



# Biologische efficiëntie substraatverbruik bij champignon

Een genetische analyse

Johan Baars & Anton Sonnenberg

© 2014 Wageningen, Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek (DLO) onderzoeksinstituut Plant Research International. Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van DLO.

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

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

Exemplaren van dit rapport kunnen bij de (eerste) auteur worden besteld. Bij toezending wordt een factuur toegevoegd; de kosten (incl. verzend- en administratiekosten) bedragen € 50 per exemplaar.

## **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 35  
Fax : 0317 – 41 80 94  
E-mail : [info.pri@wur.nl](mailto:info.pri@wur.nl)  
Internet : [www.wageningenUR.nl/pri](http://www.wageningenUR.nl/pri)

# Inhoudsopgave

	pagina
1. Samenvatting	1
2. Inleiding	2
3. Analyse van biologische efficiëntie van substraatgebruik	3
3.1 Selectie van champignonlijnen	3
3.2 Maken van kruisingen	3
3.3 Bevestigen van een kruising	5
3.4 Uitvoering van de teelt	6
3.5 Opbrengst gekoppeld aan substraatverbruik	7
3.5.1 Resultaten opbrengst in versgewicht	7
3.5.2 Resultaten drooggewicht bepaling	8
3.5.3 Bepaling van biologische efficiëntie.	10
3.5.4 Relatie consumptie hemicellulose – biomassa productie	12
4. Conclusies en vervolgonderzoek	14
5. Gebruikte literatuur	15
Bijlage I. Statistische analyse van drooggewichten	1



# 1. Samenvatting

In 2013 is de tweede stap gezet in het project om tot een efficiënter substraatgebruik te komen in de champignonenteelt. Deze stap heeft twee doelen:

- Het bepalen van de *breeding value* (hoe gedragen de stammen zich in kruisingen en welke waarde hebben ze dus in de veredeling)
- Welke lijnen zijn geschikt om segregerende populaties te maken. Deze populaties zullen gebruikt worden om genomische gebieden/genen te vinden die de verschillen in efficiëntie in substraat gebruik kunnen verklaren.

De kennis kan gebruikt worden voor zowel veredelen op substraatgebruik als het vinden van alternatieve grondstoffen voor het maken van substraat. Er is in 2013 een selectie gemaakt van negen wild-isolaten en één commercieel ras van de champignon. Deze stammen dekken de hele variatie van de collectie van Plant Breeding in de efficiëntie van het substraatgebruik (uitgedrukt als g droge stof aan champignons per kg verbruikte organische stof) ook wel biologische efficiëntie genoemd (BE).

De lijnen zijn in alle mogelijke combinaties met elkaar gekruist en van deze kruisingen is weer de biologische efficiëntie bepaald op compost. Er is een grote variatie gevonden variërend van 11 tot 339 g droge stof/kg organische stof verbruikt in het substraat.

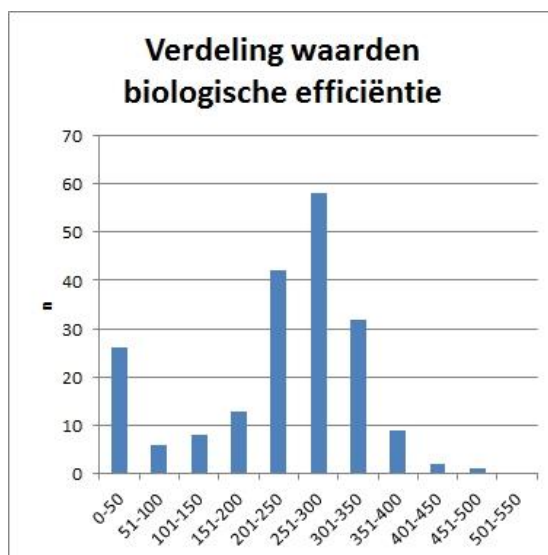
Indien we de teeltproef voor de bestudering van biologische efficiëntie vergelijken met een eerder uitgevoerde proef, zien we dat de gemiddelde waarde voor de biologische efficiëntie (hier  $258 \pm 38$  g droge stof/kg verbruikte organische stof) vergelijkbaar is met een eerdere proef waarin een brede selectie uit de collectie is getest ( $233 \pm 39$  g droge stof/kg verbruikte organische stof). Daarmee lijkt de mate van variatie binnen de twee proeven vergelijkbaar. Er leek echter wel een verschil te zijn in de mate waarin hemicellulose afbraak bijdraagt aan de vorming van biomassa. Gemeten over alle bestudeerde genotypen van wildisolaten werd voor elke kilogram hemicellulose, 1629 g champignons geproduceerd (gemeten als droge stof). Echter, voor de geteste kruisingen blijkt gemiddeld dat voor elke kilogram hemicellulose, slechts 828 g champignons geproduceerd (gemeten als droge stof).

Voor de kruisingen die succesvol waren en waarden voor biologische efficiëntie bekend zijn, zullen de breeding values worden berekend. Op basis daarvan wordt gekozen welke lijnen gebruikt zullen worden om segregerende populaties te maken waarmee de genetische basis voor substraatgebruik zal worden ontrafeld.

