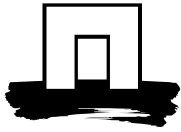


# Naar een betere bescherming van champignonrassen

Het definiëren van afgeleid kwekersrecht voor champignons en het creëren van draagvlak.

Anton Sonnenberg & Johan Baars  
PT project 14445





© 2013 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO)

Alle intellectuele eigendomsrechten en auteursrechten op de inhoud van dit document behoren uitsluitend toe aan de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO). Elke openbaarmaking, reproductie, verspreiding en/of ongeoorloofd gebruik van de informatie beschreven in dit document is niet toegestaan zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

Voor nadere informatie gelieve contact op te nemen met: DLO in het bijzonder onderzoeksinstituut Plant Research

DLO is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

## **Plant Research International, onderdeel van Wageningen UR Business Unit Plant Breeding**

Adres : Postbus 386, 6700 AJ Wageningen  
: Wageningen Campus, Droevendaalsesteeg 1, Wageningen  
Tel. : 0317 – 48 13 36  
Fax : 0317 – 41 34 57  
E-mail : [info.pri@wur.nl](mailto:info.pri@wur.nl)  
Internet : [www.pri.wur.nl](http://www.pri.wur.nl)

# Inhoudsopgave

	pagina
1. Inleiding	3
1.1. Het erfelijk materiaal van de champignon ontrafeld	3
De bijzondere levenscyclus van de champignon	3
De huidige rassen zijn afgeleide rassen	4
2 Doelstelling	5
3 Genetische analyses	6
4 Definiëren van EDV en het organiseren van support	8
Appendix 1	9
Appendix 2	10
Referentie.	12



## 1. Inleiding

In 1980 zijn de eerste hybride rassen van de champignon gemaakt en op de markt gebracht: Horst U1 en Horst U3. Deze rassen zijn in 3 jaar uitgegroeid tot de belangrijkste champignonrassen, wereldwijd. Beide rassen zijn ook de eerste paddenstoelrassen die via kwekersrecht zijn beschermd.

Al 3 jaar na het uitbrengen van deze nieuwe rassen werden door verschillende broedleveranciers “nieuwe” hybriden op de markt gebracht. De eerste hybriden waren in eigenschappen niet te onderscheiden van de eerste beschermde hybriden. Ras-testen wezen uit dat dit naar alle waarschijnlijkheid kopieën waren van de Horst rassen. Het aanvechten van deze inbreuk op kwekersrecht voor het gerecht bleek een moeilijke zaak te zijn en uiteindelijk is er geen uitspraak gedaan door de rechter wegens gebrek aan expertise en een gebrek aan kennis over de genetica (levenscyclus) van de champignon.

In de volgende jaren verschenen steeds nieuwe rassen op de markt die weliswaar erg op de Horst rassen leken maar toch wat andere eigenschappen hadden. Genetische *fingerprints* konden deze rassen niet onderscheiden van de Horst-rassen. Tot op heden zijn deze rassen de belangrijkste rassen die wereldwijd geteeld worden. Deze zijn, door gebruik te maken van de bijzondere levenscyclus van de champignon, direct afgeleid van de eerste hybride Horst U1/U3 zonder menging met andere rassen of wild isolaten. Hierdoor is het mogelijk om in korte tijd en met geringe inspanningen een “nieuw” ras te maken. De bedoeling van dit project is om data te genereren die gebruikt kunnen worden om te onderbouwen dat dit type rassen valt onder de definitie van afgeleid kwekersrecht en daardoor een bescherming verdient. Tevens is het project bedoeld om het bedrijfsleven internationaal achter deze aanpak te krijgen zodat de definitie van afgeleid kwekersrecht wordt opgenomen in de wetgeving. Op deze manier wordt een *return of investment* gegarandeerd voor veredelaar en zal een investering in veredeling weer lonen. Op dit moment is er een dringende behoefte aan nieuwe rassen om aan de nieuwe wensen van telers en de markt tegemoet te komen.

