



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE AGRARIE E DEL TERRITORIO

EFFETTO DI DIVERSI APPORTI
NUTRIZIONALI SULLA CRESCITA,
PRODUZIONE E QUALITÀ DI MIRTILLO
DELLA CV "DUKE"

EFFECT OF DIFFERENT NUTRITIONAL INPUTS ON GROWTH,
PRODUCTION AND QUALITY OF "DUKE" BLUEBERRY
CULTIVAR

TIPO TESI: sperimentale

Studente:
ALESSANDRO GASPARRINI

Relatore:
PROF. FRANCO CAPOCASA

Correlatore:
DOTT. LUCA MAZZONI

DOTT. MICOL MARCELLINI

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

SOMMARIO

ELENCO DELLE TABELLE	5
ELENCO DELLE FIGURE.....	6
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI.....	8
INTRODUZIONE.....	9
CAPITOLO 1 MIRTILLO (<i>VACCINIUM SPP.</i>)	10
1.1 Distribuzione geografica e cenni botanici	10
1.2 Mirtilli americani.....	11
1.2.1 Mirtillo gigante.....	11
1.2.2 Mirtillo conilopide.....	13
1.2.3 Mirtillo rosso americano	14
1.2.4 I mirtilli nani	15
1.3 Importanza economica.....	16
1.3.1 Situazione italiana	18
1.4 Esigenze pedoclimatiche	20
1.5 Tecnica colturale del mirtillo gigante	21
1.5.1 Propagazione	21
1.5.2 Impianto	22
1.5.3 Forma di allevamento e potatura	27
1.5.4 Irrigazione e concimazione	28
1.5.5 Impollinazione.....	35
1.5.6 Avversità	36
1.5.7 Raccolta e utilizzazione.....	39
1.6 Caratteristiche organolettiche e nutrizionali.....	41

CAPITOLO 2 SCOPO DELLA TESI	43
CAPITOLO 3 MATERIALI E METODI.....	44
3.1 Descrizione del sito di studio.....	44
3.1.1 Descrizione delle condizioni climatiche.....	44
3.1.2 Descrizione dell'impianto	46
3.2 Disegno sperimentale	50
3.3 Metodi di valutazione dei parametri vegetativi	51
3.4 Metodi di valutazione dei parametri produttivi	52
3.5 Metodi di valutazione dei parametri qualitativi.....	53
3.5.1 Misurazione del contenuto in solidi solubili	54
3.5.2 Misurazione dell'acidità titolabile.....	55
3.6 Metodi di valutazione dei parametri nutrizionali.....	56
3.6.1 Estrazione dei composti antiossidanti	57
3.6.2 Determinazione della capacità antiossidante totale: metodo FRAP.....	57
3.6.3 Determinazione del contenuto in antociani tramite il metodo del pH differenziale.....	59
3.6.4 Determinazione del contenuto totale in polifenoli tramite il metodo del reagente di Folin-Ciocalteu.....	60
3.7 Analisi statistica.....	61
CAPITOLO 4 RISULTATI E DISCUSSIONE	62
4.1 Parametri vegetativi	62
4.2 Parametri produttivi	68
4.3 Parametri qualitativi	70
4.4 Parametri nutrizionali	71
4.4.1 Capacità antiossidante totale (CAT)	71
4.4.2 Contenuto totale in antociani.....	72
4.4.3 Contenuto totale in polifenoli.....	73
CONCLUSIONI	75

BIBLIOGRAFIA 77

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 3-1 Medie mensili delle temperature minime, medie, massime e totale delle precipitazioni mensili (Anno 2020, fonte ASSAM).....	45
Tabella 3-2 Composizione della soluzione madre (quantità di concimi da sciogliere in 1000 l di acqua).....	47
Tabella 3-3 Parametri della fertirrigazione in diversi momenti della stagione.	48
Tabella 3-4 Apporto lordo e netto di soluzione nutritiva per singolo vaso e per ettaro.	49
Tabella 3-5 Caratteristiche dell'acqua d'irrigazione.	50
Tabella 3-6 Date in cui sono state effettuate le raccolte per i diversi trattamenti indicate con il simbolo “✓”.	53
Tabella 4-1 Numero medio di gemme a fiore, a legno e totale per germoglio. Dati medi ± deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).....	67
Tabella 4-2 Produzione media per pianta e peso medio dei frutti nei diversi trattamenti. Dati medi ± deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).....	68
Tabella 4-3 Volume delle bacche e numero di frutti considerati per il calcolo. Dati medi ± errore standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).....	70
Tabella 4-4 Contenuto in zuccheri totali e acidità titolabile. Dati medi ± deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).....	71
Tabella 4-5 Capacità antiossidante totale (CAT). Dati medi ± deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).	71
Tabella 4-6 Contenuto totale in antociani. Dati medi ± deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).	72
Tabella 4-7 Contenuto totale in polifenoli. Dati medi ± deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).	73

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1-1 Foglie in differenti periodi della stagione. A giugno foglie di colore verde intenso (A) e a dicembre colorazione rossa (B).	12
Figura 1-2 Curva di crescita a doppia sigmoide (Sansavini , et al., 2012).....	13
Figura 1-3 Differenze di dimensione e colorazione delle foglie tra la varietà "Duke" (sinistra) e "Bluecrop"(destra).....	25
Figura 1-4 Esempio di impianto di mirtillo in suolo con copertura a capannina nei pressi di Telve (TN).....	26
Figura 1-5 Apice disseccato a causa dell'attacco della cecidomia del mirtillo (Jaapiella vacciniorum).	37
Figura 3-1 Impianto di mirtillo oggetto della sperimentazione.	44
Figura 3-2 Andamento delle temperature giornaliere minime, medie e massime dal 1° marzo 2020 al 30 settembre 2020 (fonte ASSAM).....	45
Figura 3-3 Precipitazioni giornaliere nel periodo compreso tra il 1°marzo 2020 e il 30 settembre 2020 (fonte ASSAM).....	46
Figura 3-4 Elementi dell'impianto di fertirrigazione: manichette e gocciolatori (A) e sensore di peso (B).....	47
Figura 3-5 Banco di fertirrigazione costituito da pompe, dosatori e valvole gestite da una centralina elettronica (fonte www.spagnol.com).	49
Figura 3-6 Germoglio in crescita: la linea rossa indica la parte di germoglio misurata nei rilievi settimanali.....	51
Figura 3-7 Bacche con colorazione omogenea pronte per essere raccolte.....	52
Figura 3-8 Rifrattometro Atago N1-E utilizzato per la misurazione del contenuto in solidi solubili. Nel prisma è presente una goccia di succo di mirtillo.....	54
Figura 3-9 Campione scongelato utilizzato per eseguire le analisi qualitative.	55
Figura 3-10 Titolatore automatico HI-84532 (fonte www.hanna.it).....	56
Figura 3-11 Cuvetta con soluzione di lettura.	60
Figura 4-1 Grafico relativo alla lunghezza media dei germogli nei tre differenti trattamenti.	62

Figura 4-2 Differente sviluppo dei germogli tra giugno (A) e agosto (B).	63
Figura 4-3 Grafico relativo all'incremento percentuale settimanale della lunghezza dei germogli.	64
Figura 4-4 Grafico relativo al numero medio di germogli per pianta nei diversi trattamenti.	65
Figura 4-5 Germogli secondari (in giallo) che si sono sviluppati nel corso della stagione. In rosso germoglio principale.....	66
Figura 4-6 Gemme a fiore (giallo) e a legno (verde).	67
Figura 4-7 Grappolo con frutti di differenti dimensioni e ad un differente stadio di maturazione.....	69

ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

CAT	Capacità antiossidante totale.
EC	Conducibilità elettrica.
+400 EC	Trattamento in cui la conducibilità elettrica della soluzione nutritiva è stata incrementata di +400 $\mu\text{S}/\text{cm}$ rispetto all'acqua d'irrigazione.
+500 EC	Trattamento in cui la conducibilità elettrica della soluzione nutritiva è stata incrementata di +500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ rispetto all'acqua d'irrigazione.
+600 EC	Trattamento in cui la conducibilità elettrica della soluzione nutritiva è stata incrementata di +600 $\mu\text{S}/\text{cm}$ rispetto all'acqua d'irrigazione.
FRAP	Ferring Reducing Antioxidant Power.
TPTZ	2,4,6-tripiridil-s-triazina.
CYA-3-GLU	Cianidina-3-glucoside.
TP	Total polyphenols.
GA	Gallic acid.
GDO	Grande distribuzione organizzata.
GAL	Gruppo azione locale.
ET _c	Evapotraspirazione potenziale della coltura.

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni si è assistito ad un consistente sviluppo del settore dei piccoli frutti, sia dal punto di vista produttivo che commerciale, grazie alle loro proprietà qualitative, nutraceutiche e salutistiche. La maggior parte del prodotto italiano è destinato al consumo fresco, ma le produzioni nazionali non sempre riescono a soddisfare la domanda, tant'è che per coprire il fabbisogno durante la stagione estiva, ma soprattutto durante quella invernale, è indispensabile ricorrere alle importazioni. Diverse sono le problematiche che limitano la diffusione dei piccoli frutti, da ricondursi essenzialmente alla scarsa continuità d'offerta sul mercato, alla deperibilità dei prodotti e alle limitazioni che riguardano la loro coltivazione, infatti richiedono normalmente suoli acidi o sub-acidi. Il supporto di programmazioni strategiche e della ricerca è indispensabile per risolvere le criticità che limitano la competitività sul mercato nazionale e globale dei piccoli frutti italiani. La ricerca è indirizzata soprattutto all'ampliamento del calendario di maturazione e all'ottimizzazione delle tecniche di coltivazione e gestione del post raccolta.

In Italia, tra i piccoli frutti, uno dei più importanti è sicuramente il mirtillo (Giordani, et al., 2016) (Beccaro, et al., 2017).

Capitolo 1

MIRTILLO (*VACCINIUM SPP.*)

1.1 Distribuzione geografica e cenni botanici

Il mirtillo è un arbusto appartenente alla famiglia delle *Ericaceae*, genere *Vaccinium L.* che comprende specie diffuse prevalentemente nelle zone temperate e temperato-fredde dell'emisfero boreale, anche se alcune entità sono tipiche delle zone calde e subtropicali. Delle molteplici specie appartenenti al genere solo 150 per alcuni autori, 450 per altri hanno attualmente un interesse commerciale.

Le piante appartenenti alla famiglia delle *Ericaceae* prediligono terreni acidi e torbosi, permettendo loro di colonizzare terreni deforestati, radure boschive e invadere pascoli degradati. All'interno del genere *Vaccinium L.* troviamo specie con caratteristiche molto eterogenee, che variano da decidue a sempreverdi, da suffrutticose a striscianti fino ad alcune specie arboree.

Il genere consiste in una serie di euploidi ($n=12$) e viene suddiviso in diversi subgeneri; il *Cyanococcus*, di origine americana raggruppa specie con frutti portati a grappolo e importanti dal punto di vista agronomico: il mirtillo gigante (*V. corymbosum*), il mirtillo conilopide (*V. ashei*), il mirtillo nano americano (*V. angustifolium*). Nel subgenere *Euvaccinium* si riscontrano specie spontanee e non di vera e propria coltivazione vista la modesta pezzatura dei frutti. A tale genere appartengono i mirtilli europei *V. myrtillus* (mirtillo nero), *V. uliginosum* (mirtillo blu) e la *V. vitis idaea* (mirtillo rosso europeo). L'ultimo subgenere è l'*Oxycoccus* che include il *V. macrocarpon* (mirtillo rosso americano) e *V. oxycoccus* (mirtillo palustre) (Bounous, 2017).

In Sud America ci sono 2 specie spontanee di cui si raccolgono i frutti, che sono poi destinati ai mercati locali per il consumo fresco o per la produzione di confetture, *V. floribundum* (mortiño) che cresce sulle Ande specialmente in Ecuador e Colombia e *V. meridionale* (Jamaican bilberry), ma entrambe sono caratterizzate da uno scarso valore commerciale (Muñoz, 1993).

1.2 Mirtilli americani

I mirtilli che rivestono il maggiore interesse commerciale e quindi anche quelli maggiormente coltivati sono il *V. corymbosum* e *V. ashei*, mirtilli a portamento arbustivo, il *V. macrocarpon*, mirtilli striscianti, *V. angustifolium* e *V. myrtilloides*, nani, insieme a ibridi interspecifici (*V. corymbosum* x *V. angustifolium*) e mirtilli giganti del sud degli U.S.A. ottenuti incrociando *V. corymbosum*, *V. darrowii* e altre specie di mirtillo (Caspersen, et al., 2016)

I primi ad entrare in contatto con la coltivazione del mirtillo furono i nativi americani quando bruciarono i mirtilli spontanei nani (*V. angustifolium* e *V. myrtilloides*) nel Nord-Est America per cercare di migliorare la fertilità del suolo. La coltivazione del conilopide è iniziata alla fine del diciannovesimo secolo. Viene invece accreditata a F.V. Coville l'introduzione in coltivazione del mirtillo gigante americano agli inizi del 1900 in Nord America, mentre i primi mirtilli adattati alle zone del Centro-Sud America (ibridi complessi) sono stati sviluppati da R. Sharpe e W. Sherman nel 1975 presso l'Università della Florida (Strik & Yarborough, 2005).

1.2.1 Mirtillo gigante

I mirtilli giganti crescono spontanei nei suoli sabbiosi, ricchi di sostanza organica e a pH acido tipici dei boschi umidi e delle macchie degli stati Nord Orientali degli U.S.A.; le varietà coltivate sono caratterizzate da un corredo cromosomico diploide $2n=24$ o in alcuni casi tetraploide. Le caratteristiche che hanno consentito al mirtillo gigante di affermarsi tra le principali specie coltivate a livello mondiale sono le dimensioni e la produttività delle piante, la presenza di frutti a grappoli e la possibilità di raccolta meccanica.

Il *V. corymbosum* è un arbusto perenne, cespuglioso di 2-3 metri di altezza e in grado di produrre fino a 50 e più anni dall'impianto se posto in condizioni pedoclimatiche favorevoli e se gestito in modo appropriato. Presenta un apparato radicale superficiale con due diverse tipologie di radici, sia robuste e gradi destinate all'accumulo di sostanze di riserva e all'ancoraggio, sia fini, fibrose e prive di peli radicali; quest'ultime sono dotate di una scarsa capacità di assorbire nutrienti compensata però dalla simbiosi con endomicorizze che agevolano il passaggio dal suolo alla radice degli elementi nutritivi. La distribuzione nel suolo delle radici dipende dall'età e dalle condizioni idriche e nutrizionali.

Le foglie sono decidue, grandi (3-5cm x 7-9cm), glabre di forma ovato-allungata con apici e margini interi o lievemente seghettati. In condizioni di fotoperiodo calante e con l'abbassamento delle temperature le foglie perdono la clorofilla con la conseguente scomparsa

del verde scuro, sostituito dal tipico colore rosso-cremisi dovuto alla comparsa di nuovi pigmenti (Figura 1-1).

Figura 1-1 Foglie in differenti periodi della stagione. A giugno foglie di colore verde intenso (A) e a dicembre colorazione rossa (B).



I rami di colore giallo dorato o rossiccio portano nella porzione basale gemme a legno appuntite e nella porzione distale gemme a frutto globose. La fruttificazione si ha nei rami misti e nei brindilli. I rami che si sviluppano all'inizio della primavera sono quelli più vigorosi, quelli che si accrescono successivamente sono più deboli.

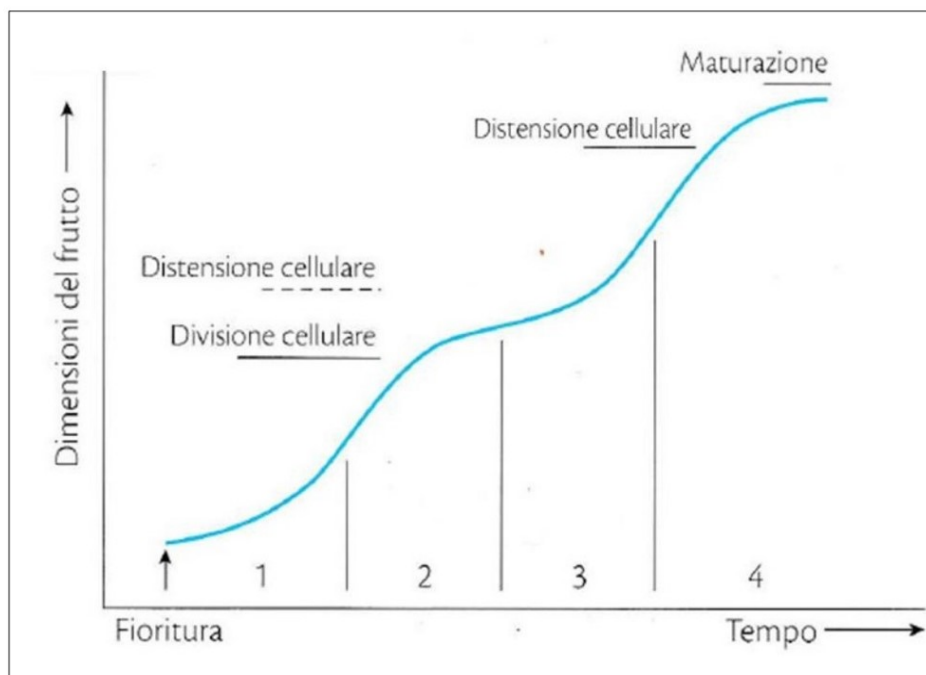
La differenziazione a fiore avviene l'anno precedente a quello di sviluppo, inizia a metà estate (luglio-agosto) circa 60-90 giorni dalla fioritura e procede dall'apice verso la parte basale del ramo. L'inizio del processo è segnato da un appiattimento dell'apice meristematico. Mentre le gemme a fiore evolvono quasi sempre in grappoli fiorali, solo il 40-60% di quelle a legno danno nuovi germogli.