## 2. Inleiding

### 2.1 De voorgaande fase.

In 2012 is de biologische efficiëntie van het substraatverbruik van champignon bestudeerd (Baars et al, 2012). Substraatgebruik en biologische efficiëntie van champignon accessies uit de collectie Plant Breeding Wageningen UR). In teeltproef werden daarvoor, verdeeld over twee teeltruimten (cel 2 en 3), 66 genetisch onderling verschillende champignonisolaten geteeld in 6 herhalingen (3 herhalingen per teeltruimte = 198 kistjes). Deze teeltproef werd uitgevoerd in de periode medio juli tot medio september 2012 in kisten per 0.1 m<sup>2</sup> teeltoppervlak en 8 kg compost per kistje. De resultaten van deze proef lieten zien dat er grote verschillen zijn in de efficiëntie waarmee de verschillende champignonisolaten het substraat omzetten in paddenstoelen. Van een groep van 10 champignon isolaten werd duidelijk dat zij een uitzonderlijk lage champignonproductie hadden. Voor de overige 56 champignonisolaten varieerde de biologische efficiëntie tussen 129 g champignons/kilogram verbruikte organische stof (beiden op basis van drooggewicht) en 395 g champignons/kilogram verbruikte organische stof. Aangezien het asgehalte in compost niet altijd even hoog is, werd de biologische efficiëntie uitgedrukt op basis van organische stof. Dit maakt het mogelijk om resultaten op verschillende compost batches nauwkeuriger te vergelijken. Een histogram van de gevonden 198 waarden laat zien dat deze normaal verdeeld zijn als de zeer slecht producerende lijnen buiten beschouwing worden gelaten (de klasse 0-50)(figuur 1). Van deze stammen produceerde niet elke herhaling paddenstoelen.



Figuur 1. Verdeling van de waarden voor biologische efficiëntie.

### 2.2 De volgende fase.

De gevonden variatie kan in principe worden gebruikt voor veredeling op biologische efficiëntie (productie champignons per gewichtshoeveelheid substraat). Hiervoor een selectie gemaakt van stammen die de hele range dekken van in biologische efficiëntie in de substraatafbraak zoals die is gevonden in de collectie. De selectie is gemaakt met het doel deze lijnen in alle mogelijke combinaties met elkaar te kruisen en van elke kruising weer de biologische efficiëntie te bepalen. Net als bij planten kunnen kruisingen tussen paddenstoel-rassen/stammen alleen gemaakt worden door haploide gameten van beide rassen met elkaar te paren. Daarvoor kun de de spoern (nakomelingen) gebruiken. Er is echter een andere, meer aantrekkelijke methode voor het maken van kruisingen. Elk paddenstoel ras is diploid, dat wil zeggen, elke cel in het mycelium bevat twee genetisch verschillende haploide kernen. Deze versmelten pas vlak voordat er sporen in de paddenstoel gevormd worden. Dat biedt de mogelijkheid om de beide kernen uit het mycelium te isoleren en twee type mycelia te produceren die elk maar één type kern bevatten. Doordat van elke lijn te doen kunnen deze haploide mycelia (homokaryons) van elke stammen op alle mogelijke manieren met elkaar worden gekruist. Van elke kruising kan vervolgens de biologische efficiëntie bepaald worden. De resultaten kunnen gebruikt worden om de *breeding value* van elke homokaryon in te schatten en te bepalen welke combinaties van homokaryons geschikt zijn om segregerende populaties te maken. De laatste wordt gebruikt om genomische gebieden/genen te vinden die (voor een deel) een verklaring geven voor de gevonden verschillen in biologische efficiëntie tussen de verschillende stammen. De kennis kan vervolgens gebruikt worden voor veredeling en om naar alternatieve grondstoffen te zoeken voor het bereiden van compost. Door het maken van dit type kruisingen wordt van elke stam voor elk gen (allele) de invloed in combinatie met het allele van een andere lijn getest op de eigenschap biologische efficiëntie (de zogenoemde di-allel matrix). Dit rapport beschrijft het maken van de kruisingen voor de di-allel matrix en de teeltproef die met deze heterokaryons is uitgevoerd waarin de biologische efficiëntie is getest.

### 3. Analyse van biologische efficiëntie van substraatgebruik

#### 3.1 Selectie van champignonlijnen

Op basis van de resultaten van teeltproef 27230 die is uitgevoerd in 2012, is een selectie gemaakt van 10 isolaten met sterk uiteenlopende biologische efficiëntie. De selectie was mede gebaseerd op het voorhanden zijn van één of beide ouderlijnen als homokaryons. Daarnaast is geprobeerd om een mix te vinden van twee-sporige en vier-sporige rassen. In de twee sporige rassen worden de chromosomen vrijwel als parentaal (ouder)-type overge-erfd. De vier-sporige vertonen wel een normale recombinatie. In kruisingen tussen de twee type is de normale recombinatie dominant zodat vier-sporigen en kruisingen tussen twee- en vier-sporigen goed voor veredeling kunnen worden gebruikt.

Tabel 1. Selectie van stammen met verschillen in biologische efficiëntie, zoals gemeten in proef 27230.

Strain	Biol. Eff. g DM / kg OM	p<0.05	Selected for diallelic matrix	Parental lines present
MES 01808	144.0	bc	X (bisporic)	Z6 & Z8
MES 01675	210.8	..defgh	X (tetrasporic)	MES 01675-p1 (seq'd)
MES 01575	245.1	...efghijkl	X (bisporic)	C43/8
MES 01905	266.2	.....ghijklmn	X (bisporic)	No
MES 01516	273.9	.....hijklmno	X (bisporic)	Both? B70/05 & b70/7
Sylvan A15	317.2	.....mnopqrs	X (bisporic)	Both; A15-p1 & A15-p2
MES 01497	318.8	.....mnopqrs	X (tetrasporic)	Both; B55/1 & B55/9
MES 01751	377.8	.....st	X (tetrasporic)	No
MES 01542	395.0	.....t	X (bisporic)	No
MES 01615	Not tested		X (tetrasporic)	Has been protoplasted

#### 3.2 Maken van kruisingen

De mogelijkheid om twee homokaryons met elkaar te laten kruisen wordt voor een belangrijk deel bepaald door de vraag of zij compatibele mating types bezitten. De mating types in de geselecteerde champignonstammen zijn niet bekend. Dat maakt het lastig om te voorspellen of een kruising zal gaan lukken. Een tweede probleem bij het maken van kruisingen is dat het lastig te zien is of een kruising daadwerkelijk heeft plaatsgevonden. Kruisingen worden meestal gemaakt door twee

homokaryons naast elkaar op een compost-agar te enten. Als de twee homokaryons kruisen verschijnt er soms een pluizig mycelium op het punt waar de twee kolonies elkaar raken, maar ook heel vaak is dat niet te zien (figuur 2).