### 1.1. Het erfelijk materiaal van de champignon ontrafeld

Onlangs is het hele genoom van één van de ouders in het ras Horst U1 ontrafeld en kennen we de volgorde van alle ca. 30 miljoen bouwsteentjes van het erfelijk materiaal van de champignon. Deze bouwstenen zijn verdeeld in 13 pakketjes, ook wel chromosomen genoemd. Dit project is geïnitieerd door een aantal onderzoeksgroepen (HRI in Engeland, Sylvan USA en WUR Plant Breeding Nederland) en uitgevoerd door JGI in California (<http://genome.jgi-psf.org/>).

WUR Plant Breeding heeft hiervoor het DNA geleverd van één van de ouders van Horst U1 evenals het RNA (genproducten) waarmee de genen in het erfelijk materiaal herkend kunnen worden. Met behulp van deze referentie-sequentie kan nu met minder inspanning en in korte tijd ook van andere champignonrassen de sequentie bepaald worden. Ondertussen is het genoom van de andere ouder van Horst U1 ook volledig bekend en weten we dus precies hoe de genetische samenstelling is van dit ras.

### De bijzondere levenscyclus van de champignon

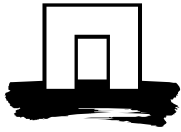
In twee reeds afgesloten TTI Groene Genetica projecten zijn op grond van de genoomsequenties een groot aantal genetische merkers opgesteld. Hiermee is de levenscyclus van Horst U1 goed bekeken en is van de rassen in de collectie van Plant Breeding een genetische fingerprint gemaakt (zie appendix 1). In appendix 2 is de levenscyclus van de champignon weergegeven, uitgelegd hoe veredeling werkt en hoe daarmee een afgeleid ras gemaakt kan worden. In het kort komt het hierop neer: De champignon maakt 2 typen sporen. Het eerste type bevat maar één kern en kiemt tot mycelium dat geen paddenstoelen kan maken. Dergelijke eensporeculturen (mycelium gekiemd uit één spore) moeten eerst gekruist worden met een andere eensporeculture waarna een mycelium ontstaat met 2 typen kernen. Dit soort sporen wordt door de veredelaar gebruikt om eigenschappen van rassen te combineren en uiteindelijk nieuwe rassen te

maken. Het tweede type sporen dat de champignon maakt, bevat 2 kernen. Er zijn een beperkt aantal van dit type sporen door ons onderzocht. De analyse laat zien dat dit type sporen kernen bevat die ieder afzonderlijk verschillend zijn maar samen opgeteld hetzelfde erfelijk materiaal bevatten als het oorspronkelijke (2 kernige) ras waaruit ze ontstaan zijn. We kunnen deze sporen beschouwen als afkomstig van een interne bevruchting. Er is geen nieuw genetisch materiaal van "buitenaf" gekomen. De chromosomen van dit type sporen zijn echter wel anders verdeeld over de beide kernen vergeleken met het oorspronkelijke ras. Deze herverdeling van kernen heeft invloed op de eigenschappen van het ras. Deze invloed is gering, maar wel zichtbaar.

## De huidige rassen zijn afgeleide rassen

In een van de TTI Groene Genetica projecten hebben we van een aantal commerciële rassen de beide kernen genetisch onderzocht en vergeleken met de beide kernen in Horst U1. Alle chromosomen van vrijwel alle rassen waren identiek aan die van Horst U1. De verdeling van de chromosomen over de beide kernen was echter anders dan die bij Horst U1. Het is dus niet verbazingwekkend dat we met een genetische *fingerprint* geen verschillen zagen tussen deze rassen en Horst U1. Het totale genetische materiaal is dus vrijwel identiek maar de sortering van chromosomen over de kernen verschilt. Dit wijst erop dat deze rassen gemaakt zijn door van Horst U1 sporen te isoleren die 2 kernen hebben, deze te kiemen en te testen in een teelt. Op deze manier zijn in korte tijd met geringe inspanning kleine veranderingen aan te brengen in een ras. Op deze manier kun je snel "nieuwe" rassen op de markt brengen. In de plantenwereld speelt een dergelijk probleem ook. De levenscyclus van planten is anders maar ook daar zijn methoden voorhanden om kleine veranderingen aan te brengen. Bij kwekersrecht van planten wordt dit gedefinieerd als afgeleid kwekersrecht. Dit betekent dat degene die dit op de markt brengt schatplichtig is aan degene die het oorspronkelijke ras heeft gemaakt en moet onderhandelen over licenties. Deze bescherming moet ervoor zorgen dat degene die de grote investering heeft gedaan ook zijn investering terug kan verdienen.

