonderzoek is van belang voor de validatie van de resultaten in laboratoriumomstandigheden. In die laatste zijn de klimaatfactoren gemakkelijk te controleren, wat in de praktijk niet altijd eenvoudig blijkt. Een serreruimte van 5 x 10 m² werd beschikbaar gesteld door het Proefcentrum voor de Sierteelt (PCS) in Destelbergen. In de serre staan twee kweektafels van 1,75 x 7,20 meter. De serre beschikt over automatische klimatisering en bewatering. In de glastuinbouw is de verwante florida-uil (*Spodoptera exigua*) incidenteel een plaagsoort. Het gebruik van *S. littoralis* is representatief voor het voorkomen van rupsen in de sierteelt. Het doel van deze proef was om de resultaten van experiment 3 in het veld te valideren. Dit werd gedaan door te onderzoeken welke curatieve behandeling het beste resultaat geeft naar bescherming van de plant bij een aantasting van *S. littoralis*. Hiervoor werden een behandeling met werksters van *C. scutellaris*, een behandeling met *C. carnea* en een behandelingen beide predatoren gecombineerd vergeleken.

2.5.2 Proefopstelling

Voor dit experiment werd de chrysant (*Chrysanthemum indicum*) als modelplant gekozen. Chrysant is een waardplant voor *S. littoralis* (CABI, 2020; EPPO, 2021). Uit een preliminaire proef bleek dat larven van *S. littoralis* in staat waren hun volledige ontwikkeling te volbrengen op de gebruikte variëteit van chrysant. De chrysanten verbleven voor de proef in een aparte serre, waar periodiek andere plagen een probleem vormden. Na chemische bestrijding van plagen werden de residu's opgevolgd. *C. scutellaris* en *S. littoralis* werden in contact gebracht met de behandelde planten om negatieve effecten op de vitaliteit en het gedrag vast te stellen. De relatieve afname in de tijd werd opgevolgd via LC-MS/MS. De experimenten werden opgezet wanneer er voor geen van beide organismen een negatief effect werd waargenomen.

De opstelling van de proef bestond uit een eiland omgeven door water. Het finale ontwerp was het resultaat van vier preliminaire proeven die elk gedurende veertien dagen in de serre werden opgesteld. De kweektafels beschikken over een eb- en vloedstelsel voor de watervgift, een systeem dat ook gebruikt kan worden om de tafels continu onder water te zetten. Dit verhinderde dat de volledige kolonie van werksters uit de foerageerzone zou ontsnappen. Werksters die in het water belandden konden een tijdlang drijven, maar bleken

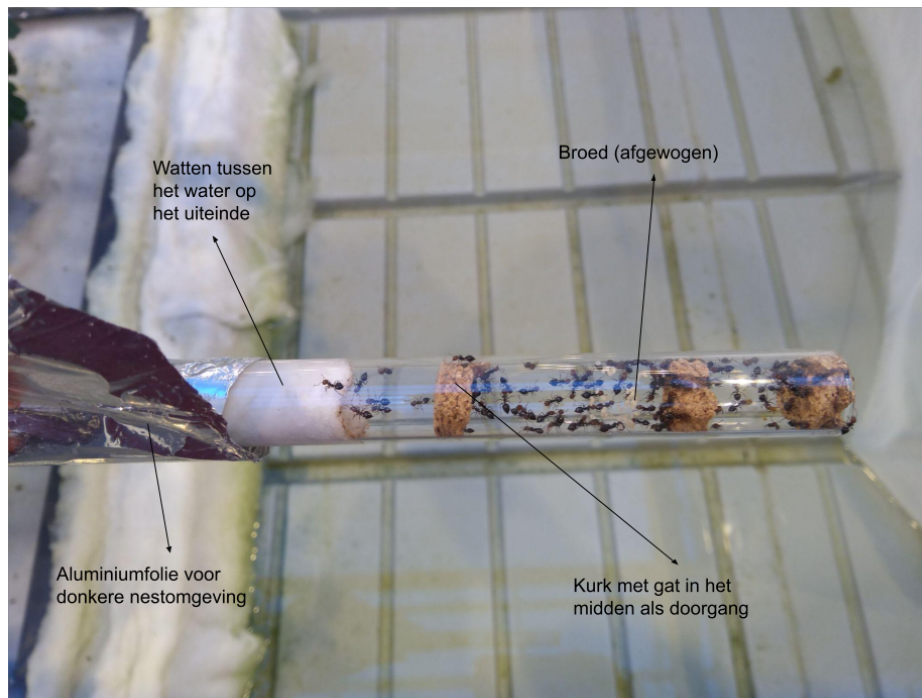
niet in staat terug op het eiland te geraken. Het verlies aan werksters of het terechtkomen op andere eilanden bleek uit de testopstelling minimaal. Een eiland (50 x 50 x 5 cm) bestond uit twee omgedraaide plastic stekbakken, die een vijftal centimeter boven het wateroppervlak uitstaken. Een strook watten bedekte elke stekbak en maakte contact met het water. De chrysanten werden uitgeschud om andere predatoren (vnl. spinnen) of plaagsoorten van de planten te verwijderen. Centraal op het eiland werden vier chrysanten geplaatst. De watten zorgden voor aanvoer van water voor de planten en lieten eveneens de werksters toe zich te verplaatsen. Als suikerbron voor *C. scutellaris* werd een tube gevuld met suikerwater en afgestopt met watten (15 ml, 50%-vol. kraantjeswater en 50 vol.-% kristalsuiker) in een van de chrysanten gehangen. Elk eiland werd tenslotte voorzien van een steen met daarop een label ter identificatie. De opstelling is te zien in figuur 16.



Figuur 16: Opstelling van een eiland met vier chrysanten voor de serreproef. De chrysanten stonden centraal om te vermijden dat individuen vanop de bladeren in het water zouden belanden. Het label diende om de behandelingen en herhalingen te kunnen identificeren. Bron: auteur.

Alvorens de predatoren te introduceren werden eerst de larven van *S. littoralis* (L2-stadium, acht tot negen dagen oud) met een penseel homogeen over de planten aangebracht. Vervolgens werden de larven van *C. carnea* (L2-stadium) op de chrysanten overgezet. Tenslotte werd het artificieel nest met mieren in de planten gehangen. Een artificieel nest bestond uit een proefbuis (diameter 16 mm) die voor de helft gevuld werd met water. Het water werd afgestopt met een prop watten. Een kurken schijf (dikte 5 mm) die aansloot op de binnendiameter van de proefbuis werd naar binnen geschoven tot op een tweetal centimeter van de watten. In de schijf werd een opening van 2 mm geboord. Uit de kolonie werd broed verzameld en voor elke proefbuis werd 60 mg afgewogen, die in de proefbuis overgebracht. Het compartiment met broed werd afgesloten met een tweede kurken schijf. Daarna werden de werksters na telling toegevoegd volgens de methode beschreven in ex-

perimenten 2 en 3. Om de afgesplitste kolonie met werksters en broed te transporteren werd de proefbuis tijdens transport afgesloten met een derde kurken schijf en een watten prop. Aluminiumfolie werd rond de proefbuis gewikkeld om een donkere nestomgeving te simuleren. Een voorbeeld van het artificieel nest is te zien in figuur 17. Het experiment ging van start van zodra de watten prop werd verwijderd en het artificieel nest in de chrysanten werd gelegd.



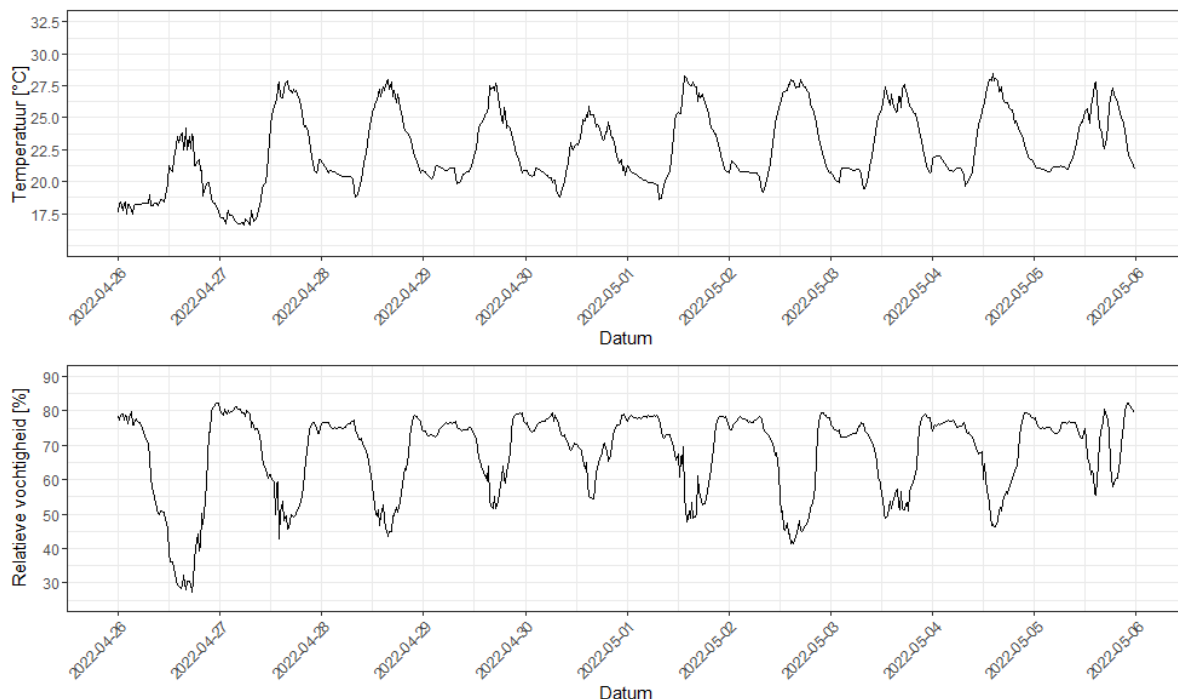
Figuur 17: Artificieel nest zoals gebruikt in de veldproef. Tijdens de proef bedekte de aluminiumfolie de volledige proefbuis. Een afgewogen hoeveelheid broed was aanwezig in het middelste compartiment om het predatiegedrag van de werksters te stimuleren. Bron: auteur.

De eigenlijke proef omvatte acht behandelingen waarvan een overzicht te zien is in tabel 2. Elke behandeling bestond uit vijf herhalingen. Omwille van logistieke redenen is het experiment in twee keer uitgevoerd. Eerst werden behandelingen 0, 1, 2 en 5 uitgevoerd, daarna behandelingen 3, 4, 6 en 7. De proef liep tien dagen. Gedurende de volledige duurtijd van het experiment werd om de twintig minuten een automatische meting van de temperatuur en de relatieve vochtigheid uitgevoerd. Op het einde werd een destructieve meting voorzien waarbij het aantal werksters van *C. scutellaris*, het aantal larven van *S. littoralis* en het aantal *C. carnea* (larven en poppen) werd geteld. Om de aantasting door *S. littoralis* te kwantificeren werden twee schadeparameters opgevolgd: het aantal bladeren met de typische vraatschade van *S. littoralis* en de bevuiling op de watten door de uitwerpselen van *S. littoralis* uitgedrukt in % pixels boven een bepaalde drempelwaarde. Om de bevuiling te beoordelen, werden na afloop van het experiment foto's genomen van bovenaf. Deze werden in ImageJ omgezet in grijswaarden (8-bit) en door een drempelwaarde verdeeld in zwarte (onder de drempelwaarde) en witte pixels (boven de drempelwaarde). Het percentage bevuiling werd berekend als de oppervlakte zwarte pixels gedeeld door het totale aantal pixels van het eiland.

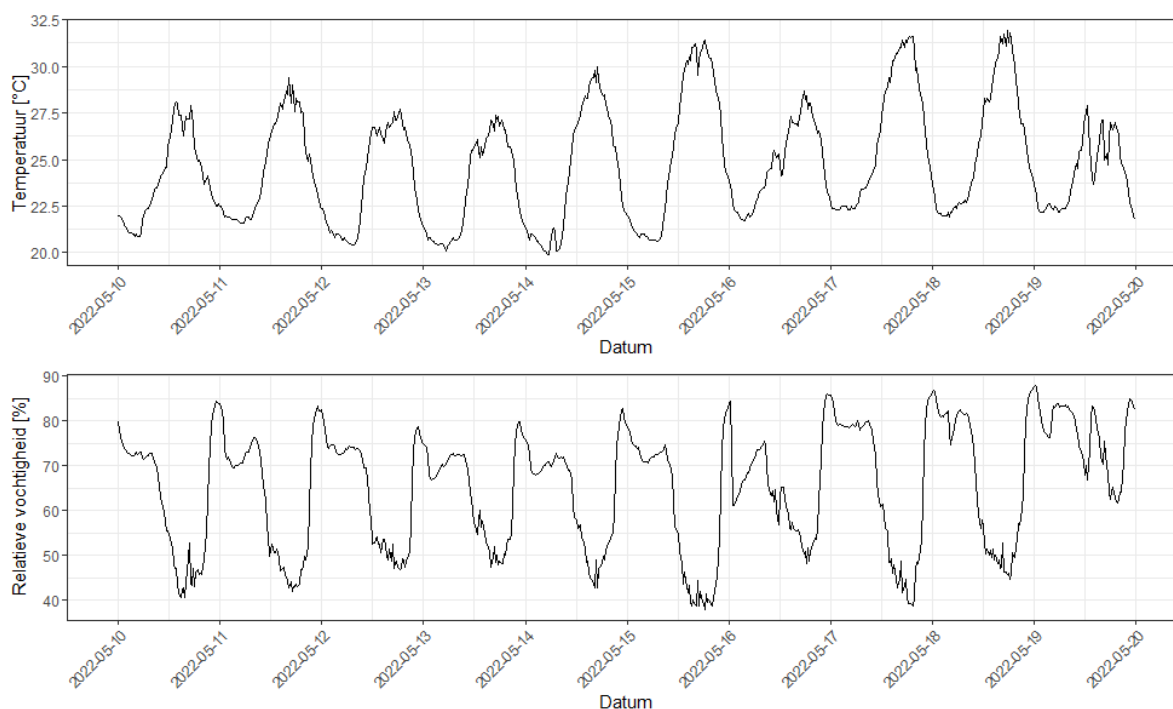
Tabel 2: Overzicht van de acht behandelingen en bijhorende soortantallen voor de serreproef op het PCS.