Van de stammen in Tabel 1 is slechts van een aantal de beide ouderlijnen door protoplastering als reiculture verkregen (MES 01808, Sylvan A15, MES 01497 en MES 01516). Voor deze stammen kunnen dus beide type kernen (geïsoleerd als homokaryons) in alle combinaties tegenover elkaar



Figuur 2. Geslaagde kruising. Twee homokaryons (één in tweevoud met grote kolonie en één in tweevoud met kleine kolonie) hebben op het grensvlak een kruising gemaakt (witte toef mycelium).





	ouder 2	
--	---------	--

### 3.3 Bevestigen van een kruising

Als gevolg van het probleem dat we een geslaagde kruising niet op basis van morfologie kunnen onderscheiden van een mislukte kruising, hebben we moleculaire technieken nodig om te kunnen vaststellen of een kruising geslaagd is. In onze experimenten hebben we gebruik gemaakt van SNP-markers om te kunnen vaststellen of een kruising geslaagd was. Hiervoor zijn dezelfde SNP markers gebruikt die gebruikt zijn om de collectie wildisolaten van champignon te onderscheiden (Baars et al., 2012). Zoals in Tabel 2 te zien is, zijn slechts heel weinig van de kruisingen tussen homokaryons en heterokaryons en geen van de kruisingen tussen twee heterokaryons gelukt. Ter

**Tabel 3. Overzicht van de kruisingen die zijn getest op biologische efficiëntie in teeltproef 3516201113.**

Behand.	kruising	ouder1	ouder2		Behand.	kruising	ouder1	ouder2
1	MB-002	MES 01497-p1	MES 01516-p2		35	MB-300	MES 01497-p1	MES 01675p1
2	MB-006	MES 01497-p1	MES 01615-p1		36	MB-301	MES 01497-p2	MES 01675p1
3	MB-009	MES 01497-p1	A15-p2		37	MB-302	MES 01516-p1	MES 01675p1
4	MB-010	MES 01497-p1	Z6		38	MB-303	MES 01516-p2	MES 01675p1
5	MB-011	MES 01497-p1	Z8		39	MB-304	MES 01675p1	MES 01575-p1
6	MB-012	MES 01497-p2	MES 01516-p1		40	MB-305	MES 01675p1	MES 01615-p1
7	MB-013	MES 01497-p2	MES 01516-p2		41	MB-306	MES 01675p1	MES 01615-p4
8	MB-016	MES 01497-p2	MES 01575-p1		42	MB-307	MES 01675p1	A15-p1
9	MB-018	MES 01497-p2	MES 01615-p4		43	MB-308	MES 01675p1	A15-p2
10	MB-020	MES 01497-p2	A15-p2		44	MB-309	MES 01675p1	Z6
11	MB-021	MES 01497-p2	Z6		45	MB-310	MES 01675p1	Z8
12	MB-022	MES 01497-p2	Z8		46	MD-074-1	MES 01497-p1	MES 01544
13	MB-025	MES 01516-p1	MES 01575-p1		47	MD-086-1	MES 01497-p1	MES 01675
14	MB-026	MES 01516-p1	MES 01615-p1		48	MD-097-4	MES 01497-p1	MES 01575
15	MB-028	MES 01516-p1	A15-p1		49	MD-098-1	MES 01497-p2	MES 01575
16	MB-029	MES 01516-p1	A15-p2		50	MD-108-1	MES 01497-p1	MES 01905
17	MB-031	MES 01516-p1	Z8		51	MD-112-1	MES 01675p1	MES 01905
18	MB-034	MES 01516-p2	MES 01575-p1		52	MD-112-2	MES 01675p1	MES 01905
19	MB-035	MES 01516-p2	MES 01615-p1		53	MD-122-1	MES 01516-p1	MES 01751
20	MB-036	MES 01516-p2	MES 01615-p4		54	MD-125-1	MES 01575-p1	MES 01751
21	MB-037	MES 01516-p2	A15-p1		55	MD-130-3	Z6	MES 01751
22	MB-038	MES 01516-p2	A15-p2		56	MD-132-1	MES 01497-p1	MES 01542
23	MB-040	MES 01516-p2	Z8		57	MD-132-2	MES 01497-p1	MES 01542
24	MB-058	MES 01575-p1	A15-p1		58	A15		
25	MB-059	MES 01575-p1	A15-p2		59	MES 01497		
26	MB-061	MES 01575-p1	Z8		60	MES 01516		
27	MB-064	MES 01615-p1	Z6		61	MES 01542		
28	MB-066	MES 01615-p4	A15-p1		62	MES 01544		
29	MB-067	MES 01615-p4	A15-p2		63	MES 01575		
30	MB-068	MES 01615-p4	Z6		64	MES 01615		
31	MB-069	MES 01615-p4	Z8		65	MES 01675		
32	MB-071	H39	Z8		66	MES 01751		

33	MB-072	H97	Z6	67	MES 01808		
34	MB-073	H97	Z8	68	MES 01905		

vergelijking Xu et al (1996) maakten twee homokaryon x heterokaryon kruisingen en drie heterokaryon x heterokaryon kruisingen en namen telkens 4 subcultures van de confrontatie-zone. Nieuwe kruisingen probeerden zij te herkennen op basis van analyse van restriction fragment lengte polymorfismen voor 18 loci in het kern DNA verdeeld over 7 koppelingsgroepen en 2 regio's in het mitochondrieel DNA. Vijf van de acht subcultures van de twee homokaryon x heterokaryon kruisingen en vijf van de twaalf subcultures van de drie heterokaryon x heterokaryon kruisingen waren recombinant. Dit werd door Xu et al. (1996) geïnterpreteerd als nieuwe kruisingen.

