



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti

Risorse naturali e Ambiente

Corso di laurea Triennale Scienze e Tecnologie Agrarie

PLEUROTUS OSTREATUS E PLEUROTUS CORNUCOPIAE:
EFFETTO DELLA COLTIVAZIONE IN VERTICALE SU
PRODUZIONE E QUALITÀ

Relatore: Carlo Nicoletto

Correlatore: Marina De Bonis

Laureando: Giordano Marin

Matricola n. 2000010

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Indice

Riassunto	5
Abstract	7
1. Introduzione.....	9
1.1 Coltivazione dei funghi edibili	9
1.2 Coltivazione dei funghi in Italia	10
1.3 Descrizione Botanica e Sistemica di <i>Pleurotus</i>	10
1.4 Ciclo riproduttivo	11
1.5 Caratteristiche morfologiche	12
1.6 Tecniche di coltivazione.....	13
1.6.1 Metodi convenzionali di coltivazione.....	13
1.6.2 Metodo di coltivazione baglog cilindrico	14
1.6.3 Metodo di coltivazione del vassoio di legno	15
1.6.4 Metodo di coltivazione delle bottiglie di plastica.....	15
1.7 Vertical farming.....	16
1.8 Coltivazione dei funghi con sistema verticale	17
2. Scopo del lavoro	19
3. Materiali e metodi.....	21
3.1 Ambiente di coltivazione.....	21
3.1.1 Sistema verticale a scaffali	21
3.2 Schema sperimentale	23
3.2.1 Substrato di coltivazione e miceli.....	24
3.3 Rilievi e fasi di coltivazione	24
3.3.1 Rilievi in itinere.....	25
3.3.2 Fase di incubazione	25
3.3.3 Fase di comparsa dei primordi.....	25
3.3.4 Fase di maturazione e comparsa dei corpi fruttiferi	26
3.4 Analisi morfo-ponderali	26
3.5 Analisi qualitative.....	28
3.6 Determinazione antiossidanti e polifenoli	28
3.7 Contenuto di N, P e K.....	29
3.8 Analisi cationi ed anioni	30
3.9 Analisi statistica.....	30
4. Risultati.....	31
4.1 Parametri ambientali.....	31
4.1.1 Temperatura e concentrazione di anidride carbonica della fungaia	31

4.1.2	Gradiente termico	32
4.2	<i>Pleurotus cornucopiae</i>	33
4.2.1	Temperatura substrato	33
4.2.2	Primordi.....	34
4.2.3	Produzione.....	36
4.2.4	Numero famiglie.....	37
4.2.5	Numero corpi fruttiferi	38
4.2.6	Diametro corpi fruttiferi	40
4.2.7	Spessore corpi fruttiferi	41
4.2.8	Valori L* a* b*	42
4.2.9	Efficienza biologica.....	43
4.2.10	Efficienza del substrato	44
4.2.11	Analisi qualitative.....	46
4.2.12	Analisi antiossidanti totali e fenoli totali	46
4.3	<i>Pleurotus ostreatus</i>	47
4.3.1	Temperatura substrato	47
4.3.2	Primordi.....	48
4.3.3	Produzione.....	50
4.3.4	Numero famiglie.....	52
4.3.5	Numero corpi fruttiferi	53
4.3.6	Diametro corpi fruttiferi	55
4.3.7	Spessore corpi fruttiferi	56
4.3.8	Valori L* a* b*.....	58
4.5.3	Efficienza biologica.....	59
4.5.4	Efficienza del substrato	60
4.3.11	Analisi qualitative.....	62
4.3.12	Analisi antiossidanti totali e fenoli totali	62
5.	Discussione.....	63
5.1	Parametri climatici.....	63
5.2	Temperatura substrati	63
5.3	Primordi.....	64
5.4	Analisi morfo-ponderali	65
5.5	Analisi qualitative.....	70
5.6	Antiossidanti totali e fenoli totali	71
6.	Conclusioni.....	73
	Bibliografia.....	75
	Sitografia	81

Riassunto

Il sistema di coltivazione verticale permette sia di aumentare la densità colturale al fine di far fronte ad un aumento della popolazione e ad una riduzione delle terre coltivabili. Questo metodo di coltivazione viene già impiegato per alcune specie di funghi coltivati, come per esempio *Agaricus bisporus*, e può essere applicato anche ad altre specie come il genere *Pleurotus*.

Lo scopo del presente studio è quello di approfondire l'effetto del vertical farming sulle caratteristiche produttive, morfo-ponderali e qualitative di *Pleurotus cornucopiae* e *Pleurotus ostreatus*.

Nella sperimentazione è stato valutato l'effetto della disposizione degli scaffali, singolo e accoppiato, e dell'altezza dei ripiani dei moduli (PT, 1P, 2P, 3P) sulle due specie. Sono state svolte analisi morfo-ponderali per determinare la produzione, il numero di famiglie prodotte, il numero di corpi fruttiferi per famiglia, il diametro, lo spessore e la colorazione dei corpi fruttiferi. Inoltre, sono state eseguite analisi qualitative sui basidiocarpi per la valutazione del contenuto di solidi solubili, del pH, conducibilità elettrica e acidità titolabile. In aggiunta, è stato valutato il contenuto di antiossidanti totali e fenoli totali.

Dalla sperimentazione è emerso che l'altezza del ripiano ha influito sulla resa delle due specie di fungo. In particolare, si evince che la resa di *P. cornucopiae* è risultata maggiore nei ripiani superiori a differenza di *P. ostreatus*, dove la resa invece è risultata maggiore nei ripiani inferiori.

Il numero dei corpi fruttiferi per famiglia è stato condizionato dall'altezza del ripiano evidenziando, per entrambe le specie, un maggior numero nel ripiano superiore. La dimensione dei corpi fruttiferi, diametro e spessore, di *P. ostreatus* è stata condizionata dall'altezza del ripiano, nello specifico è emerso che i basidiocarpi prodotti in PT hanno presentato un diametro maggiore, ma un minor spessore mentre, quelli prodotti in 3P presentavano caratteristiche opposte. Considerando la colorazione dei corpi fruttiferi di *P. ostreatus*, sono stati evidenziati basidiocarpi più chiari nei due ripiani superiori.

La tipologia di scaffale non ha influenzato le caratteristiche qualitative e quantitative in nessuna delle due specie analizzate. Saranno necessarie ulteriori sperimentazioni al fine di valutare la produzione accoppiata delle due specie di *Pleurotus* ad altezze diverse degli scaffali e l'applicazione degli stessi moduli alla coltivazione di specie diverse di funghi edibili.

Abstract

The vertical cultivation system allows both an increase in cultivation density in order to cope with an increase in population and a reduction in cultivable land.

This cultivation method is already used for some cultivated mushroom species, such as *Agaricus bisporus*, and can also be applied to other species such as the genus *Pleurotus*.

The purpose of the present study is to investigate the effect of vertical farming on the productive, morpho-weight and quality characteristics of *Pleurotus cornucopiae* and *Pleurotus ostreatus*.

In the experiment, the effect of single and paired shelf arrangement and module shelf height (PT, 1P, 2P, 3P) on the two species was evaluated. Morpho-weight analyses were performed to determine production, number of families produced, number of fruiting bodies per family, diameter, thickness and coloration of fruiting bodies. In addition, qualitative analyses were performed on basidiocarps to assess soluble solids content, pH, electrical conductivity and titratable acidity. In addition, the content of total antioxidants and total phenols was evaluated.

The experimentation showed that shelf height affected the yield of the two mushroom species. In particular, it is inferred that the yield of *P. cornucopiae* was higher in the upper shelves in contrast to *P. ostreatus*, where the yield instead was higher in the lower two shelves.

The number of fruiting bodies per family was conditioned by shelf height showing, for both species, a higher number in the upper shelf. The size of the fruiting bodies, diameter and thickness, of *P. ostreatus* was conditioned by shelf height, specifically it was found that basidiocarps produced in PT had a larger diameter but less thickness while, those produced in 3P had opposite characteristics. Considering the coloration of the fruiting bodies of *P. ostreatus*, lighter basidiocarps were evident in the top two shelves.

Shelf type did not influence the qualitative and quantitative characteristics in either of the two species analyzed. Further experiments will be needed in order to evaluate the paired production of the two *Pleurotus* species at different shelf heights and the application of the same modules to the cultivation of different edible mushroom species.

1.Introduzione

1.1 Coltivazione dei funghi edibili

I funghi, sin dall'antichità, sono stati raccolti e consumati in diverse parti del mondo. Tuttavia, solo dopo la Seconda Guerra Mondiale è iniziata la loro coltivazione su larga scala (Singh et al., 2017). Le prime corrispondenze circa il consumo dei funghi provengono dalla Spagna (18.700 anni fa), dall'Egitto (4.600 anni fa) e dalla Cina (da 5.000 a 6.000 anni fa) (Power et al., 2015). I funghi sono organismi eterotrofi suddivisibili in tre categorie: i funghi parassiti, che interessano in particolare la patologia vegetale; i funghi simbiotici, che vivono in relazione con altre piante con reciproco vantaggio e i funghi saprofiti che crescono su sostanza organica più o meno degradata di organismi morti (Maffi, 2014). Questi ultimi risultano essere un prodotto particolarmente interessante per il loro elevato valore nutrizionale (Rathore et al., 2019) e la capacità di degradare diversi substrati tramite la produzione di enzimi extracellulari capaci di degradare lignina e cellulosa. Grazie a tale caratteristica i funghi saprofiti possono essere prodotti su materiali di scarto provenienti da agricoltura, boschi, zootecnia e industrie manifatturiere (Sánchez, 2009). Inoltre alcune specie quali *Pleurotus cornucopiae* e *Pleurotus ostreatus*, molto popolari in Cina, sono stati frequentemente utilizzati per il biorisanamento di aree inquinate dai metalli pesanti (Li et al., 2017, Jiang et al., 2015). Attualmente, la coltivazione industriale dei funghi è possibile soprattutto per le specie saprofiti che non necessitano di stabilire relazioni simbiotiche con altri organismi per la formazione dei corpi fruttiferi e la riproduzione (Staments 1993). I funghi edibili sono un alimento ricco di carboidrati (saccarosio, xilosio, ramnosio, etc...), amminoacidi (acido glutammico, acido aspartico, etc...), proteine, acidi grassi (acido linoleico, acido stearico, acido palmitico, etc...), vitamine (folato, riboflavina, acido ascorbico, etc...), elementi minerali (Ca, Mg, K, P, Na, etc...) e composti fenolici (acido gallico, acido caffeico, acido protocatecuico, ecc..) che partecipano al mantenimento di un buono stato di salute riducendo il rischio d'insorgenza di numerose malattie (Das e Prakash, 2022). Globalmente, si contano più di 2000 differenti specie di funghi di cui 25 rientrano correntemente nell'alimentazione umana, ma solo alcune di esse vede un'effettiva produzione a livello industriale (Ergönül et al., 2013).

L'85% dei funghi eduli coltivati a livello mondiale appartiene al genere *Lentinula*, di cui *Lentinus edodes* è la principale specie più coltivata al mondo con circa il 22% della produzione mondiale, ed altri quattro generi (*Pleurotus*, *Auricularia*, *Agaricus* e *Flammulina*) (Zied e Pardo-Giménez, 2017). Su scala globale, il consumo di funghi è aumentato da 1 a 4,7 kg pro-capite nel periodo dal 1997 al 2013 (Royse et al., 2017) e si prevede che il consumo aumenterà ulteriormente nei prossimi anni, con

un fatturato che passerà da 34 a 60 miliardi di dollari USA all'anno. A livello mondiale la Cina è il principale produttore di funghi, seguita da USA (11%), Paesi Bassi (7%), Polonia, Spagna, Francia, Italia, Irlanda, Canada e Regno Unito (Thakur, 2020). I principali produttori a livello europeo sono i Paesi Bassi seguiti da Polonia, Olanda e Spagna, mentre l'Italia si posiziona al settimo posto, prima di Irlanda e Germania (FAOSTAT, 2020).

1.2 Coltivazione dei funghi in Italia

Per quanto riguarda la situazione in Italia, la produzione dei funghi commestibili è rappresentata per il 78% da *Agaricus bisporus* comunemente conosciuti come “champignon”, 8% da *Pleurotus ostreatus* ed il 14% rappresentato da vari altri funghi quali: *Cyclocybe aegerita* o “pioppino” (Fig. 3/C), *Lentinula edodes* detta “Shitake”, e *Pleurotus eryngii* “cardoncello” (AIF Associazione Italiana Fungicoltori, 2018).

Il Veneto, sin dai tempi delle prime coltivazioni del vicentino, è stata una regione rilevante per la fungicoltura nazionale; proseguendo poi con le grandi aziende della provincia di Treviso nate negli anni Cinquanta e Sessanta, fino ad arrivare alle attuali moderne fungaie (Maffi, 2014)

Oggi una quarantina di fungaie di questa Regione producono circa 30.000 tonnellate di funghi Champignon ogni anno, occupando la metà della produzione nazionale. La quasi totalità del prodotto è destinata al consumo fresco ed al mercato nazionale. Per evitare che i funghi Champignon vengano importati nel territorio nazionale, alcune aziende stanno perfezionando le tecniche per la coltivazione di funghi da destinare esclusivamente all'industria conserviera (Maffi, 2014). In Veneto, anche per il *Pleurotus*, viene realizzata poco meno della metà delle 15.000 tonnellate prodotte annualmente in Italia e di queste circa 2.500 sono prodotte nel Veronese (Maffi, 2014).

1.3 Descrizione Botanica e Sistemica di *Pleurotus*

Pleurotus spp., sono funghi commestibili della divisione *Basidiomyceti* appartenenti alla famiglia delle *Pleurotaceae* (*Agaricales*, *Agaricomycetes*), comunemente chiamati “funghi ostrica” per la forma dei loro corpi fruttiferi. Queste specie sono tra le più importanti a livello commerciale e sono particolarmente apprezzati per la loro consistenza, aroma e gusto oltre al possibile effetto positivo sulla salute umana per i composti bioattivi (polisaccaridi, β -glucani, considerati alimenti funzionali comprovati proteine/enzimi, peptidi, lectine, terpenoidi, polichetidi e composti fenolici) (Fed. Regist. 2006)(EFSA J. 2009). Inoltre, il *Pleurotus* viene definito come “carne dei poveri” per il suo elevato

contenuto amminoacidico e la capacità di crescere su substrati di scarto facilmente reperibili anche nelle zone rurali più povere. Questa condizione rende le proteine dei funghi più economiche e disponibili rispetto alle proteine di origine animale (Maftoun et al., 2015).

I *Pleurotus* spp. hanno una quantità importante di carboidrati (50-60% sul peso secco); questi sono costituiti principalmente da zuccheri (oligosaccaridi, monosaccaridi e disaccaridi) che sono correlati alla sintesi dei polisaccaridi (Maftoun et al., 2015).

Tra le specie di funghi “ostrica” è possibile individuare *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. sajor-caju*, comunemente conosciuti come ostrica dell’albero, ostrica grigia e ostrica indiana (Mahari et al., 2020). Queste specie hanno morfologia simile, ma crescono in ambienti diversi: *P. ostreatus* cresce in pianura, mentre *P. pulmonarius* sugli altipiani (Mahari et al., 2020). Anche a livello estetico presentano delle differenze. *P. ostreatus* presenta un cappello più grande e un colore più scuro rispetto a *P. pulmonarius*. Nonostante questo, entrambe le specie hanno cappelli piatti, ampi e convessi che potrebbero arricciarsi se troppo maturi (Mahari et al., 2020).

P. ostreatus, coltivato su un substrato formato da una miscela di paglia di riso e paglia di frumento, presenta una resa media complessiva di due volate pari a 0,308 kg/kg substrato (Sharma et al., 2013). La coltivazione di *P. cornucopiae* su un substrato composto da *Panicum virgatum* L, presenta una resa media complessiva pari a 0,04 kg/kg di substrato (Royse, 2002).

1.4 Ciclo riproduttivo

Durante il loro ciclo vitale il *Pleurotus* attraversa fasi vegetative e riproduttive (Figura 1). Nella fase vegetativa, momento in cui i miceli crescono all'interno del substrato, le ife svolgono un ruolo vitale nel processo di sintesi dei nutrienti dal materiale del substrato. Esse rilasciano enzimi che digeriscono i materiali organici morti in particelle più fini che vengono successivamente assorbite come nutrienti (Temple, 2017; Ou, 2017). Quando le condizioni sono ottimali e risultano adatte alla fruttificazione (come una temperatura di 20–25 °C), un'elevata umidità relativa (65–70 %), flusso di ossigeno e un'adeguata intensità luminosa i funghi affrontano la fase riproduttiva (Bellettini et al., 2019). Durante questa fase vengono prodotti i corpi fruttiferi noti come funghi. Ripetendo queste due fasi di crescita in condizioni ambientali favorevoli, i corpi fruttiferi dei funghi possono essere prodotti in grandi quantità (Taurachand e Choi, 2004).

Quando i funghi raggiungono la fase riproduttiva, le spore vengono espulse nell'aria e portate via dal vento. Durante questo processo, le spore si depositano sul suolo, alberi morenti o materiali organici morti, e lì iniziano a crescere fino a incontrare spore adatte all'accoppiamento in condizioni di crescita adeguate (Adebayo e Martinez-Carrera, 2015). Diversi tipi di funghi hanno diverse forme di

riproduzione ed i *Pleurotus* spp. ne presentano quattro. Quando due spore di diversi tipi di accoppiamento si incontrano, formano un organismo multicellulare noto come micelio monocariotico, che successivamente diventerà un micelio dicariotico. I funghi ostrica trascorrono la maggior parte della loro vita in questa fase, in cui il micelio dicariotico si differenzia in corpi fruttiferi con strutture specializzate chiamate basidi. Questo processo si verifica quando le condizioni ambientali sopra citate sono adatte alla loro crescita (Adebayo e Martinez-Carrera, 2015).

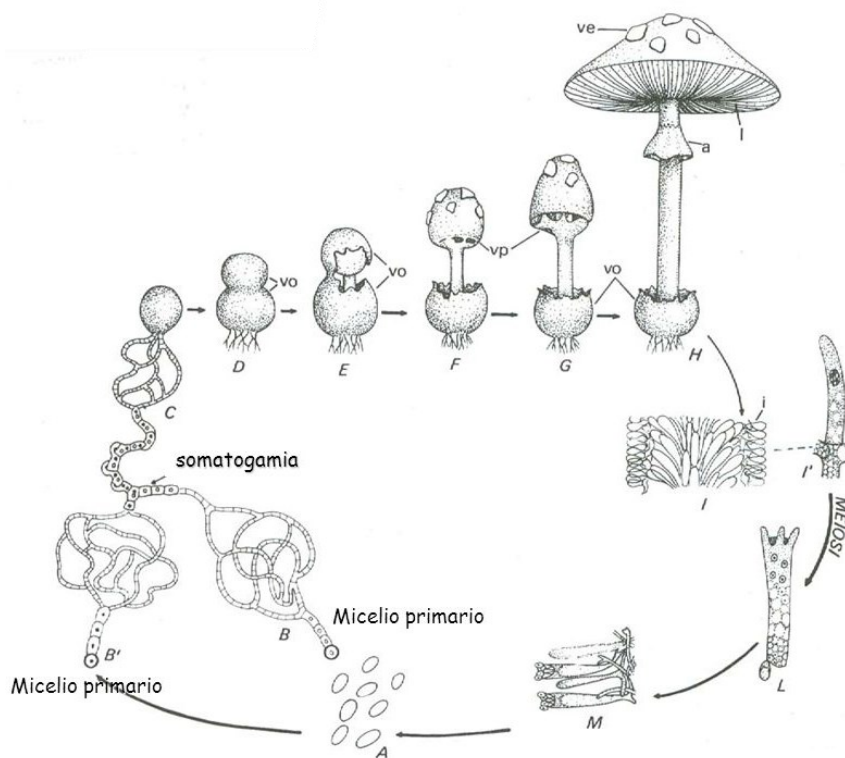


Figura 1 – ciclo riproduttivo di un basidiomicete generico.

1.5 Caratteristiche morfologiche

Al genere *Pleurotus* appartengono basidiomi carnosi, di dimensioni medio-grandi, omogenei caratterizzati da cappello imbutiforme. Sono inseriti nel gruppo dei funghi leucosporei, ovvero funghi che presentano spore ammassate di colore bianco o bianche con sfumature gialle. Per la loro colorazione bianco-rosata delle spore. Tutte le specie appartenenti al genere sono lignicole e tipicamente parassite o saprofiti, agenti di carie bianca (Miceli, 2019).

Nello specifico, analizzando *Pleurotus ostreatus*, è possibile notare un cappello di medio-grandi dimensioni, posizionato al lato del gambo con forma di ventaglio (flabelliforme), inizialmente

convesso che poi si distende verso la maturità presentando, quasi sempre, una marcata depressione verso l'attacco al gambo (Miceli, 2019). La superficie è liscia e di colore variabile: dal grigio al grigio bluastrò chiaro, al bruno-grigiastro. L'imenoforo è costituito da lamelle non molto fitte, intervallate da numerose lamellule, unite tra di loro da pieghe o nervature trasversali in corrispondenza del gambo e di colore bianco, bianco-grigiastro, bianco-crema pallido (Miceli, 2019). Il gambo è eccentrico, corto, a volte assente, e spesso si presenta unito a quello di altri esemplari, formando un grosso cespo, ricurvo. La carne dei *Pleurotus ostreatus* è consistente, elastica, tendente al coriaceo negli esemplari adulti specialmente in prossimità del gambo, di colore bianco con odore e sapore gradevole negli esemplari giovani, di muffa in quelli maturi (Miceli, 2019) (Figura 2). In *P. cornucopiae* è possibile notare un cappello imbutiforme e una cuticola di colore giallo-biancastro in base allo stadio di maturazione. Le lamelle sono decorrenti, biancastre e presentano spore lilla chiaro (Figura 3).



Figura 2 - Famiglia di *P. ostreatus* (Pini, 2020)



Figura 3 - Famiglia di *P. cornucopiae*

1.6 Tecniche di coltivazione

I funghi venivano originariamente coltivati nelle grotte, ma il processo si è gradualmente spostato in camere climatizzate dove è possibile controllare le condizioni di crescita. Tale variazione comporta un consumo di energia maggiore e richiede sistemi di raffreddamento e riscaldamento (Foulongne-Oriol et al., 2014).

1.6.1 Metodi convenzionali di coltivazione

Rispetto ad altre specie di funghi, la coltivazione dei funghi ostrica, incluso *P. ostreatus*, è più facile, più veloce e più conveniente (Mandel et al., 2005). La coltivazione del fungo ostrica fu eseguita per la prima volta in Europa in Germania, su ceppi d'albero e tronchi di legno (Bahadur et al., 2015). Da

quel momento in poi, i continui miglioramenti tecnologici hanno portato allo sviluppo di diversi metodi di coltivazione: i metodi di coltivazione in baglog (sacco) cilindrico, in vassoio di legno o in bottiglia sono i più redditizi per gli agricoltori del settore agroalimentare.

1.6.2 Metodo di coltivazione baglog cilindrico

Negli ultimi tempi, il metodo di coltivazione del fungo in baglog cilindrico è diventato uno dei metodi più frequenti nella coltivazione del fungo ostrica (Figura 4). Con questo metodo, i contenitori cilindrici del substrato utilizzati sono generalmente realizzati con sacchetti di plastica di 15 cm × 30 cm realizzati in polipropilene (PP), polietilene (PE) o cloruro di polivinile (PVC) (Mamiro et al., 2014). Per consentire la fuoriuscita del fungo e facilitare il processo di inoculo e raccolta, viene praticato un foro su un'estremità del sacco cilindrico. Gli ingredienti principali che vengono inseriti nel baglog sono solitamente crusca di riso e segatura (Utami e Susilawati, 2017). Questi vengono scelti come substrato per il loro alto contenuto lignocellulosico, che consente di fornire i nutrienti necessari per la crescita dei funghi ostrica (Nam et al., 2018). L'acqua viene aggiunta alla miscela di substrato per aumentarne il contenuto di umidità in modo che i nutrienti siano a contatto con il micelio per favorire l'assorbimento e la crescita dei corpi fruttiferi (Bellettini et al., 2019; Marlina et al., 2015). Al termine della preparazione del baglog, il supporto con il substrato pesa circa 1 kg e, prima dell'ulteriore lavorazione, il foro all'estremità del ceppo viene chiuso con una copertura in PVC. I baglog cilindrici vengono sanitizzati mediante sterilizzazione in autoclave o pastorizzazione utilizzando un vaporizzatore per uccidere i microrganismi concorrenti e i parassiti del fungo e per fornire una condizione sterile di crescita (Mandee et al., 2005; Oei, 1996). Il baglog viene quindi raffreddato a temperatura ambiente prima che inizi il processo di inoculazione. Le spore di funghi ostrica vengono iniettate nel baglog, che viene conservato in una stanza o capanna ben ventilata. La stanza in cui verranno posizionati i baglog deve essere per lo più in completa oscurità e l'umidità relativa del sacco cilindrico viene preservata spruzzando acqua due volte al giorno. Con questo metodo convenzionale di coltivazione del baglog cilindrico, il micelio richiede circa 30-35 giorni per crescere e colonizzare l'intero substrato (Nam et al., 2018).



