



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
Internet : 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	13
4. Conclusies en vervolgonderzoek	14
5. Gebruikte literatuur	15
Bijlage I. Statistische analyse van drooggewichten	1

1. Samenvatting

Er is in 2013 een selectie gemaakt van wild-isolaten van champignon die sterk verschillen in de efficiëntie van het substraatgebruik (uitgedrukt als g droge stof aan champignons per kg verbruikte organische stof). De geselecteerde stammen waren bisp170, bisp141/03, bisp103, bisp210, bisp034, Sylvan A15, bisp015, bisp155/08, bisp059 en bisp119/09. Selectie was, naast biologische efficiëntie, 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, zodat eventueel kruisingen kunnen worden gemaakt met een verhoogde recombinatie tussen homologen (t.o.v. zuiver tweesporige rassen).

Tussen de verschillende rassen is op meerdere manieren getracht om een groot aantal kruisingen te maken, waarmee een goed gevulde diallel matrix kon worden opgesteld. Het aantal geslaagde kruisingen bleek echter tegen te vallen. De geslaagde kruisingen zijn geteeld en hun biologische efficiëntie is bepaald. Deze varieerde van 11 tot 339 g droge stof/kg organische stof.

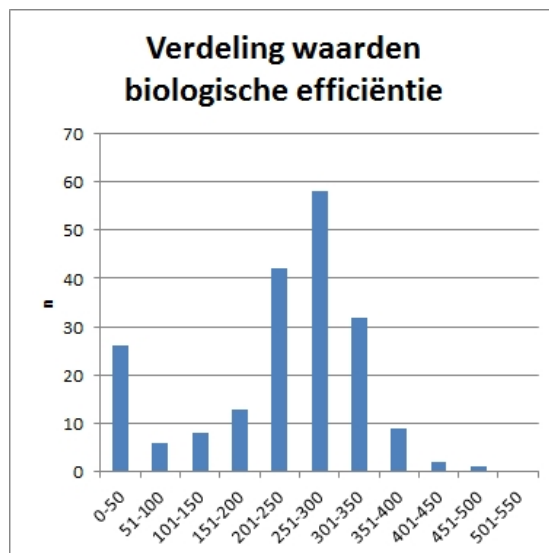
Indien we de teeltproef voor de bestudering van biologische efficiëntie vergelijken met een eerder uitgevoerde proef, zien we dat de nauwkeurigheid waarmee de biologische efficiëntie werd bepaald ongeveer gelijk is. Bij de bepaling van de biologische efficiëntie van wildisolaten van champignon werd gemiddeld over alle isolaten een waarde van 258 ± 38 g droge stof/kg verbruikte organische stof (\pm standaard deviatie). In de proef met de kruisingen werd een gemiddelde biologische efficiëntie berekend over alle kruisingen van 233 ± 39 g droge stof/kg verbruikte organische stof (\pm standaard deviatie). 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 met welke kruisingen de overerving van biologische efficiëntie verder wordt bestudeerd.

2. Inleiding

In 2012 is de biologische efficiëntie van het substraatverbruik van champignon bestudeerd. In teeltproof 27230 (Unifarm nr 162004) 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 teeltproof werd uitgevoerd in de periode medio juli tot medio september 2012 in kisten per 0.1 m² teeltoppervlak en 8 kg compost. 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 champignonisolaten 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. De klasse 0-50 omvat de waarnemingen van de 10 rassen die zeer weinig paddenstoelen produceren. Van deze 30 kistjes produceerde niet elke kist paddenstoelen.