De enige kruisingen die met een redelijk succes konden worden gemaakt waren die tussen homokaryons onderling. Van de 66 kruisingen tussen homokaryons waren er 40 gelukt. Indien daar de 9 wildisolaten en de commerciële lijn A15 bij worden opgeteld en de homokaryon-heterokaryon kruisingen waarvoor we niet zeker weten welke kruising we precies gemaakt hebben, kunnen we ongeveer 61 kruisingen analyseren op biologische efficiëntie. Tabel 3 geeft een overzicht van de kruisingen die getest zijn op biologische efficiëntie. Naast de nieuw gemaakte kruisingen zijn ook de oorspronkelijk heterokaryons (Tabel 1) waaruit de homokaryons zijn geïsoleerd meegenomen. Op deze manier is de breeding value van de beide kerntypen in de oorspronkelijke stammen ook in te schatten. Alle stammen zijn in 3-voud getest.

### 3.4 Uitvoering van de teelt

Op 21 oktober 2013 is de teeltproef voor bepaling van biologische efficiëntie ge-ent. Hiervoor zijn kisten met 0.1 m<sup>2</sup> teeltoppervlak (40 x 30 cm, 25 cm diep) gevuld met 8 kg ge-ente compost. Voor bepaling van de samenstelling van de compost (vochtgehalte, asgehalte, NDF, ADF, ADL) m.b.v. NIR analyse zijn 3 mengmonsters genomen van de compost en ge-analyseerd door Havens. Na 16 dagen compost-kolonisatie is de mate van doorgroeiing van de compost beoordeeld. Voor een aantal kruisingen (Tabel 4) bleek dat voor geen enkele van de drie herhalingen de compost doorgroeid werd. Op 7 november zijn de kisten afgedekt met reguliere dekaarde. Na 11 dagen dekaardekolonisatie (11 november 2013) zijn de kolonisatie van de dekaarde beoordeeld. De meeste stammen koloniseerden de dekaarde goed. MES 01675 gaf in alle 3 herhalingen een slechte kolonisatie van de dekaarde te zien, evenals kruising MB-028 (MES 01516-p1 x A15-p1). Beide stammen hadden de compost evenwel zeer goed gekoloniseerd. Ook bij andere stammen zoals A15, MES 01542, MES 01615,

**Tabel 4. Overzicht van kruisingen die op basis van moleculaire tests als gelukt werden beschouwd, maar niet in staat bleken om compost te koloniseren.**

Kruising	Ouder 1	Ouder 2
MB-006	MES 01497-p1	MES 01615-p1
MB-009	MES 01497-p1	A15-p2
MB-025	MES 01516-p1	MES 01575-p1
MB-026	MES 01516-p1	MES 01615-p1
MB-034	MES 01516-p2	MES 01575-p1
MB-037	MES 01516-p2	A15-p1
MB-303	MES 01516-p2	MES 01675p1

MES 01751, bisp 210, MB-028, MB-058, MB-059, MB-071, MB-302 en MD-125-1 is in één of meerdere kisten de dekaarde slecht doorgroeid. Op 19 november is opgeruwd en na herstelgroei is op 23 november 2013 afgeventileerd. Op 23 november 2013 zijn de eerste champignons geplukt. Snel producerende stammen waren MES 01516, MES 01615, MES 01751, MB-012, MB-020, MB-021, MB-022, MB-036, MB-066, MB-067, MB-068, MB-069, MB-304, MB-305, MB-306, MB-307, MB-309 en MB-310. We hebben geprobeerd om van alle stammen 2 vluchten te oogsten. Voor een aantal stammen was het vluchtpatroon echter niet altijd even duidelijk. Als gevolg daarvan hebben sommige stammen 3 vluchten geproduceerd en de meeste twee vluchten. We hebben geprobeerd om van alle kisten een droge stof gehalte te bepalen voor de champignons uit de eerste vlucht en uit de tweede vlucht. Daarnaast is van alle stammen een sporenprent verzameld. Van de stammen is de eerste plukdag vastgelegd

en de algemene indruk van de paddenstoelen. Aan het einde van de teelt is tussen 12 en 17 december het resterende compostgewicht bepaald en zijn een mengmonster genomen voor analyse m.b.v. NIR.

## 3.5 Opbrengst gekoppeld aan substraatverbruik

### 3.5.1 Resultaten opbrengst in versgewicht

Tabel 5 geeft een overzicht van de behaalde opbrengsten per stam (gemiddelde van 3 kisten). De meeste champignons werden geproduceerd door stammen MB-020, A15 en MB-067 (omgerekend gemiddeld 313 tot 317 kg/ton substraat). Voor stammen MB-009, MB-025, MB-026, MB-034 en MB-303 werd geen enkele opbrengst genoteerd. Dit zijn waarschijnlijk mislukte kruisingen. Voor MB-006, MB-028 en MB-037 werd een bijzonder lage productie gevonden op slechts één van de drie kisten.

