

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti

Risorse naturali e Ambiente

Corso di laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie

***Pleurotus ostreatus*: effetto del micelio e del substrato di coltivazione su aspetti  
produttivi e qualitativi**

Relatore: Prof. Carlo Nicoletto

Correlatori: Dott.ssa Marina De Bonis  
Dott.ssa Silvia Locatelli

Laureando: Alberto Venturi  
Matricola n. 1241596

ANNO ACCADEMICO 2021/2022





# Indice

Riassunto.....	6
Abstract.....	9
1. Introduzione.....	11
1.1. Coltivazione dei funghi edibili.....	11
1.2. Principali funghi coltivati .....	12
1.3. <i>Pleurotus ostreatus</i> : descrizione botanica e sistemica .....	14
1.4. Ciclo produttivo .....	15
1.5. Principali avversità e malattie .....	17
1.5.1. Parassiti animali.....	17
1.5.2. Muffe .....	19
1.5.3. Batteri.....	20
1.5.4. Virus .....	21
1.5.5. Fitopatie di natura non parassitica .....	21
1.6. Caratteristiche dell'ambiente di coltivazione.....	21
1.6.1. Temperatura Ambientale.....	23
1.6.2. Umidità .....	23
1.6.3. Luce .....	23
1.6.4. Composizione dell'aria .....	24
1.7. Substrato di coltivazione.....	24
1.7.1. Tipologie di substrati utilizzati .....	24
1.7.2. Rapporto C/N .....	25
1.7.3. Metalli pesanti .....	26
1.7.4. Produzione del substrato di coltivazione.....	26
1.8. Miceli di coltivazione .....	30
2. Scopo del lavoro .....	32
3. Materiali e metodi.....	34
3.1. Ambiente di coltivazione.....	34
3.2. Schema sperimentale .....	35
3.3. Fasi di coltivazione.....	37
3.3.1. Fase di incubazione.....	37
3.3.2. Fase di comparsa dei primordi.....	37
3.3.3. Fase di maturazione e comparsa dei corpi fruttiferi.....	37
3.4. Analisi morfo-ponderali.....	38
3.5. Analisi qualitative.....	39
3.6. Determinazione antiossidanti e polifenoli totali.....	40
3.7. Contenuto N, P e K.....	41

3.8.	Analisi anioni e cationi .....	41
3.9.	Analisi statistica .....	42
4.	Risultati .....	44
4.1.	Parametri ambientali .....	44
4.2.	Substrati .....	46
4.2.1.	Temperatura substrati.....	46
4.2.2.	Composizione iniziale substrati.....	52
4.3.	Primordi.....	52
4.4.	Analisi morfo-ponderali.....	54
4.4.1.	Produzione.....	54
4.4.2.	Numero famiglie per sacco .....	55
4.4.3.	Numero corpi .....	57
4.4.4.	Diametro corpi fruttiferi.....	59
4.4.5.	Spessore corpi fruttiferi .....	60
4.4.6.	Valore L* .....	61
4.4.7.	Valori a* .....	63
4.4.8.	Valori b* .....	65
4.5.	Efficienza biologica ed efficienza del substrato.....	66
4.5.1.	Efficienza Biologica .....	66
4.5.2.	Efficienza del substrato.....	67
4.6.	Analisi qualitative.....	69
4.7.	Analisi antiossidanti totali e fenoli totali .....	71
4.7.1.	Antiossidanti totali.....	71
4.7.2.	Fenoli totali .....	72
5.	Discussione.....	73
5.1.	Parametri climatici .....	73
5.2.	Substrati.....	74
5.3.	Primordi.....	75
5.4.	Analisi morfo-ponderali .....	76
5.5.	Efficienza biologica ed efficienza del substrato.....	79
5.6.	Analisi qualitative .....	80
5.7.	Antiossidanti totali e fenoli totali.....	81
6.	Conclusioni.....	83
	Bibliografia .....	85

## Riassunto

La produzione di funghi coltivati nel mondo è in costante crescita con una produzione media annua superiore a 12,7 milioni di tonnellate, tale aumento è dovuto alle buone proprietà nutrizionali e medicinali. I principali funghi coltivati sono: *Agaricus bisporus* “champignon”, *Pleurotus ostreatus* “fungo ostrica”, *Cyclocybe aegerita* “pioppino”, *Lentinula edodes* “Shitake”, *Pleurotus eryngii* “Cardoncello”. Scopo del presente studio è di ottenere una maggiore conoscenza delle caratteristiche produttive, morfo-ponderali e qualitative di *Pleurotus ostreatus* e di come questi fattori possono essere influenzati dal micelio e dal substrato di coltivazione, così da avere una maggior conoscenza e un’ottimizzazione del processo produttivo. La sperimentazione è stata eseguita in una struttura adibita alla produzione professionale, utilizzando tre diverse tipologie di micelio (M1, M2 e M3) e tre substrati diversi (A, B e C). Sono stati rilevati i principali parametri ambientali: temperatura ambientale, temperatura del substrato, umidità, anidride carbonica e luminosità. Sono state eseguite analisi morfo-ponderali per la valutazione della produzione, del numero di famiglie prodotte e del numero di corpi, inoltre le dimensioni medio dei corpi fruttiferi, spessore e diametro, e la colorazione. Sono state eseguite analisi qualitative sui corpi fruttiferi per la valutazione della sostanza secca, del pH, conducibilità elettrica, contenuto di solidi solubili e acidità titolabile. In aggiunta, è stato valutato il contenuto di antiossidanti totali e fenoli totali. La comparsa dei primordi risulta essere fortemente condizionata dal substrato e dal tipo di micelio e M1 ha ottenuto le migliori performance in tutti i substrati. Sia la produzione che il numero delle famiglie è stata fortemente condizionata dal tipo di micelio e dal substrato, in funzione di ciò M2 risulta essere il micelio con le maggiori performance per entrambi i parametri, mentre il substrato A ha ottenuto la produzione più elevata ed il substrato C il maggior numero di famiglie. Il numero di corpi fruttiferi è stato condizionato dal micelio e dal tipo di substrato, in tal caso M2 e il substrato C sono stati i trattamenti che hanno prodotto il numero maggiore di corpi. La dimensione dei corpi fruttiferi, spessore e diametro, ha permesso di affermare che questi parametri sono particolarmente influenzati dal micelio e M2 ha riportato i valori più elevati. La valutazione dell’efficienza biologica ci consente di affermare che il trattamento con il valore più elevato (115%) è stata la combinazione tra il substrato A e M2. Per quanto riguarda i parametri di pH, conducibilità elettrica, solidi solubili, acidità titolabile, sostanza secca, produzione di antiossidanti e fenoli totali sono stati influenzati sia dal micelio che dal tipo di substrato. In conclusione, M1 risulta essere il micelio che ha avuto una miglior produzione di primordi mentre M2 e il substrato A hanno avuto una resa maggiore e la maggiore efficienza biologica.





## Abstract

The production of cultivated mushrooms in the world is constantly growing with an average annual production exceeding 12.7 million tons, this increase is due to the good nutritional and medicinal properties. The main cultivated mushrooms are: *Agaricus bisporus* "champignon", *Pleurotus ostreatus* "oyster mushroom", *Cyclocybe aegerita* "pioppino", *Lentinula edoedes* "Shitake", *Pleurotus eryngii* "Cardoncello". The aim of the present study is to obtain a greater understanding of the productive, morphological and qualitative characteristics of *Pleurotus ostreatus* and how these factors may be influenced by the mycelium and substrate, to understand and optimize the production process. The experimentation was performed on a professional production facility, using three different types of mycelium and three different substrates. The main environmental parameters were measured: ambient temperature, substrate temperature, humidity, carbon dioxide and brightness. Morphological and productive analyses were performed to evaluate the production, the number of families produced and the number of bodies, as well as the average size of the fruiting bodies, thickness and diameter, and color. Qualitative analyses were performed on fruiting bodies for the evaluation of dry matter, pH, electrical conductivity, content of soluble solids and titratable acidity. In addition, the content of total antioxidants and total phenols was evaluated. The emergence of primordia appears to be strongly affected by the substrate and mycelium type, and M1 performed best in all substrates. Both production and number of families is strongly affected by mycelium type and substrate, depending on this M2 turns out to be the best performing mycelium for both parameters, while substrate A obtained the highest production and substrate C the highest number of families. The number of fruiting bodies is affected by mycelium and substrate type, in which case M2 and substrate C were the treatments that produced the highest number of bodies. The size of fruiting bodies, thickness and diameter, allowed us to state that these parameters are particularly influenced by mycelium in that sense M2 reported the highest values. The evaluation of biological efficiency allows us to state that the treatment with the highest value (115%) is the combination of substrate A and M2. Regarding the parameters of pH, electrical conductivity, soluble solids, titratable acidity, dry matter, antioxidant production and total phenols were affected by the type of mycelium and the type of substrate. In conclusion, M1 appears to be the mycelium that had the best production of primordia while M2 and substrate A had a higher yield and greater biological efficiency.



# 1. Introduzione

## 1.1. Coltivazione dei funghi edibili

La produzione di funghi coltivati nel mondo è in costante crescita con una produzione media annua di oltre 12,7 milioni di tonnellate. La produzione di funghi è considerata la seconda tecnologia microbica commerciale più importante dopo il lievito (Pathak et al., 2009). Anche il consumo di questo prodotto è in continua crescita per il suo sapore le proprietà nutraceutiche e i valori economici ed ecologici. In generale, i funghi contengono il 90% di acqua e il 10% di sostanza secca, sono poveri di lipidi (Sánchez, 2004), ma ricchi di nutrienti, in particolare proteine (20-35% del peso secco), minerali, vitamine B, C e D (Panjikaran e Mathew, 2013) e tutti i nove aminoacidi essenziali (Kalač, 2009). Il valore energetico totale è compreso tra 250 e 350 cal/kg di funghi freschi (Laborde, 1995). I funghi possono avere effetti benefici per la salute grazie alla presenza di molecole con proprietà antimicotica (Ye et al., 1999), antigenotossica (Wang et al., 2005), antiossidante (Roupas et al., 2012), antiproliferativa (Zhou et al., 2013), antitumorale (Kim et al., 2015), attività antiiperlipidemica (Opletal et al., 1997), proprietà anti-ipertensive, anti-nocicettive, immunostimolanti (Vaz et al., 2011), ipocolesterolemiche/anti-aterogeniche (Han et al., 2011), proprietà antistress e sono un alimento consigliato ai pazienti diabetici (Akata et al., 2012). Circa 300 specie di funghi sono commestibili, ma solo 30 sono state addomesticate e dieci coltivate commercialmente. I funghi risultano essere un prodotto interessante poiché hanno la capacità di degradare diversi substrati lignocellulosici (Sánchez, 2009) ed essere quindi prodotti su materiali di scarto provenienti da agricoltura, boschi, zootecnia e industrie manifatturiere.

Le stime recentemente effettuate hanno evidenziato che il mercato mondiale dei funghi coltivati è cresciuto da 35 miliardi di dollari nel 2015 a 60 miliardi nel 2021. Tale tendenza è dovuta all'incremento di consumo di funghi da parte dei paesi asiatici ed altri paesi in via di sviluppo. A livello mondiale la Cina è prima nella produzione di funghi, seguono gli USA (11%), Paesi Bassi (7%), Polonia, Spagna, Francia, Italia, Irlanda, Canada e Regno Unito (Thakur, 2020).

Secondo i dati relativi al 2020 riportati da FAOSTAT la produzione totale europea di funghi commestibili è di poco inferiore al milione di tonnellate annuali. Il maggiore produttore sono i Paesi Bassi seguiti da Polonia, Olanda e Spagna, mentre l'Italia si piazza al settimo posto prima di Germania e Irlanda (Fig. 1)

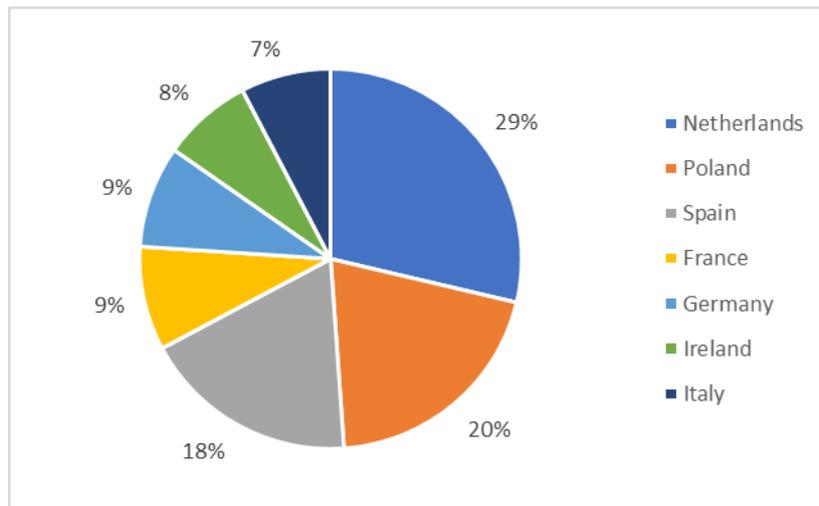


Figura 1 – Produzione totale europea nel 2019 (FAOSTAT).

La produzione in Italia relativa al 2020 è di 69.120 tonnellate (FAOSTAT, 2020) di cui l'87% sono destinate al mercato fresco e la restante parte all'industria. Il consumo complessivo di funghi in Italia è di oltre 75 mila tonnellate, garantito mediante le importazioni da paesi vicini (<https://plantgest.imagelinenetwork.com/it/news/2021/03/05/fungo-un-consumo-che-cambia/69460#:~:text=Oggi%20in%20Italia%20si%20producono,%C3%A8%20il%20settimo%20produttore%20europeo.>). Nel 2016 è stata registrata un'importazione di funghi per oltre 7 milioni di kg dei quali 2,5 milioni di kg dalla Polonia ed altri 2 milioni di kg dalla Romania e la restante quota da altri paesi della comunità produttori di funghi per un volume economico totale di 41 milioni di euro (AIF Associazione Italiana Fungicoltori, 2017). Oltre il 50% dei funghi coltivati in Italia proviene dalla regione Veneto. Le principali coltivazioni si trovano nelle province di Treviso, Belluno, Vicenza e Padova (<https://www.quotidiano.net/economia/cresce-la-passione-per-i-funghi-un-mercato-da-35-miliardi-che-guarda-ai-big-dell-asia-1.4823247>).

## 1.2. Principali funghi coltivati

In Italia a livello nazionale (Fig. 2) la produzione dei funghi commestibili è rappresentata per il 78% da *Agaricus bisporus* “champignon” (Fig. 3/A), l'8% da *Pleurotus ostreatus* (Fig. 3/B) ed il restante 14% rappresentato da vari altri funghi quali: *Cyclocybe aegerita* “pioppino” (Fig. 3/C), *Lentinula edoedes* “Shitake” (Fig. 3/D), *Pleurotus eryngii* “Cardoncello” (Fig. 3/E), (AIF Associazione Italiana Fungicoltori, 2018).

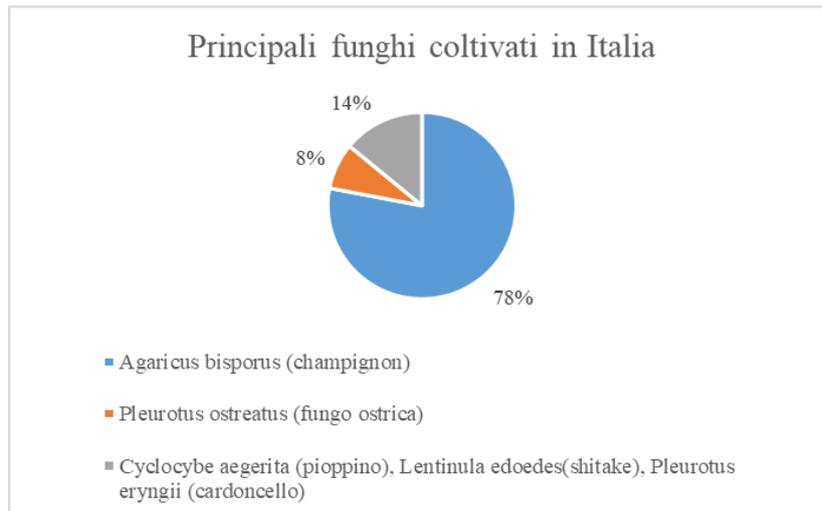


Figura 2 – Suddivisione della produzione fungicola italiana.

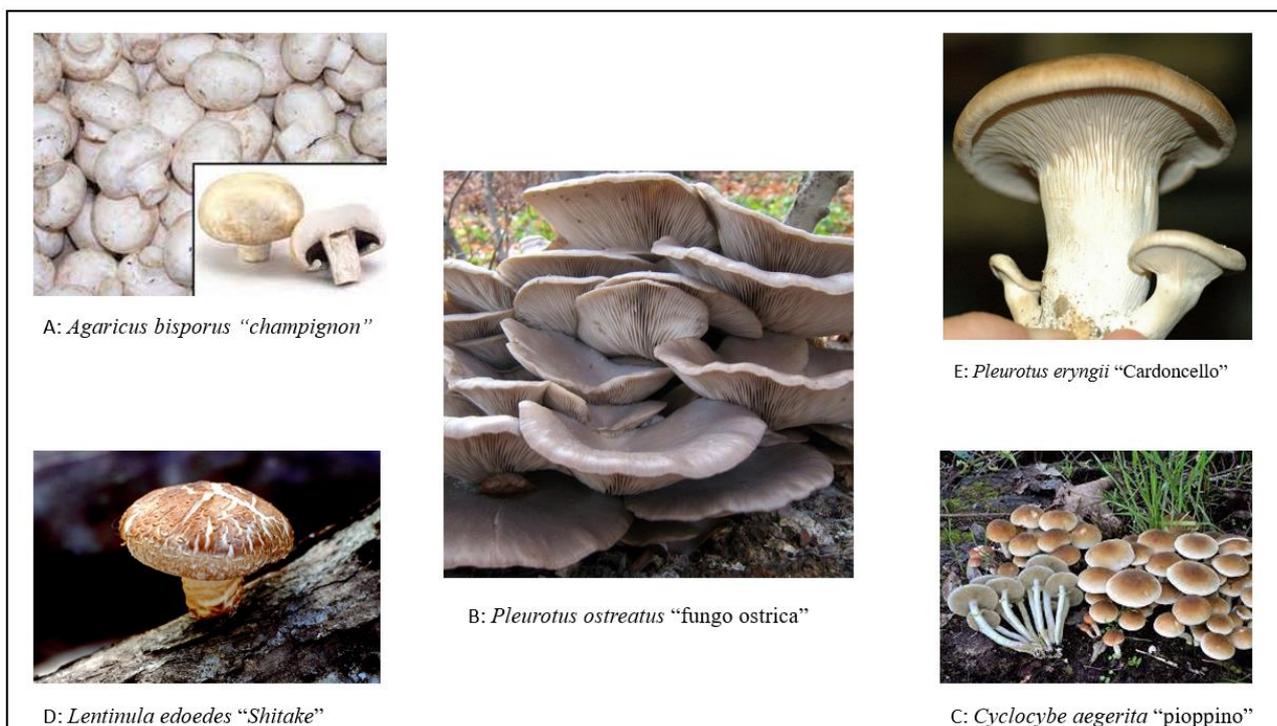


Figura 3 - Principali specie di funghi coltivate in Italia.

### 1.3. *Pleurotus ostreatus*: descrizione botanica e sistemica

I funghi del genere *Pleurotus* sono al secondo posto nel mercato mondiale dei funghi ed è la tipologia più popolare in Cina. Il *Pleurotus spp.* appartiene ad un gruppo noto come “funghi del marciume bianco” (Tsujiyama e Ueno, 2013) in quanto produce un micelio bianco ed è generalmente coltivato su substrati lignocellulosici non compostati (Savoie et al., 2007). *Pleurotus spp.* è il genere di funghi a marciume bianco più studiato per le sue eccezionali proprietà ligninolitiche, in quanto è in grado di scindere facilmente la cellulosa, l'emicellulosa e la lignina dal legno (Li e Shah, 2016).

Il *P. ostreatus* è un fungo saprofito che colonizza facilmente un'ampia gamma di substrati naturali, lignino-cellulosici e su substrati composti da sottoprodotti dell'agricoltura e dell'industria agroalimentare. Il genere *Pleurotus* comprende circa 40 specie diverse che sono comunemente chiamate “funghi ostrica” a causa della particolare conformazione del corpo fruttifero. (Deepalakshmi et al., 2014) ed è tassonomicamente descritto in tabella 1.

Tabella 1 - Inquadramento tassonomico del *P. ostreatus*.

Dominio	<i>Eukaryota</i>
Regno	<i>Funghi</i>
Divisione	<i>Basidiomycota</i>
Classe	<i>Basidiomycetes</i>
Ordine	<i>Agaricales</i>
Famiglia	<i>Pleurotaceae</i>
Genere	<i>Pleurotus</i>
Specie	<i>P. ostreatus</i>

A livello etimologico la denominazione di tale fungo “*P. ostreatus*” ne descrive quelli che sono i principali caratteri visivi che lo contraddistinguono da altri funghi. Il termine *Pleurotus* proviene dal greco *πλευρόν pleurón* “di fianco” e da *οὖς, ωτός ούς, otós* orecchio cioè con la presenza del corpo fruttifero simile a un orecchio posto lateralmente rispetto all'asse principale del gambo come visibile in figura 4. Per quanto riguarda il significato della seconda parte dello stesso nome *ostreatus* deriva dal latino “*Ostrea*” e indica una similitudine del corpo fruttifero con l'ostrica. Da tale etimologia il fungo ha acquisito diverse denominazioni dialettali più utilizzate nella lingua italiana come ad esempio: ostrica, sbrise, fungo da gelone, orecchione e fungo piatto (Andreoletti, 1984).



Figura 4 - Stampa botanica di *P. ostreatus*.

### 1.4.Ciclo produttivo

I basidiomiceti si distinguono dagli altri miceti per il loro ciclo riproduttivo con micelio dicariota. La principale caratteristica morfologica è data dalla presenza di una struttura portante chiamata “basidio” contenente le spore. Questa struttura si trova sopra o all’interno del corpo fruttifero chiamato basidiocarpo. La riproduzione può avvenire secondo due modalità: per via sessuata, maggiormente utilizzata, e asessuata (Fig. 5)

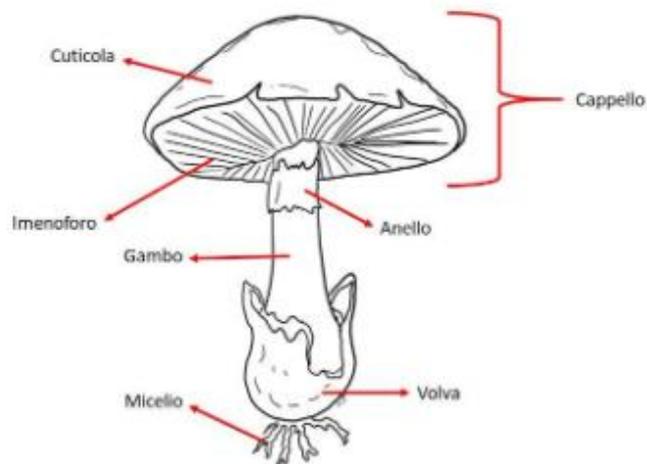


Figura 5 - Struttura generica del carpofago di un basidiomicete.

#### Riproduzione sessuale

La riproduzione sessuale è quella maggiormente utilizzata rispetto a quella asessuale (Fig. 6). Nella maggior parte dei basidiomiceti, tranne rarissime eccezioni con fruttificazione chiusa, le basidiospore vengono disperse all’esterno dal basidio. Quando le spore trovano il substrato ottimale per la loro crescita, iniziano a germinare. La germinazione comporta la formazione di un

micelio, che andrà via via a separarsi formando un ammasso di ife. Queste ife sono sessuate e, quando incontrano un micelio compatibile, si fondono per formare un dicarion ( $n+n$ ). Si genera così una cellula binucleata, la quale, dividendosi, dà origine a un micelio binucleato da cui sarà prodotto un corpo fruttifero. Nella parte esterna del carpoforo, il fungo, per meiosi di ife binucleate, produce i basidi e le basidiospore ( $n$ ). A seconda del tipo di fungo, nella fase iniziale della formazione del basidio può avvenire un'ulteriore divisione per formare quattro cellule, e ciascuna di esse porterà uno sterigma. È comune che prima della fuoriuscita della spora si crei una sorta di gocciolina adiacente alla basidiospore e allo sterigma. Questa ha il compito di aiutare il rilascio della spora. Raggiunta la maturità delle basidiospore, queste vengono liberate e trasportate da diversi vettori: vento, pioggia, insetti, animali e anche l'essere umano (Gerola, 1978).

### Riproduzione asessuale

La riproduzione asessuale (Fig. 6) nei basidiomiceti non è molto comune ma in alcuni casi può avvenire che la spora germini e formi dei conidi o che un micelio produca delle spore asessuali frammentandosi (Gerola, 1978).

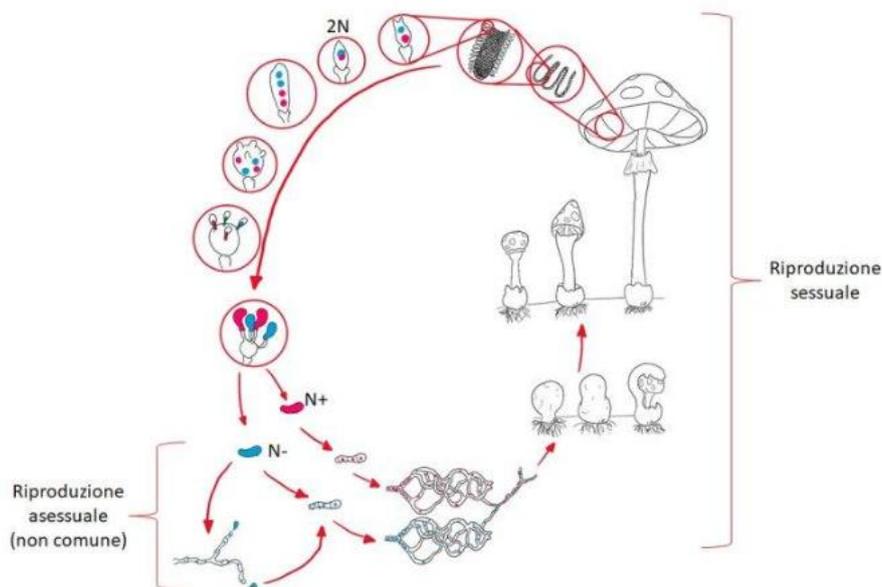


Figura 6 - Ciclo vitale di un basidiomicete generico.

Il *P. ostreatus* è un fungo caratterizzato dalla presenza di più cappelli asimmetrici di forma tondeggiante e con superficie più o meno ondulata. Tali cappelli in base all'età del fungo e della loro posizione rispetto all'asse centrale possono differenziarsi in termini di colore e dimensioni (Ferri, 1985). Il *P. ostreatus* è un fungo caratterizzato dal cappello igrofano, ovvero ha la capacità di

cambiare colorazione e intensità dei colori a seconda dei livelli di umidità dell'ambiente circostante. In ambienti con scarsa umidità, la colorazione dei corpi fruttiferi risulta essere di un grigio chiaro, mentre, al contrario in condizioni ambientali con tasso di umidità elevato e basse temperature, la colorazione che assumono i corpi tende ad un grigio scuro (Ferri, 1985). È noto anche come fonti di eccessiva luminosità correlata ad alte temperature comportino l'assunzione di un colore grigio-chiaro al cappello (Andreoletti, 1984).

Al di sotto del cappello si trovano le strutture di sporulazione (Fig. 7), ovvero le lamelle, molto fitte e ravvicinate le une con le altre, di colorazione bianco-crema che si uniscono al gambo. Quest'ultimo è la struttura che sorregge il cappello e il sistema riproduttivo, caratterizzato da una colorazione bianco-crema e forma eccentrica ricoperto da pruina di colore grigiastro. Le dimensioni del gambo variano da 2 a 6 cm di lunghezza e da 1 a 2,5 cm di diametro.



Figura 7 – *Pleurotus ostreatus* visione inferiore.

## 1.5. Principali avversità e malattie

### 1.5.1. Parassiti animali

I principali parassiti animali sono i ditteri che più frequentemente causano danni alla coltivazione.