Behandeling	Aantal <i>Spodoptera littoralis</i> (L2)	Aantal <i>Crematogaster scutellaris</i>	Aantal <i>Chrysoperla carnea</i> (L2)
0: Controle planten	0	0	0
1: <i>S. littoralis</i>	20	0	0
2: <i>S. littoralis</i> + <i>C. scutellaris</i>	20	500	0
3: <i>S. littoralis</i> + <i>C. carnea</i>	20	0	25
4: <i>S. littoralis</i> + <i>C. scutellaris</i> + <i>C. carnea</i>	20	500	25
5: <i>C. scutellaris</i>	0	500	0
6: <i>C. carnea</i>	0	0	25
7: <i>C. scutellaris</i> + <i>C. carnea</i>	0	500	25

Het verloop van de temperatuur en relatieve vochtigheid in de serre tijdens de twee uitvoeringen van het experiment zijn te zien in figuren 18 en 19. Samenvattende statistieken voor de temperatuur en de relatieve vochtigheid zijn terug te vinden in tabel 3.



Figuur 18: Verloop van de temperatuur en de relatieve vochtigheid gedurende de eerste uitvoering van de serreproef.



Figuur 19: Verloop van de temperatuur en de relatieve vochtigheid gedurende de tweede uitvoering van de serreproef.

Tabel 3: Minima, maxima en gemiddelden ($\pm$ standaardafwijking) van de temperatuur en de relatieve vochtigheid voor de twee perioden waarin het experiment werd uitgevoerd.

	Temperatuur (T) [°C]			Relatieve vochtigheid (RV) [%]		
	T_{min}	T_{max}	T_{gem}	RV_{min}	RV_{max}	RV_{gem}
Periode 1 (26/04/2022 - 6/05/2022)	16,6	28,5	$22,5 \pm 2,9$	27,2	82,4	$67,4 \pm 12,2$
Periode 2 (10/05/2022 - 20/05/2022)	19,9	31,9	$24,7 \pm 3,0$	38,0	87,9	$65,2 \pm 13,4$

2.6 Statistische analyse

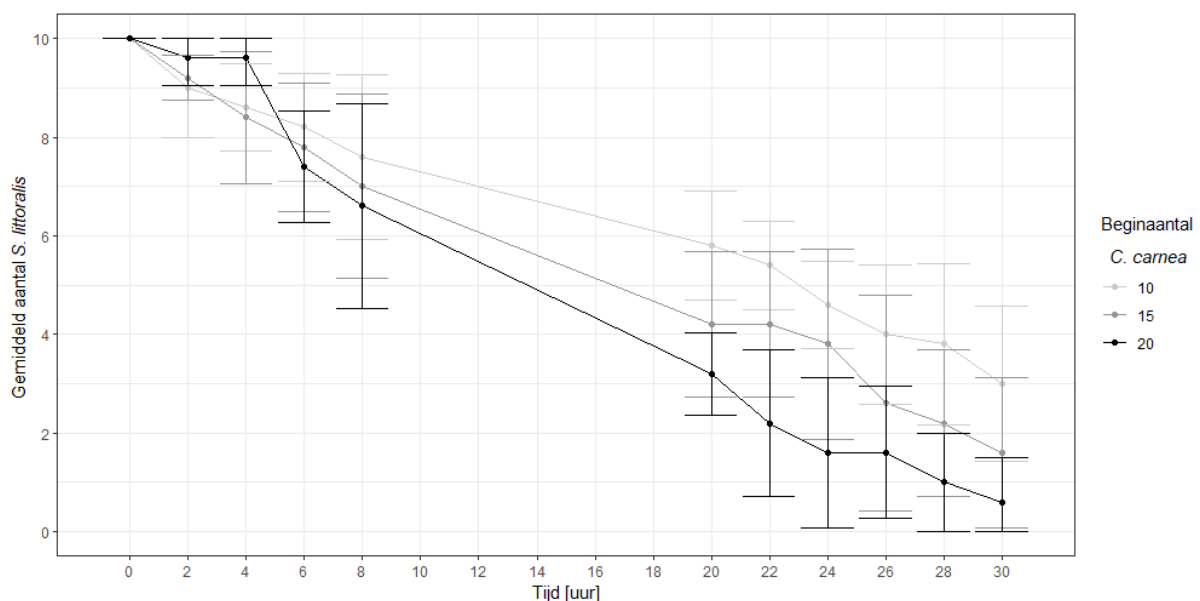
Alle statistische analyses werden uitgevoerd in RStudio 4.0.3 (R Core Team, 2020) met een significantieniveau van 0,05. De assumpties voor parametrische testen, normaliteit en heteroscedasticiteit, werden onderzocht met respectievelijk de *Shapiro-Wilk test* en de *Levene's test*. Als aan de assumpties voldaan was, werd een passend one-way of two-way ANOVA model gekozen waarna een post-hoc analyse met *Tukey's HSD test* werd uitgevoerd om onderliggende verschillen tussen de herhalingen bloot te leggen. Als niet aan de assumptie van normaliteit voldaan was en er twee behandelingen werden vergeleken is voor een *Wilcoxon rank-sum test* gekozen, bij drie of meer behandelingen werd een *Kruskal-Wallis test* gebruikt. Indien de nullhypothese bij die laatste kon weerlegd worden, werd een post-hoc analyse uitgevoerd met de *Dunn's test* waarbij de p-waarden gecorrigeerd werden volgens de Bonferroni methode. Indien wel aan de assumptie van normaliteit, maar niet

van heteroscedasticiteit voldaan was, werd een *Welch's ANOVA test* uitgevoerd met een *Unequal Variance Pairwise t-test* als post-hoc analyse, gecorrigeerd volgens de Bonferroni methode.

3 Resultaten

3.1 Experiment 1: Predatie van *Spodoptera littoralis* door *Chrysoperla carnea* in laboratoriumomstandigheden

Het resultaat van de eerste predatieproef is te zien in figuur 20. De afname van het *S. littoralis* doorheen de tijd volgde een lineair verband ($R^2 = 0,95$ voor de factoren tijd en beginaantal *C. carnea*). Het gemiddelde aantal *S. littoralis* ($\pm$ standaardafwijking) nog in leven op het einde van het experiment in de behandelingen waarin gestart werd met tien, vijftien en twintig *C. carnea* was respectievelijk $3,0 \pm 1,58$, $1,6 \pm 1,52$ en $0,6 \pm 0,89$.



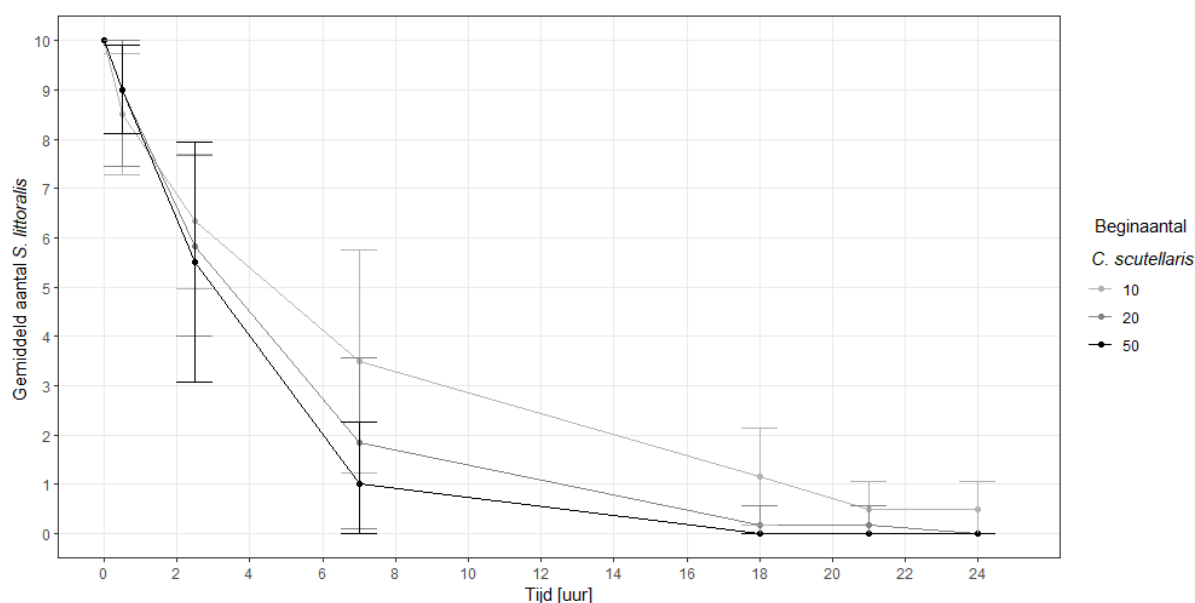
Figuur 20: Gemiddelde afname ($\pm$ standaardafwijking) van het aantal *S. littoralis* over een tijdspanne van 30 uur voor drie behandelingen met verschillende beginaantallen *C. carnea*.

Om het effect van het beginaantal *C. carnea* op het aantal *S. littoralis* op het einde van het experiment te testen werd een one-way ANOVA uitgevoerd. Het beginaantal had een significant effect op de overleving van de rupsen ($F(2,12) = 3,893$, $p = 0,0498$). Daarop volgend werd een *Tukey's HSD* post-hoc analyse uitgevoerd om te kunnen differentiëren tussen de eindaantallen *S. littoralis* voor de drie beginaantallen *C. carnea*. Enkel tussen de beginaantallen tien en twintig is het verschil significant ($p = 0,041$, behandeling met tien *C. carnea* versus vijftien, $p = 0,275$; behandeling met vijftien *C. carnea* versus twintig, $p = 0,499$).

Het gemiddelde aantal levende *C. carnea* ($\pm$ standaardafwijking) op het einde van het experiment voor de behandelingen met tien, vijftien en twintig was respectievelijk $4,80 \pm 0,84$, $5,60 \pm 2,97$ en $11,4 \pm 1,82$. Uitgedrukt in percentage was dit $48,0 \pm 8,4\%$, $37,3 \pm 19,8\%$, $57,0 \pm 9,1\%$. Verschillende keren werd kannibalisme tussen *C. carnea* waargenomen.

3.2 Experiment 2: Predatie van *Spodoptera littoralis* door *Crematogaster scutellaris* in laboratoriumomstandigheden

De gemiddelde afname ($\pm$ standaardafwijking) van het aantal *S. littoralis* ten gevolge van predatie door drie verschillende beginaantallen van werksters van *C. scutellaris* gedurende 24 uur is te zien in figuur 21. Het aantal *S. littoralis* nam af volgens een kwadratisch verband in de tijd ($R^2 = 0,95$ voor de factoren tijd en beginaantal werksters).

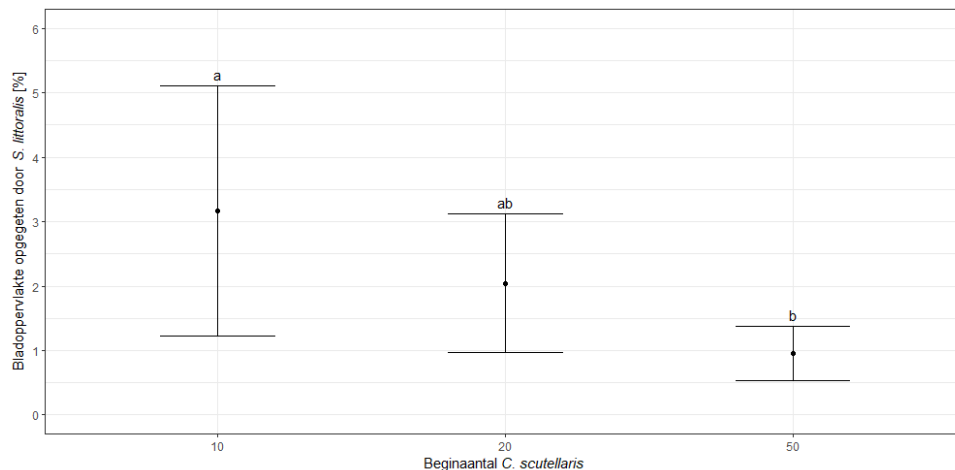


Figuur 21: Gemiddelde afname ($\pm$ standaardafwijking) van het aantal *S. littoralis* gedurende 24 uur voor de drie behandelingen met verschillende beginaantallen *C. scutellaris*.