De resultaten van deze proef maken het mogelijk om de overerving van de biologische efficiëntie te gaan bestuderen. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een selectie van isolaten die van elkaar verschillen in biologische efficiëntie van de substraatafbraak. Van deze heterokaryotische isolaten (voornamelijk wild-isolaten) wordt geprobeerd om de samenstellende homokaryons te isoleren. Deze homokaryons worden vervolgens in alle mogelijke combinaties met elkaar gekruist. Deze kruisingen worden op hun beurt weer getest op de biologische efficiëntie waarmee ze hun substraat omzetten in champignons. De bestudering van de overerving van biologische efficiëntie vindt dus plaats in een zogenaamde diallel matrix. Dit rapport beschrijft de selectie van de heterokaryons, de experimenten die werden uitgevoerd om de benodigde kruisingen te maken voor de diallel matrix en de teeltproof waarin de biologische efficiëntie van deze kruisingen werd getest.



Figuur 1. Verdeling van de waarden voor biologische efficiëntie.

3. Analyse van biologische efficiëntie van substraatgebruik

3.1 Selectie van champignonlijnen

Op basis van de resultaten van teeltproef 27230 die werd 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, zodat eventueel kruisingen kunnen worden gemaakt met een verhoogde recombinatie tussen homologen (t.o.v. zuiver tweesporige rassen).

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
bisp170	144.0	bc	X(bisporic)	Z6 & Z8
bisp141/03	210.8	..defgh	X(tetrasporic)	Bisp141/03-p1 (seq'd)
bisp103	245.1	...efghijkl	X(bisporic)	C43/8
bisp210	266.2ghijklmn	X(bisporic)	No
bisp034	273.9hijklmno	X(bisporic)	Both? B70/05 & b70/7
Sylvan A15	317.2mnopqrs	X(bisporic)	Both; A15-p1 & A15-p2
bisp015	318.8mnopqrs	X(tetrasporic)	Both; B55/1 & B55/9
bisp155/08	377.8st	X(tetrasporic)	No
bisp059	395.0t	X(bisporic)	No
bisp119/09	Not tested		X(tetrasporic)	Has been protoplasted

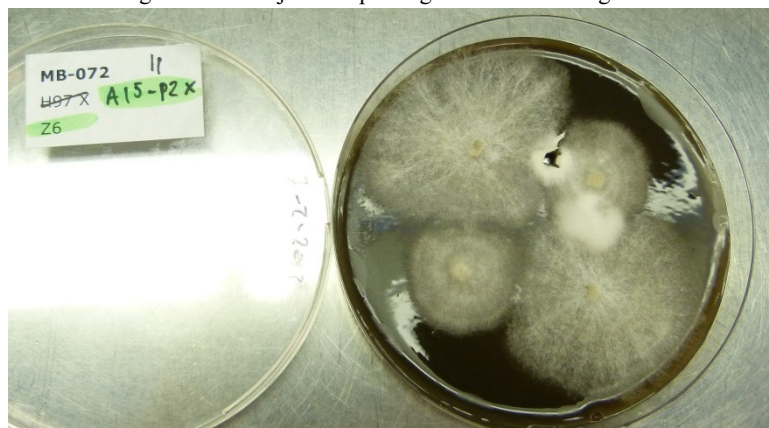
3.2 Maken van kruisingen

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 champignonisolaten 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 toefje mycelium op het punt waar de twee kolonies elkaar raken, maar heel vaak is een geslaagde kruising niet op basis van koloniemorfologie te herkennen.

Van de stammen in Tabel 1 is slechts van een aantal de beide ouderlijnen door protoplastering als reiculture verkregen (bisp170, Sylvan A15, bisp015 en bisp034). Voor deze stammen is het mogelijk om kruisingen te maken door de homokaryons samen op één

compostagarplaat te enten. Echter, voor een aantal stammen is slechts één (bisp141/03 en bisp103) of geen



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).