#### Cecidomidi

All'interno di questa categoria si possono trovare due diverse specie, *Heteropeza pygmaea* (larve bianche) e *Mycophila speyeri* (larva arancione). Le larve di questi insetti sono in grado di riprodursi già allo stadio di larva (riproduzione pedogenetica senza passare allo stadio di adulto, permettendogli di colonizzare il substrato molto velocemente. Nel substrato infestato il micelio scompare progressivamente per l'azione tossica dei prodotti metabolici generati da questi insetti facendo calare drasticamente la produzione, e i funghi ottenuti spesso non sono commerciabili a causa della presenza di larve nel corpo fruttifero (Fig. 8).

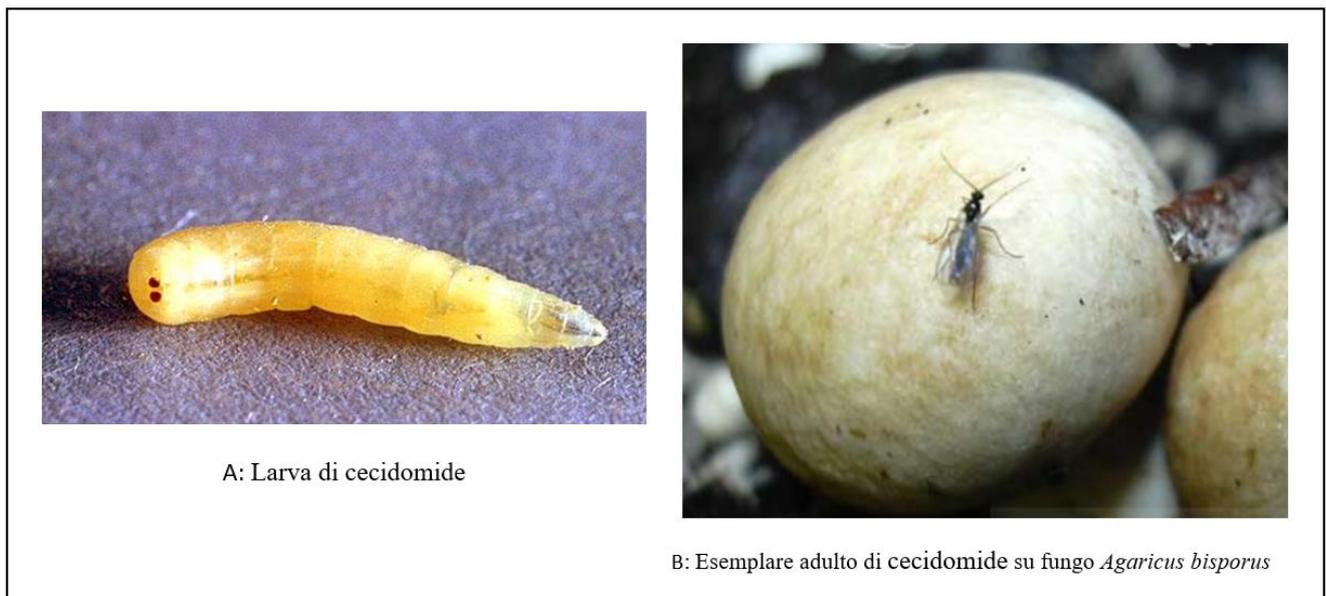


Figura 8 – Larva e adulto di cecidomide.

La presenza dei Cecidomidi è principalmente causata dagli adulti che volano sul substrato, dal personale, dalle macchine ed attrezzi o da una cattiva pastorizzazione del substrato. Nel caso in cui questo parassita sopraggiunga non è possibile effettuare alcun trattamento di difesa, se possibile è opportuno allontanare i sacchi contaminati dalla serra e cospargerli con sale o calce così da evitare la diffusione del patogeno. Le infestazioni di questi parassiti sono molto difficili da debellare poiché le larve possono rifugiarsi nel terreno o in fessure che le proteggono. Inoltre, le larve risultano essere molto resistenti anche nei confronti di prodotti fitosanitari poiché alcune larve figlie riescono a sopravvivere protette dal corpo della larva madre (Maffi, 2007).

Buone norme per la prevenzione delle infestazioni sono:

- mantenere sollevati i sacchi contenenti il substrato così da evitare la risalita delle larve nel substrato.
- igienizzare, anche con prodotti appositi, i locali al termine del ciclo produttivo.
- cospargere il pavimento con sale (cloruro di sodio) o trattando con prodotti fenolici

Sciaridi

Gli sciaridi appartengono all'ordine dei ditteri e possono causare cali di produzione soprattutto nelle stagioni più calde attaccando i corpi fruttiferi alla base e penetrando allo stadio larvale all'interno dei funghi riducendone la qualità (Fig. 9).

Possono essere effettuati dei trattamenti a base di Ciromazona per l'eliminazione delle larve o in alternativa per l'eliminazione degli adulti può essere efficace l'utilizzo di Deltametrina. Misure di prevenzione consistono del tenere sigillata la fungaia e porre dei filtri all'ingresso e all'uscita delle prese d'aria. È fondamentale mantenere la presenza di adulti al di sotto della soglia limite mediante l'ausilio di trappole cromotropiche di colore giallo (Maffi, 2007).



Figura 9 – Larve di Sciariidi su substrato di coltivazione.

### Collemboli

I collemboli non risultano essere una problematica a patto che la struttura di coltivazione sia ben isolata. Vengono favoriti da elevata umidità e si sviluppano anche a basse temperature di produzione (Fig. 10). Principalmente si annidano nei ceppi dei funghi, fra le lamelle e si nutrono del micelio o dei corpi fruttiferi. L'utilizzo di deltametrina ne limita i danni anche se risulta difficile eliminarli completamente (Maffi, 2007).



Figura 10 – Esemplari adulti di collemboli su imenofero fungino.

### 1.5.2. Muffe

#### Muffa verde

Con la denominazione di muffa verde ci si riferisce essenzialmente alle muffe appartenenti al genere *Penicillium*, *Aspergillus*, *Gliocladium*, ma soprattutto al genere *Trichoderma*. Al genere *Trichoderma* appartengono numerose specie assai diffuse in natura, in agricoltura alcune specie vengono utilizzare per la lotta biologica poiché hanno azione fungicida e inibitrice nei confronti di

funghi e muffe. Purtroppo, queste azioni si verificano anche nei confronti dei funghi coltivati. *T. virens*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* sono le principali specie che creano problematiche nel *Pleurotus*. Il principale sintomo visibile risulta essere la presenza di macchie di muffa di colore verde scuro sull'involucro del substrato che si diffondono agli steli (Maffi, 2007). L'attacco di queste muffe al micelio avviene grazie a diversi enzimi prodotti dal Trichoderma contenenti chitinasi e glucanasi, coinvolti nella degradazione delle pareti cellulari del fungo (Velázquez-Cedeño et al., 2004).

La prevenzione delle infestazioni da Trichoderma riguarda soprattutto la fase di preparazione del composto in cui risulta essere necessario porre particolare attenzione alla fase di pastorizzazione e semina. L'inquinamento può verificarsi anche durante la coltivazione dove può esserci contaminazione da un sacco ad un altro. Utili sono l'utilizzo di filtri nelle prese d'aria così da abbattere il quantitativo di spore che possono entrare. Ulteriore importante norma è l'utilizzo del compost spento di fungaia in terreni lontani dalla zona di coltivazione, soprattutto se il substrato è contaminato. È possibile creare un ambiente sfavorevole allo sviluppo del Trichoderma poiché questo si sviluppa su substrati acidi (pH 5-7) a differenza del *Pleurotus* che si sviluppa con pH superiore ad 8. Purtroppo, le temperature di incubazione del *Pleurotus* e del Trichoderma sono molto simili, tra i 20°C e 30°C, ma il tasso di crescita di quest'ultimo a tali temperature è tre volte maggiore. È comunque buona norma tenere le temperature costanti all'interno dei locali di coltivazione così da avvantaggiare la crescita del micelio ed evitare che con sbalzi di temperatura si possa creare condensa all'interno del sacco, favorendo lo sviluppo del Trichoderma. Per il controllo del Trichoderma risultano utili trattamenti con Benomyl, Carbendazim e Prochloraz poiché ne controllano lo sviluppo senza influenzare la crescita di *Pleurotus* (Maffi, 2007).

#### Altre muffe

Nel substrato possono essere presenti varie muffe appartenenti ai generi *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Gliocadium*, *Chaetomium*, *Coprinus*, *Peziza*. La loro presenza ha un'importanza marginale e indica la presenza di un substrato di scarsa qualità. La *Peziza spp.* forma grossi corpi fruttiferi che emergono dai fori (Maffi, 2007).

#### 1.5.3. Batteri

Generalmente i batteri comportano patologie a carico dei corpi fruttiferi, questi possono essere attaccati dalla loro prima comparsa fino allo sviluppo avanzato del fungo. L'agente patogeno è lo *Pseudomonas tolaasii*, un suo attacco precoce comporta un ingiallimento totale o parziale dei carpofori appena differenziati i quali bloccano il loro sviluppo e successivamente si seccano e marciscono. Quando l'infezione avviene sui corpi fruttiferi già ben differenziati si formano delle chiazze tondeggianti, mucillaginose di dimensioni varie, i cui colori variano dal giallo, al nocciola

al marrone scuro. In questo caso gli effetti sulla produzione si limitano al deterioramento della qualità del prodotto.

Ulteriore antagonista nella crescita di *P. ostreatus* risulta essere *Pseudomonas reagenti*. Un batterio che può portare ad una malattia comunemente definita come “malattia delle macchie” che comporta una lieve colorazione da viola scuro a marrone chiaro e una leggera depressione superficiale che diventa più scura con l'età (Godfrey et al., 2001).

Le condizioni ambientali determinano uno sviluppo più o meno virulento dell'infezione, poiché la loro presenza è sempre accertata. Per questo ad una prima volata danneggiata dalla batteriosi può seguirne una seconda in perfette condizioni. Per limitare i danni causati da *Pseudomonas* è sicuramente indispensabile munire la struttura di adeguata sensoristica per la rilevazione di temperatura ambientale, temperatura del substrato ed umidità, inoltre provvedere ad un corretto ricircolo dell'aria mediante ventole (Maffi, 2007).

#### 1.5.4. Virus

La più nota patologia risulta essere “l'infiorescenza di cavolfiore” in cui gli abbozzi dei corpi fruttiferi anziché evolversi si trasformano in masse globulose indifferenziate che assomigliano all'infiorescenza del cavolfiore. Non si conosce la causa di questa fitopatia, ma è stato provato che poteva essere indotta la malformazione su colture sane spruzzando un estratto di micelio proveniente da colture che avevano sviluppato la malattia.

Un'ulteriore anomalia risulta essere la formazione di ammassi di corpi fruttiferi compatti e arricciati, con i cappelli più scuri del normale, saldati l'uno all'altro recanti lamelle strette e poco differenziate. Anche in questo caso non si conosce il patogeno ma è possibile un'origine virale (Maffi, 2007).

#### 1.5.5. Fitopatie di natura non parassitica

La qualità dei corpi fruttiferi in *Pleurotus* è riconducibile non solo a temperatura, umidità, condizioni ambientali e presenza di anidride carbonica ma è estremamente importante la qualità dell'aria immessa all'interno della fungaia che deve essere il più possibile libera da inquinanti (prodotti fitosanitari impiegati in maniera errata o elevate concentrazioni di gas di scarico) che possono provocare deformazioni più o meno marcate nel prodotto (Maffi, 2007).

### **1.6. Caratteristiche dell'ambiente di coltivazione**

La coltivazione del *P. ostreatus* avviene all'interno di apposite strutture, chiamate fungaie, dove tutti i parametri ambientali possono essere controllati al fine di ottimizzare la produzione. Le fungaie sono principalmente costituite da strutture ad arco (tunnel) di lunghezza, larghezza e altezza variabile, isolate dall'esterno mediante un sistema di copertura “sandwich” in cui si alterna: un telo

esterno, generalmente di colore chiaro, per ridurre il riscaldamento della struttura, un materiale isolante (solitamente lana di vetro o lana di roccia) ed un ulteriore strato formato da un film plastico. I film plastici utilizzati sono solitamente in polietilene opaco o pvc, un materiale molto durevole nel tempo e resistente alle condizioni atmosferiche. Questo sistema di copertura permette di mantenere le condizioni ambientali stabili e costanti. Le testate della struttura sono generalmente chiuse da pannelli di policarbonato, un materiale economico, resistente e con buone capacità isolanti.

La pavimentazione delle fungaie può essere in cemento o semplicemente coperta da un telo anti-alga fissato al terreno, è raro trovare delle strutture che non siano dotate di alcun tipo di pavimentazione, poiché questa permette di tenere pulita la struttura.

Le condizioni ambientali sono un parametro importante per garantire una produzione ottimale, in tal caso è importante prestare attenzione alla temperatura ambientale, all'umidità, luminosità, composizione dell'aria. *P. ostreatus* può essere ampiamente coltivato e può adattarsi a diverse temperature. Per il monitoraggio delle condizioni ambientali una fungaia è dotata di un complesso sistema di sensori che hanno lo scopo di rilevare dati utili ad ottimizzare la coltivazione e comandare i vari impianti che modificano le condizioni ambientali della serra. I principali sensori presenti in fungaia hanno lo scopo di monitorare temperatura ambientale, umidità relativa, anidride carbonica. Il riscaldamento della fungaia durante il periodo invernale è garantito da uno o più generatori di aria calda alimentati a gas o gasolio che all'occorrenza possono essere muniti di fan jet per ottimizzare la distribuzione di aria calda.

Il raffrescamento può essere garantito secondo due sistemi, un raffreddamento attivo ed uno passivo. Il raffrescamento passivo è garantito da un sistema chiamato fog-system che mediante l'attivazione di micro splinker crea una fitta nebbia all'interno della struttura, con una duplice funzione: aumentare l'umidità all'interno della struttura, e ridurre la temperatura sfruttando il calore latente dell'acqua, cioè la capacità che l'acqua ha di assorbire calore tramite la reazione di evaporazione, che è endotermica. Su questo stesso principio si basa il sistema di raffrescamento attivo formato da un cooling system: un sistema formato da un pannello in cartone, o altro materiale poroso, sul quale viene fatta scorrere dell'acqua. L'aria calda esterna attraversando il pannello fa evaporare l'acqua contenuta nel pannello abbassando così la temperatura all'interno della fungaia. Il cooling system solitamente è posizionato in una delle testate della struttura, mentre nel lato opposto vengono installati dei ventilatori assiali che aspirando fuori l'aria interna della serra creano il flusso di aria che attraversa il cooling system. Per garantire un corretto ricircolo di aria e una omogeneità delle condizioni ambientali della serra, all'interno possono essere installati ulteriori ventilatori.

### 1.6.1. Temperatura Ambientale

La temperatura ambientale è un parametro estremamente importante, la cui variazione dipende principalmente dal tipo di micelio utilizzato. La temperatura media ottimale per la coltivazione di *P. ostreatus* varia da 18 a 30 °C, anche se ogni fase di crescita ha un range di temperature da mantenere (Tab. 2) (Bellettini et al., 2019).

Tabella 2 – Temperature di riferimento per le varie fasi di coltivazioni di *P. ostreatus*

Specie	Temperatura di incubazione (°C)	Temperatura di induzione (°C)	Temperatura ottimale di fruttificazione (°C)	Temperatura di raccolta (°C)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	5-35	10-15,6	20-25	10-25

Basse temperature e condizioni di siccità possono ridurre l'altezza del gambo e la dimensione del corpo fruttifero (Sher et al., 2010). Alte temperature, invece, possono ridurre lo sviluppo del fungo favorendo lo sviluppo di microorganismi competitivi più adattati alle alte temperature (Urben, 2004).

### 1.6.2. Umidità

Per la coltivazione di *P. ostreatus* è richiesta un'umidità che varia dal 20 – 70% (Pandey et al., 2001). Anche se secondo alcuni autori (Chang e Miles, 2004; Li et al., 2015) il grado di umidità appropriato varia in base al periodo di coltivazione poiché durante la fase di inoculo e la fase di incubazione l'umidità dovrebbe essere mantenuta rispettivamente in un intervallo compreso tra 60-75% e 85-97%. Un maggiore grado di umidità relativa è invece favorevole alla fase di maturazione e fruttificazione (Pandey et al., 1992).

### 1.6.3. Luce

Il fotoperiodo non è necessario per indurre la formazione del primordio ma è necessario per la produzione del corpo fruttifero. I recenti progressi nella fotobiologia fungina utilizzando strumenti molecolari e analisi genomiche hanno mostrato fitocromi specifici, proteine fotorecetttrici, fattori di trascrizione, geni regolati dalla luce e, in una certa misura, percorsi regolatori comuni che portano allo sviluppo dei funghi e alla vitalità delle spore (Colavolpe e Albertó, 2014). *Pleurotus spp.* richiedono luce per la formazione dei primordi (Nakano et al., 2010). In generale, il fotoperiodo di stimolazione del micelio per favorire la formazione dei corpi fruttiferi dovrebbe essere compreso tra 200–640 lux 8–12 h al giorno<sup>-1</sup> (Ahmed et al., 2013). Ambienti molto luminosi

possono causare una riduzione della colorazione della superficie, deformazioni, allungamento del gambo (Urben, 2004).

Eira e Bueno (2005) riportano che il colore bianco brillante del cappello di *Pleurotus spp.* può diventare scuro e opaco in presenza di luce, a causa della produzione di fenolossidasi che ossidano i fenoli, formando melanoidine. In completa assenza di luce, i funghi ostrica non formano un cappello ma singoli steli che formano una struttura simile al corallo (Oei e Nieuwenhuijzen, 2005).

#### 1.6.4. Composizione dell'aria

I funghi aerobici richiedono ossigeno per la loro sopravvivenza e sviluppo. Durante la fase di inoculo è importante mantenere la concentrazione di CO<sub>2</sub> pari a 2000–2500 ppm, mentre terminata la fase di incubazione la concentrazione ottimale di anidride carbonica ideale per lo sviluppo dei corpi fruttiferi è di 1500–2000 ppm (Li et al., 2015).

L'aria contenete elevati livelli di anidride carbonica stimola la produzione di funghi con pileo denso e corto (Urben, 2004). Pertanto, durante la fase di fruttificazione sarà necessario ridurre la concentrazione di anidride carbonica a discapito di quella dell'ossigeno (Li et al., 2015). Questo è possibile favorendo il ricambio di aria con l'esterno mediante un opportuno sistema di ventilazione. Va comunque specificato che un corretto quantitativo di anidride carbonica va mantenuto all'interno della fungaia anche in quest'ultima fase.

### 1.7. Substrato di coltivazione

#### 1.7.1. Tipologie di substrati utilizzati

I funghi appartenenti al genere *Pleurotus* vengono coltivati su substrati costituiti da diverse tipologie di matrici. Il *P. ostreatus* essendo un fungo saprofito in natura cresce sui tronchi di piante con foglie caduche (Ferri, 1984). Il *P. ostreatus* è capace di accrescersi e svilupparsi su substrati poveri di nutrienti e con un elevato rapporto C/N anche attorno a 500, tale caratteristica permette di sfruttare ed impiegare nel substrato di crescita una varietà molto ampia di sottoprodotti derivanti dal settore agro-industriale. Il genere *Pleurotus* mostra una carica enzimatica in grado di attaccare i complessi organici di provenienza agricola ed industriale, per tale motivo sono considerati tra i funghi che meglio riescono ad intaccare e decomporre le sostanze a lignocellulosolitiche (Baysal et al., 2003). L'ampia variabilità della composizione del substrato può dare effetti positivi e negativi alla produzione sia da un punto di vista quantitativo che qualitativo (Shah et al., 2004). Le componenti maggiormente utilizzate per la produzione di substrati di coltivazione sono: paglia di graminacee e cereali, tutolo di mais, residui di lavorazione di diverse essenze legnose, fieni di leguminose, residui dell'industria della birra e lolla del riso. L'utilizzo di sottoprodotti dell'industria

agroalimentare può essere un buon sistema per ridurre l'impatto ambientale, inoltre sfruttare la capacità di *P. ostreatus* di crescere su substrati poveri di nutrienti. Come substrati alternativi si possono trovare: scarti di carta e cartone macinato, caffè esausto (Nguyen et al., 2020), foglie di banana, foglie di mais (Obodai et al., 2003), residui della canna da zucchero (Sharma et al., 2013), scarti della palma da olio (Rizki et al., 2011), residui dell'industria della birra e lolla del riso (Huerta et al., 2000), vinacce e sottoprodotti del frantoio, foglie di palma da dattero (Koutrotsios et al., 2014).

### 1.7.2. Rapporto C/N

Il *P. ostreatus* è un fungo che riesce svilupparsi anche su substrati poveri e con rapporto C/N sbilanciato superiore anche a valori di 100, valore tipico dei sottoboschi dove tale fungo cresce naturalmente (Sanchez, 2004). Nella funghicoltura moderna il rapporto tra carbonio ed azoto è un parametro estremamente importante per la valutazione del tipo di substrato. Poiché questo influenza direttamente la qualità e la quantità di prodotto finale ottenibile nonché la durata delle diverse fasi biologiche. Più il rapporto C/N è piccolo, valori prossimi ad 1, più il substrato ha un elevato valore biologico, ovvero consente di sfruttare meglio i nutrienti poiché è presente una adeguata quantità di azoto, spesso un fattore limitante, e necessario per la sintesi di proteine. Di seguito si riportano le caratteristiche di un substrato in funzione del C/N (Alananbeh, 2014):

- rapporto C/N 100: tipico di substrati composti da essenze legnose che non hanno subito alcuna forma di pre-lavorazione tantomeno trattamento termico, tale rapporto C/N è rappresentativo dei sottoboschi dove il *P. ostreatus* cresce naturalmente.
- rapporto C/N 50: tipico di substrati composti da residui agro-industriali che hanno subito solamente il trattamento termico di pastorizzazione, si adattano bene per la produzione di *P. ostreatus* anche se necessitano di alcune correzioni per bilanciare il contenuto di azoto del substrato stesso.
- rapporto C/N 25-50: la materia prima in questo caso viene sottoposta a una serie di trattamenti meccanici: sminuzzamento, mescolamento pressatura parziale e imballaggio, nonché trattamento termico di pastorizzazione.
- rapporto C/N 15-25: le materie prime che entrano a comporre tale substrato sono di diversa provenienza e diversa composizione, in questo caso il rapporto C/N risulta ad essere molto più bilanciata rispetto alle precedenti tipologie e questo permette al *P. ostreatus* un'ottima crescita e produzione.

Un eccessivo quantitativo di azoto presente nel substrato può rallentare la crescita del micelio e causare drastiche perdite in termini di resa (Baysal et al., 2003).

È possibile l'aggiunta di additivi a base di azoto per bilanciare il rapporto C/N mediante l'impiego di farina di estrazione di soia, farina di erba medica e nitrato di ammoniaca (Norme Tecniche e fasi di coltivazione funghi Regione Emilia-Romagna, 2019). Diversi studi (Alananbeh et al., 2014; Rinker, 1989.) hanno riportato che l'aggiunta di additivi migliori le caratteristiche nutrizionali del substrato e possa velocizzare l'entrata in produzione. Inoltre, per arricchire il substrato è possibile aggiungere fieno di leguminose o granella di cereali.

### 1.7.3. Metalli pesanti

Nella formulazione del substrato è bene tenere sotto controllo anche la presenza di metalli pesanti in quanto questi, se presenti al di sopra di determinate concentrazioni, possono influenzare negativamente aspetti morfologici e fisiologici del fungo in quanto interagiscono con il sistema enzimatico del fungo stesso (Baldrian et al., 2002). Inoltre, secondo alcuni ricercatori (Baldrian e Gabriel, 2001), la presenza di metalli pesanti all'interno del substrato di coltivazione se in quantità non nociva può fungere da stimolante per la crescita del fungo. La presenza di metalli pesanti all'interno del substrato è principalmente riconducibile a contaminazioni riconducibili ad attività antropiche. *P. ostreatus* ha un notevole potenziale di bioaccumulo di metalli pesanti quando viene coltivato su mezzi di crescita (Arshid et al., 2009).

### 1.7.4. Produzione del substrato di coltivazione

La produzione del substrato di coltivazione può variare a seconda del produttore, nella figura sotto riportata se ne possono osservare le fasi principali (Fig. 11).

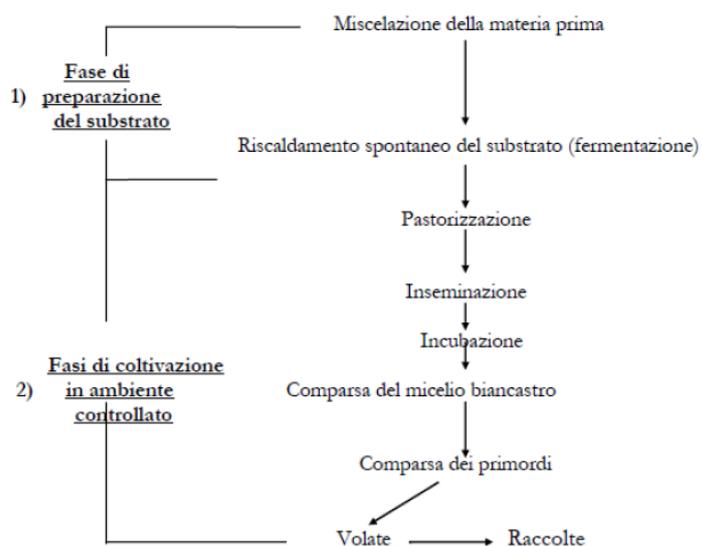


Figura 11 - Panoramica delle fasi di gestione del substrato e coltivazione del *P. ostreatus* (Regione Emilia Romagna 2019).

### Preparazione del substrato

Nella fase di preparazione del substrato è importante la scelta delle matrici e delle loro dimensioni. I componenti lunghi del composto devono essere trinciati in porzioni comprese tra i 2 e 8 cm e nel caso del tutolo di mais questo deve essere frantumato. Per avere un substrato avente un corretto pH, alla massa viene miscelata una quantità di carbonato di calcio variabile dal 5 al 10%. Il pH ottimale per l'accrescimento del micelio deve essere compreso tra valori di 6.2-7.0. Il composto deve essere infine bagnato portando l'umidità a livelli non inferiori al 70% e non superiori all'80%. Successivamente il composto tenderà a scaldarsi, a causa di fermentazioni a carico della microflora indigena presente nel substrato (Regione Emilia-Romagna, 2019).

Nella seconda fase avviene la disinfezione dei sacchi di coltivazione, tramite trattamento termico di pastorizzazione che può avvenire con diverse modalità che si diversificano soprattutto per il livello di temperatura raggiunto nel corso del trattamento: pastorizzazione, sterilizzazione parziale e sterilizzazione completa.

Può essere effettuata una pastorizzazione a livelli di temperatura relativamente bassi dove il composto viene caricato in tunnel e tramite l'ossigenazione si avvia una fermentazione spontanea che determina una temperatura omogenea del substrato pari a circa 65°C. Per stimolare questo processo, il substrato viene addizionato di materiali fermentescibili quali farina di erba medica nella quantità di 10-14% del peso secco.

La parziale sterilizzazione provoca la devitalizzazione della maggior parte della flora e della fauna dannosa con il solo ausilio della temperatura che viene portata a livelli in cui è inibito ogni processo microbiologico.

La sterilizzazione completa viene realizzata entro contenitori metallici statici e rotanti dove il composto viene sottoposto ad una elevata temperatura (130°C) in pressione, oppure viene investito da una corrente di vapore surriscaldato che permeando l'intera massa ne provoca la sterilizzazione. (Norme tecniche e fasi di coltivazione *P. ostreatus* Regione Emilia-Romagna 2019).

Al termine dell'operazione di pastorizzazione o di parziale sterilizzazione, il substrato deve venire uniformemente raffreddato attraverso l'immissione nella massa di aria filtrata, è importante che questa operazione sia rispettata così da evitare inquinamento del substrato. Inoltre, è necessario mantenere una temperatura di semina del substrato compresa tra i 20°-24°C, in misura uniforme per l'intera massa del composto. Il metodo di semina prevalente è quello che prevede la miscelazione al composto di semi di miglio, di grano o di avena, sterilizzati preventivamente, sui quali è fatto sviluppare il fungo sotto forma di micelio. Questi semi, diffusi uniformemente nel composto, sono invasi da ife fungine e costituiscono tanti punti di inoculo dai quali prende origine, sotto forma di un alone cotonoso bianco, il micelio. La percentuale di seme miscelato al substrato deve essere

compresa tra il 2% e il 6% in peso a seconda che il substrato sia stato pastorizzato o parzialmente sterilizzato. La distribuzione uniforme del seme facilita una rapida colonizzazione del substrato, una sua contemporanea disgregazione e garantisce una maggiore difesa contro l'invasione di muffe inquinanti.