Het gemiddelde aantal *S. littoralis* ($\pm$ standaardafwijking) na 24 uur was voor de behandelingen met tien, twintig en vijftig *C. scutellaris* respectievelijk $0,50 \pm 0,55$, $0,167 \pm 0,408$ en 0 ± 0 . Om de snelheid van de predatie door de werksters te evalueren, werd na 7 en 24 uur getest op een verschil in het aantal *S. littoralis* die nog in leven waren op het einde van het experiment. Noch na 7 uur (one-way ANOVA, $p = 0,0792$), noch na 24 uur (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 6,8$, $p = 0,033$ en post-hoc analyse via Dunn's test: beginaantallen tien versus twintig $p = 0,072$, beginaantallen tien versus vijftig $p = 0,072$ en beginaantallen twintig vs. vijftig, $p = 1$) waren significante verschillen aanwezig. Tijdens het observeren van het predatiegedrag van *C. scutellaris* was te zien hoe *S. littoralis* zich ter verdediging aan een zelfgesponnen draad liet hangen om te ontkomen. Als de werkster lang genoeg in de nabijheid van de larve bleef, liet deze laatste zich definitief vallen. Naast directe predatie was dus verjaging een strategie om de larven van de plant te verdrijven.

Vervolgens werd de schade aan de bladeren van de bonenplant veroorzaakt door *S. littoralis* beoordeeld in ImageJ. Het stukbijten van bladeren door *C. scutellaris* zoals beschreven door Everaert (2021) werd niet geobserveerd. De gemiddelde schade voor beide bladeren per plant werd uitgedrukt in percentage bladoppervlakte weggevreten na 24 uur. Voor de herhalingen van tien, twintig en vijftig *C. scutellaris* bedroeg dit respectievelijk $3,17 \pm 1,95\%$, $2,05 \pm 1,08\%$ en $0,95 \pm 0,42\%$, zoals te zien in figuur 22. Een one-way ANOVA toonde aan

dat de schade significant verschild ($F(2,15) = 4,297$; $p = 0,0335$). De *Tukey's HSD* post-hoc analyse toonde een significant verschil aan in schade tussen de behandelingen met tien en vijftig werksters ($p = 0,026$) en geen verschillen tussen de behandelingen met tien en twintig ($p = 0,326$) en twintig en vijftig werksters ($p = 0,343$).



Figuur 22: Gemiddelde schade ($\pm$ standaardafwijking) [%] aan de twee bladeren van elke bonenplant voor de drie behandelingen met verschillende beginaantallen *C. scutellaris*. Het percentage geeft de verhouding weer van de bladoppervlakte die werd weggevreten door *S. littoralis* op de totale bladoppervlakte. Gemiddelden met dezelfde letter verschillen niet significant van elkaar.

3.3 Experiment 3: Effect van de interactie tussen *Chrysoperla carnea* en *Crematogaster scutellaris* op de predatie van *Spodoptera littoralis* in laboratoriumomstandigheden

Een overzicht van de resultaten is te zien in tabel 4.

Tabel 4: Resultaat van het finale laboratoriumexperiment. Het gemiddelde aantal levende individuen voor *C. scutellaris*, *C. carnea* en *S. littoralis* na 24 uur ($\pm$ standaardafwijking) is weergegeven voor elke behandeling. Behandelingen 1 en 3 zijn de controlegroepen die betrekking hebben op het overleven van de predatoren in afwezigheid van prooien.

Behandeling	Aantal levende <i>C. scutellaris</i>	Aantal levende <i>C. carnea</i>	Aantal levende <i>S. littoralis</i>
1: 10 <i>C. carnea</i>	0	6,00 $\pm$ 1,73	0
2: 10 <i>C. carnea</i> + 10 <i>S. littoralis</i>	0	2,60 $\pm$ 1,95	3,00 $\pm$ 2,45
3: 10 <i>C. scutellaris</i>	9,60 $\pm$ 0,89	0	0
4: 10 <i>C. scutellaris</i> + 10 <i>S. littoralis</i>	8,40 $\pm$ 1,52	0	1,00 $\pm$ 1,73
5: 5 <i>C. scutellaris</i> + 5 <i>C. carnea</i> + 10 <i>S. littoralis</i>	4,60 $\pm$ 0,55	1,60 $\pm$ 1,14	0,80 $\pm$ 1,79

Het gemiddelde aantal werksters na 24 uur was $9,60 \pm 0,89$ in de controlebehandeling met enkel *C. scutellaris*, $8,40 \pm 1,52$ in de behandeling met *C. scutellaris* en *S. littoralis* en $4,60 \pm 0,55$ in de behandeling met *C. scutellaris*, *C. carnea* en *S. littoralis*. Een Wilcoxon rank-sum test wees uit dat het verschil in overleving tussen de behandelingen met enkel *C. scutellaris* versus *C. scutellaris* en *S. littoralis* niet significant verschillend was ($p = 0,192$). De overleving van de werksters uitgedrukt in percentage was gemiddelde $96,0 \pm 8,9\%$ over alle behandelingen waar *C. scutellaris* aanwezig was heen.

Om de predatie van *S. littoralis* door *C. scutellaris* te beoordelen werd een one-way ANOVA uitgevoerd waarbij de behandelingen met *S. littoralis* en *C. carnea* in aan- of afwezigheid van *C. scutellaris* vergeleken werden. Een one-way ANOVA ($F(1,8) = 2,22$ en $p = 0,174$) toonde aan dat er geen significant verschil was in het aantal *S. littoralis* nog op het einde van de proef aanwezig op het blad.

Het gemiddelde aantal *C. carnea* na 24 uur was $6,00 \pm 1,73$ in de controlebehandeling met enkel *C. carnea*, $2,60 \pm 1,95$ in de behandeling met *C. carnea* en *S. littoralis* en $1,6 \pm 1,14$ in de behandeling met *C. carnea*, *C. scutellaris* en *S. littoralis*. Een Wilcoxon rank-sum test gaf aan dat er een significant verschil is in het aantal *C. carnea* in leven op het einde van het experiment in de behandelingen met enkel *C. carnea* versus met *C. carnea* en *S. littoralis* ($p = 0,023$). Het gemiddelde overlevingspercentage van *C. carnea* over de drie behandeling waar de soort aanwezig was heen, was $60,0 \pm 17,3\%$.

Om de predatie van *S. littoralis* door *C. carnea* te beoordelen werden de behandelingen met *S. littoralis* en *C. scutellaris* in aan- of afwezigheid van *C. carnea* vergeleken. Een Wilcoxon rank-sum test toonde geen significante verschillen in het aantal *S. littoralis* op het einde van de proef ($p = 0,699$).

Tenslotte werd via een one-way ANOVA de interactie tussen de predatoren *C. carnea* en *C. scutellaris* op de bestrijding van *S. littoralis* onderzocht. Het aantal *S. littoralis* op het einde van de proef was niet significant verschillend tussen de drie behandelingen ($F(2,12) = 1,82$ en $p = 0,204$). Tijdens observaties van de interactie tussen beide predatoren werd opgemerkt hoe beide elkaar voornamelijk mijden. Bij een ontmoeting tussen een werkster en een larve van *C. carnea* zette de werkster na contact haar pad onmiddellijk verder in een andere richting.

3.4 Experiment 4: Interactie tussen *Chrysoperla carnea* en *Crematogaster scutellaris* op de predatie van *Spodoptera littoralis* in een serre

Een overzicht van de resultaten van de serreproef is te zien in tabel 5.

Op het einde van de proef werden de planten destructief bemonsterd om het aantal *C. scutellaris*, *C. carnea* en *S. littoralis* dat na tien dagen nog in leven was te tellen. In behandelingen 2, 4, 5 en 7 bedroeg het aantal werksters respectievelijk gemiddeld ($\pm$ standaardafwijking) $402,6 \pm 44,3$, $449,2 \pm 18,1$, $412,6 \pm 26,1$ en $446,8 \pm 17,8$. Het aantal werksters was significant verschillend ($F(3,16) = 3,417$, $p = 0,043$) volgens een one-way ANOVA, maar er waren

Tabel 5: Gemiddelde aantallen ($\pm$ standaardafwijking) *C. scutellaris*, *C. carnea* (stadium L2, L3 of popstadium) en *S. littoralis* (L4 of L5) na tien dagen. Daarnaast, het gemiddelde aantal bladeren met vraatschade en het percentage bevuiling van de watten na beoordeling in ImageJ op het einde van de proef.

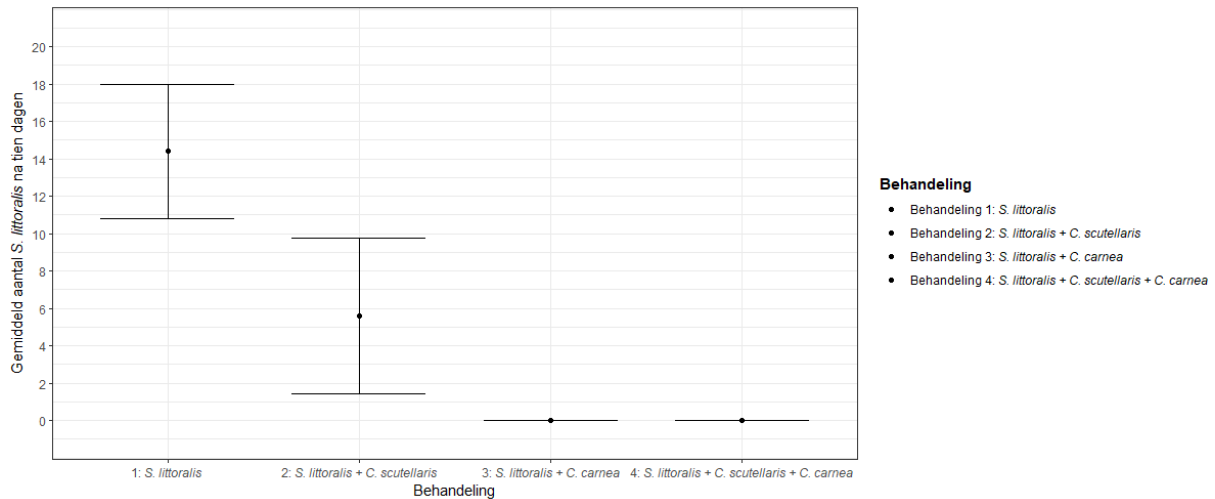
Behandeling	Gemiddeld aantal <i>C. scutellaris</i>	Gemiddeld aantal <i>C. carnea</i>	Gemiddeld aantal <i>S. littoralis</i>	Gemiddeld aantal bladeren met schade	Gemiddelde bevuiling [%]
0: Controle planten	0	0	0,2 $\pm$ 0,4	10,2 $\pm$ 4,4	0,31 $\pm$ 0,16
1: <i>S. littoralis</i>	0	0	14,2 $\pm$ 3,3	233,0 $\pm$ 37,8	1,87 $\pm$ 0,21
2: <i>S. littoralis</i> + <i>C. scutellaris</i>	402,6 $\pm$ 44,3	0	5,6 $\pm$ 4,2	113,6 $\pm$ 61,1	1,39 $\pm$ 1,16
3: <i>S. littoralis</i> + <i>C. carnea</i>	0	0,2 $\pm$ 0,4	0 $\pm$ 0	30,6 $\pm$ 18,4	0,76 $\pm$ 0,15
4: <i>S. littoralis</i> + <i>C. scutellaris</i> + <i>C. carnea</i>	449,2 $\pm$ 18,1	3,8 $\pm$ 3,6	0 $\pm$ 0	35,8 $\pm$ 10,5	2,02 $\pm$ 1,25
5: <i>C. scutellaris</i>	412,6 $\pm$ 26,1	0	0	15,8 $\pm$ 6,4	0,79 $\pm$ 0,53
6: <i>C. carnea</i>	0,2 $\pm$ 0,4	0,6 $\pm$ 0,5	0	7,4 $\pm$ 3,5	1,31 $\pm$ 0,85
7: <i>C. scutellaris</i> + <i>C. carnea</i>	446,8 $\pm$ 17,8	4,0 $\pm$ 2,5	0	8,2 $\pm$ 8,6	2,07 $\pm$ 0,31

volgens een *Tukey's HSD* post-hoc analyse geen aantoonbare verschillen tussen de behandelingen onderling. Één werkster uit behandeling 7 is erin geslaagd op het eiland van behandeling 6 terecht te komen. Het gemiddelde overlevingspercentage van de werksters over alle behandelingen heen waarin gestart werd met 500 werksters, was 85,6 $\pm$ 6,7%. Na afloop van de proef werd vastgesteld dat bij sommige herhalingen het merendeel van de kolonie zich nog in het artificieel nest bevond. In herhalingen waar dit niet het geval was, waren de overige werksters verspreid over het eiland. De meeste werksters gaven hierbij de voorkeur aan de steen die op het eiland was gelegd. Bovendien hadden werksters in enkele gevallen dode takken aan de voet van de chrysanten uitgehold.

Het gemiddelde aantal larven en poppen ($\pm$ standaardafwijking) van *C. carnea* na afloop van de proef was voor behandelingen 3, 4, 6 en 7 respectievelijk 0,2 $\pm$ 0,4, 3,8 $\pm$ 3,6, 0,6 $\pm$ 0,5 en 4,0 $\pm$ 2,5. Een *Welch's ANOVA test* toonde een globaal significant verschil tussen de behandelingen ($F(3,8) = 4,587$, $p = 0,0376$). Een *Unequal Variance Pairwise t-test* toonde echter geen verschillen tussen de behandelingen onderling. Het gemiddelde overlevingspercentage over alle behandelingen heen waarin gestart werd met 25 *C. carnea* was 8,6 $\pm$ 10,1%.