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	bisp015-p1	bisp034-p2		35	MB-300	bisp015-p1	bisp141/3p1
2	MB-006	bisp015-p1	bisp119/9-p1		36	MB-301	bisp015-p2	bisp141/3p1
3	MB-009	bisp015-p1	A15-p2		37	MB-302	bisp034-p1	bisp141/3p1
4	MB-010	bisp015-p1	Z6		38	MB-303	bisp034-p2	bisp141/3p1
5	MB-011	bisp015-p1	Z8		39	MB-304	bisp141/3p1	bisp103-p1
6	MB-012	bisp015-p2	bisp034-p1		40	MB-305	bisp141/3p1	bisp119/9-p1
7	MB-013	bisp015-p2	bisp034-p2		41	MB-306	bisp141/3p1	bisp119/9-p4
8	MB-016	bisp015-p2	bisp103-p1		42	MB-307	bisp141/3p1	A15-p1
9	MB-018	bisp015-p2	bisp119/9-p4		43	MB-308	bisp141/3p1	A15-p2
10	MB-020	bisp015-p2	A15-p2		44	MB-309	bisp141/3p1	Z6
11	MB-021	bisp015-p2	Z6		45	MB-310	bisp141/3p1	Z8
12	MB-022	bisp015-p2	Z8		46	MD-074-1	bisp015-p1	bisp061
13	MB-025	bisp034-p1	bisp103-p1		47	MD-086-1	bisp015-p1	bisp141/03
14	MB-026	bisp034-p1	bisp119/9-p1		48	MD-097-4	bisp015-p1	bisp103
15	MB-028	bisp034-p1	A15-p1		49	MD-098-1	bisp015-p2	bisp103
16	MB-029	bisp034-p1	A15-p2		50	MD-108-1	bisp015-p1	bisp210
17	MB-031	bisp034-p1	Z8		51	MD-112-1	bisp141/3p1	bisp210
18	MB-034	bisp034-p2	bisp103-p1		52	MD-112-2	bisp141/3p1	bisp210
19	MB-035	bisp034-p2	bisp119/9-p1		53	MD-122-1	bisp034-p1	bisp155/8
20	MB-036	bisp034-p2	bisp119/9-p4		54	MD-125-1	bisp103-p1	bisp155/8
21	MB-037	bisp034-p2	A15-p1		55	MD-130-3	Z6	bisp155/8
22	MB-038	bisp034-p2	A15-p2		56	MD-132-1	bisp015-p1	bisp059
23	MB-040	bisp034-p2	Z8		57	MD-132-2	bisp015-p1	bisp059
24	MB-058	bisp103-p1	A15-p1		58	A15		
25	MB-059	bisp103-p1	A15-p2		59	bisp015		
26	MB-061	bisp103-p1	Z8		60	bisp034		
27	MB-064	bisp119/9-p1	Z6		61	bisp059		
28	MB-066	bisp119/9-p4	A15-p1		62	bisp061		
29	MB-067	bisp119/9-p4	A15-p2		63	bisp103		
30	MB-068	bisp119/9-p4	Z6		64	bisp119/9		
31	MB-069	bisp119/9-p4	Z8		65	bisp141/03		
32	MB-071	H39	Z8		66	bisp155/08		
33	MB-072	H97	Z6		67	bisp170		
34	MB-073	H97	Z8		68	bisp210		

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, zijn er ongeveer 61 kruisingen te 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 stammen in Tabel 1 meegenomen in de teelt. Dit is enerzijds gedaan omdat zij goed in de matrix-structuur van Tabel 2 passen. Anderzijds is dit gedaan om hun verschillen in biologische efficiëntie nauwkeuriger in te kunnen schatten. Alle stammen werden in 3-voud getest.