Figura 4 - Metodo di coltivazione baglog cilindrico

1.6.3 Metodo di coltivazione del vassoio di legno

Il metodo di coltivazione del vassoio di legno (Figura 5) è un altro metodo impiegato nella coltivazione dei funghi ostrica. Il vassoio di legno utilizzato è rettangolare o in qualsiasi altra forma conveniente con dimensioni di 100 cm × 50 cm × 15 cm (Ambili e Nithya, 2014). Ciò serve a garantire che vi sia spazio sufficiente tra i vassoi per scopi di aerazione quando i vassoi di legno sono impilati e sono pronti per il processo di coltivazione.



Figura 5 - Metodo di coltivazione del vassoio di legno

1.6.4 Metodo di coltivazione delle bottiglie di plastica

La maggior parte delle aziende produttrici di funghi su larga scala, così come le grandi cooperative agricole in Giappone, Cina, Corea o Thailandia adottano la coltivazione in bottiglia (Figura 6). Un vantaggio fondamentale della coltivazione in bottiglie di plastica è che rende possibile la produzione di funghi in camere in zone con limitata disponibilità di terreno (Zied e Pardo-Giménez, 2017).

L'utilizzo di bottiglie rigide facilita la meccanizzazione della produzione di funghi su larga scala, e rende possibile l'impiego di attrezzature per la coltivazione automatizzata. (Zied e Pardo-Giménez, 2017). L'utilizzo di materiali facilmente movibili quali bottiglie per la coltivazione dei funghi rende possibile l'applicazione del vertical farming. Tuttavia, la predisposizione delle bottiglie su strutture fisse, quali scaffali, non è in genere usuale nei paesi occidentali poiché rende possibile eseguire una sola volata (Zied e Pardo-Giménez, 2017). In questo tipo di coltivazione, i funghi sono generalmente prodotti in strutture con ambiente controllato, dove la temperatura, l'umidità, la concentrazione di anidride carbonica e l'illuminazione sono mantenuti e monitorati ed è possibile coltivare funghi tutto l'anno (Zied e Pardo-Giménez, 2017). L'automazione e il controllo ambientale contribuiscono notevolmente alla stabilizzazione di questo modello di produzione intensiva. L'aspetto negativo di queste strutture automatizzate è che richiedono investimenti di costruzione di capitale elevato, e le macchine per la coltivazione non sono economiche (Zied e Pardo-Giménez, 2017).



Figura 6 - Metodo di coltivazione delle bottiglie di plastica.

1.7 Vertical farming

Con il termine “vertical farming” si intende un sistema di coltivazione che ha come obiettivo quello di aumentare la superficie di terreno coltivabile in un’area definita (Despommier, 2011). Queste nuove tecniche di produzione si stanno affermando sempre di più negli ultimi anni poiché, nel 2050, ci si aspetta che la popolazione a livello mondiale raggiunga i 8.9 miliardi; ciò comporta un rispettivo aumento della superficie coltivabile non facilmente disponibile (FAO,2020).

Le coltivazioni verticali sono disponibili in diverse forme e dimensioni: da semplici sistemi a due livelli, a grandi magazzini di più piani. Ogni tipo di coltivazione verticale utilizza uno dei seguenti sistemi privi di suolo per fornire nutrienti alle: piante-idroponico, aeroponico o aquaponico. La tecnica del vertical farming fornisce una quantità di vantaggi che rendono preferibile la sua applicazione. Secondo Despommier (2011), la coltivazione verticale risulta di gran lunga più

produttiva di quella su suolo. Tra i vantaggi riscontrabili con la tecnica del vertical farming, è possibile individuare aspetti positivi comuni anche ad altre tecniche della coltivazione fuori suolo, come conservazione e riciclaggio dell'acqua: le tecniche di coltivazione idroponica utilizzate nelle coltivazioni verticali utilizzano circa il 70% in meno di acqua rispetto alla normale agricoltura (Birkby, 2016). Ad esempio, la tecnologia di produzione agricola verticale continua può garantire la produzione di colture per tutto l'anno anche nelle regioni non tropicali. È inoltre importante sottolineare l'eliminazione di erbicidi e pesticidi. Alcune applicazioni di coltivazione verticale utilizzano controlli biologici quando necessario per affrontare eventuali infestazioni. Le condizioni climatiche favorevoli all'interno riducono o eliminano l'uso di grandi attrezzature agricole comunemente utilizzati in aziende agricole all'aperto, riducendo così la combustione di combustibili fossili (Birkby, 2016).

Nonostante i vantaggi sopra elencati, è necessario elencare le ragioni per cui alcuni esperti agricoli si dicono scettici a riguardo.

In primo luogo, la costruzione di sistemi verticali di coltivazione può essere costosa. Alcune coltivazioni verticali esistenti hanno sede in magazzini o aree abbandonate, o siti Superfund, che possono essere più economici per la costruzione (Birkby, 2016). Anche se i costi di trasporto possono essere significativamente inferiori rispetto all'agricoltura convenzionale, il consumo di energia per l'illuminazione artificiale e il controllo del clima in un'agricoltura verticale possono pesare significativamente sui costi operativi. Neanche la controversia sulla certificazione biologica USDA risulta chiara, non è possibile sapere se o quando ci sarà accordo sul fatto che le colture prodotte in un'azienda verticale possano essere certificate biologiche (Birkby, 2016). L'ultimo problema è che le colture che richiedono l'impollinazione degli insetti sono svantaggiate in una coltivazione verticale, poiché gli insetti sono solitamente esclusi dall'ambiente di crescita. Le piante che richiedono l'impollinazione possono aver bisogno di essere impollinate a mano, necessitando di tempo e manodopera (Birkby, 2016).

1.8 Coltivazione dei funghi con sistema verticale

Il fungo champignon (*Agaricus bisporus* var. *bisporus*) è uno dei funghi più coltivati al mondo. È il fungo più coltivato nei paesi occidentali e l'area di coltivazione si sta espandendo rapidamente in Cina (Zhang et al., 2014). L'*Agaricus bisporus* è un fungo basidiomicete appartenente alla famiglia delle *Agaricaceae* coltivato in oltre 70 paesi (Ma et al., 2014; Saravanan et al., 2013). La coltivazione del fungo champignon su larga scala venne eseguita per la prima volta da dall'Istituto Pasteur nel 1894 che si avvale di un substrato composto da letame equino parzialmente fermentato e paglia

proveniente da stalle, impiegando dell'inoculo puro (Van Griensven e Van Roestel, 2004). Cresce principalmente su substrati che devono essere in parte decomposti in modo che siano privi di zuccheri solubili favorevoli alla crescita di muffe e batteri (Donini et al., 2006). La produttività attuale dell'*Agaricus bisporus* è confermata dall'Associazione Italiana Fungicoltori (AIF), che in un'intervista a Il Sole 24 Ore, nel 2021, ha affermato che da un metro quadrato si possono raccogliere circa 35 kg di champignon. Ad oggi, questa specie è l'unica ad essere coltivata con il sistema verticale su scaffale, vista la sua predisposizione alla crescita di substrati distribuiti orizzontalmente. Inoltre lo Champignon non necessita di luce in nessuna fase del suo sviluppo e ciò rende favorevole la sua coltivazione in ambiente chiuso e controllato senza illuminazione naturale.

Come citato nel capitolo precedente, un altro sistema usato nella coltivazione verticale è quello della coltivazione in bottiglia. Tuttavia, il metodo della coltivazione in baglog non è mai stato applicato in verticale, e andrebbe quindi studiato e approfondito.



Figura 7 - Coltivazione dei funghi champignon con sistema verticale.

2. Scopo del lavoro

La prova sperimentale oggetto di questa tesi ha avuto l'obiettivo di valutare gli effetti della coltivazione in verticale sulla produzione e sulla qualità del prodotto di due specie di funghi appartenenti al genere *Pleurotus*. Nello specifico, è stata effettuata la coltivazione di *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus cornucopiae*. L'esperimento si è concentrato sugli effetti risultanti dalla produzione in verticale con particolare attenzione all'altezza e posizione degli scaffali il cui modulo può essere singolo o accoppiato. L'esperimento trattato in questa tesi fa parte del progetto del V-Farm finanziato dal PRIN 2020ELWM82 V-FARM.

3. Materiali e metodi

3.1 Ambiente di coltivazione

La prova è stata condotta all'interno della fungaia sperimentale situata presso l'Azienda Agraria "Lucio Toniolo" dell'Università di Padova a Legnaro (PD). La struttura è lunga 25 metri, larga 8 metri e ripropone le caratteristiche dimensionali, strutturali e tecnologiche di un modulo commerciale per la produzione di funghi. Anche il sistema di climatizzazione e di umidificazione presente è tipico delle strutture industriali adibite alla produzione: il raffrescamento è garantito da un sistema di irrigazione mediante fog system collocato a circa 3 metri dal suolo e cooling system. Per il riscaldamento è presente un generatore di aria calda alimentato a gasolio che insuffla l'aria all'interno della fungaia attraverso un condotto associato ad un ventilatore. La fungaia è munita di un sistema di ventilazione costituito da due elettroventilatori posti nel versante nord della struttura ai lati dell'entrata, che ha lo scopo di garantire un corretto ricambio dell'aria andando ad espellere l'anidride carbonica. I sistemi sopra descritti sono collegati ad una centralina elettronica che permette di mantenere, in modo costante ed automatico, i parametri climatici ideali per la coltivazione.

3.1.1 Sistema verticale a scaffali

Tradizionalmente la disposizione dei sacchi per la produzione dei funghi è a "T": due posizionati verticalmente e uno orizzontale posizionato al di sopra di quest'ultimi. Questo modello permette di raggiungere una densità di 3 sacchi/m². Per la prova sperimentale, invece, è stato utilizzato come modulo uno scaffale (Figura 8) costituito da 4 ripiani, compreso il piano terra. Questo sistema permette di raggiungere una densità di 12 sacchi/m². Lo scaffale presenta complessivamente una lunghezza di 2 metri, una larghezza di 0,50 metri ed un'altezza di 2 metri con i ripiani posizionati ogni 0,60 metri. I ripiani, dove sono posizionati i sacchi, sono formati da una griglia metallica che favorisce una migliore uniformità termica, mentre al piano terra sono stati predisposti dei plateau in polistirolo in modo da evitare che il sacco sia a diretto contatto con il pavimento della fungaia. La struttura è posizionata su lastre di cemento che ne evitano il possibile oscillamento e ribaltamento (Figura 9).

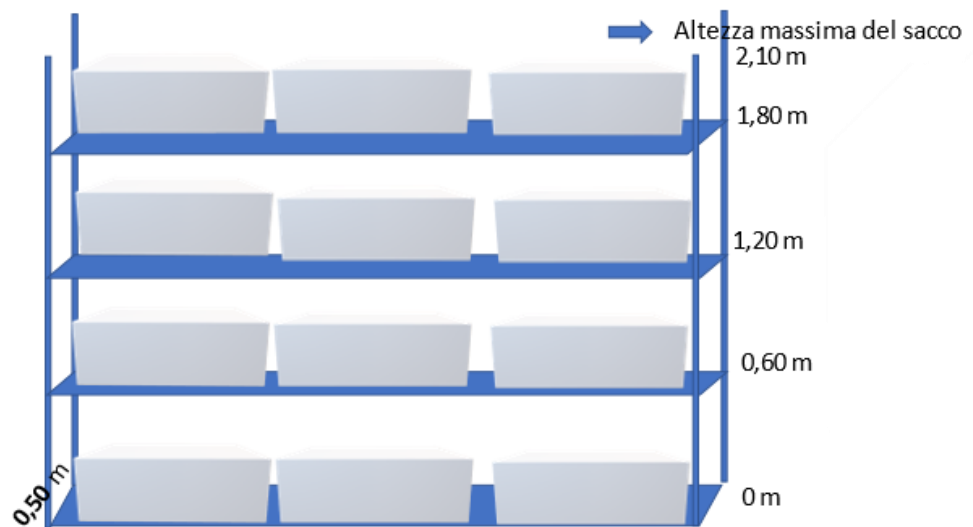


Figura 8 - Rappresentazione grafica e dimensionale dello scaffale impiegato nella prova sperimentale.



Figura 9 - Interno della fungaia A) Lastre in cemento su cui sono fissati gli scaffali; B) Scaffale singolo; C) Scaffale doppio; D) Sistema di raffreddamento passivo, micro-sprinkler.

3.2 Schema sperimentale

La sperimentazione, come riportato in precedenza, si è occupata di valutare l'effetto della coltivazione in verticale di due specie di funghi, appartenenti al genere *Pleurotus*, sulla produzione e sulla qualità al fine di individuare eventuali differenze o fattori limitanti. Lo schema sperimentale attuato è il "quadrato latino" (Figura 10), considerando le diverse combinazioni di scaffali e le specie coltivate con tre ripetizioni: doppio *P. ostreatus*, singolo *P. ostreatus*, doppio *P. cornucopiae* e singolo *P. cornucopiae*. Questo modello permette di riproporre tutte le combinazioni possibili sia orizzontalmente che verticalmente, permettendo così di limitare i fattori che possono alterare la sperimentazione.

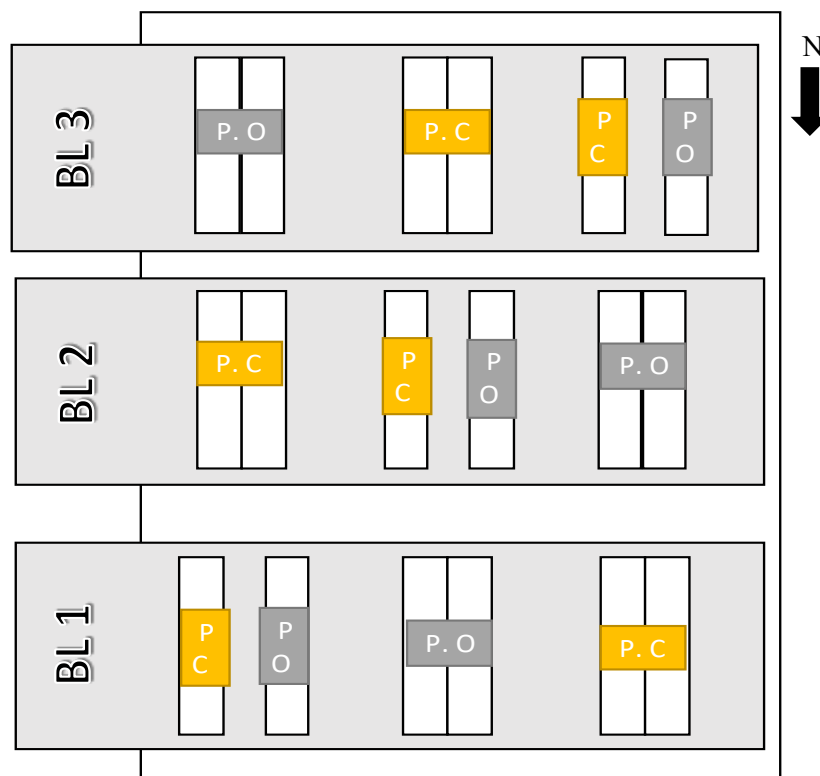


Figura 10 - Rappresentazione grafica dello schema sperimentale adottato nella prova.

Durante la sperimentazione si sono considerati i seguenti fattori: ripiano, disposizione degli scaffali, (modulo singolo o modulo doppio) e le due specie.

3.2.1 Substrato di coltivazione e miceli

I sacchi contenenti il substrato di coltivazione impiegati nella prova sono stati forniti dall'Azienda Agricola "Funghi grotte di Costozza" con sede a Vicenza. Nella sperimentazione sono state impiegate due specie commerciali di *Pleurotus*, in particolare *P. ostreatus* (ceppo 3253) e *P. cornucopiae* (ceppo 3040) prodotti e forniti dall'azienda Sylvan SRI che ha sede a Verona. I sacchi sono arrivati già pronti per la fase di incubazione, ovvero già inoculati.

3.3 Rilievi e fasi di coltivazione

La prova è iniziata il 17 dicembre 2022 con l'arrivo in azienda e la successiva disposizione all'interno della fungaia dei sacchi di substrato inoculato (Figura 11). Dopo avere posizionato i 216 blocchi di substrato, di cui 108 inoculati con il micelio di *P. ostreatus* (3253) e 108 inoculate con il micelio di *P. cornucopiae* (3040), sono stati pesati, a campione, dei sacchi in modo da verificare la differenza di peso tra l'inizio e la fine del ciclo produttivo, permettendo poi di definire la quantità di substrato impiegata dal fungo per la formazione del corpo fruttifero tramite l'indice di efficienza biologica (BE). È stato inoltre prelevato a campione un quantitativo sufficientemente rappresentativo di substrato per poter effettuare la caratterizzazione chimica e fisica.



Figura 11 -Interno della fungaia con sacchi posizionati negli scaffali.

3.3.1 Rilievi in itinere

Durante tutta la prova sono stati monitorati, mediante appositi sensori, la temperatura, la concentrazione di anidride carbonica e l'umidità relativa presenti all'interno della fungaia. Tali sensori impiegati per il monitoraggio dei parametri climatici sono state disposte alla base e nel punto più alto dello scaffale. Oltre a questo tipo di sonde, la fungaia era munita di sensori fissi collegati ad una centralina elettronica che permette di mantenere in modo stabile ed automatico i parametri climatici richiesti per la coltivazione. Inoltre, la fungaia dispone di due sonde di temperatura mobili, con le quali è stato possibile effettuare la misurazione della temperatura dei substrati di coltivazione all'interno dei sacchi.

3.3.2 Fase di incubazione

In corrispondenza del posizionamento dei sacchi nella fungaia è iniziata la fase di incubazione. Durante tutta questa fase sono state mantenute delle condizioni climatiche tali da favorire lo sviluppo del micelio all'interno del sacco; in particolare sono stati mantenuti elevati livelli di CO₂ ed una temperatura di 22°C ± 2. La fase di incubazione si conclude con la comparsa dei primordi dai fori del sacco. In questa fase sono stati effettuati dei rilievi termici della temperatura dei sacchi con termocamera FLIR.

3.3.3 Fase di comparsa dei primordi

Con l'emersione dei primordi dai fori dei sacchi si conclude la fase di incubazione. Al termine della fase di incubazione, il micelio si esprime a pieno e, per questo motivo, il tempo che intercorre tra la comparsa dei primordi e la formazione dei corpi fruttiferi è relativamente breve. La fase di comparsa dei primordi è avvenuta il 29 dicembre 2022 per il micelio *P. cornucopiae* (Figura 12), mentre per il micelio *P. ostreatus* (Figura 13) è avvenuta il 9 gennaio 2023. Durante questa fase sono stati conteggiati giornalmente i primordi che si sono sviluppati su ogni sacco.



Figura 12 - primordi di *P. cornucopiae*.



Figura 13 - Primordi di *P. ostreatus*.

3.3.4 Fase di maturazione e comparsa dei corpi fruttiferi

Questa fase ha inizio quando i primordi iniziano a svilupparsi sia in termini di dimensioni che di volume. La fase di sviluppo dei primordi fino alla formazione dei corpi fruttiferi è molto rapida, con un accrescimento evidente da un giorno all'altro. In condizioni ambientali ottimali, i ritmi di maturazione e quindi di raccolta variano da 1 a 3 giorni, infatti durante questa fase le operazioni di raccolta sono state svolte circa ogni 2-3 giorni. La raccolta, eseguita manualmente staccando direttamente dal substrato i corpi fruttiferi, è stata effettuata quando i corpi fruttiferi presentavano cappello esteso, ampio e con il bordo lievemente rivolto verso il basso.

3.4 Analisi morfo-ponderali

Durante la fase di raccolta si è opportunamente conteggiato il numero di famiglie raccolte per ogni sacco. Successivamente è stato misurato il peso della produzione per ogni sacco tramite bilancia digitale e sono state selezionate, quando possibile, 3 famiglie rappresentative. Queste sono state sottoposte ad una serie di analisi ponderali, morfologiche e colorimetriche. I dati relativi alla resa, hanno permesso di calcolare l'efficienza biologica (BE), ovvero il rapporto percentuale tra la produzione cumulata delle due volate e il peso secco del substrato. Dopo ogni pesata sono stati conteggiati i corpi fruttiferi di ogni famiglia ed in seguito è stato misurato il diametro di un corpo fruttifero per famiglia avvalendosi di un righello graduato (cm); analogamente è stato misurato lo spessore, misurato in mm, di un corpo fruttifero rappresentativo della famiglia utilizzando un calibro

digitale. Concluse le analisi morfologiche, per le medesime famiglie rappresentative è stata eseguita un'analisi colorimetrica servendosi di un colorimetro Minolta CR-200 e misurando tre parametri, rispettivamente L^* , a^* , b^* (Figura 14).

- L^* identifica la luminosità con una scala da 0 (nero) a 100 (bianco);
- a^* misura la gamma di colore che va dal rosso al verde; presenta valori compresi tra -60 e +60;
- b^* misura la gamma di colore che va dal giallo al blu; presenta valori compresi tra -60 e +60.

Tutte le analisi morfo-ponderali sono state eseguite lo stesso giorno della raccolta data la ridotta conservabilità dei corpi fruttiferi di *Pleurotus* a temperatura ambiente.

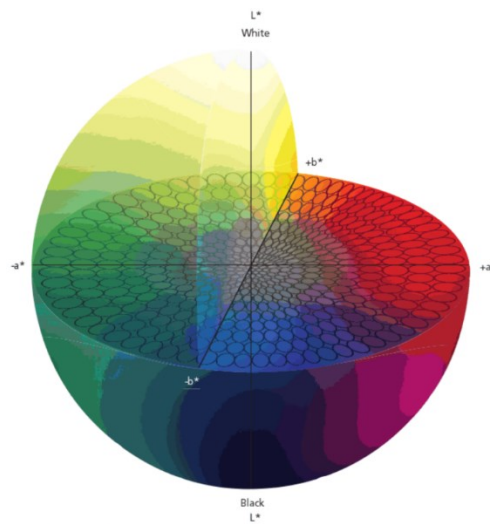


Figura 14 - Scala di valutazione utilizzata per le analisi colorimetriche.

Infine, dopo aver eseguito le analisi morfo-ponderali, sono stati preparati tre campioni successivamente utilizzati per le analisi qualitative. La preparazione dei campioni è avvenuta andando a tagliare i corpi fruttiferi con un coltello precedentemente sanificato e i frammenti ottenuti sono stati suddivisi tra i campioni stessi. Il primo è stato posto in stufa ventilata a 65°C per determinare la percentuale di sostanza secca, mentre i restanti due sono posti in congelatore a -20°C 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. cornucopiae* e *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. cornucopiae* e 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

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 μL di estratto sono stati aggiunti 1900 μL 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 Fe^{2+} equivalenti (Fe^{2+}E) per kg di campione secco o fresco. Per la determinazione dei fenoli, invece, si sono prelevati 200 μL dell'estratto, si sono aggiunti 1000 μL di reattivo di Folin-Ciocalteu e 800 μL 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 di 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 Spectroscopy) SPECTRO CIROS (della Spettro Italia S.r.l.).

3.8 Analisi cationi ed anioni

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 µm. Le iniezioni sono state fatte usando un iniettore a valvole (Rheodyne) con un loop di 50 µL. 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⁻¹ e la colonna è mantenuta a temperatura ambiente.

3.9 Analisi statistica

I dati ricavati dai rilievi quantitativi e 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.).

4. Risultati

4.1 Parametri ambientali

4.1.1 Temperatura e concentrazione di anidride carbonica della fungaia

La temperatura della fungaia nei primi quindici giorni si è mantenuta tra i 20 ed i 25 °C, come riportato in Figura 15. Nei giorni successivi la temperatura è diminuita stabilizzandosi a valori compresi tra 11 e 16 °C. Tale parametro è rimasto pressoché costante per il resto della sperimentazione eccetto per il 31 gennaio e il 13 febbraio, giorni in cui si è verificato un blocco del sistema di riscaldamento.

Come riportato in Figura 16, la concentrazione di anidride carbonica tende ad aumentare nei primi quindici giorni di incubazione raggiungendo un picco di 3000 ppm. Dopo il ventesimo giorno la concentrazione di anidride carbonica tende a diminuire stabilizzandosi a valori prossimi a 650ppm.

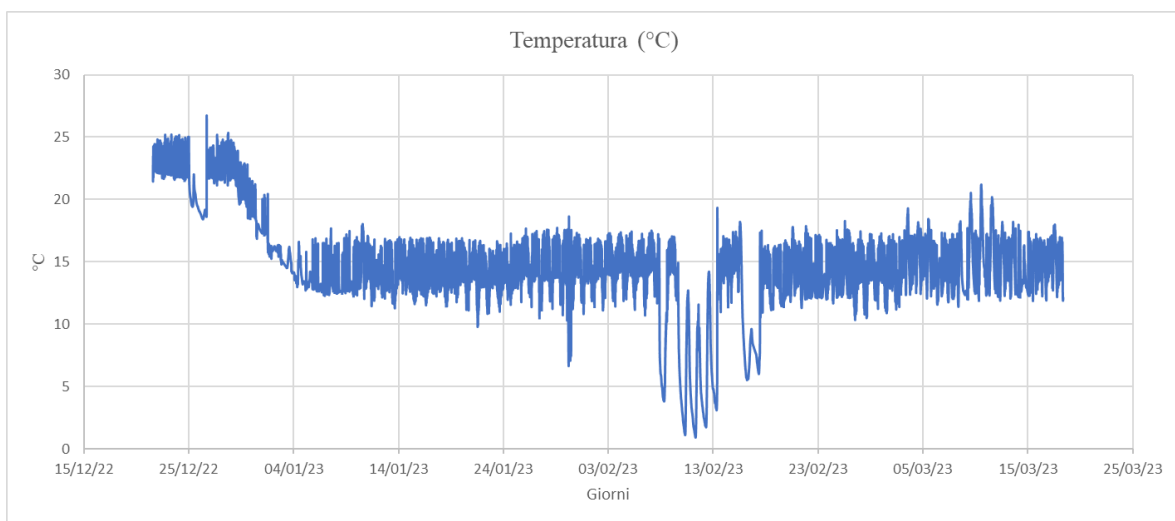


Figura 15 - Temperatura ambientale all'interno della fungaia durante l'intera prova.