Het gemiddelde aantal *S. littoralis* ($\pm$ standaardafwijking) na afloop was voor behandelingen 1, 2, 3 en 4 respectievelijk 14,2 $\pm$ 3,3, 5,6 $\pm$ 4,2, 0 $\pm$ 0 en 0 $\pm$ 0. Het aantal *S. littoralis* na tien dagen is te zien in figuur 23. Een *Kruskal-Wallis test* wees op significante verschillen ($\chi^2 = 16,56$, $p = 8,69 \cdot 10^{-4}$). Door middel van een *Dunn's test* was te zien hoe behandelingen 1 en 2 ($p = 0,0033$) alsook 1 en 4 ($p = 0,0033$) significant van elkaar verschillen. Één larve van *S. littoralis* uit behandeling 1 was erin geslaagd op het naburige eiland van behandeling 0 terecht te komen. Het voorkomen van andere predatoren dan *C. carnea* en *C.*

scutellaris op de chrysanten deden de overlevingsgraad van *S. littoralis* in de controlegroep lager uitvallen dan verwacht. Drie soorten spinnen aanwezig op de chrysanten zijn geïdentificeerd als mogelijke predatoren van *S. littoralis*. Het zwartgatje (*Ostearius melanopygius*) was het talrijkst aanwezig, daarnaast werden ook de kasspringspin (*Hasarius adansoni*) en de kaskaardespinnen (*Uloborus plumipes*) teruggevonden.



Figuur 23: Gemiddelde aantal levende *S. littoralis* (±standaardafwijking) na tien dagen in de controlebehandeling (behandeling 1) en in de behandelingen met predatoren (behandelingen 2, 3 en 4).

Uit een two-way ANOVA bleken zowel *C. scutellaris* ($F(1,17) = 7,58$, $p = 0,0136$) als *C. carnea* ($F(1,17) = 39,13$, $p = 8,7 \cdot 10^{-6}$) een significant effect uit te oefenen op het eindaantal *S. littoralis*. In figuur 24 is te zien hoe twee werksters van *C. scutellaris* een larve van *S. littoralis* aanvallen minuten na de start van het experiment.



Figuur 24: Predatie door twee werksters van *C. scutellaris* op *S. littoralis* net na de start van het experiment.

De schade aan de bladeren werd opgevolgd door het totale aantal bladeren met schade per eiland te tellen. Het typische schadepatroon is te zien in figuur 25. Een vermoeden van een lineair verband tussen het aantal bladeren met schade en het eindaantal *S. littoralis* na tien dagen werd bevestigd in een lineair model ($p < 2 \cdot 10^{-16}$, $R^2 = 0,94$). Het aantal bladeren met schade verschilde volgens een *Kruskal-Wallis test* significant tussen de verschillende behandelingen ($\chi^2 = 29,71$, $p = 1,1 \cdot 10^{-4}$). Drie paren van behandelingen vielen te differentiëren op basis van een *Dunn's test*: behandelingen 0 en 1 ($p = 0,012$), 1 en 6 ($p = 0,0016$) en 1 en 7 ($p = 0,0015$). Tussen de overige behandelingen waren de verschillen niet significant. Naast *S. littoralis* bleek nog een andere soort rups aanwezig op de chrysanten. Deze werd na afloop van het experiment gedetermineerd als de duponcheliامت (*Duponchelia fovealis*).



Figuur 25: Typische schadepatroon veroorzaakt door bladvraat van *S. littoralis*.

Bevuiling van de watten werd verondersteld grotendeels veroorzaakt te worden door de uitwerpselen van *S. littoralis*. Er werd onderzocht of de bevuiling verband hield met het aantal *S. littoralis* op het einde van de proef. De behandelingen verschilden significant volgens een *Kruskal-Wallis test* ($\chi^2 = 22,73$ en $p = 0,0019$). Na het uitvoeren van een *Dunn's test* bleek enkel tussen de behandelingen 0 en 1 een significant verschil in bevuiling aanwezig.

4 Discussie

Uit experimenten 1 en 2 werd geconcludeerd dat tien werksters van *C. scutellaris* en tien *C. carnea* (L2-stadium) de minimale aantallen zijn om tien *S. littoralis* (L2-stadium), een 1:1 verhouding, binnen een periode van 24 à 30 uur uit te schakelen in een beperkte laboratoriumarena. Hierbij verliep de afname door predatie van het aantal *S. littoralis* door *C. carnea* lineair, terwijl dat voor *C. scutellaris* kwadratisch verliep. Wat betreft de snelheid van de bestrijding scoorde *C. scutellaris* op basis van die trends beter dan *C. carnea*. Een mogelijke verklaring is het kannibalistische gedrag van *C. carnea*, zelfs in aanwezigheid van *S. littoralis*. Voor *C. scutellaris* resulteerden de drie predatordensiteiten op het einde van het experiment in een quasi volledige bestrijding van *S. littoralis*. Waarop het beginaantal *C. scutellaris* wel een invloed had, was de hoeveelheid bladvraat door *S. littoralis*. Hoe meer werksters, hoe lager de verhouding aangetaste bladoppervlakte en hoe kleiner de variatie op de bladvraat. Het groter aantal predatoren zorgde wellicht voor een hogere frequentie van contact tussen predator en prooi waardoor *S. littoralis* vaker werd verhinderd zich te voeden.

In het derde laboratoriumexperiment werd het effect van de interactie tussen *C. carnea* en *C. scutellaris* op de bestrijding van *S. littoralis* van naderbij bekeken. Het aantal *S. littoralis* bleek niet significant verschillend tussen de behandelingen met tien *C. carnea*, tien *C. scutellaris* of vijf van beide volgens een two-way ANOVA. *C. scutellaris* vertoonde een hoger overlevingspercentage (gemiddeld $96,0 \pm 8,9\%$) over alle behandelingen waar werksters aanwezig waren heen, terwijl dit voor *C. carnea* slechts $60,0 \pm 17,3\%$ was. Dit weerspiegelde het contrast tussen het coöperatieve gedrag van *C. scutellaris* en de kannibalistische aard van *C. carnea* in een weliswaar beperkte laboratoriumarena.

Uit de resultaten van de laboratoriumexperimenten kon niet afgeleid worden dat *C. scutellaris* een minder goede bestrijder is dan *C. carnea*. De drie experimenten zijn echter gebaseerd op relatief kleine aantallen predatoren en prooien, omwille van de beperkte afmeting van de foerageerzone. De resultaten voor de verschillende behandelingen binnen elk experiment zijn bijgevolg niet altijd eenvoudig te onderscheiden. Het aantal arena's opdrijven is praktisch niet haalbaar, omwille van de benodigde tijd om elke arena samen te stellen. In toekomstige experimenten dient de keuze zich op voor een andere opstelling die toelaat grotere aantallen predatoren en prooien te gebruiken, waardoor voldoende statistische bewijskracht kan worden gegarandeerd.

In het vierde en laatste experiment werd getracht de resultaten van het finale laboratoriumexperiment in veldomstandigheden te valideren. Het systeem van de eilanden slaagde in de opzet om de predatoren en prooien op hun eiland te houden, slechts één werkster van *C. scutellaris* en één larve van *S. littoralis* bereikten een ander eiland. *C. scutellaris* compenseert voor haar geringe omvang door het aantal waarmee ze aanvallen (Blaise et al., 2021). Tijdens het manipuleren van de werksters viel op hoe ze onmiddellijk massaal ten aanval trokken wanneer hun territorium geschonden wordt. De angel van *C. scutellaris* is niet aangepast om te steken. De werksters beten zich wel met hun mandibels sporadisch vast in de latex handschoenen om het tellen te vergemakkelijken. In de serreomgeving

bleef de overlast beperkt tot het afschudden van de werksters van de handen. Het toepassen in de praktijk door telers zou daarom in dat opzicht werkbaar moeten zijn.

In de controlebehandeling viel de mortaliteit van *S. littoralis* hoger uit dan verwacht. Dit viel te verklaren door de aanwezigheid van spinnen, voornamelijk *O. melanopygius*. *C. scutellaris* vertoonde een tien keer groter overlevingspercentage dan *C. carnea* ($85,6 \pm 6,7\%$ vs. $8,6 \pm 10,1\%$). In de behandeling met enkel *C. carnea* bleef slechts één *C. carnea* in leven over alle herhalingen heen. In de behandeling met de combinatie van de twee predatoren werden in de verschillende herhalingen één, twee, vier, vijf en zeven gaasvlieglarven teruggevonden. In deze behandeling met de combinatie van *C. carnea* en *C. scutellaris* hadden de gaasvlieglarven zich wellicht ook gevoed met mieren. Een significant verschil in aantal overlevende gaasvlieglarven tussen deze twee behandelingen kon echt niet worden aangetoond. Hoewel in beide behandelingen alle *S. littoralis* werden bestreden, zou het overblijven van enkele *C. carnea* en de blijvende aanwezigheid van *C. scutellaris* een grotere garantie kunnen bieden op het onder controle houden van nieuwe besmettingen door *S. littoralis*. Hierdoor zou het gelijktijdig behandelen met beide predatoren gunstiger zijn, dan enkel te behandelen met *C. carnea*. Om dit aan te tonen is verder onderzoek noodzakelijk.

In interactie met *C. carnea* werd van *C. scutellaris* een agressieve, dominante respons verwacht. De voornaamste gedragsrespons van de werksters na een contact met *C. carnea* was zich omkeren. Uit observatie bleek dat *S. littoralis* zich bij bedreiging door een werkster liet hangen van het blad om buiten bereik te blijven, of zich liet vallen. Het verwijderen van *S. littoralis* van de planten door *C. scutellaris* gebeurde dus zowel door predatie als door verjaging. Het aantal *S. littoralis* in de behandeling met enkel *C. scutellaris* viel statistisch niet van de controlebehandeling te onderscheiden. Bestrijding van *S. littoralis* met *C. scutellaris* resulteerde in wisselende resultaten: van de twintig uitgezette *S. littoralis* waren er in de vijf herhalingen na tien dagen nog nul, vier, vijf, acht en elf in leven.

De reden voor de wisselvallige predatie door *C. scutellaris* is onbekend. Op kolonieschaal is predatie een proces dat aangestuurd wordt door de beschikbaarheid aan nutriënten (Grover et al., 2007). Water en koolhydraten waren ad libitum aanwezig tijdens de serreproef. Door broed aan het artificiële nest toe te voegen werd getracht het predatiegedrag van de werksters te stimuleren, aangezien het broed eiwitten vereist en de werksters enkel met koolhydraten kunnen overleven (Dussutour & Simpson, 2009). Verschillende andere factoren beïnvloeden het predatiegedrag van mieren. Er is aangetoond hoe ervaringen uit voorgaande gevechten (Ravary et al., 2007; van Wilgenburg et al., 2009), de morfologie en de rolverdeling van een werkster binnen de kolonie (Parmentier et al., 2015), de productiviteit van een kolonie (Modlmeier & Foitzik, 2011) en de aanwezigheid van een koningin (Vander Meer & Alonso, 2002) de agressiviteit binnenin en tussen kolonies sturen. Verder onderzoek dient uit te wijzen of deze factoren ook bij *C. scutellaris* een cruciale rol vervullen.

Predatie diende ook relatief snel op te treden tijdens het experiment. Werksters van *C. scutellaris* zijn ongeveer 3,5-5,2 mm groot, weinig verschillend van *S. littoralis* in het tweede larvale stadium aan het begin van het experiment. Na tien dagen kan *S. littoralis* 40 mm groot zijn en zijn de larven veel beter in staat om aanvallen van *C. scutellaris* af te weren. Ze doen dit door het voorste gedeelte van hun lijf in de lucht te steken en bruusk te bewegen

om de werksters van zich af te werpen, door wild op te krullen of enkele keren om hun lengteas te rollen. In het L5-stadium zijn hun mandibels waarmee ze zich verdedigen sterk ontwikkeld ten opzichte van het begin van de proef. Dat de werksters geïntroduceerd werden in een compleet nieuwe omgeving kan in het begin van de proef een verstoring van hun chemische communicatiekanalen veroorzaken. Dat de larven zo exponentieel groeien speelt daarom in het nadeel van *C. scutellaris*. Dit is tegenstrijdig met de resultaten van de laboratoriumexperimenten, waar bestrijding door *C. scutellaris* sneller plaatsvond dan door *C. carnea*. Hieruit viel niet af te leiden dat een nieuwe omgeving het predatiegedrag van de werksters verstoort.

De bladvraat in de controlebehandelingen was het gevolg van een aantasting door rupsen van *D. fovealis*. Deze rupsen kwamen over alle behandelingen voor, wat erop wijst dat zowel *C. carnea* als *C. scutellaris* er niet in geslaagd waren deze te bestrijden. Het aantal beschadigde bladeren in functie van het aantal *S. littoralis* aan het einde van de proef bleek een sterk lineair verband ($R^2 = 0,94$) te volgen. De economische schadedrempel in siergewassen is laag en het aantal beschadigde bladeren dient minimaal te zijn. In behandelingen waar *C. carnea*, zowel in aan- als afwezigheid van *C. scutellaris*, predeerde op *S. littoralis* lag het gemiddelde aantal bladeren met schade per eiland respectievelijk vier en zeven keer lager dan in de behandeling met *C. scutellaris* en de controle met *S. littoralis*. De behandelingen waren echter niet van elkaar te onderscheiden door de grote variatie op de gemiddelde aantallen. In de behandeling waar *C. scutellaris* predeerde op *S. littoralis* was de standaardafwijking het grootst, een gevolg van de wisselvallige predatieresultaten. In overstemming met de schadebeoordeling in experiment 2, waar een groter aantal werksters zorgde voor minder schade en een kleinere variatie, zou een groter aantal werksters overwogen kunnen worden.