Dit probleem is eerder in een projectvorm gegoten en aan het Europees Kwekersrecht Bureau (CVPO, Angers, Frankrijk) voorgelegd. Dit is gedaan om te kijken of zij een dergelijk project willen meefinancieren. Het bureau heeft aangegeven dat ze het probleem onderkennen maar dit type projecten niet financieren. Wel zijn ze bereid om snelle detectietechnieken en het opzetten van referentie collecties financieel te ondersteunen. Wij moeten echter eerst de definitie van afgeleid kwekersrecht voor champignons wetenschappelijk onderbouwen voordat we de volgende stap kunnen zetten.



## 2 Doelstelling

Er zijn 2 redenen waarom er zo weinig veredeling plaatsvindt bij champignons:

- De levenscyclus van de champignon maakt het veredelaars niet erg gemakkelijk (dus flinke investering voor nodig).
- Het gemak waarmee een ras gekopieerd kan worden en het gemak waarmee een afgeleid ras kan worden gemaakt.

Meer en meer worden genetische *fingerprints* toegelaten als ondersteunend bewijs voor inbreuk op kwekersrecht. Als deze techniek op champignonrassen wordt gebruikt weet je echter nog steeds niet of het om een echte kopie gaat (inbreuk op kwekersrecht) of een afgeleid ras (onder voorwaarden toegestaan).

Een van de doelstellingen is om voldoende data te genereren van 2-kernige sporen uit Horst U1 die aantonen dat dit type sporen vrijwel allemaal dezelfde chromosomen bevat als Horst U1. Het enige verschil met Horst U1 is dat de genetische informatie anders is verdeeld over de kernen. Daarnaast hebben we van een groter aantal commerciële rassen beide kerntypen geïsoleerd en genetisch geanalyseerd. Het doel is om hiermee aan te tonen dat deze commerciële rassen dezelfde chromosomen hebben als Horst U1 maar dat ook hier deze chromosomen anders over de kernen zijn verdeeld. Hiermee is dan aangetoond dat dit type sporen gebruikt is om deze rassen te maken.

Deze bevindingen moeten in een "peer reviewed" wetenschappelijk tijdschrift gepubliceerd worden. Deze publicatie kan vervolgens gebruikt worden om het begrip "afgeleid kwekersrecht" voor champignons bij het Europees kwekersrechtbureau (CVPO) op de agenda te zetten. De internationale definitie van een afgeleid ras is (Plant Breeder's Rights Act 1994):

A plant variety is taken to be an essentially derived variety of another plant variety if:

- (a) it is predominantly derived from that other plant variety; and
- (b) it retains the essential characteristics that result from the genotype or combination of genotypes of that other variety; and
- (c) it does not exhibit any important (as distinct from cosmetic) features that differentiate it from the other variety.

Volgens deze definities zijn de huidige rassen afgeleide rassen van Horst U1 en U3.

Over de aanpak is vooroverleg geweest met het Europees bureau voor kwekersrecht. Dit bureau heeft aangegeven mee te willen werken maar ook dat het bureau onafhankelijk wil blijven. Daarvoor is het nodig dat het bedrijfsleven achter de definitie van afgeleid kwekersrecht (EDV; essentially derived variety) staat. Het genereren van data die de definitie van afgeleid kwekersrecht onderbouwt en het organiseren van het bedrijfsleven, laat het bureau aan het bedrijfsleven over. Als aan de gestelde voorwaarden wordt voldaan zal het bureau de definitie gaan implementeren.