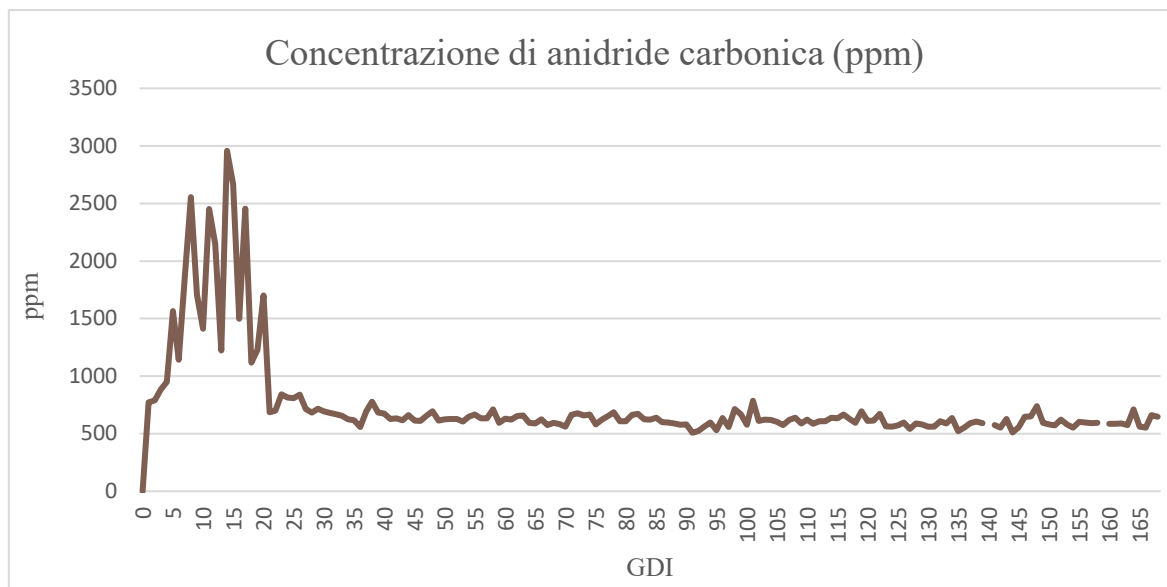


Figura 16 - Concentrazione di anidride carbonica presente all'interno della fungaia durante l'intero ciclo produttivo espresso in giorni dall'incubazione

4.1.2 Gradiente termico

La Figura 17 riporta la temperatura registrata nei vari ripiani dello scaffale suddividendoli in due macro-gruppi: ripiano PT-1P e ripiano 2P-3P. Dal grafico si evince che, durante tutta la sperimentazione, è stata rilevata una differenza di temperatura tra PT e 3P pari a 1,5 °C.

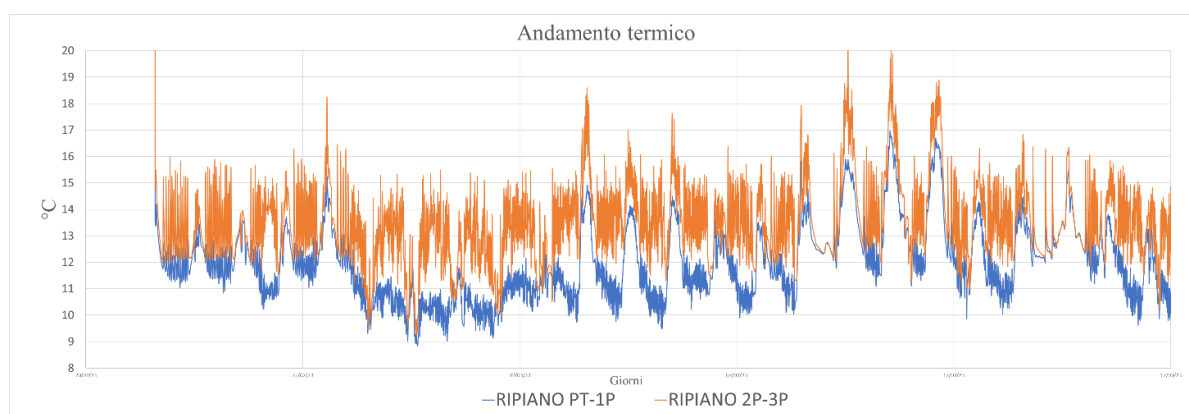


Figura 17 – Effetto della posizione sullo scaffale sulla temperatura ambientale all'interno della fungaia durante l'intera prova.

4.2 *Pleurotus cornucopiae*

4.2.1 Temperatura substrato

In Figura 18 sono riportati i valori rilevati di temperatura del substrato impiegato per la coltivazione di *P. cornucopiae* nell'arco di tutta la sperimentazione. I dati raccolti sono stati espressi rispettivamente in base alla tipologia di scaffale su cui era presente il sacco contenente il substrato. Dal grafico si evince che nei primi 20 giorni dall'incubazione la temperatura interna del substrato è stata al di sopra dei 30 °C, con un picco massimo di 36,4 °C. Nei 7 giorni successivi (fino a 27 GDI) la temperatura ha continuato a diminuire stabilizzandosi poi tra i 15 e i 20 °C. Tale temperatura è stata mantenuta fino al termine della sperimentazione. Dal grafico è possibile osservare che non sono state riscontrate differenze significative in termini di temperatura interna del substrato in funzione della disposizione dello scaffale.

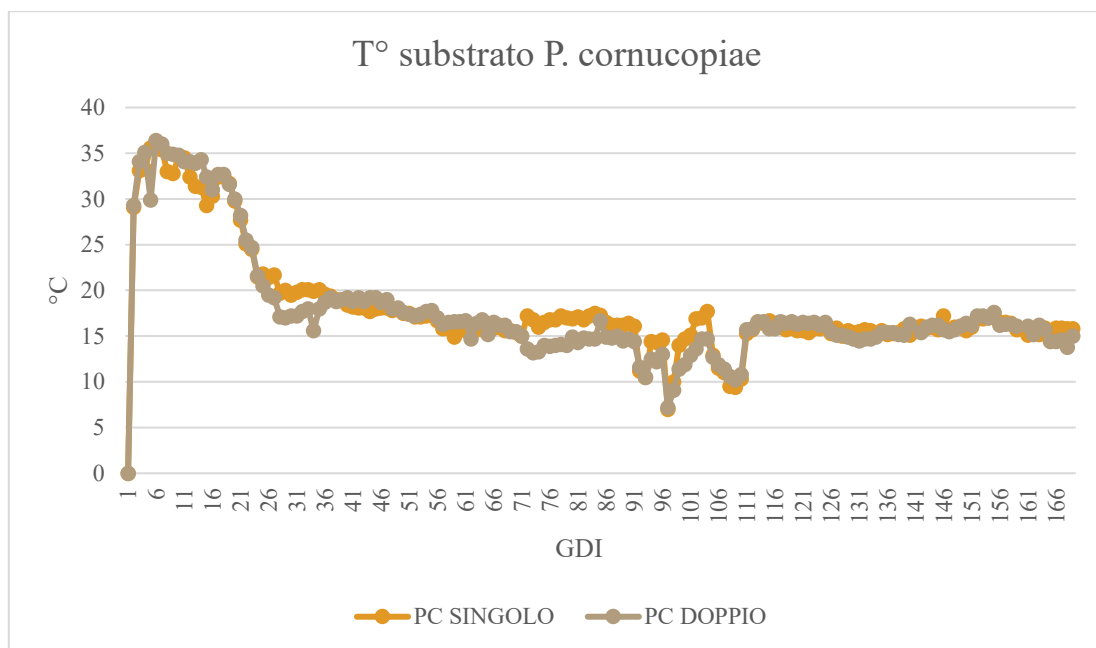


Figura 18 – Effetto della combinazione di scaffale (singolo/doppio) sulla temperatura interna del substrato nell'arco di tutta la sperimentazione.

In Figura 19 sono riportate le fotografie della temperatura dei sacchi, eseguite con la termocamera FLIR, nel periodo di incubazione. Dall'immagine è possibile osservare che, tra PT e 3P, vi sia una differenza di 4,9 °C nei sacchi presenti nello scaffale doppio e, nello scaffale singolo, una differenza di 1,9 °C. Nello scaffale doppio è possibile osservare una differenza di 1,0°C tra 2P e 3P.

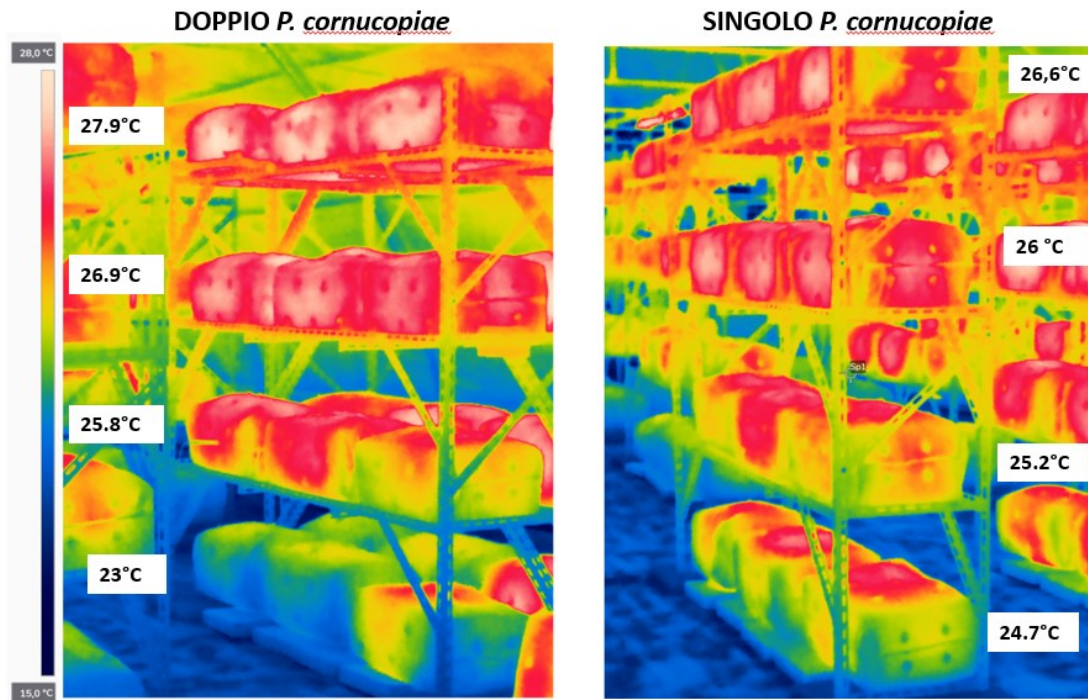


Figura 19 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del substrato di coltivazione in base alla tipologia di scaffale.

4.2.2 Primordi

In Figura 20 è riportata la comparsa dei primordi di *P. cornucopiae* in funzione dell'altezza del ripiano. La prima volata ha avuto inizio dopo 10 giorni dall'incubazione e già dopo un giorno (11 GDI) si è riscontrata una differenza statisticamente significativa tra PT e i ripiani 2P e 3P, in termini di percentuale di primordi comparsi. Nello specifico, i ripiani 2P e 3P hanno evidenziato una percentuale di primordi comparsi pari al 16%, mentre in PT del 2%. Tale differenza si è protratta fino al sedicesimo giorno dall'incubazione dove il 2P e il 3P hanno mostrato una media di primordi comparsi del 65%, mentre in PT di circa 36%. Dal diciassettesimo giorno fino alla conclusione della prima volata, che è avvenuta a 28 giorni dall'incubazione, non è stata rilevata alcuna differenza statisticamente significativa.

Durante tutta la seconda volata, che ha avuto inizio dopo 32 giorni dall'incubazione e si è conclusa a 60, non si sono riscontrate differenze statisticamente significative in termini di percentuale di primordi comparsi tra i vari ripiani. La comparsa dei primordi nel corso della seconda volata è stata graduale per tutti i ripiani e ha raggiunto un massimo del 58%.

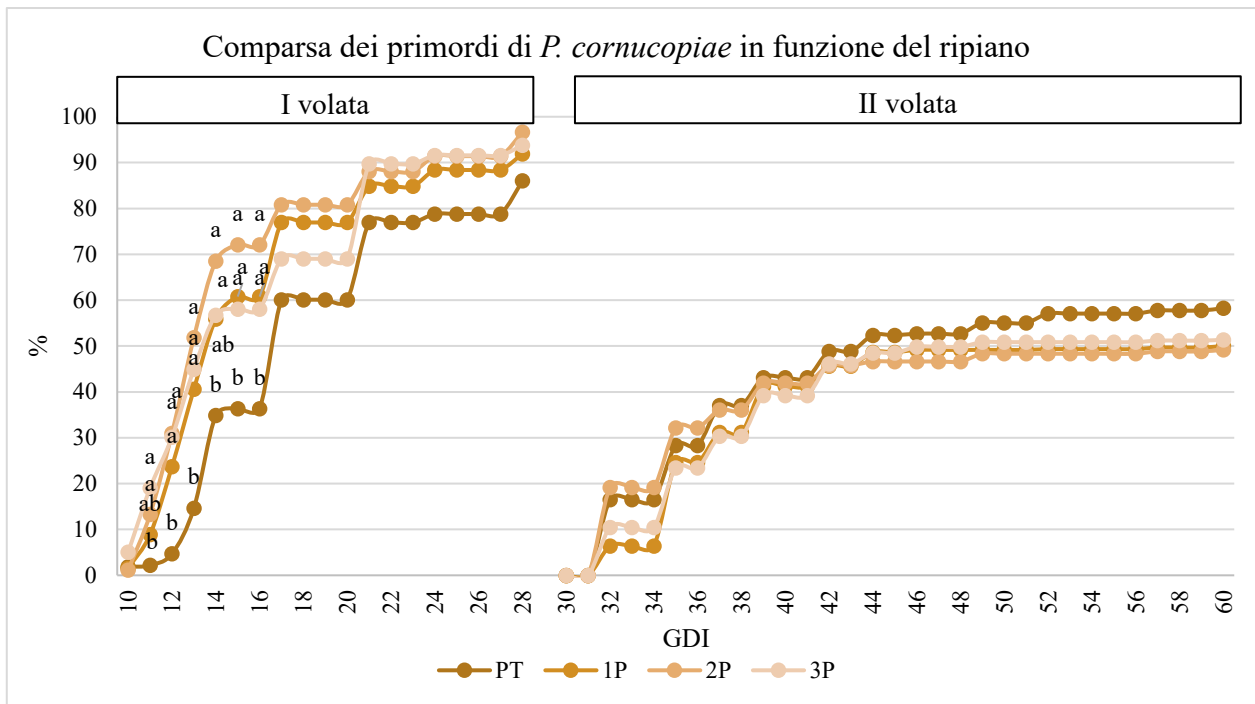


Figura 20 - Effetto del ripiano sulla produzione di primordi suddivisa per volata del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

Per quanto riguarda la comparsa dei primordi in funzione della tipologia di scaffale (Figura 21), i risultati riportano che non si è riscontrata differenza statisticamente significativa in nessuna delle due volate.

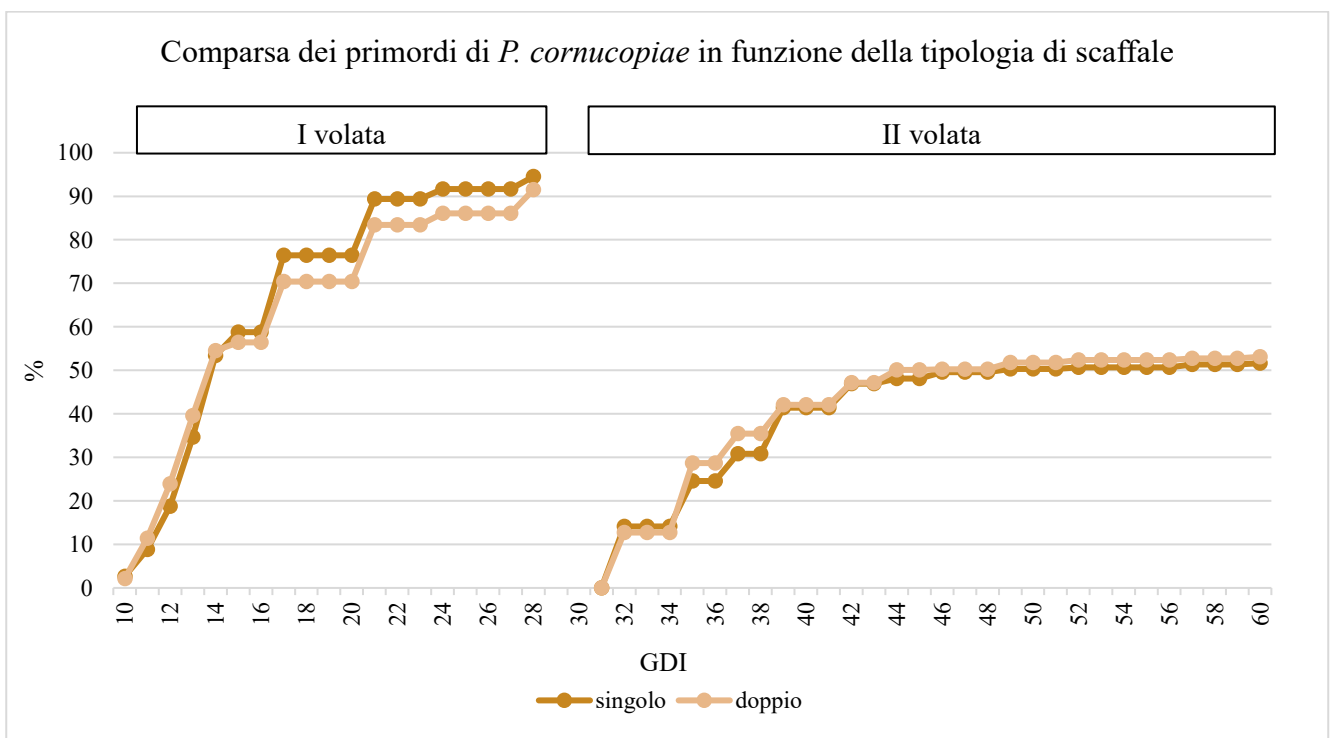


Figura 21 - Effetto della tipologia di scaffale sulla produzione di primordi suddivisa per volata del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

4.2.3 Produzione

La produzione dei corpi fruttiferi è stata valutata come rapporto tra produzione di funghi espressa in kg su kg di substrato presente nei rispettivi sacchi. In Figura 22 è possibile notare che, nella prima volata, la produzione di *P. cornucopiae* risulta significativamente diversa sui i ripiani 1P e 3P rispetto a quella ottenuta al piano terra (PT). Nello specifico, 1P e 3P hanno prodotto il 57,5% in più rispetto a PT.

Durante la seconda volata, invece, non è stata riscontrata una differenza significativa in termini produttivi in funzione del ripiano e la resa media è stata circa di 0,03 kg/kg di substrato.

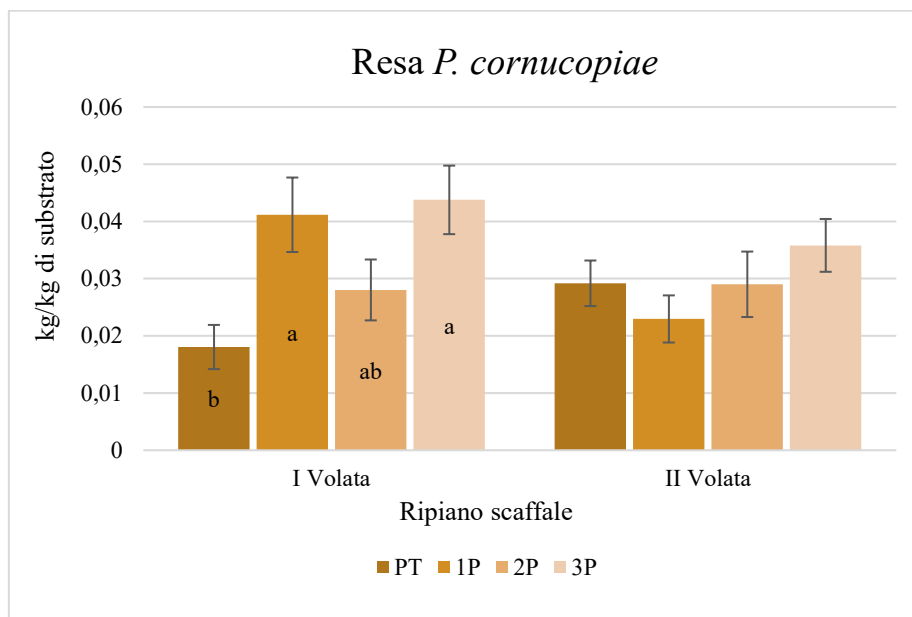


Figura 22 - Effetto sulla resa di *P. cornucopiae* per kg di substrato in funzione del ripiano. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

In figura 23 è rappresentato il grafico della resa di *P. cornucopiae* in funzione della tipologia di scaffale. Durante la prima volata, non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa in termini produttivi tra le due diverse tipologie di scaffale e la resa media è stata circa di 0,034 kg/kg di substrato.

Nella seconda volata, in modo analogo alla prima, non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa ma la resa media è stata circa di 0,031 kg/kg di substrato.

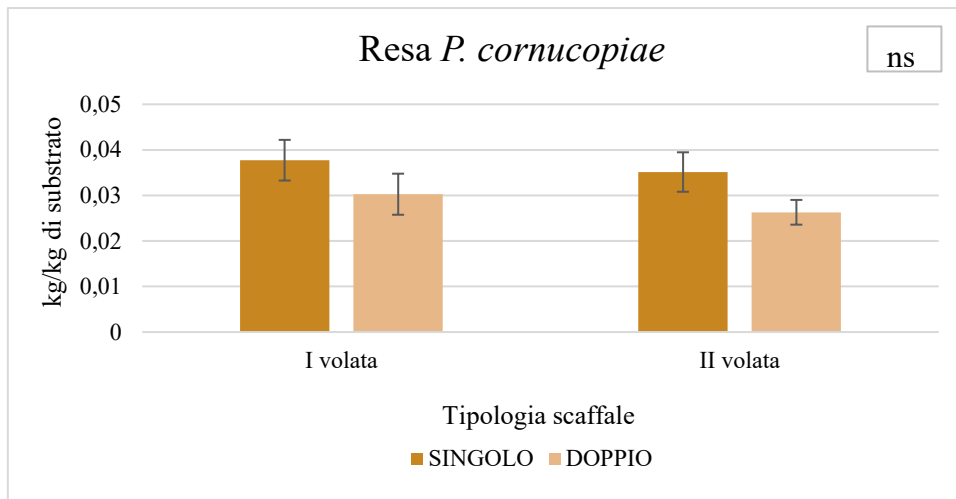


Figura 23 - Effetto sulla resa di *P. cornucopiae* per kg di substrato in funzione della tipologia di scaffale. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.4 Numero famiglie

In Figura 24 è raffigurato il grafico del numero di famiglie prodotte per sacco in funzione del ripiano dello scaffale. Nella prima volata non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra i diversi ripiani e il numero medio di famiglie su sacco ottenuto è stato circa di 11,28.

Analogamente, nella seconda volata non è stata rilevata differenza statisticamente significativa in termini di famiglie su sacco prodotte, con un valore medio pari a 6,51 famiglie/sacco.

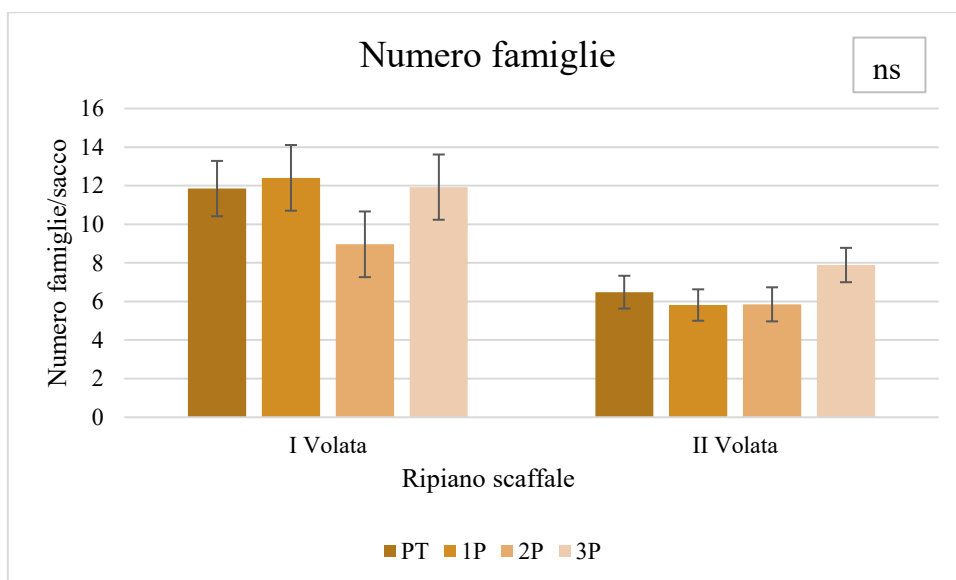


Figura 24 - Effetto del ripiano sul numero di famiglie su sacco di *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Il numero di famiglie prodotte per sacco (Figura 25) nella prima volata in funzione della disposizione dello scaffale è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a 11,22. Analogamente, nella seconda volata, non si è riscontrata differenza statisticamente significativa in termini di numero di famiglie prodotte tra le diverse tipologie di scaffali. Il valore medio ottenuto nella seconda volata è pari a 6,52.