Appena eseguita tale operazione si provvede al confezionamento del substrato. Il contenitore più usato è costituito da un sacchetto di polietilene provvisto di piccoli fori (3-5 mm), in grado di contenere 20-30 kg di substrato, con diametro di circa 60 cm entro cui il composto raggiunge uno spessore di circa 40 cm. Il substrato una volta inseminato ed inserito all'interno dell'apposito imballaggio di plastica deve presentare un contenuto di umidità di circa 70-75% (Andreoletti, 1985).

L'incubazione è il periodo nel quale viene stimolata la crescita del micelio. La sua durata varia in funzione delle caratteristiche ambientali, ma se queste sono favorevoli mediamente ha una durata di 20-25 giorni. Durante l'incubazione la temperatura deve essere mantenuta costantemente a 30-35°C. Sbalzi di temperatura sono dannosi, soprattutto ad incubazione avanzata perché stimolano la prematura formazione di carpofori all'interno del sacco (Norme tecniche e fasi di coltivazione *P. ostreatus* Regione Emilia-Romagna 2019). A basse temperature (4-5°C) invece, il micelio diminuisce o cessa il suo accrescimento, mentre a 40°C subisce un danno che ne provoca la morte. L'incubazione può avvenire in locali appositi privi di luce, essendo questo un elemento ininfluenza durante la crescita del micelio, e provvisti delle attrezzature di regolazione e controllo della temperatura e del movimento e del ricambio dell'aria. In condizioni ottimali, dopo pochi giorni dalla semina, da ogni granello di seme si differenzia un'aureola di micelio biancastro che poco alla volta si propaga nel substrato circostante.

Durante questa fase è necessario prestare attenzione ai seguenti parametri:

- temperatura ambientale: 30-35°C (Norme tecniche e fasi di coltivazione *P. ostreatus* Regione Emilia-Romagna 2019)
- umidità dell'aria; 90-95% (Alananbeh, 2014)
- umidità del substrato; 70-75% (Andreoletti, 1985)

Durante la fase di comparsa dei primordi dalle aperture dei sacchi di substrato iniziano a emergere i primordi in prossimità delle aperture dell'involucro dove il gradiente di concentrazione di O<sub>2</sub> è più elevato rispetto all'interno del sacco di coltivazione (Alananbeh et al., 2014).

Durante la fase di produzione del fungo i parametri ambientali ottimali sono:

- temperatura ambientale tra 16-25 °C
- umidità relativa dell'aria in produzione di 95-99% e fruttificazione 80-95%
- concentrazione di CO<sub>2</sub> dell'aria di 2000-2500 ppm durante la fase di incubazione e 1500-2000 ppm durante la fase di produzione e sviluppo dei corpi fruttiferi (Li et al., 2015).
- temperatura del substrato di coltivazione tra i 18 e i 24 °C
- luminosità di 250-640 lux (Shah et al., 2014);
- pH del substrato deve essere mantenuto intorno ad 8

La durata media di un ciclo produttivo del *P. ostreatus* può variare da 80 a 110 giorni (prolungandone la durata la produzione cala drasticamente e risulta poco vantaggiosa economicamente) durante il quale è possibile ottenere mediamente 3 volate. Le volate corrispondono ai periodi di crescita e raccolta dei corpi fruttiferi e hanno un andamento decrescente in termini quantitativi.

Se vengono fornite le migliori condizioni ambientali di produzione da 100 kg di substrato possono essere prodotti circa 23-28 kg di *P. ostreatus* durante le 3 volate (<https://www.fun.go.it/>).

La fase produttiva può essere distinta ulteriormente in due sottofasi (Andreoletti, 1985):

- fruttificazione: fase che si estende dalla fine dell'incubazione fino alla comparsa dei primordi, in riferimento alla prima volata. Mentre per la seconda e terza volata si riferisce all'arco di tempo che intercorre la raccolta dei corpi fruttiferi maturi alla comparsa dei primordi della volata successiva (Fig. 12).



Figura 12 – Primordio di *P. ostreatus* in accrescimento.

- maturazione dei corpi fruttiferi: corrisponde all'accrescimento e alla maturazione dei primordi in corpi fruttiferi che precede la raccolta (Fig. 13).



Figura 13 – Corpo fruttifero di *P. ostreatus* pronto per la raccolta.

### **1.8. Miceli di coltivazione**

Il processo che parte dall'isolamento e la replicazione delle spore del *P. ostreatus* viene svolto in centri micologici specializzati che devono garantire l'assenza di contaminazioni. L'intero procedimento di isolamento delle spore fungine ed il loro accrescimento parte dalla selezione dei carpofori i quali non devono presentano alcun difetto. Tale processo avviene in laboratorio all'interno di locali altamente controllati senza alcun rischio di contaminazione con altre spore di funghi patogeni (Jandaik et al., 1995).

Le spore per svilupparsi necessitano di crescere su substrati nutritivi per questo motivo le tecniche prevedono di utilizzare due tipologie di substrati diversi. Il primo è il PDA Potato Dextrose Agar, è una miscela di sostanze con elevata concentrazione in contenuto di carboidrato destrosio che funge da promotore di crescita del micelio nelle sue prime fasi biologiche (Fig. 14). Oltre al PDA il substrato è ricco anche di altre sostanze che risultano essere fondamentali per la crescita del micelio nelle fasi successive. Il substrato a base di PDA inoltre viene impiegato anche come base per l'accrescimento di altri funghi nonché di lieviti ed alcune tipologie di muffe per l'alimentazione umana.

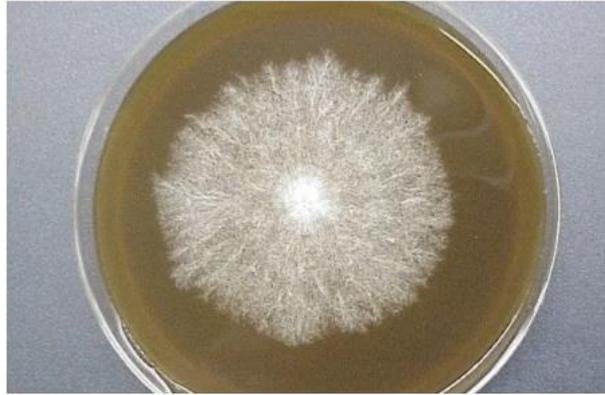


Figura 14 – Micelio in fase di crescita su substrato PDA.

La seconda tipologia di substrato è il MEA malts extract agar, è un substrato avente elevato contenuto di proteine ed azoto in diverse forme rendendo così tale substrato altamente fermentescibile e facilmente utilizzabile dal micelio per il suo accrescimento (Jandaik e Goyal, 1995).

Data la densità molto elevata delle spore disperse sul substrato di crescita è necessario procedere con una “diluizione”, che consiste nel far sviluppare su un secondo substrato principalmente composto da semi di grano duro, grano tenero, avena, lino e triticale. Per facilitarne la crescita del micelio su questo nuovo substrato, i semi precedentemente elencati devono subire una bagnatura seguita da una fase di cottura mantenendo un determinato livello di umidità per facilitare poi l’invasione da parte del micelio. La raccolta dei semi colonizzati dal micelio serve per facilitare il processo di insemminazione sul substrato di coltivazione.

Esistono diversi tipi di miceli commerciali sul mercato, i quali però vengono scelti a seconda della stagione di produzione, esistono infatti tipologie di micelio di *P. ostreatus* con buona attitudine a svilupparsi nel periodo autunno-invernale quindi con grande capacità di crescita a basse temperature ed altre tipologie commerciali che mostrano una maggiore adattabilità a dare produzioni nella stagione invernale-primaverile dove le temperature sono più elevate (AIF, Associazione Italiana Fungicoltori, 2020). Inoltre, esiste un’elevata variabilità produttiva tra le varie tipologie di micelio, non solo nel quantitativo di prodotto ottenibile, ma anche nella costanza di produzione ed uniformità di produzione tra una volata e l’altra, queste caratteristiche sicuramente meritano ulteriori approfondimenti.

## 2. Scopo del lavoro

La coltivazione di *P. ostreatus* occupa stabilmente una importante fetta di mercato nella vendita e produzione dei funghi edibili. Tuttavia, esistono ancora molti fattori, non sempre conosciuti, che ne limitano la produttività, la costanza e l'uniformità di produzione tra le diverse volate. I principali fattori che influiscono sono la tipologia di micelio, il substrato di coltivazione, l'ambiente di coltivazione e di parametri climatici. L'ottimizzazione di questi aspetti ed il miglioramento delle condizioni produttive risulta essere di elevato interesse per i funghicoltori in quanto porterebbe a mitigare le principali problematiche di coltivazione. In questo contesto si colloca la presente prova sperimentale che fa parte di un progetto triennale mirato all'ottimizzazione della produzione del fungo *P. ostreatus*. Tale progetto nominato YESP, finanziato dal Piano di Sviluppo Rurale della Regione Veneto, ha lo scopo di valutare ed analizzare le principali problematiche nella coltivazione di *P. ostreatus* cosicché sia possibile adottare delle soluzioni atte alla stabilizzazione produttiva. Nella prova sperimentale descritta in questa tesi sono state valutate le caratteristiche produttive e qualitative di tre diverse tipologie di micelio coltivate su tre diversi substrati in un ciclo produttivo, monitorando tutti i parametri ambientali che influiscono sulla crescita del fungo. Lo scopo principale di questo lavoro è valutare come i miceli, i diversi substrati e la loro combinazione abbiano effetto sulla resa e qualità del prodotto.



### **3. Materiali e metodi**

#### **3.1. Ambiente di coltivazione**

La prova è stata condotta all'interno di una fungaia sita presso l'azienda agraria sperimentale "L. Toniolo" dell'Università di Padova. La struttura è lunga 25 m, larga 8 m e risulta essere un effettivo modulo commerciale, in scala ridotta, per la produzione di funghi per cui le sue caratteristiche costruttive sono le medesime di strutture per la produzione su ampia scala. Anche la dotazione di tecnologie per la climatizzazione segue quelle presenti in strutture adibite alla produzione, infatti, il raffrescamento è garantito da un sistema di irrigazione mediante micro splinker e cooling system. Per il riscaldamento, invece, è installato un generatore di aria calda alimentato a gasolio munito di funjet. Il sistema di ventilazione ha lo scopo di espellere l'anidride carbonica e garantire un corretto ricambio dell'aria. Per garantire un corretto ricircolo di aria e una omogeneità delle condizioni ambientali della serra, all'interno è installato a metà della struttura un ulteriore ventilatore che garantisce un corretto ricircolo e rimescolamento dell'aria.

La gestione del microclima interno alla fungaia è stata effettuata in maniera automatizzata (Fig. 15). Ad un'altezza di circa 50 cm dalla pavimentazione sono stati installati 9 sensori fissi (3 sensori per ogni uno dei tre blocchi di produzione) che hanno rilevato in continuo l'umidità relativa, la temperatura dell'aria e la luminosità. I dati monitorati sono stati inviati ad una centralina con parametri di riferimento già preimpostati che aziona in automatico i sistemi precedentemente descritti per correggere e riportare i valori prossimi a quelli desiderati. Il sensore per il monitoraggio della concentrazione di CO<sub>2</sub> è unico ed è posizionato sulla parete a nord della fungaia. Oltre ai sensori descritti in precedenza la fungaia è anche munita di 3 sensori mobili (1 sensore per blocco di coltivazione) impiegati per misurare la temperatura del substrato di coltivazione all'interno dei sacchi.



Figura 15 – Interno della fungaia A) Sistema di raffreddamento passivo, micro-sprinkler; B) Sensore fisso rilevatore di temperatura, umidità dell’aria, luminosità; C) Ventilatore assiale per ricircolo interno dell’aria; D) Sensore mobile inserito sulla singola unità produttiva; E) Sistema di raffreddamento attivo “Cooling system”; F) Trappola cromotropica per monitoraggio dei ditteri patogeni.

### 3.2. Schema sperimentale

La sperimentazione, come riportato in precedenza, si è occupata di valutare l’effetto del micelio e del substrato di coltivazione sulla produzione di *P. ostreatus* al fine di individuare eventuali differenze o fattori limitanti. Per questo motivo sono state confrontate 3 diverse tipologie di substrati inoculati rispettivamente con 3 diverse tipologie di micelio. I substrati impiegati provenivano da tre diverse aziende produttrici di substrati di livello nazionale. Anche per i miceli sono state scelte tre tipologie differenti prodotte da tre aziende diverse. I tre diversi substrati sono stati identificati attraverso le seguenti sigle A, B, C, mentre i tre miceli attraverso le seguenti sigle M1, M2, M3 (Tab. 3). In funzione della tipologia di substrato la massa, il numero di fori ed il materiale di copertura erano differenti (Tab. 4). Nel complesso la prova ha considerato 313 sacchi di substrato inoculati con *P. ostreatus* suddivisi in 3 blocchi con orientamento da nord a sud.

All'interno di ogni blocco erano presenti tutte le combinazioni tra micelio e substrato, a parte la combinazione tra substrato B e micelio M2 poiché la ditta non è stata in grado di consegnarlo in tempi utili. La disposizione dei sacchi è stata effettuata impiegando un disegno sperimentale a blocchi randomizzati con tre ripetizioni (Fig. 16).

Tabella 3 – Numero di sacchi presenti suddivisi per tipologia di substrato e tipologia di micelio.

SUBSTRATO MICELIO	M1	M2	M3	TOTALE
A	35	34	35	104
B	39	/	80	119
C	30	30	30	90
<b>TOTALE</b>	104	64	145	313

Tabella 4 – Caratteristiche dei sacchi in funzione della tipologia del substrato

SUBSTRATO	PESO MEDIO SACCO (kg)	UMIDITÀ (%)	NUMERO FORI	MATERIALE DI COPERTURA
A	21	67,4	22	trasparente
B	18	67,2	14	bianco
C	27	72,5	22	bianco

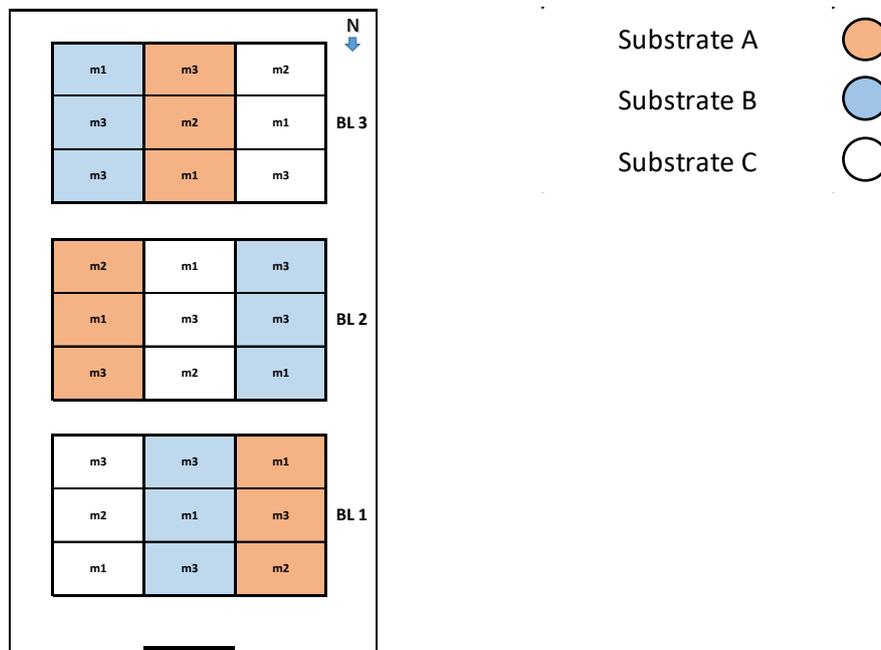


Figura 16 – Schema sperimentale dei diversi substrati e miceli all'interno della fungaia.

### 3.3. Fasi di coltivazione

La prova è iniziata con l'arrivo in azienda dei sacchi di substrato inoculato e la loro disposizione all'interno della fungaia il 21 gennaio 2021. Posizionate le balle di substrato è stato effettuato un prelievo di un quantitativo sufficientemente rappresentativo di campione per poter effettuare la caratterizzazione chimica e fisica dei tre tipi di substrato: sostanza secca e umidità relativa, in laboratorio sono state determinati il contenuto di Carbonio (totale, inorganico, organico), N, P e K e metalli pesanti presenti (Cr, Cd, Cu, Zn, e Pb). Durante tutta la fase di coltivazione i sacchi sono stati monitorati a campione per valutare la temperatura media del substrato, indicatore importante per valutare l'attività biologica del micelio, inoltre, si proceduto con una periodica valutazione delle condizioni di comparsa e di salute del micelio. Durante la prova sono stati rilevati i seguenti parametri ambientali: temperatura ambientale (°C), temperatura del substrato (°C), umidità relativa dell'aria, intensità luminosa dell'ambiente.

#### 3.3.1. Fase di incubazione

In concomitanza con il posizionamento è iniziata la fase di incubazione, durante la quale è stata mantenuta una temperatura media di 18 °C. La fase di incubazione è durata fino all'emersione dei primordi.

Durante questa fase sono stati effettuati rilievi termici della temperatura dei sacchi con termocamera FLIR durante il periodo di incubazione. Questo ha permesso di valutare la distribuzione della dispersione termica dal substrato permettendo di valutare le zone di massima crescita del micelio.

#### 3.3.2. Fase di comparsa dei primordi

In concomitanza con la fine dell'incubazione si è manifestata l'emersione dei primordi sotto forma di piccoli gruppi simili a tante capocchie di fiammifero che fuoriescono dai fori del sacco. Il tempo che intercorre tra la comparsa dei primordi e la prima volata è relativamente breve in quanto il micelio dopo il periodo di incubazione si esprime al massimo e con una certa uniformità. Durante questa fase sono stati misurati giornalmente i primordi sviluppatisi su ogni sacco.

#### 3.3.3. Fase di maturazione e comparsa dei corpi fruttiferi

Questa fase comincia quando i primordi iniziano la fase di differenziazione con un evidente riduzione del numero dei corpi fruttiferi. Lo sviluppo sia in termini di dimensione che di

volume dei corpi fruttiferi in questa fase è molto rapido, con un accrescimento evidente all'interno dello stesso giorno. Se le condizioni ambientali sono ottimali i ritmi di maturazione e quindi di raccolta variano da 1 a 3 giorni. Durante questa fase, soprattutto durante la prima volata, le operazioni di raccolta sono state svolte mediamente ogni 2-3 giorni in funzione dello stadio di maturazione del corpo fruttifero. Uno degli aspetti su cui ci si è basati per procedere alla raccolta è la dimensione dei corpi fruttiferi delle singole famiglie. I corpi fruttiferi pronti per essere raccolti erano quelli che presentavano cappello ampio, espanso con il bordo leggermente rivolto verso il basso. La raccolta delle famiglie di funghi è avvenuta manualmente staccando direttamente dal substrato i corpi fruttiferi (Fig. 17).



Figura 17 – Raccolta manuale di una Famiglia di *Pleurotus ostreatus*.

### 3.4. Analisi morfo-ponderali

Durante la fase di raccolta la produzione di ogni sacco è stata sottoposta ad una serie di misurazioni come il peso e il numero delle famiglie raccolte.

Successivamente tra le famiglie raccolte venivano scelte tre delle famiglie più rappresentative della produzione giornaliera per ogni sacco. Questi tre campioni erano necessari per effettuare la

valutazione del numero di corpi fruttiferi di ogni famiglia, larghezza e spessore dei corpi fruttiferi e le analisi colorimetriche. Mediante una riga graduata con una scala in cm, per ogni famiglia, delle tre scelte come campione, veniva scelto un corpo fruttifero come rappresentativo e ne veniva misurata l'ampiezza, misurata in cm, da una estremità all'altra. Lo spessore veniva misurato mediante calibro elettronico pre-tarato con il quale si procedeva alla misurazione dello spessore, misurato in mm, di un corpo fruttifero rappresentativo della famiglia. Per entrambe le tre famiglie è stata fatta una analisi colorimetrica mediante colorimetro tristimolo Minolta CR200 rilevando le coordinate  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (Fig. 18)

$L^*$ > misura l'intensità del colore dal nero al grigio

$a^*$ > misura la fascia di colore che va dal verde al rosso

$b^*$ > misura la fascia di colore che va dal blu al giallo



Figura 18 – Scala di valutazione utilizzata per le analisi colorimetriche.

In seguito alle analisi morfo-ponderali sono stati preparati tre campioni successivamente utilizzati per le analisi qualitative. Un campione è stato posto in stufa ventilata a 65°C per ottenere la percentuale di sostanza secca, mentre i restanti due campioni sono congelati per essere successivamente utilizzati per le analisi qualitative e la determinazione di antiossidanti totali e polifenoli.

### 3.5. Analisi qualitative

Le analisi qualitative hanno avuto lo scopo di caratterizzare il prodotto secondo alcuni parametri, tra cui sostanza secca, contenuto di solidi solubili, pH, conducibilità elettrica ed acidità titolabile.

Per determinare la sostanza secca dei corpi fruttiferi, porzioni di *P. ostreatus*, sono state pesate e successivamente poste in stufa a 65°C per 48 ore. Al termine del processo di essiccazione il

campione è stato nuovamente pesato ottenendo così la quantità di acqua che è evaporata e quindi per differenza la quantità di sostanza secca del *P. ostreatus*.

Uno dei due campioni precedentemente congelati è stato scongelato al fine di ottenere il succo cellulare contenuto all'interno dei corpi fruttiferi, tale succo è stato utilizzato per le analisi di seguito descritte.

Una aliquota del succo è servita anche per la determinazione del contenuto di solidi solubili (°Brix), che è stata effettuata tramite rifrattometro portatile digitale HI 96801 Hanna Instruments; uno strumento che utilizza la misura dell'indice di rifrazione per determinare il contenuto zuccherino.

Parte del succo è stata inoltre prelevata per eseguire le analisi di pH e conducibilità elettrica (EC) tramite pHmetro-conduttivimetro portatile, modello H19811.

L'acidità titolabile è stata determinata secondo il metodo standard ISO 750:1998 (E) tramite il titolatore automatico Titrex Act (Steroglass). Il volume di soda necessario al raggiungimento del punto di flesso (pH 8.2) è stato utilizzato nella seguente formula:

$$Z = [(V*N*mEqwt)/Y]*100$$

dove:

Z= g di acido per 100 g di campione

V= volume in mL di NaOH usata per la titolazione

N= normalità di NaOH

mEqwt= milliequivalenti di acido (0.064 ac.citrico)

Y= volume in mL di campione

### **3.6.Determinazione antiossidanti e polifenoli totali**

La determinazione dell'attività antiossidante e dei fenoli totali ha previsto l'impiego delle metodiche indicate da Kang et al. (2002) che riprendono quelle di Ke e Saltveit (1989), Singleton e Rossi (1965) e Benzie e Strain (1996) con opportuni aggiustamenti per adattare le metodiche alla matrice da analizzare. Prima di procedere con le analisi il campione è stato prelevato uno dei due campioni precedentemente congelati ed è stato posto in liofilizza mediante liofilizzatore (aggiungere modello e caratteristiche). Il campione ottenuto è stato finemente macinato così da ottenere una polvere. La determinazione dell'attività antiossidante e dei fenoli totali ha previsto per entrambi la pesata di 0,5 g di campione macinato ai quali sono stati aggiunti 20 mL di metanolo (per HPLC); il campione è stato filtrato con carta da filtro (589 Schleicher diametro 125 mm). L'attività antiossidante è stata determinata con il metodo FRAP (FerricReducingAbility of Plasma). Il reagente FRAP (soluzione 1 mM di 2,4,6-tripiridil-2 triazina [TPTZ], 2 mM cloruro ferrico e 250 mM di acetato di sodio a pH 3.6) è stato preparato giornalmente a partire da soluzioni madri di 300

mM di buffer acetato, 12 mM di TPTZ (in acido cloridrico 48 mM) e 24 mM di cloruro ferrico in rapporto 10:1:1. A 100  $\mu\text{L}$  di estratto sono stati aggiunti 1900  $\mu\text{L}$  di reagente FRAP e si è omogeneizzato con l'ausilio di un vortex; dopo 4' a 20 °C è stata letta l'assorbanza a 593 nm (Shimadzu UV-1800). La lettura è stata confrontata con una curva di calibrazione costituita da soluzioni di solfato di ammonio ferroso con concentrazione da 0 a 1200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  di ione ferroso. L'attività antiossidante è stata quindi successivamente espressa come mg di  $\text{Fe}^{2+}$  equivalenti ( $\text{Fe}^{2+E}$ ) per kg di campione secco o fresco.

Per la determinazione dei fenoli, invece, si sono prelevati 200  $\mu\text{L}$  dell'estratto, si sono aggiunti 1000  $\mu\text{L}$  di reattivo di Folin-Ciocalteu e 800  $\mu\text{L}$  di carbonato di sodio anidro al 7.5%. Si è quindi proceduto con 15" di agitazione e successivo riposo per 30' a temperatura ambiente prima di leggere allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 765 nm (Shimadzu UV-1800). L'assorbanza è stata confrontata con quella letta per soluzioni a concentrazione nota di acido gallico (da 0 a 300  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) che hanno subito lo stesso procedimento dei campioni. Il contenuto totale di fenoli è stato espresso come mg di ac. gallico equivalenti (GAE) per kg di campione fresco o secco.

### **3.7. Contenuto N, P e K**

Nei confronti degli elementi N, P e K, le ceneri del campione sono state sospese in HCl concentrato, sciogliendo le ceneri di 1 g di sostanza secca in 5 mL di HCl. Trascorsa mezzora, la soluzione è stata diluita con acqua distillata fino al volume di 50 mL. Successivamente si è filtrata accuratamente la soluzione da impiegare nella lettura del contenuto elementare. Lo strumento impiegato in questa fase analitica è stato lo spettrofotometro ad emissione ICP-AES (Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spettroscopy) SPECTRO CIROS (della Spettro Italia S.r.l.).

### **3.8. Analisi anioni e cationi**

Per quanto riguarda la determinazione del contenuto di anioni e cationi si è impiegata la cromatografia ionica (IC) usando un sistema cromatografico a gradiente (Dionex ICS-900), costituito da una pompa binaria e da un rivelatore di conducibilità (Dionex DS5) con soppressore anionico (AMMS 300, 4mm) per l'analisi degli anioni e soppressore cationico (CMMS 300, 4mm) per l'analisi dei cationi. La colonna Ion Pac AS23 con dimensioni 4x250 mm è stata utilizzata per l'analisi degli anioni mentre la colonna Ion Pac CS12A con dimensioni 4x250 mm è stata utilizzata per l'analisi dei cationi. Entrambe sono precedute da una pre-colonna. I dati forniti da questo sistema sono stati raccolti ed elaborati usando il software Chromeleon per sistemi LC. 200 mg di campione secco macinato sono stati estratti in 50 mL di acqua per 20 minuti su piastra rotante a 150 rpm. Il campione è stato quindi filtrato in un primo momento con carta da filtro 589 Schleicher e successivamente con filtri per siringa in acetato di cellulosa da 0.20  $\mu\text{m}$ . Le iniezioni sono state fatte

usando un iniettore a valvole (Rheodyne) con un loop di 50  $\mu$ L. Sono stati impiegati multi standard di anioni (Dionex), multi standard di cationi (Dionex), eluente concentrato AS23 (Dionex), eluente concentrato CS12A (Dionex). L'eluente utilizzato è costituito dal 100% di sodio carbonato 4.5 mM, sodio bicarbonato 0.8 mM per l'analisi degli anioni e dal 100% di acido metansolfonico 20 mM per l'analisi dei cationi. Il flusso utilizzato è 1 mL/min e la colonna è mantenuta a temperatura ambiente.

### **3.9. Analisi statistica**

I dati ricavati dai rilievi quanti-qualitativi sono stati elaborati statisticamente attraverso l'analisi della varianza ANOVA a due vie e le medie sono state separate attraverso il test HSD di Tukey con  $p \leq 0.05$ . Per l'elaborazione statistica è stato utilizzato il software Statgraphics 19 centurion (Statgraphics Technologies, Inc.). Per alcune problematiche avute con le aziende produttrici il trattamento con substrato A e micelio 2 non è presente. Per ovviare alla problematica si è deciso di eseguire l'analisi statistica suddividendo i trattamenti in due fattoriali completi e quindi analizzando prima i substrati A e C con i miceli 1,2 e 3 e successivamente i substrati A, B e C con i miceli 1 e 3.