I fiori sono costituiti da una corolla con 5 petali bianchi (in alcuni casi rosa) fusi insieme, 5 tepali fusi a formare un calice persistente, da 8 a 10 stami e un singolo stilo centrale terminate con uno stigma piccolo e poco allargato. La scalarità di fioritura è legata alla differente vigoria dei rami e sullo stesso ramo i fiori in posizione terminale si aprono prima di quelli basali.

L'impollinazione è prevalentemente entomofila e il mirtillo trae beneficio dall'impollinazione incrociata in quanto porta a migliori produzioni sia dal punto di vista

qualitativo che quantitativo. Una volta avvenuta la fecondazione la corolla si stacca ed in seguito anche lo stigma dissecca e cade. Il tasso di allegagione è molto elevato, 80-100%, rispetto alle altre piante da frutto soprattutto se sono disponibili impollinatori (api e bombi) e se non si verificano ritorni di freddo e sbalzi termici.

Figura 1-2 Curva di crescita a doppia sigmoide (Sansavini, et al., 2012)



Le bacche con un peso di 1-3g sono di colore nero-azzurro, a succo incolore, profumate, serbevoli, con semi molto piccoli e ricoperte da pruina, sostanza che protegge il frutto dalla disidratazione e facilita la conservazione. Lo sviluppo delle bacche ha un andamento a doppia sigmoide (Figura 1-2), simile a quello delle drupacee, caratterizzato da una rapida crescita iniziale dopo la fecondazione seguita da un modesto incremento diametrico e per ultimo da un forte accrescimento dei frutti che giungono a maturazione (Bounous, 2017).

1.2.2 *Mirtillo conilopide*

Il mirtillo conilopide, in inglese rabbiteye blueberry, è una specie spontanea che cresce lungo i fiumi nelle zone meridionali della Georgia e del Nord della Florida.

È un arbusto deciduo, di dimensione maggiore rispetto al *V. corymbosum*, alto dai 1,5 a 6 m e con frutti portati a grappolo. Avendo un basso fabbisogno in freddo si adatta ai climi caldi e trova in diverse zone del Sud Italia condizioni pedoclimatiche favorevoli alla sua coltivazione. Grazie al suo basso coefficiente di traspirazione si adatta bene a condizioni di scarsa umidità.

Un problema molto importante per la diffusione della coltura è l'autoincompatibilità della maggior parte delle cultivar; in mancanza di un'opportuna impollinazione la percentuale di allegagione è molto bassa, per questo l'impianto deve prevedere cultivar intercompatibili e viene consigliato l'impianto di una fila della cultivar impollinatrice alternata a due file della varietà principale (Bounous, 2017). Una valida risorsa per gli agricoltori è l'*Apis mellifera*, uno degli insetti pronubi che viene rinvenuto in *V. corymbosum* come d'altronde *Bombus spp.*, *Xylocopa spp.* e *Habropoda laboriosa*, anche se i più efficienti nell'impollinazione sono *H. laborios* e i bombi. *Apis mellifera* è semplice da gestire e numericamente abbondante per buona parte dell'anno e studi hanno dimostrato che nella varietà "Climax" il tasso di allegagione, il numero di semi e la velocità di maturazione sono positivamente influenzati dalla densità di questo impollinatore (Dedej & Delaplane, 2003).

Nelle aree di origine si adottano sesti d'impianto maggiori rispetto al *V. corymbosum*, circa 1,8 m x 3,6 m e vengono adottate tecniche di gestione differenti: nelle zone a rischio erosione si lascia inerbire il filare con piante spontanee, invece nelle zone pianeggianti nell'interfila viene seminata segale in autunno e successivamente interrata (Bounous, 2017).

1.2.3 Mirtillo rosso americano

V. macrocarpon, in inglese cranberry, è una specie diffusa in Nord America in zone a clima rigido, con suoli acidi e sabbiosi o in zone paludose. È un arbusto sempre verde con tralci striscianti detti "runners" lunghi da 0,8 a 2,0 m, dai quali si sviluppano dei corti ricacci che portano da 1 a 7 gemme. L'apparato radicale è molto robusto ma privo di peli radicali. I fiori sono caratterizzati da petali di colore rosa e la fioritura dura 3-4 settimane, l'impollinazione è entomofila. Il frutto maturo di forma subsferica è esternamente rosso brillante o rosso cupo, mentre la polpa è bianca.

In coltura il *V. macrocarpon* predilige terreni acidi o subacidi (pH 3,5-6), sciolti, con una buona disponibilità di sostanza organica e idrica. La coltivazione può anche essere effettuata su terreni acquitrinosi dove l'acqua durante il periodo delle piogge viene fatta defluire nei campi mediante sbarramenti e canali, per proteggere le piante dal freddo.

La propagazione viene effettuata per talea, i "runners" durante la potatura vengono prelevati dalla pianta madre e poi distesi al suolo e interrati con un erpice a dischi. Questo permette la radicazione e la formazione di una nuova pianta. Per avere impianti più accurati conviene mettere a dimora piante radicate in vivaio. Una delle principali difficoltà nei primi anni d'impianto riguarda la gestione delle malerbe che devono essere tenute sotto controllo per favorire l'emissione di radici e la formazione di un fitto tappeto di vegetazione. Molto

frequente è ancora l'utilizzo del diserbo anche se una tecnica alternativa prevede la deposizione di 2-3 cm di sabbia che si colloca tra i tralci impedendo lo sviluppo delle malerbe. Questa operazione viene effettuata ogni 2-3 anni.

Oggi la raccolta del cranberry è prevalentemente meccanica; le piantagioni vengono opportunamente allagate e i frutti vengono scrollati a macchina. Dopo il distacco tornano a galla e vengono convogliati per galleggiamento verso una coclea che li trasporta in cassoni per le operazioni di lavaggio, cernita e surgelazione. Oggi il 90% dei cranberries vengono utilizzati per la produzione di succhi puri o in miscela con altri frutti (mela, fragola, lampone) visto che le bacche pur avendo un aspetto particolarmente attraente non sono piacevoli al palato (Bounous, 2017).

1.2.4 *I mirtilli nani*

Diversi mirtilli che crescono spontanei vengono utilizzati dall'uomo e tra questi la specie più raccolta è il *V. angustifolium* caratterizzato da rami lisci, foglie grigio verdi e con bordi a volte dentati. Dai fiori campanulati e portati in racemi si originano bacche blu con polpa incolore. Altra specie di mirtilli nani è il *V. myrtilloides* diffusa nelle zone collinari o montagnose dove cresce insieme a *V. boreale*, altro mirtillo nano. Le aree di origine sono il Canada orientale e il Nord Est degli U.S.A., dove gli indiani incendiavano i boschi per favorire la formazione di radure poi invase da arbusti.

La raccolta in molti casi è ancora manuale o con macchine agevolatrici. Molto frequente è anche la raccolta ad anni alterni dove i mirtilli vengono bruciati per favorire lo sviluppo di germogli dotati di molte gemme a fiore che produrranno l'annata seguente. La bruciatura consente anche di contenere le malerbe e ridurre gli attacchi di patogeni fungini e insetti.

Nel caso di impianti opportunamente gestiti vengono effettuate fertilizzazioni in base ad analisi fogliari, diserbo e si collocano alveari per favorire l'impollinazione.

I frutti possono essere consumati tal quali, surgelati o trasformati in diversi modi e hanno una composizione chimica simile ad altri mirtilli blu (Bounous, 2017). Diverse specie appartenenti al genere *Vaccinium* sono dotate di un'attività anti-diabetica e sono state utilizzate come un tradizionale farmaco per trattamenti nei confronti del diabete. Recenti ricerche individuano in *V. angustifolium* una delle piante più indicate per chi ha problemi di diabete insieme al fieno greco. In Canada estratti di questa pianta sono utilizzati come farmaci per controllare il diabete in quanto possiedono un'attività simile a quella dell'insulina (Martineau, et al., 2016).

Le rese in Maine, ovvero una delle zone di maggiore diffusione per il mirtillo nano, oscillano tra i 1,8 e 3,4 t/ha; le primizie rappresentano i prodotti migliori. La superficie totale occupata dal mirtillo nano è di 50-60000 ha e si stima che il 20% è soggetto alla sola raccolta, mentre il 75% è soggetta a periodici interventi quali pirodiserbo o diserbo, sfalcio, concimazione (Bounous, 2017).

1.3 Importanza economica

Il perfezionamento delle tecniche di coltivazione e conservazione ha fatto crescere notevolmente l'interesse per la coltura del mirtillo sia a livello economico che commerciale, anche insieme alla maggiore consapevolezza del valore nutrizionale da parte dell'uomo. I mirtilli sono ampiamente riconosciuti come uno dei principali alimenti *health-improving*: attività antiossidante, proprietà anticancro, effetti neuroprotettivi e riduzione della pressione sanguigna ne hanno fatto crescere in modo considerevole la domanda.

La coltivazione del mirtillo gigante è stata avviata nei primi anni del XX secolo negli Stati Uniti, ma inizialmente non ebbe un grande successo, di fatti negli anni 30 la superficie dedicata era di soli 200 acri, pari a 80.9 ha. Nel 1965 le piantagioni di mirtillo negli U.S.A. coprivano all'incirca 8000 ha. Successivamente nel periodo compreso tra il 1982 e il 1992 ci fu un incremento del 19% della superficie dedicata al mirtillo gigante e furono introdotte molte nuove varietà coltivate (+47%) (Strik & Yarborough, 2005). Alla fine degli anni 90 la mirtillicoltura copriva a livello mondiale 38000 ha di cui 27000 ha in Nord America, quasi 4000 in Sud America, 4000 ha in Europa e gli altri ripartiti tra Oceania, Asia e Sud Africa.

Nel periodo compreso tra il 2007 e il 2014 la superficie mondiale è passata da 58400 a 111000 ha facendo registrare un incremento del 90%; sempre nel 2014 la produzione ha raggiunto le 540000 t.

Negli Stati Uniti attualmente la superficie destinata alla coltivazione del mirtillo gigante è di 23500 ha, concentrati nelle aree Occidentali, in particolare nel Michigan per quanto riguarda il prodotto destinato alla surgelazione e il New Jersey per il consumo fresco.

Negli anni '80 la coltivazione del *V. corymbosum* è stata introdotta in Sud America e nel 2016 la superficie investita era di circa 20000 ha, con Cile, Argentina, Uruguay, Brasile e Perù tra i principali produttori. La maggior parte della produzione sudamericana è destinata all'esportazione.

In Europa nel 2014 la superficie interessata al mirtillo gigante americano contava 11500 ha, ripartiti principalmente tra le nazioni dell'Est e del Centro Nord (Bounous, 2017). La coltura del *V. corymbosum* è iniziata negli anni 20-30 del Novecento in Germania grazie a

Hermann, che oltre ad impiantare le migliori varietà Nord americane, portò avanti un lavoro di miglioramento genetico che gli permise di introdurre alcune varietà da lui ottenute. Nel 1980 la mirtillicoltura ricopriva 550-600 ha e la produzione era completamente dedicata al consumo fresco; le aziende produttrici di mirtillo erano situate nei pressi dei maggiori centri abitati in quanto il consumatore amava andare a comprare i mirtilli direttamente dall'agricoltore. In questo periodo le produzioni sia aggiravano intorno alle 2,5-4 t per ettaro, solo le migliori aziende agricole arrivavano a 6-10 t/ha. In passato le principali cultivar erano la "Bluecrop" e "Weymouth", quest'ultima sostituita da "Bluetta" e "Patriot" per la loro maggiore produttività e miglior sapore. Altra cultivar apprezzata in Germania era la "Heerma", particolarmente idonea alla raccolta meccanica.

In Francia il mirtillo ha trovato condizioni ottimali nella Valle della Loira, nella catena montuosa dei Vosgi e nell'Aquitania dove i terreni sabbiosi, le abbondanti precipitazioni e gli inverni miti hanno favorito il suo rapido sviluppo. Nel 1992 la superficie totale dedicata alla mirtillicoltura era di 190 ettari di cui 123 in Aquitania, 32 nella Valle della Loira e 30 in paesi vicini al Vosgi. In tutti gli areali c'è stato un crescente interesse che ha portato nel 2014 ad una superficie di 420 ha. La *botrytis* in Francia rappresenta uno dei principali problemi in quanto favorita dalle abbondanti piogge primaverili che si verificano nel momento della fioritura (Naumann, 1993).

In Nord Europa il mirtillo gigante è coltivato soprattutto in Scandinavia dove c'è un costante incremento della superficie dedicata nonostante le rese per unità di superficie basse e l'elevato costo per la raccolta (Bounous, 2017).

Nei Paesi Bassi l'industria del mirtillo è in costante e rapida crescita, soprattutto nelle regioni del sud, passando dai 170 ha del 1992 ai 700 del 2014. Inizialmente circa il 70-80% della produzione veniva esportata, visto che il mirtillo era una specie poco popolare rispetto ad altri frutti. In Olanda le condizioni pedoclimatiche sono simili a quelle delle regioni occidentali della Germania, per questo anche la scelta varietale è simile. Molti impianti sono realizzati in coltura protetta per modificare l'epoca di maturazione (Naumann, 1993).

Attualmente, il principale produttore europeo è la Polonia con 1500 t/anno, dove la coltivazione del mirtillo gigante è iniziata nel 1950, con risultati che inizialmente non rispettarono le attese. Successivamente le piante vennero allevate all'interno di contenitori circolari in cemento riempiti con terreno proveniente da foreste di conifere e torba acida. Tale tecnica che consentiva un ottimo sviluppo della pianta e discrete produzioni non era economicamente vantaggiosa. Nel 1965 il mirtillo veniva coltivato in suoli leggeri e sabbiosi oppure in terreni disboscati, ma solamente negli anni '70 quando il Dr. K. Smorlaz comprese

a pieno l'influenza del pH sulle piante, il mirtillo gigante iniziò a diffondersi in maniera consistente. I 3800 ha del 2014 rispetto ai 1000 del 2003 testimoniano come il settore sia florido anche grazie ai programmi di ricerca finalizzati allo sviluppo di cultivar adattate agli ambienti locali.

Tra i mirtilli spontanei in Europa il *V. myrtillus* è quello che alimenta il maggior flusso commerciale. La raccolta del prodotto spontaneo ha ancora una certa importanza economica in Svizzera, Austria, Francia e nelle Alpi, anche se questa tradizione sta rapidamente scomparendo. La Polonia anche in questo caso è la nazione con la maggiore superficie a mirtilleto, circa 700000 ha, 160 mila raccolti sistematicamente (Bounous, 2017).

1.3.1 *Situazione italiana*

Negli anni '60 la produzione di mirtillo proveniva esclusivamente dal mirtillo spontaneo (*V. myrtillus*) che oggi è stato soppiantato dal mirtillo gigante americano tanto che nelle statistiche commerciali non viene più considerato.

Il *V. corymbosum* è stato introdotto in Italia da Eynard nel 1963 ed è attualmente coltivato in diverse regioni, anche se ad oggi ancora occupa una modesta superficie. Il Piemonte fu la prima regione a sperimentare questa coltura e grazie ai risultati, le superfici si estesero notevolmente. Recenti statistiche confermano il Piemonte una delle principali regioni produttrici con una superficie passata dai 120 ha del 2008 ai 350 ha del 2016, mentre la produzione è passata dalle 400 t del 2007 alle 2000 t del 2015. Il Cuneese è l'area dove sono principalmente presenti gli impianti di mirtillo, in aziende ad indirizzo misto, frutticolo o specializzate nella coltivazione dei piccoli frutti e della fragola. Anche nel Torinese si possono trovare delle importanti realtà produttive come anche nel Biellese e Novarese dove in prossimità del lago d'Orta le piante trovano condizioni ideali per il loro sviluppo.

In Trentino-Alto Adige si registrano sempre maggiori investimenti in termini di superfici e di conseguenza le produzioni sono passate dalle 400 t nei primi anni 2000 alle 1300 t del 2014. Da questa regione proviene circa un terzo della produzione nazionale.

Nel 2015 in Lombardia la superficie dedicata al mirtillo era di 146 ha situati prevalentemente in Valtellina, dove ci sono condizioni pedoclimatiche particolarmente favorevoli, e nelle province di Varese e Como.