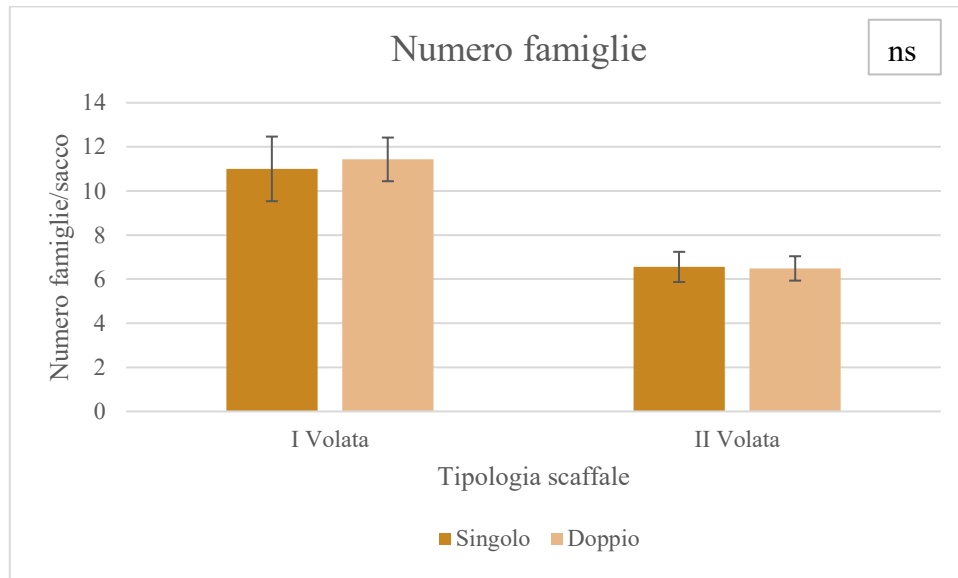


Figura 25 - Effetto della disposizione dello scaffale sul numero di famiglie su sacco di *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.5 Numero corpi fruttiferi

La Figura 26 riporta i valori relativi al numero di corpi fruttiferi in funzione del ripiano. Dal grafico si osserva che in prima volata non è emersa differenza statisticamente significativa tra i diversi ripiani, attestando un valore medio pari a 17,42 corpi fruttiferi.

Durante la seconda volata, invece, è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa tra i ripiani 2P e 3P con i ripiani PT e 1P. Nello specifico, PT e 1P hanno riscontrato un valore medio pari a 21,89 corpi fruttiferi per famiglia mentre 2P e 3P hanno rilevato un valore medio pari a 15,09, ovvero il 31% di corpi fruttiferi per famiglia in meno.

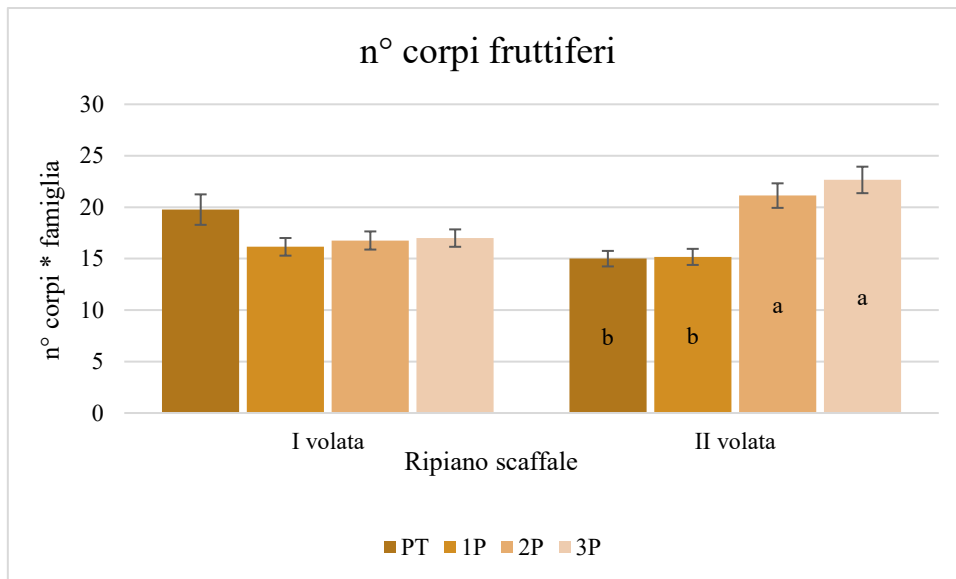


Figura 26 - Effetto del ripiano sul numero di corpi fruttiferi per famiglia di *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

In figura 27 viene è rappresentato il grafico del numero di corpi fruttiferi per famiglia in funzione della tipologia di scaffale. Dal grafico si evince che nella prima e nella seconda volata non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra le diverse tipologie di scaffale, attestando rispettivamente un valore medio pari a 17,10 e 18,64 corpi fruttiferi per famiglia.

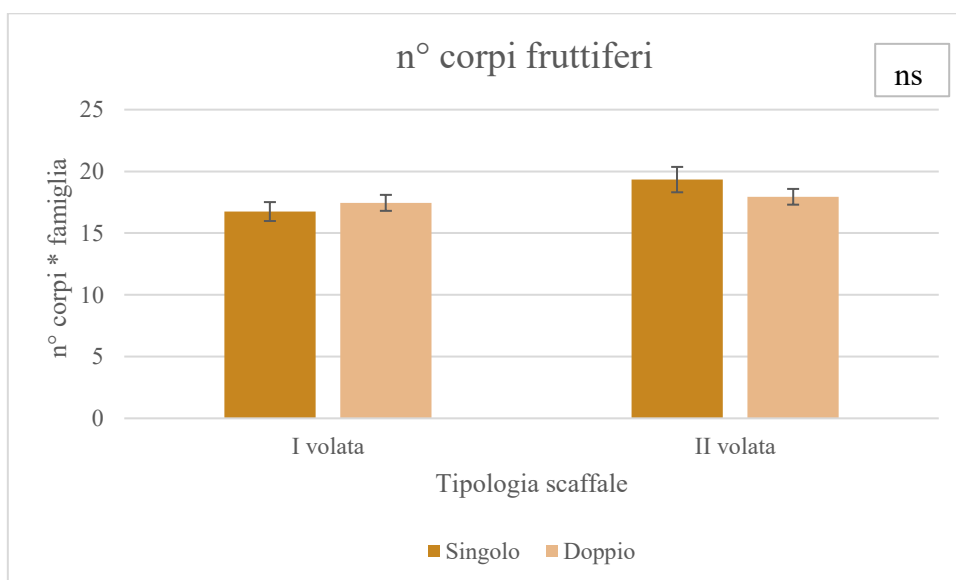


Figura 27 - Effetto della tipologia di scaffale sul numero di corpi fruttiferi per famiglia di *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.6 Diametro corpi fruttiferi

La Figura 28 riporta i valori relativi al diametro medio dei corpi fruttiferi espresso in centimetri in funzione del ripiano. Nella prima volata si nota che il diametro dei corpi fruttiferi ottenuto nei ripiani PT e 1P è stato statisticamente differente. In particolare, il diametro medio dei corpi fruttiferi ottenuti al ripiano PT è stato di circa 5,17 cm mentre quello ottenuto da 1P è stato di circa 5,95 cm, ovvero il 13,10% in meno.

Durante la seconda volata, invece, non è stata rilevata alcuna differenza statisticamente significativa tra i vari ripiani in termini di diametro dei corpi fruttiferi, attestando un valore medio pari a 4,62 cm.

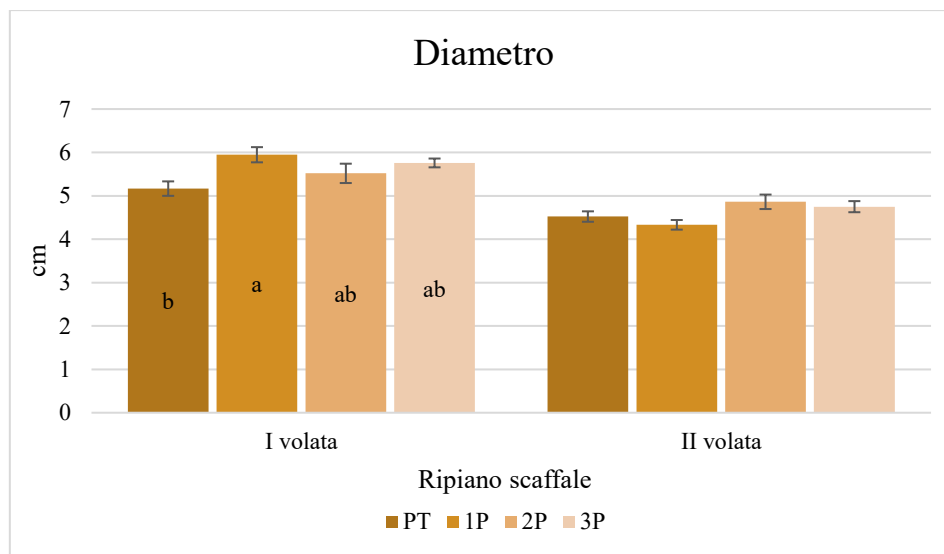


Figura 28 - Effetto del ripiano sul diametro dei corpi fruttiferi di *P. cornucopiae* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

In Figura 29 sono riportati i valori relativi al diametro medio dei corpi fruttiferi espresso in centimetri in funzione della tipologia di scaffale. Dal grafico si evince che nella prima e nella seconda volata non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra le diverse tipologie di scaffale, attestando rispettivamente un valore medio pari a 5,69 cm e 4,57 cm.

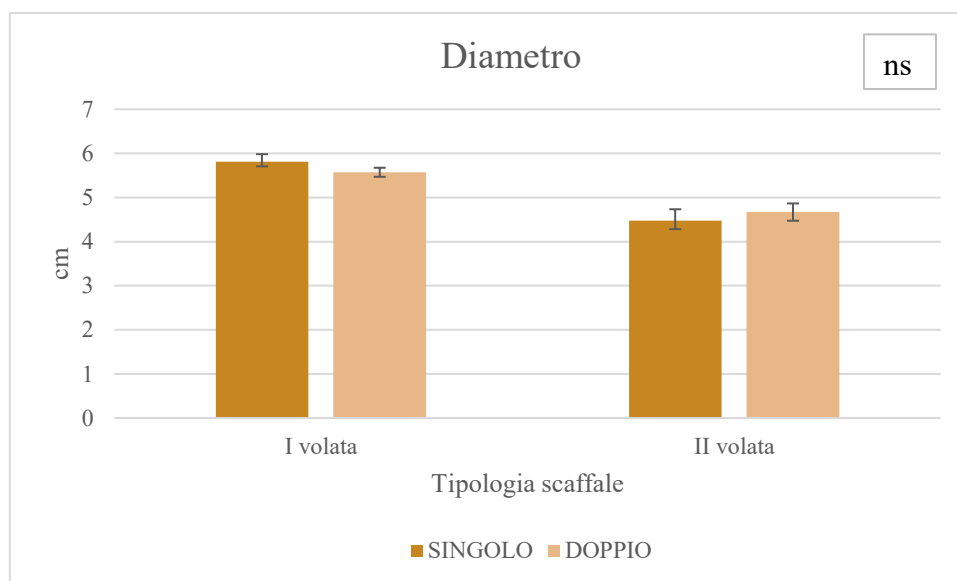


Figura 29 - Effetto della tipologia di scaffale sul diametro dei corpi fruttiferi di *P. cornucopiae* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.7 Spessore corpi fruttiferi

In Figura 30 è stato espresso lo spessore medio dei corpi fruttiferi espresso in millimetri in base al ripiano. Dal grafico si evince che, sia nella prima che nella seconda volata, non è stata rilevata alcuna differenza statisticamente significativa tra i diversi ripiani, attestando rispettivamente un valore medio pari a 5,36 mm e 3,73 mm.

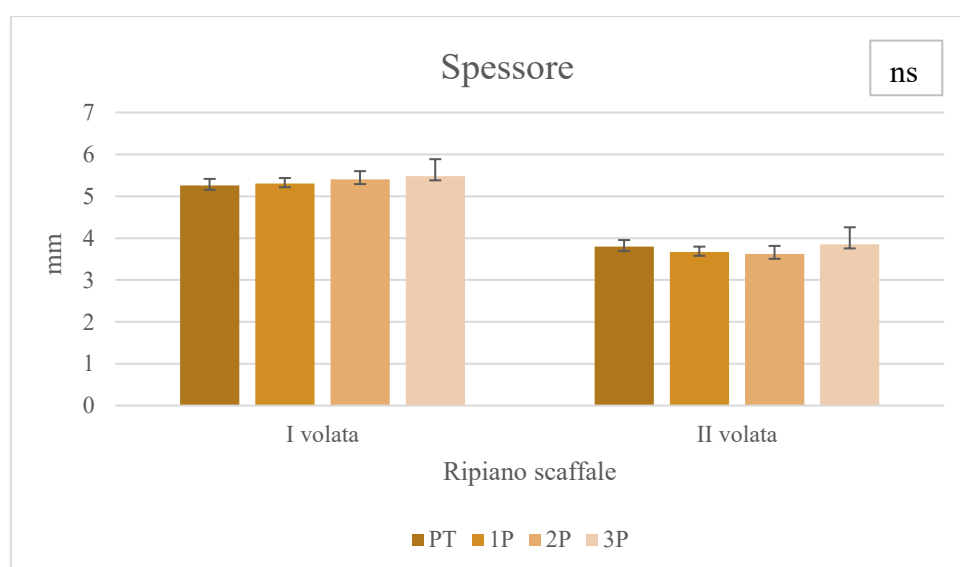


Figura 30 - Effetto del ripiano sullo spessore dei corpi fruttiferi di *P. cornucopiae* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Lo spessore medio dei corpi fruttiferi (Figura 31) nella prima volata, in funzione della disposizione dello scaffale, è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a 5,40 mm. Allo stesso modo, anche nella seconda volata non si è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra le diverse tipologie di scaffali. Lo spessore medio dei corpi fruttiferi ottenuto nella seconda volata è pari a 3,70 mm.

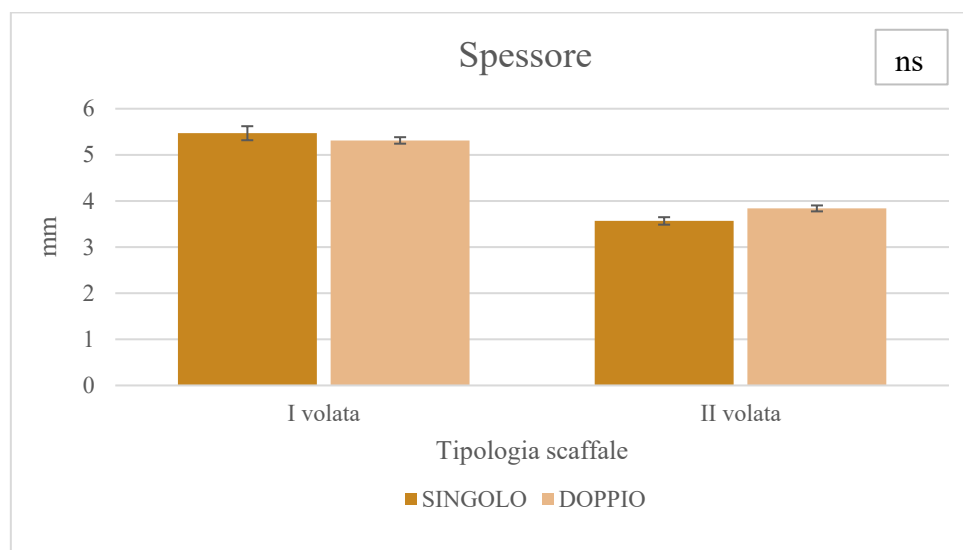


Figura 31 - Effetto della tipologia di scaffale sullo spessore dei corpi fruttiferi di *P. cornucopiae* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.8 Valori L* a* b*

In Tabella 1 sono riportati i valori medi di L* a* e b* ottenuti nelle due volate in funzione del ripiano e della tipologia di scaffale. Per i vari trattamenti sono stati espressi in formato RGB con relativo colore associato. Nella prima volata non sono state rilevate differenze statisticamente significative per entrambi i trattamenti, eccetto per il valore L* dove è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa tra i risultati ottenuti dai diversi ripiani.

Nella seconda volata, invece, sono state riscontrate differenze statisticamente significative. Per il valore L* sono state rilevate differenze altamente significative sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale. I valori che sono stati rilevati nei ripiani 2P e 3P sono statisticamente superiori rispetto a quelli ottenuti dai ripiani PT e 1P, attestando rispettivamente un valore medio pari 81,85 e a 77,05. Analogamente, nello scaffale doppio sono stati riscontrati valori statisticamente superiori rispetto a quelli ottenuti dallo scaffale singolo.

Per quanto riguarda il valore a*, invece, sono state constatate differenze altamente significative solo in funzione del ripiano mentre non sono state riscontrate per il secondo fattore allo studio. Nello

specifico, nei ripiani PT e 3P sono stati rilevati dei dati statisticamente maggiore rispetto a 1P e 2P, considerandoli in valore assoluto. Infine, per il valore b* che misura la gamma di colore che va dal giallo al blu, dalla tabella si evince che vi sono delle differenze significative in funzione del ripiano e delle differenze altamente significative in funzione della tipologia di scaffale. Nello specifico, è stato riscontrato che PT ha registrato il valore maggiore, pari a 33,4. Inoltre, dalla tabella, si osserva che il valore rilevato dallo scaffale singolo è stato statisticamente superiore rispetto a quello doppio.

Tabella 1 – Effetto del ripiano e della tipologia di scaffale sui valori L* a* b*. “*” p-value > 0,05, “**” p-value < 0,01 e “***” p-value < 0,001, secondo il test di Tukey.

	I VOLATA				II VOLATA			
	L	a*	b*	RGB	L	a*	b*	RGB
PT	84.3	-6.0	27.2		76.4	-6.3	33.4	
1P	82.4	-6.6	29.3		77.7	-5.6	30.4	
2P	83.5	-6.2	28.1		81.9	-5.8	29.8	
3P	83.9	-6.5	29.1		81.8	-6.0	30.3	
p-value	*	ns	ns		***	**	*	
SINGOLO	82.5	-6.3	28.9		77.4	-5.8	33.1	
DOPPIO	83.9	-6.4	28.4		80.3	-6.0	30.0	
p-value	ns	ns	ns		***	ns	**	

4.2.9 Efficienza biologica

I dati ottenuti dalla produzione hanno permesso di ricavare l'efficienza biologica. In Figura 32 sono riportati i valori percentuali di efficienza biologica in funzione del ripiano. Il grafico evidenzia che al ripiano 3P sono stati rilevati valori statisticamente maggiori rispetto a PT e 1P, attestando rispettivamente un valore medio pari a 30,47% e 19,96%. Nello specifico 3P ha riscontrato un'efficienza biologica del 34,49% maggiore rispetto a PT e 1P.

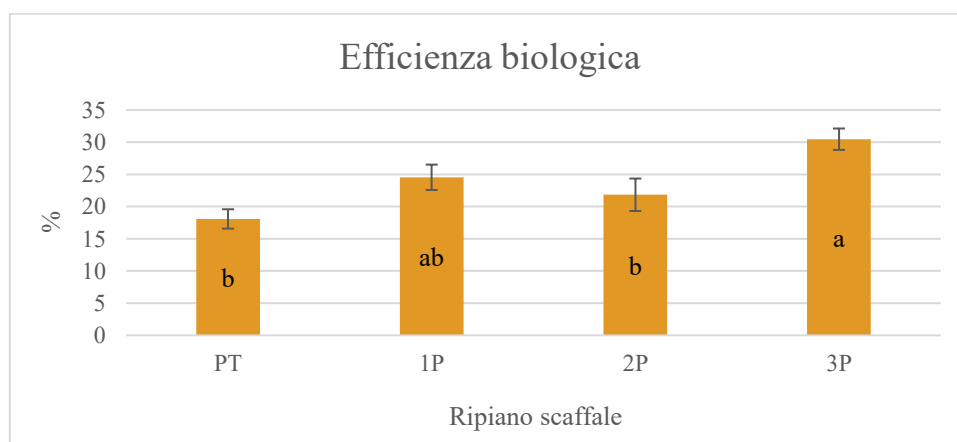


Figura 32 – Effetto del ripiano sull'efficienza biologica totale del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Considerando l'efficienza biologica ottenuta in funzione della tipologia di scaffale, come riportato in Figura 33, non sono state riscontrate differenze significative. Complessivamente lo scaffale singolo ha determinato un'efficienza biologica media del 25,06% mentre quello doppio ha ottenuto valore medio del 23,07%.

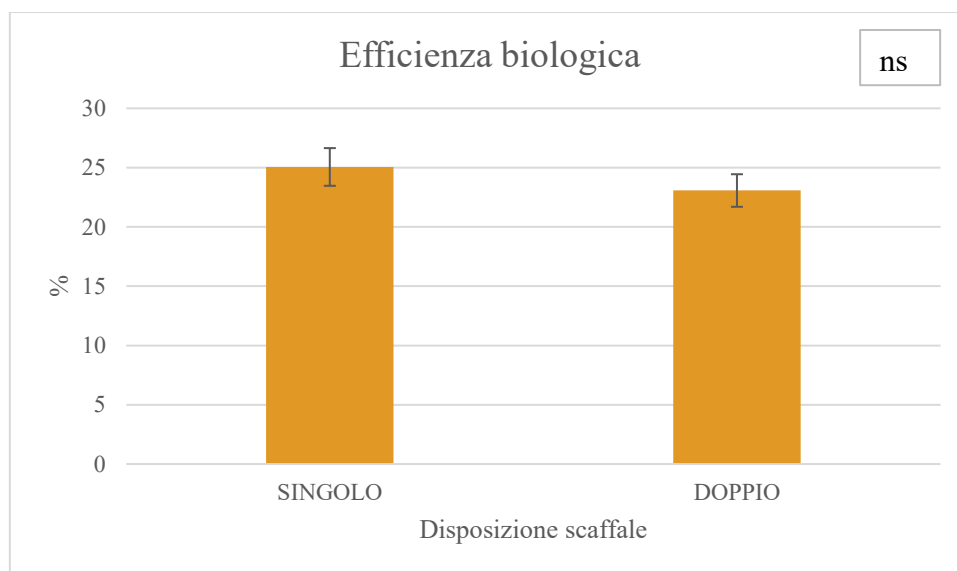


Figura 33 – Effetto della tipologia di scaffale sull'efficienza biologica totale del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.10 Efficienza del substrato

I dati ottenuti dalla produzione hanno permesso di ricavare l'efficienza del substrato. Quest'ultima è ottenuta dal rapporto percentuale tra la produzione cumulata delle due volate e il peso "fresco" del substrato. In Figura 34 sono riportati i valori percentuali di efficienza del substrato in funzione del ripiano. Dal grafico si evince che i valori rilevati al ripiano 3P sono stati statisticamente differenti rispetto a quelli riscontrati da PT e 2P, affermando rispettivamente un valore medio pari a 7,96% e 5,21%. In particolare, i valori rilevati ai ripiani PT e 2P sono stati inferiori del 34,49% rispetto a quelli ottenuti da 3P.

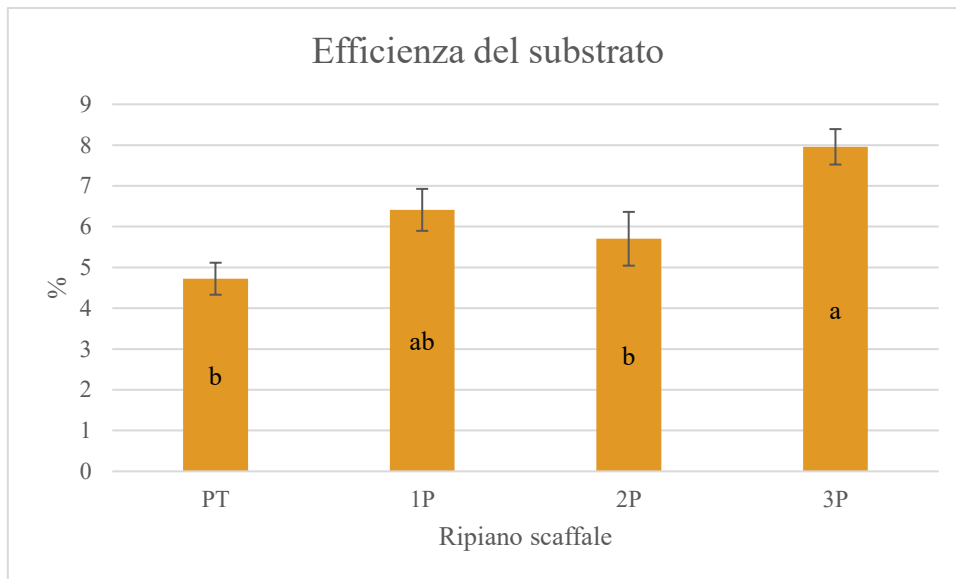


Figura 34 – Effetto del ripiano sull'efficienza del substrato totale del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Come mostrato in Figura 35, i valori percentuali di efficienza del substrato in funzione della tipologia di scaffale sono stati statisticamente non differenti. Dal grafico si evince che lo scaffale singolo ha rilevato valori medi pari a 6,54% mentre quello doppio pari a 6,03%.