## 4. Risultati

### 4.1. Parametri ambientali

Come riportato in figura 19 la temperatura ambientale durante i primi trenta giorni, periodo che coincide con l'incubazione, tende a salire stabilizzandosi a 20°C. Successivamente durante la fase di coltivazione cala stabilizzandosi a 10° C ma a 90 GDI tende a salire nuovamente raggiungendo 20° C.

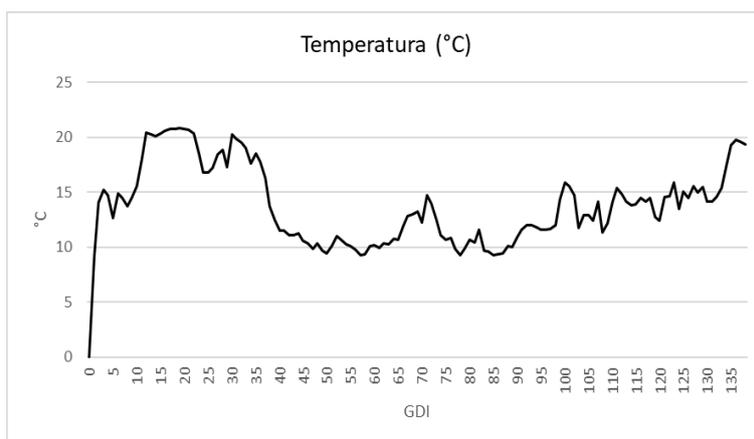


Figura 19 – Temperatura ambientale all'interno della fungaia durante l'intero ciclo produttivo espresso in giorni dall'incubazione.

L'umidità relativa (figura 20) durante i primi giorni di incubazione tende ad aumentare, si verifica un leggero calo dal decimo al trentesimo giorno di incubazione. Successivamente si stabilizza su valori pari a 100% e rimane costante per tutta la fase produttiva.

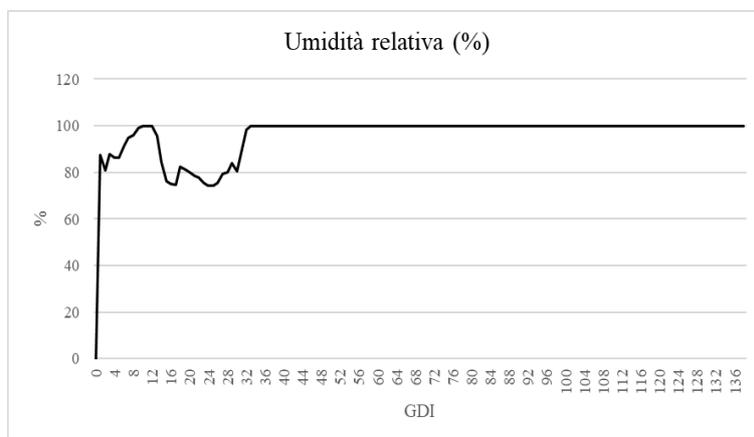


Figura 20 –Umidità relativa presente all'interno della fungaia durante l'intero ciclo produttivo espresso in giorni dall'incubazione.

In figura 21 la luminosità risulta essere poco stabile e costante, durante tutto l'arco di tempo della coltivazione varia particolarmente toccando valori massimi pari a 200 lux e minimi di 10 lux. Nonostante ciò, si può notare come il valore medio tenda ad aumentare con il procedere del ciclo colturale.

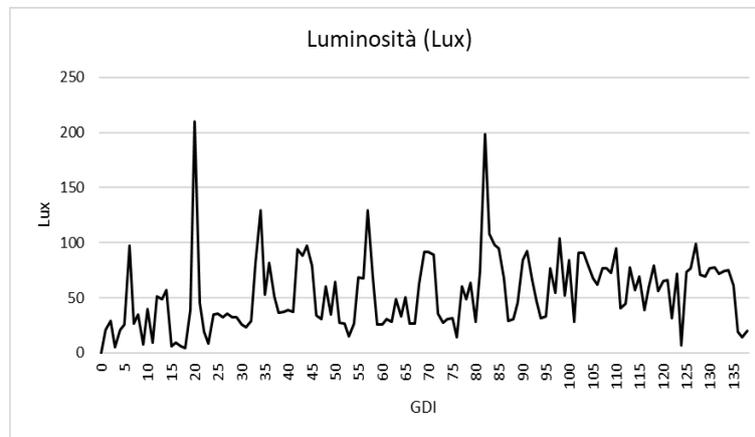


Figura 21 –Luminosità presente all'interno della fungaia durante l'intero ciclo produttivo espresso in giorni dall'incubazione.

Come riportato in figura 22 la concentrazione di anidride carbonica tende ad aumentare durante i primi dieci giorni di incubazione raggiungendo valori prossimi a 1000 ppm, questo perché il micelio si accresce velocemente aumentando di conseguenza la respirazione cellulare. Questi valori rimangono pressoché costanti durante tutta la fase di incubazione e tendono a calare durante la prima volata, in cui il micelio presenta ancora una elevata attività, poiché i valori presentano picchi di circa 700 ppm. Progressivamente la concentrazione di anidride carbonica continua a calare ulteriormente vicino a valori prossimi a 500 ppm stabilizzandosi durante la seconda e terza volata.

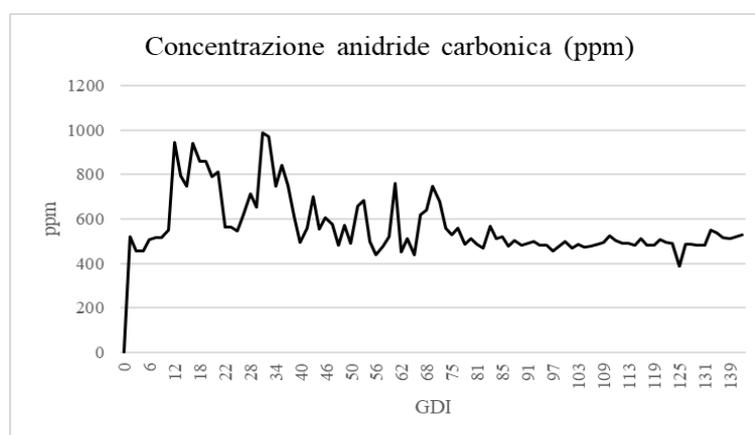


Figura 22 – Concentrazione di Anidride carbonica presente all'interno della fungaia durante l'intero ciclo produttivo espresso in giorni dall'incubazione.

## 4.2. Substrati

### 4.2.1. Temperatura substrati

Le temperature rilevate per le tre diverse tipologie di substrati vengono riportate in funzione del micelio di coltivazione.

Come riportato in figura 23 la temperatura di tutti i substrati utilizzati con il micelio 1 ha riportato scostamenti tra i diversi substrati durante tutta la fase di coltivazione. Durante la fase di incubazione la temperatura è risultata più elevata, con valori medi di 25°C, ciò è dovuto ad una elevata attività vegetativa del micelio. Durante la prima volata la temperatura progressivamente si è ridotta e stabilizzata intorno a 15°C. Durante la seconda volata si è registrato per tutti e tre i substrati un leggero picco intorno al settantesimo giorno di incubazione, in cui la temperatura è salita fino a 20°C. Successivamente le temperature si sono progressivamente abbassate per poi crescere durante la terza volata toccando le temperature raggiunte durante l'incubazione. Probabilmente ciò è anche causato dall'aumento della temperatura ambientale, dovuto all'avanzare della stagione primaverile.

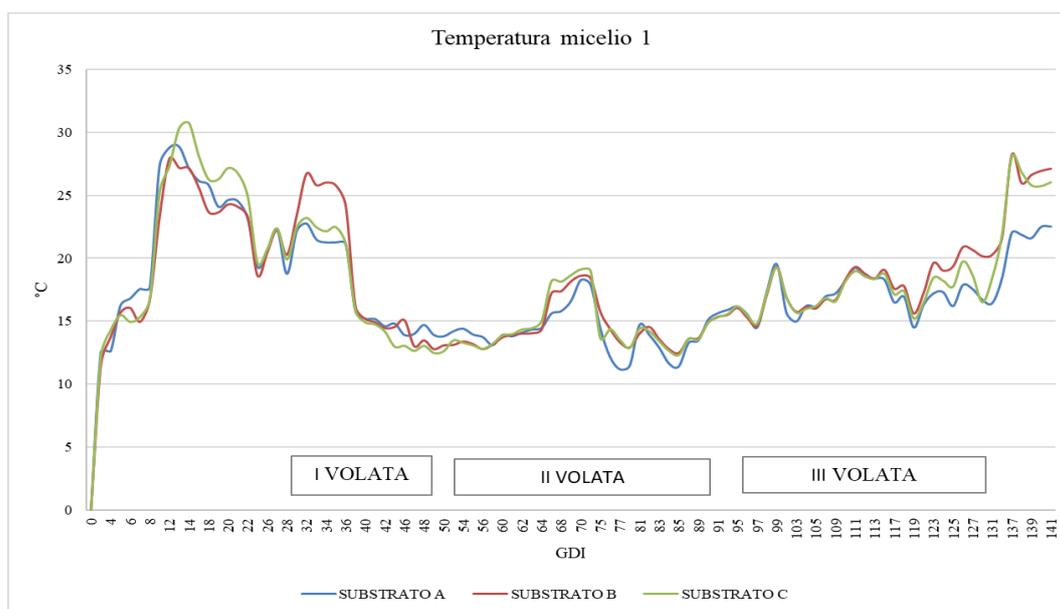


Figura 23 – Effetto del substrato di coltivazione sulla temperatura in base al micelio 1 espresso in giorni dall'incubazione.

La figura 24 dimostra come nel micelio 1 il substrato con una temperatura maggiore è il substrato C, ciò significa che ha maggiore attività vegetativa, i substrati B e A riportano temperature simili tra loro. Valutando la figura possiamo apprezzare come il calore si concentri nella parte centrale del sacco, ciò dimostra una maggiore attività vegetativa in quella porzione di substrato.

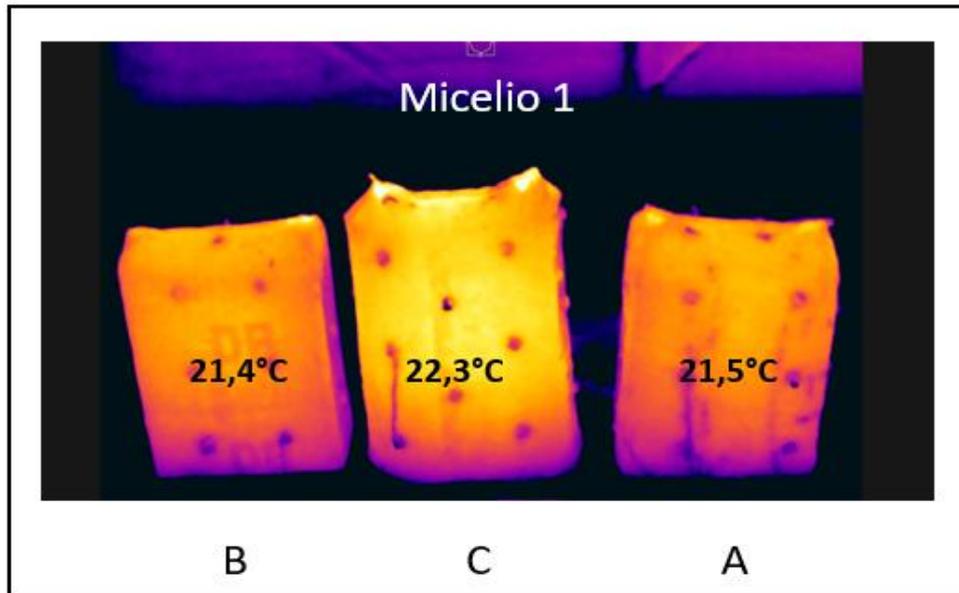


Figura 24 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del substrato di coltivazione in base al micelio 1.

In figura 25 le temperature di entrambi i substrati non hanno riportato scostamenti particolarmente elevati durante tutta la fase di coltivazione quando inoculati con M2, ad eccezione della fase di incubazione in cui il substrato C ha manifestato una temperatura media giornaliera più elevata, con valori prossimi a 30°C.

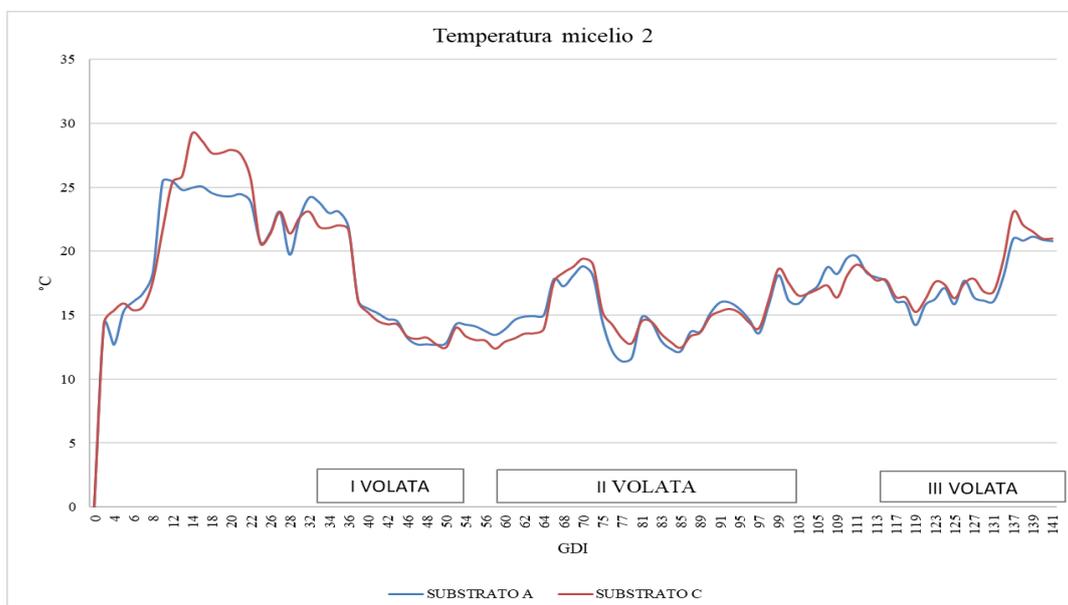


Figura 25 - Effetto del substrato di coltivazione sulla temperatura dei diversi substrati in base al micelio 2 espresso in giorni dall'incubazione.

Durante la fase di incubazione la temperatura è risultata più elevata, mediamente 25°C, ciò è dovuto ad una maggiore attività del micelio. Durante la prima volata la temperatura è progressivamente

diminuita stabilizzandosi a 15°C, mentre durante la seconda volata si è registrato per tutti e due i substrati un leggero picco intorno al settantesimo giorno di incubazione. Successivamente le temperature si sono progressivamente ridotte. Durante la terza volata le temperature sono nuovamente aumentate, toccando quelle raggiunte durante l'incubazione. Probabilmente ciò è anche dovuto all'aumento della temperatura ambientale legato all'avanzare della stagione primaverile. Grazie alla figura 26 è evidente che i substrati inoculati con il micelio 2 hanno riportato temperature simili, anche se il substrato C ha sviluppato una temperatura più elevata (21,8°C) e il substrato A inferiore di 0,4 °C. Dall'immagine si può apprezzare come la temperatura è stata più elevata nella porzione centrale e superiore del substrato, da ciò si può affermare che il micelio in quella porzione si sia maggiormente sviluppato.

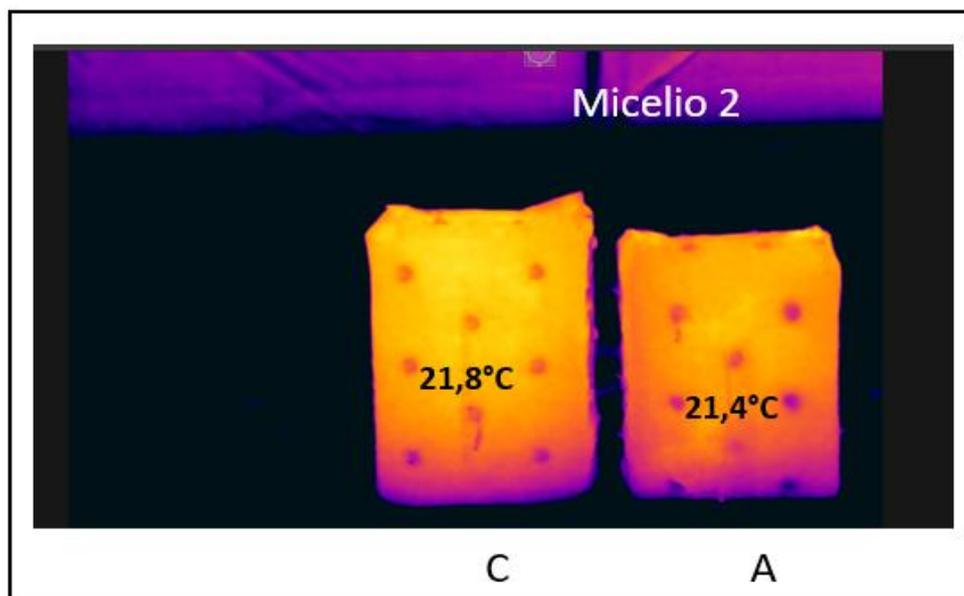


Figura 26 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del substrato di coltivazione in base al micelio 2.

La figura 27 evidenzia le temperature di tutti i substrati inoculati con il micelio 3, che non riportano scostamenti particolarmente elevati durante tutta la fase di coltivazione.

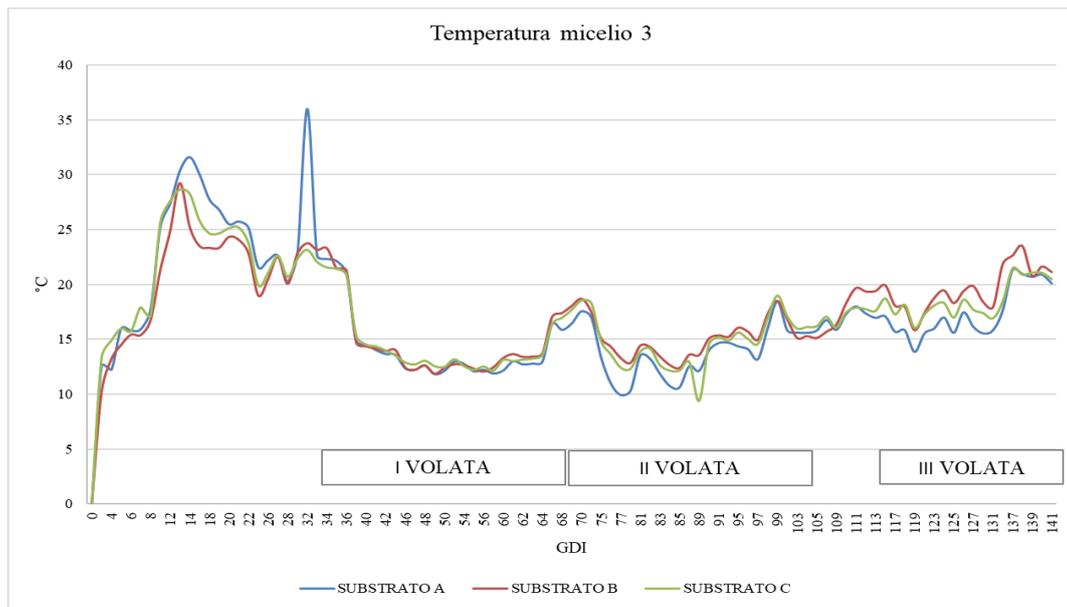


Figura 27 - Effetto del substrato di coltivazione sulla temperatura dei diversi substrati in base al micelio 3.

L'unico caso in cui si è registrata una temperatura differente è stato durante la fase di incubazione, più precisamente intorno a 32 GDI, in cui il substrato A ha registrato una temperatura notevolmente più elevata pari a 37 °C, che si è normalizzata il giorno successivo. Durante la prima volata la temperatura progressivamente si è stabilizzata a 32°C. Durante la seconda volata si è osservato per tutti e tre i substrati un leggero picco intorno al settantesimo giorno di incubazione in cui la temperatura è salita 18°C. Successivamente le temperature sono progressivamente aumentate durante la seconda e terza volata, probabilmente ciò è anche dovuto all'aumento della temperatura ambientale dovuto all'avanzare della stagione primaverile.

In figura 28 sono riportate le temperature dei diversi substrati inoculati con il micelio 3. Da ciò si può affermare che il substrato C ha prodotto una temperatura notevolmente più elevata, mentre i substrati A e B hanno sviluppato la medesima temperatura. La figura inoltre dimostra come il calore sviluppato è stato maggiore nella porzione superiore del sacco, ciò dimostra una maggiore attività vegetativa in quella porzione di substrato.

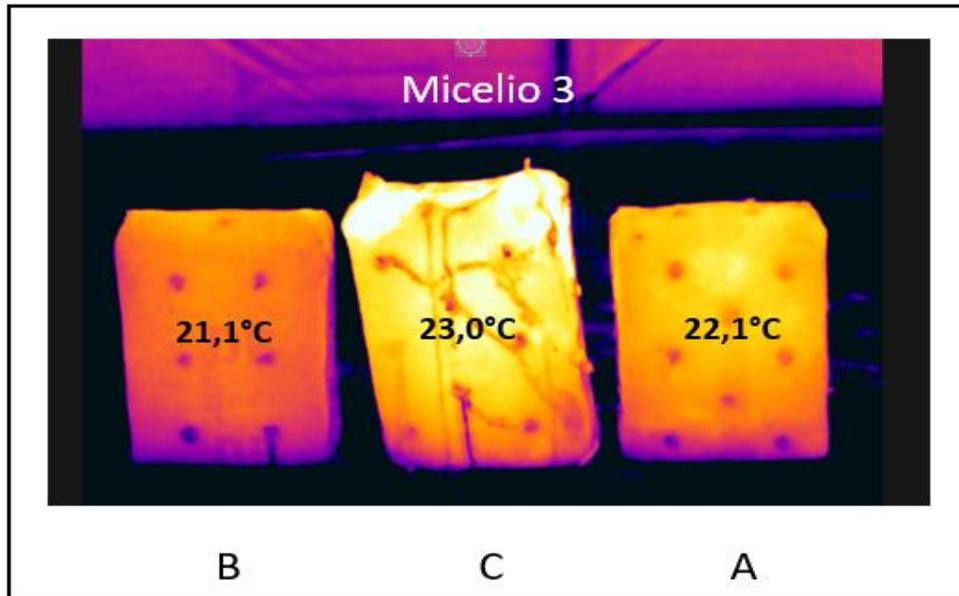


Figura 28 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del substrato di coltivazione in base al micelio 3.

La figura 29, che riporta la fotografia termica del substrato A, permette di osservare che M2 ha avuto una temperatura più elevata mentre M1 e M3 hanno registrato temperature molto più simili tra loro. Inoltre, la maggior parte del calore è dissipato nella parte apicale del substrato, da ciò possiamo affermare che in tale porzione si sia concentrata l'attività vegetativa del micelio.

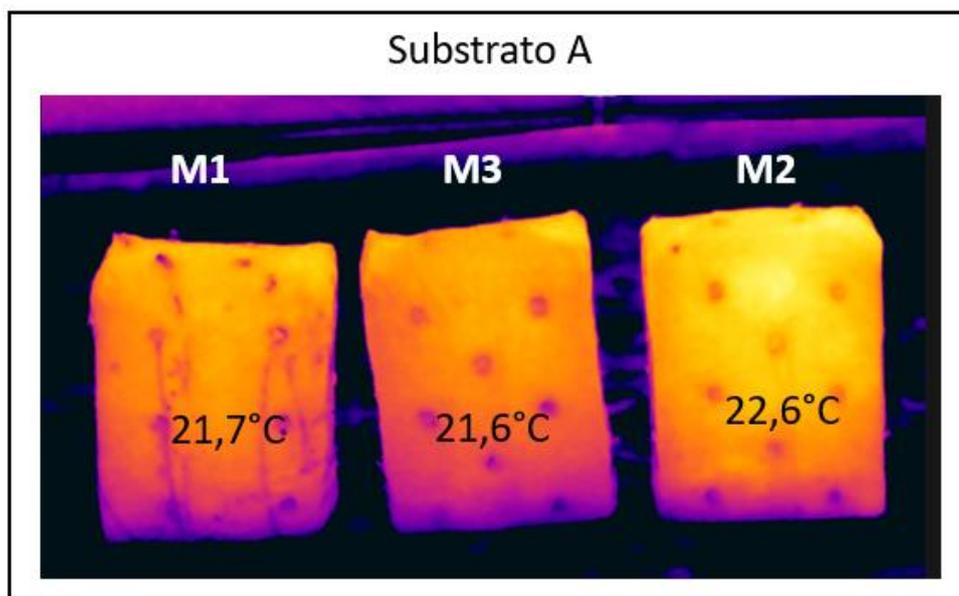


Figura 29 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del micelio in base al substrato A.

Nel substrato B (Fig. 30), M1 e M3 riportano temperature simili, nonostante ciò, M1 ha avuto una temperatura più alta di 0,4°C. L'immagine evidenzia come l'attività del micelio sia concentrata nella parte superiore dei sacchi, poiché la temperatura è risultata maggiore in quel punto.

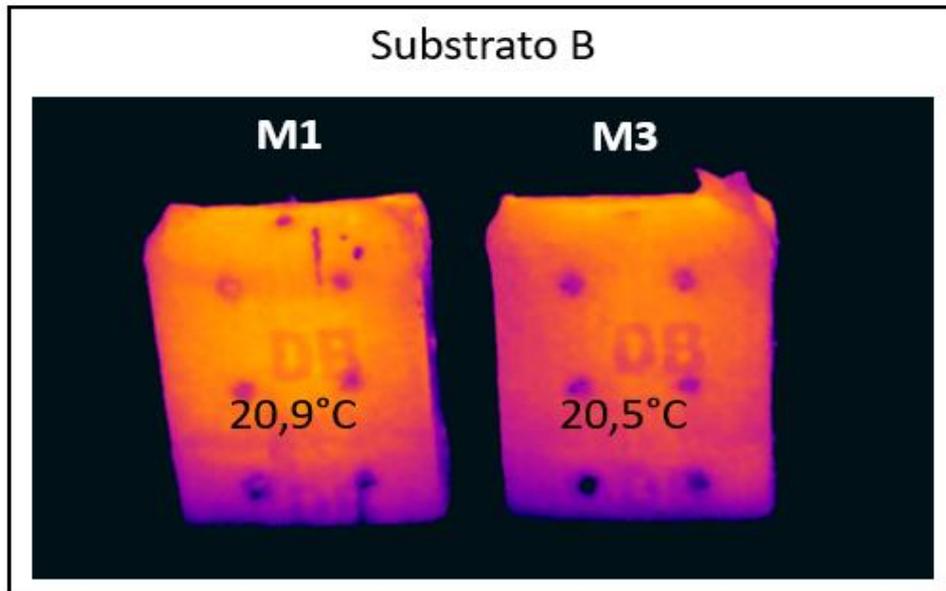


Figura 30 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del micelio in base al substrato B.

Come riportato in figura 31, nel substrato C il micelio 2 ha sviluppato la temperatura più elevata (22,9°C) mentre M3 e M1 riportano temperature simili tra loro. Anche in questo caso si può constatare come le temperature più elevate siano concentrate nella porzione centrale e superiore del substrato, ciò indica una maggiore attività del micelio in quella porzione.