De bevuiling van de watten bleek geen adequate parameter voor de aantasting door *S. littoralis*. Uit observatie bleken naast bevuiling door de uitwerpselen van *S. littoralis* twee bijkomende factoren bevuiling te veroorzaken. Enerzijds verwijderde *C. scutellaris* kurk uit het nest dat op de watten viel, anderzijds bleef er bij het optillen van de planten potgrond achter op de watten.

Van Butsele (2020) toonde het effect van verschillende temperaturen op de activiteit en de mortaliteit van *C. scutellaris*. Bij temperaturen onder de 18°C werd een verhoogde mortaliteit van de werksters geobserveerd. Een maximale predatie op Californische trips werd geobserveerd tussen de 22°C en 30°C. Dit komt overeen met de bevindingen van Soulié (1956a), die de optimale temperatuur rond de 25°C situeert. Tijdens de eerste uitvoering van het experiment viel op dat de minimumtemperatuur (16,6°C) suboptimaal is voor *C. scutellaris*. Dit kan een verklaring zijn voor de grotere overlevingsgraad van *C. scutellaris* in behandelingen 4 en 7 (tweede periode) ten opzichte van behandelingen 2 en 5 (eerste periode). Daarnaast leunde de gemiddelde temperatuur tijdens de tweede periode (24,7°C) dichter aan bij de optimale dan deze in de eerste periode (22,5°C). Het verloop van de klimaatparameters reflecteert de sterke fluctuaties in de veldomstandigheden. Alhoewel er slechts enkele dagen lagen tussen beide uitvoeringen van het experiment, is het verschil in temperatuur tussen beide relatief groot. Toekomstige experimenten dienen in één keer uitgevoerd te worden om deze variatie voor alle behandelingen gelijk te stellen.

5 Conclusie

Dit onderzoek focuste op het potentieel van de mierensoort *Crematogaster scutellaris* als biologische bestrijder van de katoenuil (*Spodoptera littoralis*) en de interactie met een gevestigde waarde onder de biologische bestrijders, de groene gaasvlieg (*Chrysoperla carnea*). Uit de literatuur blijkt dat *C. scutellaris*, zoals andere mierensoorten, bepaalde eigenschappen vertoont die een voordeel kunnen zijn bij het inzetten als biologische bestrijder zoals polyfagie, territorialiteit, coöperatie tussen individuen en hoge verzadigingsniveau's. De resultaten van laboratoriumexperimenten tonen aan dat *C. scutellaris* en *C. carnea* bij dezelfde plaag:prooi populatieverhouding, nl. 1:1, in staat zijn *S. littoralis* te bestrijden. Als een gevolg van de grootte van de foerageerzone werden voor de laboratoriumexperimenten enkel kleine populaties aan predatoren en prooien gebruikt, wat behalve indicaties weinig statistisch differentiatievermogen biedt.

In de serreproef werden grotere populaties gebruikt en is getracht de laboratoriumresultaten te valideren. Werksters van *C. scutellaris* hebben als voordeel dat ze een tienmaal hoger overlevingspercentage hebben in serreomstandigheden dan *C. carnea* larven ($85,6 \pm 6,7\%$ vs. $8,6 \pm 10,1\%$). De bestrijding van *S. littoralis* enkel door *C. scutellaris* was geen succes. Na tien dagen waren er van de oorspronkelijk twintig *S. littoralis* L2-larven nog gemiddeld $5,6 \pm 4,2$ in leven, wat niet statistisch significant verschillend was van de controlebehandeling met enkel *S. littoralis* ($14,2 \pm 3,3$). Enkel in de behandelingen waar *C. carnea* aanwezig was, al dan niet in combinatie met *C. scutellaris*, zijn de twintig larven van *S. littoralis* na tien dagen volledig verdwenen. Het aantal bladeren met schade per eiland bleek een goede parameter voor het aantal larven van *S. littoralis* na tien dagen, de bevuiling van de watten niet.

De praktische implementatie van *C. scutellaris* als biologische bestrijder staat op punt. Het kweken van de kolonies in laboratoriumomstandigheden, het verzamelen en uitzetten is relatief eenvoudig. De interactie met *C. carnea* bleek, tegen de verwachting in, neutraal tot positief te zijn. Werksters van *C. scutellaris* vertonen geen dominant gedrag tegenover larven van *C. carnea*. In veldomstandigheden leek *C. carnea* een hoger overlevingspercentage te vertonen in aanwezigheid van *C. scutellaris* in ten opzichte van wanneer *C. carnea* alleen werd ingezet, zonder daar statistisch bewijs voor te vinden. Voor *C. scutellaris* leek voornamelijk de temperatuur een effect te hebben op de overleving en de predatiecapaciteit.

Achter het gebruik van *C. scutellaris* als biologische bestrijder staan vooralsnog vraagtekens doordat de resultaten van de predatie wisselvallig zijn. Het houden van de soort in artificiële nesten, het transporteren en het uitzetten in een serre staan wel al op punt. In de toekomst dient verder onderzocht te worden welke factoren de predatie beïnvloeden en hoe deze kunnen worden gestuurd.

Literatuur

- Abo-el-Ghar, M. R., Nassar, M. E., Riskalla, M. R. en Abd-El-Ghafar, S. F. (1986). Rate of development of resistance and pattern of cross-resistance in fenvalerate and decame-thrin resistant strains of *S. littoralis*. *Agricultural Research Review*, 61, 141-145.
- Adham, F. K., Rashad, E. M., Shoukry, I. F. en Nasr, E. E. (2009). Host plants shifting affects the biology and biochemistry of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 2, 63-71.
- Ant Flights. (2021). *Worldwide ant nuptial flights data*. Verkregen van <https://antflights.com/stats/flights/Crematogaster/scutellaris>
- Arnan, X. en Blüthgen, N. (2015). Using ecophysiological traits to predict climatic and activity niches: lethal temperature and water loss in Mediterranean ants. *Global Ecology and Biogeography*, 24, 1454-1464.
- Atlihan, R., Kaydan, B. en Özgökçe, M. S. (2004). Feeding activity and life history characteristics of generalist predator, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) at different prey densities. *Journal of Pest Science*, 77, 17-21. doi: 10.1007/s10340-003-0021
- Aydin, H. en Gürkan, M. O. (2006). The efficacy of spinosad on different strains of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Turkish Journal of Biology*, 30, 5-9.
- Baker, B., Green, T. en Loker, A. (2020). Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biological Control*, 140, 207-239. doi: 10.1016/j.biocontrol.2019.104095
- Baker, C. en Miller, G. (1974). Some effects of temperature and larval food on the development of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep., Noctuidae). *Bulletin of Entomological Research*, 63, 495-511.
- Baker, K. F. en Cook, R. J. (1974). *Biological control of plant pathogens*.
- Balasubramani, V. en Swamiappan, M. (1994). Development and feeding potential of the green lacewing *Chrysoperla carnea* Steph. (Neur. Chrysopidae) on different insect pests of cotton. *Anzeiger für Schädlingkunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 67, 165-167.
- Bale, J., van Lenteren, J. C. en Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363, 761-776. doi: 10.1098/rstb.2007.2182
- Bar, D. en Gerling, D. (1985). Cannibalism in *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera, Chrysopidae). *Israel Journal of Entomology*, 19, 13-22.
- Barratt, B., Howarth, F., Withers, T., Kean, J. en Ridley, G. (2010). Progress in risk assessment for classical biological control. *Biological Control*, 52, 245-254. (Australia and New Zealand Biocontrol Conference) doi: 10.1016/j.biocontrol.2009.02.012
- Batool, A., Abdullah, K., Mamoon-ur-Rashid, M., Khan Khattak, M. en Abbas, S. (2014). Effect of prey density on biology and functional response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Pakistan Journal of Zoology*, 46, 129-137.
- Bay, T., Hommes, M. en Plate, H.-P. (1993). *Die florfleie Chrysoperla carnea (Stephens): Überblick über systematik, verbreitung, biologie, zucht und anwendung*. Berlin: Parey. doi: 10.5073/20210629-131801
- Bayoumi, A. E., Balana-Fouce, R., Sobeiha, A. K. en Hussein, M. K. (1998). The biological

- activity of some chitin synthesis inhibitors against the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval), (Lepidoptera: Noctuidae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 24, 499-506.
- Beilhe, L. B., Piou, C., Tadu, Z. en Babin, R. (2018). Identifying ant-mirid spatial interactions to improve biological control in cacao-based agroforestry system. *Environmental Entomology*, 47, 551-558. doi: 10.1093/ee/nvy018
- Benfarhat-Touzri, D., Amira, A. B., Khedher, S. B., Givaudan, A., Jaoua, S. en Tounsi, S. (2014). Combinatorial effect of *Bacillus thuringiensis kurstaki* and *Photorhabdus luminescens* against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Basic Microbiology*, 54, 1160-1165.
- Bernard, F. (1968). *Les fourmis (Hymenoptera Formicidae) d'Europe occidentale et septentrionale (Faune de l'Europe et du bassin Méditerranéen, 3)*. Masson, Paris.
- Bielza, P. (2008). Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Pest Management Science*, 64, 1131-1138. doi: 10.1002/ps.1620
- Billen, J. en Morgan, D. (1997). Pheromone communication in social insects: Sources and secretions. In R. K. Vander Meer, M. D. Breed, M. L. Winston en K. E. Espelie (red.), *Pheromone communication in social insects: Ants, wasps, bees, and termites* (p. 3-33). Boulder, CO, USA: Westview Press.
- Blaimer, B. B. (2012). Acrobat ants go global – origin, evolution and systematics of the genus *Crematogaster* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65, 421-436. doi: 10.1016/j.ympev.2012.06.028
- Blaise, C., Mazzia, C., Bischoff, A., Millon, A., Ponel, P. en Blight, O. (2021). The key role of inter-row vegetation and ants on predation in Mediterranean organic vineyards. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 311, 107327. doi: 10.1016/j.agee.2021.107327
- Blomquist, G. en Bagnères, A. (2010). *Insect hydrocarbons: Biology, biochemistry, and chemical ecology*. Cambridge University Press. doi: 10.1017/CBO9780511711909
- Boer, P. en Vierbergen, B. (2008). Exotic ants in the Netherlands (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologische Berichten*, 68, 121-129.
- Bonavita-Cougourdan, A., Clément, J. L. en Lange, C. (1987). Nestmate recognition: the role of cuticular hydrocarbons in the ant *Camponotus vagus* Scop. *Journal of Entomological Science*, 22, 1-10.
- Bortolotti, L., Sbrenna, A. M. en Sbrenna, G. (2005). Action of fenoxycarb on metamorphosis and cocoon spinning in *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae): identification of the JHA-sensitive period. *European Journal of Endocrinology*, 102, 27-32.
- Brownbridge, M., Saito, T. en Cote, P. (2012). Developing a biologically-based IPM program for western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) in greenhouse floriculture. *IOBC/WPRS Bulletin*, 68, 21-24.
- Bueno, V. en van Lenteren, J. (2010). Biological control of pests in protected cultivation: implementation in Latin America and successes in Europe. *XXXVII Congreso Sociedad Colombiana de entomología, 2-7 July 2010, Bogotá, Colombia*, 261-269.
- CABI. (2020). *Spodoptera littoralis* (cotton leafworm). Verkregen van <https://www.cabi.org/isc/datasheet/51070>
- Calabuig, A. G., Tena, A., Wäckers, F. L., Fernández-Arrojo, L., Plou, F. J., García-marí, F. en Pekas, A. (2015). Ants impact the energy reserves of natural enemies through the

- shared honeydew exploitation. *Ecological Entomology*, 40, 687-695. doi: 10.1111/een.12237
- Calvo, F. J., Bolckmans, K. J. F. en Belda, J. E. (2012). Biological control-based IPM in sweet pepper greenhouses using *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae). *Biocontrol Science and Technology*, 22, 1398-1416. doi: 10.1080/09583157.2012.731494
- Camacho, L. F. en Avilés, L. (2019). Decreasing predator density and activity explains declining predation of insect prey along elevational gradients. *The American Naturalist*, 194, 334-343.
- Campion, D. en Hosny, M. (1987). Biological, cultural and selective methods for control of cotton pests in Egypt. *International Journal of Tropical Insect Science*, 8, 803-805.
- Carroll, C. R. en Risch, S. J. (1984). The dynamics of seed harvesting in early successional communities by a tropical ant, *Solenopsis geminata*. *Oecologia*, 61, 388-392.
- Casevitz-Weulersse, J. (1972). Habitats et comportement nidificateur de *Crematogaster scutellaris* Olivier [Hym. Formicidae]. *Bulletin de la Société entomologique de France*, 77, 12-19.
- Casevitz-Weulersse, J. (1979). Fondations indépendantes des colonies et parasitisme social chez les fourmis [Hym.]. *Bulletin de la Société entomologique de France*, 84, 218-232.
- Casevitz-Weulersse, J. (1983). Les larves de *Crematogaster (Acrocoelia) scutellaris* (Olivier) [Hym. Formicidae]. *Bulletin de la Société entomologique de France*, 88, 258-267.
- Castracani, C., Bulgarini, G., Giannetti, D., Spotti, F. A., Maistrello, L., Mori, A. en Grasso, D. A. (2017). Predatory ability of the ant *Crematogaster scutellaris* on the brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys*. *Journal of Pest Science*, 90, 1181-1190.
- Chen, B., Teh, B. S., Sun, C., Hu, S., Lu, X., Boland, W. en Shao, Y. (2016). Biodiversity and activity of the gut microbiota across the life history of the insect herbivore *Spodoptera littoralis*. *Scientific reports*, 6, 29505. doi: 10.1038/srep29505
- Choate, B. en Drummond, F. (2011, 06). Ants as biological control agents in agricultural cropping systems. *Terrestrial Arthropod Reviews*, 4, 157-180. doi: 10.1163/187498311X571979
- Costanza, R., d'Arge, R. en de Groot, R. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387, 253-260.
- Daloze, D., Braekman, J. C., Vanhecke, P., Boevé, J.-L. en Pasteels, J. M. (1987). Long chain electrophilic contact poisons from the dufour's gland of the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera, Myrmicinae). *Canadian Journal of Chemistry*, 65, 432-436.
- Daloze, D., Kaisin, M., Detrain, C. en Pasteels, J. M. (1991). Chemical defense in the three european species of *Crematogaster* ants. *Experientia*, 47, 1082-1089. doi: 10.1007/BF01923348
- Darwin, E. (1800). *Phytologia, or the philosophy of agriculture and gardening; with the theory of draining morasses and with an improved construction of the drill plough*.
- Daughtrey, M. en Buitenhuis, R. (2020). Integrated pest and disease management in greenhouse ornamentals. In M. L. Gullino, R. Albajes en P. C. Nicot (red.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops* (p. 625-681). doi: 10.1007/978-3-030-22304-5_22
- DeBach, P. (1964). *Biological control of insect pests and weeds*. London, Chapman & Hall Ltd.
- De Clercq, P., Mason, P. G. en Babenreier, D. (2011). Benefits and risks of exotic biological