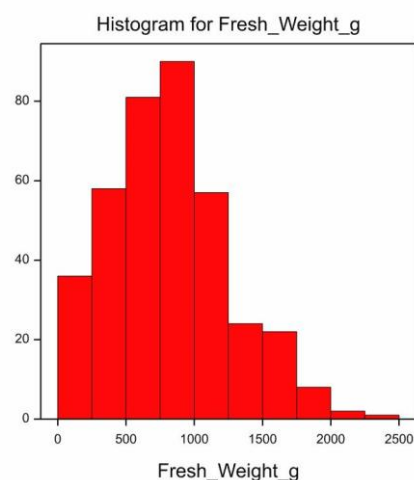
**Tabel 5. Overzicht van de gemiddelde opbrengst per stam in gram natgewicht.**

Stam	Gemiddelde opbrengst per kist (gram natgewicht)	St. dev.	n
MB-020	2537	136	3
A15 commercial spawn	2511	121	3
MB-067	2503	199	3
MB-308	2468	76	3
MB-068	2340	65	3
MB-307	2301	245	3
MB-011	2297	204	3
MB-071	2277	179	3
MB-310	2259	287	3
MB-066	2251	190	3
MES 01542	2247	87	3
MB-309	2226	226	3
MB-036	2176	173	3
MD-130-3	2133	147	3
MB-022	2132	302	3
MB-069	2082	184	3
MB-306	2071	322	3
MES 01497	2051	98	3
MB-073	2048	152	3
MD-132-1	1965	401	3
MB-035	1958	87	3
MB-016	1911	495	3
MD-132-2	1875	297	3
MB-305	1875	379	3
MD-098-1	1848	89	3
MB-304	1839	44	3
MES 01615	1836	111	3
MD-125-1	1819	87	3
MD-112-1	1818	64	3
MB-301	1775	118	3
MD-122-1	1741	540	3
MES 01751	1735	865	3
MB-061	1710	269	3
MB-059	1694	465	3
MD-112-2	1693	303	3
MB-021	1681	439	3

MD-074-1	1662	230	3
MES 01544	1660	292	3
MB-300	1640	173	3
MB-013	1609	34	3
MB-018	1537	231	3
MES 01808	1505	597	3
MB-012	1501	727	3
MES 01516	1485	134	3
MB-029	1443	454	3
MB-040	1429	176	3
MD-097-4	1391	107	3
MB-072	1385	111	3
MES 01905	1348	292	3
MB-064	1314	54	3
MES 01575	1247	131	3
MB-038	1215	399	3
MB-031	1145	276	3
MB-010	1142	246	3
MD-108-1	1087	406	3
MES 01675	840	293	3
MD-086-1	833	588	3
MB-002	505	344	3
MB-302	239	223	2
MB-058	208	196	2
MB-028	132	229	1
MB-037	15	25	1
MB-006	9	15	1
MB-009	0	0	0
MB-025	0	0	0
MB-026	0	0	0
MB-034	0	0	0
MB-303	0	0	0

### 3.5.2 Resultaten drooggewicht bepaling

De opbrengsten van de verschillende kisten werden zo goed mogelijk verdeeld in een eerste, tweede en soms derde vlucht. Voor elke kist is voor elke vlucht het droge stof gehalte van de champignons bepaald. Ze zijn gebruikt om voor elke vlucht het versgewicht van die vlucht om te rekenen naar een drooggewicht. De drooggewichten per kist voor alle vluchten zijn vervolgens bij elkaar opgeteld. Indien de droge stof gehalten worden gemiddeld over de vluchten, blijken er significante verschillen te bestaan tussen de verschillende stammen. (Bijlage 1). Het laagste droge stof gehalte wordt gemeten bij stam MB-068 (63.87g/kg versgewicht) en het hoogste droge stof gehalte wordt gemeten bij stam MB-031 (89.73 g/kg vers gewicht). Stam A15 zit met een droge stof gehalte van 72.54 g/kg versgewicht wat aan de lagere kant van het spectrum.



**Figuur 3. Verdeling van de waarden voor opbrengst in versgewicht. Het relatief grote aantal stammen dat geen of nauwelijks champignons produceerde veroorzaakt een enigszins scheve verdeling.**

De versgewichten per vlucht en de droge stofgehalten per vlucht zijn gebruikt om de totale productie aan droge stof in de champignons te berekenen. Tabel 6 geeft een overzicht van de gevonden gemiddelde opbrengsten in droge stof. De hoogst producerende stam was MB-020 met gemiddeld 197 g droge stof per kist. Echter, als gevolg van de spreiding en het relatief lage aantal waarnemingen (n=3) zijn waarden tussen 197 en 159 g droge stof per kist niet betrouwbaar verschillend.

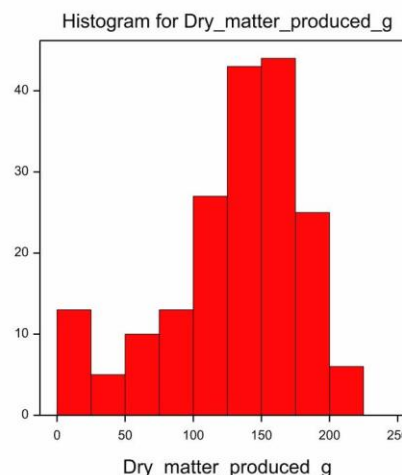
**Tabel 6. Overzicht van geproduceerde hoeveelheden droge stof door de verschillende stammen. Stammen die dezelfde letter achter zich hebben verschillen statistisch niet significant bij P=0.05.**

kruising	Gemiddelde opbrengst aan droge stof (grammen)	P = 0.05
MB-037	1	a
MB-028	7	a
MB-302	11	a
MB-058	14	a
MB-002	39	ab
MD-086-1	54	.bc
MB-016	64	.bcd
MES 01675	71	.bcde
MB-021	73	.bcdef
MB-040	90	..cdefg
MD-108-1	92	..cdefg
MB-010	92	..defgh
MB-038	104	..efghi
MB-031	104	..efghi
MES 01575	105	..efghij
MB-072	110	...fghijk
MES 01905	112	....ghijkl
MB-064	112	....ghijkl
MB-029	116	....ghijklm
MD-097-4	120	....ghijklmn
MB-018	124	....ghijklmno
MES 01516	125	....ghijklmno
MB-059	128	....ghijklmnop
MB-301	131	.....hijklmnopq
MES 01808	131	.....ijklmnopq
MB-012	131	.....ijklmnopq
MB-305	132	.....ijklmnopq
MB-300	134	.....ijklmnopqr
MES 01751	134	.....ijklmnopqr
MB-013	136	.....ijklmnopqr
MB-304	138	.....ijklmnopqrs
MES 01544	138	.....ijklmnopqrs
MES 01615	139	.....ijklmnopqrs
MD-074-1	139	.....ijklmnopqrst
MD-122-1	140	.....ijklmnopqrst
MD-132-1	143	.....jklmnopqrstu
MD-112-2	144	.....klmnopqrstu
MD-112-1	144	.....klmnopqrstu
MD-125-1	148	.....klmnopqrstuv
MD-132-2	149	.....lmnopqrstuv
MB-035	151	.....mnopqrstuv
MB-061	154	.....mnopqrstuvw
MB-068	157	.....nopqrstuvw
MD-130-3	159	.....opqrstuvwxy