3.4 Uitvoering van de teelt

Op 21 oktober 2013 werd de teeltproef voor bepaling van biologische efficiëntie ge-ent. Hiervoor werden kisten met 0.1 m² 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 werden 3 mengmonsters genomen van de compost en ge-analyseerd door Havens. Na 16 dagen compost-kolonisatie werd de mate van doorgroeiing van de compost beoordeeld. Voor de kruisingen in Tabel 4 bleek dat voor geen enkele van de drie herhalingen de compost doorgroeid werd. Op 7 november werden de kisten afgedekt met reguliere dekaarde. Na 11 dagen dekaardekolonisatie (11 november 2013) werd de kolonisatie van de dekaarde beoordeeld. De meeste stammen koloniseerden de dekaarde goed. Bisp 141/03 gaf in alle 3 herhalingen een slechte kolonisatie van de dekaarde te zien, evenals kruising MB-028 (bisp034-p1 x A15-p1). Beide stammen hadden de compost evenwel zeer goed gekoloniseerd. Ook bij andere stammen zoals A15, bisp059, bisp119/9,

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	bisp015-p1	bisp119/9-p1
MB-009	bisp015-p1	A15-p2
MB-025	bisp034-p1	bisp103-p1
MB-026	bisp034-p1	bisp119/9-p1
MB-034	bisp034-p2	bisp103-p1
MB-037	bisp034-p2	A15-p1
MB-303	bisp034-p2	bisp141/3-p1

bisp155/08, 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 werd opgeruwd en na herstelgroei werd op 23 november 2013 afgeventileerd. Op 23 november 2013 werden de eerste champignons geplukt. Snel producerende stammen waren bisp034, bisp119/09, bisp155/08, 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. Er werd getracht 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. Er is getracht om van alle kisten een droge stofgehalte 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 werd tussen 12 en 17 december het resterende compostgewicht bepaald en werd 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. 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.

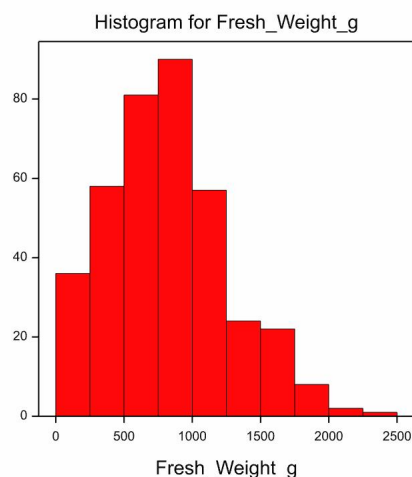
Stam	Gemiddelde opbrengst per kist (gram natgewicht)	St. dev.	n
MB-020	2537	136	3
A15 commercial spawn	2511	121	3
MB-067	2503	199	3
MB-308	2468	76	3
MB-068	2340	65	3
MB-307	2301	245	3
MB-011	2297	204	3
MB-071	2277	179	3
MB-310	2259	287	3
MB-066	2251	190	3
bisp059	2247	87	3
MB-309	2226	226	3
MB-036	2176	173	3
MD-130-3	2133	147	3
MB-022	2132	302	3
MB-069	2082	184	3
MB-306	2071	322	3
bisp015	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
bisp119/09	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
bisp155/08	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
bisp061	1660	292	3
MB-300	1640	173	3

MB-013	1609	34	3
MB-018	1537	231	3
bisp170	1505	597	3
MB-012	1501	727	3
bisp034	1485	134	3
MB-029	1443	454	3
MB-040	1429	176	3
MD-097-4	1391	107	3
MB-072	1385	111	3
bisp210	1348	292	3
MB-064	1314	54	3
bisp103	1247	131	3
MB-038	1215	399	3
MB-031	1145	276	3
MB-010	1142	246	3
MD-108-1	1087	406	3
bisp141/03	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 (63.87 g/kg versgewicht) en het hoogste droge stof gehalte wordt gemeten bij stam MB-031 (89.73 g/kg versgewicht). Stam A15 zit met een droge stof gehalte van 72.54 g/kg versgewicht aan de lage kant van het spectrum.

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



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.

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.