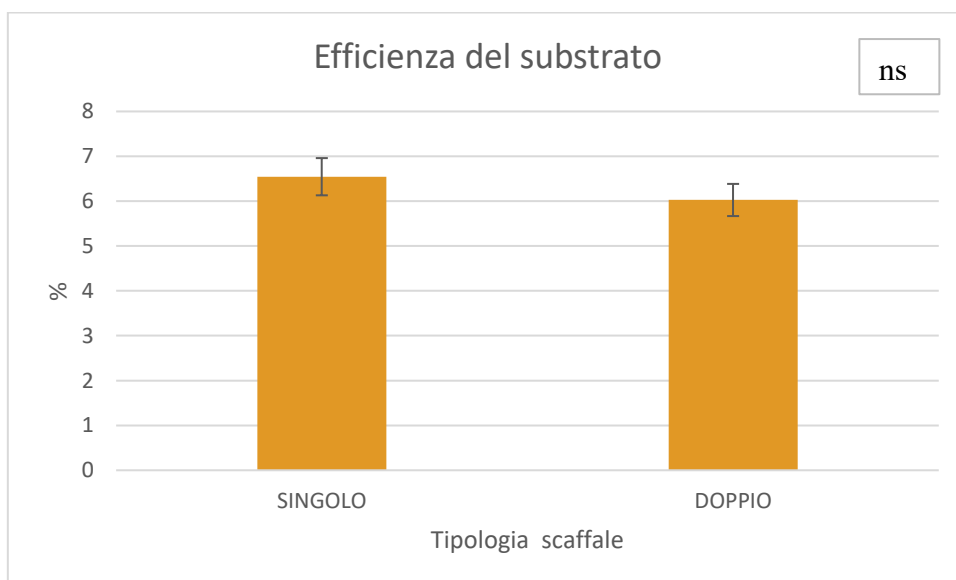


Figura 35 – Effetto della tipologia di scaffale sull'efficienza del substrato totale del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.2.11 Analisi qualitative

In tabella 2 sono riportati i valori relativi alle analisi qualitative in funzione della tipologia di scaffale divisi per volata. Il contenuto di solidi solubili rilevato non ha differito statisticamente in alcuna volata, ponendo un valore medio pari a 7,13 °Brix e a 7,42 °Brix, rispettivamente nella prima e nella seconda volata. Analogamente, i valori di pH rilevati sono stati statisticamente non differenti, ottenendo un valore medio pari a 6,86 nella prima volata e pari a 6,64 nella seconda. La conducibilità elettrica non è stata statisticamente differente in entrambe le volate, attestando rispettivamente valori medi pari a 6,97 e a 7,08 mS/cm. Similmente, i valori di acidità titolabile rilevati sono stati statisticamente non differenti, ponendo un valore medio pari a 0,18 e a 0,25 mg ac. citrico/100ml rispettivamente per la prima e per la seconda volata.

Tabella 2 – Effetto della tipologia di scaffale sui parametri qualitativi (pH, conducibilità elettrica, solidi solubili, acidità titolabile e sostanza secca) suddiviso per volata del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

VOLATA	TIPOLOGIA SCAFFALE	SOLIDI SOLUBILI °BRIX	pH	CONDUCIBILITA' ELETTRICA mS/cm	ACIDITA' TITOLABILE mg ac. citrico/100 ml
I	Singolo	7,07	6,85	6,94	0,19
	Doppio	7,20	6,87	6,99	0,17
II	Singolo	7,17	6,63	7,07	0,24
	Doppio	7,67	6,65	7,09	0,26

4.2.12 Analisi antiossidanti totali e fenoli totali

Il contenuto di antiossidanti totali (Tabella 3) in base alla tipologia di scaffale non ha differito statisticamente in alcuna volata, ponendo un valore medio nella prima volata di 928,81 e nella seconda di 1535,58 mg Fe²⁺E kg⁻¹ ps. Analogamente, il contenuto dei fenoli totali valutato non è risultato statisticamente differente, attestando un valore medio nella prima volata di 60,72 e nella seconda di 72,26 mg GAE kg⁻¹ ps.

Tabella 3 – Effetto della tipologia di scaffale sulla attività antiossidante totale e sul contenuto di fenoli totali suddiviso per volata del *P. cornucopiae*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

VOLATA	TIPOLOGIA SCAFFALE	ATTIVITA' ANTIOSSIDANTE TOTALE mg Fe ²⁺ eq*kg ⁻¹ ps	FENOLI TOTALI mg GAE kg ⁻¹ ps
I	Singolo	939,57	68,57
	Doppio	918,06	52,88
II	Singolo	1596,96	72,17
	Doppio	1474,20	72,36

4.3 *Pleurotus ostreatus*

4.3.1 Temperatura substrato

In Figura 36 sono riportati i valori rilevati di temperatura del substrato impiegato per la coltivazione di *P. ostreatus* nell'arco di tutta la sperimentazione. I dati raccolti sono stati espressi in base alla tipologia di scaffale su cui era presente il sacco contenente il substrato. Dal grafico è possibile notare che nei primi 19 giorni dall'incubazione la temperatura interna del substrato è stata al di sopra dei 25 °C, con un picco massimo di 36,6 °C . Negli 8 giorni successivi (fino a 27 GDI) la temperatura ha continuato a diminuire stabilizzandosi poi tra i 15 e i 20 °C. Tale temperatura è stata mantenuta fino al termine della sperimentazione. Dal grafico è possibile osservare che non sono state riscontrate differenze significative in termini di temperatura interna del substrato in funzione della disposizione dello scaffale.

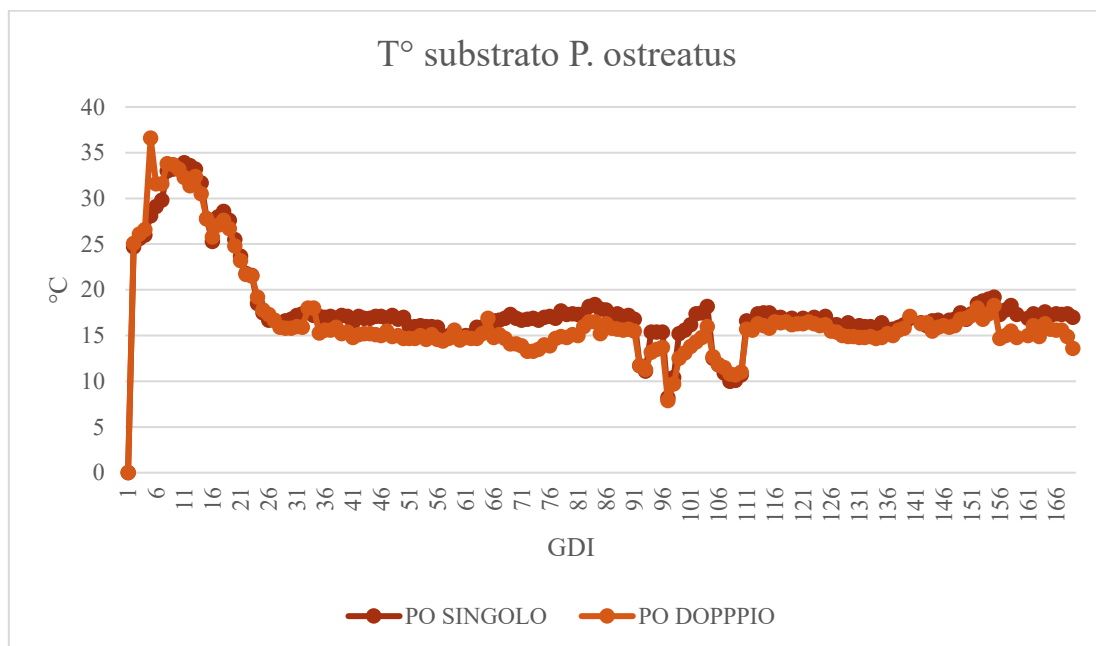


Figura 36 – temperatura interna del substrato nell'arco di tutta la sperimentazione suddivisa per tipologia di scaffale.

In Figura 37 sono riportate le fotografie della temperatura dei sacchi, eseguite con la termocamera FLIR, nel periodo di incubazione. Dall'immagine è possibile osservare come, tra PT e 3P, vi sia una differenza di temperatura 4,0 °C nei sacchi presenti nello scaffale doppio e, nei sacchi presenti nello scaffale singolo, una differenza di 4,2 °C.

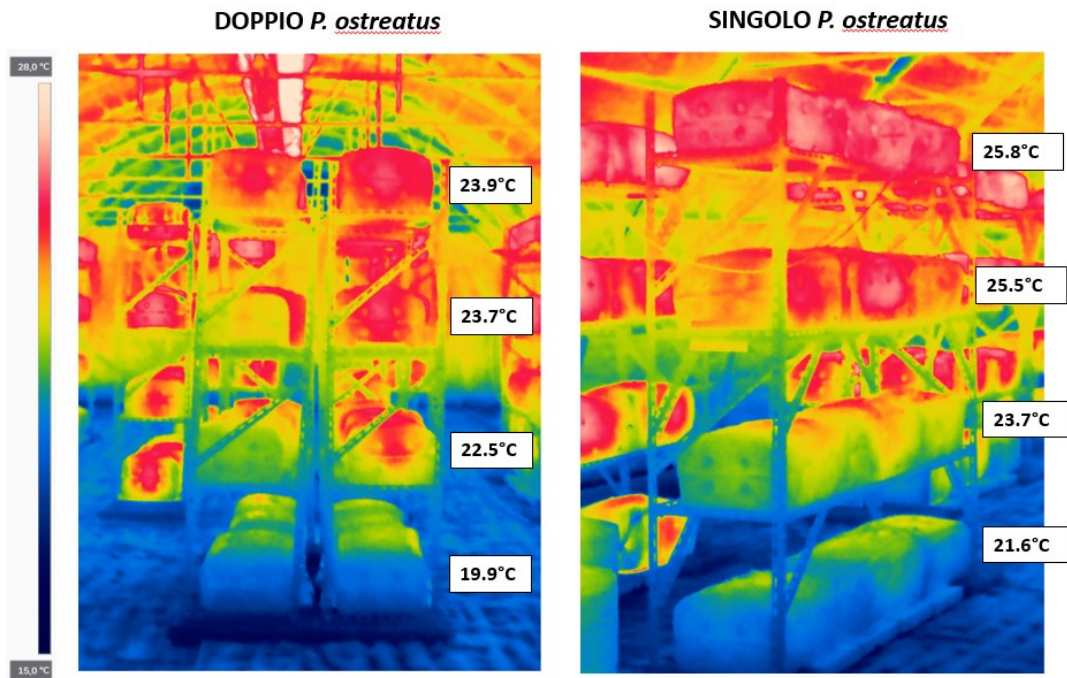


Figura 37 – Fotografia termica che rappresenta la temperatura (°C) del substrato di coltivazione in base alla tipologia di scaffale.

4.3.2 Primordi

La comparsa dei primordi di *P. ostreatus* ha avuto inizio dopo 21 giorni dall'incubazione (Figura 38). Durante la maggior parte della prima volta sono state rilevate differenze statisticamente significative, in termini di percentuale di primordi comparsi, in funzione del ripiano. Dal ventiduesimo giorno dall'incubazione, infatti, il 3P contava già l'86% di primordi comparsi mentre 1P e 2P contavano mediamente il 48% e PT solo il 9%. In seguito, dopo 24 giorni dall'incubazione, è stato riscontrato che 3P, 2P ed 1P sono statisticamente non differenti diversamente da PT. Dal ventinovesimo giorno dall'incubazione fino alla conclusione della prima volata (avvenuta dopo 33 GDI), la percentuale di primordi comparsi in tutti i ripiani si avvicina sempre di più verso il 100% rendendo così statisticamente non differenti i ripiani.

La seconda volata di *P. ostreatus* ha avuto inizio il quarantanovesimo giorno dall'incubazione e la comparsa dei primordi si è protratta fino all'ottantaduesimo. Nei primi sette giorni della seconda volata non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra i vari ripiani. Al cinquantasettesimo giorno dall'incubazione è stato rilevato un aumento percentuale di primordi comparsi nei ripiani PT e 1P, diversamente dal ripiano 2P dove l'aumento è stato poco significativo, a tal punto da poterli distinguere statisticamente. Al termine della seconda volata è possibile osservare come la percentuale di primordi comparsi ai ripiani PT e 1P sia statisticamente differente rispetto a quella di 2P e 3P. Nello specifico, i ripiani PT e 1P hanno circa il 31% di primordi comparsi in più rispetto a 2P e 3P.

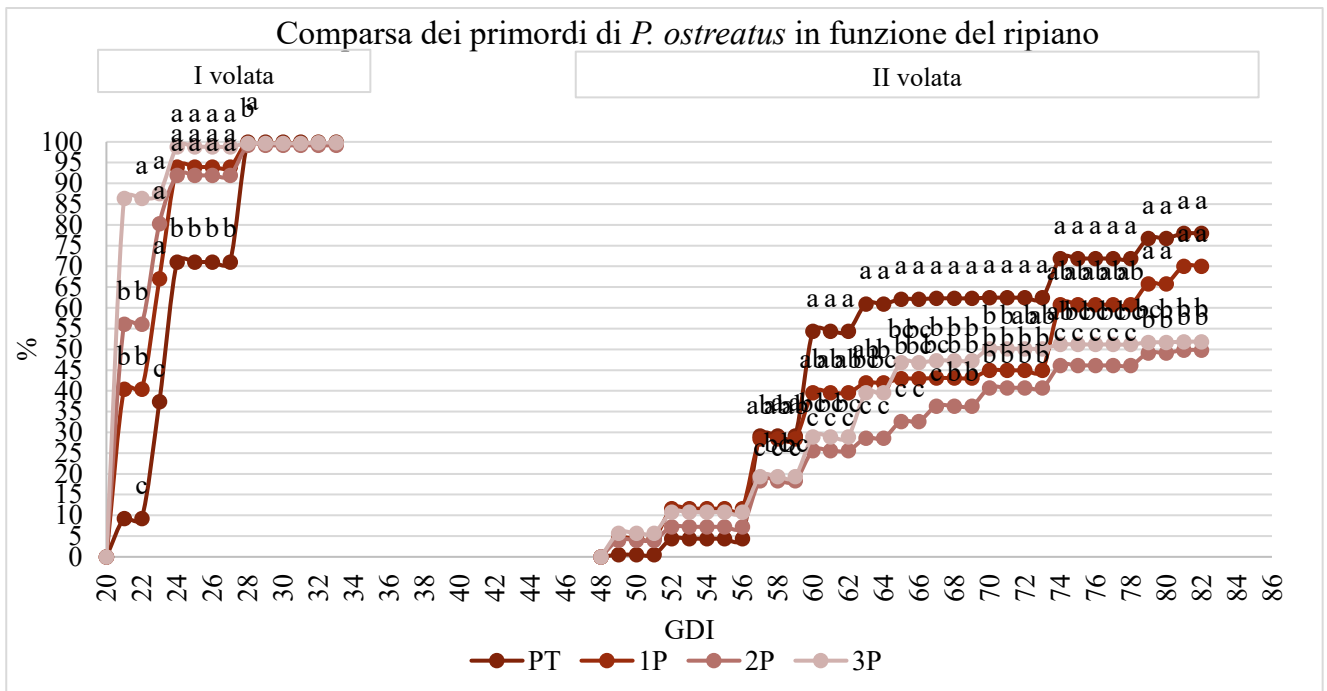


Figura 38 - Effetto del ripiano di scaffale sulla produzione di primordi suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

In Figura 39 è raffigurata la comparsa dei primordi di *P. ostreatus* in funzione della tipologia di scaffale. Nella prima volata, dopo 24 giorni dall'incubazione, è possibile notare che lo scaffale singolo presenta una percentuale di primordi comparsi significativamente maggiore rispetto a quello doppio. Tale differenza è stata mantenuta per i successivi 4 giorni e si è annullata nei successivi 3 quando la comparsa dei primordi si è avvicinata al 100% per entrambi i moduli.

Anche nella seconda volata è stato possibile osservare una differenza statisticamente significativa in termini di percentuale di primordi comparsi tra i due diversi moduli. Nello specifico, lo scaffale singolo ha avuto una percentuale di primordi comparsi superiore rispetto a quello doppio per la maggior parte della seconda volata. Al termine della volata, lo scaffale singolo ha evidenziato una percentuale di primordi comparsi del 15% superiore rispetto a quella di quello doppio.

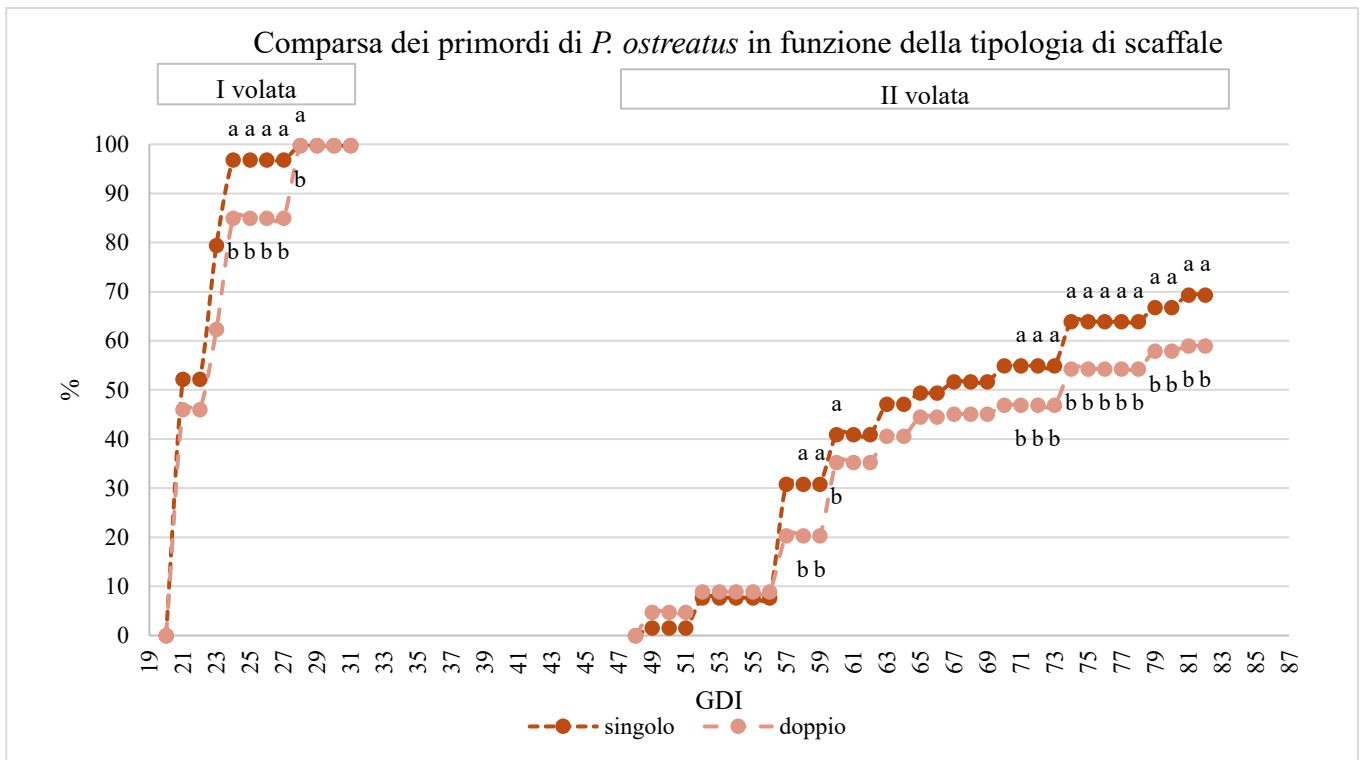


Figura 39 - Effetto della tipologia di scaffale sulla produzione di primordi suddivisa per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ($p\text{-value} < 0,05$), secondo il test di Tukey.

4.3.3 Produzione

In Figura 40 è rappresentato il grafico della resa di *P. ostreatus*. Nella prima volata si nota che la produzione del PT è statisticamente maggiore rispetto a quella del 2P e 3P. In particolare, la produzione di PT è di circa 0,20 kg/kg di substrato contrariamente a quella relativa a 2P e 3P che risulta essere rispettivamente di circa 0,16 e 0,155 kg/kg di substrato.

Dal grafico si evince inoltre che durante la seconda volata la produzione del 3P è stata significativamente minore rispetto a quella di PT e 1P. Nello specifico, 3P ha prodotto il 18% in meno rispetto a PT e 1P.

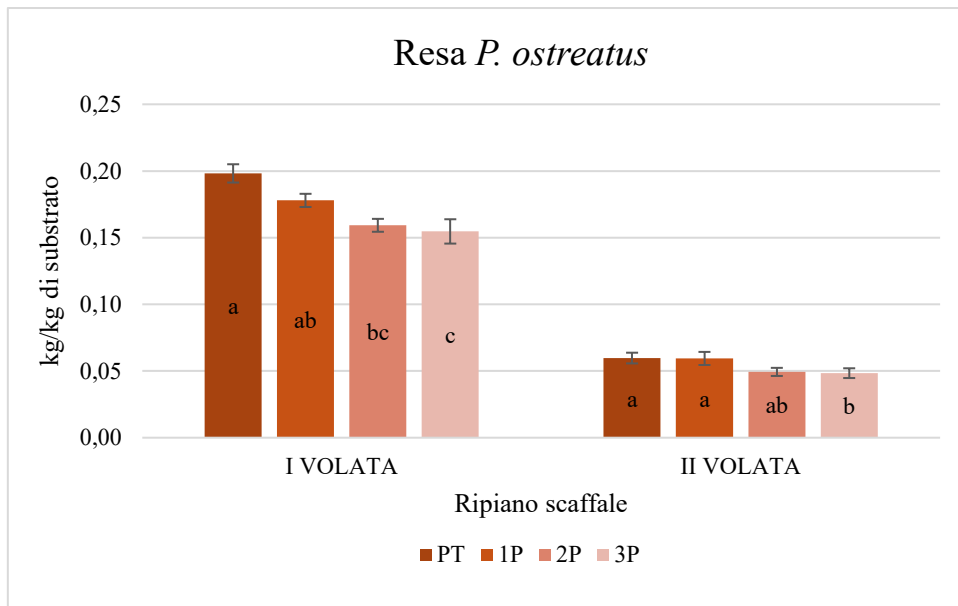


Figura 40 - Effetto sulla resa di *P. ostreatus* per kg di substrato in funzione del ripiano. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

In Figura 41 è rappresentato il grafico della resa di *P. ostreatus* in funzione della tipologia di scaffale. Durante la prima volata, non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa in termini produttivi tra le due diverse tipologie di scaffale e la resa media è stata circa di 0,17 kg/kg di substrato. Nella seconda volata, come già osservato nella prima, non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa e la resa media è stata circa di 0,05 kg/kg di substrato.

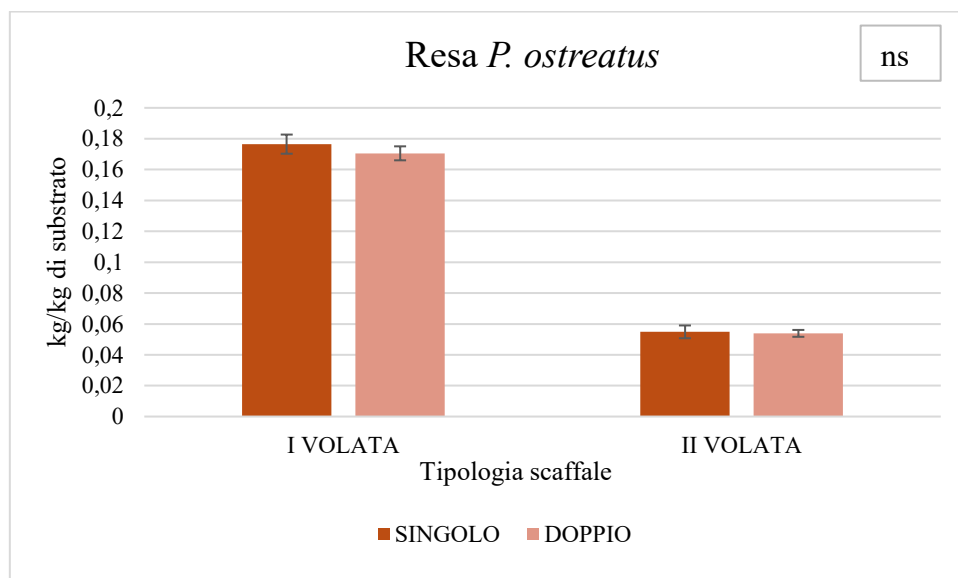


Figura 41 - Effetto sulla resa di *P. ostreatus* per kg di substrato in funzione della tipologia di scaffale. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.3.4 Numero famiglie

In Figura 42 è stato espresso il numero di famiglie su sacco medio rispettivamente in base al ripiano dello scaffale. Dal grafico si evince che, nella prima volata, il numero di famiglie su sacco prodotto da PT è stato statisticamente differente rispetto a 3P. Nello specifico, la produzione di PT in termini di famiglie su sacco è stata di circa 20,14 mentre quella di 3P è stata di circa 21,14 , ovvero il 4,72% in più.