- control agents. *Biocontrol*, 56, 681–698.
- De Courcy Williams, M. E. (2001). Biological control of thrips on ornamental crops: Interactions between the predatory mite *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae) and western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae), on cyclamen. *Biocontrol Science and Technology*, 11, 41-55. doi: 10.1080/09583150020029736
- Dejean, A., Djiéto-Lordon, C. en Orivel, J. (2008). The plant ant *Tetraponera aethiops* (Pseudomyrmecinae) protects its host myrmecophyte *Barteria fistulosa* (Passifloraceae) through aggressiveness and predation. *Biological Journal of the Linnean Society*, 93, 63-69. doi: 10.1111/j.1095-8312.2007.00927.x
- Delvare, G. en Rasplus, J.-Y. (1994). *Spodophagus*, a new genus of Pteromalidae (Hymenoptera), for an important parasite of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) in Madagascar. *Bulletin of Entomological Research*, 84, 191-197. doi: 10.1017/S0007485300039687
- de Moraes, G. J. en Tamai, M. A. (1999). Biological control of *Tetranychus* spp. on ornamental plants. *Acta Horticulturae*, 247-252.
- de Reaumur, R. A. (1734). *Mémoires pour servir à l'histoire des insectes*. Paris.
- De Souza, K. R., McVeigh, L. J. en Wright, D. J. (1992). Selection of insecticides for lure and kill studies against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 85, 2100-2106.
- Diamé, L., Rey, J.-Y., Vayssières, J.-F., Grechi, I., Chailleux, A. en Diarra, K. (2018). Ants: Major functional elements in fruit agro-ecosystems and biological control agents. *Sustainability*, 10, 23. doi: 10.3390/su10010023
- Donegan, K. en Lighthart, B. (1989). Effect of several stress factors on the susceptibility of the predatory insect, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), to the fungal pathogen *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 54, 79-84. doi: 10.1016/0022-2011(89)90143-2
- Doutt, R. L. (1958). Vice, virtue, and the vedalia. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 4, 119-123. doi: 10.1093/besa/4.4.119
- Duelli, P. (1984). Dispersal and opposition strategies in *Chrysoperla carnea*. *Progress in World's Neuropterology*, 133-145.
- Dussutour, A. en Simpson, S. J. (2009). Communal nutrition in ants. *Current Biology*, 19, 740-744.
- Dutton, A., Klein, H., Romeis, J. en Bigler, F. (2003). Prey-mediated effects of *Bacillus thuringiensis* spray on the predator *Chrysoperla carnea* in maize. *Biological Control*, 26, 209-215. doi: 10.1016/S1049-9644(02)00127-5
- Dutton, A. C., Klein, H., Romeis, J. en Bigler, F. (2002). Uptake of bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology*, 27, 441-447.
- Ehlers, R.-U. (2001). Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Applied microbiology and biotechnology*, 56, 623-633. doi: 10.1007/s002530100711
- Eilenberg, J., Hajek, A. en Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, 46, 387-400. doi: 10.1023/A:1014193329979
- El Arnaouty, S., Eweis, E., Emara, S. en Tabouzada, E. (2010). Effect of two compounds (tracer and nomolt) on cotton leafworm and two predators, *Chrysoperla carnea* (Stephens) and *Coccinella undecimpunctata* (L.). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*,

20, 167-170.

- El-Hawary, M. en Abd, E. (2009). Laboratory bioassay of some entomopathogenic fungi on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) larvae (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control*, 1, 1-4. doi: 10.21608/eajbsf.2009.17547
- El-Zemaity, M., El-Deeb, W., Osman, Y. en Hussien, A. (2003). Development of resistance of *Spodoptera littoralis* to certain bioinsecticides. *Journal of Environmental Sciences*, 6, 793-810.
- EPPO. (2021). *Spodoptera littoralis* (SPODLI). European and Mediterranean Plant Protection Organization.
- Eubanks, M. D., Blackwell, S. A., Parrish, C. J., Delamar, Z. D. en Hull-Sanders, H. (2002). Intraguild predation of beneficial arthropods by red imported fire ants in cotton. *Environmental Entomology*, 31, 1168-1174.
- Everaert, B. (2021). *Biologisch bestrijdingspotentieel van de mier Crematogaster scutellaris tegen plagen in kasteelten*. (Masterthesis Universiteit Gent)
- Flint, H. M., Salter, S. S. en Walters, S. (1979). Caryophyllene: an attractant for the green lacewing. *Environmental Entomology*, 8, 1123-1125. doi: 10.1093/ee/8.6.1123
- Folgarait, P. J., Gorosito, N. B., Poulsen, M. en Currie, C. R. (2011). Preliminary in vitro insights into the use of natural fungal pathogens of leaf-cutting ants as biocontrol agents. *Current Microbiology*, 63, 250-258.
- Frizzi, F., Ciofi, C., Dapporto, L., Natali, C., Chelazzi, G., Turillazzi, S. en Santini, G. (2015). The rules of aggression: How genetic, chemical and spatial factors affect intercolony fights in a dominant species, the Mediterranean acrobat ant *Crematogaster scutellaris*. *PLoS ONE*, 10, 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0137919
- Frizzi, F., Masoni, A., Ottonetti, L., Tucci, L. en Santini, G. (2020). Resource-dependent mutual association with sap-feeders and a high predation rate in the ant *Crematogaster scutellaris*: help or harm in olive pest control? *BioControl*, 601-611.
- Frizzi, F., Panichi, S., Rispoli, A., Masoni, A. en Santini, G. (2014). Spatial variation of the aggressive response towards conspecifics in the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera Formicidae). *Redia-Giornale Di Zoologia*, 97, 165-169.
- Frizzi, F., Rispoli, A., Chelazzi, G. en Santini, G. (2016). Effect of water and resource availability on ant feeding preferences: a field experiment on the Mediterranean ant *Crematogaster scutellaris*. *Insectes Sociaux*, 63, 565-574. doi: 10.1007/s00040-016-0500-4
- Frizzi, F., Santini, G., Natali, C., Chelazzi, G. en Ciofi, C. (2009). Characterization of polymorphic microsatellite loci in the ant *Crematogaster scutellaris*. *Conservation Genetics Resources*, 1, 425-428.
- Giannetti, D., Mandrioli, M., Schifani, E., Castracani, C., Spotti, F. A., Mori, A. en Grasso, D. (2021). First report on the acrobat ant *Crematogaster scutellaris* storing live aphids in its oak-gall nests. *Insects*, 12, 108. doi: 10.3390/insects12020108
- Gobin, B., Audenaert, J., Vissers, M., Delsen, B., Vlaeminck, M. en Pauwels, E. (2013). Broad mite control in woody ornamentals: Developing an integrated pest management solution. *Acta Horticulturae*, 990, 47-53. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.990.3
- Godfray, H. C. J., Agassiz, D. J. L., Nash, D. R. en Lawton, J. H. (1995). The recruitment of parasitoid species to two invading herbivores. *Journal of Animal Ecology*, 64, 393-402.
- Goetz, D. W. (2008). *Harmonia axyridis* ladybug invasion and allergy. *Allergy and Asthma*

- Proceedings*, 29, 123-131.
- Gonzalez, F., Tkaczuk, C., Mihaela Monica, D., Fiedler, Z., Vidal, S., Zchori-Fein, E. en Messelink, G. (2016). New opportunities for the integration of microorganisms into biological pest control systems in greenhouse crops. *Journal of Pest Science*, 89, 295–311. doi: 10.1007/s10340-016-0751-x
- Gradish, A. E., Scott-Dupree, C. D., Shipp, L., Harris, C. R. en Ferguson, G. (2011). Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents. *Pest Management Science*, 67, 82-86.
- Gritche, E. (2020). *Crematogaster scutellaris*. (Bron: flickr.com. © Alle rechten voorbehouden.)
- Grover, C. D., Kay, A. D., Monson, J. A., Marsh, T. C. en Holway, D. A. (2007). Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in Argentine ants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274, 2951-2957.
- Gullino, M., Albajes, R. en van Lenteren, J. (1999). Setting the stage: characteristics of protected cultivation and tools for sustainable crop protection. In R. Albajes, M. Lodovica Gullino, J. van Lenteren en Y. Elad (red.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops* (p. 1-15). Kluwer Academic Publishers.
- Haelewaters, D., Zhao, S. en Clusella-Trullas, S. (2017). Parasites of *Harmonia axyridis*: current research and perspectives. *BioControl*, 62, 355–371.
- Hallsworth, J. E. en Magan, N. (1999). Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74, 261-266. doi: 10.1006/jipa.1999.4883
- Hanson, P. E. en Miller, J. C. (1984). Scale insects on ornamental plants: a biological control perspective. *Journal of Arboriculture*, 10, 259-264.
- Hazaa, M. A. M., Mohsen, E. I., Alm El-din, M. M. S., Hassan, R. S. en Shoush, S. R. M. (2019). Biocontrol potential of some entomopathogenic fungi against the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* in vitro. *Journal of Nuclear Technology in Applied Science*, 7, 65-78.
- Hegazi, E. M., Hammad, S. M. en El-Minshawy, A. M. (1977). Field and laboratory observations on the parasitoids of *Spodoptera littoralis*. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 84, 316-321.
- Heimpel, G. E., Yang, Y., Hill, J. D. en Ragsdale, D. W. (2013). Environmental consequences of invasive species: Greenhouse gas emissions of insecticide use and the role of biological control in reducing emissions. *PLoS One*, 8, e72293.
- Henry, C., Taylor, K. en Johnson, J. (2019). A new lacewing species of the *Chrysoperla carnea* species-group from central Asia associated with conifers (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Natural History*, 53, 1277-1300. doi: 10.1080/00222933.2019.1644385
- Henry, C. S. (1983). Acoustic recognition of sibling species within the holarctic lacewing *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Systematic Entomology*, 8, 293-301. doi: 10.1111/j.1365-3113.1983.tb00483.x
- Hilbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P. M. en Bigler, F. (1998). Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 27, 480-487.