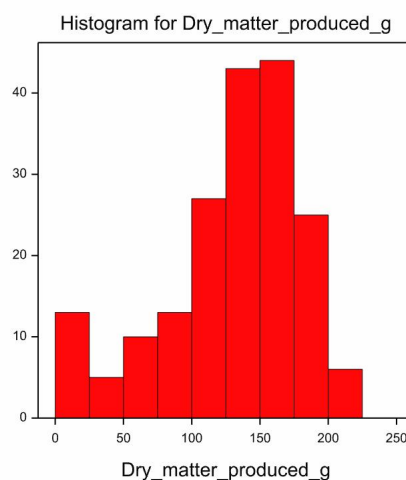
kruising	Gemiddelde opbrengst aan droge stof (grammen)	P = 0.05
MB-037	1	a
MB-028	7	a
MB-302	11	a
MB-058	14	a
MB-002	39	ab
MD-086-1	54	.bc
MB-016	64	.bcd
bisp141/03	71	.bcde
MB-021	73	.bcdef
MB-040	90	.cdefg
MD-108-1	92	.cdefg
MB-010	92	.defgh
MB-038	104	.efghi
MB-031	104	.efghi
bisp103	105	.efghij
MB-072	110	...fghijk
bisp210	112ghijkl
MB-064	112ghijkl
MB-029	116ghijklm
MD-097-4	120ghijklmn
MB-018	124ghijklmno
bisp034	125ghijklmno
MB-059	128ghijklmnop
MB-301	131hijklmnopq
bisp170	131ijklmnopq
MB-012	131ijklmnopq
MB-305	132ijklmnopq
MB-300	134ijklmnopqr
bisp155/08	134ijklmnopqr
MB-013	136ijklmnopqr
MB-304	138ijklmnopqrs
bisp061	138ijklmnopqrs
bisp119/9	139ijklmnopqrs
MD-074-1	139ijklmnopqrst
MD-122-1	140ijklmnopqrst
MD-132-1	143jklmnopqrstu
MD-112-2	144klmnopqrstu
MD-112-1	144klmnopqrstu
MD-125-1	148klmnopqrstuv
MD-132-2	149lmnopqrstuv
MB-035	151mnopqrstuv
MB-061	154mnopqrstuvw
MB-068	157nopqrstuvwxy
MD-130-3	159opqrstuvwxy
MB-306	160opqrstuvwxy
MD-098-1	164pqrstuvwxy
MB-309	165pqrstuvwxy
MB-307	165pqrstuvwxy
bisp015	166qrstuvwxy
MB-308	167qrstuvwxy
MB-066	168qrstuvwxy

MB-073	171rstuvwxy
bisp059	176stuvwxy
MB-069	177tuvwxy
MB-022	178uvwxy
MB-067	179uvwxy
MB-036	181uvwxy
A15	186vwxy
MB-310	190wxy
MB-071	191wxy
MB-011	194xy
MB-020	197y

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.

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 spectroscopie het vochtgehalte, asgehalte, NDF, ADF en ADL gehalte bepaald. 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
bisp141/03	150	..cdef
MB-040	160	..cdefg
MB-010	165	..cdefgh
MB-072	173	..cdefghi