MB-306	160	.....opqrstuvwxyz
MD-098-1	164	.....pqrstuvwxyz
MB-309	165	.....pqrstuvwxyz
MB-307	165	.....pqrstuvwxyz
MES 01497	166	.....qrstuvwxyz
MB-308	167	.....qrstuvwxyz
MB-066	168	.....qrstuvwxyz
MB-073	171	.....rstuvwxyz
MES 01542	176	.....stuvwxyz
MB-069	177	.....tuvwxyz
MB-022	178	.....uvwxyz
MB-067	179	.....uvwxyz
MB-036	181	.....uvwxyz
A15	186	.....vwxyz
MB-310	190	.....wxyz
MB-071	191	.....wxyz
MB-011	194	.....xy
MB-020	197	.....y

### 3.5.3 Bepaling van biologische efficiëntie.

De gevonden opbrengsten zijn gekoppeld aan het verbruik aan organische stof uit het substraat. Hiervoor is m.b.v. NIR spectroscopie het vochtgehalte, asgehalte, NDF, ADF en ADL gehalte bepaald van een mengmonster van de compost bij aanvang van de teelt. Daarnaast is de hoeveelheid compost die per teeltkist wordt afgevuurd nauwkeurig op 8 kg gesteld. Aan het einde van de teelt is wederom het gewicht van de resterende compost bepaald. Daarna is een mengmonster gemaakt en is middels NIR weer de boven genoemde analyse gedaan. Tabel 7 geeft een overzicht van de gevonden biologische efficiënties. Als gevolg van de variatie in biologische efficiëntie tussen kisten die be-ent waren met dezelfde stam en het relatief lage aantal herhalingen (maximaal 3) is er statistische gezien geen betrouwbaar verschil bij  $P=0.05$  tussen een biologische efficiëntie van 339 g droge stof/kg verbruikte organische stof en een biologische efficiëntie van 258 g droge stof/kg verbruikte organische stof.



**Figuur 4. Verdeling van opbrengsten aan droge stof. De laag producerende stammen geven een enigszins scheve verdeling.**

**Tabel 7. Overzicht van gevonden waarden voor biologische efficiëntie. Stammen die dezelfde letter achter zich hebben verschillen statistisch niet significant bij  $P=0.05$ .**

Stam	Biologische efficiëntie (g DM/kg OM)	P=0.05
MB-037	11	a
MB-028	16	a
MB-302	45	ab
MB-058	47	ab
MD-086-1	101	.bc
MB-002	101	abcd
MB-021	112	.bcd

MB-016	116	.bcde
MES 01675	150	..cdef
MB-040	160	..cdefg
MB-010	165	..cdefgh
MB-072	173	..cdefghi
MB-064	182	...defghij
MES 01905	187	...defghijk
MB-031	194	....efghijkl
MB-018	198	....efghijklm
MB-038	198	...defghijklmn
MB-300	215	....fghijklmno
MES 01808	221	....fghijklmnop
MB-301	222	....fghijklmnop
MB-029	226	....fghijklmnopq
MES 01751	233	.....ghijklmnopqr
MB-059	234	.....ghijklmnopqr
MES 01615	238	.....ghijklmnopqrs
MD-097-4	244	.....hijklmnopqrst
MES 01575	245	.....hijklmnopqrst
MD-122-1	254	.....ijklmnopqrst
MB-307	258	.....jklmnopqrstuv
MD-132-1	258	.....jklmnopqrstuv
MD-112-1	260	.....jklmnopqrstuv
MB-305	260	.....jklmnopqrstuv
MB-306	263	.....jklmnopqrstuv
MD-112-2	263	.....klmnopqrstuv
MB-304	263	.....klmnopqrstuv
MB-013	264	.....klmnopqrstuv
MES 01516	265	.....klmnopqrstuv
MB-066	267	.....klmnopqrstuv
MB-309	268	.....lmnopqrstuv
MD-108-1	268	.....lmnopqrstuv
MB-061	271	.....lmnopqrstuv
MB-035	274	.....lmnopqrstuv
MB-068	275	.....klmnopqrstuv
MES 01542	275	.....mnopqrstuv
MD-125-1	275	.....mnopqrstuv
MB-012	277	.....mnopqrstuv
MD-132-2	281	.....nopqrstuv
MD-130-3	282	.....lmnopqrstuv
MES 01544	289	.....opqrstuv
A15	293	.....opqrstuv
MES 01497	293	.....jklmnopqrstuv
MD-074-1	295	.....opqrstuv
MB-073	298	.....pqrstuv
MB-067	300	.....opqrstuv
MD-098-1	306	.....qrstuv
MB-022	306	.....qrstuv
MB-071	311	.....rstuv
MB-069	313	.....rstuv
MB-020	316	.....stuv
MB-308	322	.....tuv
MB-036	325	.....tuv
MB-310	336	.....uv

In een eerdere proef waarin de biologische efficiëntie van wildisolaten van champignon werd bestudeerd (Baars et al., 2012) werd een gemiddelde biologische efficiëntie gevonden over alle wildisolaten van  $258 \pm 38$  g droge stof/kg verbruikte organische stof ( $\pm$  standaard deviatie). De standaard deviatie bedroeg 15% van het gemiddelde. In de huidige proef met de kruisingen is een gemiddelde biologische efficiëntie berekend over alle kruisingen van  $233 \pm 39$  g droge stof/kg verbruikte organische stof ( $\pm$  standaard deviatie). De standaard deviatie bedroeg 17% van het gemiddelde. Daarmee lijkt de mate van variatie binnen de twee proeven vergelijkbaar.