### 3 Genetische analyses

Met ondersteuning van het Productschap zijn in 2 TTI projecten een aantal analyses uitgevoerd die gebruikt kunnen worden om te definiëren wat afgeleid kwekersrecht bij champignons is. Hoewel nog niet alle beschikbare data voorhanden zijn, is al een artikel gepubliceerd in de *Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7)* in het najaar van 2011. De additionele data die nu gegenereerd zijn worden op dit moment gebruikt om een artikel te schrijven in een *peer reviewed* tijdschrift. De gegenereerde data komen in het kort hierop neer:

De huidige rassen zijn fenotypisch enigszins verschillend terwijl ze genetisch toch gelijk zijn of heel erg gelijkend zijn. Van een aantal commerciële rassen zijn beide kerntypen geïsoleerd via protoplastering en hiervan is het genotype bepaald met SNP merkers.

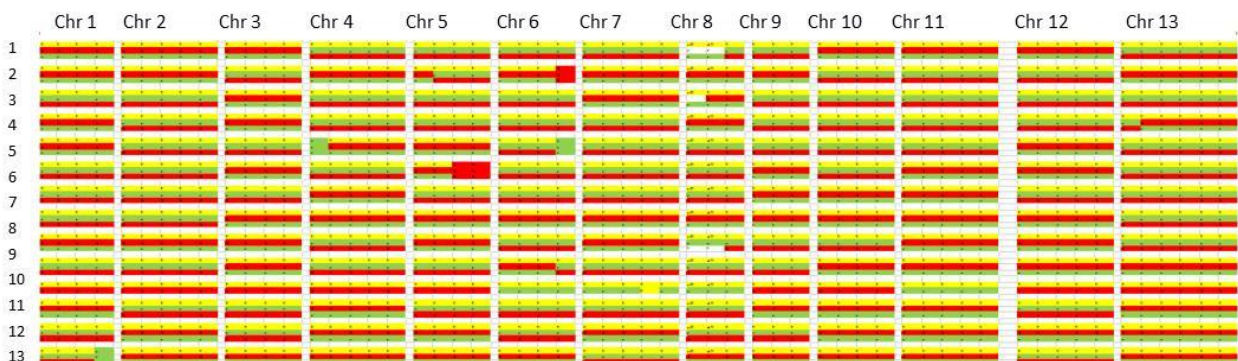
Hieruit is gebleken dat de meeste chromosomen identiek zijn aan die van Horst U1 maar dat ze een andere verdeling over de kernen hebben (Figuur 2). Deze andere verdeling kan een invloed hebben op het fenotype.

De vraag was of deze rassen gegenereerd kunnen worden door sporen van 2-sporige basidia te gebruiken. Om dit te testen zijn heterokaryotische eensporeculturen van Horst U1 geïsoleerd, gegenotypeerd en geteeld om het fenotype te bepalen. Voor 13 van deze

heterokaryons zijn beide kerntypen geïsoleerd via protoplastering zodat beide kerntypen apart gegenotypeerd konden worden (Figuur 3). Hieruit bleek dat deze culturen inderdaad erg lijken op Horst U1 (1.2% verschil met Horst U1 in de geteste allelen). De grootste genetische verschillen zijn de andere verdeling van de homologe chromosomen over de beide kerntypen. Dit onderstreept dat de genetische variatie die we bij de huidige commerciële rassen hebben