Negli ultimi anni si sono affacciate alla filiera produttiva e commerciale diverse regioni del Centro-Sud Italia dove alcune organizzazioni di produttori stanno facendo notevoli investimenti con cultivar a basso fabbisogno in freddo in modo da ampliare il calendario di maturazione (Bounous, 2017). In effetti, la produzione proveniente da regioni come Sicilia e

Calabria si integrano perfettamente con quelle settentrionali dando continuità all'offerta nel periodo compreso tra settembre e aprile; in tale lasso di tempo le produzioni del Nord Italia sono molto basse e di scarsa qualità o addirittura nulle con un conseguente ricorso alle importazioni da limitrofi paesi mediterranei come la Spagna o da alcuni d'oltre Oceano, in primis il Cile, che è un punto di riferimento mondiale per il commercio dei mirtilli verso l'Italia. Il prodotto importato viene poi confezionato e immesso sul mercato con marche italiane che, in questo modo, garantiscono continuità di fornitura alla clientela.

Le prospettive di crescita della domanda di mirtilli sul mercato sono incoraggianti anche perché per la Grande Distribuzione Organizzata (GDO) italiana i mirtilli e alcune altre specie di piccoli frutti (lamponi, more) possono diventare un fattore distintivo del reparto ortofrutta, a condizione che il prodotto sia presentato in maniera adeguata ed opportunamente valorizzato. Per la grande distribuzione sono molto importanti, oltre alla qualità merceologica del prodotto (sapore, consistenza, conservabilità e valori nutrizionali), anche la disponibilità per tutto l'anno e la sostenibilità delle tecniche di produzione (distanze e modalità di trasporto, gestione dell'irrigazione, gestione del lavoro e altri aspetti legati all'impatto sul sistema economico e sociale dell'attività di coltivazione di questi frutti). La principale sfida per il settore produttivo italiano nei prossimi anni è dunque quella di soddisfare le esigenze logistiche, di qualità e sostenibilità del prodotto proveniente dalla GDO nazionale, al fine di aumentare il prodotto di provenienza nazionale sul mercato (Lunati, 2018).

Per gli agricoltori, un incentivo alla coltivazione del mirtillo può essere rappresentato dalle quotazioni, che registrano negli anni un trend positivo. Un elemento limitante riguarda il punto di vista del consumatore italiano che vede il mirtillo come una sfiziosità e non un prodotto da consumare tutti i giorni, anche a causa del prezzo sul mercato. Infatti, in Italia il consumo pro-capite è piuttosto basso, solamente il 10% rispetto a quello dei maggiori consumatori, ovvero Stati Uniti e Regno Unito dove il consumo si aggira rispettivamente intorno ai 1100 e 1300 g pro capite.

Nonostante nelle statistiche nazionali non viene più considerato, il mirtillo nero è ancora raccolto nelle vallate alpine e sui rilievi dell'Appennino. Nel modenese è stato istituito il marchio di tutela "Mirtillo nero dell'Appennino modenese" grazie ad una collaborazione tra la Camera di Commercio di Modena, il GAL, il parco Alto Appennino Modenese e le Comunità Montane dell'area (www.tradizionesaporimodena.it).

1.4 Esigenze pedoclimatiche

La coltura del mirtillo presenta peculiari esigenze pedoclimatiche che possono limitare la sua diffusione anche se recentemente l'evoluzione della tecnica di coltivazione (uso di ammendanti e correttivi, irrigazione, coltivazione fuori suolo) e il miglioramento genetico (cultivar di recente costituzione) hanno permesso di superare questo ostacolo favorendo la sua diffusione anche in nuove zone.

Come altre *Ericaceae*, i mirtilli necessitano di terreni a reazione acida, con valori ottimali di pH compresi tra 4.5 e 5.5, poveri in elementi minerali come P e K. In caso di terreni con pH superiore a 5.5 si hanno squilibri nutrizionali, in particolare il ferro diviene scarsamente disponibile per le radici nella soluzione circolante causando clorosi (Bounous, 2017) (Agnolin, et al., 2007). Ad elevati pH si possono verificare anche carenze di altri microelementi come manganese, zinco e rame la cui solubilità nel suolo decresce all'aumentare del pH (Haynes & Swift, 1985). Solamente in caso di elevate disponibilità di sostanza organica, il mirtillo riesce a crescere in suoli con pH 6 o leggermente superiore (Chen, et al., 2019). Elevata capacità di drenaggio, contenuto di sostanza organica intorno al 5-6%, assenza di calcare e tessitura sabbiosa sono caratteristiche indispensabili (oltre al pH) per avere una crescita ottimale ed elevate produzioni. La tessitura sabbiosa evita ristagni idrici e determina una bassa capacità di trattene cationi Ca, K e Mg con ripercussioni positive sul pH che è mantenuto naturalmente a bassi valori. Suoli pesanti e mal drenati dove sono frequenti i ristagni idrici favoriscono l'accumulo di metaboliti tossici e limitano il rifornimento di O₂ nella rizosfera. L'asfissia viene tollerata durante il riposo invernale, seppur per brevi periodi, ma non durante il periodo di attività vegetativa.

L'apparato radicale del mirtillo è piuttosto superficiale, perciò incapace di utilizzare le riserve idriche in profondità; di conseguenza l'acqua può essere un fattore limitante ai fini di un ottimo sviluppo vegetativo e di produzioni con elevati standard quantitativi e qualitativi. Per tale motivo gli apporti naturali devono essere ben distribuiti e in quantità sufficienti, altrimenti il rifornimento idrico deve essere garantito tramite irrigazione come avviene normalmente nelle aree del mediterraneo e in zone con clima temperato.

Il mirtillo tollera bene temperature piuttosto rigide e geli invernali; il legno ben maturo sopporta maggiori abbassamenti termici rispetto alle gemme, infatti in alcune varietà le gemme possono resistere fino a -27° C e il legno anche a -29° C; le radici invece, nei climi molto freddi, se non opportunamente protette con torba o corteccia che mitigano le temperature, possono subire danni. In autunno con i primi freddi e in condizioni di fotoperiodo calante la pianta cessa la propria attività vegetativa e inizia un progressivo adattamento alle temperature

invernali. In questa fase e alla ripresa vegetativa la pianta manifesta la massima sensibilità al freddo (Bounous, 2017). Il mirtillo è abbastanza resistente alle gelate tardive, la fase critica si colloca nel periodo della fioritura, dove temperature con valori di 2-10 °C sotto lo zero possono compromettere la fioritura (Agnolin, et al., 2007). È stato osservato come basse temperature allo stadio di bottoni fiorali possono arrecare danni non visibili durante la fioritura, con fiori che sembrano perfettamente integri, ma che invece possono avere lesioni a livello del pistillo e determinare una significativa cascola dei fiori (Olson & Eaton, 2001).

Le temperature invernali influenzano la resistenza al freddo degli organi riproduttivi alle gelate e la successiva produzione. Graduali cali delle temperature e scongelamenti in seguito a intense gelate consentono al mirtillo di acquisire una buona resistenza al freddo (Pavlovski, 2010).

Il fabbisogno in freddo nel mirtillo varia in un range di 600-800 ore/anno, che può scendere a valori anche inferiori alle 300 ore in alcune cultivar a basso fabbisogno in freddo adattate agli ambienti del Sud America; per soddisfare tale esigenza, fondamentale per avere una regolare fioritura, gli impianti vengono realizzati dove sono assicurate 600-1000 ore/anno a $t < 7^{\circ} \text{C}$ per le cultivar ad elevato fabbisogno in freddo (Song, et al., 2013).

Per quanto riguarda le alte temperature i mirtilli possono essere coltivati in ambienti dove le temperature arrivano a 32-38° C, valori superiori portano al disseccamento delle foglie in quanto le radici non riescono ad assorbire quantitativi di acqua sufficienti a mantenere il turgore cellulare. Le migliori produzioni si ottengono quindi in climi con estati calde e soleggiate, purché vengano garantiti adeguati interventi irrigui e con il mirtillo ben esposto al sole e al riparo dai venti (Bounous, 2017).

1.5 Tecnica colturale del mirtillo gigante

1.5.1 Propagazione

La propagazione del mirtillo può avvenire per seme, per talea legnosa o semilegnosa, o attraverso la micropropagazione dei tessuti in vitro. La propagazione per seme è utilizzata solamente per il miglioramento genetico e la ricerca di nuove cultivar.

Nella talea legnosa vengono utilizzati rami ben lignificati, esenti da malattie e raccolti durante l'inverno quando le piante hanno accumulato un sufficiente numero di ore di freddo, caratteristica importante ai fini della radicazione. I rami vengono preparati e messi in radicazione ad inizio primavera, dopo essere stati conservati ad un sufficiente grado di umidità e a temperature di -1. Le talee vengono messe in radicazione in serra su cassoni spaziate di 5

cm x 5 cm in alveoli di torba o plastica. Il substrato e il materiale vegetale vengono mantenuti in condizioni di adeguata umidità grazie ad un sistema di nebulizzazione. L'emissione delle radici avviene dopo 60-80 giorni e si registrano maggiori percentuali di radicazione con riscaldamento basale a temperature di 22-24° C.

La micropropagazione rappresenta un'efficiente tecnica di moltiplicazione che permette di ottenere un elevato numero di individui, esenti da virus, identici alla pianta madre, in tempi brevi e spazi limitati. Infatti, da un singolo espianto *in vitro* è possibile ottenere numerosi germogli avventizi che radicano facilmente su un substrato a base di torba e perlite o torba e terriccio (Bounous, 2017) (Agnolin, et al., 2007).

È stato osservato che le piante propagate per talea crescono più lentamente e producono germogli significativamente più brevi e in minor numero rispetto alla propagazione *in vitro*. Nonostante ciò, le piante da talea hanno mostrato fioriture più abbondanti, frutti di maggiori dimensioni e di conseguenza produzioni più elevate; probabilmente queste differenze variano da cultivar a cultivar (Litwinczuk, et al., 2005).

1.5.2 Impianto

L'epoca più favorevole per la messa a dimora delle piante è l'inizio della primavera nell'Italia Settentrionale e in autunno nel Centro-Sud Italia. Nella coltivazione in suolo prima di procedere con l'impianto è necessario effettuare un'analisi chimico-fisica del terreno (pH, conducibilità, calcare, sostanza organica) in modo tale da verificare se ci sono condizioni idonee alla coltivazione del mirtillo ed eventualmente apportare opportune correzioni (Bounous, 2017).

La preparazione del terreno va fatta provvedendo all'eliminazione delle malerbe e alla fresatura del cotico erboso. Successivamente viene applicata abbondante sostanza organica, come letame maturo (70-80 q.li/1000 mq), torba acida, trucioli, segatura, corteccia macinata e aghi di pino, e fertilizzanti per la concimazione di fondo che vengono interrati mediante un'aratura a 30 cm di profondità. All'impianto si distribuiscono fosforo e potassio sotto forma di concimi fisiologicamente acidi, come il perfosfato minerale e il solfato potassico. Quando necessario si ricorre anche all'acidificazione del suolo distribuendo zolfo, con cautela a spaglio e non in maniera localizzata altrimenti è facile incorrere in eccessivi abbassamenti di pH. L'applicazione viene fatta in autunno in modo da consentire ai tiobatteri di degradare lo zolfo in acido solforico (Agnolin, et al., 2007).

Nei suoli agricoli, in particolare in quelli italiani, raramente si riscontrano condizioni idonee alla coltivazione del mirtillo con ripercussioni negative sullo sviluppo della pianta e

che possono anche portare alla morte della stessa nei casi peggiori. Recentemente, nelle zone non vocate è stata introdotta la tecnica del fuori suolo che permette di superare i limiti naturali del terreno. Le scelte tecniche più importanti nell'avvio della coltivazione fuori suolo riguardano la dimensione del contenitore e il tipo di substrato.

La dimensione ottimale dei vasi per la produzione di mirtilli varia dai 50 ai 95 L ed è stato osservato come contenitori con capacità di 38 L influenzino negativamente la produzione (Whidden, 2008). Inoltre, la presenza di fori per garantire un ottimo drenaggio e un corretto apporto d'acqua sono componenti fondamentali in quanto il mirtillo deve avere un terreno costantemente inumidito senza che si verifichino ristagni (Fang, et al., 2020).

L'apparato radicale delle piante coltivate in vaso risulta essere meno sviluppato rispetto alle condizioni di pieno campo a causa del minor volume di suolo a sua disposizione, con ripercussioni sulla capacità di assorbire acqua e nutrienti e di conseguenza sullo sviluppo di biomassa e sulla produzione. Contenitori con altezze elevate portano ad una distribuzione irregolare dell'acqua che congiuntamente a variazioni di temperatura determinano uno sviluppo irregolare delle radici. Inoltre, con lo sviluppo delle radici che occupano sempre un maggior volume di substrato, diminuisce la porosità con ripercussioni negative sulla capacità di ritenzione idrica e sull'aereazione. Invece, in caso di contenitori di piccole dimensioni e forte vento le piante possono subire forti danni, fino a spezzarsi a livello del colletto a causa dello scarso ancoraggio; è quindi importante l'istallazione di strutture di sostegno o protezioni in zone soggette a forte ventosità (Fang, et al., 2020).

Il substrato ideale dovrebbe avere un'elevata capacità di ritenzione idrica, un'elevata capacità di scambio cationico ed essere resistente alla decomposizione. Torba da sfagno, fibra di cocco e perlite sono i materiali che generalmente vanno a costituire il substrato per la coltivazione del mirtillo in fuori suolo con l'aggiunta in alcuni casi di segatura e cippato di conifere. La torba è molto utilizzata per il suo pH acido e per l'elevata capacità di ritenzione idrica. La fibra di cocco contribuisce ad incrementare la capacità idrica di campo, invece la perlite è un materiale inorganico in grado di incrementare la capacità di drenaggio; quest'ultima non è particolarmente influenzata dai microrganismi a bassi valori di pH, anche se in alcuni casi, quando il pH scende a valori estremamente bassi può rilasciare ioni Al tossici in prossimità delle radici (Fang, et al., 2020) (Strik, et al., 2017). Mentre la fibra di cocco e la torba sono soggetti a decomposizione nel tempo, riducendo il volume del substrato, la perlite rappresenta al contrario una componente stabile anche se, quando presente in proporzioni elevate, può determinare un'eccessiva lisciviazione dei nutrienti dai contenitori, diminuire

l'efficienza d'uso dei fertilizzanti ed impattare negativamente sulla produzione (Strik, et al., 2019).

Sperimentazioni condotte utilizzando tre differenti percentuali di perlite nel substrato (10%, 20%, 30%) sono state effettuate per individuare il giusto quantitativo in due differenti varietà di mirtillo; dai risultati è emerso come l'aggiunta di elevate quantità di perlite portino ad un minor sviluppo della pianta, nonostante la scarsa influenza sugli elementi del substrato e sul loro assorbimento da parte della coltura. Questo ha permesso di constatare che la minor crescita non era correlata alla nutrizione ma all'influenza della perlite sulle proprietà idriche del substrato. Inoltre, confrontando torba e fibra di cocco (a parità di perlite) è emerso come la prima garantisce un miglior sviluppo della pianta, apparentemente dovuto agli effetti sulla salinità del substrato e sulla nutrizione. Infatti, la torba aveva un contenuto di sali nettamente inferiore alla fibra di cocco e ciò migliora la capacità di assorbimento di azoto, fosforo, magnesio e zolfo da parte della pianta. Questo problema dato dalla fibra di cocco potrebbe essere aggravato dalla qualità dell'acqua d'irrigazione in caso di elevate concentrazioni di NaCl, carbonati e bicarbonati (Strik, et al., 2019).

Strik et al. (2017) hanno saggiato l'utilizzo di corteccia di abete come substrato per la coltivazione del mirtillo fuori suolo. Elevate percentuali di corteccia nel substrato hanno determinato un minor sviluppo vegetativo rispetto all'utilizzo di torba e fibra di cocco probabilmente a causa delle sue proprietà fisiche che portano ad una bassa capacità di ritenzione idrica. Infatti, è stato evidenziato come l'acqua facilmente disponibile nella corteccia di abete è solo il 20% di quella nella torba. Inoltre, il maggior drenaggio sempre rispetto alla torba e alla fibra di cocco, riduce ovviamente anche la ritenzione della soluzione nutritiva con conseguente minor disponibilità di N e K. L'eventuale utilizzo di questo materiale costringe gli agricoltori ad incrementare l'apporto di acqua e di fertilizzanti.

Per quanto riguarda il K, il cui assorbimento avviene per diffusione e dipende dalla concentrazione di ioni K^+ nella soluzione a contatto con le radici, sono state riscontrate differenze nell'efficienza di assorbimento tra torba e fibra di cocco. La torba garantisce una maggior efficienza nell'assorbimento del potassio, nonostante la disponibilità nel substrato e la concentrazione nei tessuti vegetali è maggiore con la fibra di cocco.

Anche nel caso del P si hanno differenze nell'efficienza di assorbimento. Nonostante la fibra di cocco ha maggior contenuto e una maggiore disponibilità di P rispetto alla torba, non si riscontrano differenze in merito alla concentrazione di tale elemento nei tessuti vegetali. Infatti, il minor pH della torba potrebbe garantire una migliore efficienza nell'assorbimento

del fosforo; l'assorbimento di P in substrati a base di fibra di cocco può essere uguale o superiore a quello della torba solo se si riesce ad avere un uguale pH.