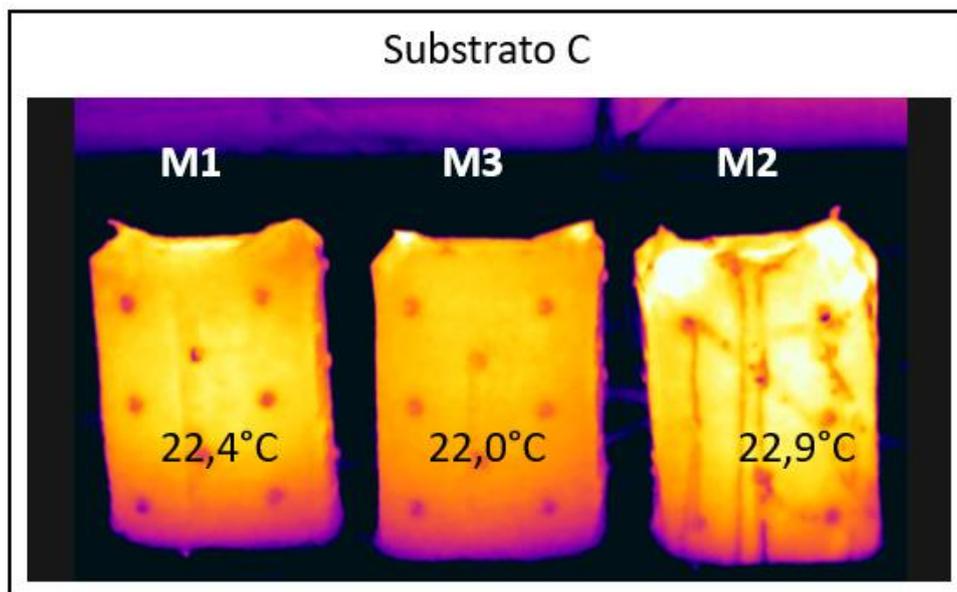


Figura 31 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del micelio in base al substrato C.

#### 4.2.2. Composizione iniziale substrati

Dal campione prelevato ad inizio ciclo dai diversi substrati si sono misurati i seguenti valori riportati in tabella 5.

Tabella 5 – Caratterizzazione chimica iniziale sul contenuto di elementi nutritivi e metalli pesanti dei tre substrati a confronto.

<i>Parametri</i>		<i>Substrato A</i>	<i>Substrato B</i>	<i>Substrato C</i>
<i>Cd</i>	mg/kg	0,10	0,12	0,11
<i>Cr</i>	mg/kg	12,52	8,19	10,59
<i>Cu</i>	mg/kg	6,19	4,73	4,90
<i>K</i>	mg/kg	10818,22	9230,42	11760,74
<i>P</i>	mg/kg	883,01	847,76	778,28
<i>Pb</i>	mg/kg	4,81	3,01	2,43
<i>Zn</i>	mg/kg	30,80	24,27	24,24
<i>C totale</i>	%	42,32	42,44	42,86
<i>C.org</i>	%	42,07	41,91	42,35
<i>C.inorg</i>	%	0,25	0,54	0,51
<i>azoto</i>	%	0,89	0,70	0,87
<i>SS</i>	%	32,61	32,76	27,51

Il substrato A ha evidenziato un contenuto maggiore rispetto al substrato B e C di cromo, rame, piombo e zinco. Il substrato B risulta avere un minore contenuto di potassio, mentre il substrato C possiede un contenuto di fosforo più basso. Il substrato C risulta essere composto da una minor quantità di sostanza secca che si traduce in una maggior idratazione iniziale del composto.

### 4.3. Primordi

La produzione cumulata dei primordi è stata normalizzata in funzione del numero di fori presenti in base al tipo di substrato utilizzato.

La comparsa dei primordi in base al micelio utilizzato (Fig. 32) per tutte e tre le volate è risultata statisticamente differente. Nella prima volata si è osservato che M1 e M3 hanno iniziato lo sviluppo assieme e che successivamente solo M1 ha raggiunto le massime performance in termini di produzione di primordi, mentre M3 ha sviluppato la quantità minore di primordi tra i tre miceli. Per questa volata quindi M1 e M3 sono risultati statisticamente differenti, mentre M2 non è risultato differente da entrambi. Per quanto riguarda la seconda volata M2 ha iniziato lo sviluppo anticipando gli altri miceli di otto giorni e ha ottenuto la massima produzione di primordi (100%). Nonostante ciò, è risultato statisticamente non differente rispetto a M1, che ha iniziato lo sviluppo a 53 GDI e ha riportato un valore massimo del 90%. Il micelio 3 ha iniziato la produzione di primordi contemporaneamente a M2, con uno sviluppo molto lento e producendo il 50% di primordi. In terza volata tutti e tre i miceli sono emersi contemporaneamente a 101 GDI, nonostante ciò, la

produzione totale è risultata statisticamente differente. Il micelio 3 ha riportato il valore più elevato (23%), M1 il valore più basso (8%), mentre M2 un valore centrale pari a 18%.

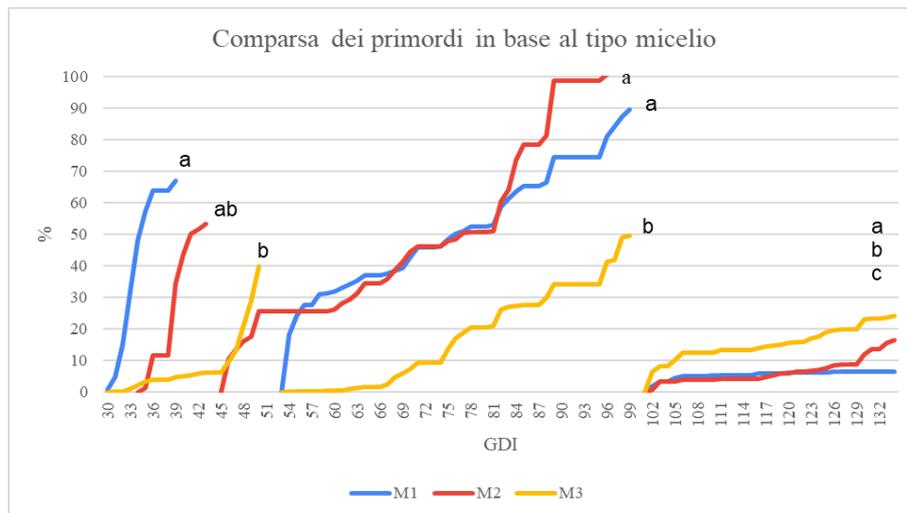


Figura 32 - Effetto del micelio sulla produzione di primordi suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05).

Per quanto concerne la comparsa dei primordi in funzione del substrato (Fig. 33) i risultati riportano che tutti i substrati si sono comportati in maniera statisticamente non differente, tranne in terza volata in cui i substrati A e B hanno riportato i valori più elevati. In volata 1 in tutti e tre i substrati la produzione è iniziata contemporaneamente ed anche lo sviluppo è stato simultaneo. Anche in seconda volata l'emergenza dei primordi, nei tre substrati, è avvenuta simultaneamente, mentre in terza volata il substrato C ha anticipato la comparsa dei primordi di sette giorni rispetto agli altri due substrati.

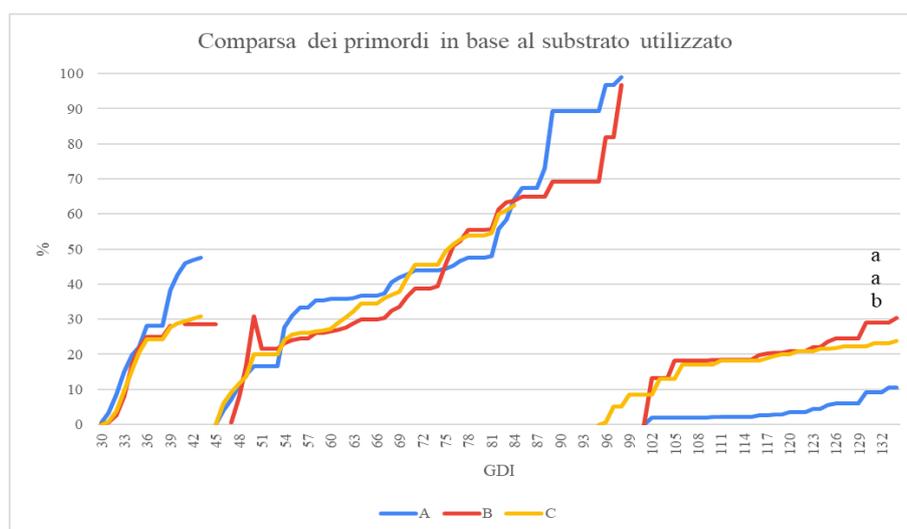


Figura 33 - Effetto del substrato di coltivazione sulla produzione di primordi suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05).

## 4.4. Analisi morfo-ponderali

### 4.4.1. Produzione

La capacità produttiva in termini di peso dei corpi fruttiferi è stata normalizzata in funzione dei kg di substrato. In figura 34 sono riportati i valori medi relativi alla produzione media, confrontando i tre miceli e i due substrati. Per tutti e tre i miceli il livello produttivo nella prima volata è risultato essere statisticamente non significativo con una produzione media di 0,187 kg/kg substrato.

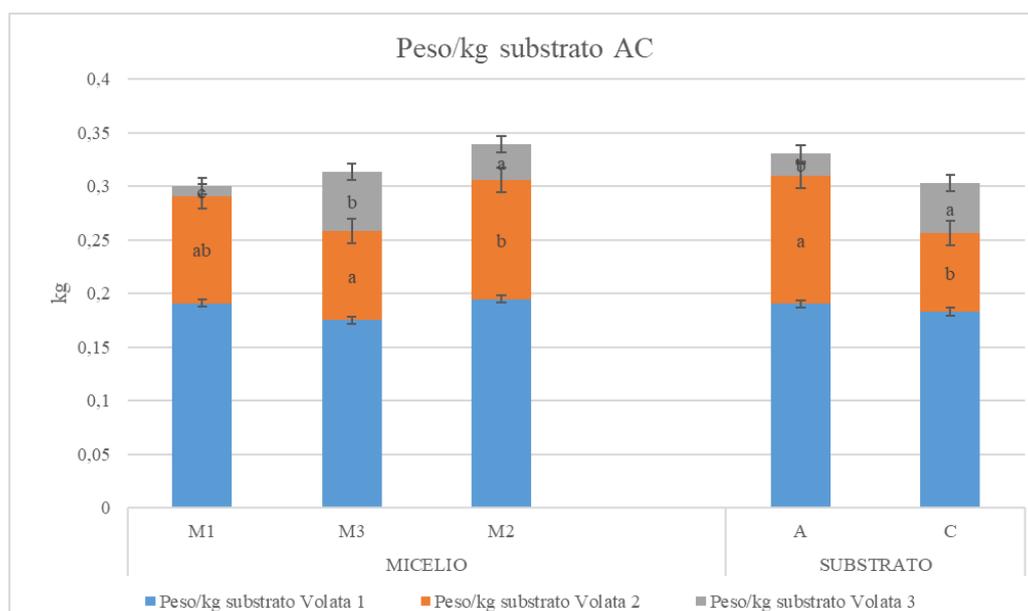


Figura 34 - Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sulla produzione totale e suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

La seconda volata è stata statisticamente differente tra i tre miceli e il micelio 2 è stato caratterizzato da una maggiore performance produttiva contrariamente al micelio 3 che ha espresso la minore produttività; il micelio 1 si è assestato su valori intermedi. Nella terza volata la produzione media è stata statisticamente diversa per tutti e tre i miceli. Il micelio 3 ha fornito le migliori risposte con un valore medio di 0,056 kg/kg, mentre il micelio 1 è risultato il meno produttivo (-83%). La produzione media relativa a tutto il ciclo produttivo ha visto in ordine decrescente il micelio 2 (0,339 kg/kg substrato) il micelio 3 (0,314 kg/kg substrato) ed infine il micelio 1 (0,300 kg/kg substrato).

Per quanto concerne i substrati, la produzione nella prima volata è stata statisticamente non differente con 0,187 kg/kg substrato. Il substrato A nella seconda volata si è dimostrato il maggiormente produttivo (0,119 kg/kg substrato) mentre nella terza volata il substrato C ha manifestato una produzione maggiore con 0,047 kg/kg substrato. La produzione media relativa a

tutto il ciclo produttivo ha visto il substrato A maggiormente produttivo con un valore medio di 0,33 kg/kg substrato mentre il substrato C con un valore medio di 0,30 kg/kg substrato.

La figura 35 riporta i valori relativi alla produzione media confrontando i due miceli e i tre substrati. Nella prima volata il livello produttivo è stato statisticamente differente tra i due miceli in cui il micelio 1 ha avuto una maggior capacità produttiva con valore medio pari a 0,207 kg/kg substrato. La seconda volata è risultata statisticamente non differente con un valore medio di 0,09 kg/kg substrato. Nella terza volata il micelio 2 è stato maggiormente produttivo rispetto al micelio 1 del 68%. La produzione media dell'intero ciclo produttivo è stata di 0,313 kg/kg substrato per il micelio 3 e di 0,305 kg/kg substrato per il micelio 1.

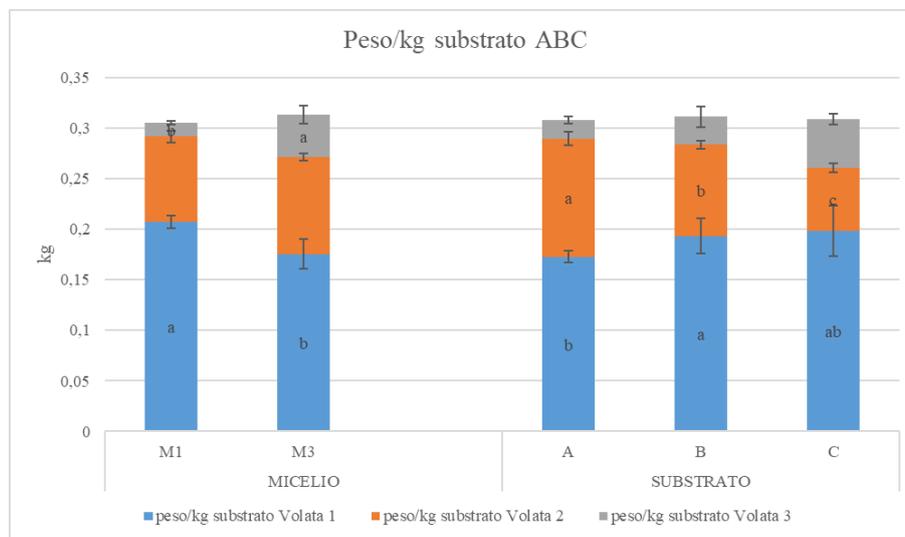


Figura 35 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sulla produzione totale e suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Nella prima volata i substrati si sono dimostrati statisticamente differenti poiché il substrato B è stato il maggiormente produttivo, il substrato A meno produttivo, il substrato C si è collocato in una via intermedia tra i due. Nella seconda volata si è osservato che i tre i substrati sono stati statisticamente differenti: il substrato A è stato il più produttivo, con un valore medio pari a 0,117 kg/kg substrato, il substrato C il meno produttivo, con una variazione percentuale pari al -46%, il substrato B ha riportato un valore centrale. I livelli di produzione della terza volata sono risultati statisticamente non significativi. La produzione media totale per i tre i substrati è stata molto simile, con un valore medio è di 0,309 kg/kg substrato

#### 4.4.2. Numero famiglie per sacco

Come riportato in figura 36 il numero di famiglie prodotte per sacco nella prima volata, in base al diverso tipo di micelio, è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a

20,18. In seconda volata i miceli 1 e 2 si sono dimostrati maggiormente produttivi e statisticamente non differenti, con un valore medio di 13,33. Nella terza volata il micelio 3 si è classificato come quello maggiormente produttivo (5,19) mentre il micelio 2 è stato il meno produttivo (3,23), il micelio 1 è risultato statisticamente non differente dal micelio M3.

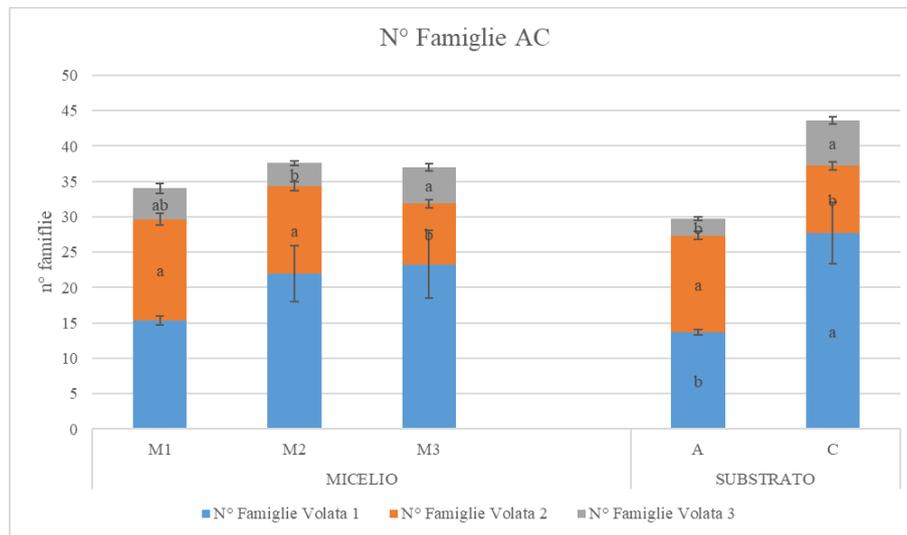


Figura 36 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul numero di famiglie prodotte totali e suddivise per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ( $p$ -value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Nella prima volata il substrato C è stato il più produttivo, con un valore medio di 27,71 famiglie/sacchetto e il substrato A è stato del 50% meno produttivo. Nella seconda volata è emerso che il substrato A si è rivelato maggiormente produttivo, con un valore medio pari a 13,68 e il substrato C ha avuto un valore medio pari a 9,52. In terza volata il numero di famiglie è risultato statisticamente differente e il substrato maggiormente produttivo è stato il substrato C. Complessivamente il numero medio di famiglie prodotte è risultato maggiore per il substrato C, con un valore medio di 43,63 rispetto al substrato A che ha sviluppato un numero di famiglie pari a 29,77.

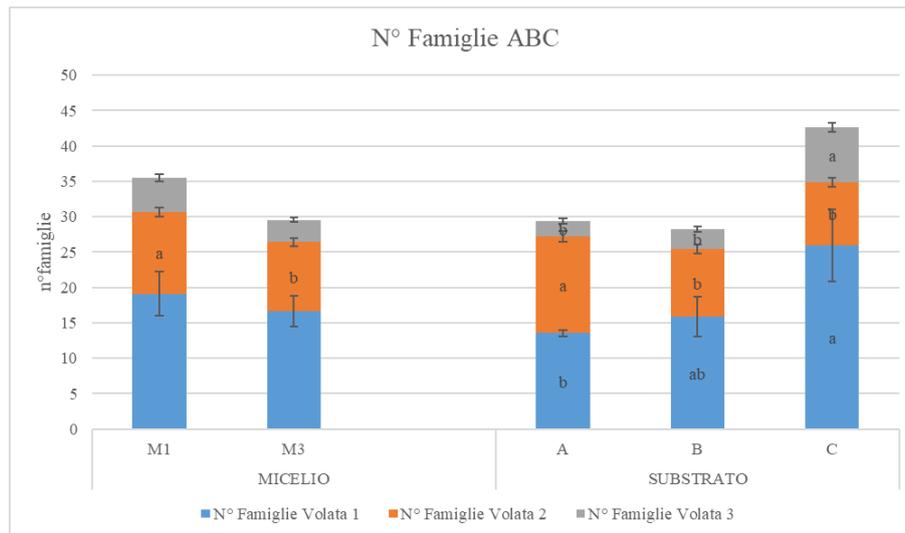


Figura 37 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul numero di famiglie prodotte totali e suddivise per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ( $p\text{-value} < 0,05$ ) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Il numero di famiglie prodotte (Fig. 37) nella prima volata in base al diverso tipo di micelio è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a 10,69. In seconda volata il micelio 1 è risultato maggiormente produttivo, mentre la terza volata non si è dimostrata statisticamente differente, con un valore medio di 3,96.

Analizzando il numero di famiglie prodotte in funzione dei substrati utilizzati, la prima volata è risultata statisticamente differente poiché il substrato C si è osservato essere maggiormente produttivo. Il substrato A è stato il meno produttivo e il substrato B non si è dimostrato statisticamente differente da entrambi. In seconda volata il substrato A ha sviluppato migliori performance produttive, i substrati B e C non hanno riportato differenza statistiche, con una media di 9,20 famiglie. In terza volata il substrato maggiormente produttivo è risultato il substrato C, con un valore medio di 7,8 mentre il substrato A e B sono stati statisticamente non differenti, dimostrando una capacità produttiva inferiore del 68%. Complessivamente il substrato C ha sviluppato una maggiore produttività.

#### 4.4.3. Numero corpi

La figura 38 riporta i valori relativi al numero di corpi fruttiferi. In prima volata il micelio meno produttivo è stato M3 mentre M1 e M2 si sono dimostrati statisticamente non differenti. Nella seconda volata il micelio 2 è risultato maggiormente produttivo mentre i miceli 3 e 1 non hanno riportato differenza statistica tra le medie. In terza volata i miceli più produttivi sono stati M3 e M2 risultando statisticamente non differenti mentre M1 ha prodotto una minor quantità di corpi

fruttiferi. Per quanto concerne i substrati per tutte e tre le volate quello maggiormente produttivo è risultato il substrato C.

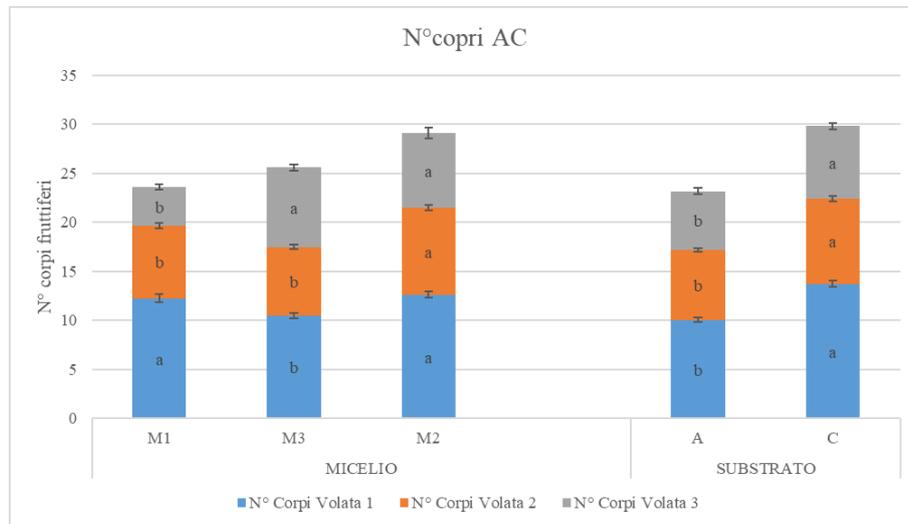


Figura 38 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul numero di corpi per famiglia totali e suddivisi per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Come riportato in figura 39 il numero di corpi fruttiferi prodotti in prima e seconda volata è stato statisticamente differente tra i miceli, in entrambe le volate il micelio 1 ha avuto una produzione maggiore. In terza volata il micelio 3 ha dimostrato maggiori performance produttive.

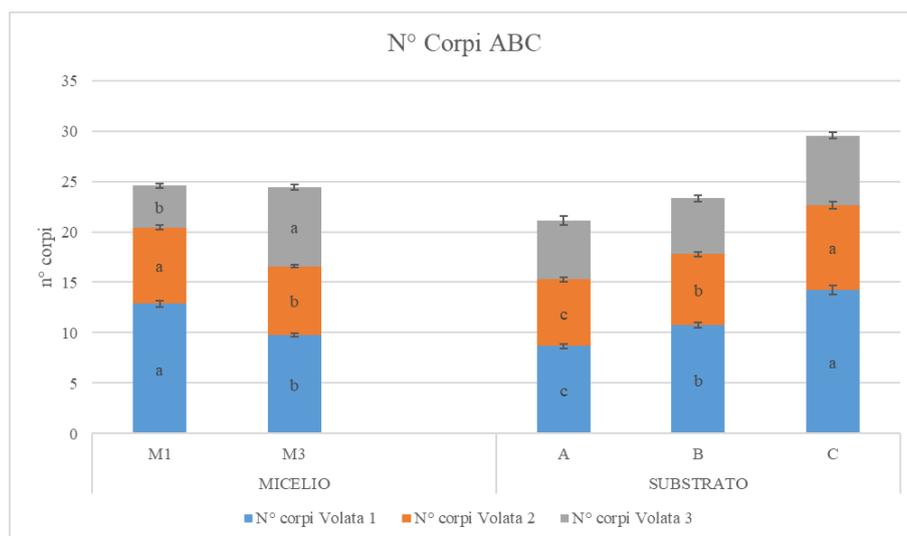


Figura 39 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul numero di corpi per famiglia totali e suddivisi per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Per quanto riguarda i substrati, in prima e seconda volata sono risultati statisticamente differenti, essendo stato il substrato C il maggiormente produttivo e il substrato A il meno produttivo. La terza volata non si è rivelata statisticamente differente, con un valore medio pari a 6,12.

#### 4.4.4. Diametro corpi fruttiferi

Il diametro (Fig. 40) in prima volata è risultato statisticamente differente per tutti i miceli, che in ordine decrescente si sono classificati come M2, M3 e M1. Nella seconda volata i miceli 1 e 3 si sono dimostrati statisticamente non differenti e hanno sviluppato un diametro maggiore, mentre la terza volata ha visto M2 ed M3 riportare un diametro maggiore rispetto a M1. In M2 e M3 si può notare come con il procedere delle volate il diametro medio aumenti.

Per quanto riguarda i substrati in figura 40 è riportato come in tutte e tre le volate il substrato A abbia avuto un diametro medio maggiore. Inoltre, si può notare come il diametro medio per entrambi i substrati sia aumentato con l'avanzare delle volate.

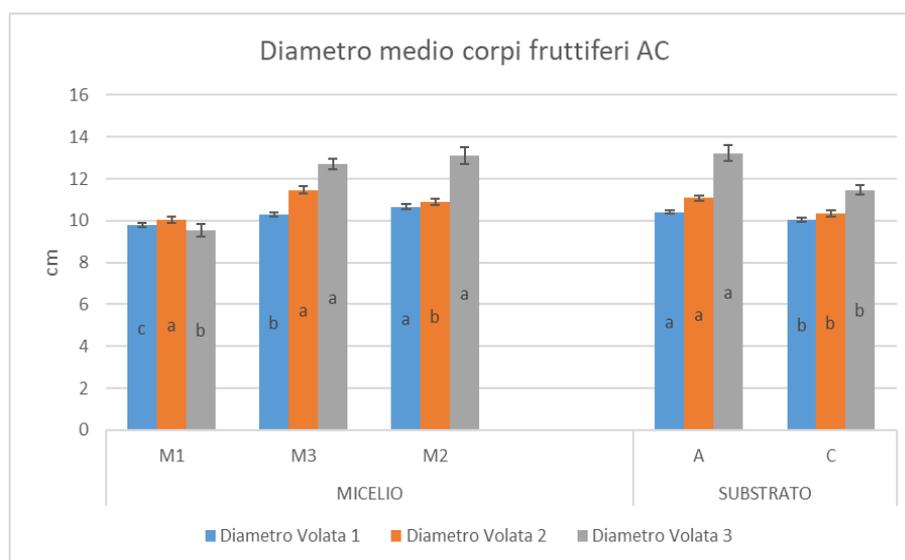


Figura 40 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul diametro medio dei corpi fruttiferi suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ( $p$ -value < 0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

In figura 41 si evidenzia come in tutte e tre le volate il micelio 3 abbia prodotto corpi fruttiferi con un diametro maggiore rispetto al micelio 1.

Per quanto riguarda i substrati, in prima e seconda volata i substrati A e B sono risultati statisticamente non differenti e hanno sviluppato un diametro maggiore rispetto al substrato C. Nella terza volata i tre substrati non si sono dimostrati statisticamente significativi riportando un valore medio pari a 11,47 cm.