	Chr 1	Chr 2	Chr 3	Chr 4	Chr 5	Chr 6	Chr 7	Chr 8	Chr 9	Chr 10	Chr 11	Chr 12	Chr 13
Horst U1	Ouder 1	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39
	Ouder 2	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97
Ras 2	Ouder 1	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39	H39
	Ouder 2	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97	H97
Ras 3	Ouder 1	H39	H97	H97	H97	H39	H39	H39	H39	H97	H97	H97	H39
	Ouder 2	H97	H39	H39	H39	H97/H39	H97	H97	H97	H39	H39	H39	H97
Ras 4	Ouder 1	H97	H39	H97	H97	H97	H97/H39	H97	H39	H97	H39	H97	H97
	Ouder 2	H39	H97	H39	H39	H39	H97	H39	H97	H39	H97	H39	H39
Ras 5	Ouder 1	H97/H39	H97	H97	H39	H97	H39	H39	H39	H97	H97	H97	H97
	Ouder 2	H39/H97	H39	H39	H97	H39	H97	H97	H97	H39	H39	H39	H39
Ras 6	Ouder 1	H97	H97	H97	H97	H39	H39	H97	H97	H39	H39	H39	H97
	Ouder 2	H39	H39	H39	H39	H97	H97	H39	H39	H97	H97	H97	H39
Ras 7	Ouder 1	H97	H97	H97	H97	H39	H39	H97	H39	H39	H39	H39	H97
	Ouder 2	H39	H39	H39	H39	H97	H97	H39	H97	H97	H97	H97	H39
Ras 8	Ouder 1	H97	H97	H97	H97	H39	H39	H97	H39	H39	H39	H39	H97
	Ouder 2	H39	H39	H39	H39	H97	H97	H39	H97	H97	H97	H97	H39
Ras 9	Ouder 2	H97	H97	H97	H97	H39	H39	H97	H39	H39	H39	H39	H97
	Ouder 1	H39	H39	H39	H39	H97	H97	H39	H97	H97	H97	H97	H39

Figuur 2. Genotypering van 8 huidige commerciële rassen. Voor de genotypering zijn eerst de twee typen kernen uit elkaar gehaald en afzonderlijk gegenotypeerd (ouder 1 en ouder 2). Duidelijk is te zien dat vrijwel alle rassen dezelfde allelen hebben als Horst U1 maar dat de chromosomen anders zijn verdeeld over de beide ouder typen. Bij sommige rassen heeft ook een uitwisseling plaats gevonden tussen chromosomen.



Figuur 3. Genotypering van heterokaryotische eensporeculturen (afkomstig van 2-sporige basidia) van Horst U1. Voor elke culture zijn de twee kerntypen uit elkaar gehaald en apart gegenotypeerd. Elke stam (nr) wordt gepresenteerd als 3 lijnen (geel, rood/groen). De bovenste lijn is het genotype van beide kernen samen, de volgende twee van kern type 1 en kern type 2 (ook wel ouder type 1 en ouder type 2genoemd). Ook hier is weer te zien dat de meeste stammen dezelfde samenstelling hebben als Horst U1 en dat de chromosomen anders verdeeld zijn over de kernen.





gevonden inderdaad gegenereerd kan worden via fertiele eensporeculturen. Uit de teelt van deze eensporeculturen bleek ook dat de meeste lijnen wel U1-achtig zijn maar toch significant verschillen van Horst U1. Hierbij is vooral de opbrengst en sortering geanalyseerd. Deze analyse heeft laten zien dat chromosoom uitwisseling tussen kernen een duidelijk fenotypisch effect kan hebben. Door het screenen van fertiele eensporeculturen kan een veredelaar dus een ras verder "fine tunen". Duidelijk is ook dat dit type veredeling beschouwd moet worden als het maken van een afgeleid ras en dat dit ras onder het kwekersrecht moet vallen van het oorspronkelijke ras. Verdere details kunnen gevonden worden in Sonnenberg et al. 2011 (vrij te downloaden via link: <http://wsbmp.org/proceedings/7th%20international%20conference/1/ICMBMP7-Oral-1-2-Sonnenberg.pdf> ).