I substrati a base di fibra di cocco hanno anche una maggiore disponibilità di azoto sia in forma nitrica che ammoniacale rispetto alla torba. Alti valori del pH favoriscono però la nitrificazione e la successiva perdita di azoto, con la conseguente richiesta di frequenti apporti di NH_4^+ , fondamentali per sopperire alle perdite. Risulta quindi importante la corretta gestione del pH per garantire una buona dotazione di NH_4^+ , ovvero la forma di azoto preferita dal mirtillo. È stato evidenziato come il contenuto di azoto nei tessuti vegetali delle piante coltivate in fibra di cocco sia inferiore rispetto a quello di piante coltivate su torba (caratterizzata da un pH acido) e questo determinerebbe una probabile maggiore richiesta di N nel lungo termine per mantenere elevate produzioni. Differenze nell'efficienza di assorbimento di Mg e Fe sono state riscontrate tra torba e fibra di cocco, ma in questo caso a causa dei relativi contenuti e non della loro disponibilità o capacità di assorbimento da parte della pianta (Strik, et al., 2017).

Ancora non sono disponibili risultati sulla durata a lungo termine dei substrati: infatti, nel tempo, la decomposizione dei materiali può causare compattamento con ripercussioni negative sulla distribuzione dell'acqua (Fang, et al., 2020).

Figura 1-3 Differenze di dimensione e colorazione delle foglie tra la varietà "Duke" (sinistra) e "Bluecrop" (destra).



Le piante di mirtillo gigante, pur variando di dimensione da cultivar a cultivar (Figura 1-3) e in base all'ambiente e alla tecnica colturale, vengono impiantate con sesti da 3 m x 1 m, 3 m

x 1,5 m o 3m x 2m nel caso di cultivar più vigorose. Il sesto d'impianto deve garantire una buona illuminazione della chioma, fondamentale alla pianta per svilupparsi e produrre con regolarità (Bounous, 2017). Nei primi tre anni successivi alla messa a dimora delle piante, le distanze d'impianto non vanno ad influenzare la produzione; successivamente, la resa per pianta è maggiormente condizionata. Quando le piante sono molto vicine, le rese risultano minori rispetto a piante maggiormente distanziate, a causa di una fioritura meno abbondante a sua volta dovuta a una minore illuminazione della chioma (Moore, et al., 1993).

Nei moderni impianti è generalmente prevista l'installazione di serre o tunnel con copertura in polietilene o con reti antigrandine. L'utilizzo dei materiali plastici (polietilene, multieva) permettono di ridurre la bagnatura delle foglie in seguito a pioggia o rugiada e quindi di limitare il numero di trattamenti, vista la minor predisposizione all'attacco di patogeni fungini. Inoltre, coprendo gli impianti a gennaio-febbraio, è possibile anticipare la maturazione di 15-20 giorni.

Figura 1-4 Esempio di impianto di mirtillo in suolo con copertura a capannina nei pressi di Telve (TN).



La copertura antigrandine, vista la maggiore frequenza con cui si manifestano fenomeni meteorologici estremi, è sempre più utilizzata per prevenire eventuali danni come lesioni che facilitano l'ingresso di organismi patogeni. Le strutture di protezione possono essere rappresentate da tunnel costituiti da piedini in acciaio lunghi 220 cm e archi da 7 m, che nel

mirtillo generalmente hanno una larghezza di 5-6 m e vanno a coprire due file. Tale intelaiatura può sorreggere sia la rete antigrandine che il nylon di copertura. In alternativa, la protezione può essere realizzata con coperture a capannina (Figura 1-4), che derivano da quelle utilizzate per il melo e costituite da una struttura portante in pali di cemento ancorati al suolo. È poi presente una fune trasversale, un filo longitudinale di interfila fissato a un filo di colmo (entrambi realizzati in acciaio). La copertura può avere una larghezza che permette di coprire tutta la fila: in questo caso è fissata ai fili di interfila o solo metà, e qui viene fissata anche al filo di colmo, oltre che a quelli di interfila. La messa in tensione e il fissaggio ai fili avviene mediante corde elastiche e ganci. Il principale vantaggio è quello di consentire una maggiore libertà nei sestri d'impianto e un più facile accesso con le attrezzature, permettendo la meccanizzazione di alcune operazioni. Questa tipologia di copertura è utilizzata in superfici di elevate dimensioni, regolari e di limitata pendenza e quindi accessibili con le macchine (Agnolin, et al., 2007).

1.5.3 *Forma di allevamento e potatura*

La forma di allevamento più idonea è il cespuglio libero formato da 5-6 branche produttive e 1-2 polloni di rinnovo, che non necessita di sostegni. Regolare il carico produttivo e favorire il rinnovo della pianta sono i principali obiettivi della potatura; bisogna quindi tener in considerazione che grandi tagli squilibrano la pianta portando ad elevato vigore vegetativo, mentre una mancata potatura invecchia precocemente le branche che non emetteranno brindilli produttivi in numero adeguato.

Nei primi anni (1-3) gli interventi di potatura sono veloci e leggeri in modo da favorire un rapido sviluppo vegetativo e consistono nell'“apertura della pianta”, eliminando i polloni e le branche che crescono nella parte centrale, e nell'asportazione dei polloni basali in soprannumero (Agnolin, et al., 2007). Nei primi anni viene ridotto il numero di gemme a fiore in modo da evitare che abbondanti fioriture compromettano lo sviluppo della pianta. Viene anche consigliato di eliminare tutti gli organi fiorali al primo anno, mentre al secondo anno è possibile ottenere piccole produzioni solamente in piante sufficientemente vigorose, altrimenti si avrebbe un minor sviluppo delle radici e basse produzioni nei successivi 2-3 anni (Strik, et al., 2006)

Negli anni seguenti la potatura deve mantenere la pianta sana e vigorosa, incrementando e migliorando la produzione sia a livello qualitativo che quantitativo. Ogni anno vengono eliminate 1-2 branche vecchie e sostituite con un paio di polloni vigorosi di 1-2 anni, in quanto

le branche vecchie e di grosso calibro (> 3 cm) perdono la loro produttività; viene asportato circa 1/3 di legno vecchio all'anno. Il carico produttivo è regolato in base alle potenzialità della pianta e si controlla la distribuzione della vegetazione in modo da facilitare la raccolta. Se non viene effettuata annualmente la potatura, si ha un'abbondante fruttificazione a scapito però della dimensione dei frutti.

Gli altri scopi della potatura sono quelli di favorire l'aereazione e la penetrazione della luce nella chioma ed eliminare parti eventualmente danneggiate da agenti meteorologici o da insetti e funghi, per tale motivo è preferibile effettuare la potatura a fine inverno.

In caso di piante deboli si effettua una potatura severa, con tagli di ritorno sulla branca per non invecchiarla precocemente; per rinnovare impianti vecchi o mal gestiti, viene asportata tutta la vegetazione in modo da favorire la crescita di nuovi e vigorosi germogli che permettono dopo tre anni di ottenere ottimi raccolti (Bounous, 2017) (Agnolin, et al., 2007).

1.5.4 *Irrigazione e concimazione*

L'irrigazione è uno dei fattori determinanti per la crescita e la produzione del mirtillo; come accennato, il mirtillo ha un apparato radicale poco sviluppato che non gli consente di sfruttare le risorse idriche disponibili in profondità e perciò è facile che incorra in stress idrici. Qualora gli apporti naturali non siano sufficienti è fondamentale ricorrere all'irrigazione.

Opportuni apporti idrici consentono di aumentare l'efficienza di diversi processi fisiologici relativi alla fase vegetativa e di fruttificazione come l'accumulo di sostanze di riserva, lo sviluppo vegetativo, l'accrescimento dei frutti e la differenziazione delle gemme (Bounous, 2017). I fabbisogni idrici variano in funzione dello stadio fenologico e dell'età della pianta, con una massima richiesta idrica in corrispondenza delle due settimane successive alla caduta dei petali e delle due settimane prima e dopo la raccolta; criticità si possono avere al momento della schiusura delle gemme (Agnolin, et al., 2007).

Il ricorso all'irrigazione è condizionato da fattori pedoclimatici e agronomici da un lato e da fattori economici dall'altro. Prima di realizzare l'impianto è importante effettuare analisi chimiche delle acque per determinare concentrazione salina e pH. Di fondamentale importanza è il calcolo dei volumi da apportare in modo da poter verificare se sono disponibili dotazioni idriche sufficienti per sostenere la coltura.

Oggi la microirrigazione (goccia o microjet) è il sistema maggiormente utilizzato in quanto permette di ottenere ottimi risultati con modesti volumi d'acqua poiché le perdite per evaporazione e ruscellamento sono ridotte al minimo. La distribuzione localizzata al suolo permette di collocare l'acqua in prossimità del volume di terreno esplorato dalle radici

consentendo a sua volta di distribuire quantitativi idonei per le singole piante e ridurre i rischi di ustioni a livello fogliare causati da sali eventualmente presenti nell'acqua, quando questa è applicata per aspersione sovrachioma. Inoltre, tale tecnica utilizza basse pressioni di esercizio, permettendo una completa automatizzazione dell'impianto e il ricorso alla fertirrigazione, anche se in questo caso bisogna dotarsi di specifici impianti (Bounous, 2017). In un impianto a goccia (soluzione maggiormente adottata) l'acqua è portata da manichette, generalmente due per ogni fila, dove vengono installati dei gocciolatori; i gocciolatori per pianta possono essere due o quattro soprattutto in caso di coltivazione in vaso, dove è più probabile che si verifichino stress idrici. In alcuni casi, soprattutto in passato, l'acqua veniva distribuita per aspersione sovrachioma; questo metodo, che richiede notevoli volumi idrici, potenzialmente determina un maggior sviluppo di malattie fungine a livello fogliare a causa della frequente bagnatura delle foglie, ma può anche avere una funzione climatizzante. Infatti, permette di proteggere le piante dal gelo in inverno e, in caso di coltura protetta, consente di ridurre le elevate temperature estive (Fang, et al., 2020).

Una ricerca condotta presso l'Università dell'Oregon ha confrontato, in piante di mirtillo di due anni della varietà "Elliott", tre diverse tipologie di impianti: a goccia, microjet e sprinkler; per ogni tipologia venivano apportati tre diversi quantitativi d'acqua che corrispondevano al 50%, 100% e 150% dell'evapotraspirazione. I risultati ottenuti hanno messo in luce come l'irrigazione a goccia, apportando il 100% dell'ET_c, permette di ottenere piante con un maggiore sviluppo vegetativo (si ha un maggiore peso secco e maggior numero di germogli). Rispetto al microjet, l'irrigazione a goccia richiede almeno il 42% in meno di acqua per raggiungere un uguale peso secco e il 52% in meno rispetto agli sprinkler. La varietà "Elliott" sviluppa, oltretutto, una chioma molto densa che oltre ad avere un'elevata richiesta evapotraspirativa, nel caso si utilizzi un impianto per aspersione sovrachioma, riduce il quantitativo d'acqua che giunge al suolo esponendo le piante ad un maggior stress idrico. Quindi, per quanto riguarda la crescita della pianta e l'efficienza d'uso dell'acqua, il sistema a goccia si è dimostrato il migliore nei primi anni dalla messa a dimora delle piante (Strik, et al., 2011). L'utilizzo di impianti a goccia determina il ricorso ad apporti molto frequenti che mantengono elevati e costanti umidità nel suolo o substrato di coltivazione. Questo determina una maggiore incidenza della *Phytophthora cinnamomi*, principale agente del marciume radicale del mirtillo, e del *Pythium spp.* Perciò l'utilizzo di impianti per aspersione sovrachioma può essere una valida alternativa in caso di cultivar suscettibili al marciume radicale e in siti con terreni pesanti e mal drenati, facendo comunque attenzione allo sviluppo di patogeni nella parte aerea della pianta (Bryla & Linderman, 2007).

A causa dei cambiamenti climatici, l'acqua, a livello mondiale, è la risorsa più limitante per le produzioni agricole. In questo contesto attuale è fondamentale massimizzare l'efficienza d'uso dell'acqua senza però avere perdite produttive sia a livello qualitativo che quantitativo. Per tale motivo si sta sempre più diffondendo nelle produzioni frutticole, anche nei piccoli frutti, la tecnica del deficit idrico controllato. Lobos et al. (2018) ha evidenziato come, restituendo solamente il 50% dell' ET_c , nel mirtillo si hanno frutti di dimensioni molto piccole rispetto ad una situazione ottimale (100% ET_c) a causa di una forte riduzione della conduttanza stomatica e del tasso di fotosintesi. Una minore acidità e una maggiore concentrazione in solidi solubili si riscontra quando le piante sono sottoposte a un severo stress idrico (50% ET_c) sempre in confronto con piante mantenute in condizioni idriche ottimali. Risultati promettenti si riscontrano quando lo stress idrico è moderato; infatti, quando si apporta il 75% dell' ET_c , la produzione e la qualità dei frutti sono molto simili a quelle ottenute in piante dove si restituisce tutta l'acqua evapotraspirata (Lobos, et al., 2018). In un altro studio, Mingeau et al. (2001) ha riscontrato che il deficit idrico influenza la qualità e la quantità della produzione nell'annata in corso e in quella seguente, non solo in funzione della sua severità, ma anche in base alla fase fenologica in cui è applicato. Nel mirtillo la fase di massima sensibilità va dai primi stadi di formazione del frutto alla maturazione (Mingeau, et al., 2001).

Il mirtillo è una pianta con specifiche esigenze nutrizionali ed è fondamentale soddisfarle in modo da evitare carenze o squilibri che si ripercuoterebbero sullo sviluppo della pianta e sulla produzione. La nutrizione non va però disgiunta da opportuni apporti idrici, soprattutto per quanto concerne la fertirrigazione e dagli apporti di sostanza organica. La distribuzione dei concimi può essere effettuata a spaglio o tramite fertirrigazione (Agnolin, et al., 2007).

Il mirtillo, come detto in precedenza, preferisce azoto in forma ammoniacale NH_4^+ e l'utilizzo di fertilizzanti che contengono solo nitrati, come anche l'applicazione di quantità eccessive, possono causare lesioni, ustioni alle radici e ridurre la crescita della pianta, portando anche alla sua morte. Oltretutto la distribuzione di concimi contenenti azoto in forma ammoniacale favorisce l'acidificazione del suolo mantenendo il pH a valori prossimi a quelli ottimali.

Al primo anno le piante sono molto sensibili alle carenze in quanto non hanno immagazzinato riserve: vanno somministrate modeste quantità di azoto, pari a circa 20-30 g per pianta, per un totale di due applicazioni. Nei primi anni l'applicazione di fertilizzanti azotati è fondamentale per favorire l'insediamento della pianta e va ad influenzare il contenuto di sostanza secca, che nella prima stagione di crescita aumenta rapidamente dalla schiusura delle gemme all'abscissione delle foglie in ottobre (Banados, et al., 2012). Clorosi internervale

e marginale, seguite da necrosi, sono frequenti in caso di eccessive applicazioni. La somministrazione di piccole dosi è anche dovuta allo scarso volume di suolo occupato dalle piante al primo anno. Nei primi anni l'applicazione viene effettuata manualmente posizionando il concime in prossimità della pianta e facendo attenzione a non concentrarlo tutto in una piccola porzione in prossimità del colletto.

Confrontando piante di un anno di due diverse cultivar coltivate in vaso, "Star" e "Misty", è stato osservato come il volume della vegetazione aumenti linearmente all'aumentare dell'azoto apportato (con effetti variabili a seconda della cultivar, "Star" sviluppava una maggiore chioma) ma dosi elevate in "Misty" hanno favorito forti attacchi di *Botryosphaeria dothidea*. L'elevata incidenza del patogeno ha determinato una riduzione del volume medio della chioma. Nella varietà "Star" il peso secco e la produzione mostrano un incremento proporzionale alla disponibilità di azoto, cosa che non si verifica nella varietà "Misty", dove peso secco e resa sono migliori quando si applicano medie quantità di azoto (20 g per pianta) e scendono quando vengono apportate elevate dosi (Wilber & Williamson, 2008).

Dal terzo anno sono necessari adeguati livelli di azoto per sostenere lo sviluppo della pianta, la produzione e la formazione di gemme a fiore per il raccolto dell'anno seguente. Un eccesso di azoto alla ripresa vegetativa potrebbe avere ripercussioni negative sulla qualità dei frutti, ritardare la maturazione e favorire lo sviluppo di patogeni sui frutti; eccessi alla fine della stagione determinano una crescita eccessiva che si protrae a lungo con un maggiore rischio che le prime gelate colpiscano la pianta quando le sue strutture non sono ancora lignificate.

L'azoto, quando le piante sono ormai insediate (dal terzo anno) viene somministrato in piccole dosi, in 3 volte, ad intervalli di 30 giorni a partire da metà aprile (generalmente solfato ammonico) in quanto inizialmente la pianta sfrutta le riserve di azoto immagazzinate durante la stagione precedente. Le dosi per pianta sono 60 g a metà aprile, 60 a metà maggio e 30 a metà giugno (Bounous, 2017). Causa il limitato sviluppo dell'apparato radicale nelle piante di mirtillo, il numero di applicazioni può essere aumentato in modo che venga assorbito prima che sia allontanato dal volume di suolo esplorato dalle radici. Possono essere utilizzati anche fertilizzanti a lenta cessione, a condizione che la forma di azoto e il tasso di rilascio siano appropriati alle esigenze della pianta. In impianti al secondo anno, l'utilizzo di concimi a lenta cessione non hanno mostrato evidenti vantaggi rispetto al solfato ammonico. Concimazioni azotate per via fogliare risultano inefficienti perché la quantità di azoto assorbita è modesta e c'è un elevato rischio di causare ustioni (Strik, et al., 2006).