- Hilbeck, A., Moar, W., Pusztai-Carey, M., Filippini, A. en Bigler, F. (1999). Prey-mediated effects of Cry1ab toxin and protoxin and Cry2a protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 305-316.
- Howarth, F. (1991). Environmental impacts of classical biological control. *Annual Review of entomology*, 36, 485-509. doi: 10.1146/annurev.en.36.010191.002413
- Huang, H. T. en Yang, P. (1987). The ancient cultured citrus ant. *BioScience*, 37, 665-671.
- Huang, N. en Enkegaard, A. (2010). Predation capacity and prey preference of *Chrysoperla carnea* on *Pieris brassicae*. *BioControl*, 55, 379-385.
- Human Rights Watch. (2001). *Underage and unprotected: Child labor in Egypt's cotton fields*. (<https://www.refworld.org/docid/3ae6a87c8.html>)
- Hölldobler, B. en Wilson, E. O. (1990). *The Ants*. Harvard University Press.
- Itioka, T. en Inoue, T. (1996). The consequences of ant-attendance to the biological control of the red wax scale insect *Ceroplastes rubens* by *Anicetus beneficus*. *Journal of Applied Ecology*, 33, 609-618.
- Jarvis, W. R. (1989). Managing diseases in greenhouse crops. *Plant Disease*, 73, 190-194.
- Jeanne, R. L. (1979). A latitudinal gradient in rates of ant predation. *Ecology*, 60, 1211-1224.
- Kaplan, I. en Eubanks, M. D. (2002). Disruption of Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae)—Natural Enemy Dynamics by Red Imported Fire Ants (Hymenoptera: Formicidae). *Environmental Entomology*, 31, 1175-1183. doi: 10.1603/0046-225X-31.6.1175
- Kehat, M., Dunkelblum, E. en Gothilf, S. (1983). Mating disruption of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae), by release of sex pheromone from widely separated hercon-laminated dispensers. *Environmental Entomology*, 12, 1265-1269. doi: 10.1093/ee/12.4.1265
- Kenis, M., Hurley, B. en Hajek, A. (2017). Classical biological control of insect pests of trees: facts and figures. *Biological Invasions*, 19, 3401-3417.
- Kergunteuil, A., Basso, C. en Pintureau, B. (2013). Impact of two ant species on egg parasitoids released as part of a biological control program. *Journal of Insect Science*, 13, 106.
- Khan, M. A. en Ahmad, W. (2015). The management of *Spodopteran* pests using fungal pathogens. *Biocontrol of Lepidopteran Pests*, 123-160. doi: 10.1007/978-3-319-14499-3_6
- Kimber, I. (2011). *Uk moths: Mediterranean Brocade Spodoptera littoralis*. (<http://ukmoths.org.uk/show.php?id=4322>)
- Knapp, M., Palevsky, E. en Rapisarda, C. (2020). Insect and mite pests. In M. L. Gullino, R. Albajes en P. C. Nicot (red.), *Integrated pest and disease management in greenhouse crops* (p. 101-146). Cham: Springer International Publishing. doi: 10.1007/978-3-030-22304-5_4
- Knapp, M., Reřicha, M., Marříková, S., Harabiř, F., Kadlec, T., Nedvěď, O. en Teder, T. (2019). Invasive host caught up with a native parasitoid: field data reveal high parasitism of *Harmonia axyridis* by *Dinocampus coccinellae* in Central Europe. *Biological Invasions*, 21, 2795-2802. doi: 10.1007/s10530-019-02027-4
- Koch, R. en Galvan, T. (2008). Bad side of a good beetle: the North American experience with *Harmonia axyridis*. *BioControl*, 53, 23-35.
- Koczor, S., Szentkirályi, F., Birkett, M., Pickett, J., Voigt, E. en Tóth, M. (2010). Attraction of

- Chrysoperla carnea* complex and *Chrysopa* spp. lacewings (Neuroptera: Chrysopidae) to aphid sex pheromone components and a synthetic blend of floral compounds in Hungary. *Pest Management Science*, 66, 1374-1379. doi: 10.1002/ps.2030
- Korrat, E., Abdelmonem, A. E., Helalia, A. A. en Khalifa, H. (2012). Toxicological study of some conventional and nonconventional insecticides and their mixtures against cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of Agricultural Sciences*, 57, 145-152.
- Kukla, M. (2018). *Crematogaster scutellaris*. (Bron: flickr.com. © Alle rechten voorbehouden.)
- Lahav, S., Soroker, V., Hefetz, A. en Meer, R. K. V. (1999). Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften*, 86, 246-249.
- Lecomte, C., Alabouvette, C., Edel-Hermann, V., Robert, F. en Steinberg, C. (2016). Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. *Biological Control*, 101, 17-30. doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.06.004
- Leston, D. (1973). The ant mosaic - tropical tree crops and the limiting of pests and diseases. *PANS Pest Articles & News Summaries*, 19, 311-341. doi: 10.1080/09670877309412778
- López-Sebastian, E., Tinaut, A. en Selfa, J. (2004). Acerca de *Crematogaster scutellaris* (Olivier, 1791) (Hymenoptera, Formicidae) como depredador de huevos de la procesionaria del pino. *Boletín de Sanidad Vegetal*, 30, 699-702.
- Lourenço, P., Brito, C., Backeljau, T., Thierry, D. en Ventura, M. A. (2006). Molecular systematics of the *Chrysoperla carnea* group (Neuroptera: Chrysopidae) in Europe. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 44, 180-184. doi: 10.1111/j.1439-0469.2006.00352.x
- Maes, S., Moands, M., Grégoire, J.-C. en De Clercq, P. (2013). A survey of exotic biological control agents used in Europe. *IOBC-WPRS Bulletin*, 94, 111-115.
- Mansour, F., Rosen, D. en Shulov, A. (1981). Disturbing effect of a spider on larval aggregations of *Spodoptera littoralis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 29, 234-237. doi: 10.1111/j.1570-7458.1981.tb03063.x
- Marlier, J., Quinet, Y. en de Biseau, J. (2004). Defensive behaviour and biological activities of the abdominal secretion in the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera: Myrmicinae). *Behavioural Processes*, 67, 427-440. doi: 10.1016/j.beproc.2004.07.003
- Marsh, T. (2009). Adopting biological control for ornamental crops in greenhouses. *Cab Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4, 1-9. doi: 10.1079/PAVSNNR20094022
- Mason, P., De Clercq, P., Heimpel, G. en Kenis, M. (2009). Attributes of biological control agents against arthropods: What are we looking for? *Proceedings of the Third International Symposium on Biological Control of Arthropods, Christchurch, New Zealand*, 385-392.
- Masoni, A., Frizzi, F., Natali, C., Ciofi, C. en Santini, G. (2019). Mating frequency and colony genetic structure analyses reveal unexpected polygyny in the Mediterranean acrobat ant *Crematogaster scutellaris*. *Ethology Ecology & Evolution*, 32, 122-134. doi: 10.1080/03949370.2019.1680449
- Masoni, A., Frizzi, F., Nieri, R., Casacci, L. P., Mazzoni, V., Turillazzi, S. en Santini, G. (2021). Ants modulate stridulatory signals depending on the behavioural context. *Scientific*

- Reports*, 11, 5933. doi: 10.1038/s41598-021-84925-z
- Masoni, A., Frizzi, F., Turillazzi, S. en Santini, G. (2018). Making the right choice: how *Crematogaster scutellaris* queens choose to co-found in relation to nest availability. *Insectes Sociaux*, 66, 257-263. doi: 10.1007/s00040-018-00683-8
- Mccorquodale, D. B. (1998). Adventive lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) in Eastern Nova Scotia, Canada. *Entomological news*, 109, 15-20.
- Menzel, F., Schmitt, T. en Blaimer, B. (2017). The evolution of a complex trait: Cuticular hydrocarbons in ants evolve independent from phylogenetic constraints. *Journal of Evolutionary Biology*, 30, 1372–1385. doi: 10.1111/jeb.13115
- Menzel, F., Woywod, M., Blüthgen, N. en Schmitt, T. (2010). Behavioural and chemical mechanisms behind a Mediterranean ant–ant association. *Ecological Entomology*, 35, 711-720. doi: 10.1111/j.1365-2311.2010.01231.x
- Miller, G. (1977). Mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) non-freezing temperatures. *Bulletin of Entomological Research*, 67, 142–152. doi: 10.1017/S0007485300010968
- Miller, G. W. (1976). Cold storage as a quarantine treatment to prevent the introduction of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) into glasshouses in the U.K. *Plant Pathology*, 25, 193-196.
- Miranda-Fuentes, P., Quesada-Moraga, E., Aldebis, H. K. en Yousef-Naef, M. (2019). Compatibility between the endoparasitoid *Hyposoter didymator* and the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum*: a laboratory simulation for the simultaneous use to control *Spodoptera littoralis*. *Pest Management Science*, 76, 1060-1070. doi: 10.1002/ps.5616
- Modlmeier, A. P. en Foitzik, S. (2011). Productivity increases with variation in aggression among group members in *Temnothorax* ants. *Behavioral Ecology*, 22, 1026-1032.
- Mohamed, H. A., Alkordy, A. W. en Atta, A. A. (2019). Effect of host plants on biology of *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences and Entomology*, 12, 65-73.
- Mokbel, E.-S., Huesien, A., Fouad, H., Osman, H. en History, A. (2017). Assessment of resistance risk to Emamectin Benzoate, Indoxacarb and Spinetoram in cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences for Toxicology & Pest control*, 9, 9-18.
- Morris, T. I., Campos, M. B., Jarvis, M. A., Mcewen, P. K. en Kidd, N. A. C. (1998). Potential effects of various ant species on green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera, Chrysopidae) egg numbers. *Journal of Applied Entomology*, 122, 401-403.
- Noma, T., Colunga-Garcia, M., Brewer, M., Landis, J. en Gooch, A. (2010). *Michigan State University's invasive species factsheets: Egyptian cottonworm Spodoptera littoralis*.
- Nonacs, P. (1991). Less growth with more food: How insect-prey availability changes colony demographics in the ant, *Camponotus floridanus*. *Journal of Insect Physiology*, 37, 891-898. doi: 10.1016/0022-1910(91)90004-J
- Nováková, P., Holuša, J. en Horák, J. (2016). The role of geography and host abundance in the distribution of parasitoids of an alien pest. *PeerJ*, 4, e1592.
- Obrycki, J. J., Hamid, M. N., Sajap, A. S. en Lewis, L. C. (1989). Suitability of corn insect pests for development and survival of *Chrysoperla carnea* and *Chrysopa oculata* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 18, 1126-1130.

- Offenberg, J. (2007). The distribution of weaver ant pheromones on host trees. *Insectes Sociaux*, 54, 248-250. doi: 10.1007/s00040-007-0938-5
- Offenberg, J. (2015). Ants as tools in sustainable agriculture. *Journal of Applied Ecology*, 52, 1197-1205.
- Olivier, G. A. (1792). Insectes: Discours prélim. In *Encyclopédie méthodique. histoire naturelle des animaux*. Paris.
- Orozco, R., Lee, M.-M. en Stock, S. P. (2014). Soil sampling and isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of visualized experiments*, e52083. doi: 10.3791/52083
- Osborne, L. S. en Oetting, R. D. (1989). Biological control of pests attacking greenhouse grown ornamentals. *The Florida Entomologist*, 72, 408-413.
- Osman, M. Z. en Selman, B. J. (1993). Storage of *Chrysoperla carnea* Steph. (Neuroptera, Chrysopidae) eggs and pupae. *Journal of Applied Entomology*, 115, 115-117.
- Pal, K. en Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 2, 1117-1142. doi: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02
- Parmentier, T., Dekoninck, W. en Wenseleers, T. (2015). Context-dependent specialization in colony defence in the red wood ant *Formica rufa*. *Animal Behaviour*, 103, 161-167. doi: 10.1016/j.anbehav.2015.02.023
- Parrella, M. P., Hansen, L. S. en Van Lenteren, J. (1999). Handbook of biological control: Chapter 31 - glasshouse environments. In (p. 819-839). San Diego: Academic Press. doi: 10.1016/B978-012257305-7/50078-3
- Parrella, M. P. en Lewis, E. E. (2017). Biological control in greenhouse and nursery production: Present status and future directions. *American Entomologist*, 63, 237-250.
- Pasteels, J., Daloze, D. en Boevé, J.-L. (1989). Aldehydic contact poisons and alarm pheromone of the ant *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera: Myrmicinae) - enzyme-mediated production from acetate precursors. *Journal of Chemical Ecology*, 15, 1501-1511. doi: 10.1007/BF01012379
- Paulitz, T. en Belanger, R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 103-133. doi: 10.1146/annurev.phyto.39.1.103
- Perfecto, I. (1991). Ants (Hymenoptera: Formicidae) as natural control agents of pests in irrigated maize in Nicaragua. *Journal of Economic Entomology*, 84, 65-70.
- Perfecto, I. en Castiñeiras, A. (1998). Chapter 15 - deployment of the predaceous ants and their conservation in agroecosystems. In P. Barbosa (red.), *Conservation biological control* (p. 269-289). San Diego: Academic Press. doi: 10.1016/B978-012078147-8/50061-X
- Perfecto, I., Hajian-Forooshani, Z., White, A. en Vandermeer, J. (2021). Ecological complexity and contingency: Ants and lizards affect biological control of the coffee leaf miner in Puerto Rico. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 305, 107104. doi: 10.1016/j.agee.2020.107104
- Perito, B., Cremonini, M., Montecchi, T. en Turillazzi, S. (2018). A preliminary study on the antimicrobial activity of sting secretion and gastral glands of the acrobat ant *Crematogaster scutellaris*. *Bulletin of Insectology*, 71, 97-101.
- Pijnakker, J., Vangansbeke, D., Duarte, M., Moerkens, R. en Wäckers, F. (2020). Predators and parasitoids-in-first: From inundative releases to preventative biological control in greenhouse crops. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 1-38. doi: 10.3389/