Al contrario, nella seconda volata non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa in termini di numero di famiglie prodotte su sacco in funzione del ripiano ed il valore medio ottenuto è stato di 6,70.

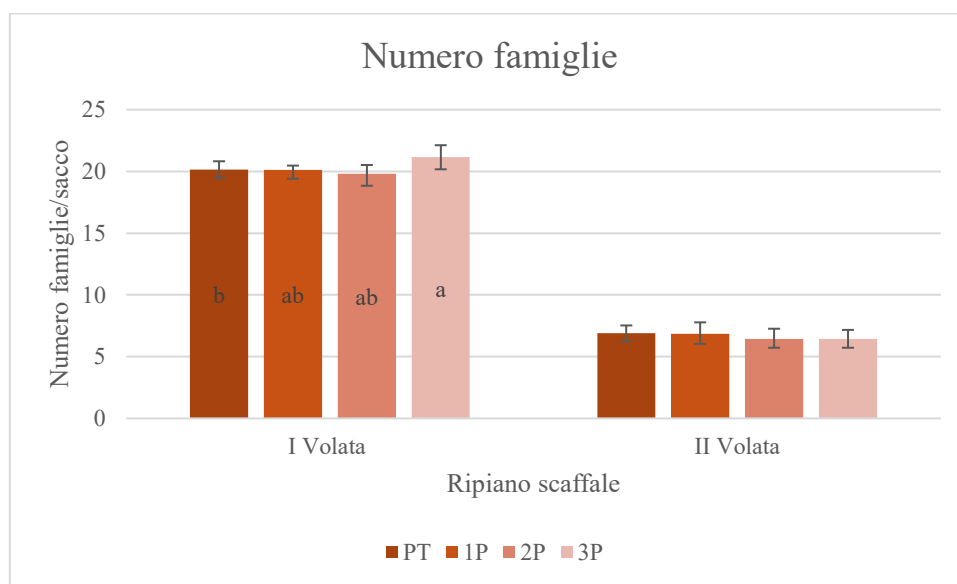


Figura 42 - Effetto del ripiano sul numero di famiglie su sacco di *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie ($p\text{-value} < 0,05$), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Come mostrato in Figura 43, il numero di famiglie prodotte per sacco nella prima volata in funzione della tipologia di scaffale è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a 20,34. Analogamente, anche nella seconda volata, non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa in termini di numero di famiglie prodotte su sacco tra le diverse tipologie di scaffali. Il valore medio ottenuto nella seconda volata è pari a 6,74 famiglie/sacco.

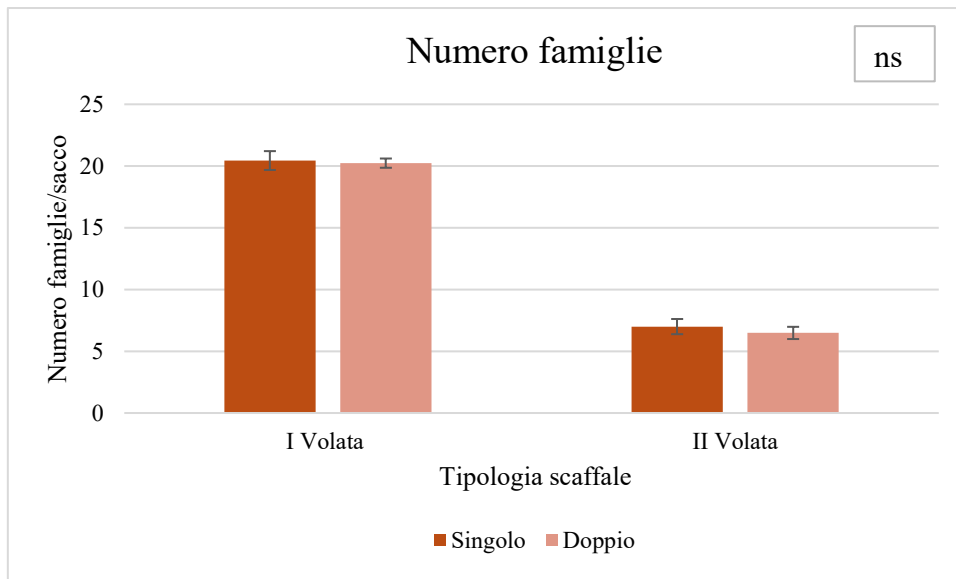


Figura 43 - Effetto della tipologia di scaffale sul numero di famiglie su sacco di *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie ($p\text{-value} < 0,05$), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.3.5 Numero corpi fruttiferi

La Figura 44 riporta i valori relativi al numero di corpi fruttiferi in funzione del ripiano. Dal grafico si evince che, nella prima volata, il numero di corpi fruttiferi per famiglia prodotti da 3P è statisticamente maggiore rispetto quello prodotto da PT e 1P. In particolare, 3P ha prodotto mediamente 12,65 di corpi fruttiferi per famiglia mentre PT e 1P solo 10,25, ovvero circa il 19% in meno rispetto a 3P.

Anche nella seconda volata il numero di corpi fruttiferi per famiglia prodotti da 3P è stato statisticamente maggiore rispetto quello prodotto da PT e 1P. In questo caso però, 3P ha prodotto circa il 25% in più di corpi fruttiferi per famiglia.

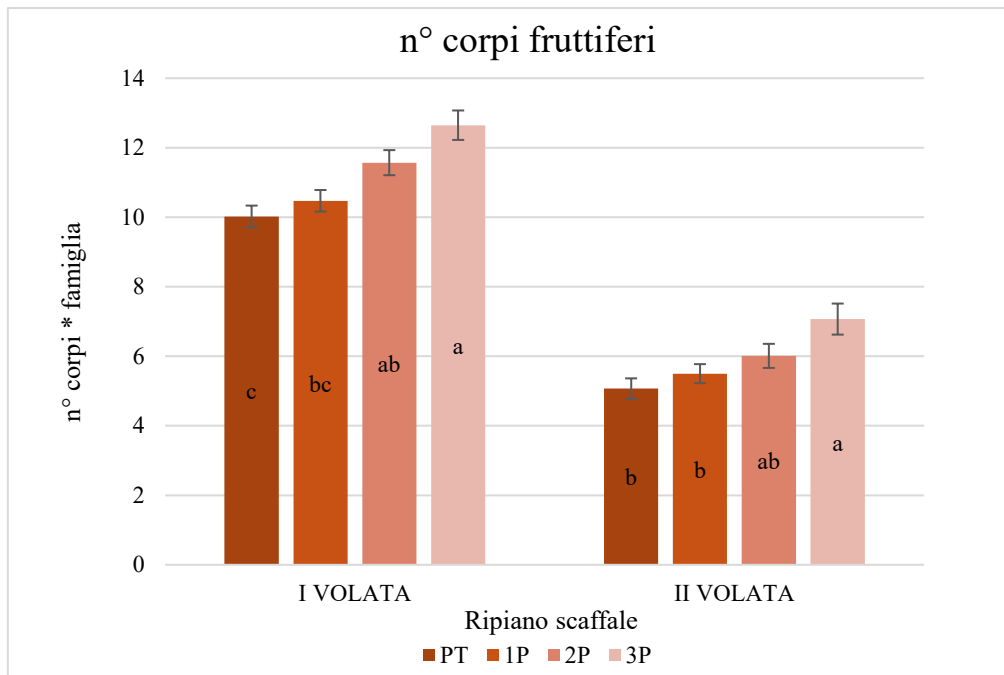


Figura 44 - Effetto del ripiano sul numero di corpi fruttiferi per famiglia di *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

In figura 45 viene è rappresentato il grafico del numero di corpi fruttiferi per famiglia in funzione della tipologia di scaffale. Il grafico dimostra che nella prima e nella seconda volata non sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra le diverse tipologie di scaffale, attestando rispettivamente un valore medio pari a 11,10 e 5,85 corpi fruttiferi per famiglia.

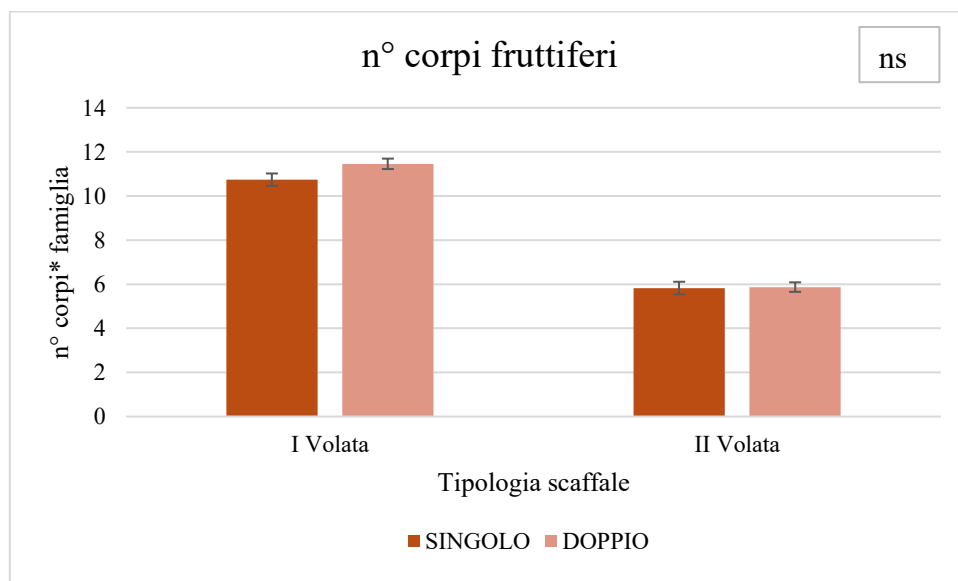


Figura 45 - Effetto della tipologia di scaffale sul numero di corpi fruttiferi per famiglia di *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.3.6 Diametro corpi fruttiferi

La Figura 46 riporta i valori relativi al diametro medio dei corpi fruttiferi espresso in centimetri in funzione del ripiano. Dal grafico è possibile notare che, nella prima volata, non è stata rilevata alcuna differenza statisticamente significativa tra i vari ripiani, attestando un valore medio pari a 8,99 cm. Nella seconda volata, al contrario, è stata rilevata una differenza statisticamente significativa tra PT e i ripiani 2P e 3P. Nello specifico, il diametro medio dei corpi fruttiferi ottenuti al ripiano PT è stato di circa 14,10 cm mentre quello ottenuto da 2P e 3P è stato rispettivamente 12,63 cm e 11,50 cm. Il grafico mette inoltre in evidenza che è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa tra 1P e 3P. In particolare, 1P ha prodotto dei corpi fruttiferi aventi un diametro medio maggiore di 1,52 cm rispetto a quelli prodotti da 3P.

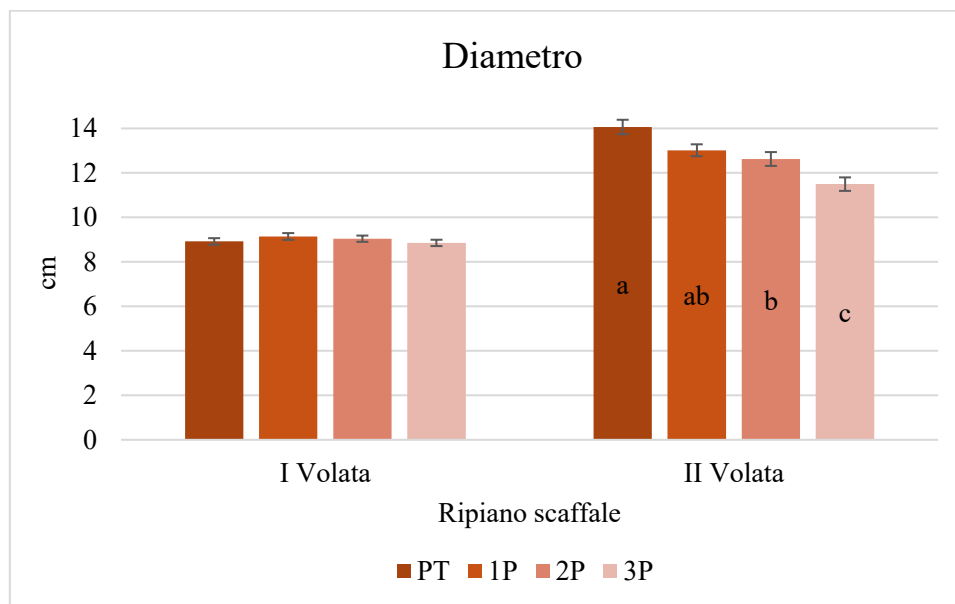


Figura 46 - Effetto del ripiano sul diametro dei corpi fruttiferi di *P. ostreatus* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Come mostrato in Figura 47, il diametro medio dei corpi fruttiferi ottenuto nella prima volata in funzione della disposizione dello scaffale è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a 9,02 cm. Analogamente, anche nella seconda volata, non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa in termini di diametro medio dei corpi fruttiferi prodotti tra le diverse tipologie di scaffali. Il valore medio ottenuto nella seconda volata è pari a 12,81 cm.

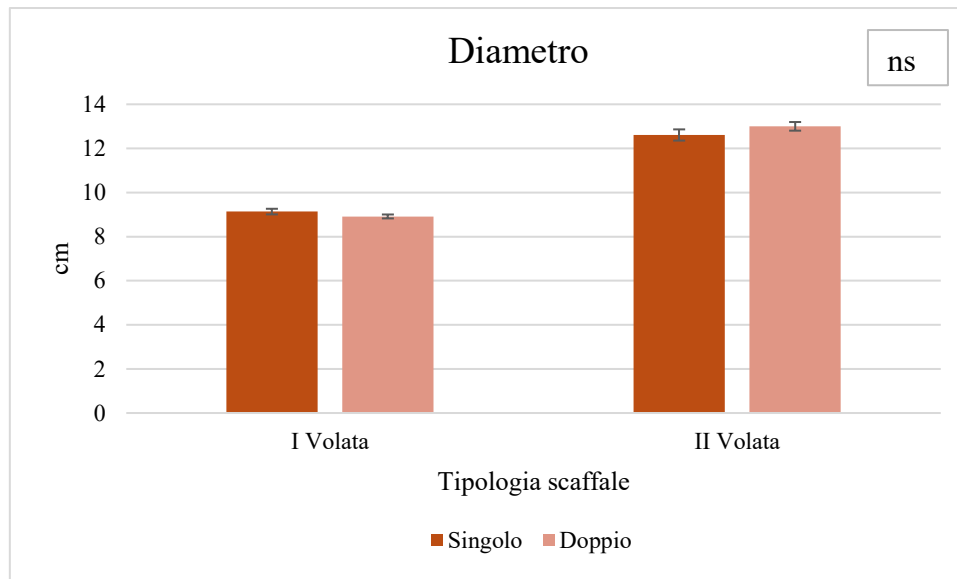


Figura 47 - Effetto della tipologia di scaffale sul diametro dei corpi fruttiferi di *P. ostreatus* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.3.7 Spessore corpi fruttiferi

In Figura 48 è stato espresso lo spessore medio dei corpi fruttiferi espresso in millimetri in base al ripiano. Il grafico evidenzia che sono state rilevate differenze statisticamente significative tra i ripiani e, in prima volata, 3P ha ottenuto lo spessore più alto rispetto agli altri trattamenti, mentre PT il più basso. Nello specifico lo spessore medio dei corpi fruttiferi prodotti da PT è stato di 4,98 mm, quello di 1P e 2P è stato mediamente di 5,82 e quello di 3P è stato 6,26 mm. Lo spessore medio dei corpi fruttiferi prodotti da 3P è stato 1,28 mm superiore rispetto quelli prodotti da PT.

Analogamente, nella seconda volata è stata rilevata una differenza statisticamente significativa in termini di spessore medio dei corpi fruttiferi prodotti tra i diversi ripiani. Nello specifico, i corpi fruttiferi prodotti dai ripiani 2P e 3P hanno presentato uno spessore maggiore del 10,7% rispetto a quelli prodotti da PT e 1P, ovvero una differenza di 0,51 mm.

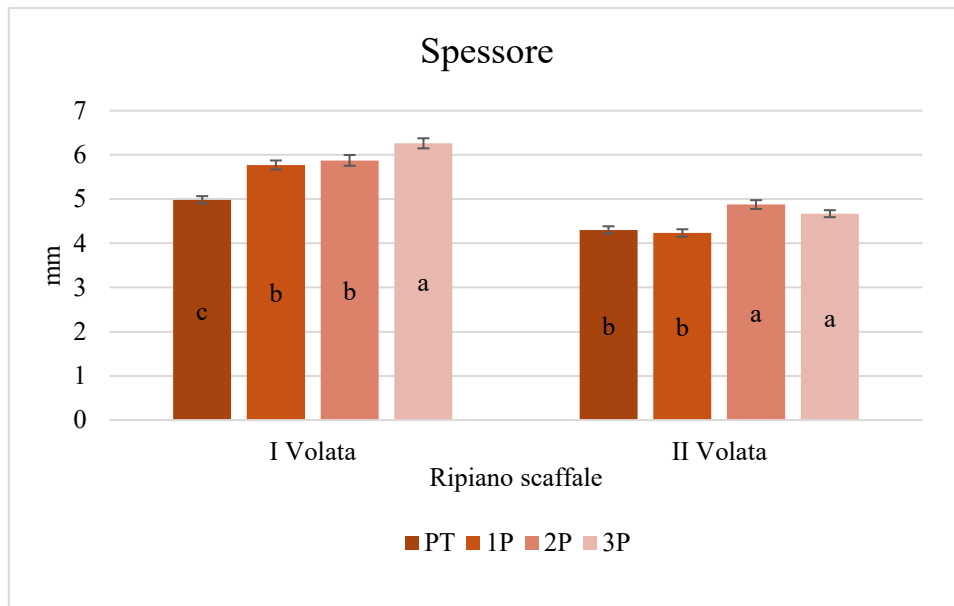


Figura 48 - Effetto del ripiano sullo spessore dei corpi fruttiferi di *P. ostreatus* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Lo spessore medio dei corpi fruttiferi (Figura 49) nella prima volata, in funzione della disposizione dello scaffale, è stato statisticamente non differente, con un valore medio pari a 5,75 mm. Lo stesso si può notare anche nella seconda volata, dove non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa tra le diverse tipologie di scaffali. Lo spessore medio dei corpi fruttiferi ottenuto nella seconda volata è pari a 4,80 mm.

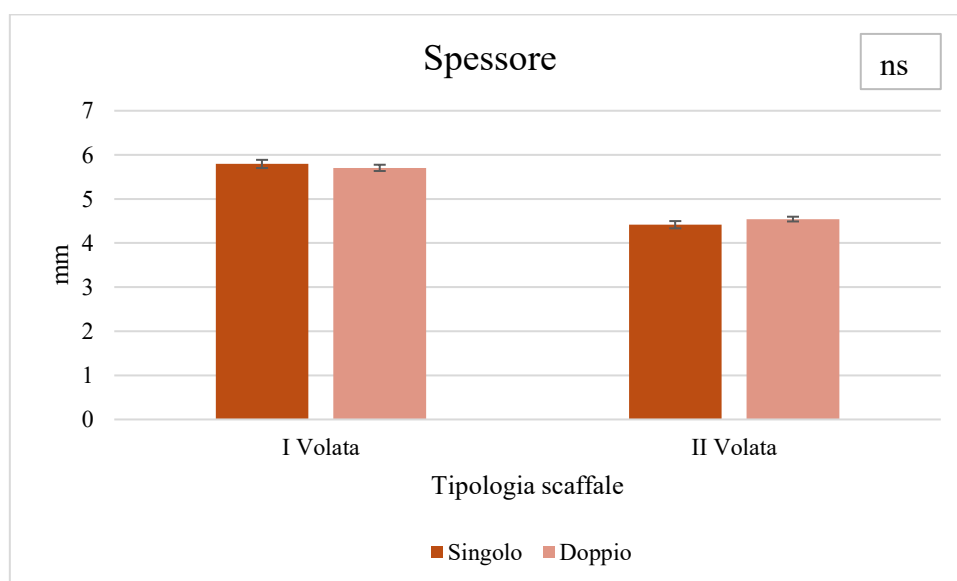


Figura 49 - Effetto della tipologia di scaffale sullo spessore dei corpi fruttiferi di *P. ostreatus* prodotti. Lettere diverse indicano differenza significativa tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.3.8 Valori L^* a^* b^*

In Tabella 4 sono riportati i valori medi di L^* a^* e b^* rilevati nelle due volate in funzione del ripiano e della tipologia di scaffale, i quali sono stati espressi in formato RGB con relativo colore associato. Nella prima volata sono state rilevate differenze altamente significative per tutti e tre i valori analizzati sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale.

Per il valore L^* , i valori rilevati dai ripiani 2P e 3P sono stati statisticamente maggiori rispetto a PT e 1P. In particolare, i valori medi sono stati rispettivamente 70,55 (valore medio per i ripiani 2P e 3P), 62,8 e 66,4. Da questi dati è stato possibile affermare che all'aumentare dell'altezza i corpi fruttiferi prodotti si presentavano più chiari poiché il valore L^* determina la luminosità con una scala da 0 (nero) a 100 (bianco). Analogamente, nello scaffale doppio sono stati riscontrati valori statisticamente superiori rispetto a quello singolo. Nello specifico, sono stati rilevati rispettivamente valori pari a 68,3 e 66,3. Per quanto riguarda il valore a^* , sono state constatate differenze altamente significative sia in funzione del ripiano che della disposizione dello scaffale. Dalla tabella, contrariamente dal valore L^* , si osserva che i dati rilevati dai ripiani PT e 1P sono stati statisticamente maggiori rispetto a quelli ottenuti da 2P e 3P. Allo stesso modo, lo scaffale singolo ha riscontrato dati statisticamente superiori rispetto a quello doppio, attestando rispettivamente dei valori medi pari a 2,0 e 1,9. Infine, anche per il valore b^* sono state rilevate differenze statisticamente significative in funzione dei due trattamenti.

Nella seconda volata, invece, sono state riscontrate differenze altamente significative per tutti e tre i valori solo in funzione del primo trattamento, eccetto per il valore b^* dove sono state rilevate anche in funzione della tipologia di scaffale. L'andamento dei valori in funzione del ripiano è stato analogo a quello riscontrato nella prima volata: per il valore L^* , i dati rilevati dai ripiani 2P e 3P sono stati statisticamente maggiori rispetto a PT e 1P; considerando il valore a^* , i dati rilevati dai ripiani PT e 1P sono stati statisticamente maggiori rispetto a quelli ottenuti da 2P e 3P; per quanto riguarda il valore b^* , il dato maggiore è stato rilevato da 2P, affermando un valore medio pari a 13,4.

I valori L^* e a^* ottenuti in funzione della tipologia di scaffale, contrariamente, sono stati statisticamente non differenti, attestando rispettivamente un valore medio pari a 72,95 e 1,65. Per quanto riguarda il valore b^* , i dati rilevati nello scaffale singolo sono stati statisticamente minori rispetto a quello doppio.

Tabella 4 – Effetto del ripiano e della tipologia di scaffale sui valori L* a* b*. “*” p-value>0,05, “**” p-value < 0,01 e “***” p-value <0,001, secondo il test di Tukey.

	I VOLATA				II VOLATA			
	L*	a*	b*	RGB	L*	a*	b*	RGB
PT	62.8	2.4	8.9		71.5	1.8	11,9	
1P	66.4	2.1	10.5		72.7	1.7	12,3	
2P	70.4	1.7	11.2		75.5	1.5	13,4	
3P	70.7	1.6	10.6		73.4	1.4	12,3	
p-value	***	***	***		***	***	***	
SINGOLO	66.3	2.0	9.9		72.2	1.7	12,1	
DOPPIO	68.3	1.9	10.5		73.7	1.6	12,6	
p-value	***	**	**		ns	ns	*	

4.5.3 Efficienza biologica

In Figura 50 sono rappresentati i valori percentuali di efficienza biologica in funzione del ripiano. Dal grafico si evince che sono state riscontrate differenze significative tra PT e i ripiani 2P e 3P. Nello specifico, i valori riscontrati da PT sono stati del 20,19% maggiori rispetto a quelli rilevati da 2P e 3P. Analogamente, sono state rilevate differenze statisticamente significative tra 1P e 3P. In particolare, i valori rilevati sono stati rispettivamente pari a 63,10% e a 54%.