Per quanto concerne il fosforo, la distribuzione è giustificata solo se il contenuto nel suolo e nei tessuti vegetali è basso. Il fosforo viene applicato in tardo autunno o in primavera prima del germogliamento e qualora non si verificassero precipitazioni è consigliato procedere con l'irrigazione. Generalmente il fosforo è apportato sotto forma di fosfato monopotassico, ma vengono anche utilizzati superfosfato e ammonio fosfato; quando il concime contiene anche azoto è preferibile applicarlo in primavera. I classici sintomi della carenza di fosforo sono rappresentati da foglie piccole e con una colorazione violacea e piante che crescono a stento.

Il potassio viene somministrato contemporaneamente al fosforo e visto che è immobile nel suolo, come del resto il fosforo, effetti visibili di applicazioni si manifestano a uno o due anni dalla distribuzione. Carenze di potassio a livello fogliare possono determinare diversi sintomi, quali clorosi marginale, arricciamento e aree necrotiche e sono causate da un cattivo drenaggio, siccità o pH acidi. Anche la resa ha una forte influenza nel contenuto di potassio nelle foglie: la concertazione di K nei frutti aumenta notevolmente con la maturazione, raggiungendo una media di oltre 60 mg per bacca. Pertanto, carenze a livello fogliare si possono verificare in annate particolarmente produttive, anche se in tal caso dopo la raccolta si ritorna a livelli accettabili (Strik, et al., 2006). I quantitativi di P e K apportati crescono nel corso degli anni fino a raggiungere le 40-60 unità/ha di P_2O_5 e 80/100 unità/ha di K_2O .

Nel mirtillo le carenze di calcio non sono molto frequenti ma si possono manifestare in suoli con pH particolarmente bassi o in piante che hanno un'elevata rapidità di crescita; invece, elevate concentrazioni nei tessuti, che generalmente variano dalla 0.4 allo 0.8%, sono determinate da elevate dotazioni nel suolo. Generalmente alti contenuti di manganese nelle foglie, sopra a 450 ppm (normalmente il contenuto varia dai 30 ai 350 ppm), indicano bassi valori di pH e bassi contenuti di Ca nel terreno. Se è necessario calcio e il pH è inferiore a 4 si applica la calce, se invece è superiore a 5 si utilizza gesso.

Altri importanti elementi sono lo zolfo, utilizzato per correggere il pH e con un contenuto nelle foglie dello 0.11-0.16 %, e il magnesio con un contenuto compreso tra lo 0.13 e lo 0.25% (Strik, et al., 2006).

Nella maggior parte dei casi vengono applicati concimi minerali, ma è stato osservato come l'utilizzo di fertilizzanti organici pellettati, sia singolarmente che in combinazione con fertilizzanti minerali, nella varietà "Bluecrop" coltivata fuori suolo, determinano effetti positivi sul contenuto in polifenoli e sull'attività antiossidante. Considerando quindi gli effetti positivi dei fertilizzanti organici, una loro integrazione con i fertilizzanti minerali può favorire l'evoluzione della tecnica di coltivazione fuori suolo del mirtillo (Milivojević, et al., 2020).

Molto frequente, soprattutto in coltivazioni fuori suolo e negli impianti di recente realizzazione, è il ricorso alla fertirrigazione. Tale pratica permette di apportare alle piante fertilizzanti solubili direttamente tramite l'impianto di irrigazione. Quando l'irrigazione viene effettuata mediante impianti a goccia, la maggior parte delle radici si trova in corrispondenza del volume di terreno bagnato dai gocciolatori, pertanto l'applicazione dei concimi mediante l'acqua d'irrigazione risulta essere molto efficiente. I vantaggi di questa tecnica sono diversi tra cui la precisa collocazione dell'intervento di fertilizzazione sia a livello spaziale che temporale (è possibile intervenire anche in caso di terreno non praticabili); fornendo piccole quantità di fertilizzante si riducono potenzialmente le perdite e inoltre si riducono i costi di applicazione (non è necessaria manodopera o trattori e spandiconcime). Tuttavia, gli svantaggi sono dovuti ai maggiori costi per la realizzazione dell'impianto e per l'acquisto dei concimi che devono avere determinate caratteristiche, in primis un'elevata solubilità in acqua (Bryla & Strik, 2015).

Nella soluzione nutritiva la principale fonte di azoto per il mirtillo è il solfato ammonico ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), disponibile sia in forma granulare che in forma liquida; anche la forma granulare, caratterizzata da una solubilità di 754 g/l a 20° C, può essere utilizzato per la preparazione della soluzione nutritiva. L'urea, con una solubilità di 1193g/l a 25° C, viene frequentemente utilizzata per la fertirrigazione del mirtillo, in particolare quando il pH è inferiore a 5. L'azoto ureico nel suolo è rapidamente convertito in NH_4^+ determinando un abbassamento del pH anche se è meno acidificante rispetto ai fertilizzanti a base di ammonio. Anche il polifosfato di ammonio viene utilizzato per apportare azoto in quanto contiene l'11% di azoto in forma ammoniacale, ma è principalmente utilizzato come fonte di fosforo. In ambiente acido il polifosfato è rapidamente convertito in monofosfato, forma di fosforo prontamente assorbibile per il mirtillo. In caso di suo utilizzo però bisogna prestare attenzione alla presenza di calcio o bicarbonati nell'acqua in quanto si formerebbero composti insolubili che ostruirebbero i gocciolatori (Bryla & Strik, 2015). Gli altri elementi vengono apportati con concimi, quali solfato di potassio, solfato di magnesio e fosfato monopotassico.

La soluzione nutritiva viene preparata grazie a pompe dosatrici posizionate sulla rete idrica in prossimità delle vasche in cui sono disciolti i concimi, che utilizzano la pressione dell'acqua come forza motrice; così azionata la pompa aspira la soluzione concentrata dalla vasca, secondo la dose desiderata e la miscela con l'acqua. Grazie a questa tecnica la quantità di prodotto iniettato è sempre proporzionale al volume d'acqua che passa nella pompa anche in caso di variazioni di pressione o di portata. La soluzione acqua e concimi giunge poi alle piante grazie alle stesse manichette dell'impianto di irrigazione. Nella coltivazione fuori suolo la

quantità di soluzione nutritiva fornita giornalmente è regolata in base al drenaggio che dovrebbe essere compreso tra il 15 e il 25% (Fang, et al., 2020).

La qualità dell'acqua con cui vengono veicolati i concimi è un fattore molto importante, infatti, elevate concentrazioni di bicarbonato (HCO_3) o elementi minerali, specialmente calcio e magnesio, oltre a sodio e cloro determinano incrementi di pH che non sono favorevoli per il mirtillo. In questi casi l'acqua è corretta grazie all'aggiunta di acido solforico (H_2SO_4). Poiché gli acidi sono pericolosi e altamente corrosivi, molti coltivatori attualmente utilizzano generatori di anidride solforosa (SO_2), chiamati anche "bruciatori di zolfo", al posto di iniettare acidi per aggiustare il pH dell'acqua. Lo zolfo elementare bruciato nei generatori viene convertito in acido solforoso (H_2SO_3) e miscelato con l'acqua per abbassare il pH. Soluzioni utilizzabili in agricoltura biologica in caso di acque con elevati valori di pH sono l'acido acetico o citrico. (Bryla & Strik, 2015).

Confronti tra l'applicazione di concimi in forma granulare e tramite fertirrigazione hanno messo in evidenza una maggiore efficienza di quest'ultima, tale da consentire uno sviluppo della pianta e produzioni uguali ma con minori apporti di azoto. Questo effetto tende però a diminuire quando vengono apportate piccole quantità di fertilizzante azotato, infatti in queste condizioni l'applicazione a spaglio di solfato ammonico in forma granulare portava ad una maggiore crescita delle piante. Tale comportamento è stato attribuito ad un incremento della conducibilità elettrica (EC) che è un ottimo indicatore della salinità del suolo. Bryla et al. (2010) hanno evidenziato come la EC è maggiore quando viene applicato solfato ammonico in forma granulare, specialmente se le piante vengono poi irrigate con ugelli microspray; infatti, la EC aumenta rapidamente quando si hanno elevate concentrazioni di solfato ammonico, si ha un incremento di $2 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ per ogni grammo di solfato ammonico sciolto per litro di acqua. Il mirtillo è sensibile a valori di $\text{EC} > 1,5\text{-}2 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$; questi vengono superati facilmente quando si applica il fertilizzante in granuli, invece è sempre inferiore a $1,5 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$ quando si ricorre alla fertirrigazione (Bryla, et al., 2010).

Risultati simili sono stati ottenuti somministrando solfato ammonico e urea in forma granulare e tramite fertirrigazione. Entrambi i fertilizzanti applicati mediante fertirrigazione a quattro diverse dosi, 0, 50, 100, 150 $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ (tali dosi sono state applicate anche tramite fertilizzanti granulari) hanno portato ad un incremento della produzione compreso tra il 12% e il 40% nella varietà "Bluecrop" nei primi 5 anni di coltivazione. Anche nella varietà "Duke" è stato riscontrato lo stesso comportamento. Il solfato ammonico rispetto all'urea porta ad una maggiore concentrazione di N nelle foglie, nonché ad un pH più basso nel suolo in quanto produce il doppio di ioni H^+ durante la nitrificazione (Vargas & Bryla, 2015). Ehret et al.

(2014) ha ottenuto frutti più piccoli con la fertirrigazione rispetto al solfato ammonico in forma granulare nella varietà “Duke” suggerendo che tale riduzione della pezzatura è il risultato di un’abbondante fioritura che ha determinato un elevato carico produttivo (Ehret, et al., 2014). Anche lo sviluppo vegetativo della pianta viene influenzato dalla modalità di applicazione del fertilizzante; infatti la fertirrigazione determina un maggior volume della chioma. Le cultivar “Northblue”, “Duke”, “Spartan” e “Blueray” al secondo e terzo anno dall’impianto, quando sottoposte a fertirrigazione, mostrano un maggior vigore vegetativo e maggiori dimensioni rispetto alle stesse concimate con fertilizzanti granulari distribuiti manualmente; tali differenze non si riscontravano al primo anno, quando le piante delle medesime cultivar avevano dimensioni omogenee (Finn & Warmund, 1997).

1.5.5 Impollinazione

La maggior parte delle cultivar di mirtillo sono autofertili, ma l’impollinazione incrociata, per lo più entomofila, è uno dei fattori che maggiormente influenzano la produttività dell’impianto. La pezzatura del frutto è correlata positivamente con il numero di semi presenti nella bacca, quindi una buona impollinazione è necessaria per ottenere una elevata pezzatura e produzione.

La mancata impollinazione incrociata può causare una ridotta pezzatura delle bacche e basse rese, soprattutto in alcune cultivar quali “Earliblue”, “Jersey” e “Coville” che hanno un polline scarsamente germinabile. La produttività di una cultivar può anche essere influenzata dall’attrattività dei fiori verso gli impollinatori; le scarse rese delle varietà “Jersey” e “Coville”, quando consociate con altre varietà, derivano dal fatto che le api trascurano i loro fiori preferendo quelli di cultivar più attraenti.

Per garantire elevate rese è opportuno consociare nell’impianto cultivar con un elevato gradi di autocompatibilità e intercompatibilità e arnie di api, bombi o altri apoidei (4-5 arnie/ha) (Bounous, 2017). Le basse temperature, specie nelle prime ore della giornata, limitano fortemente l’attività delle api, mentre non incidono drasticamente sui bombi.

Il mirtillo gigante viene visitato assiduamente dai bombi che costituiscono oltre l’80% di tutti gli insetti impollinatori; le api domestiche (*Apis mellifera L.*) sono meno frequenti, così come i ditteri sirfidi. Nell’arco della giornata, la maggiore presenza di pronubi si riscontra nelle ore centrali e più calde (tra le 10 e le 14); considerando il periodo della fioritura, la maggiore presenza di pronubi si rileva in piena antesi (88-90% di fiori aperti). La forma allungata della corolla nel mirtillo impedisce o rende difficile all’*Apis mellifera* e ad altri insetti il raggiungimento della base del fiore dove si trovano i nettari. I bombi invece con le loro

lunghe lingue riescono facilmente a raggiungere il polline. Queste difficoltà sono anche testimoniate dalla presenza di fori laterali sulla corolla dei fiori. Inoltre, l'*Apis mellifera* non è particolarmente attratta dai fiori del mirtillo, preferendo quelli di specie spontanee nei pressi del mirtilleto. L'impollinazione incrociata rispetto all'autoimpollinazione consente di avere tassi di allegagione più elevati, una maggiore pezzatura di frutti e una maturazione più rapida (Prodorutti, et al., 2003).

L'applicazione di pesticidi nei dintorni dell'impianto, strutture di copertura e la gestione di acqua e fertilizzanti possono influenzare l'impollinazione. La disponibilità di idonei siti di annidamento, abbondanti quantità di cibo e acqua pulita, influenzano indirettamente l'impollinazione sostenendo abbondanti popolazioni di api selvatiche (Prodorutti, et al., 2007).

La partenocarpia può essere indotta nei mirtilli giganti tramite trattamenti con gibberelline ed è stata introdotta sulle cultivar "Stanley", "Earliblue", "Jersey" e "Coville", ma i frutti partenocarpici sono risultati più piccoli e hanno richiesto un periodo di maturazione più lungo rispetto a quelli fecondati (Bounous, 2017).

1.5.6 Avversità

L'insuccesso della coltura può essere determinato da cause di natura non parassitaria come gelate invernali e primaverili, grandine, siccità e pH troppo elevato.

Il gelo può provocare danni se le condizioni climatiche autunnali o le concimazioni azotate tardive prolungando l'attività vegetativa, inducendo una insufficiente lignificazione dei rami.

La grandine è molto pericolosa perché non causa danni solamente alla produzione dell'anno ma anche a quelle degli anni successivi; la migliore difesa è rappresentata dalle reti antigrandine (Mellano & Bounous, 2013).

Il mirtillo può essere soggetto ad attacchi di diversi fitofagi e funghi; tra i fitofagi troviamo Cecidomia del mirtillo (*Jaapiella vacciniorum*), le cui larve, inizialmente bianche e aranciate a maturità, nutrendosi e sviluppandosi all'interno degli apici chiusi, ne provocano il disseccamento (Figura 1-5). Successivamente dalle gemme sottostanti vengono emessi nuovi getti che possono essere anch'essi attaccati. La larva poi si lascia cadere a terra e sverna come larva adulta o pupa nei pressi delle piante. Durante la primavera, contemporaneamente allo sviluppo delle gemme, compaiono gli adulti e le femmine ovidepongono negli apici ancora chiusi. Il ciclo di questo insetto dura 24-28 giorni e si possono avere anche 6-7 generazioni all'anno. In caso di forti attacchi si ha una vegetazione affastellata, come una sorta di scopa e viene compromessa la regolare formazione degli arbusti.

Inoltre, si possono avere anche ripercussioni sulla produzione dell'anno seguente, in quanto i germogli meno vigorosi differenziano meno gemme a fiore. Il controllo chimico è piuttosto difficile in quanto compie diverse generazioni all'anno e le larve vivono ben riparate negli apici. In impianti in produzione, il momento ottimale per effettuare l'intervento, cioè all'inizio delle infestazioni, corrisponde alla prefioritura, fase piuttosto breve. In questa fase, oltretutto, trattamenti insetticidi non possono essere effettuati in quanto disturberebbero gli impollinatori.

Figura 1-5 Apice disseccato a causa dell'attacco della cecidomia del mirtillo (*Jaapiella vacciniorum*).



La *Drosophila suzukii* è una delle due specie appartenenti al genere *Drosophila* che depone le uova nei frutti sani anziché in quelli danneggiati o sovra maturi. Preferenzialmente ovidepone sui frutti maturi ma, seppur con una minore frequenza, depone le uova anche su frutti immaturi. L'alimentazione delle larve fa collassare il frutto in prossimità del sito di ovideposizione, rendendo il frutto non commercializzabile. Inoltre, la cicatrice che si forma in seguito alla puntura di ovideposizione espone il frutto all'attacco di altri patogeni. Il mirtillo, come del resto lampone, fragola e ciliegio, è molto suscettibile agli attacchi della *Drosophila suzukii*. La lotta nei confronti di questo fitofago non è semplice; diversi insetticidi hanno mostrato una buona efficacia in una prova condotta a Pergine Valsugana sulla varietà "Brigitta", ma l'utilizzo di questi prodotti nel lungo periodo è insostenibile a causa degli effetti

negativi sull'ambiente e non è compatibile con i principi della lotta integrata utilizzata nella gestione dei piccoli frutti (Grassi, et al., 2011).

Gli afidi sono insetti assai diffusi e in grado di sviluppare abbondanti popolazioni in estati particolarmente caldo-umide e su piante molto vigorose, in quanto qui trovano elevate disponibilità di azoto che andranno a favorire la loro riproduzione. Gli attacchi si manifestano sugli apici e sui polloni che possono apparire deformati e bloccati. Altra conseguenza è la produzione di melata che imbratta frutti e vegetazione provocando lo sviluppo di fumaggini.