## 4 Definiëren van EDV en het organiseren van support

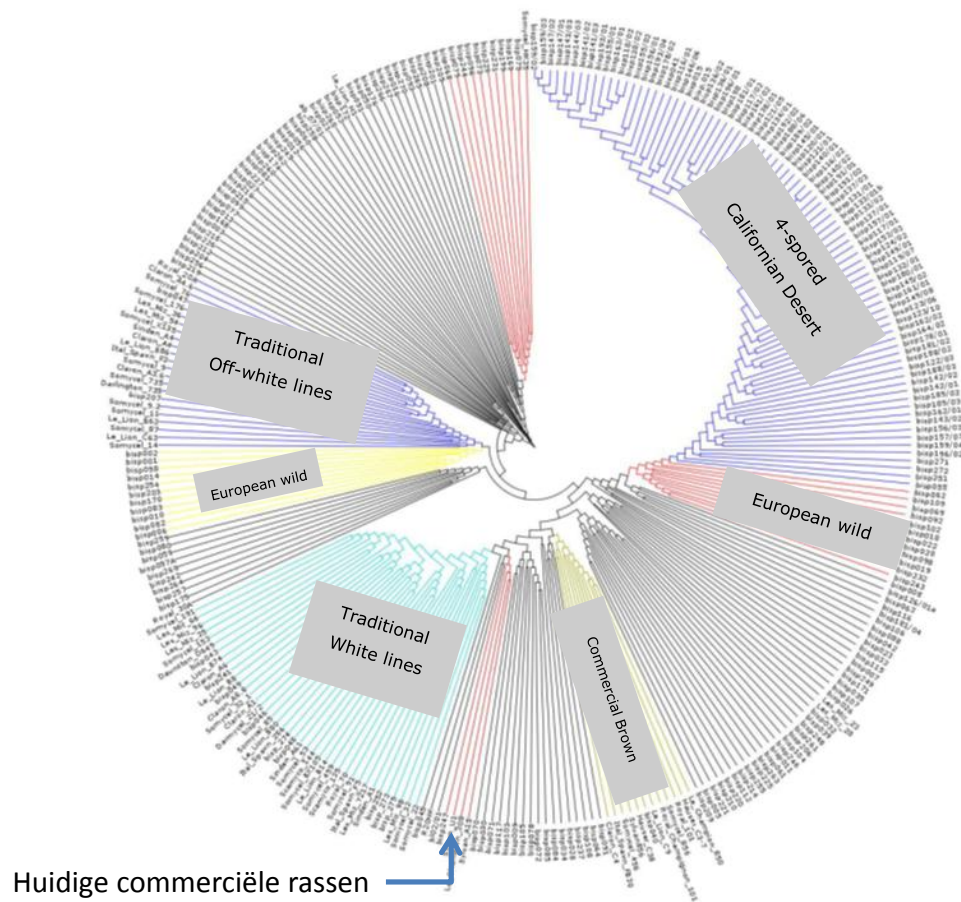
Zoals eerder aangegeven wil het Europees kwekersrechtbureau ondersteuning verlenen voor het verkrijgen van afgeleid kwekersrecht (EDV) voor paddenstoelen als het voorwerk wordt gedaan: het definiëren van EDV, het publiceren in een *peer reviewed* tijdschrift en het organiseren van support.

Voor support bewandelen we verschillende wegen. We hebben in eerste plaats support van de internationale organisatie ISMS (zie ISMS News in Mushroom Business 52, 2012). Daarnaast is er een workshop gehouden tijdens het ISMS congres in Beijing waarop het initiatief om tot een EDV voor paddenstoelen te komen is gepresenteerd. Aangezien het hier gaat om verschillende paddenstoelsoorten (met dus verschillende levenscycli) en verschillende landen met elk hun eigen wetgeving is het lastig om een initiatief te lanceren dat alle regio's en alle paddenstoelsoorten omvat. In de workshop is daarom aangekondigd dat een aantal partijen samen gaat werken om tot een definitie te komen voor EDV voor champignons naar het voorbeeld voor EDV voor planten bij het Europees kwekersrecht. In deze groep zitten Sylvan, Amycel, Mycolim, INRA Bordeaux en Plant Breeding Wageningen UR. De WUR zal het aanspreekpunt zijn voor dit initiatief (A. Sonnenberg). Voor andere soorten en regio's is een oproep gedaan om mensen te vinden die dit willen gaan organiseren. De groep voor EDV Champignons is 2 keer bij elkaar geweest en zal in april weer een vervolg bijeenkomst houden in Bordeaux. Dit initiatief moet leiden tot het *peer reviewed* artikel, het definiëren van EDV en het vinden van support in het bedrijfsleven. In samenspraak met het bureau voor Europees kwekersrecht zal dan de regelgeving geïmplementeerd worden.