De stammen MES 01675, MES 01905, MES 01808, MES 01751, MES 01615, MES 01575, MES 01516, MES 01542, MES 01544, A15 en MES 01497 zijn met de uitvoering van deze proef twee keer getest op biologische efficiëntie; op verschillende batches compost. Dat biedt de mogelijkheid om de nauwkeurigheid van de schatting van die biologische efficiëntie te verhogen. Tabel 8 geeft een overzicht van de gecombineerde resultaten van twee teeltproeven. In de ANOVA zijn de twee experimenten als blokken gebruikt. In grote lijnen blijft de rangschikking naar aflopende biologische efficiëntie in stand.

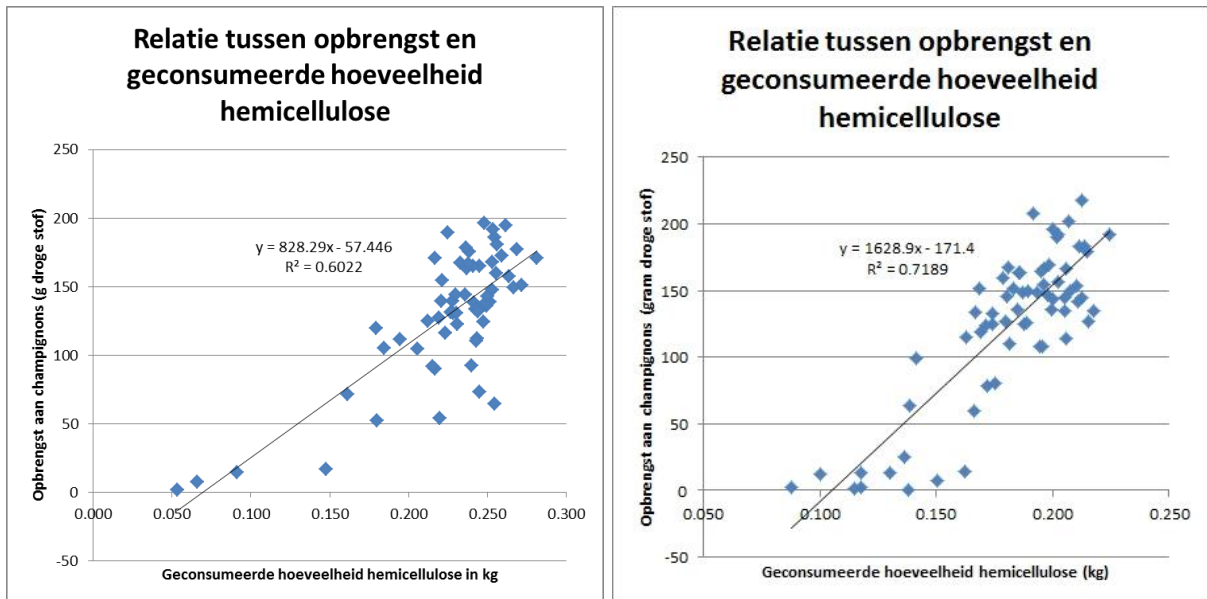
**Tabel 8. Verschillen in biologische efficiëntie tussen champignonstammen op basis van de gecombineerde resultaten van teeltextperiment teeltproof 27230 (Unifarm nr 162004) en Unifarm nr 3516201113.**

	Biologische efficiëntie (g DM/kg OM)	P=0.05
MES 01542	335	a
MES 01751	306	ab
Sylvan A15	305	ab
MES 01497	303	ab
MES 01516	270	abc
MES 01544	269	abc
MES 01575	245	.bcd
MES 01905	227	. . cd
MES 01808	183	. . . d
MES 01675	181	. . . d

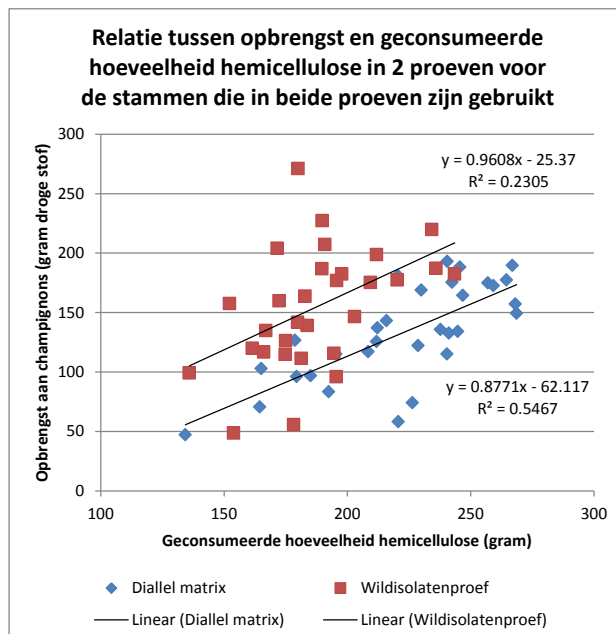
### 3.5.4 Relatie consumptie hemicellulose – biomassa productie