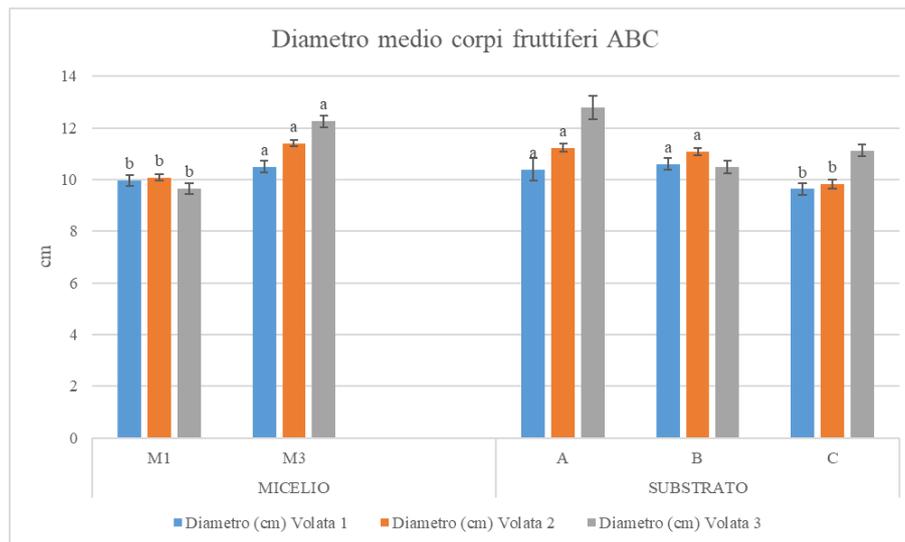


Figura 41 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul diametro medio dei corpi fruttiferi suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ( $p$ -value < 0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

#### 4.4.5. Spessore corpi fruttiferi

La figura 42 evidenzia come lo sviluppo dello spessore dei corpi fruttiferi sia variato a seconda della volata. In prima volata i miceli 1 e 3 si sono dimostrati statisticamente non differenti e hanno riportato il valore maggiore pari a 4,99 mm. In seconda volata il micelio 1 ha prodotto lo spessore maggior e il micelio 2 lo spessore minore, mentre il micelio 3 risulta statisticamente non differente da entrambi i miceli. Nella terza volata tutti e tre i miceli sono statisticamente differenti ed in ordine decrescente si trova M2, M3 e M1. I substrati, come riportato in figura 42, sono statisticamente differenti in tutte e tre le volate ed il substrato A risulta essere quello che produce corpi fruttiferi con uno spessore maggiore. Come riportato in figura 43 la prima volata è risultata statisticamente non differente tra i due miceli con un valore medio pari a 5,11 mm, mentre nella seconda il micelio 1 ha sviluppato uno spessore medio maggiore. In terza volata lo spessore medio più elevato è stato prodotto da M3, pari a 4,74 mm. Per quanto concerne ai substrati, la prima volata è stata statisticamente non differente per tutte e tre le tipologie di substrato. La seconda volata ha visto come substrato con valore più elevato il substrato A, quello con il valore più basso il substrato B, mentre il substrato C è risultato statisticamente non differente da entrambi. In terza volata i substrati con migliori performance sono stati i substrati A e B, con un valore medio di 4,76 mm, mentre il substrato C ha riportato una differenza media di spessore di 0,9 mm.

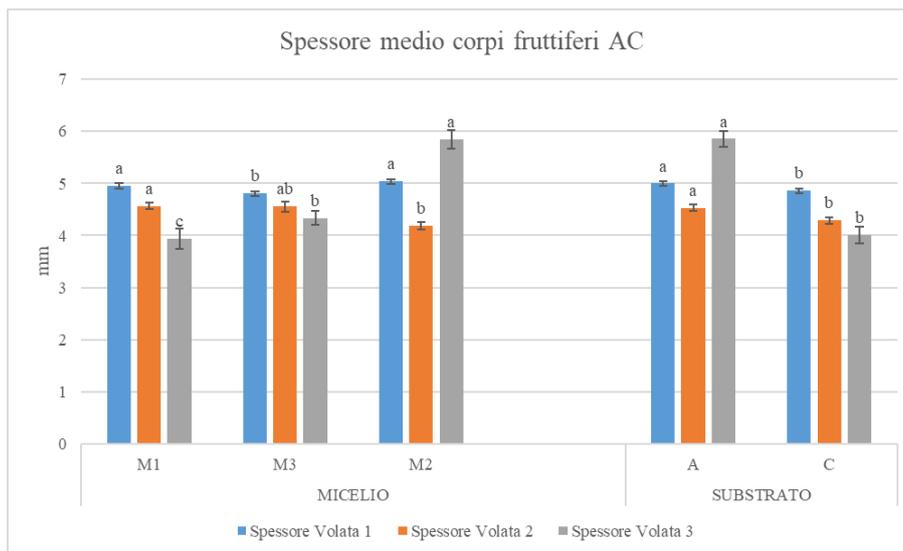


Figura 42 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sullo spessore medio dei corpi fruttiferi suddivisi per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

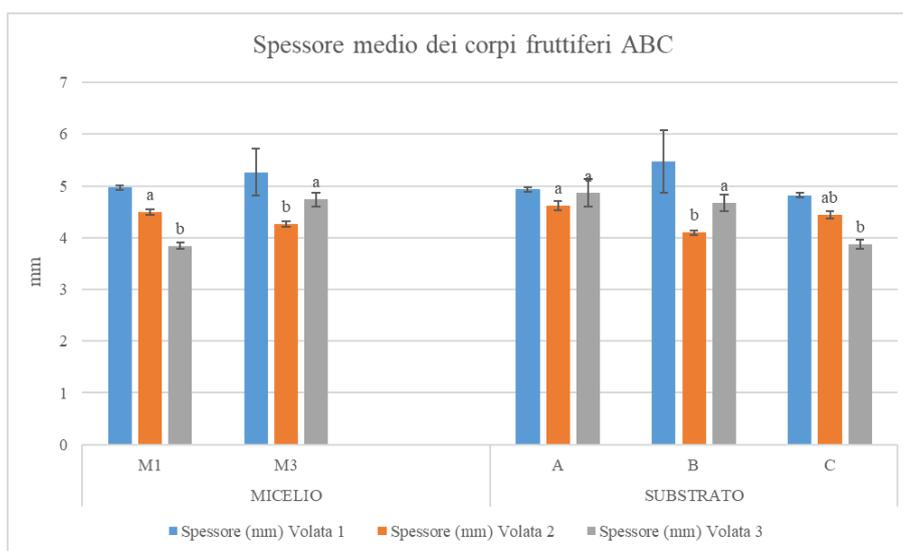


Figura 43 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sullo spessore medio dei corpi fruttiferi suddivisi per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

#### 4.4.6. Valore L\*

In figura 44 sono riportati i valori L\*, in prima volata i miceli si sono assestati in ordine decrescente come M1, M2 e M3. Nella seconda e terza volata i miceli maggiormente tendenti al grigio sono stati M2 e M3 che sono risultati statisticamente non differenti, mentre M1 ha riportato valori più contenuti.

I substrati in prima volata si sono dimostrati statisticamente non differenti con un valore medio pari a 58,05. Sia per la seconda che per la terza volata il substrato A ha raggiunto valori più elevati, assumendo una colorazione più tendente al grigio.

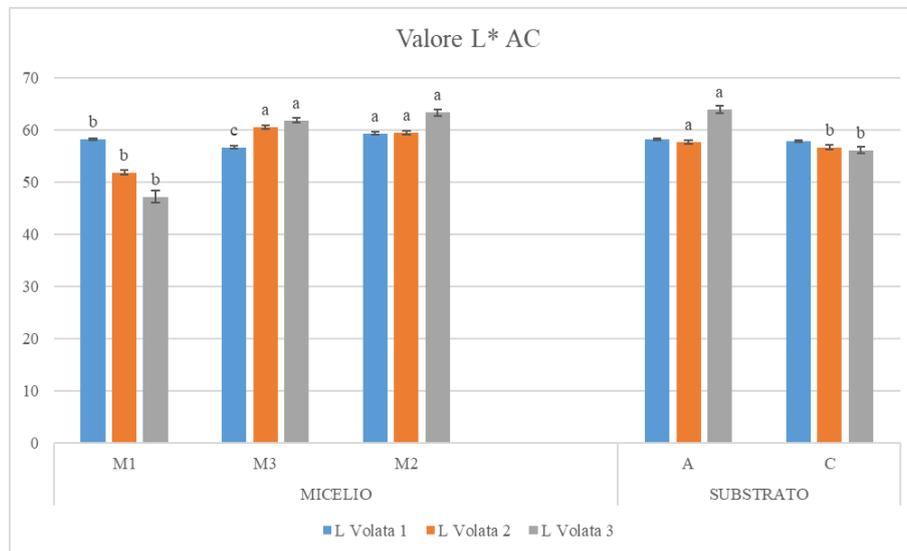


Figura 44 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul valore L\* suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ( $p$ -value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

La figura 45 riporta che in prima volata i miceli sono stati statisticamente non differenti, in seconda volata M1 ha riportato valori inferiori, mentre in terza volata M1 è risultato avere una gradazione colorimetrica più tendente al grigio rispetto a M3.

I substrati non hanno riportato differenze statistiche in prima volata, in seconda volata il substrato B ha riportato i valori più elevati, il substrato C i più bassi e il substrato A quelli intermedi. In terza volata il substrato A è risultato differente con valori medi pari a 102,42, mentre i substrati B e C hanno riportato valori che non differiscono statisticamente, con un valore medio di 56,55.

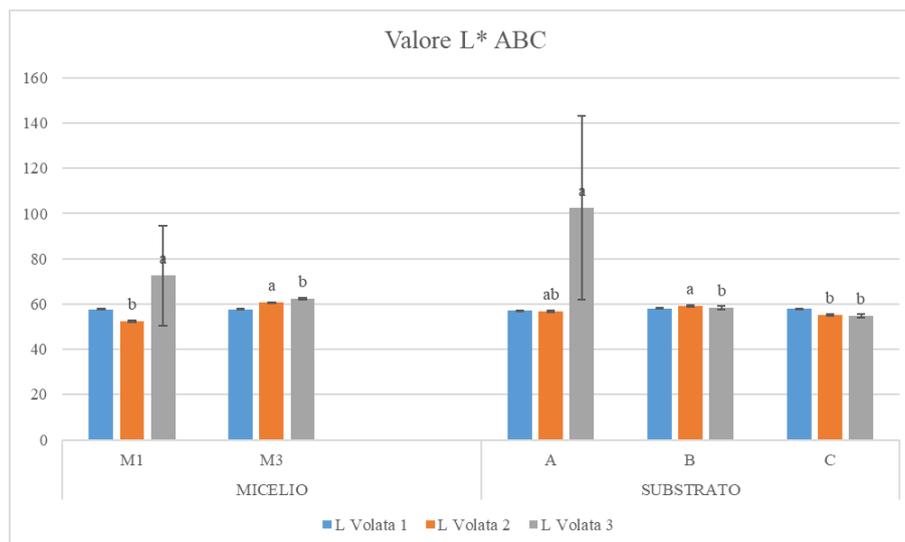


Figura 45 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul valore L\* suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

#### 4.4.7. Valori a\*

Il parametro a\* (Fig. 46) ha riportato valori che in prima volata non differiscono statisticamente tra M1 e M3 ed hanno sviluppato un valore medio di 3,11, mentre M2 ha assunto un valore più basso, pari a 2,96. In seconda e terza volata M1 ha raggiunto valori più elevati, mentre M2 e M3 in entrambe le volate non sono stati statisticamente differenti e hanno sviluppato valori più bassi, dimostrando così una gradazione tendente al verde. Per quanto concerne i substrati, nelle prime due volate il substrato A ha riportato valori più elevati rispetto al substrato C, situazione che si è invertita nella terza volata in cui il substrato C ha raggiunto valori marcatamente più elevati, quindi una colorazione più tendente al rosso.

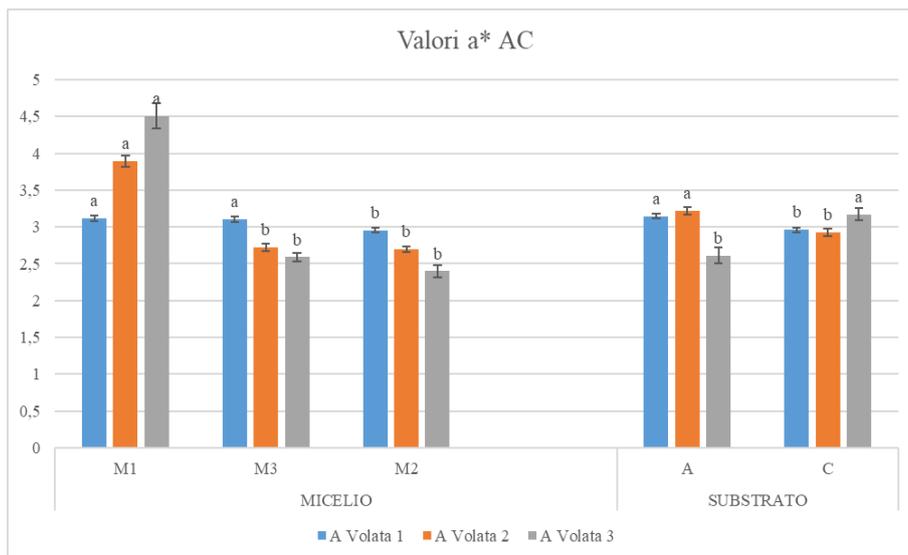


Figura 46 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul valore a\* suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Come riportato in figura 47 i miceli sia in prima che in terza volata sono risultati statisticamente non differenti, con valore medio di 3,26 in prima volata e 3,67 in terza. In seconda volata M1 ha riportato valori incisivamente più elevati rispetto a M3, assumendo così una colorazione tendente più al rosso. I diversi tipi di substrato non hanno differito statisticamente sia in prima che in terza volata. In seconda volata il substrato A ha raggiunto valori più elevati mentre i substrati B e C non sono stati statisticamente differenti tra di loro, riportando valori più contenuti.

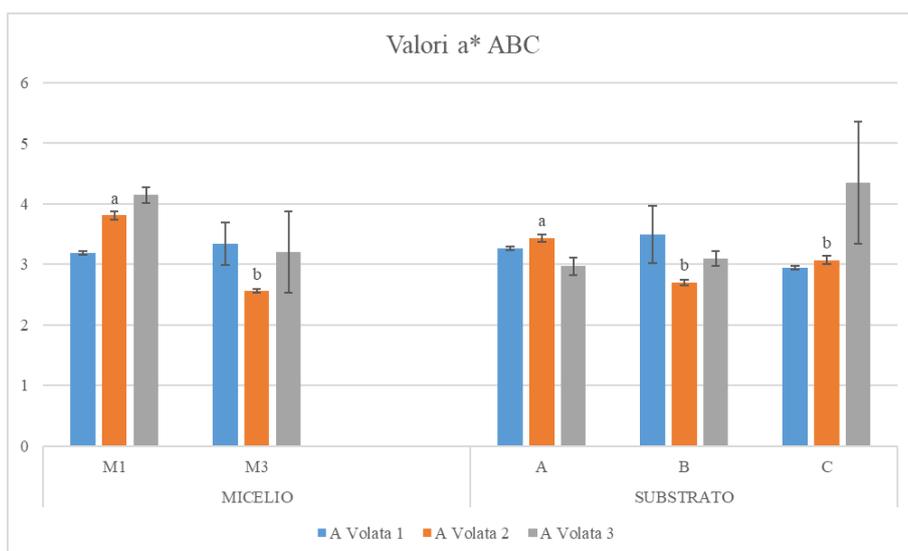


Figura 47 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul valore a\* suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

#### 4.4.8. Valori b\*

In figura 48 è riportato come le medie dei diversi miceli relative al valore b\* in prima volata risultino statisticamente differenti tra loro e M1 riporta il valore più elevato mentre M3 il valore più basso. In seconda volata il micelio con il valore più elevato è M1 mentre quello con il valore più basso è M2, M3 si colloca tra i due poiché risulta statisticamente non differente da entrambi. La terza volata M1 ha i valori massimi mentre M2 e M3 non differiscono statisticamente. Per quanto riguarda i substrati in tutte e tre le volate il substrato A risulta essere quello con i valori più elevati dimostrando così di possedere una gradazione colorimetrica più tendente giallo.

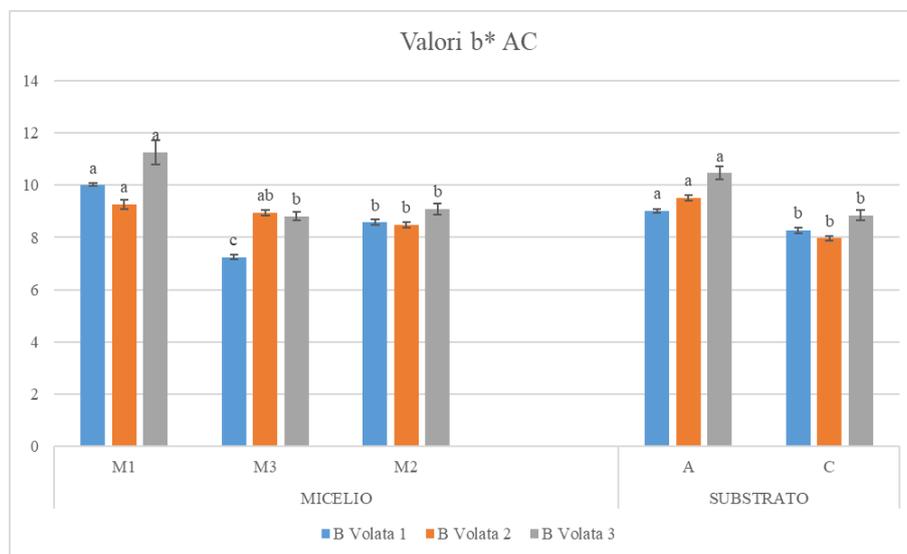


Figura 48 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul valore b\* suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ( $p$ -value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

In figura 49 si evidenzia che il micelio 1 ha dimostrato valori relativi al parametro b\* del colorimetro maggiori in prima volata. In seconda volata i due miceli non sono stati statisticamente differenti, mentre in terza volata il micelio A ha raggiunto valori marcatamente più elevati rispetto al micelio 3. I substrati nelle tre volate hanno avuto comportamenti statisticamente differenti. In prima volata i substrati B e C non hanno differito statisticamente, ottenendo valori più bassi rispetto al substrato A. In seconda volata tutti e tre i substrati sono stati statisticamente differenti, il substrato A ha riportato i valori più elevati, mentre il substrato C valori più bassi. Nella terza volata i substrati A e B non hanno differito statisticamente, riportando valori più elevati.

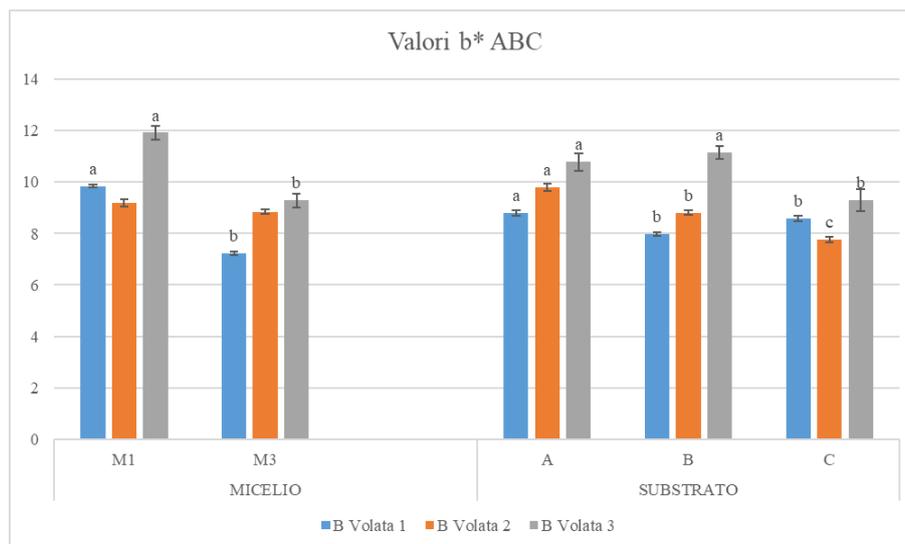


Figura 49 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul valore b\* suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

## 4.5. Efficienza biologica ed efficienza del substrato

### 4.5.1. Efficienza Biologica

I dati relativi alla produzione hanno consentito di ricavare l'efficienza biologica, quest'ultima viene intesa come “la produzione di biomassa fresca di *P. ostreatus* ottenuto da 100 g di substrato secco. Come riportato in figura 50 l'interazione substrato micelio che ha riportato una maggior efficienza biologica è risulta A-M2 con valori del 115%, i valori ottenuti dal substrato C invece non sono stati statisticamente differenti e hanno riportato un valore medio pari a 110%. Il valore più basso si è riscontrato nell'interazione A-M1, pari al 90%, mentre A-M3 ha registrato valori intermedi pari a 98%. I dati riportati in figura 51 dimostrano che i gradi di efficienza biologica tra i diversi trattamenti non sono stati statisticamente differenti ed il valore medio riscontrato è stato pari a 99,46%.

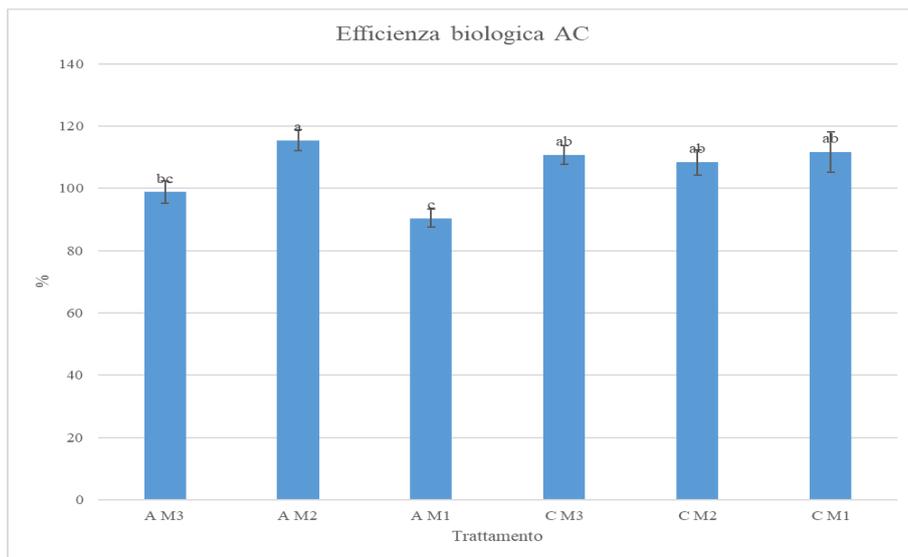


Figura 50 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sull'efficienza biologica totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

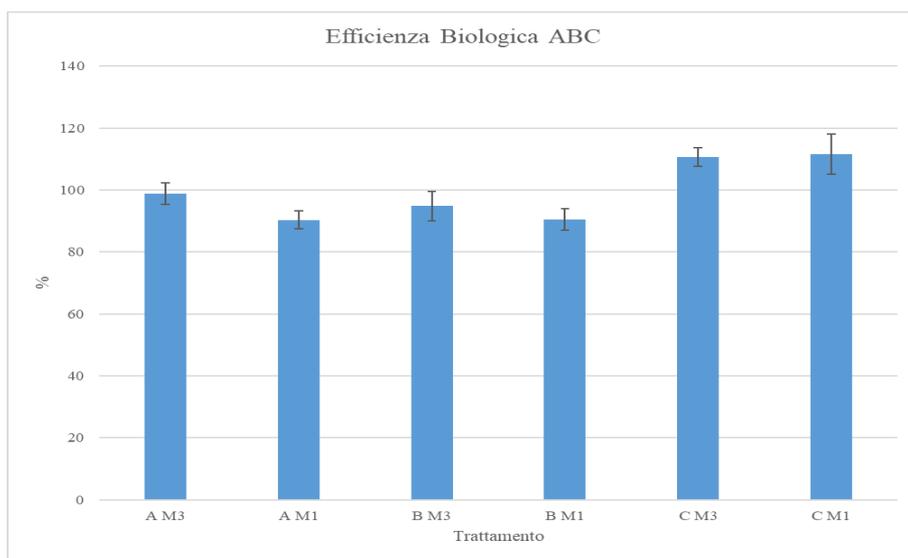


Figura 51 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sull'efficienza biologica totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

#### 4.5.2. Efficienza del substrato

I dati ottenuti dalla produzione hanno consentito di ricavare l'efficienza del substrato, calcolata come prodotto percentuale della divisione della produzione totale sui kg di peso fresco del substrato.

Come riportato in figura 52 il trattamento A-M2, con valore medio uguale a 37,6 %, si è dimostrato quello con migliori performance produttive, mentre tutti gli altri trattamenti sono risultati statisticamente non differenti tra di loro, con un valore medio pari a 30,5%.

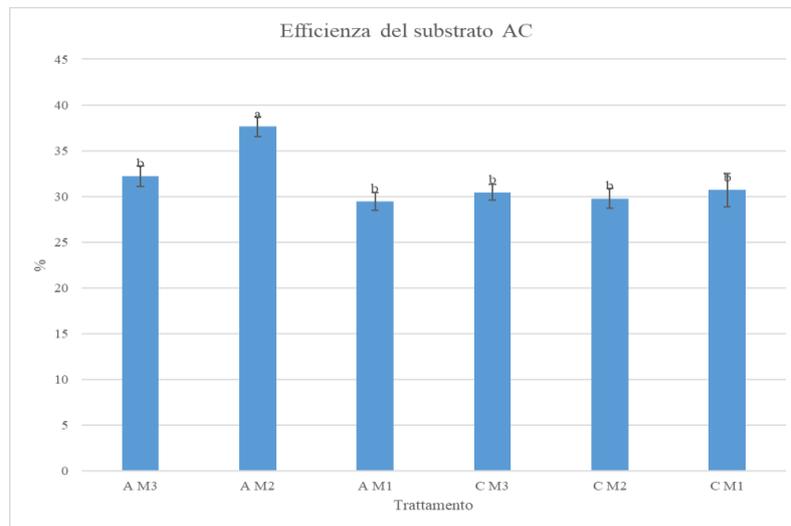


Figura 52 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sull’efficienza del substrato totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l’errore standard.

La figura 53 illustra i valori relativi all’efficienza biologica media ottenuta su tutto il ciclo produttivo. Tutti i trattamenti valutati sono risultati statisticamente non differenti, con un valore medio pari a 30,6%.

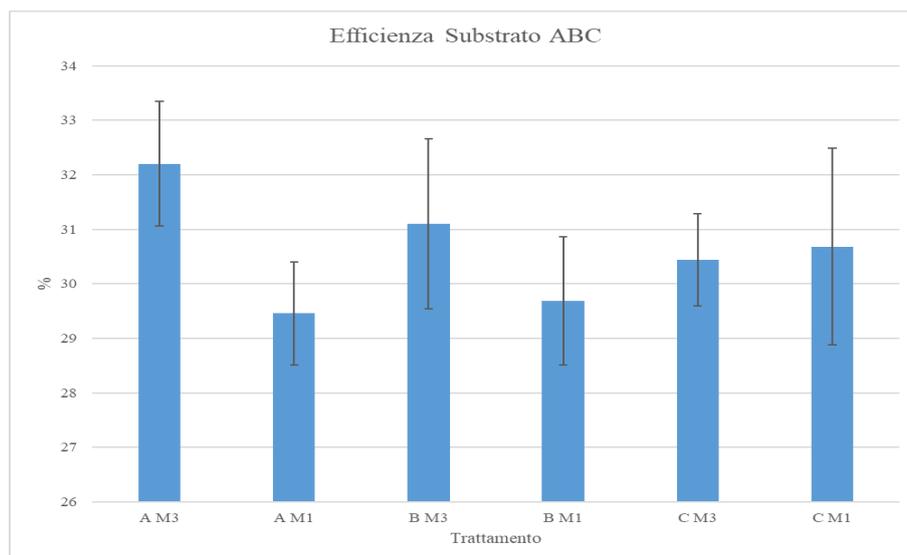


Figura 53 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sull’efficienza del substrato totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l’errore standard.

#### 4.6. Analisi qualitative

Nella tabella 6 i valori di pH sono risultati statisticamente differenti, solo in seconda volata il substrato A ha riportato un valore più elevato. La conducibilità elettrica non è stata statisticamente differente a parte nella prima e terza volata, in cui in entrambe il substrato A ha raggiunto valori più elevati. Il parametro relativo all'acidità titolabile si è dimostrato statisticamente differente nella prima volata, in cui il micelio 1 ha riportato il valore più elevato e il micelio 3 il più basso. La sostanza secca non risulta statisticamente differente né tra i miceli né tra i substrati, a parte nella seconda volata in cui i miceli 2 e 3 hanno ottenuto un valore maggiore (8,11 %) rispetto al micelio 1 (7,1 %).

Tabella 6 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sui parametri qualitativi (pH, conducibilità elettrica, solidi solubili, acidità titolabile e sostanza secca) del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05).