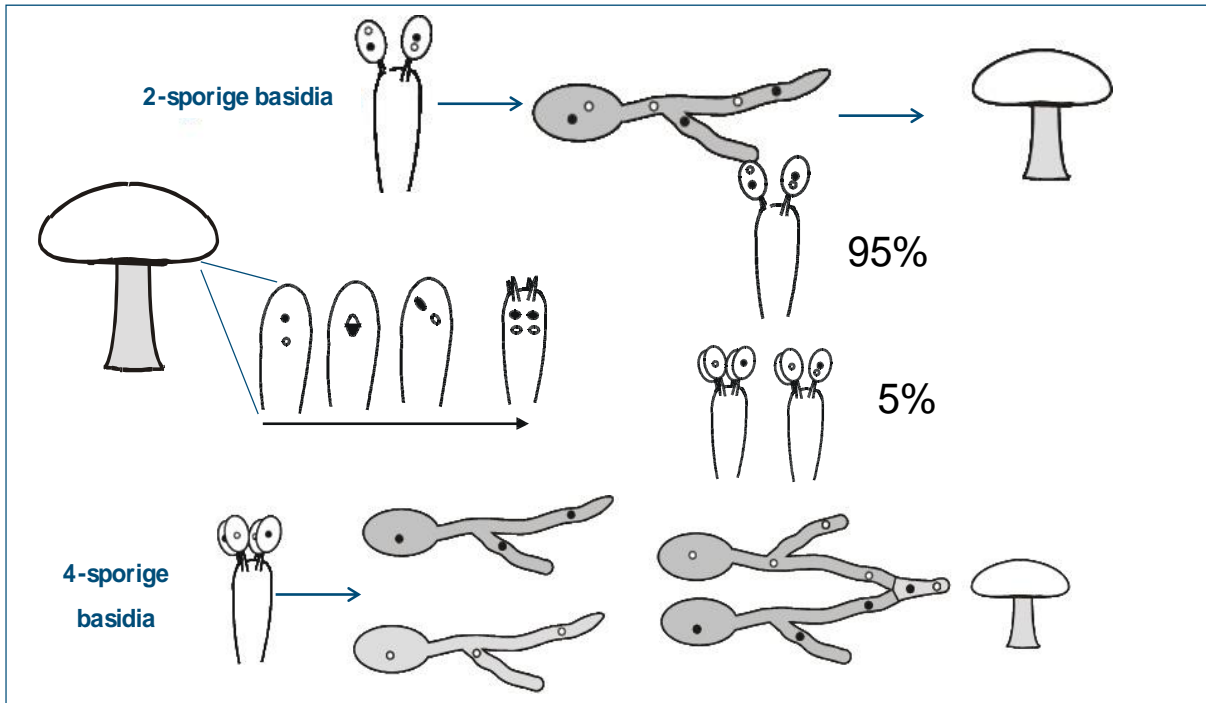


## Appendix 1

Genetische verwantschap van de traditionele rassen, huidige rassen en wildisolaten van de champignon op basis van SNP markers (single nucleotide polymorphism).



## Appendix 2



Figuur 1. De levenscyclus van de champignon. Elke ouderkern in het mycelium bevat ca 30 miljoen bouwstenen (het DNA) dat in 13 pakketjes is verdeeld (13 chromosomen). De twee ouderkernen in het mycelium van de champignon versmelten pas in de basidia (in meiose gespecialiseerde cellen op de lamellen). Deze kern bevat dus het dubbele aantal chromosomen. Hierna deelt de kern en er ontstaan 2 nieuwe dochterkernen. Elke kern moet van elk chromosoom weer één exemplaar hebben. Van welke ouder dit exemplaar afkomstig is wordt door toeval bepaald. Elke dochterkern heeft dus een unieke samenstelling van chromosomen. Vervolgens deelt elk van deze kernen nog een keer zodat er 4 kernen ontstaan. De twee nieuwe kernen die in deze tweede deling ontstaan zijn vaak kopiën van de eerste kern zodat we weliswaar 4 kernen hebben maar slechts twee typen. De kernen die kopiën van elkaar zijn noemen we zuster-kernen. De 4 kernen worden vervolgens over de sporen verdeeld. Bij de meeste paddenstoelvormende schimmels worden de 4 kernen over 4 sporen verdeeld en krijgt elke spore één kern. Als deze sporen kiemen vormen ze mycelium dat geen paddenstoelen kan vormen. Eerst moeten deze gekruist worden met een andere spore (die ook één kern bevat) en dit mycelium vormt wel paddenstoelen. Door sporen van twee verschillende rassen te nemen kan een veredelaar rassen verbeteren.