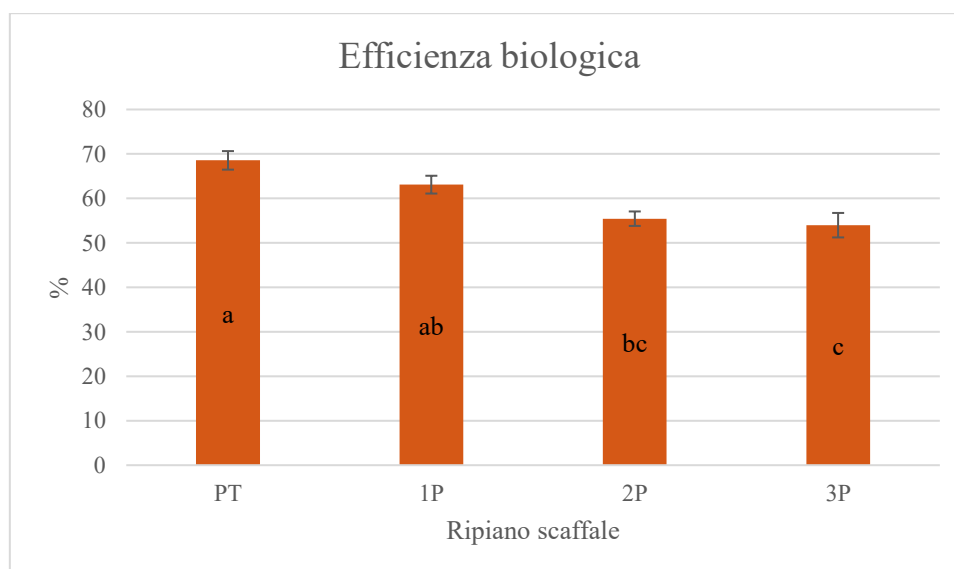


Figura 50 – Effetto del ripiano sull’efficienza biologica totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p-value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l’errore standard.

Considerando l'efficienza biologica ottenuta in funzione della tipologia di scaffale, come riportato in Figura 51, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative. Complessivamente lo scaffale singolo ha determinato un'efficienza biologica media del 61,50% mentre quello doppio ha ottenuto valore medio del 59,66%.

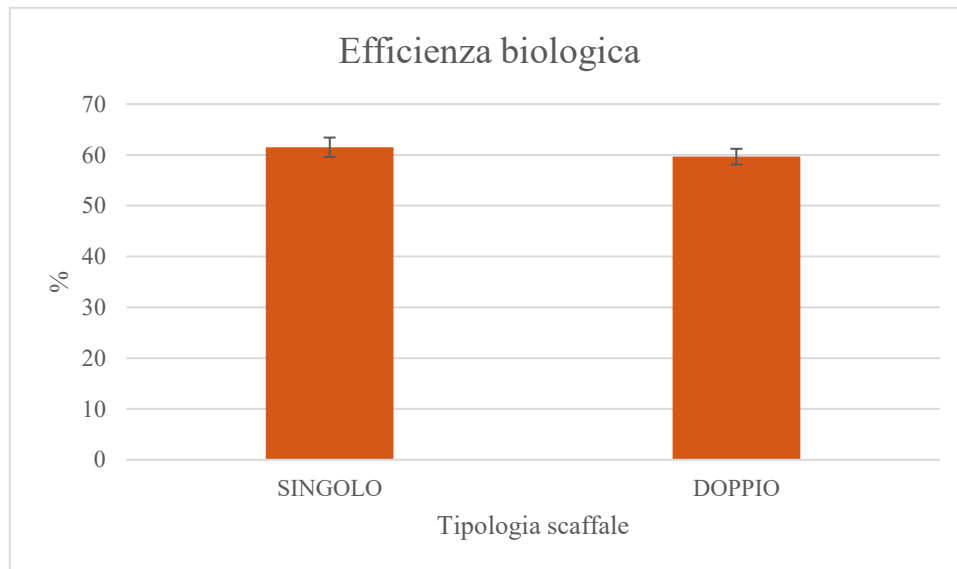


Figura 51 – Effetto della tipologia di scaffale sull'efficienza biologica totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.5.4 Efficienza del substrato

In Figura 52 sono riportati i valori percentuali di efficienza del substrato in funzione del ripiano. Dal grafico si evince che i valori rilevati al ripiano PT sono stati statisticamente differenti rispetto a quelli riscontrati da 2P e 3P, affermando rispettivamente un valore medio pari a 25,80% e 20,58%. In particolare, i valori rilevati ai ripiani 2P e 3P sono stati inferiori del 20,19% rispetto a quelli ottenuti da 3P. Analogamente, sono state rilevate differenze statisticamente significative tra 1P e 3P. Nello specifico, i valori rilevati sono stati rispettivamente pari a 23,74% e a 20,31%.

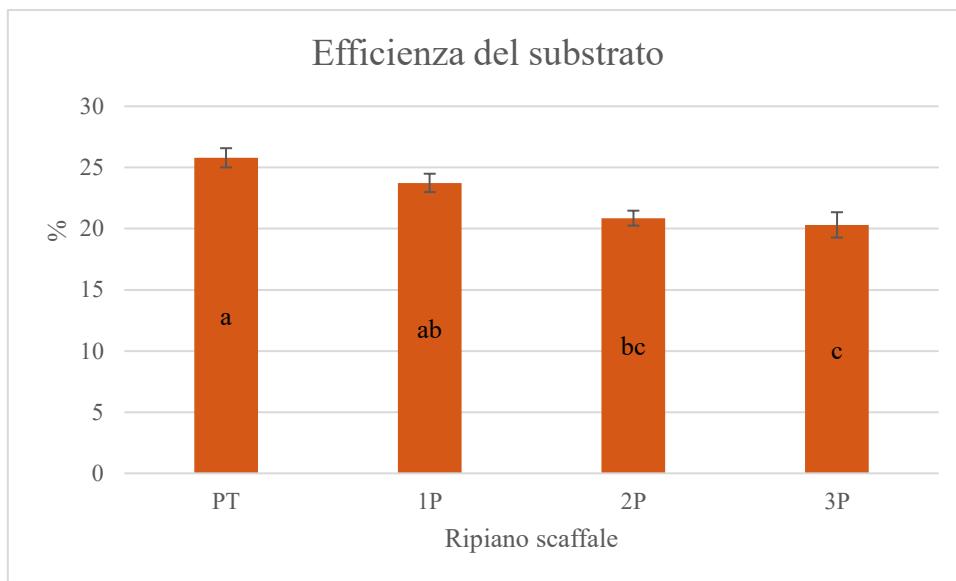


Figura 52 – Effetto del ripiano sull'efficienza del substrato totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ($p\text{-value} < 0,05$), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

Considerando l'efficienza del substrato ottenuta in funzione della tipologia di scaffale, come riportato in Figura 53, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative. Complessivamente lo scaffale singolo ha determinato un'efficienza del substrato totale pari a 23,13% mentre quello doppio ha ottenuto valore pari a 22,44%.

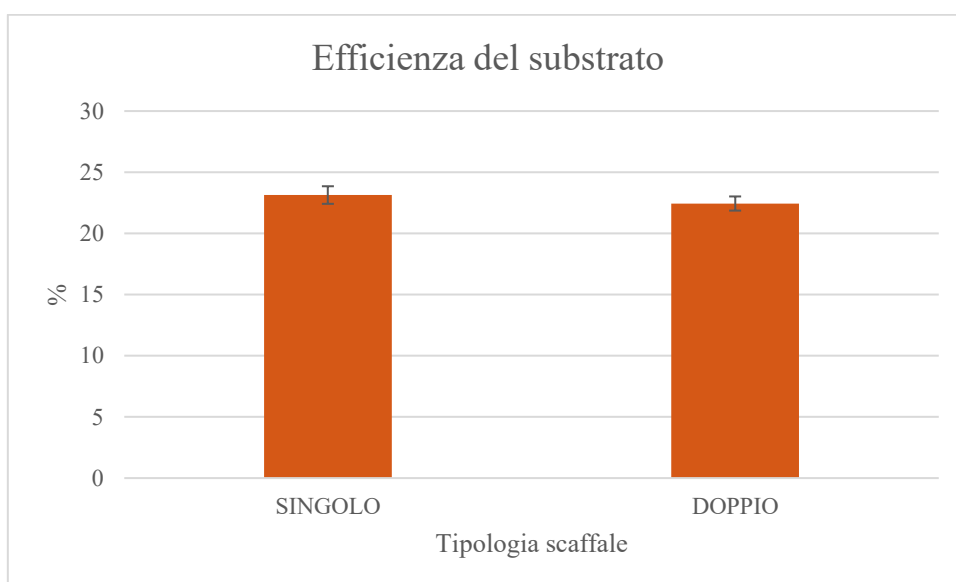


Figura 53 – Effetto della tipologia di scaffale sull'efficienza del substrato totale del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie ($p\text{-value} < 0,05$), secondo il test di Tukey, mentre le barre di errore rappresentano l'errore standard.

4.3.11 Analisi qualitative

Come riportato nella tabella 5 il contenuto di solidi solubili rilevato non ha differito statisticamente in alcuna volata, ponendo un valore medio pari a 4,50 °Brix e a 7,15 °Brix, rispettivamente nella prima e nella seconda volata. Allo stesso modo, i valori di pH rilevati sono stati statisticamente non differenti, ottenendo un valore medio pari a 6,58 nella prima volata e pari a 6,57 nella seconda. La conducibilità elettrica non è stata statisticamente differente in nessuna delle volate, attestando rispettivamente valori medi pari a 5,85 e a 6,45 mS/cm. Similmente, i valori di acidità titolabile rilevati sono stati statisticamente non differenti, ponendo un valore medio pari a 0,13 e a 0,17 mg ac. citrico/100ml rispettivamente per la prima e per la seconda volata.

Tabella 5 – Effetto della tipologia di scaffale sui parametri qualitativi (pH, conducibilità elettrica, solidi solubili, acidità titolabile e sostanza secca) suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

VOLATA	TIPOLOGIA SCAFFALE	SOLIDI SOLUBILI °BRIX	pH	CONDUCIBILITA' ELETTRICA mS/cm	ACIDITA' TITOLABILE mg ac. citrico/100 ml
I	Singolo	4,47	6,57	5,83	0,13
	Doppio	4,53	6,60	5,87	0,13
II	Singolo	7,20	6,60	6,38	0,17
	Doppio	7,10	6,53	6,51	0,17

4.3.12 Analisi antiossidanti totali e fenoli totali

Come riportato in tabella 6, il tenore di antiossidanti totali prodotto in funzione della tipologia di scaffale non è stato statisticamente differente per entrambe le volate. La prima volata ha ottenuto un valore medio di 813,73 mg Fe²⁺E kg⁻¹ mentre la seconda di 1687,72 mg Fe²⁺E kg⁻¹. Analogamente, il contenuto dei fenoli totali valutato non è risultato statisticamente differente, attestando un valore medio nella prima volata di 49,17 mg GAE kg⁻¹ ps e nella seconda di 56,10 mg GAE kg⁻¹ ps.

Tabella 6 – Effetto della tipologia di scaffale sulla attività antiossidante totale e sul contenuto di fenoli totali suddiviso per volata del *P. ostreatus*. Lettere diverse indicano differenze significative tra le medie (p -value < 0,05), secondo il test di Tukey.

VOLATA	TIPOLOGIA SCAFFALE	ATTIVITA' ANTIOSSIDANTE TOTALE mg Fe ²⁺ eq*kg-1 ps	FENOLI TOTALI mg GAE kg-1 ps
I	Singolo	829,79	49,46
	Doppio	797,66	48,88
II	Singolo	1642,57	50,88
	Doppio	1732,86	61,25

5. Discussione

5.1 Parametri climatici

Durante la fase di incubazione, la temperatura all'interno della fungaia si è mantenuta tra i 20 ed i 25 °C, con un picco massimo di 26,5 °C, garantendo un'adeguata colonizzazione del substrato da parte del micelio. In seguito, la temperatura è diminuita stabilizzandosi a valori compresi tra 11 e 16 °C, temperatura alla quale la crescita è ottimale per *P. ostreatus*, come riportato da Jang et al. (2003), mentre quella richiesta da *P. cornucopiae* è di circa 2,5 °C maggiore (Bellettini et al., 2019). La concentrazione di anidride carbonica ottimale per la coltivazione di funghi e per l'ottenimento di corpi fruttiferi dotati di una buona morfologia è pari a 3000 ppm (Jang et al., 2003). Nei primi 20 GDI la concentrazione di CO₂ presente all'interno della fungaia si è mantenuta al di sopra di 1500 ppm, raggiungendo un picco massimo di 3000 ppm. Nei giorni seguenti, la concentrazione è stata ridotta stabilizzandosi a valori compresi tra 500 e 750 ppm. Gli elevati livelli di anidride carbonica riscontrati nei primi giorni della prova sono attribuibili alla crescita del micelio che, nella fase di incubazione, si accresce velocemente incrementando la respirazione cellulare. Durante l'intera prova sperimentale, si è registrata una differenza di temperatura tra ripiani PT-1P e 2P-3P pari a 1,5°C. Nonostante la fungaia disponesse di un de-stratificatore per garantire uniformità termica all'interno della stessa, in questa sperimentazione si è deciso di non avvalersi di tale strumento così da poter osservare la variazione della temperatura in funzione dell'altezza dei sacchi di coltivazione.

5.2 Temperatura substrati

L'andamento delle temperature rilevate nei substrati è stato mediamente simile tra le diverse tipologie di scaffale, in entrambi i miceli. Durante la sperimentazione le temperature maggiori sono state registrate durante la fase di incubazione con valori superiori ai 25°C, raggiungendo un picco massimo di 36,4 °C per *P. cornucopiae* e 36,6°C per *P. ostreatus*. Tale risultato è riconducibile al momento di massima attività di crescita del micelio. Dallo studio di Hu et al. (2023), è possibile affermare che il tasso di crescita massimo del micelio in *P. ostreatus* può essere raggiunto con temperature del substrato variabili tra 22 e 28 °C, valori garantiti anche durante questa sperimentazione. Dopo circa 25 giorni dall'incubazione, entrambe le specie di *Pleurotus* hanno evidenziato un calo della temperatura interna del substrato stabilizzandosi tra i 15 e i 20 °C. Tale fenomeno è attribuibile ad una riduzione della temperatura della fungaia, eseguita per indurre la fruttificazione del micelio.

Analizzando le fotografie termiche scattate in fase di incubazione, si può osservare come la temperatura del substrato sia maggiore nei ripiani più alti per entrambi i miceli. Nello specifico, per *P. cornucopiae* si è registrata una variazione della temperatura tra PT e 3P di 4,9°C per lo scaffale doppio, e di 1,9°C per quello singolo. Per quanto riguarda *P. ostreatus*, si è rilevata una differenza di temperatura tra PT e 3P di 4,0 °C nello scaffale doppio, e di 4,2°C in quello singolo. È possibile presupporre che tale variazione sia dovuta al gradiente termico precedentemente descritto nell'ambiente di coltivazione.

5.3 Primordi

In base ai dati ottenuti dalla comparsa dei primordi in funzione del ripiano su cui erano posizionati i sacchi, si può rilevare una differenza significativa, in termini di percentuale, di primordi comparsi. Per quanto concerne *P. cornucopiae*, si è riscontrato un'emergenza anticipata nei ripiani superiori dello scaffale rispetto a PT. Tale evento può essere dovuto al fatto che la maggiore temperatura presente nel ripiano superiore abbia favorito un più rapido sviluppo dei primordi. Al contrario rispetto alla tipologia di scaffale, non sono state riscontrate differenze significative. Nello specifico, la registrazione del primo primordio è avvenuta dopo 10 giorni dall'incubazione, notevolmente prima rispetto a quanto rilevato da Kalmis e Sargin, (2004) ma in ritardo rispetto a quanto riscontrato da Alheeti et al., (2016).

Anche per *P. ostreatus* si è osservata la comparsa anticipata dei primordi in 3P durante la prima volata, avvenuta dopo 21 GDI, ma il fenomeno non si è ripetuto durante la seconda volata, dove i primordi si sono registrati prima in PT. Tali dati appaiono simili a quelli registrati da Shah et al. (2004) in cui l'emergenza dei primordi è avvenuta a 24 GDI, ma differenti rispetto allo studio di Muswati et al. (2021) dove l'emergenza dei primordi si è verificata a 30 GDI. Diversamente da *P. cornucopiae*, la tipologia di scaffale ha influito sull'emergenza dei primordi. In particolare, nello scaffale singolo si è osservata la comparsa anticipata rispetto a quello doppio.

Dai dati raccolti si può supporre che l'altezza del ripiano abbia influenzato la comparsa dei primordi durante la prima volata.

Si può inoltre ipotizzare che, durante la seconda volata di *P. ostreatus*, la più graduale attività biologica del micelio, presente nei sacchi posti nei ripiani inferiori, abbia invertito la tendenza con una conseguente comparsa anticipata dei primordi.

5.4 Analisi morfo-ponderali

Come riportato da diversi studi, la prima volata è sempre la più produttiva mentre le successive tendono ad avere rese inferiori (Girmay et al., 2016; Oseni et al., 2012; Sharma et al., 2013). Questo è dovuto ad una fisiologica perdita di vigoria da parte del micelio e alla riduzione di nutrienti disponibili nel substrato. Infatti, per tutti i trattamenti, è stata rilevata una decrescente capacità produttiva per singola volata.

La resa di *P. cornucopiae* in funzione del ripiano nella prima volata è stata mediamente di 0,033 kg/kg di substrato mentre nella seconda di 0,029 kg/kg di substrato. Questi valori sono risultati inferiori rispetto ai 0,04 kg/kg di substrato riscontrati da Royse, (2002). Durante la prima volata è stato possibile osservare come 3P abbia prodotto il 58,76% in più rispetto a PT. Si può presumere che questo sia dovuto al fatto che *P. cornucopiae*, avendo esigenze termiche maggiori, abbia prodotto di più nei ripiani superiori dove la temperatura era più alta. Tale fenomeno però non è stato riscontrato nella seconda volata dove la produzione nei diversi ripiani è risultata statisticamente non differente. Rispetto alla tipologia di scaffale, non sono state riscontrate differenze significative in nessuna delle volate. I dati ottenuti dalla produzione hanno permesso di ricavare l'efficienza biologica, definita come il rapporto percentuale tra il peso fresco del fungo raccolto rispetto al peso secco del substrato (Pokhrel e Ohga, 2007). Come osservato da Wiafe-Kwagyan et al. (2022), esiste un elevato coefficiente di correlazione tra lunghezza del gambo, diametro dei corpi fruttiferi ed efficienza biologica. Questo si deve al fatto che all'aumentare di questi due parametri aumenta la resa e di conseguenza il peso che influenza direttamente l'efficienza biologica. Infatti, le differenze in termini produttivi riscontrate in funzione del ripiano si sono mantenute anche considerando l'efficienza biologica, che ha visto 3P avere un'efficienza biologica maggiore del 34,49% rispetto a PT. I valori di efficienza biologica ottenuti in funzione del ripiano e della tipologia di scaffale, rispettivamente 23,73% e 24,06%, sono pressoché in linea con quelli riportati nello studio di Alheeti et al., (2016), pari a 21,10%. Per quanto riguarda l'efficienza del substrato, è possibile affermare che anche questa sia influenzata dal tipo di ripiano, dato che la differenza con l'efficienza biologica è riconducibile alla formula utilizzata in cui viene considerato il peso fresco e non quello della sostanza secca. Ciò è confermato dal fatto che anche i risultati, seppur con ordini di grandezza diversi, abbiano avuto lo stesso andamento.

Come evidenziato da Venturi (2022) in una precedente tesi sperimentale, il numero di famiglie varia in base alla volata, in particolare è stata notata una progressiva diminuzione di questo parametro con l'aumento del numero di volate ottenute. Nel presente studio, per entrambi i trattamenti nelle due volate, non è stata rilevata differenza statisticamente significativa denotando però un calo del numero di famiglie prodotto nella seconda volata, confermando lo studio precedentemente citato. Per quanto

riguarda il numero di corpi fruttiferi, in questo studio sono stati riscontrati valori medi pari a 17 e a 18 corpi fruttiferi per famiglia rispettivamente nella prima e nella seconda volata in funzione del ripiano. Per quanto riguarda invece il numero di corpi fruttiferi per famiglia analizzato in funzione della tipologia di scaffale, i valori medi riscontrati sono pari a 17 e a 19.

Nella seconda volata, in funzione del ripiano, il numero di corpi fruttiferi per famiglia prodotto è stato statisticamente differente tra i ripiani PT, 1P e 2P, 3P. in particolare, i ripiani posti più in alto hanno rilevato un numero di corpi frutti per famiglia maggiore con un valore medio pari a 22. Tale fenomeno può essere dovuto al fatto che *P. cornucopiae*, avendo esigenze termiche maggiori, abbia prodotto una maggior quantità di corpi fruttiferi per famiglia nei ripiani superiori dove la temperatura era più alta.

È risaputo che la larghezza dei corpi fruttiferi dipende dall'intensità della luce e dal fotoperiodo (Siwulski et al. 2012) poiché la radiazione luminosa provoca vari processi biofisici e biochimici che risultano nello sviluppo di reazioni morfologiche e fototrofiche.

Inoltre, il diametro dei corpi fruttiferi cambia in funzione della stagione in cui avvengono le volate dato che le temperature hanno un'azione diretta nel diametro dei corpi fruttiferi: all'aumentare delle temperature aumenta il diametro dei corpi fruttiferi. Per di più, 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).

In prima volata il diametro medio dei corpi fruttiferi è risultato statisticamente differente in funzione del ripiano mentre in seconda volata le differenze non si sono manifestate. Rispetto alla tipologia di scaffale, non sono state rilevate differenze statisticamente significative nelle due volate. Dai seguenti dati è possibile affermare che il diametro dei corpi fruttiferi non sia influenzato dalla tipologia di scaffale. In generale, i valori del presente studio sono in accordo con quelli rilevati nello studio condotto da Alheeti et al., (2016), ma sono maggiori rispetto a quelli riscontrati da Pedneault et al, (2007). Il presente studio ha visto una riduzione del diametro medio con il susseguirsi delle volate in entrambi i trattamenti. Questa tendenza decrescente sarebbe in contrasto con i dati bibliografici (Kortei et al., 2018) dove si nota come il diametro tenda a crescere all'aumentare della durata del ciclo produttivo. Questo può essere dovuto al fatto che il numero di corpi fruttiferi per famiglia nella seconda volata per entrambi i trattamenti sia aumentato e che quindi il micelio abbia concentrato l'energia sul numero a discapito delle dimensioni dei corpi fruttiferi. Per quanto riguarda lo spessore medio dei corpi fruttiferi, esistono pochi studi in letteratura. Di conseguenza, analizzando i risultati ottenuti dal presente studio possiamo affermare che il ripiano e la tipologia di scaffale non abbiano influenzato lo spessore poiché, per entrambi i trattamenti e in entrambe le volate, non sono state rilevate differenze statisticamente significative. In generale, i valori di spessore medio rilevato sono

stati maggiori rispetto a quelli riscontrati nello studio condotto da Alheeti et al., (2016). Il presente esperimento, come per il diametro, ha visto una riduzione dello spessore medio con il susseguirsi delle volate in entrambi i trattamenti. Anche in questo caso il motivo di tale fenomeno può essere ricondotto al fatto che il numero di corpi fruttiferi per famiglia nella seconda volata per entrambi i trattamenti sia aumentato.

Secondo Melanouri et al. (2022), la luminosità e la temperatura ambientale influenzano la colorazione dei corpi fruttiferi. Valutando i parametri L^* a^* b^* , in prima volata non è emersa differenza per nessuno dei fattori sperimentali considerati eccetto per il valore L^* che ha riscontrato una differenza statisticamente significativa tra i risultati ottenuti dai diversi ripiani. In seconda volata, il valore L^* è cambiato in modo altamente significativo sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale, rilevando valori maggiori nei ripiani 2P e 3P e nello scaffale doppio, questo può essere dovuto dal fatto che gli ultimi due ripiani sono maggiormente illuminati e questo ha porta ad ottenere valori maggiori e quindi funghi più chiari. In merito ai valori a^* e b^* , in prima volata, i dati medi ottenuti sono stati rispettivamente pari a -6,3 e 28,5. Il valore a^* , nella seconda volata, è variato in maniera altamente significativa solo in funzione del ripiano, attestando il valore minore in PT. Il valore colorimetrico b^* è importante per *P. cornucopiae* in quanto misura la gamma di colore che va dal giallo al blu. Differentemente da quanto osservato nella prima volata, è stata evidenziata una differenza significativa sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale. Nello specifico i valori maggiori sono stati ottenuti rispettivamente da PT e dallo scaffale singolo, attestando un valore medio rispettivamente pari a 33,4 e 33,1.