Baars et al. (2012) beschrijven dat bij de bestudering van biologische efficiëntie van een groot aantal wildisolaten er een goede relatie is gevonden tussen productie aan champignons en consumptie van hemicellulose (Figuur 5, rechter grafiek). Gemeten over alle bestudeerde genotypen werd voor elke kilogram hemicellulose, 1629 g champignons geproduceerd (gemeten als droge stof). Ook bij de bestudering van de biologische efficiëntie van kruisingen voor de dialle matrix is weer een dergelijke sterke relatie gevonden (Figuur 5, linker grafiek). Echter, in vergelijking met de wildisolaten proef, blijkt dat voor elke kilogram hemicellulose, slechts 828 g champignons geproduceerd (gemeten als droge stof). Dat is fors lager. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat in de vorige en deze proef verschillende populaties zijn gebruikt. Het gemiddelde is berekend door lineaire fitting van een lijn in de plot “hemicellulose gebruik” en “hoeveelheid biomassa (champignons)” geproduceerd. Een paar “outliers” in de grafiek lijken deze grote verschillen te veroorzaken. Als je alleen de stammen vergelijkt die in beide proeven zijn gebruikt is het verschil beduidend minder (Figuur 6).





**Figuur 5.** Vergelijking van de relatie tussen opbrengst aan champignons en consumptie van hemicellulose in teeltproef 3516201113 (dit verslag, linker grafiek) en teeltproef 27230 (Unifarm nr 162004, Baars et al., 2012, rechter grafiek).



**Figuur 6.** Relatie tussen hemicellulose afbraak en productie van biomassa (champignons) voor stammen uit de proef met de wildcollectie en de huidige diallel matrix proef. Nu zijn alleen de resultaten van stammen uitgezet die in beide proeven zijn gebruikt. Nu blijkt dat de verschillen minder groot zijn (960 gram hemicellulose gebruikt per kg champignons geproduceerd bij de wildisolaten proef tegenover 877 gram hemicelulose gebruikt per kg champignons geproduceerd in de huidige diallel matrix proef).

## **4. Conclusies en vervolgonderzoek**

Er is in 2013 is een selectie gemaakt uit de champignonstammen die de range in biologische efficiëntie (opbrengst champignons per gewicht compost) representeert. Kruisbare lijnen (homokaryons van een deel van deze stammen) zijn in alle mogelijke combinaties met elkaar gekruist. Van deze kruisingen is wederom de biologische efficiëntie bepaald. Het aantal geslaagde kruisingen was beperkt maar er zijn voldoende kruisingen gelukt en er is een grote variatie gevonden in biologische efficiëntie. In een nog lopende proef worden van nog een aantal additionele kruisingen de biologische efficiëntie bepaald. De gezamenlijke data data zullen gebruikt worden om voor elke homokaryon de breeding values te berekenen en combinaties van homokaryons te bepalen die gebruikt gaan worden om segregerende populaties te maken. Deze zullen in 2014 worden gegenereerd.

## 5. Gebruikte literatuur

Baars J, Hendrickx P. & Sonnenberg A. (2012) Exploring our collection of wild *Agaricus bisporus* strains. Rapport 2012-10.

Xu et al. (1996) Somatic recombination in the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Mycol. Res. 100 (2): 188-192.



## Bijlage I.

### Statistische analyse van drooggewichten

Stam	Gemiddeld droge stof gehalte P=0.05 (gram/kg versgewicht)	
MB-068	63.87	a
MB-308	65.89	ab
MB-058	66.85	abc
MB-307	68.87	abcd
MB-309	68.98	abcd
MB-305	69.13	abcde
MB-028	69.49	abcdef
MB-067	70.95	.bcdefg
MB-302	71.01	.bcdefg
MB-304	71.94	..cdefgh
MB-301	72.15	..cdefghi
MD-130-3	72.22	..cdefghi
MB-306	72.53	..cdefghi
A15 commercial spawn	72.54	..cdefghi
MB-020	73.18	...defghij
MD-132-1	73.79	...defghijk
MD-132-2	74.31	...defghijkl
MES 01542	74.85	....efghijklm
MB-066	75.17	.....fghijklmn
MB-035	75.64	.....ghijklmno
MB-002	76.95	.....hijklmnop
MD-112-1	77.15	.....hijklmnopq
MB-021	77.26	.....hijklmnopq
MES 01615	77.26	.....hijklmnopq
MB-072	77.33	.....hijklmnopq
MB-018	77.44	.....hijklmnopq
MB-016	77.88	.....ijklmnopq
MD-122-1	78.46	.....jklmnopqr
MB-010	79	.....jklmnopqr
MES 01497	79.31	.....klmnopqr
MB-029	79.53	.....klmnopqr
MB-300	79.88	.....lmnopqrs
MES 01751	80.23	.....mnopqrs
MB-310	80.37	.....mnopqrs
MB-073	80.53	.....mnopqrst
MD-108-1	80.84	.....nopqrst
MB-069	81.48	.....opqrstu
MB-064	81.63	.....pqrstu
MES 01905	81.72	.....pqrstu
MB-036	81.74	.....pqrstu
MB-022	81.76	.....pqrstu
MB-011	81.79	.....pqrstu
MES 01544	82.03	.....pqrstu
MB-071	82.31	.....pqrstu

MD-125-1	82.35	.....pqrstu
MES 01516	82.41	.....pqrstu
MES 01575	82.53	.....pqrstu
MD-086-1	82.6	.....pqrstu
MB-038	82.97	.....qrstu
MES 01675	82.98	.....qrstu
MB-013	83.92	.....rstuv
MD-112-2	84.16	.....rstuv
MES 01808	85.53	.....stuv
MB-059	85.6	.....stuv
MD-097-4	85.61	.....stuv
MB-040	85.64	.....stuv
MB-012	86.31	.....tuv
MD-074-1	86.9	.....uv
MD-098-1	87.26	.....uv
MB-061	89.18	.....v
MB-031	89.73	.....v