- Pilkington, L. J., Messelink, G. J., van Lenteren, J. C. en Mottee, K. L. (2010). Protected biological control - Biological pest management in the greenhouse industry. *Biological Control*, 52, 216-220.
- Price, B. W., Henry, C. S., Hall, A. C., Mochizuki, A., Duelli, P. en Brooks, S. J. (2015). Singing from the grave: DNA from a 180 year old type specimen confirms the identity of *Chrysoperla carnea* (Stephens). *PLoS One*, 10, 1-11. doi: 10.1371/journal.pone.0121127
- Quesada-Moraga, E., Carrasco-Díaz, J.-A. en Santiago-Álvarez, C. (2006). Insecticidal and antifeedant activities of proteins secreted by entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*, 130, 442-452. doi: 10.1111/j.1439-0418.2006.01079.x
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing [Handleiding van computersoftware]. Vienna, Austria.
- Radeghieri, P. (2004). *Cameraria ohridella* (Lepidoptera Gracillariidae) predation by *Crematogaster scutellaris* (Hymenoptera Formicidae) in Northern Italy (Preliminary note). *Bulletin of Insectology*, 57, 63-64.
- Rama, F., Reggiori, F. en Albertini, A. (2009). Control of *Spodoptera littoralis* (Bsdv.) by biodegradable, low-dosage, slow-release pheromone dispensers.. (Joint Conference of IOBC-WPRS and IOBC EPRS Pheromone Groups)
- Ramires, I. D. H. (2020). *Olive fly management today: the role of predators*. (Universidade de Lisboa)
- Ramos, R., Picanço, M., Santana Júnior, P., Silva, E., Bacci, L., Gonring, A. en Silva, G. (2012). Natural biological control of lepidopteran pests by ants. *Sociobiology*, 59, 1389-1399. doi: 10.13102/sociobiology.v59i4.511
- Ravary, F., Lecoutey, E., Kaminski, G., Châline, N. en Jaisson, P. (2007). Individual experience alone can generate lasting division of labor in ants. *Current Biology*, 17, 1308-1312.
- Redolfi, I., Tinaut, A., Pascual, F. en Campos, M. G. (1999). Qualitative aspects of myrmecocenosis (Hym., Formicidae) in olive orchards with different agricultural management in Spain. *Journal of Applied Entomology*, 123, 621-627.
- Ridgway, R. L., Morrison, R. K. en Badgley, M. E. (1970). Mass rearing a green lacewing. *Journal of Economic Entomology*, 63, 834-836.
- Ridgway, R. L. en Murphy, W. L. (1984). Biological control in the field. In M. Canard, Y. Séméria en T. R. New (red.), *Biology of Chrysopidae* (p. 220-228).
- Romeis, J., Dutton, A. C. en Bigler, F. (2004). *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, 50, 175-183.
- Rosenheim, J. A., Limburg, D. D. en Colfer, R. G. (1999). Impact of generalist predators on a biological control agent, *Chrysoperla carnea*: Direct observations. *Ecological Applications*, 9, 409-417.
- Rosenheim, J. A., Wilhoit, L. R. en Armer, C. A. (1993). Influence of intraguild predation among generalist insect predators on the suppression of an herbivore population. *Oecologia*, 96, 439-449.
- Sadashivappa, P. en Qaim, M. (2009). Bt cotton in India: Development of benefits and the role of government seed price interventions. *Journal of Agrobiotechnology Manage-*

- ment & Economics, 12, 172-183.
- Salama, H. S., Dimetry, N. Z. en Salem, S. A. (1971). On the host preference and biology of the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 67, 141-143. doi: 10.1111/j.1439-0418.1971.tb02122.x
- Salama, H. S., Moawed, S. M. en Zaki, F. N. (1987). Effects of nuclear polyhedrosis virus - *Bacillus thuringiensis* combinations on *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Journal of Applied Entomology*, 104, 23-27. doi: 10.1111/j.1439-0418.1987.tb00491.x
- Salama, H. S. en Shoukry, A. (2009a). Flight range of the moth of the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Bois.). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 71, 181-184. doi: 10.1111/j.1439-0418.1972.tb01739.x
- Salama, H. S., Zaki, F. N. en Sharaby, A. F. (2009b). Effect of *Bacillus thuringiensis* Berl. on parasites and predators of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Journal of Applied Entomology*, 94, 498-504.
- Salem, S. en Salama, H. S. (2009). Sex pheromones for mass trapping of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) in Egypt. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 100, 316-319. doi: 10.1111/j.1439-0418.1985.tb02785.x
- Santini, G., Ramsay, P. M., Tucci, L., Ottonetti, L. en Frizzi, F. (2011). Spatial patterns of the ant *Crematogaster scutellaris* in a model ecosystem. *Ecological Entomology*, 36, 625-634. doi: 10.1111/j.1365-2311.2011.01306.x
- Sarwar, M. (2014). The propensity of different larval stages of lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) to control aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) evaluated on canola *Brassica napus* L. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 36, 143-148.
- Sattar, M. H. A. en Abro, G. H. (2011). Mass rearing of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) adults for integrated pest management programmes. *Pakistan Journal of Zoology*, 43, 483-487.
- Schatz, B. en Hossaert-McKey, M. (2003). Interactions of the ant *Crematogaster scutellaris* with the fig/fig wasp mutualism. *Ecological Entomology*, 90, 456-459. doi: 10.1007/s00114-003-0457-9
- Schifani, E., Castracani, C., Giannetti, D., Spotti, F. A., Reggiani, R., Leonardi, S., Mori, A. en Grasso, D. A. (2020). New tools for conservation biological control: Testing ant-attracting artificial nectaries to employ ants as plant defenders. *Insects*, 11, 129. doi: 10.3390/insects11020129
- Schultz, T. R. en Brady, S. G. (2008). Major evolutionary transitions in ant agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 5435-5440. doi: 10.1073/pnas.0711024105
- Schumacher, S. K., Marsh, T. L. en Williams, K. A. (2006). Optimal pest control in greenhouse production of ornamental crops. *Agricultural Economics*, 34, 39-50. doi: 10.1111/j.1574-0862.2006.00101.x
- Sengonca, C. en Grooterhorst, A. (1985). The feeding activity of *Chrysoperla carnea* (Stephens) on *Barathra brassicae* L. and *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Journal of Applied Entomology*, 100, 219-223.
- Shairra, S. en Noah, G. (2014). Efficacy of entomopathogenic nematodes and fungi as biological control agent against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Egyptian Journal of Pest Control*, 24, 247-253.

- Sharma, A., Diwevidi, V. D., Singh, S., Pawar, K. K., Jerman, M., Singh, L. en Srivastawa, D. (2013). Biological control and its important in agriculture. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*, 4, 175-180.
- Shaurub, E., Reyad, N. F., Abdel-Wahab, H. en Ahmed, S. (2016). Mortality and nematode production in *Spodoptera littoralis* larvae in relation to dual infection with *Steinernema riobrave*, *Heterorhabditis bacteriophora*, and *Beauveria bassiana*, and the host plant. *Biological Control*, 103, 86-94.
- Simberloff, D. en Stiling, P. (1996). How risky is biological control? *Ecology*, 77, 1965-1974.
- Simmonds, F. J., Franz, J. en Sailer, R. I. (1976). History of biological control. In C. B. Huffaker en P. S. Messenger (red.), *Theory and practice of biological control* (p. 17-39). Academic Press, New York.
- Smith, H. S. (1919). On some phases of insect control by the biological method. *Journal of Economic Entomology*, 12, 288-292.
- Sneh, B., Gross, S. en Gasith, A. (2009). Biological control of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep., Noctuidae) by *Bacillus thuringiensis* subsp. *entomocidus* and *Bracon hebetor* Say (Hym., Braconidae). *Journal of Applied Entomology*, 96, 408-412.
- Soulié, J. (1956b). La nidification chez les espèces françaises du genre *Cremastogaster* Lund (Hymenoptera — Formicoidea). *Insectes Sociaux*, 3, 93-105.
- Soulié, J. (1965). Les nids et le comportement nidificateur des fourmis du genre *Cremastogaster* d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie du Sud-Est. *Insectes Sociaux*, 8, 213-297.
- Soulié, J. (1956a). Le déclenchement et la rupture de l'état d'hibernation chez *Cremastogaster scutellaris* Ol. (Hymenoptera-Formicoidea). *Insectes Sociaux*, 3, 431-438. doi: 10.1007/BF02225763
- Souza, B. en Marucci, R. C. (2021). Biological control in ornamental plants: from basic to applied knowledge. *Ornamental Horticulture*, 27, 255-267.
- Stelzl, M. en Devetak, D. (1999). Neuroptera in agricultural ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74, 305-321. doi: 10.1016/S0167-8809(99)00040-7
- Stenberg, J., Sundh, I., Becher, P. en et al. (2021). When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science*, 94, 665-676. doi: 10.1007/s10340-021-01354-7
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D. en Greenstone, M. H. (2002). Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology*, 47, 561-594.
- Tauber, M. J. en Tauber, C. A. (1976). Insect seasonality: Diapause maintenance, termination, and postdiapause development. *Annual Review of Entomology*, 21, 81-107. doi: 10.1146/annurev.en.21.010176.000501
- Tauber, M. J. en Tauber, C. A. (2022). *Chrysoperla* (= *Chrysopa*) *carnea*, *C. rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). Verkregen van <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/predators/Chrysoperla.php>
- Tayeh, A., Hufbauer, R. en Estoup, A. (2015). Biological invasion and biological control select for different life histories. *Nature Communications*, 6, 7268.
- Tu, M., Hurd, C. en Randall, J. M. (2001). Weed control methods handbook: Tools & techniques for use in natural areas. *The Nature Conservancy*.
- Uddin, J., Holliday, N. J. en Mackay, P. A. (2005). Rearing lacewings, *Chrysoperla carnea* and *Chrysopa oculata* (Neuroptera: Chrysopidae), on prepupae of alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata* (Hymenoptera: Megachilidae). *Proceedings of the Entomological*

- Society of Manitoba*, 11-19.
- University of California. (2018). *Lacewing life cycle*. Verkregen van <https://www.pbase.com/10kzoomfz/image/76202580>
- Van Butsele, J. (2020). *Invloed van klimaat op het predatiepotentieel van de mier Crematogaster scutellaris op de Californische trips*. (Masterthesis Universiteit Gent)
- Vandermeer, J., Perfecto, I., Núñez, G. I., Phillpott, S. en Ballinas, A. G. (2002). Ants (*Azteca* sp.) as potential biological control agents in shade coffee production in Chiapas, Mexico. *Agroforestry Systems*, 56, 271-276.
- Vander Meer, R. K. en Alonso, L. E. (2002). Queen primer pheromone affects conspecific fire ant (*Solenopsis invicta*) aggression. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 122-130.
- van Lenteren, J. C. (1992). Biological pest control in greenhouses: an overview. *Arab Journal of Plant Protection*, 10, 43-45.
- van Lenteren, J. C. (2000). Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies. In *Biological control: Measures of success* (p. 77-103). doi: 10.1007/978-94-011-4014-0_3
- van Lenteren, J. C. (2007). *Internet book of biological control*. Wageningen, The Netherlands. (4th edition)
- Van Mele, P. (2007). A historical review of research on the weaver ant *Oecophylla* in biological control. *Agricultural and Forest Entomology*, 10, 13-22.
- Van Mele, P., Cuc, N. T., Seguni, Z. S., Camara, K. en Offenberger, J. (2009). Multiple sources of local knowledge: a global review of ways to reduce nuisance from the beneficial weaver ant *Oecophylla*. *International Journal of Agricultural Resources, Governance and Ecology*, 8, 484-504.
- van Schelt, J. en van Rijn, P. (2007). Gaasvliegen (Neuroptera): vraatzuchtige larven voor de goede zaak. *Entomologische Berichten*, 67, 268-270.
- van Wilgenburg, E., Clémencet, J. en Tsutsui, N. D. (2009). Experience influences aggressive behaviour in the Argentine ant. *Biology Letters*, 6, 152-155.
- van Zyl, C. en Malan, A. (2014). The role of entomopathogenic nematodes as biological control agents of insect pests, with emphasis on the history of their mass culturing and in vivo production. *African Entomology*, 22, 235-249. doi: 10.4001/003.022.0222
- Varela, A. (1992). *The role of Oecophylla longinoda (Formicidae) in control of Pseudotheraptus wayi (Coreidae) on coconuts in Tanzania*. (Imperial College, Silwood Park, London, U. K.)
- von Mérey, G., Veyrat, N., D'Alessandro, M. en Turlings, T. (2013). Herbivore-induced maize leaf volatiles affect attraction and feeding behavior of *Spodoptera littoralis* caterpillars. *Frontiers in Plant Science*, 4. doi: 10.3389/fpls.2013.00209
- Way, M. en Khoo, K. C. (1992). Role of ants in pest management. *Annual Review of Entomology*, 37, 479-503. doi: 10.1146/annurev.en.37.010192.002403
- Way, M. J. (1954). Studies of the life history and ecology of the ant *Oecophylla longinoda* Latreille. *Bulletin of Entomological Research*, 45, 93-112.
- Way, M. J. (1963). Mutualism between ants and honeydew-producing homoptera. *Annual Review of Entomology*, 8, 307-344. doi: 10.1146/annurev.en.08.010163.001515
- Wells, P. M., Baverstock, J., Clark, S. J., Jiggins, F. M., Roy, H. E. en Pell, J. K. (2017). Determining the effects of life stage, shared prey density and host plant on intraguild

- predation of a native lacewing (*Chrysoperla carnea*) by an invasive coccinellid (*Harmonia axyridis*). *BioControl*, 62, 373-384.
- Wheeler, W. M. (1911). The ant-colony as an organism. *Journal of Morphology*, 22, 307-325. doi: 10.1002/jmor.1050220206
- Xu, H.-I., Xu, R.-Y., Qin, F., Ma, G., Yu, Y. en Shah, S. (2008, 03). Biological pest and disease control in greenhouse vegetable production. *Acta horticulturae*, 767, 229-238. doi: 10.17660/ActaHortic.2008.767.23
- Yardim, E. N. en Edwards, C. A. (1998). The influence of chemical management of pests, diseases and weeds on pest and predatory arthropods associated with tomatoes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 70, 31-48.
- Youn, Y. N., Seo, M. J., Shin, J. G., Jang, C. en Yu, Y. M. (2003). Toxicity of greenhouse pesticides to multicolored Asian lady beetles, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biological Control*, 28, 164-170.
- Zemek, R., Hussein, H. M. en Prenerová, E. (2012). Laboratory evaluation of *Isaria fumosorosea* against *Spodoptera littoralis*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 77, 685-689.
- Zheng, Y., Daane, K., Hagen, K. en Mittler, T. (1993). Influence of larval food consumption on the fecundity of the lacewing *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 67, 9-14. doi: 10.1111/j.1570-7458.1993.tb01645.x