MB-064	182	...defghij
bisp210	187	...defghijk
MB-031	194efghijkl
MB-018	198fghijklm
MB-038	198	...defghijklmn
MB-300	215fghijklmno
bisp170	221fghijklmnop
MB-301	222fghijklmnop
MB-029	226fghijklmnopq
bisp155/08	233ghijklmnopqr
MB-059	234ghijklmnopqr
bisp119/9	238ghijklmnopqrs
MD-097-4	244hijklmnopqrst
bisp103	245hijklmnopqrst
MD-122-1	254ijklmnopqrst
MB-307	258jklmnopqrstu
MD-132-1	258jklmnopqrstuv
MD-112-1	260jklmnopqrstuv
MB-305	260jklmnopqrstuv
MB-306	263jklmnopqrstuv
MD-112-2	263klmnopqrstuv
MB-304	263klmnopqrstuv
MB-013	264klmnopqrstuv
bisp034	265klmnopqrstuv
MB-066	267klmnopqrstuv
MB-309	268lmnopqrstuv
MD-108-1	268lmnopqrstuv
MB-061	271lmnopqrstuv
MB-035	274lmnopqrstuv
MB-068	275klmnopqrstuv
bisp059	275mnopqrstuv
MD-125-1	275mnopqrstuv
MB-012	277mnopqrstuv
MD-132-2	281nopqrstuv
MD-130-3	282lmnopqrstuv
bisp061	289opqrstuv
A1 5	293opqrstuv
bisp015	293jklmnopqrstuv
MD-074-1	295opqrstuv
MB-073	298pqrstuv
MB-067	300opqrstuv
MD-098-1	306qrstuv
MB-022	306qrstuv
MB-071	311rstuv
MB-069	313rstuv
MB-020	316stuv
MB-308	322tuv
MB-036	325tuv
MB-310	336uv
MB-011	339v

In proef 27230 (Unifarm nr 162004), waarin de biologische efficiëntie van wildisolaten van champignon werd bestudeerd (Baars et al., 2012) werd een gemiddelde biologische efficiëntie berekend over alle wildisolaten van 258 ± 38 g droge stof/kg verbruikte organische stof (± standaard deviatie). De standaard deviatie bedroeg 15% van het

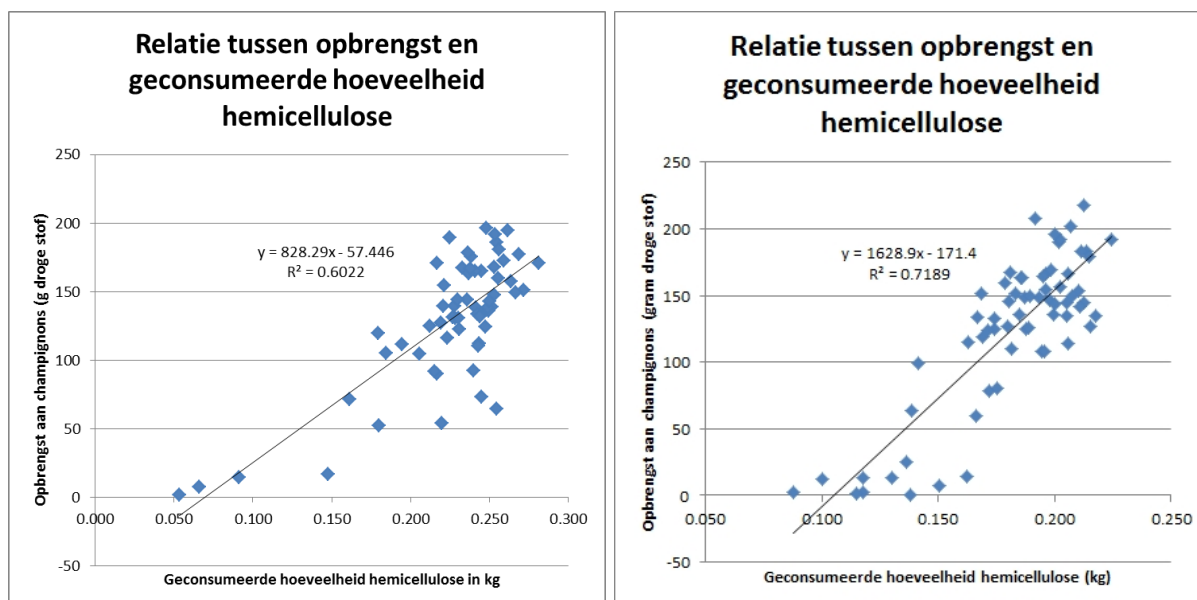
gemiddelde. In de proef met de kruisngen werd een gemiddelde biologische efficiëntie berekend over alle kruisingen van 233 ± 39 g droge stof/kg verbruikte organische stof (\pm standaard deviatie). De standaard deviatie bedroeg 17% van het gemiddelde. Daarmee lijkt de mate van variatie binnen de twee proeven vergelijkbaar.