L'oziorrinco attacca il mirtillo allo stadio larvale a livello dell'apparato radicale, ma in questa circostanza l'apparato radicale superficiale può essere un vantaggio nel caso di impiego di nematodi, visto che potrebbero raggiungere più facilmente la preda. Lepidotteri defogliatori (geometridi e nottuidi) e le cocciniglie sono fitofagi che si possono rinvenire nel mirtillo (Agnolin, et al., 2007).

Differentemente da altre specie frutticole come melo, pero, pesco, poche sono le malattie che colpiscono il mirtillo gigante e frequentemente sono legate ad ambienti specifici o si verificano solo occasionalmente. Questo è dovuto al fatto che il mirtillo in molte aree è considerato ancora come una coltura minore e non ci sono vaste superfici ad esso dedicate.

Botrytis cinerea e *Monilinia vaccinii-corymbosi* sono due importanti patogeni che attaccano i frutti del mirtillo. Gli attacchi di botrite si verificano occasionalmente ma possono essere particolarmente distruttivi. I sintomi di questa malattia vengono talvolta confusi con quelli di lesioni da gelo, poiché *B. cinerea* può invadere il tessuto danneggiato a seguito di un gelo primaverile. Il fungo attacca anche i fiori integri, i teneri ramoscelli verdi e le foglie all'inizio della primavera, facendo sì che fiori e ramoscelli infetti diventino rapidamente marroni o neri e muoiano. Può anche occasionalmente causare marciume preraccolta e, più frequentemente, decadimento in post-raccolta durante la conservazione. La *M. vaccinii-corymbosi* è un problema piuttosto importante per il mirtillo; i frutti mummificati, tipici di questa malattia, cadono a terra al momento della raccolta e costituiscono il sito in cui si svilupperà la forma di svernamento del patogeno. In primavera vengono poi rilasciate le ascospore che attaccano la pianta determinano l'appassimento di foglie e gemme che poi assumono una colorazione nerastra. Successivamente si verifica un'infezione a livello del frutto in via di sviluppo che inizialmente rammollisce, poi si disidrata e mummifica (Prodorutti, et al., 2007).

La *Botryosphaeria dothidea* è un fungo patogeno che penetra nella pianta attraverso ferite causate da danni meccanici, da freddo o da insetti; i sintomi tipici comprendono l'avvizzimento degli steli e clorosi, seguita da necrosi a livello fogliare. Il tessuto legnoso degli

steli infetti assume una colorazione marrone scuro; nei casi più gravi il fungo infetta i tessuti vascolari a livello del colletto compromettendo la loro funzionalità e causando la morte della pianta. Questa malattia sta diventando un problema sempre più importante per i produttori di mirtillo in diverse aree del mondo, compresa l'Italia dove nella primavera del 2019 ha attaccato diversi impianti di mirtillo in Piemonte (Xu, et al., 2015).

L'antracnosi (*Colletotrichum spp.*) invece causa marciumi sulle bacche sia in post-raccolta che in conservazione, con sintomi che compaiono durante la maturazione. Le bacche diventano molli, marciscono e si ricoprono di essudati di colore rosa-salmone costituito dalle spore del fungo. Il patogeno è favorito da periodi caldo umidi e può attaccare anche rametti, foglie e gemme.

I patogeni che attaccano l'apparato fogliare (*Septoria albopunctata* e *Dothichiza carolinian*) riducono l'attività fotosintetica della pianta a causa della precoce filloptosi, influenzando anche la successiva fioritura. La *Phomopsis vaccinii* invece determina la morte delle gemme a fiore e la formazione di un'area necrotica intorno a questa. Tale patogeno in seguito provoca la formazione di cancri rameali di colore bruno e disseccamento degli apici vegetativi; danni da freddo e ferite meccaniche predispongono la pianta ad attacchi di *Phomopsis* (Agnolin, et al., 2007).

Le principali malattie dell'apparato radicale sono causate dall'*Armillaria mellea* e dalla *Phytophthora cinnamomi* che attaccano quando sono presenti nel suolo e le condizioni ambientali sono favorevoli al loro sviluppo. Le radici sottili e assorbenti diventano di colore marrone e vanno incontro a necrosi perdendo la loro funzione; successivamente si hanno sintomi nella parte aerea, quali clorosi e arrossamento delle foglie, deformazione delle foglie, arresto della crescita e morte dell'intero cespuglio (Prodorutti, et al., 2007).

All'interno del genere Nepovirus sono stati individuati quattro agenti patogeni in grado di attaccare il mirtillo; questi virus sono il "Virus della maculatura anulare del tabacco" (TRSV), il "Virus della maculatura anulare del pomodoro" (ToRSV), il "blueberry leaf mottle virus" (BLMV) e il "Peach rosette mosaic virus" (PRMV). Aree clorotiche e necrotiche si manifestano in primavera sulle foglie anche se i sintomi possono variare in relazione alla cultivar (Agnolin, et al., 2007).

1.5.7 Raccolta e utilizzazione

Generalmente il mirtillo impiega 4-5 anni per entrare in piena produzione dove garantisce produzioni di 4-5 kg/pianta, anche 10 kg/pianta in condizioni pedoclimatiche particolarmente favorevoli.

Le bacche maturano scalarmente sull'infiorescenza quindi la raccolta è scalare e dura un mese nelle varietà precoci e un po' di più per quelle tardive; si effettua uno stacco ogni 5-7 giorni (ogni 7-10 giorni sotto tunnel). La raccolta viene fatta quando la bacca è colorata in modo omogeneo e uniforme, anche nel punto di inserzione del peduncolo che spesso tende ad essere verde-violaceo al momento della raccolta. Stacchi quando le bacche non sono ancora mature non sono consigliati perché il contenuto zuccherino è basso e si possono avere consistenti perdite di peso durante il periodo di conservazione. La frutta ben matura presenta una maggiore pezzatura, esprime tutte le sue proprietà organolettiche e garantisce una migliore conservabilità. Molto importante è la copertura dell'impianto che permette di raccogliere a piena maturazione e con condizioni climatiche avverse; attualmente la maggior parte degli impianti è sotto reti antigrandine o sotto tunnel antiploggia (Agnolin, et al., 2007).

In Italia la quasi totalità della produzione del mirtillo gigante è destinata al consumo fresco; all'industria alimentare e farmaceutica è principalmente destinato il mirtillo nero, più ricco in antocianine rispetto al mirtillo gigante. Il suo sapore e aspetto gradevole, l'elevata pezzatura delle bacche e i semi di piccole dimensioni sono pregi che rendono il mirtillo gigante molto apprezzato dai consumatori. Il mirtillo, a differenza di altri piccoli frutti come mora e lampone, è serbevole e, se sano e raccolto accuratamente, si conserva a 0° anche per 4 settimane. La serbevolezza è fortemente correlata alla dimensione della cicatrice peduncolare, tanto più quest'ultima è piccola e tanto maggiore è la conservabilità (Bounous, 2017). Una valida alternativa alla refrigerazione è la conservazione in atmosfera modificata; il prodotto, ripartito in cassette e avvolto con film in polietilene, è arricchito di CO₂ fino ad un valore del 19% e stoccato in cella frigo ad 1°C. Queste condizioni, sperimentate su diverse varietà ("Dixi", "Coville" e "Darrow"), permettono di conservare le bacche per 6 settimane senza perdite di qualità. In atmosfera arricchita di ozono e atmosfera normale, sempre alla temperatura di 1°C, le medesime varietà hanno mostrato una conservabilità di 5 settimane (Bounous, 2017). La conservazione in atmosfera arricchita di ozono limita fortemente le perdite di peso in post-raccolta, che rappresenta uno dei principali problemi per i produttori e che comunque, anche in atmosfera modificata (5% O₂ : CO₂ 15%), non è mai superiore al 3%. Inoltre, la conservazione in ozono permette di mantenere una buona consistenza, paragonabile a quella dell'atmosfera controllata, ed esteriormente non altera l'aspetto della bacca (Concha-Meyer, et al., 2015).

Negli U.S.A. circa la metà delle produzioni è destinata al consumo fresco, la restante parte è consumata variamente trasformata o surgelata. Il mirtillo gigante si può avvalere della surgelazione, sia per frutti destinati al consumo diretto che per quelli destinati poi alla

trasformazione. Il surgelamento avviene con impianti a fluidizzazione a doppio nastro, poi i frutti, sottoposti a cernita e calibratura, sono confezionati in vaschette in pvc. Il prodotto surgelato per diversi mesi può mostrare riduzioni del contenuto zuccherino e innalzamenti del pH (Bounous, 2017).

Nel settore agroindustriale si ottengono dal mirtillo liquori, estratti aromatici, paste di frutta, caramelle, succhi, sciroppi, marmellate e confetture. Tra le bevande non vanno dimenticate le tisane preparate con foglie, frutti e gemme, nonché i tè che si ottengono mescolando foglie secche di frutti di bosco e tè cinese in parti uguali. Descrizioni in merito all'uso dei frutti di bosco nella farmacopea popolare risalgono al Medioevo, durante il quale si applicavano le proprietà astringenti e depurative di foglie e frutti per curare numerosi disturbi (Mellano & Bounous, 2013).

1.6 Caratteristiche organolettiche e nutrizionali

Il frutto del mirtillo è costituito prevalentemente d'acqua che rappresenta l'85% della composizione della bacca e da cui scaturisce il basso valore energetico, pari a 25 kcal/100 g. L'acido citrico, malico e chinico sono gli acidi organici più abbondanti nel frutto maturo e sono responsabili del sapore acidulo. Nel mirtillo sono presenti numerose vitamine: spicca con maggiori concentrazioni la vitamina C (20mg/100g), seguita dalla vitamina A, ma sono presenti anche la vitamina B e la vitamina PP. Anche il contenuto in macro- e microelementi è pregevole, soprattutto per quanto riguarda K, Ca e Mg. Le bacche mature sono caratterizzate da un contenuto zuccherino pari a 5-6g/100g, con fruttosio e glucosio in egual rapporto e in quantità maggiori rispetto al saccarosio che è praticamente assente (Zhao, 2007).

Grazie al contenuto di sostanze fenoliche, i mirtilli sono dotati di elevata capacità antiossidante totale (CAT) che sembra essere correlata più al contenuto fenolico totale piuttosto che alla concentrazione di antociani; tali composti sono in grado di svolgere un'azione preventiva nei confronti di malattie cardiovascolari, tumori e delle principali patologie degenerative legate all'invecchiamento. I polifenoli sono un vasto gruppo di sostanze chimiche e nel mirtillo troviamo elevate quantità di antocianine, principalmente nella forma glicosilata, flavonoli come la quercitina, kaempferolo e miricetina, catechine, quali catechina (+), epicatechine e le loro forme oligomeriche, acido benzoico e cinnamico.

Oltre alle sostanze fenoliche, le principali molecole presenti in frutta e verdura aventi azione antiossidante sono la vitamina C, vitamina E, vitamina A (retinolo), vitamine del complesso B e beta-carotene, il coenzima Q10 e l'acido lipoico (sono definite sostanze vitamino-simili che svolgono una buona azione antiossidante soprattutto nei confronti

dell'invecchiamento cellulare e dei tessuti); anche alcuni pigmenti vegetali come la clorofilla e i flavonoidi sono dotate di azione antiossidante.

La composizione e il contenuto dei composti fenolici varia notevolmente a seconda della cultivar e del luogo di coltivazione. Studi condotti presso l'università di Milano hanno evidenziato come il mirtillo selvatico (*V. myrtillus*) che cresce nell'Appennino mostra, rispetto a diverse cultivar di *V. corymbosum*, un maggior contenuto in antiossidanti e quindi una maggiore capacità antiossidante. La concentrazione fenolica totale e la concentrazione di antocianine sono, rispettivamente, due e tre volte superiori nel mirtillo selvatico (Giovannelli & Buratti, 2009).

Ricerche scientifiche hanno messo in evidenza come la conservazione per lungo tempo tramite surgelazione non influenza in modo significativo il contenuto dei composti fenolici e delle antocianine, quindi anche la capacità antiossidante rimane invariata rispetto a quella di bacche fresche. Contrariamente, i prodotti utilizzati per la realizzazione di marmellate possono influenzare il contenuto di antociani; infatti, nella marmellata, dove viene aggiunto oligofruttosio, si riscontrano livelli più bassi di antocianine e fenoli totali rispetto al prodotto ottenuto con diverse quantità di saccarosio o che non prevede l'aggiunta di zucchero. Anche durante la conservazione della marmellata si ha riduzione dei composti fenolici rispetto al prodotto appena dopo la produzione. Tuttavia, le marmellate contengono ancora quantitativi utili di composti fenolici (Scibisz & Mitek, 2009).

Capitolo 2

SCOPO DELLA TESI

Lo scopo del presente lavoro di tesi è stato quello di valutare la risposta vegetativa, produttiva e qualitativa di piante di mirtillo della CV Duke in coltura fuori suolo, sottoposte a diverse concentrazioni della soluzione nutritiva. Nell'area del medio adriatico non sono presenti coltivazioni di mirtillo in suolo, in quanto le condizioni climatiche, ma soprattutto pedologiche sono molto differenti rispetto a quelle dell'areale di diffusione di questa coltura. Nell'areale della media collina marchigiana i terreni sono caratterizzati da suoli tendenzialmente argilloso-calcarei, con pH 7,5 – 8,0 e ricchi di calcare attivo che determina una reazione alcalina e acque di irrigazione ricche di carbonati e bicarbonati, condizioni sfavorevoli alla pianta del mirtillo. Per questo motivo, la coltivazione fuori suolo rappresenta l'unica soluzione che permetterebbe di espandere l'areale di coltivazione del mirtillo e fornire nuove opportunità imprenditoriali agli agricoltori.

I risultati ottenuti dallo studio potranno essere utili per gli agricoltori interessati ad investire in nuove coltivazioni di mirtillo in coltura fuori suolo, ma anche per le aziende marchigiane che già praticano questa coltura in modo da adattare e migliorare la tecnica colturale in base alle proprie esigenze e alle richieste del mercato. Infatti, una differente gestione della fertirrigazione può avere non solo ripercussioni sulle caratteristiche qualitative e quantitative della produzione, ma anche sulla sostenibilità ambientale ed economica.

Capitolo 3

MATERIALI E METODI

3.1 Descrizione del sito di studio

L'impianto di mirtillo in cui è stata svolta la sperimentazione (Figura 3-1) si trova presso l'azienda agricola Aso 48, nel comune di Lapedona in provincia di Fermo, ad un'altitudine di 68 m s.l.m. e a circa 5 km dal mare Adriatico.

Figura 3-1 Impianto di mirtillo oggetto della sperimentazione.



3.1.1 Descrizione delle condizioni climatiche

I dati climatici utilizzati sono stati forniti dalla stazione meteorologica di Montefiore dell'Aso del Centro Operativo Agrometeorologico dell'ASSAM (Agenzia Servizi Settore Agroalimentare delle Marche).

Tabella 3-1 Medie mensili delle temperature minime, medie, massime e totale delle precipitazioni mensili (Anno 2020, fonte ASSAM).

	T minima (°C)	T media (°C)	T massima (°C)	Precipitazioni (mm)
Marzo	+4,7	+9,9	+15,7	145,6
Aprile	+6,9	+13,2	+19,9	80,4
Maggio	+11,6	+17,9	+24,3	45,4
Giugno	+15,1	+21,4	+27,8	57,6
Luglio	+17,6	+24,1	+30,6	32,8
Agosto	+19,3	+25,2	+31,6	70,8
Settembre	+15,3	+20,8	+27,2	48,8

Il clima di Lapedona in base alla classificazione Köppen, viene classificato come temperato umido con estati molto calde (Cfa), in quanto la temperatura media nel mese più caldo supera i 22° C e nel mese più freddo la temperatura media è compresa tra i - 3° C e i + 18° C senza copertura nevosa regolare; le precipitazioni sono abbondanti nella stagione primaverile e autunnale mentre sono meno abbondanti in estate ed in inverno con picchi minimi che si registrano di solito a gennaio, per quanto riguarda il periodo invernale, e a luglio-agosto nel periodo estivo.

Figura 3-2 Andamento delle temperature giornaliere minime, medie e massime dal 1° marzo 2020 al 30 settembre 2020 (fonte ASSAM).