	<b>PH</b>	<b>CONDUCIBILITÀ ELETTRICA</b>	<b>SOLIDI SOLUBILI</b>	<b>ACIDITÀ TITOLABILE</b>	<b>SOSTANZA SECCA</b>
		mS/cm	°Brix	mg ac. citrico/100 ml	%
<b>VOLATA 1</b>					
<b>SUB. A</b>	6,282	3,193 <b>a</b>	3,193	3,878	8,135
<b>SUB. C</b>	6,214	2,612 <b>b</b>	2,612	3,489	8,105
<b>MICELIO 1</b>	6,227	2,998	2,998	3,817 <b>a</b>	7,794
<b>MICELIO 2</b>	6,280	2,728	2,728	3,533 <b>b</b>	8,397
<b>MICELIO 3</b>	6,238	2,982	2,982	3,700 <b>ab</b>	8,233
<b>VOLATA 2</b>					
<b>SUB. A</b>	6,326 <b>a</b>	3,400	3,400	3,389	7,725
<b>SUB. C</b>	5,932 <b>b</b>	2,601	2,601	2,689	7,996
<b>MICELIO 1</b>	6,112	2,888	2,888	2,417	7,100 <b>b</b>
<b>MICELIO 2</b>	6,187	3,087	3,087	3,467	8,120 <b>a</b>
<b>MICELIO 3</b>	6,088	3,026	3,026	3,233	8,108 <b>a</b>
<b>VOLATA 3</b>					
<b>SUB. A</b>	6,289	4,647 <b>a</b>	4,647	3,400	6,974
<b>SUB. C</b>	6,433	3,589 <b>b</b>	3,589	3,711	7,397
<b>MICELIO 1</b>	6,367	3,977	3,977	3,750	6,854
<b>MICELIO 2</b>	6,400	4,852	4,852	3,233	7,322
<b>MICELIO 3</b>	6,327	3,905	3,905	3,133	7,578

In tabella 7 sono riportati i valori relativi alle analisi qualitative. Il pH non ha riportato variazioni statisticamente differenti sia per il micelio che per il substrato nelle varie volate. La conducibilità elettrica è risultata statisticamente differente solo nel substrato della prima volata in cui la tipologia A ha raggiunto il valore più elevato mentre il substrato C quello più basso, il substrato B non è differito statisticamente da entrambi. L'acidità titolabile è variata nel substrato della seconda volata, in cui il substrato B ha riportato i valori più elevati, mentre il substrato A quelli più bassi. La sostanza secca dei corpi fruttiferi ha ottenuto valori differenti in prima volata in funzione del micelio, in cui M3 ha riportato valori più elevati rispetto a M1. In seconda volata sia il micelio che il substrato sono risultati statisticamente differenti. Per quanto riguarda il substrato la tipologia B ha raggiunto valori più elevati la A i più bassi. Per quanto riguarda il micelio, M3 ha riportato valori percentuali più elevati rispetto a M1. In terza volata i substrati sono risultati statisticamente differenti, il substrato A ha ottenuto un valore maggiore rispetto al substrato B e C, che non hanno differito statisticamente.

Tabella 7 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sui parametri qualitativi (pH, conducibilità elettrica, solidi solubili, acidità titolabile e sostanza secca) del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05).

	PH	CONDUCIBILITÀ ELETTRICA	SOLIDI SOLUBILI	ACIDITÀ TITOLABILE	SOSTANZA SECCA
		mS/cm	°Brix	mg ac. citrico/100 ml	%
<b>VOLATA 1</b>					
SUB. A	6,272	3,408 <b>a</b>	4,083	1,008	8,186
SUB. B	6,348	2,950 <b>ab</b>	3,800	0,863	8,504
SUB. C	6,193	2,572 <b>b</b>	3,433	0,843	7,833
MICELIO 1	6,309	3,112	3,778	0,958	7,899 <b>b</b>
MICELIO 3	6,233	2,841	3,767	0,851	8,483 <b>a</b>
<b>VOLATA 2</b>					
SUB. A	6,338	3,162	2,967	0,565 <b>b</b>	7,288 <b>c</b>
SUB. B	5,978	2,781	3,433	1,144 <b>a</b>	9,020 <b>a</b>
SUB. C	5,862	2,752	2,683	0,905 <b>ab</b>	8,122 <b>b</b>
MICELIO 1	6,097	2,788	2,789	0,776	7,658 <b>b</b>
MICELIO 3	6,022	3,009	3,267	0,967	8,467 <b>a</b>
<b>VOLATA 3</b>					
SUB. A	6,272	4,388	3,467	0,748	7,078 <b>b</b>

SUB. B	6,160	3,918	3,117	0,912	8,758 <b>a</b>
SUB. C	6,412	3,113	3,967	0,904	7,016 <b>b</b>
MICELIO 1	6,217	3,540	4,033	0,934	7,068
MICELIO 3	6,346	4,073	3,000	0,775	8,013

## 4.7. Analisi antiossidanti totali e fenoli totali

### 4.7.1. Antiossidanti totali

La capacità antiossidante (Fig. 52) in base al micelio non ha differito statisticamente in alcuna volata, ponendo un valore medio nella prima volata di 625,1, nella seconda volata di 728,6 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup> e nella terza volata di 1042,6 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>. Risulta interessante valutare come ci sia stata una costante crescita per tutti e tre i miceli e per tutte le volate. Sia la prima che la seconda volata, in funzione dei substrati, non sono risultate statisticamente differenti, la prima volata si è assestata con un valore medio pari a 621,38 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup> e la seconda volata ponendo un valore medio di 720,23 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>. In terza volata il substrato A ha raggiunto valori più elevati rispetto al substrato B del 25%.

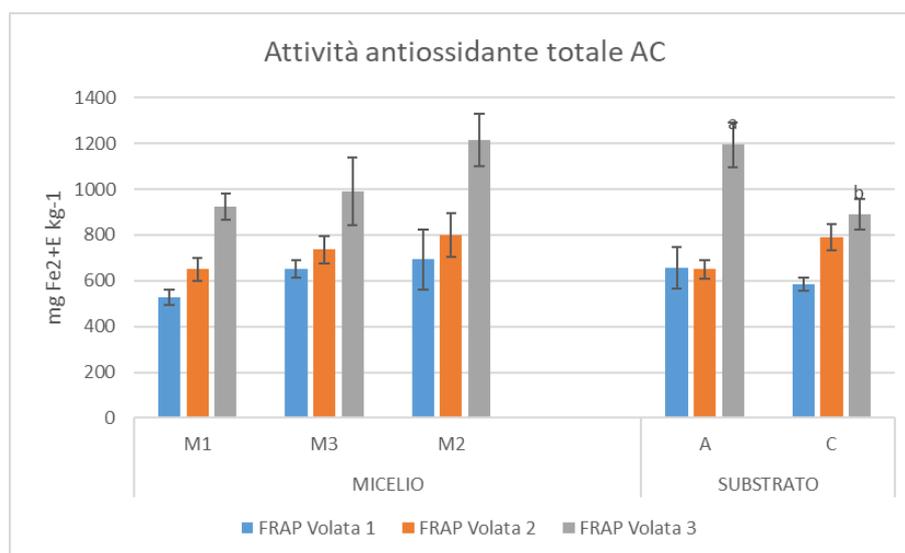


Figura 52 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sulla attività antiossidante totale suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

Come riportato in figura 53 il contenuto di antiossidanti prodotto in funzione del micelio non è stato statisticamente differente per tutte e tre le volate. La prima volata ha ottenuto un valore medio di 930,61 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>, la seconda volata di 693,73 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>, mentre in terza volata di 954,29 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>. Anche per i substrati in nessuna volata la differenza è stata significativa, la prima

volata ha riportato un valore medio di 927,41 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>, in seconda volata di 694,46 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>, mentre in terza volata di 954,29 mg Fe<sup>2+</sup>E kg<sup>-1</sup>.

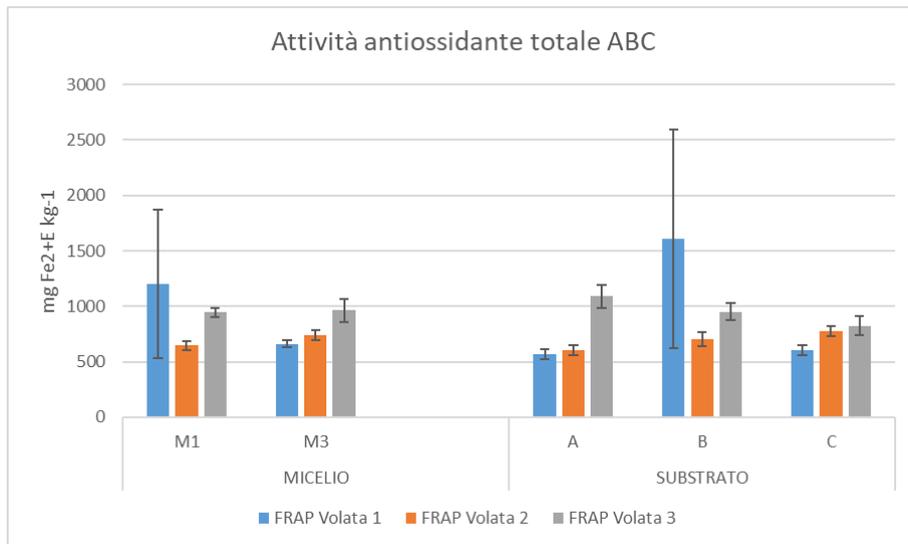


Figura 53 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sulla attività antiossidante totale suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value < 0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

#### 4.7.2. Fenoli totali

Il contenuto dei fenoli totali (Fig. 54) valutato in funzione del micelio non è risultato statisticamente differente per alcuna volata e i valori sono prossimi tra loro anche tra le diverse volate. Per quanto concerne i substrati nessuna volata si è dimostrata statisticamente differente ponendo un valore medio pari a 2616,28 mg GAE kg<sup>-1</sup>.

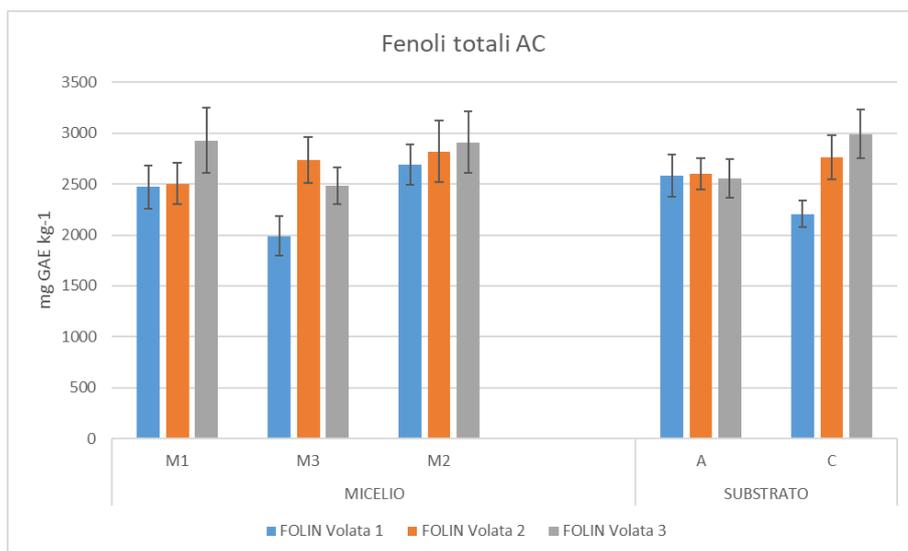


Figura 54 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul contenuto di fenoli totali suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

In figura 55 sono riportati i valori relativi al contenuto di fenoli totali nei corpi fruttiferi, il micelio non ha riportato una differenza statistica tra le diverse volate avendo così un valore medio pari a 2809,24 mg GAE kg<sup>-1</sup>. Considerando i substrati, questi non hanno dimostrato una differenza statistica tra le diverse volate trovando così un valore medio di 2811,75 mg GAE kg<sup>-1</sup>.

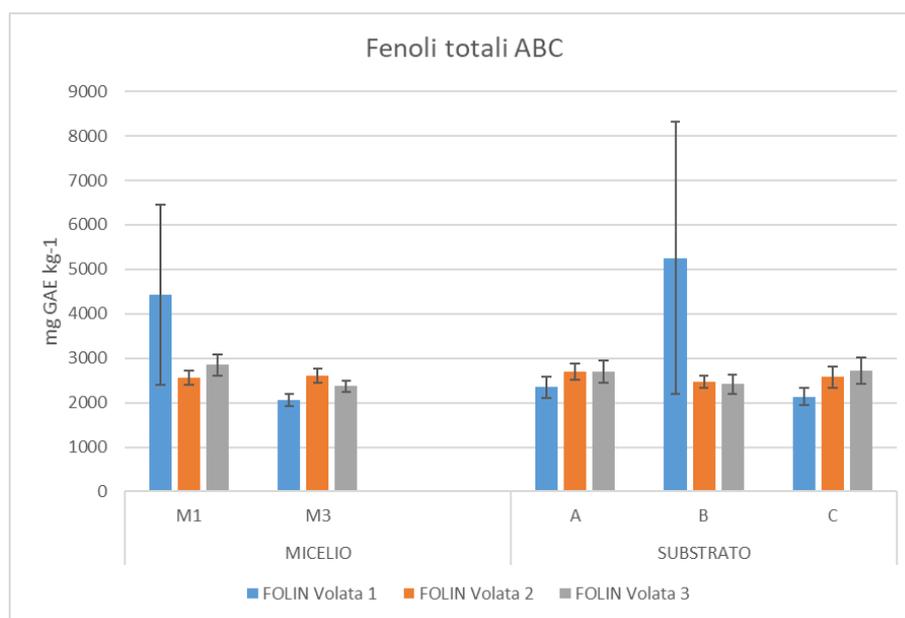


Figura 55 – Effetto del micelio e del substrato di coltivazione sul contenuto di fenoli totali suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value<0,05) e la barra di errore rappresenta l'errore standard.

## 5. Discussione

### 5.1. Parametri climatici

Durante la fase di incubazione la temperatura massima raggiunta è stata di 20°C, valore probabilmente troppo basso per garantire una rapida colonizzazione del substrato da parte del micelio. Questo è ulteriormente confermato dal fatto che solamente M1, micelio più adatto a vivere con temperature più basse, ha anticipato la produzione rispetto agli altri. Come riportato da Jang et al (2003) la temperatura ottimale di crescita è compresa tra i 13 e i 16 °C. Analizzando i dati del presente studio si può verificare che le temperature in fase di coltivazione, comprese tra 10-15°C, rientrano all'interno dei range consigliati in letteratura. Nonostante ciò, M2 e M3 hanno probabilmente risentito delle temperature troppo basse poiché hanno avuto uno sviluppo lento e ritardato. Inoltre, con l'aumento delle temperature avuto durante la fase terminale del ciclo M2 e

M3 hanno dimostrato un vantaggio nella produzione di primordi. In conclusione, possiamo affermare che la temperatura ambientale è un parametro che deve essere adattato al tipo di micelio utilizzato e che nel presente studio la temperatura mantenuta in fase di incubazione e nella fase di coltivazione sia stata troppo bassa, ciò ha favorito principalmente il M1. Nello studio di Jang et al (2003) è indicato che l'umidità minima del 80% è la migliore condizione di crescita. In base ai dati ottenuti dal presente studio si può verificare come l'umidità durante il ciclo produttivo sia stata mantenuta a valori del 100%, tranne durante i primi 30 GDI in cui i valori erano più bassi. Nonostante i valori fossero più alti ciò non ha comportato alcun danno alla coltivazione. Come indicato in letteratura l'intensità luminosa ottimale per la crescita di *P. ostreatus* è compresa fra 200 e 300 lux (Bandura et al., 2021; Sahu et al., 2020). Rispetto a questo parametro i risultati ottenuti sono molto altalenanti e poco precisi, il valore medio è al di sotto dei 100 lux. Probabilmente l'andamento poco costante è dovuto al fatto che durante la raccolta venivano accese le luci interne per permettere agli operatori di vedere meglio, questo portava a numerosi sbalzi di luminosità. Nonostante questo, non si sono verificate problematiche relative alla carenza di luce sulla produzione. La concentrazione ottimale di anidride carbonica per la coltivazione di funghi e per l'ottenimento di una buona morfologia del corpo fruttifero è pari a 3000 ppm (Jang et al., 2003), valore notevolmente più elevato rispetto a quelli misurati in fungaia, dove dopo una prima fase di picco, dove si sono raggiunti i 1000 ppm, la concentrazione si è ridotta stabilizzandosi a 500 ppm. L'andamento della concentrazione è attribuibile alla crescita del micelio poiché nella prima fase di incubazione la crescita, e con essa la respirazione, è dirompente. Successivamente però i valori tendono a calare fino ad assestarsi e mantenersi stabili durante tutta la coltivazione. Si può affermare che una concentrazione minore sia dovuta ad una maggiore areazione della fungaia, nonostante ciò, non si sono riscontrate problematiche nella produzione e nella morfologia dei corpi fruttiferi.

## **5.2. Substrati**

L'andamento delle temperature rilevate nei substrati è stato mediamente simile tra i diversi trattamenti. Durante la prova sperimentale le temperature più elevate si sono raggiunte durante la fase centrale dell'incubazione con una media di poco inferiore ai 30°C. Questo è riconducibile al momento di massima attività di crescita del micelio, che, come visto nel paragrafo precedente, è stato collocato in concomitanza con il picco di produzione della CO<sub>2</sub>. Per ogni tipologia di substrato a metà volata si è verificato un leggero picco delle temperature, anche in questo caso questo è riconducibile alla ripresa dell'attività vegetativa del micelio espressa in ogni volata.

In tutti i trattamenti durante la terza volata la temperatura è aumentata, ciò è motivato anche dall'aumento delle temperature stagionali che hanno riportato valori compresi tra i 15 e i 20°C.

Confrontando le temperature medie prodotte dal micelio 1 e la produzione dei primordi di tale micelio, si può valutare che le due variabili sono direttamente collegate. Come riporta Hernandez et al (2003) una riduzione dell'attività termica dei substrati causa un rallentamento dell'attività biologica e di conseguenza un rallentamento nella comparsa dei primordi. Ciò accade anche in senso opposto, l'attività vegetativa può essere letta anche come rilascio di calore, infatti, all'aumentare della temperatura c'è un aumento nella crescita che si traduce in una maggior attività vegetativa. Considerando le fotografie termiche si può affermare che la porzione centrale e superiore dei sacchi contenenti il substrato è stata quella maggiormente interessata dalla crescita del micelio poiché in tutti i casi si è riscontrata una temperatura maggiore in quel punto. Questo nella parte superiore potrebbe essere dovuto ad una maggior concentrazione di ossigeno, che favorisce la crescita del micelio.

### **5.3. Primordi**

Valutando l'emergenza dei primordi in funzione del micelio utilizzato, in base ai dati ottenuti si può affermare che il tipo di micelio influenzi la produzione totale di primordi in tutte e tre le volate. La comparsa dei primordi nella prima volata è avvenuta a 30 GDI per M1 e M2 mentre al 35 GDI per M2. Questi valori si riscontrano anche nello studio di Muswati et al. (2021) in cui la comparsa dei primordi è avvenuta a 30 GDI come nel nostro caso, mentre sono stati notevolmente differenti dallo studio di Shah et al. (2004) in cui l'emergenza dei primordi è avvenuta a 24 GDI. Questa differenza può essere riconducibile principalmente alle diverse temperature mantenute in struttura che, come detto precedentemente, hanno condizionato l'emergenza dei primordi. In seconda volata M2 ha dimostrato delle ottime performance sia in termini di periodo di sviluppo che come percentuale di emergenza, con un risultato pari al 100%. Probabilmente ciò è dovuto a condizioni ambientali favorevoli, in particolare ad una temperatura più consona. Lo sviluppo ritardato e lento di M3, nelle prime due volate, si presume sia stato causato da condizione ambientali avverse o comunque da una scarsa vigoria del micelio. Ciò è deducibile poiché anche le temperature del micelio erano mediamente inferiori. In prima e seconda volata M1 ha ottenuto delle buone performance che sono diminuite drasticamente nella terza volata. Questo può essere riconducibile a condizioni ambientali più favorevoli per questa tipologia di micelio. La stessa ditta produttrice riporta che questo tipo di micelio dà maggiori risultati con temperature più basse. Ciò è stato ulteriormente confermato dal fatto che anche le temperature del substrato relative a M1 sono le più elevate, ad indicare una maggiore attività del micelio. In terza volata avendo temperature ambientali più elevate il micelio 1 ne ha sofferto e pertanto ha calato drasticamente la produzione. In terza volata si è avuta un'inversione di tendenza, M1 riporta il valore totale più basso e M3 il più alto. Questo comportamento può essere correlato al progressivo aumento delle temperature, dovuto all'avanzare

della stagione, che hanno creato delle condizioni più favorevoli per M3 ma meno favorevoli per M1. Inoltre, questa tendenza può essere riconducibile al fatto che nelle volate precedenti M3 non ha avuto una produzione elevata, ciò ha comportato una scarsa asportazione di nutrienti dal substrato, che ha permesso al micelio di avere più nutrienti disponibili in terza volata rispetto agli altri miceli. In conclusione, per ogni micelio l'emergenza dei primordi è stata in accordo con i dati presenti in bibliografia (Shah et al., 2004; Muswati et al., 2021). M1 ha avuto ottime performance che sono drasticamente calate in terza volata, probabilmente a causa dell'aumento delle temperature e del depauperamento del substrato. M2 ha mantenuto una buona produzione nelle tre volate. La bassa produzione di M3, soprattutto nelle prime due volate, probabilmente è stata causata da temperature ambientali troppo basse. Si può quindi affermare che il tipo di micelio condiziona la produzione totale dei primordi e che a sua volta è condizionato dalle temperature ambientali e che in funzione del periodo di coltivazione è conveniente utilizzare miceli che meglio si adattano alle temperature presenti. Nel presente studio, il micelio che ha avuto performance migliori è stato M2 poiché ha mantenuto delle ottime performance durante tutto il ciclo produttivo.

Dai dati ottenuti dal presente studio si può affermare che il substrato non incide nella produzione dei primordi. Questo è confermato poiché sia in prima che in seconda volata i substrati non differiscono tra di loro nella produzione di primordi ed anche lo sviluppo di quest'ultimi è abbastanza simile. In terza volata, però, i substrati hanno differito statisticamente, questo indica che hanno influenzato la produzione di primordi. Si può presupporre che ciò sia dovuto al fatto che il contenuto di nutrienti sia differente e che quindi il substrato B e C abbiano avuto una maggior dotazione o disponibilità di nutrienti che ha portato ad una produzione più elevata di primordi.

#### **5.4. Analisi morfo-ponderali**

Diversi studi riportano come la prima volata sia sempre la più produttiva in termini di peso e che la resa tenda a diminuire tra le volate successive (Oseni et al., 2012; Sharma et al., 2013; Girmay et al., 2016) infatti per tutti i trattamenti le singole volate riportavano una decrescente capacità produttiva. Questo è dovuto ad una fisiologica perdita di vigore del micelio.

Come riporta Sharma et al. (2013) e Bilal et al. (2014) il tipo di substrato può influenzare la resa totale e della singola volata; infatti, i valori riportati negli altri studi svolti differiscono statisticamente in funzione della miscela di substrato utilizzata. La resa media in prima volata con substrato formato da una miscela di paglia di riso e paglia di frumento è pari a 191 g/kg substrato, mentre in seconda volata è pari a 117 g/kg substrato (Sharma et al., 2013). Questi valori non si discostano particolarmente da quelli trovati nel presente studio in funzione della produzione in base al tipo di substrato, in cui la prima volata era sempre maggiore in termini di produzione e le successive volate registravano un calo via via più marcato. Si può affermare che in funzione del tipo

di substrato utilizzato la produzione totale e la produzione delle singole volate cambi, avendo sempre un calo tra una volata e l'altra. Per quanto riguarda la capacità produttiva in funzione del micelio i dati presenti in bibliografia sono relativi a studi eseguiti su piastra Petri per cui non confrontabili con il nostro studio. Nonostante questo, dai dati rilevati ed analizzati possiamo affermare che in funzione del tipo di micelio la produzione tra le singole volate sia differente quindi che il micelio abbia avuto una influenza sulla capacità produttiva tra le singole volate. Questa diversa capacità produttiva è probabilmente dovuta alle condizioni ambientali che hanno favorito un micelio rispetto agli altri due, ciò è ulteriormente confermato sapendo che le rese delle diverse volate sono variate nel tempo. In alcuni casi si è presentata una inversione di tendenza in cui i miceli più produttivi poi sono diventati quelli con una produzione più bassa, ciò significa che il micelio risente molto delle condizioni climatiche. Ulteriore motivazione può essere che ciò è derivante dal fatto che M1 ha sfruttato maggiormente il substrato durante le prime due volate ottenendo così un substrato troppo povero di nutrienti per la terza volata. Per quanto riguarda la produzione totale invece non sembra che il micelio abbia un effetto significativo poiché i dati rilevati non riportano una differenza statisticamente significativa in termini di produzione.

Purtroppo, in bibliografia non sono presenti articoli che studino l'andamento del numero di famiglie dei diversi substrati e miceli. Si può affermare però che il numero di famiglie prodotte possa variare in funzione della volata, ciò è confermato poiché la capacità produttiva in termini di numero di famiglie è calata con il susseguirsi delle volate. Per quanto riguarda il micelio possiamo affermare che questo influenzi la produzione delle famiglie nelle singole volate. Durante la prima volata non c'è stata differenza tra i diversi miceli, ciò può essere dovuto al fatto che tutti i miceli hanno avuto un'elevata vigoria, che con il passare delle volate è diminuita. Nelle volate successive alla prima i vari miceli hanno dimostrato una diversa produttività, ciò può essere dovuto al fatto che i miceli hanno avuto una diversa capacità nel mantenimento della produzione di famiglie durante il ciclo di coltivazione, anche in relazione alle condizioni climatiche che possono condizionare la produttività. Questo parametro va contestualizzato con la resa, così da valutare quale micelio abbia prodotto di più anche in termini di qualità, confrontando il numero delle famiglie, il numero dei corpi e le dimensioni dei corpi fruttiferi. In tal caso si è evidenziato come M2 abbia avuto una resa più elevata ed un elevato numero di famiglie con dimensioni maggiori, pertanto ha riportato anche una elevata qualità commerciale. I risultati dello studio dimostrano come il substrato abbia influenzato notevolmente la produzione di famiglie sia in base alla volata che alla produzione totale, poiché tutti i substrati hanno avuto un diverso comportamento in tutte e tre le volate.

È noto come il numero di corpi fruttiferi possa variare a seconda della volata, con comportamento decrescente, e in base al tipo di substrato (Yildiz et al., 2002; Shah et al., 2004), comportamento

presente anche nel presente studio. Infatti, in tutte le volate la capacità produttiva in termini di numero di corpi fruttiferi è stata differente, con ciò possiamo affermare che il numero di corpi fruttiferi è calato tra le volate durante il ciclo di produzione. Secondo molti studi (Yildiz et al., 2002; Shah et al., 2004; Girmay et al., 2016) la tipologia del substrato influenza il numero di corpi prodotti per famiglia. Negli studi presi in esame venivano considerati substrati molto diversi tra loro, per tipologia di componente principale, ma i risultati di tali studi sono in accordo con i risultati trovati nella presente sperimentazione. Si può quindi affermare che il tipo di substrato incida sul numero di corpi fruttiferi prodotti, probabilmente ciò è dovuto al contenuto di nutrienti, essendo sempre lo stesso substrato a produrre più corpi fruttiferi nelle diverse volate. Dai risultati ottenuti è possibile affermare che anche il tipo di micelio ha influenzato il numero di corpi prodotti. Ciò è confermato dalla differente capacità produttiva in termini di corpi fruttiferi tra i diversi miceli per la stessa volata. Tendenzialmente il micelio ha mantenuto le stesse performance produttive, in termini di numero di corpi fruttiferi, durante le diverse volate. Si può ipotizzare che questa differenza sia riconducibile alle condizioni ambientali poiché M2 risulta essere il micelio che ha portato il numero medio più elevato di corpi fruttiferi per famiglia, oltre ad avere una produzione più elevata e delle dimensioni medie maggiori.