Per quanto concerne *P. ostreatus*, la resa media ottenuta in funzione del ripiano nelle due volate è stata rispettivamente pari a 0,173 e a 0,054 kg/kg di substrato. I valori ottenuti sono risultati inferiori rispetto a quanto riportato da Sharma et al., (2013), nel cui studio ha ottenuto una resa media ponderata pari a 0,191 e 0,117 kg/kg di substrato in due volate consecutive. La seconda volata è risultata meno produttiva rispetto alla precedente e questo è causato, come nel caso di *P. cornucopiae* da una perdita di vigoria da parte del micelio e dalla riduzione di nutrienti disponibili nel substrato. Durante la prima volata si è osservato che PT ha avuto una resa maggiore del 20,8% rispetto agli ultimi due ripiani. Questo andamento è stato mantenuto anche nella seconda volata, dove però la differenza si è ridotta al 18%. Alla luce dei risultati ottenuti, è possibile affermare che il ripiano influenza la produttività di *P. ostreatus*. Rispetto alla tipologia di scaffale, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative nelle due volate. Considerando l'efficienza biologica, i risultati del presente esperimento hanno riportato valori maggiori rispetto ai valori presenti in letteratura. Secondo Shah et al. (2004) il valore di efficienza biologica rilevato in substrato di paglia

di frumento era pari a 44.72%, valore inferiore rispetto alla media ottenuta in funzione del ripiano e della tipologia di scaffale che, nello specifico, è stata rispettivamente pari a 60,27% e 60,58%. In questo studio, i risultati ottenuti in funzione del ripiano hanno messo in evidenza che PT ha riscontrato una BE maggiore del 20,19% rispetto ai ripiani 2P e 3P. Questi valori rispecchiano l'andamento osservato in precedenza poiché l'efficienza biologica è strettamente legata alla resa. Infatti, i sacchi che hanno riscontrato un'elevata resa, hanno registrato anche un'alta efficienza biologica, come confermato dallo studio di Muswati et al. (2021). Rispetto alla tipologia di scaffale, invece, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative in termini di BE. Per quanto riguarda l'efficienza del substrato, è possibile affermare che anche questa sia influenzata dal tipo di ripiano, dato che la differenza con l'efficienza biologica è riconducibile alla formula utilizzata in cui viene considerato il peso fresco e non quello della sostanza secca. Ciò è confermato dal fatto che anche i risultati, seppur con ordini di grandezza diversi, abbiano avuto lo stesso andamento.

Per quanto concerne il numero di famiglie prodotte in funzione del ripiano, nella prima volata 3P ha prodotto un numero di famiglie per sacco maggiore rispetto a PT, nello specifico hanno prodotto rispettivamente 21,14 e 20,14 famiglie/sacco. Tale fenomeno però non è stato riscontrato nella seconda volata dove il numero di famiglie prodotte per sacco nei diversi ripiani è risultata statisticamente non differente. È possibile presupporre che la maggiore temperatura presente al 3P abbia favorito la maggiore produzione di famiglie. Il numero di famiglie prodotte in funzione della tipologia di scaffale non ha portato a differenze statisticamente significative in nessuna delle volate, evidenziando però un calo del numero di famiglie prodotte nella seconda. È dimostrato come il numero di corpi fruttiferi possa diminuire a seconda della volata (Yildiz et al., 2002; Shah et al., 2004) e tale comportamento è stato riscontrato anche nel presente studio. I valori relativi al numero di corpi fruttiferi per famiglia in funzione del ripiano sono stati statisticamente differenti in entrambe le volate. In particolare, 3P ha ottenuto un numero di corpi fruttiferi maggiore rispetto a PT sia nella prima che nella seconda volata. Si può quindi affermare che il ripiano incida sul numero di corpi fruttiferi per famiglia prodotti, denotando un valore maggiore nei ripiani più alti. Questo fenomeno può essere dovuto al fatto che nei ripiani più alti la temperatura è maggiore. Diversamente, il numero di corpi fruttiferi per famiglia ottenuto in funzione della tipologia di scaffale, non sono state riscontrate differenze statisticamente significative in entrambe le volate, denotando però un calo del numero di corpi fruttiferi prodotti con il procedere delle volate. È noto come la temperatura ambientale influisca direttamente sul diametro dei corpi fruttiferi; generalmente esiste una correlazione positiva tra temperature e diametro dei funghi (Girmay et al., 2016). In prima volata il diametro medio dei corpi fruttiferi è risultato statisticamente non differente sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale, nello specifico i valori medi ottenuti sono stati rispettivamente 8,99 cm e 9,02 cm. Nella

seconda volata, invece, sono state rilevate differenze statisticamente significative in funzione del ripiano e, nello specifico, PT ha prodotto corpi fruttiferi con un diametro medio maggiore rispetto a 2P e 3P. Tale fenomeno è in contrasto con quanto affermato da Girmay et al., (2016) e si può presupporre che sia dovuto al fatto che in numero di corpi fruttiferi prodotti per famiglia sia stato minore nei ripiani sottostanti. È quindi possibile presumere che il micelio abbia compensato il ridotto numero di corpi fruttiferi prodotti con un maggiore diametro dei basidiocarpi. Tale fenomeno risulta interessante anche nell'ottica della vendita nei mercati italiani, dove si predilige un diametro maggiore dei corpi fruttiferi. Il diametro dei basidiocarpi ottenuto in funzione della tipologia di scaffale non ha evidenziato differenze statisticamente significative, ma ha visto un aumento rispetto a quello riscontrato nella prima volata. Questa tendenza è in accordo con i dati bibliografici (Kortei et al., 2018) dove è descritto come il diametro tenda a crescere all'aumentare della durata del ciclo produttivo. Valutando lo spessore medio dei corpi fruttiferi in funzione del ripiano, è possibile osservare come siano state rilevate differenze statisticamente significative tra i diversi ripiani in entrambe le volate. Nello specifico, nella prima volata lo spessore medio dei corpi fruttiferi prodotti da 3P è stato 1,28 mm superiore rispetto quelli prodotti da PT attestando rispettivamente un valore medio pari a 6,26 mm e a 4,98 mm. Analogamente, nella seconda volata è stata rilevata una differenza statisticamente significativa tra i ripiani PT, 1P e 2P, 3P, attestando che i ripiani più alti hanno ottenuto uno spessore medio dei corpi fruttiferi maggiore. Tale fenomeno è correlato con il numero di corpi fruttiferi; infatti nei ripiani superiori sono stati rilevati più corpi fruttiferi e quindi è possibile ipotizzare che vi sia una correlazione positiva tra numero di corpi fruttiferi e spessore degli stessi. In riferimento al colore dei corpi fruttiferi, nella prima volata il valore L^* è variato in modo altamente significativo sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale, rilevando valori maggiori nei ripiani 2P e 3P e nello scaffale doppio. Nella seconda volata, invece, sono state rilevate differenze altamente significative solo in funzione del ripiano attestando nuovamente valori maggiori nei ripiani 2P e 3P, mentre lo scaffale singolo e quello doppio hanno riscontrato valori statisticamente non differenti. Dai risultati ottenuti dal presente studio, si può affermare che il valore L^* sia stato influenzato e possa variare in funzione del ripiano, in particolare i ripiani superiori sono più illuminati rispetto ai sottostanti manifestando valori più elevati e rispecchiando quanto riportato nella letteratura. Pertanto, i basidiocarpi prodotti nei ripiani superiori, sono risultati più chiari rispetto ai sottostanti. Il valore a^* , nella prima volata, è variato in maniera altamente significativa sia in funzione del ripiano che della disposizione dello scaffale. Nello specifico, sono stati rilevati valori maggiori nei ripiani PT e 1P e nello scaffale singolo. Nella seconda volata, invece, sono state rilevate differenze altamente significative solo in funzione del ripiano attestando valori maggiori sempre nei primi due ripiani, mentre lo scaffale singolo e quello doppio hanno riscontrato valori statisticamente non differenti.

Dai risultati ottenuti dal presente studio si può affermare che il valore a^* sia stato influenzato e possa variare in funzione del ripiano, questo può essere dovuto dal fatto che i primi due ripiani sono meno illuminati. Considerando il valore b^* , sia nella prima che nella seconda volata è stata evidenziata differenza significativa sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale. Sia nella prima che nella seconda volata i valori maggiori sono stati ottenuti rispettivamente da 2P e dallo scaffale singolo. In virtù dei risultati ottenuti nel presente studio è possibile affermare che il valore b^* sia stato influenzato e possa variare sia in funzione del ripiano che della tipologia di scaffale.

5.5 Analisi qualitative

Per quanto riguarda *P. cornucopiae*, i valori dei solidi solubili ottenuti nelle due volate in funzione della tipologia di scaffale sono stati statisticamente non differenti, ponendo un valore medio rispettivamente pari a 7,13 °Brix e a 7,42 °Brix. I valori di pH ottenuti nel presente studio (da 6,63 a 6,87) non hanno fatto emergere alcuna differenza statisticamente significativa in funzione della tipologia di scaffale. La conducibilità elettrica non è sembrata essere influenzata dalla tipologia di scaffale poiché non è risultata statisticamente differente in entrambe le volate, ponendo valori compresi tra 6,94 e 7,09 mS/cm. I valori di acidità titolabile ottenuti in questa prova si attestano a valori pari a 0,17-0,26 mg ac. citrico/100L.

Tali valori non sono sembrati essere influenzati dalla tipologia di scaffale poiché non sono state rilevate differenze statisticamente significative in nessuna delle volate.

Per quanto concerne *P. ostreatus*, il contenuto medio di solidi solubili rilevato nelle due volate è pari a 5,83 °Brix e si può determinare che non sia stato influenzato dalla tipologia di scaffale, poiché i dati ottenuti non sono differenti statisticamente. Questo valore è risultato maggiore sia rispetto al valore riscontrato da Villaescusa e Gil (2003) pari a 5,1°Brix , sia rispetto al valore medio pari a 1,5°Brix riscontrato da Kortei et al. (2017). I valori di pH registrati nel presente studio (da 6,53 a 6,60) sono comparabili con i risultati presenti nell'articolo di Hoa et al. (2015) che variano da 6,7 a 6,93.

La conducibilità elettrica analizzata in questa prova sperimentale ha ottenuto risultati compresi tra 5,83 e 6,51 mS/cm, maggiori rispetto a quelli rilevati da Hoa et al. (2015) poiché variabili tra 2,88 e 4,20 mS/cm. L'acidità titolabile, sulla base dei dati raccolti, non è sembrata variare in funzione della tipologia di scaffale, tali risultati si sono assestati con quelli presenti in letteratura (Villaescusa e Gil, 2003).

I dati raccolti in questa sperimentazione sull'acidità titolabile si attestano a valori pari a 0,13-0,17 mg ac. citrico/100L, tali valori sono maggiori rispetto ai risultati ottenuti da Villaescusa e Gil (2003), pari

a 0,08-0,10 mg ac. citrico/100L. Tali valori non risultano essere influenzati dalla tipologia di scaffale poiché non sono state rilevate differenze statisticamente significative nelle due volate.

5.6 Antiossidanti totali e fenoli totali

Prendendo in considerazione *P. cornucopiae*, il contenuto medio di antiossidanti, componenti che difendono il nostro organismo dai prodotti del metabolismo cellulare, ovvero i radicali liberi (Mihai et al. 2022), è stato pari a 929 mg Fe²⁺eq kg⁻¹ ps per la prima volata, mentre nella seconda volata i funghi hanno cumulato mediamente 1536 mg Fe²⁺eq kg⁻¹ ps. Si può osservare però che il contenuto di antiossidanti è aumentato con il susseguirsi delle volate. Ciò è riconducibile al fatto che con l'avanzare del ciclo produttivo gli stress subiti dal micelio sono aumentati (temperature più elevate, perdita di vigore del micelio, ecc.) quindi come risposta fisiologica il fungo ha aumentato il contenuto di antiossidanti.

Valutando il contenuto finale di polifenoli nei corpi fruttiferi in funzione della tipologia di scaffale, non è stata riscontrata differenza significativa, nelle due volate, ottenendo un valore medio rispettivamente pari a 60,73 mg GAE kg⁻¹ ps e 72,26 mg GAE kg⁻¹ ps.

Per quanto riguarda *P. ostreatus*, il contenuto medio di antiossidanti totali registrato nel presente studio è risultato superiore rispetto a quanto rilevato da Venturi (2022) e Mihai et al. (2022), mentre è risultato inferiore rispetto a Keles et al. (2011). Dai dati riportati non è stata registrata differenza significativa tra lo scaffale singolo e quello doppio. Il contenuto medio di antiossidanti in base alla tipologia di scaffale è stato pari a 814 mg Fe²⁺eq kg⁻¹ ps per la prima volata, mentre nella seconda volata i funghi hanno cumulato mediamente 1688 mg Fe²⁺eq kg⁻¹ ps.

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), in quanto questi sono sempre superiori a 3000 mg GAE kg⁻¹ ps. Nello specifico, i valori rilevati nelle due volate sono stati rispettivamente 49,17 e 50,07 mg GAE kg⁻¹ ps.

6. Conclusioni

In questa prova sperimentale sono stati valutati gli effetti sulle caratteristiche quantitative e qualitative della produzione verticale di due specie di funghi appartenenti al genere *Pleurotus*, nello specifico *P. cornucopiae* e *P. ostreatus*. L'esperimento portato avanti in questa tesi presta particolare attenzione all'altezza del ripiano e alla posizione degli scaffali il cui modulo può essere singolo o accoppiato. Per quanto riguarda l'analisi effettuata su *P. cornucopiae*, il dato di maggiore rilevanza riguarda la differenza nella resa ottenuta in funzione del ripiano. Per la precisione, i ripiani più alti hanno registrato una maggiore produttività rispetto a quelli inferiori (+ 57,5%). L'efficienza biologica ha seguito tale andamento evidenziando valori maggiori in 3P rispetto a PT. Considerando il numero di corpi fruttiferi registrato, i due ripiani più alti hanno prodotto un numero maggiore di corpi fruttiferi rispetto ai due inferiori.

Dall'analisi di *P. ostreatus*, è emerso che la resa ottenuta nei primi due ripiani inferiori è stata maggiore rispetto all'ultimo, attestando complessivamente nelle due volate valori medi rispettivamente pari a 0,25 e a 0,20 kg/kg di substrato, ovvero il 18% in più. L'efficienza biologica ha seguito tale andamento evidenziando valori maggiori in PT e 1P rispetto a 3P

Per quanto riguarda il numero di corpi fruttiferi, il ripiano più alto ha prodotto un numero maggiore di corpi rispetto ai primi due, ottenendo un valore medio delle due volate di 9,86 corpi fruttiferi per famiglia, contrariamente ai 7,54 e 7,99 dei primi due ripiani. Dai risultati ottenuti, è possibile presumere che la minor quantità di corpi fruttiferi abbia avuto come risultato un diametro maggiore nei basidiocarpi prodotti nei ripiani inferiori.

I valori L*, a*, b*, sono stati tutti condizionati dal ripiano, in particolar modo i basidiocarpi prodotti nei due ripiani superiori, sono risultati più chiari rispetto a quelli prodotti nei ripiani inferiori.

Le analisi qualitative non hanno ottenuto differenze significative per i trattamenti allo studio.

La tipologia di scaffale non è risultata rilevante nelle caratteristiche qualitative e quantitative in nessuna delle due specie, quindi il produttore può attuare una scelta dello scaffale in base al suo ambiente di coltivazione. Al contrario, l'altezza del ripiano ha influito su tali caratteristiche.

Alla luce della sperimentazione descritta in questa tesi, si ritiene interessante la possibilità di portare avanti un'ulteriore sperimentazione che metta in atto la produzione combinata di *P. cornucopiae* e *P. ostreatus*, disponendo il primo sui ripiani più in alto, e il secondo in quelli inferiori. Inoltre, si ritiene interessante approfondire gli studi sull'applicazione del sistema di coltivazione verticale su altre specie di funghi coltivati.

Bibliografia

Adebayo, E. A., & Martinez-Carrera, D. (2015). Oyster mushrooms (*Pleurotus*) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. *African Journal of Biotechnology*, 14(1), 52-67.

Alheeti, M. N., Al-Saeedi, S. S., & Al-Assaffii, I. A. (2016). Evaluation of Qualification of Substrates Containing Date Palm Fibers (Leef) and Sawdust on Quality and Productivity of Four *Pleurotus* spp. *Iraqi journal of desert studies*, 5(1).

Ambili, S., & Nithya, T. P. (2014). Oyster mushroom cultivation-A study in Palakkad district, Kerela. *International Journal of Management and Social Science Research Review*, 1(6), 96-104.

Bahadur, B., Rajam, M. V., Sahijram, L., & Krishnamurthy, K. V. (Eds.). (2015). *Plant biology and biotechnology: Volume I: Plant diversity, organization, function and improvement* (No. 11603). Springer India.

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.

Birkby, J. (2016). Vertical farming. *ATTRA sustainable agriculture*, 2, 1-12.

Das, S., & Prakash, B. (2022). Edible mushrooms: nutritional composition and medicinal benefits for improvement in quality life. In *Research and Technological Advances in Food Science* (pp. 269-300). Academic Press.

Despommier, D. (2011). The Vertical Farm, Feeding the World. *The 21st Century*, Picador St. Martin's Press, New York, USA.

Donini, L. P., Bernardi, E., & Nascimento, J. S. D. (2006). In vitro development of *Agaricus brasiliensis* in media supplemented with different brans. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41, 995-999.

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2009). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta glucans and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 754, 755, 757, 801, 1465, 2934) and maintenance or achievement of a normal

body weight (ID 820, 823) pursuant to Article 13 (1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*, 7(10), 1254.

Ergönül, P. G., Akata, I., Kalyoncu, F., & Ergönül, B. (2013). Research Article Fatty Acid Compositions of Six Wild Edible Mushroom Species.

Food and Drug Administration, HHS. (2006). Food labeling: health claims; soluble dietary fiber from certain foods and coronary heart disease. Final rule. *Federal register*, 71(98), 29248-29250.

Foulongne-Oriol, M., Navarro, P., Spataro, C., Ferrer, N., & Savoie, J. M. (2014). Deciphering the ability of *Agaricus bisporus* var. *burnettii* to produce mushrooms at high temperature (25 C). *Fungal Genetics and Biology*, 73, 1-11.

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.

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.

Hu Y., Xue F., Chen Y., Qi Y., Zhu W., Wang F., Wen Q., Shen J., (2023). Effects and Mechanism of the Mycelial Culture Temperature on the Growth and Development of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. *Horticulturae*.

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.

Jiang, J., Liu, H., Li, Q., Gao, N., Yao, Y., & Xu, H. (2015). Combined remediation of Cd-phenanthrene co-contaminated soil by *Pleurotus cornucopiae* and *Bacillus thuringiensis* FQ1 and the antioxidant responses in *Pleurotus cornucopiae*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 120, 386-393.

Kalmış, E., & Sargin, S. (2004). Cultivation of two *Pleurotus* species on wheat straw substrates containing olive mill waste water. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53(1), 43-47.

Keleş, A., Koca, I., & Gençcelep, H. (2011). "Antioxidant properties of wild edible mushrooms." *J Food Process Technol*, 2(6), 1-6.

Kortei N.K., Odamtten G.T., Obodai M. et al., Correlations of cap diameter (pileus width), stipe length and biological efficiency of *Pleurotus ostreatus* (Ex.Fr.) Kummer cultivated on gamma-irradiated and steam-sterilized composted sawdust as an index of quality for pricing. *Agric & Food Secur* 7, 35, 2018.

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.

Li, X., Wang, Y., Pan, Y., Yu, H., Zhang, X., Shen, Y., ... & Zhang, S. (2017). Mechanisms of Cd and Cr removal and tolerance by macrofungus *Pleurotus ostreatus* HAU-2. *Journal of hazardous materials*, 330, 1-8.

Ma, Y., Guan, C. Y., & Meng, X. J. (2014). Biological characteristics for mycelial growth of *Agaricus bisporus*. *Applied Mechanics and Materials*, 508, 297-302.

Maffi, G. P. LA COLTIVAZIONE DEI FUNGHI. *L'AGRICOLTURA VERONESE*, 289.

Maftoun, P., Johari, H., Soltani, M., Malik, R., Othman, N. Z., & El Enshasy, H. A. (2015). The edible mushroom *Pleurotus* spp.: I. Biodiversity and nutritional values. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 4(2), 67.

Mahari, W. A. W., Peng, W., Nam, W. L., Yang, H., Lee, X. Y., Lee, Y. K., ... & Lam, S. S. (2020). A review on valorization of oyster mushroom and waste generated in the mushroom cultivation industry. *Journal of hazardous materials*, 400, 123156.

Mamiro, D. P., Mamiro, P. S., & Mwatawala, M. W. (2014). Oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) cultivation technique using re-usable substrate containers and comparison of mineral contents with common leafy vegetables. *Journal of Applied Biosciences*, 80, 7071-7080.

Mandeel, Q. A., Al-Laith, A. A., & Mohamed, S. A. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 601-607.

- Marlina, L., Sukotjo, S., & Marsudi, S. (2015). Potential of oil palm empty fruit bunch (EFB) as media for oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Procedia Chemistry*, 16, 427-431.
- Melanouri, Eirini Maria, Marianna Dedousi, Panagiota Diamantopoulou. 2022. "Cultivating *Pleurotus Ostreatus* and *Pleurotus Eryngii* Mushroom Strains on Agro-Industrial Residues in Solid-State Fermentation. Part I: Screening for Growth, Endoglucanase, Laccase and Biomass Production in the Colonization Phase." *Carbon Resources Conversion* 5(1): 61–70.
- 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.
- 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*.
- Nam, W. L., Phang, X. Y., Su, M. H., Liew, R. K., Ma, N. L., Rosli, M. H. N. B., & Lam, S. S. (2018). Production of bio-fertilizer from microwave vacuum pyrolysis of palm kernel shell for cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Science of the total environment*, 624, 9-16.
- Oei, P. (1996). Mushroom cultivation with special emphasis on appropriate techniques for developing countries.
- 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).
- Ou, W. W. (2017). Conventional Mushroom Cultivation Method.
- Pedneault, K., Angers, P., Avis, T. J., Gosselin, A., & Tweddell, R. J. (2007). Fatty acid profiles of polar and non-polar lipids of *Pleurotus ostreatus* and *P. cornucopiae* var. 'citrino-pileatus' grown at different temperatures. *Mycological Research*, 111(10), 1228-1234.
- Pokhrel, C. P., & Ohga, S. (2007). Synthetic cultivation of *Lyophyllum decastes* on a combination of cattle livestock compost and corn cobs. *Mushroom Science and Biotechnology*, 15(3), 123-128.

- Power, R. C., Salazar-García, D. C., Straus, L. G., Morales, M. R. G., & Henry, A. G. 2015. Microremains from El Mirón Cave human dental calculus suggest a mixed plant–animal subsistence economy during the Magdalenian in Northern Iberia. *Journal of Archaeological Science*, 60, 39-46.
- Pratap Singh, D., & Prabha, R. (2017). Bioconversion of agricultural wastes into high value biocompost: a route to livelihood generation for farmers. *Adv. Recycl. Waste Manag*, 137.
- Rathore, H., Prasad, S., Kapri, M., Tiwari, A., & Sharma, S. (2019). Medicinal importance of mushroom mycelium: Mechanisms and applications. *Journal of functional foods*, 56, 182-193.
- Royse, D. (2002). Influence of spawn rate and commercial delayed release nutrient levels on *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) yield, size, and time to production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58, 527-531.
- Royse, D. J., Baars, J., & Tan, Q. (2017). Current overview of mushroom production in the world. *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications*, 5-13.
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology advances*, 27(2), 185-194.
- Saravanan, R., Senthilkumar, K., Dhachinamoorthi, D., Neha, H. S., Benarjee, K., Narendra, K., & Prudhvi, C. (2013). Analysis of nutrients and minerals content in commercially purchased *Agaricus bisporus*. *Asian Journal of Research in Chemistry*, 6(7), 765.
- 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.
- Singh, Manjit, Shwet Kamal and V.P. Sharma. 2017. Status and trends in world mushroom production-I. *Mushroom Research* 26(1): 1-20.
- Siwulski, Marek, Mirosława Ziombra, Krzysztof Sobieralski. 2012. Impact of Light on Yielding of Some *Pleurotus* Sp. Strains.
- Stamets, P. (1993). Growth parameters for gourmet and medicinal mushroom species. *Growing gourmet and medicinal mushrooms*, 316-320

- T.G. Temple (2017) Mycelium - the Future Is Fungi.
- Taurachand, D., & Choi, K. W. (2004). Mushroom growers' handbook 1. Oyster mushroom cultivation. *Part II*.
- Thakur, M. (2020). Fungi as a biological tool for sustainable agriculture. *Agriculturally Important Fungi for Sustainable Agriculture: Volume 1: Perspective for Diversity and Crop Productivity*, 255-273.
- Utami, C. P., & Susilawati, P. R. (2017, August). Rice straw addition as sawdust substitution in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) planted media. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 1868, No. 1). AIP Publishing.
- Van Griensven, L. J. L. D., & Van Roestel, A. J. J. (2004). The cultivation of the button mushroom, *Agaricus bisporus*, in the Netherlands: a successful industry. *Revista Mexicana de Micologia*, 19, 95-102.
- Venturi A., *Pleurotus ostreatus*: effetto del micelio e del substrato di coltivazione su aspetti produttivi e qualitativi. Unipd, 2022.
- 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
- 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*.
- 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.

Zhang, Y., Geng, W., Shen, Y., Wang, Y., & Dai, Y. C. (2014). Edible mushroom cultivation for food security and rural development in China: bio-innovation, technological dissemination and marketing. *Sustainability*, 6(5), 2961-2973.

Zied, D. C., & Pardo-Giménez, A. (Eds.). (2017). *Edible and medicinal mushrooms: technology and applications*. John Wiley & Sons.

Sitografia

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

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

<https://www.adset.it/articoli/angelo-miceli/587-pleurotus-ostreatus-jacq-fr-p-kumm-1871>

https://www.ilsole24ore.com/art/funghi-coltivati-crescono-consumi-soprattutto-prodotti-pronti-all-uso-AEPRQcs?refresh_ce=1