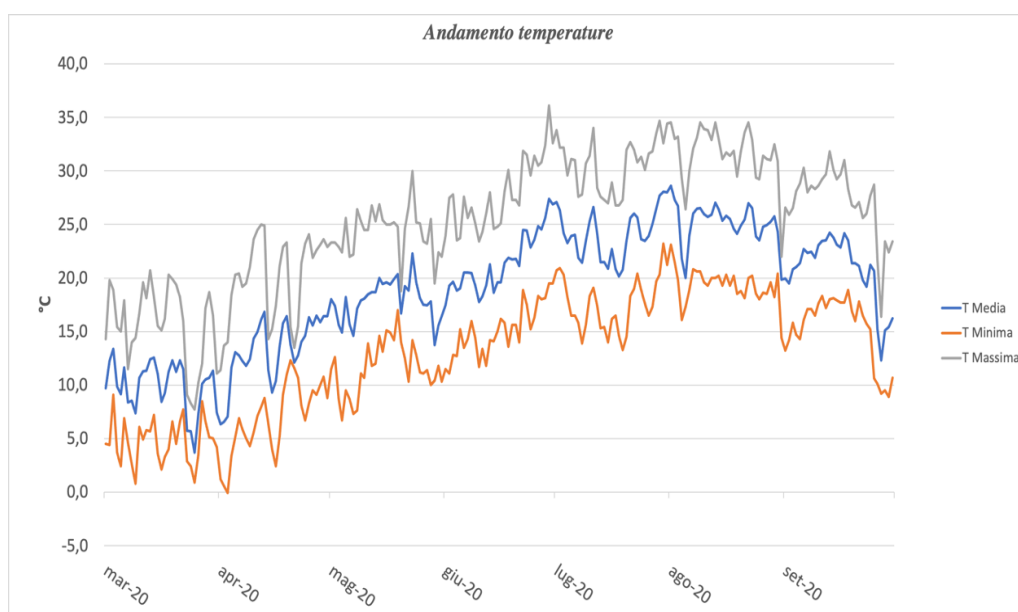
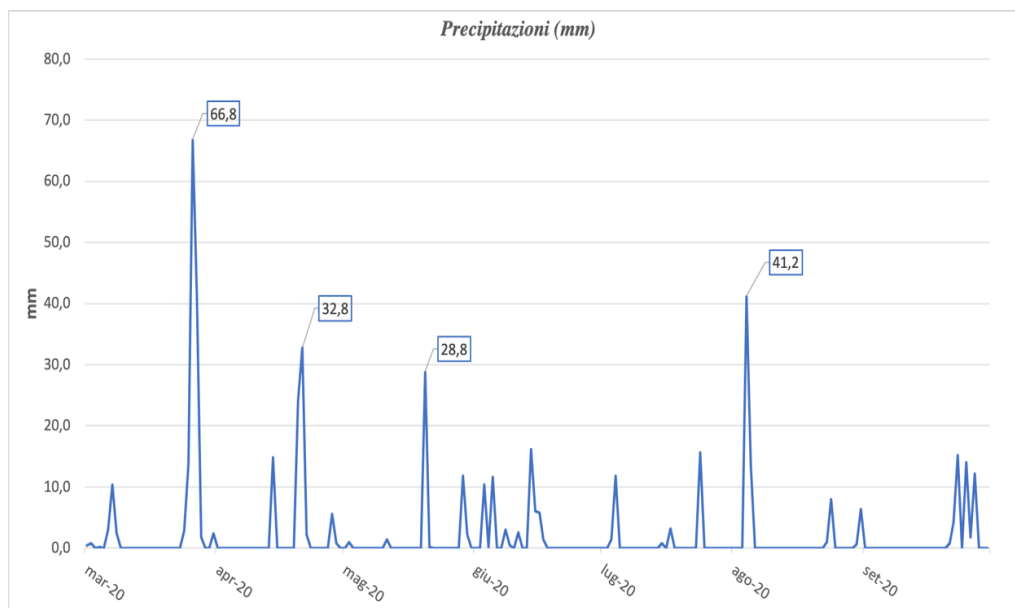


Figura 3-3 Precipitazioni giornaliere nel periodo compreso tra il 1°marzo 2020 e il 30 settembre 2020 (fonte ASSAM).



Come possiamo vedere dal grafico nella Figura 3-2 le estati sono molto calde, nel mese di agosto la temperatura media è stata di +25,2 °C (Tabella 3-1), ma non sono secche e aride come quelle tipiche del clima mediterraneo. Nel mese di giugno le precipitazioni sono state piuttosto frequenti, invece a luglio, agosto e nelle prime due decadi di settembre le precipitazioni sono state concentrate in pochi giorni; un esempio ne è proprio il mese di agosto dove in un solo giorno sono scesi 41,2 mm di acqua su un totale mensile di 70 mm (Figura 3-3).

3.1.2 Descrizione dell'impianto

L'impianto è stato realizzato il 15 giugno 2019, utilizzando piante della cultivar "Duke" di 1 anno coltivate su vaso Ø 17 (volume: 2 l) provenienti dal vivaio Fall Creek Driesvenplant B.V. (Netherland). La varietà "Duke" presenta una vigoria moderata e un portamento eretto e aperto. I frutti, ben distribuiti nella chioma, sono di colore azzurro molto attraente, ricchi di pruina, aromatici, sodi e con buone caratteristiche organolettiche. Le bacche inoltre sono anche facili da raccogliere. Questa cultivar garantisce buone produzioni ed è di notevole interesse per la precocità di maturazione e per la resistenza al freddo. Necessita di potature energiche per stimolare il rinnovo della vegetazione. "Duke" è stata ottenuta nel 1986 nel New Jersey dall'incrocio (Ivanhoe x Earliblue) x (E-30 x E-11) (Bounous, 2017).

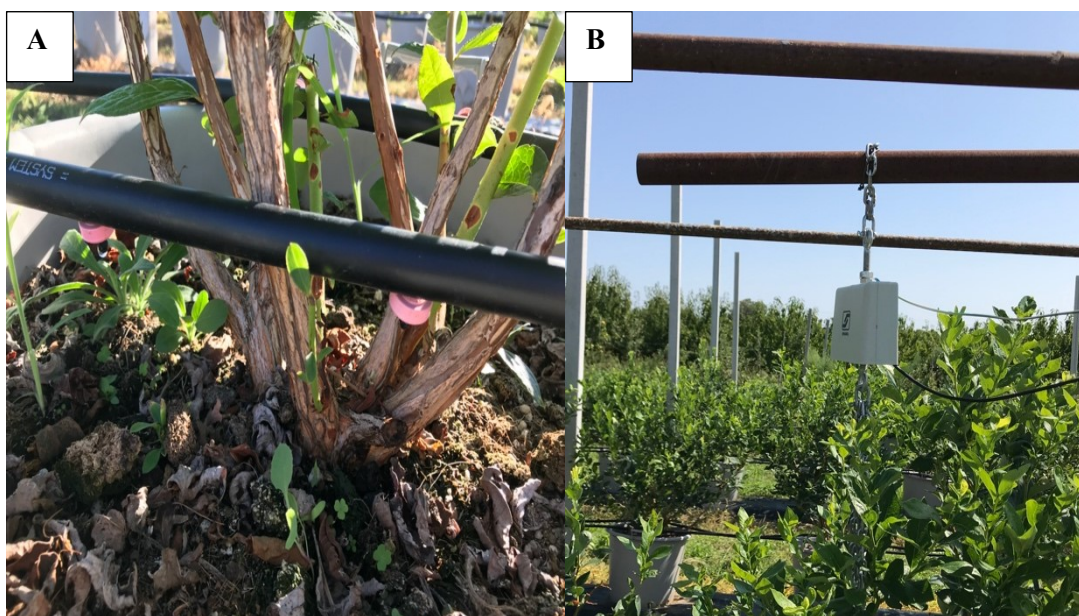
Nell'impianto oggetto di studio il mirtillo viene coltivato fuori suolo in vasi di diametro Ø 50 (volume: 50 l) su un substrato costituito dal 60% di torba bionda (Ø 40-60) che è l'elemento

principale, 20% di perlite e il 20% di fibra di cocco. L'appezzamento ricopre una superficie di 3600 m² e il sesto d'impianto adottato è un 3m × 1m, 3 m di distanza tra le file e 1m lungo la fila. Sulla fila, sotto ai vasi che ospitano le piante, è presente un telo pacciamante realizzato in polipropilene (agritela) mentre l'interfila viene gestito secondo la tecnica dell'inerbimento controllato, ricorrendo a sfalci periodici; le malerbe che si sviluppano invece all'interno dei vasi sono eliminate manualmente.

Tabella 3-2 *Composizione della soluzione madre (quantità di concimi da sciogliere in 1000 l di acqua)*

Acido solforico 50% (kg)	9
Fosfato di monopotassio (kg)	7
Solfato di potassio (kg)	13
Solfato di magnesio (kg)	22
Solfato d'ammonio (kg)	26
MICROSOL 680 (kg)	1
Fe-EDDA 6% (g)	1398

Figura 3-4 *Elementi dell'impianto di fertirrigazione: manichette e gocciolatori (A) e sensore di peso (B)*



La somministrazione di acqua e elementi nutritivi viene effettuata mediante un impianto di fertirrigazione; la soluzione nutritiva costituita dall'acqua e dai macroelementi azoto, fosforo

e potassio e da microelementi (Tabella 3-2) è preparata mediante un banco di fertirrigazione, ovvero un insieme di pompe, dosatori e valvole gestite da una centralina elettronica (Figura 3-5).

Successivamente la soluzione nutritiva giunge in prossimità delle piante attraverso delle manichette, due per ogni fila dell'impianto, ed è poi erogata mediante dei gocciolatori autocompensanti, quattro per vaso aventi una portata di 2 l/h (Figura 3-4 A).

Tabella 3-3 Parametri della fertirrigazione in diversi momenti della stagione.

Periodo	Concimazione	N° irrigazioni	Durata irrigazione (min)	Drenaggio	Litri vaso lordo	Litri vaso netto
1/3 – 8/4	Solo acqua	3	24	20	3,2	2,6
9/4 – 22/6	600/500/400	21	24	20	3,2	2,6
23/6 – 12/7	600/500/400	21	27	25	3,6	2,7
13/7 – 9/8	600/500/400	34	31	30	4,1	2,9
10/8 – 21/8	600/500/400	23	40	40	5,3	3,2
22/8 – 29/8	500/400/300	14	40	40	5,3	3,2
30/8 – 6/9	400/300/200	10	31	30	4,1	2,9
7/9 – 14/9	300/200/100	11	27	25	3,6	2,7
15/9 – 22/9	200/100/0	9	27	25	3,6	2,7
23/9 – 28/11	Solo acqua	17	24	20	3,2	2,6

La durata e il numero di interventi irrigui (Tabella 3-3) vengono gestiti in modo completamente automatizzato; un campione costituito da quattro piante viene posizionato su un supporto sospeso da terra e agganciato ad una struttura di sostegno mediante due sensori che rilevano il peso (Figura 3-4 B). Questi sensori sono collegati ad una centralina che monitora costantemente il peso delle piante campione e regola gli interventi di fertirrigazione considerando un differenziale pari a 2,5 kg. Al momento del posizionamento delle piante sulla “bilancia” viene avviata l’irrigazione fin quando il substrato contenuto nei vasi non è completamente saturo; il peso viene registrato (viene indicato come “limite superiore”) ed utilizzato come parametro per determinare la fine dei singoli interventi irrigui, durante i quali tale valore non viene mai fatto raggiungere.

Oltre al peso registrato dai sensori, definito “peso attuale”, che si aggiorna continuamente, nella centralina è registrato anche il “limite inferiore”, ovvero il peso che una volta raggiunto determina l’avvio dell’irrigazione nell’intero impianto. Visto il continuo sviluppo della pianta e la raccolta dei frutti che determinano rispettivamente degli incrementi e dei decrementi di peso, i valori sopra citati (limite superiore e inferiore) devono essere periodicamente aggiornati.

Figura 3-5 Banco di fertirrigazione costituito da pompe, dosatori e valvole gestite da una centralina elettronica (fonte www.spagnol.com).



Questo sistema di gestione della fertirrigazione permette di assecondare al meglio le esigenze della coltura, infatti il numero di interventi variabili permette alla pianta di utilizzare al meglio l’acqua e i nutrienti apportati e di evitare eventuali sprechi (Tabella 3-3 e Tabella 3-4).

Tabella 3-4 Apporto lordo e netto di soluzione nutritiva per singolo vaso e per ettaro.

	Apporto lordo	Apporto netto
Vaso (l/vaso)	661,5	529,2
m ³ /ha	2205	1764

3.2 Disegno sperimentale

Il disegno sperimentale adottato è lo Split plot design (SPD) utilizzando 3 diversi trattamenti, differenti concentrazioni della soluzione nutritiva; in particolare viene applicata una soluzione con tre valori di conducibilità elettrica (EC), ovvero +400 $\mu\text{S/cm}$, +500 $\mu\text{S/cm}$, +600 $\mu\text{S/cm}$, rispetto alla conducibilità elettrica dell'acqua d'irrigazione che è pari a 390 $\mu\text{S/cm}$ (Tabella 3-5); la conducibilità elettrica finale della soluzione che giunge alle piante è quindi pari a 790 $\mu\text{S/cm}$, 890 $\mu\text{S/cm}$ e 990 $\mu\text{S/cm}$.

Per ogni trattamento si considerano 3 parcelle costituite da 4 vasi per un totale di 12 piante per trattamento.

I tre trattamenti sono indicati nel presente elaborato con le sigle +400 EC, +500 EC, +600 EC. La conducibilità elettrica fornisce una misura degli ioni che conducono elettricità nelle soluzioni acquose. Quando si aggiungono fertilizzanti idrosolubili all'acqua irrigua aumentano gli ioni con carica elettrica e tanto maggiore è la quantità di fertilizzanti, tanto maggiore sarà la conducibilità elettrica.

Tabella 3-5 Caratteristiche dell'acqua d'irrigazione.

EC ($\mu\text{S/cm}$)	390
pH	6,76
Calcio (mg/l)	49,9
Sodio (mg/l)	10
Magnesio ($\mu\text{g/l}$)	12
Manganese (mg/l)	<0,01
Potassio (mg/l)	<0,1
Cloruri (mg/l)	27,3
Nitrati (mg/l)	6,1
Nitriti (mg/l)	<0,1
Solfati (mg/l)	36,5
Fosfati (mg/l)	<0,5
Carbonati (meq/l)	<0,1
Bicarbonati (meq/l)	4,3

3.3 Metodi di valutazione dei parametri vegetativi

Per ogni pianta oggetto della sperimentazione, quindi per un totale di 36 piante, sono stati selezionati e contrassegnati con cartellini numerati 5 germogli (in totale 180). Questi germogli sono stati misurati con cadenza settimanale dal 25 maggio 2020 al 29 settembre 2020 con metro Stanley FatMax 3m. La misurazione ha riguardato il germoglio primario, come indicato nella Figura 3-6. Dai dati della lunghezza dei germogli è stato poi ricavato l'incremento di lunghezza percentuale settimanale.

Con cadenza mensile è stato conteggiato il numero di germogli per ogni singolo ramo delle 36 piante oggetto di studio, che in totale sono 265; in questo caso sono stati considerati tutti i germogli, anche quelli secondari (rami anticipati).

Figura 3-6 Germoglio in crescita: la linea rossa indica la parte di germoglio misurata nei rilievi settimanali.



Infine, il 25 novembre 2020, sono state conteggiate le gemme a fiore e a legno; il conteggio è stato effettuato sui germogli in cui è stato seguito lo sviluppo durante la stagione, comprendendo anche le gemme presenti sui germogli secondari (rami anticipati).

3.4 Metodi di valutazione dei parametri produttivi

I parametri produttivi valutati durante il lavoro di tesi sono la produzione media per pianta, il peso medio e il calibro dei frutti.

La raccolta è stata effettuata con cadenza settimanale andando a staccare le bacche che presentavano una colorazione omogenea e uniforme (Figura 3-7), anche nel punto di inserzione del peduncolo e una giusta facilità di distacco. La raccolta è iniziata il giorno 8 giugno 2020 e si è protratta fino al 13 luglio (Tabella 3-6).

Ad ogni raccolta le bacche sono state separate per pianta, posizionate in vaschette da 125 grammi in plastica e contrassegnate con il numero della pianta e con il relativo trattamento. I frutti appena raccolti sono stati portati in laboratorio dove usando la bilancia Orma BC 0,01 g. è stata misurata la produzione per pianta. La produzione media per trattamento è stata calcolata dividendo la produzione totale di ogni parcella per il numero di piante che costituiscono le singole parcelle.

Figura 3-7 Bacche con colorazione omogenea pronte per essere raccolte.



Il peso medio delle bacche è stato determinato campionando 50 frutti, presi casualmente da quelli raccolti in ogni pianta, e successivamente pesati con la bilancia Orma BC 0,01 g.;

qualora il numero di frutti raccolti per pianta non raggiungesse quota 50 il peso medio è stato determinato dividendo il peso totale dei frutti di ogni pianta per il numero di bacche a disposizione.

L'altezza (diametro polare) e la larghezza (diametro equatoriale), degli stessi 50 frutti campionati in precedenza per il peso medio, sono state misurate utilizzando il calibro digitale Mitutoyo CD-15CPX. Il volume delle bacche è stato approssimato a quello di un cilindro e calcolato secondo la formula $V = r^2 \times \pi \times h$, in cui r è la metà del diametro equatoriale e h corrisponde al diametro polare

Una volta determinati i parametri produttivi, i frutti raccolti, sempre separati per pianta e trattamento, sono stati avviati al congelamento per poi effettuare le analisi qualitative (contenuto in zuccheri e acidità titolabile) e nutrizionali.

Tabella 3-6 Date in cui sono state effettuate le raccolte per i diversi trattamenti indicate con il simbolo “✓”.

TRATTAMENTO	Raccolta 8-giu	Raccolta 15-giu	Raccolta 22-giu	Raccolta 29-giu	Raccolta 6-lug	Raccolta 13-lug
+400 EC	-	✓	✓	✓	✓	-
+500 EC	✓	✓	✓	✓	✓	✓
+600 EC	-	✓	✓	✓	✓	✓

3.5 Metodi di valutazione dei parametri qualitativi

Per la valutazione degli aspetti qualitativi della produzione sono stati presi in considerazione due parametri: il contenuto di solidi solubili e l'acidità titolabile.