È noto come il diametro dei corpi fruttiferi cambi in funzione della stagione in cui avvengono le volate poiché le temperature hanno una azione diretta nel diametro dei corpi fruttiferi; infatti, all'aumentare delle temperature aumenta il diametro dei corpi fruttiferi. Anche uno scarso livello di illuminazione influenza negativamente le dimensioni del diametro (Yildiz et al., 2002; Hoa et al., 2015; Girmay et al., 2016; Yildiz et al., 2002). I risultati del presente studio sono in accordo con quelli presenti in letteratura poiché per quasi tutti i trattamenti si è potuto notare che il diametro tende a crescere durante il ciclo produttivo. Questo è dovuto alla stagione in cui è stata effettuata la sperimentazione, che comprende il periodo tra fine inverno e primavera, avendo quindi un aumento di temperature e di luminosità che comporta un aumento generale del diametro dei corpi. Il presente studio riporta che il tipo di substrato ha avuto effetto sul diametro dei corpi fruttiferi, tali risultati sono stati ulteriormente confermati dal fatto che i substrati hanno mantenuto sempre le stesse performance durante il ciclo produttivo. I risultati ottenuti sono in accordo con altri studi che riportano che il diametro è influenzato dal tipo di substrato utilizzato. (Hoa et al., 2015; Yildiz et al., 2002). Per quanto riguarda il micelio non esistono dati in letteratura rappresentativi di una reale condizione di coltivazione poiché gli studi vengono svolti in soluzioni di agar su piastra Petri. Analizzando quindi i dati del presente studio possiamo affermare che la tipologia di micelio abbia influenzato il diametro dei corpi fruttiferi e che i miceli maggiormente adattati a temperature più elevate sono riusciti ad avere risultati migliori. Relativamente allo spessore medio dei corpi

fruttiferi esistono pochi studi in letteratura per cui analizzando i risultati ottenuti dal nostro esperimento possiamo affermare che le volate non hanno influenzato particolarmente lo spessore poiché i dati rilevati sono stati discontinui tra le volate. I substrati hanno riportato differenze nelle diverse volate e con ciò si può affermare che la tipologia di substrato ha influito sullo spessore del corpo fruttifero. Per quanto riguarda i miceli questi si sono comportati in maniera differente in funzione della volata, da ciò si può quindi dedurre che anche la tipologia di micelio ha influenzato lo spessore dei corpi fruttiferi.

Come riportato da Marino et al. (2003) la temperatura e la luminosità influiscono sulla colorazione dei corpi fruttiferi. Il valore  $L^*$  riportato nel presente studio è cambiato in funzione del tipo di substrato utilizzato, poiché si è evidenziato come nella seconda e terza volata il substrato ha permesso di variare la luminosità del prodotto. Dal presente studio possiamo affermare che il tipo di micelio abbia una ricaduta sulla chiarezza del corpo fruttifero. Questo è confermato dal fatto che i miceli hanno ottenuto risultati statisticamente differenti per questo parametro. Il valore  $a^*$  è variato in maniera significativa in funzione del micelio e si è riscontrata una differenza solo in seconda volata. Si può quindi ipotizzare che il tipo di substrato abbia influenzato questo parametro anche se purtroppo non sono presenti studi che possano motivare questo cambiamento. Dai risultati ottenuti dal presente studio si può affermare che il valore  $a^*$  sia stato influenzato e possa variare in funzione del micelio. Questo si può dedurre dal fatto che i miceli hanno avuto caratteristiche costanti nelle volate. In base ai dati raccolti il valore medio di  $b^*$  è pari a 9,11 e c'è stata una differenza significativa tra i diversi substrati. Dai risultati ottenuti dal presente studio possiamo affermare che il valore  $b^*$  sia stato direttamente correlato al tipo di micelio utilizzato e che quindi in funzione del micelio la pigmentazione possa variare. In conclusione, mediante i dati forniti dal presente studio si può affermare che il tipo di micelio abbia influenzato direttamente la colorazione dei corpi fruttiferi, per cui in base al micelio utilizzato la colorazione del fungo può cambiare. Il substrato ha influenzato la colorazione ma non essendo presenti studi in letteratura che motivino questo comportamento si può ipotizzare che questa influenza sia correlata al contenuto e tipologia di nutrienti di cui sono dotati.

## **5.5. Efficienza biologica ed efficienza del substrato**

Come riportato da Mahbuba et al. (2010) i diversi ceppi di *Pleurotus Ostreatus* rispondono in modo diverso ai tipi di substrato in funzione delle caratteristiche di questi ultimi. La miscelazione dei substrati può contribuire all'ottimizzazione dei caratteri compositivi come capacità di ritenzione idrica, aumento della struttura del substrato e porosità (Hòa et al., 2015; Muswati et al., 2021). Queste qualità migliorano la penetrazione dell'acqua e lo scambio gassoso e un rapporto

C:N ottimale migliora l'efficienza dei substrati contribuendo così ad aumentare la resa e di conseguenza l'efficienza biologica (Hòa et al., 2015; Muswati et al., 2021). Come riportato da Wiafe-Kwagyan et al. (2022), esiste un elevato coefficiente di correlazione tra lunghezza del gambo, diametro dei corpi fruttiferi ed efficienza biologica. Questo è giustificato dal fatto che all'aumentare di questi due parametri aumenta la resa e di conseguenza il peso che agisce in maniera diretta sull'efficienza biologica.

I risultati del presente studio hanno riportato valori estremamente più elevati rispetto ai valori presenti in letteratura. Secondo Shah et al. (2004) il valore di efficienza biologica trovato in substrato di paglia di frumento era pari a 44.72%, valore sensibilmente inferiore rispetto alla media del presente studio che sfiorava il 100% ed in alcuni casi ha toccato valori del 115%. Nello studio di Sharma et al. (2013) i valori dei diversi substrati erano comunque più bassi rispetto a quelli della presente analisi, la quale ha inoltre confermato come il tipo di substrato ha influito sull'efficienza biologica.

Per quanto concerne l'efficienza del substrato, si può affermare che anche questa sia correlata al tipo di substrato utilizzato e al micelio, poiché la differenza con l'efficienza biologica è riconducibile alla formula utilizzata in cui viene considerato il peso fresco e non quello relativo alla sostanza secca. Ciò è confermato dal fatto che anche i risultati, seppur con ordini di grandezza diversi, abbiano avuto lo stesso andamento.

## **5.6. Analisi qualitative**

Per quanto riguarda il pH i valori riscontrati nel presente studio si trovano in linea con quelli presenti in letteratura (Villaescusa et al., 2003), poiché il valore medio è pari a 6,25. Tale valore non risulta cambiare né in funzione del substrato né delle volate.

La conducibilità elettrica media osservata dal presente studio è pari a 3,36 mS/cm, valore che risulta essere in accordo con quelli presenti in letteratura. La conducibilità elettrica non è sembrata essere correlata al tipo di micelio o al tipo di substrato utilizzato poiché non è risultata statisticamente differente tra i diversi trattamenti.

Per quanto concerne i solidi solubili il valore medio riscontrato è pari a 3,4 °Brix e si può affermare che non sia stato influenzato dal tipo di substrato o dal tipo di micelio, poiché i dati reperiti non sono differiti statisticamente. Tale valore è risultato inferiore rispetto al valore riscontrato da Villaescusa et al. (2003) pari a 5,1°Brix, e maggiore rispetto al valore medio pari a 1,5°Brix riscontrato da Kortei et al. (2017).

L'acidità titolabile, in base ai dati raccolti, non è sembrata variare in funzione del micelio e del substrato, tali risultati si sono assestati con quelli presenti in letteratura (Villaescusa et al., 2003).

Per quanto riguarda la percentuale di sostanza secca dei corpi fruttiferi i risultati del presente studio riportano come in alcuni casi questa può essere stata influenzata dal tipo di micelio. Queste sono ipotesi poiché l'andamento della sostanza secca non è stato costante e in alcuni casi non c'è stata differenza tra i diversi miceli.

### **5.7. Antiossidanti totali e fenoli totali**

Il contenuto di antiossidanti totali del presente studio ha riportato valori leggermente inferiori rispetto a quelli riportati da Keleş et al. (2011) ma ha rispecchiato quelli presentati da molti altri studi (González-Palma et al., 2016; Mihai et al., 2022).

Dai risultati ottenuti possiamo affermare che il micelio e il substrato non hanno avuto alcun effetto sulla produzione di antiossidanti, questo si evince poiché non c'è stata differenza tra i diversi trattamenti. Si può considerare però che il contenuto di antiossidanti è aumentato con il susseguirsi delle volate, questo comportamento è stato visto per tutti i trattamenti. Ciò è riconducibile al fatto che con l'avanzare del ciclo produttivo gli stress che subisce il micelio sono aumentati (temperature più elevate, perdita di vigore del micelio, ecc) quindi come risposta fisiologica il fungo ha aumentato il contenuto di antiossidanti.

Il contenuto di fenoli generalmente dipende da una moltitudine di fattori come i fattori genetici e ambientali: il ceppo dei funghi, la composizione del substrato, il tempo di raccolta, e le tecniche di gestione e preparazione dei substrati (Yıldız et al., 2017). I risultati del presente studio si sono dimostrati inferiori rispetto a quelli presentati da Vieira et al. (2013), poiché questi sono sempre superiori a 3000 mg GAE kg<sup>-1</sup>. Analizzando i risultati ottenuti possiamo affermare che il micelio ed il substrato non hanno avuto alcun effetto sulla produzione di antiossidanti, questo si evince poiché non c'è stata differenza tra i diversi trattamenti. Anche in questo caso, come per gli antiossidanti totali, si è potuto notare un leggero aumento di fenoli con il susseguirsi delle volate. Anche in questo caso ciò può essere attribuito al fatto che nel il susseguirsi delle volate gli stress subiti dal micelio sono aumentati e come risposta fisiologica c'è stato un incremento del contenuto di fenoli nel fungo.



## 6. Conclusioni

Il seguente studio ha permesso di approfondire le possibili problematiche relative alla coltivazione di *P. ostreatus* che ne limitano la produttività, la costanza e l'uniformità di produzione tra le diverse volate. Si sono analizzati i principali fattori che possono influenzare la produzione: la tipologia del micelio, il substrato di coltivazione, l'ambiente di coltivazione e i parametri climatici.

Valutando i dati climatici ottenuti si è notato come le temperature dei substrati e i livelli di anidride carbonica siano stati un ottimo indicatore per valutare la vigoria e l'attività vegetativa del micelio, anche se non è stato possibile utilizzarli per valutare quale trattamento avrà performance differenti. Lo sviluppo del micelio è stato fortemente condizionato dalle caratteristiche climatiche. La comparsa dei primordi è risultata altamente influenzata dal tipo di micelio. In questo caso M2 ha avuto performance migliori sia in termini di quantità che in termini di tempo, poiché per quasi tutti i trattamenti e in tutte le volate ha anticipato la produzione rispetto agli altri due miceli. La resa è stata condizionata sia dal substrato che dal tipo di micelio, in questo caso il substrato che ha avuto performance migliori è stato il substrato A mentre il micelio che ha avuto rese maggiori è risultato M2. Anche il numero di famiglie è stato influenzato dal micelio e dal substrato, in relazione a ciò il substrato che ha registrato il maggior numero di famiglie è il C mentre il micelio maggiormente produttivo è M2. I tipi di micelio e substrato, inoltre, hanno influenzato anche il numero di corpi fruttiferi per famiglia. In questo caso il substrato C ha prodotto più corpi fruttiferi rispetto agli altri substrati ed M2 ha prodotto un numero maggiore di corpi per volata rispetto agli altri miceli. Le dimensioni dei corpi fruttiferi, spessore e diametro, sono state particolarmente influenzate dal tipo di micelio. Nel caso del presente studio M2 ha ottenuto maggiori performance, quindi spessore e diametro maggiore.

Per quanto riguarda i parametri morfo-ponderali M2 è stato il micelio che ha avuto performance produttive migliori poiché ha avuto una resa elevata, un buon numero di famiglie con elevato numero di corpi e al contempo corpi fruttiferi di dimensioni elevate e quindi adatti alla vendita. L'efficienza biologica ha permesso di valutare quale trattamento abbia avuto una migliore efficienza nella produzione, da ciò si può affermare che la combinazione tra substrato A e M2 sia stata quella con il valore più alto pari a 115%.

Per quanto riguarda le caratteristiche qualitative il presente studio ha permesso di affermare che i trattamenti non hanno influito sui parametri qualitativi, quali: pH, conducibilità elettrica, solidi solubili, acidità titolabile e sostanza secca. Anche il contenuto di antiossidanti totali e fenoli totali non è stato condizionato dal substrato e dal micelio.

Concludendo, lo studio ha permesso di confermare che il micelio utilizzato ed il tipo di substrato hanno influenzato molteplici parametri morfo-ponderali, M2 è stato il micelio che ha avuto migliori performance produttive in termini quantitativi e qualitativi. La combinazione substrato A e micelio 2 ha permesso di ottenere un elevato valore di efficienza biologica, anche più elevato rispetto a molti studi presenti in letteratura.

Sviluppi futuri possono includere uno studio più dettagliato dei parametri che influenzano la crescita del micelio così da ottimizzarne lo sviluppo, non solo in termini produttivi ma anche in funzione della costanza e dell'uniformità di produzione. Inoltre, vista la capacità di adattamento al substrato, può essere interessante valutare quali scarti di produzione possono essere utilizzati come substrati al fine di ottimizzare la produzione e ridurre l'impatto ambientale.

## Bibliografia

- Ahmed, M., Abdullah, N., Ahmed, K. U., & Bhuyan, M. H. M. (2013). Yield and nutritional composition of oyster mushroom strains newly introduced in Bangladesh. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(2), 197-202.
- Akata, I., Ergönül, B., & Kalyoncu, F. (2012). Chemical compositions and antioxidant activities of 16 wild edible mushroom species grown in Anatolia. *International Journal of Pharmacology*, 8(2), 134-138.
- Alananbeh, K. M., Bouqellah, N. A., & Al Kaff, N. S. (2014). Cultivation of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* on date-palm leaves mixed with other agro-wastes in Saudi Arabia. *Saudi journal of biological sciences*, 21(6), 616-625.
- Arshid, P., Shagufta, S., Shah, M. M., Qaisar, M., & Nosheen, M. (2009). Assessing bioaccumulation of heavy metals in sporocarp of *Pleurotus ostreatus*. *World Applied Sciences Journal*, 7(12), 1498-1503.
- Baldrian, P., & Gabriel, J. (2002). Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus*. *FEMS Microbiology letters*, 206(1), 69-74.
- Bandura, I., Isikhuemhen, O. S., Kulik, A., Serdiuk, M., Sucharenko, O., Jukova, V., ... & Gaprindashvili, N. (2021). Effect of perforation size and substrate bag fruiting position on the morphology of fruiting bodies and clusters in *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 9(3), 3-0.
- Baysal, E., Peker, H., Yalinkiliç, M. K., & Temiz, A. (2003). Cultivation of oyster mushroom on waste paper with some added supplementary materials. *Bioresource technology*, 89(1), 95-97.
- Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., ... & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus spp.* *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633-646.
- Bilal, S., Mushtaq, A., & Moinuddin, K. (2014). Effect of different grains and alternate substrates on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. *African Journal of Microbiology Research*, 8(14), 1474-1479.

- Chang, S. T., & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press.
- Colavolpe, M. B., & Albertó, E. (2014). Cultivation requirements and substrate degradation of the edible mushroom *Gymnopilus pampeanus*—A novel species for mushroom cultivation. *Scientia Horticulturae*, *180*, 161-166.
- Deepalakshmi, K., & Sankaran, M. (2014). *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *Journal of Biochemical Technology*, *5*(2), 718-726.
- Eira, A. A., & Bueno, F. S. (2005). Cultivo de cogumelo Shimeji e Hiratake. *Viçosa: CPT*, 224p.
- Ferri, F. (1985). Bacterial diseases in fungi of the genus *Pleurotus*. *Mushroom Information*, *2*(9), 47-54.
- Girmay, Z., Gorems, W., Birhanu, G., & Zewdie, S. (2016). Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. *Amb Express*, *6*(1), 1-7.
- Godfrey, S. A. C., Harrow, S. A., Marshall, J. W., & Klena, J. (2001). Characterization by 16S rRNA sequence analysis of pseudomonads causing blotch disease of cultivated *Agaricus bisporus*. *Applied and Environmental Microbiology*, *67*(9), 4316-4323.
- González-Palma, I., Escalona-Buendía, H. B., Ponce-Alquicira, E., Téllez-Téllez, M., Gupta, V. K., Díaz-Godínez, G., & Soriano-Santos, J. (2016). Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. *Frontiers in microbiology*, *7*, 1099.
- Han, E. H., Hwang, Y. P., Kim, H. G., Choi, J. H., Im, J. H., Yang, J. H., ... & Jeong, H. G. (2011). Inhibitory effect of *Pleurotus eryngii* extracts on the activities of allergic mediators in antigen-stimulated mast cells. *Food and Chemical Toxicology*, *49*(6), 1416-1425.
- Hernández, D., Sánchez, J. E., & Yamasaki, K. (2003). A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Bioresource Technology*, *90*(2), 145-150.
- Hoa, H. T., Wang, C. L., & Wang, C. H. (2015). The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, *43*(4), 423-434.

- Jandaik, C. L., & Goyal, S. P. (1995). Farm and farming of oyster mushroom (*Pleurotus sp*). *Mushroom Production Technology (Eds. Singh, RP and Chaube, HS). GB Pant Univ. Agril. And Tech., Pantnagar India, 72-78.*
- Jang, K. Y., Jhune, C. S., Park, J. S., Cho, S. M., Weon, H. Y., Cheong, J. C., ... & Sung, J. M. (2003). Characterization of fruitbody morphology on various environmental conditions in *Pleurotus ostreatus*. *Mycobiology, 31(3), 145-150.*
- Kalac, P. (2012). Chemical composition and nutritional values of European species of wild growing mushrooms. *Mushrooms: Types, properties and nutritions. Inc., New York, 129-152.*
- Keleş, A., Koca, I., & Gençcelep, H. (2011). Antioxidant properties of wild edible mushrooms. *J Food Process Technol, 2(6), 1-6.*
- Kim, S. H., Jakhar, R., & Kang, S. C. (2015). Apoptotic properties of polysaccharide isolated from fruiting bodies of medicinal mushroom *Fomes fomentarius* in human lung carcinoma cell line. *Saudi journal of biological sciences, 22(4), 484-490.*
- Kortei, N. K., Odamtten, G. T., Obodai, M., Wiafe-Kwagyan, M., & Addo, E. A. (2017). Influence of low dose of gamma radiation and storage on some vitamins and mineral elements of dried oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). *Food Science & Nutrition, 5(3), 570-578.*
- Koutrotsios, G., Mountzouris, K. C., Chatzipavlidis, I., & Zervakis, G. I. (2014). Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi– Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food chemistry, 161, 127-135.*
- Laborde, J. (1995). Dossier Pleurote. *INRA, Centre de Recherches de Bordeaux, Station de Recherches sur les Champignons, Bordeaux, 17-18.*
- Li, S., & Shah, N. P. (2016). Characterization, antioxidative and bifidogenic effects of polysaccharides from *Pleurotus eryngii* after heat treatments. *Food Chemistry, 197, 240-249.*
- Li, W., Li, X., Yang, Y., Zhou, F., Liu, Y., Zhou, S., & Yu, H. (2015). Effects of different carbon sources and C/N values on nonvolatile taste components of *Pleurotus eryngii*. *International journal of food science & technology, 50(11), 2360-2366.*
- Marino, R. H., Eira, A. F. D., Kuramae, E. E., & Queiroz, E. C. (2003). Morphomolecular characterization of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) kummer strains in relation to luminosity and temperature of frutification. *Scientia Agricola, 60, 531-535.*

- Mihai, R. A., Melo Heras, E. J., Florescu, L. I., & Catana, R. D. (2022). The Edible Gray Oyster Fungi *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm a Potent Waste Consumer, a Biofriendly Species with Antioxidant Activity Depending on the Growth Substrate. *Journal of Fungi*, 8(3), 274.
- Moonmoon, M., Uddin, M. N., Ahmed, S., Shelly, N. J., & Khan, M. A. (2010). Cultivation of different strains of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) on saw dust and rice straw in Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(4), 341-345.
- Muswati, C., Simango, K., Tapfumaneyi, L., Mutetwa, M., & Ngezimana, W. (2021). The effects of different substrate combinations on growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *International Journal of Agronomy*, 2021.
- Nakano, Y., Fujii, H., & Kojima, M. (2010). Identification of blue-light photoresponse genes in oyster mushroom mycelia. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(10), 2160-2165.
- Nguyen, T. M., & Ranamukhaarachchi, S. L. (2020). Effect of Different Culture Media, Grain Sources and Alternate Substrates on the Mycelial Growth of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences: Pjbs*, 23(3), 223-230.
- Obodai, M., Cleland-Okine, J., & Vowotor, K. A. (2003). Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus* mushroom on different lignocellulosic by-products. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(3), 146-149.
- Oei, P., & Nieuwenhuijzen, B. V. (2005). *Small-scale mushroom cultivation*. Agromisa/CTA.
- Opletal, L., Jahodar, L., Chobot, V., Zdanský, P., Lukes, J., Bratova, M., ... & Patel, A. V. (1997). Evidence for the anti-hyperlipidaemic activity of the edible fungus *Pleurotus ostreatus*. *British journal of biomedical science*, 54(4), 240-243.
- Oseni, T. O., Dlamini, S. O., Earnshaw, D. M., & T MASARIRAMBI, M. I. C. H. A. E. L. (2012). Effect of substrate pre-treatment methods on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) production. *International journal of agriculture and biology*, 14(2).
- Pandey, A. (1992). Recent process developments in solid-state fermentation. *Process biochemistry*, 27(2), 109-117.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Rodriguez-Leon, J. A., & Nigam, P. S. N. (2001). "Solid State Fermentation in Biotechnology: Fundamentals and Applications" Reference Book.

- Panjikaran, S. T., & Mathew, D. (2013). An environmentally friendly and cost effective technique for the commercial cultivation of oyster mushroom [*Pleurotus florida* (Mont.) Singer]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 973-976.
- Pathak, R., Joshi, N., & Dwivedi, R. R. (2009). Eco-friendly production of *Agaricus bisporus* (linge) imbach (white button mushroom). *Nat Sci*, 6, 57-60.
- Rinker, D. L. (1989). Response of the oyster mushroom to supplementation prior to pasteurization. *Mush. Sci*, 13(2), 189-198.
- Rizki, M., & Tamai, Y. (2011). Effects of different nitrogen rich substrates and their combination to the yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(7), 1695-1702.
- Roupas, P., Keogh, J., Noakes, M., Margetts, C., & Taylor, P. (2012). The role of edible mushrooms in health: Evaluation of the evidence. *Journal of functional foods*, 4(4), 687-709.
- Sahu, M., & Chinara, N. (2020). evaluation of substrates for production of *pleurotus ostreatus*. *Extended Summaries*, 608.
- Sánchez, C. (2004). Modern aspects of mushroom culture technology. *Applied microbiology and biotechnology*, 64(6), 756-762.
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology advances*, 27(2), 185-194.
- Savoie, J. M., Salmones, D., & Mata, G. (2007). Hydrogen peroxide concentration measured in cultivation substrates during growth and fruiting of the mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus spp.* *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(7), 1337-1344.
- Shah, Z. A., Ashraf, M., & Ishtiaq, M. (2004). Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates (wheat straw, leaves, saw dust). *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(3), 158-160.
- Sharma, S., Yadav, R. K. P., & Pokhrel, C. P. (2013). Growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on different substrates. *Journal on New Biological Reports*, 2(1), 03-08.
- Sher, H., Al-Yemeni, M., Bahkali, A. H., & Sher, H. (2010). Effect of environmental factors on the yield of selected mushroom species growing in two different agro ecological zones of Pakistan. *Saudi journal of biological sciences*, 17(4), 321-326.

- Thakur, M. P. (2020). Advances in mushroom production: key to food, nutritional and employment security: A review. *Indian Phytopathology*, 73(3), 377-395.
- Tsujiyama, S. I., & Ueno, H. (2013). Performance of wood-rotting fungi-based enzymes on enzymic saccharification of rice straw. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2841-2848.
- Urban, A. F. (2004). Produção de cogumelos por meio de tecnologia chinesa modificada. *Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Desenvolvimento*.
- Vaz, J. A., Barros, L., Martins, A., Santos-Buelga, C., Vasconcelos, M. H., & Ferreira, I. C. (2011). Chemical composition of wild edible mushrooms and antioxidant properties of their water soluble polysaccharidic and ethanolic fractions. *Food Chemistry*, 126(2), 610-616.
- Velázquez-Cedeño, M. A., Farnet, A. M., Ferre, E., & Savoie, J. M. (2004). Variations of lignocellulosic activities in dual cultures of *Pleurotus ostreatus* and *Trichoderma longibrachiatum* on unsterilized wheat straw. *Mycologia*, 96(4), 712-719.
- Vieira, P. A. F., Gontijo, D. C., Vieira, B. C., Fontes, E. A., de Assunção, L. S., Leite, J. P. V., ... & Kasuya, M. C. M. (2013). Antioxidant activities, total phenolics and metal contents in *Pleurotus ostreatus* mushrooms enriched with iron, zinc or lithium. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 421-425.
- Villaescusa, R., & Gil, M. I. (2003). Quality improvement of *Pleurotus* mushrooms by modified atmosphere packaging and moisture absorbers. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1), 169-179.
- Wang, J. C., Hu, S. H., Liang, Z. C., & Lee, M. Y. (2005). Antigenotoxicity of extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(5), 770-778.
- Wiafe-Kwagyan, M., Odamtten, G. T., & Kortei, N. K. (2022). Influence of substrate formulation on some morphometric characters and biological efficiency of *Pleurotus ostreatus* EM-1 (Ex. Fr) Kummer grown on rice wastes and “wawa”(Triplochiton scleroxylon) sawdust in Ghana. *Food Science & Nutrition*.
- Ye, X. Y., Wang, H. X., & Ng, T. B. (1999). First chromatographic isolation of an antifungal thaumatin-like protein from French bean legumes and demonstration of its antifungal activity. *Biochemical and biophysical research communications*, 263(1), 130-134.

Yildiz, S., Yildiz, Ü. C., Gezer, E. D., & Temiz, A. (2002). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochemistry*, 38(3), 301-306.

Yıldız, S., Yılmaz, A., Can, Z., Kılıç, C., & Yıldız, Ü. C. (2017). Total phenolic, flavonoid, tannin contents and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus citrinopileatus* cultivated on various sawdust. *The Journal of Food*, 42(3), 315-323.

Zhou, J., Chen, Y., Xin, M., Luo, Q., Gu, J., Zhao, M., ... & Song, G. (2013). Structure analysis and antimutagenic activity of a novel salt-soluble polysaccharide from *Auricularia polytricha*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(13), 3225-3230.

## Sitografia

<https://plantgest.imagelinenetwork.com/it/news/2021/03/05/fungo-un-consumo-che-cambia/69460#:~:text=Oggi%20in%20Italia%20si%20producono,%C3%A8%20il%20settimano%20produttore%20europeo>

<https://www.fao.org/faostat/en/#home>

<https://www.fun.go.it/>

<https://www.quotidiano.net/economia/cresce-la-passione-per-i-funghi-un-mercato-da-35-miliardi-che-guarda-ai-big-dell-asia-1.4823247>

## Libri di testo

Andreoli R. *Coltivare funghi. Metodi professionali e amatoriali per podurre prataioli, pleuroti e altre specie*. Ottaviano. (1984)

Floriano F. *I FUNGHI. Micologia, isolamento, coltivazione*. Edagricole. 1°ed. (1985)

Gerola Filippo M. *Biologia vegetale sistematica*. Unione Tipografico-Editrice Torinese (1978)

Maffi G.P. *Parassiti dei funghi coltivati. Riconoscimento, Classificazione, biologia, profilassi e cura*. Arsenale Editore srl. (2007)

Norme tecniche e fasi di coltivazione *P. ostreatus* Regione Emilia Romagna 2019

## **Ringraziamenti**

A conclusione di questo elaborato, desidero dedicare questo spazio alle persone che hanno contribuito, con il loro aiuto e supporto, alla realizzazione dello stesso.

In primis, un ringraziamento speciale al mio relatore Carlo Nicoletto, per la sua immensa pazienza, per i suoi indispensabili consigli e per le conoscenze trasmesse durante tutto il percorso di stesura dell'elaborato.

Grazie anche alle mie correlatrici Silvia Locatelli e Marina De Bonis, per avermi scrupolosamente seguito, per i preziosi suggerimenti e per aver contribuito a creare dei bellissimi ricordi.

Ringrazio infinitamente la mia famiglia, che mi hanno sempre sostenuto e aiutato, anche a livello pratico, durante tutto il mio percorso di studi.

Infine, devo ringraziare Carlotta, che mi ha supportato ma soprattutto sopportato durante questo intenso periodo.