De stammen bisp141/03, bisp210, bisp170, bisp155/08, bisp119/9, bisp103, bisp034, bisp059, bisp061, Al5

Tabel 8. Verschillen in biologische efficiëntie tussen champignon stammen 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
bisp059	335	a
bisp155/08	306	ab
Sylvan Al5	305	ab
bisp015	303	ab
bisp034	270	abc
bisp061	269	abc
bisp103	245	.bcd
bisp210	227	. .cd
bisp170	183	. . .d
bisp141/03	181	. . .d

en bisp015 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.



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

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 wordt weer een dergelijke sterke relatie gevonden (Figuur 5, linker grafiek). Echter, in vergelijking met de vorige proef, blijkt dat voor elke kilogram hemicellulose, slechts 828 g champignons geproduceerd (gemeten als droge stof).

4. Conclusies en vervolgonderzoek

Er is in 2013 getracht om een groot aantal kruisingen te maken, waarmee een goed gevulde diallel matrix kon worden opgesteld (Tabel 2). Het aantal geslaagde kruisingen bleek echter tegen te vallen. Alleen die kruisingen die werden gemaakt tussen monokaryons waren voor een groot deel succesvol. Kruisingen tussen homokaryons en heterokaryons waren een stuk minder succesvol, terwijl van de kruisingen tussen heterokaryons er geen enkele succesvol was. Dat was onverwacht omdat in de literatuur succesvolle kruisingen tussen homokaryons en heterokaryons en heterokaryons onderling zijn beschreven (Xu et al., 1996). Er is inmiddels een nieuwe poging ingezet om enkele van de kruisingen tussen monokaryons opnieuw te maken, ditmaal door ze samen in compost te enten. Of deze methode succesvol is, is op dit moment nog niet bekend.

Voor de kruisingen die wel succesvol waren en waarden voor biologische efficiëntie bekend zijn, zullen de breeding values worden berekend. Op basis daarvan wordt gekozen met welke kruisingen de overerving van biologische efficiëntie verder wordt bestudeerd.

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
bisp059	74.85efghijklm
MB-066	75.17fghijklmn
MB-035	75.64ghijklmno
MB-002	76.95hijklmnop
MD-112-1	77.15hijklmnopq
MB-021	77.26hijklmnopq
bisp119/09	77.26hijklmnopq
MB-072	77.33hijklmnopq
MB-018	77.44hijklmnopq
MB-016	77.88ijklmnopq
MD-122-1	78.46jklmnopqr
MB-010	79jklmnopqr
bisp015	79.31klmnopqr
MB-029	79.53klmnopqr
MB-300	79.88lmnopqrs
bisp155/08	80.23mnopqrs
MB-310	80.37mnopqrs
MB-073	80.53mnopqrst
MD-108-1	80.84nopqrst
MB-069	81.48opqrstu
MB-064	81.63pqrstu
bisp210	81.72pqrstu
MB-036	81.74pqrstu
MB-022	81.76pqrstu
MB-011	81.79pqrstu
bisp061	82.03pqrstu
MB-071	82.31pqrstu

MD-125-1	82.35pqrstu
bisp034	82.41pqrstu
bisp103	82.53pqrstu
MD-086-1	82.6pqrstu
MB-038	82.97qrstu
bisp141/03	82.98qrstu
MB-013	83.92rstuv
MD-112-2	84.16rstuv
bisp170	85.53stuv
MB-059	85.6stuv
MD-097-4	85.61stuv
MB-040	85.64stuv
MB-012	86.31tuv
MD-074-1	86.9uv
MD-098-1	87.26uv
MB-061	89.18v
MB-031	89.73v