Bij de champignon worden in de meeste gevallen de 4 kernen over 2 sporen verdeeld. De verdeling wordt zo geregeld dat 2 niet-zuster kernen bij elkaar komen in één spore en dit type sporen kan na kieming weer paddenstoelen vormen. Dat komt omdat door het combineren van 2 niet-zuster kernen in één spore, alle oorspronkelijke chromosomen weer aanwezig zijn. We kunnen dit beschouwen als een interne bevruchting. Sporen die 2 kernen hebben gekregen bevatten weliswaar alle chromosomen van het oorspronkelijke ras maar deze zijn wel anders verdeeld over de twee kernen. We hebben onlangs 2 commerciële champignonrassen bekeken en geconstateerd dat deze rassen alle chromosomen van Horst U1 bevatten, maar dat de chromosomen anders verdeeld zijn over de kernen. Deze andere verdeling heeft blijkbaar ook een (geringe) invloed op de raseigenschappen, want de bewuste rassen hebben andere teelteigenschappen dan Horst U1 (knoppen anders, minder schubben). De sporen die 2 kernen bevatten kunnen dus dienen om kleine aanpassingen aan rassen te maken en dat is nuttig voor een veredelaar. Het is echter ook een snelle en goedkope manier om een "nieuw" ras te maken.

Het introduceren van een nieuwe eigenschap in een ras (b.v. resistentie, kneusgevoeligheid, betere substraatafbraak) kan alleen maar door een bestaand ras te kruisen met een ras dat deze nieuwe eigenschap bezit (vaak een wildisolaat). Hiervoor moet je eerst sporen isoleren met maar één kern van beide rassen en dat kost behoorlijk wat tijd. Vervolgens moet je deze beiden kruisen en hiervan paddenstoelen telen. De nakomelingen hiervan die weer één



kern bevatten moeten vervolgens weer teruggekruist worden met één van de ouders van het oorspronkelijke ras om zoveel mogelijk van de oorspronkelijke eigenschappen van dit ras te herstellen, met behoud van de nieuwe eigenschap. Dit moet vaak herhaald worden. Dit maakt duidelijk dat veredelen veel tijd kost en lang duurt. Dat vergt dus een investering en het beschermen van dit ras via kwekersrecht is nu de enige manier om de investering terug te verdienen. Met het isoleren van sporen van dit ras met 2 kernen, kan echter een kleine verandering worden aangebracht in betrekkelijk korte tijd kan dit nieuwe isolaat als nieuw ras op de markt worden gebracht. Daarmee wordt het kwekersrecht ondergraven en wordt de investering in het oorspronkelijk ras niet terugverdiend. Het maken van dit soort veranderingen zou dus beschouwd moeten worden als het maken van een "afgeleid ras". Deze term is afkomstig uit de plantenwereld waar dit probleem ook speelt. In kwekersrechttermen wordt dit een "Essentially Derived Variety" genoemd (EDV). EDV's maken is toegestaan maar de makers zijn schatplichtig aan diegene die het oorspronkelijke ras gemaakt hebben.

## Referentie.

Anton S.M. Sonnenberg, Johan, J.P Baars, Patrick M. Hendrickx, Brian Lavrijssen, Wei Gao, Amrah Weijn & Jurriaan J. Mes 2011. Breeding and strain protection in the button mushroom *Agaricus bisporus*. Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP7)