Il contenuto in zuccheri totali e l'acidità titolabile sono stati determinati analizzando le produzioni di tre raccolte, ovvero quelle del 8-15-29 giugno 2020. Le produzioni delle date precedenti e successive a quelle elencate non sono state analizzate in quanto scarse. Inoltre, essendo l'impianto al secondo anno, le produzioni per pianta nelle singole date non garantivano un quantitativo di frutti sufficienti per svolgere le analisi; per tale motivo ad ognuna delle date appena elencate sono state aggregate le produzioni delle quattro piante appartenenti a ciascuna parcella. Avendo 3 parcelle per trattamento e 3 date di raccolta, i valori relativi al contenuto in solidi solubili e all'acidità titolabile per i singoli trattamenti sono stati ottenuti mediando i risultati di 9 misurazioni.

3.5.1 Misurazione del contenuto in solidi solubili

La misurazione del contenuto in solidi solubili (zuccheri totali) è stata effettuata mediante un rifrattometro Atago N1-E a compensazione automatica della temperatura. La compensazione della temperatura è necessaria perché la concentrazione degli zuccheri diminuisce con l'aumentare della temperatura.

I solidi solubili si misurano in °Brix mettendo una o due gocce di succo di mirtillo sulla superficie del prisma del rifrattometro (Figura 3-8). La scala in gradi Brix (%) mostra la concentrazione percentuale del contenuto di solidi solubili di un campione come soluzione acquosa.

Figura 3-8 Rifrattometro Atago N1-E utilizzato per la misurazione del contenuto in solidi solubili. Nel prisma è presente una goccia di succo di mirtillo.



Il contenuto di solidi solubili è il totale di tutte le sostanze disciolte nell'acqua. Convenzionalmente il grado Brix (%) viene considerato come il numero di grammi di zucchero di canna contenuti in una soluzione (100% significa 100 grammi di zucchero di canna in un litro di acqua distillata). Pertanto, quando si misura una soluzione zuccherina pura, il grado Brix corrisponde esattamente al contenuto reale. Con soluzioni contenenti altri

composti, se si vuole conoscere quantitativamente la concentrazione di un composto, sono necessarie delle tabelle di conversione.

Figura 3-9 Campione scongelato utilizzato per eseguire le analisi qualitative.



3.5.2 Misurazione dell'acidità titolabile

L'acidità è stata determinata con il titolatore automatico HI-84532 (HANNA instruments) (Figura 3-10) che misura la concentrazione di ioni idrogeno presenti nel succo di mirtillo e viene espressa come percentuale (g/100 mL) dell'acido predominante, che nel caso del mirtillo è l'acido citrico.

Dopo aver fatto scongelare (Figura 3-9) un campione di mirtilli da 0,5 kg, i frutti vengono schiacciati in un sacchetto, e dal succo ottenuto se ne prelevano 5 mL che vengono miscelati con acqua distillata fino ad ottenere un volume di 50 mL.

Il campione così ottenuto è processato dal titolare automatico. Tale strumento è dotato di un flacone contenente una soluzione titolante standardizzata a base di NaOH, una pompa a pistoncini per il dosaggio di quest'ultimo, un elettrodo pH in vetro a doppia giunzione e un termometro.

Figura 3-10 Titolatore automatico HI-84532 (fonte www.hanna.it)



3.6 Metodi di valutazione dei parametri nutrizionali

Per la valutazione della qualità nutrizionale dei frutti prodotti sono stati considerati tre parametri: la capacità antiossidante totale (CAT), il contenuto totale in antociani e il contenuto totale in polifenoli. Prima di procedere con le analisi dei parametri nutrizionali indicati è stata svolta l'estrazione dei composti antiossidanti, ottenendo così i campioni da esaminare.

I parametri nutrizionali, come quelli qualitativi, sono stati ricavati dai frutti raccolti nelle date del 8-15-29 giugno 2020, unendo le produzioni ottenute nella stessa data di raccolta delle 4 piante appartenenti alla stessa parcella. Come detto in precedenza, avendo 3 parcelle per trattamento, 3 date di raccolta e 3 diversi trattamenti il numero totale di ripetizioni è pari a 27.

I metodi utilizzati per acquisire le concentrazioni dei composti sono: il metodo Ferring Reducing Antioxidant Power (FRAP) per la CAT, il metodo della variazione del pH differenziale per determinare il contenuto in antociani, il metodo del reagente di Folin-Ciocalteu per calcolare il contenuto totale in polifenoli.

3.6.1 Estrazione dei composti antiossidanti

Dai campioni di frutti precedentemente scongelati (Figura 3-9) sono state prelevate casualmente bacche che si presentano omogenee per forma, colore e dimensione, inoltre non devono presentare abrasioni, segni di manipolazione o tagli superficiali, devono essere integre. Successivamente le bacche selezionate vengono tagliate in quattro parti in modo da ottenere un pool da cui vengono prelevati 10 g di materiale vegetale utilizzato per la preparazione dell'estratto.

L'estrazione è effettuata utilizzando una soluzione costituita per l'80% di etanolo, 20% di acqua, più 1% di extra volume in acido acetico. Il metanolo viene utilizzato per portare in soluzione i composti antiossidanti e mantenerli stabili, mentre l'acido acetico facilita la rottura delle pareti cellulari dell'epidermide dei frutti. La soluzione è addizionata ai 10 g di materiale vegetale precedentemente pesato in rapporto 1:10 (1 parte di materiale vegetale: 10 parti di soluzione) e poi omogeneizzata tramite l'utilizzo dell'omogeneizzatore Ultraturrax T 25 (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik). Dopodiché la soluzione omogeneizzata è stata conservata per 48 ore a 4°C in oscurità per permettere l'estrazione dei composti antiossidanti.

Successivamente si procede alla separazione della fase liquida dal pellettato (fase solida) tramite centrifuga; la soluzione viene versata nelle falcon e centrifugata a 2500 giri al minuto a 4°C per 20 minuti. Una volta terminata la centrifuga le falcon vengono mantenute al buio e il surnatante viene versato in vials di vetro ambrato da 2 ml tramite una pipetta Pasteur. Le vials vengono conservate in congelatore a -20°C fino al momento delle analisi.

3.6.2 Determinazione della capacità antiossidante totale: metodo FRAP

Il saggio FRAP, acronimo di Ferring Reducing Antioxidant Power, fu messo a punto al fine di valutare a livello clinico la capacità antiossidante del plasma sanguigno e in seguito sfruttato anche per l'analisi di campioni alimentari e botanici (Benzie & Strain, 1996) (Deighton, et al., 2000).

Il potere antiossidante della soluzione campione è determinato dalla sua capacità di ridurre il ferro ferrico in ferroso. La riduzione del complesso di Fe^{3+} e 2,4,6-tripiridil-s-triazina (anche indicato come $[\text{Fe(III)-(TPTZ)}_2]^{3+}$) a Fe^{2+} , $[\text{Fe(II)-(TPTZ)}_2]^{2+}$ in una soluzione di acetato di sodio a pH acido, porta ad un cambiamento di colore della soluzione, dal ruggine pallido al blu.

La soluzione FRAP è stata preparata attraverso i seguenti passaggi:

- preparazione della soluzione di acetato di sodio (300 mM, pH 3,6), 3,1 g di acetato di sodio vengono sciolti in acqua, successivamente sono aggiunti 16 ml di acido acetico e la soluzione è portata a volume fino a 1000 ml;
- preparazione della soluzione TPTZ (10 mM in 40 mM di HCl), una soluzione acquosa di acido cloridrico è ottenuta aggiungendo 340 µl di HCl in 100 ml di acqua; in tale soluzione vengono sciolti 0,312 g di TPTZ;
- preparazione della soluzione di cloruro ferrico (20 mM), 0,270 g di cloruro ferrico vengono disciolti in 50 ml di acqua;
- preparazione della soluzione FRAP mescolando in rapporto 10:1:1 l'acetato di sodio, il cloruro ferrico e il TPTZ.

L'assorbanza, ovvero il dato che deriva dalla lettura allo spettrofotometro della soluzione a 593 nm, riflette il grado di riduzione, poiché è direttamente correlata alla forza di riduzione degli antiossidanti elettron-donatori presenti nella reazione. La soluzione di lettura è preparata mescolando 200 µl di estratto (diluito 1:30) o standards (Trolox e ferro solfato) con 1900 µl di FRAP per 20 secondi e leggendo il valore dopo 4 minuti.

Le letture sono state eseguite con lo spettrofotometro Shimadzu UV180 e i risultati, paragonati alle due scale degli standard, vengono espressi come capacità antiossidante totale (µmoli di Trolox Eq/g FW oppure µmoli di Ferro ridotto Eq/g FW).

Le curve di calibrazione sono state preparate attraverso le letture dell'assorbanza sempre a 593 nm dei seguenti standards:

- curva di Trolox a concentrazione crescente (0, 25, 50, 75, 100, 250, 500); la soluzione stock di trolox (10 mM) è preparata sciogliendone 0,0624g in 25 ml di etanolo;
- curva di solfato ferrico esaidrato a concentrazione crescente (0, 50, 100, 150, 200, 500).

Il calcolo della capacità antiossidante totale è dato dalla seguente formula:

$$CAT \left(\frac{\mu\text{moli di Trolox} \times \text{Eq}}{\text{g FW}} \right) = \frac{FRAP \text{ abs} \times FD \times V}{P \times 1000}$$

dove:

- FRAP abs= (assorbanza del campione – intercetta della retta) / coefficiente angolare della retta del Trolox standard;
- FD= fattore di diluizione (1:30);
- V= volume estratto con solvente;

- P= peso del campione dei frutti;
- 1000= fattore di conversione in kg.

3.6.3 Determinazione del contenuto in antociani tramite il metodo del pH differenziale

I pigmenti antocianici variano di tinta e intensità in funzione del pH. A valori di pH 1 si presentano nella forma colorati di oxoni o flavoni, mentre a pH 4,5 in maniera predominante nella forma di carbinolo ossia senza colorazione. La differenza nelle assorbanze è proporzionale al contenuto di antociani e la loro determinazione è basata sulla legge di Lambert-Beer; per la quantificazione vengono usati i valori di assorbanza molare pubblicati in letteratura per i pigmenti purificati. La cianidina-3-glucoside è l'antocianina maggiormente rappresentata nel frutto del mirtillo, perciò il contenuto totale in antociani viene quantificato in funzione di essa (Giusti & Wrolstad, 2001).

Dalla vials vengono prelevati 100 µl dell'estratto precedentemente preparato e vengono fatti reagire con una soluzione di cloruro di potassio a pH 1 in rapporto 1:20; dalla medesima vials vengono presi altri 100 µl che vengono fatti reagire con una soluzione di acetato di sodio a pH 4,5 e sempre in rapporto 1:20. L'assorbanza delle due soluzioni è stata poi misurata con lo spettrofotometro Shimadzu UV1800 a 700 nm ed alla massima assorbanza per il composto più rappresentato, nel caso del mirtillo la cianidina-3-glucoside, che ha un'assorbanza massima tra 490-510. Lo spettrofotometro è stato azzerato con acqua distillata.

Il contenuto in antociani totali è espresso come mg di cianidina-3-glucoside/Kg di frutto fresco e viene calcolato con la seguente formula:

$$mg\ CYA - 3 - GLU / kg\ FW = \frac{[(A_{\lambda_{max}} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda_{max}} - A_{700})_{pH4,5}] \times MW \times F \times 1000}{\epsilon \times d \times E}$$

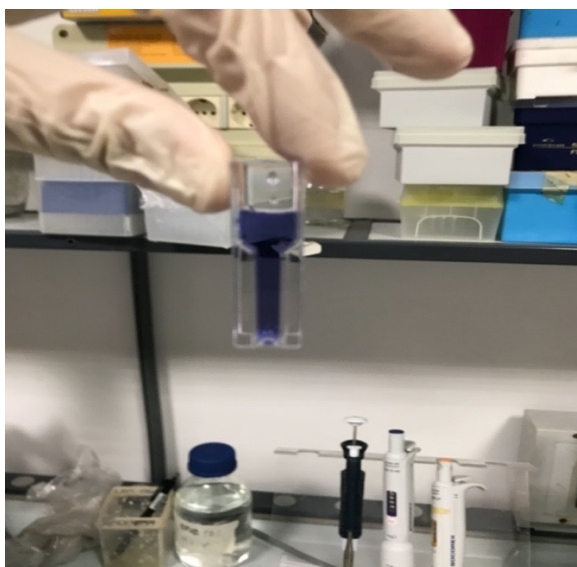
dove:

- A= assorbanza
- MW= peso molecolare cianidina-3-glucoside = 433.2 [g/mol]
- F= fattore di diluizione =20
- d= cell pathlengths [cm]
- ε= assorbanza molare cia-3-glu = 15600
- E= concentrazione del campione [kg/L dell'agente estraente]
- 1000= fattore di conversione in mg

3.6.4 Determinazione del contenuto totale in polifenoli tramite il metodo del reagente di Folin-Ciocalteu

Con il metodo di Folin-Ciocalteu non si determina solamente il contenuto in composti fenolici ma vengono compresi anche altri composti riducenti, come l'acido ascorbico, in quanto il meccanismo di base è una reazione redox. Nella composizione chimica del reagente di Folin-Ciocalteu è contenuto eteropolfosfo-tungstano molibdato. Il molibdeno è facilmente ridotto nel complesso. Una reazione di trasferimento di elettroni avviene tra i composti riducenti e il Mo(VI) in condizioni alcaline con la produzione di una colorazione blu (Figura 3-11) con assorbanza massima a 760 nm (Slinkard & Singleton, 1977).

Figura 3-11 Cuvetta con soluzione di lettura.



Il contenuto in polifenoli viene valutato tramite la regressione lineare calcolata in funzione della curva di calibrazione di acido gallico (standard esterno) a concentrazione crescente.

I campioni nelle vials sono stati diluiti in rapporto 1:20 con acqua distillata.

La reazione avviene in provetta con volume finale della reazione di 5 ml. La provetta viene riempita con 3,5 ml di acqua, poi 0,5 ml del campione diluito viene fatto reagire con 250 μ l del reagente di Folin-Ciocalteu. Successivamente ad un'agitazione tramite agitatore meccanico, la soluzione viene lasciata reagire per 3 minuti ed in seguito vengono addizionati 0,750 ml di una soluzione di bicarbonato di sodio 20% p/V. Dopo l'aggiunta del carbonato la soluzione viene lasciata reagire in oscurità per 60 minuti e infine si misura l'assorbanza a 760 nm.

La calibrazione della curva di taratura è calcolata tramite la regressione lineare ($\Delta A = ac + b$, c = concentrazione Acido Gallico mg/l, ΔA = assorbanza, a = pendenza, b = intercetta).

$$TP(\text{mg Gallic Acid eq/ kg Fruit}) = \frac{(\Delta A - b) \times F}{a \times E}$$

dove:

- ΔA = assorbanza campione/standard
- a = pendenza
- b = intercetta
- F = fattore di diluizione (20)
- E = peso medio del campione [kg/L agente estraente].

3.7 Analisi statistica

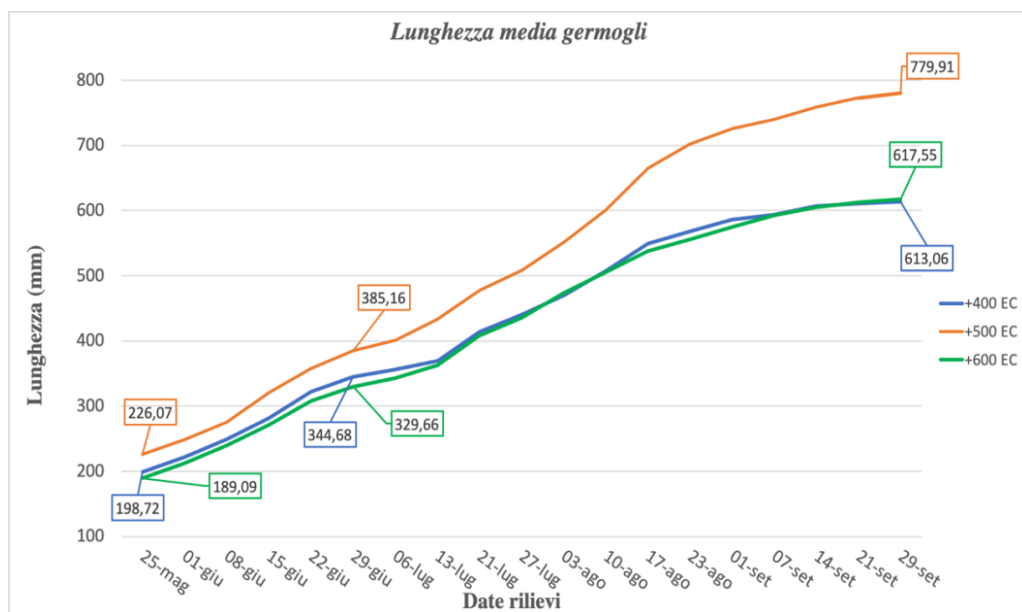
L'analisi statistica è stata effettuata mediante il software STATISTICA (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza ANOVA ad una via tramite confronto di medie, le differenze tra le medie nelle diverse condizioni sperimentali (+400 EC, +500 EC, +600 EC) per tutti i parametri considerati, sono state separate in base al test LSD (Least Significant Difference) di Fisher, con $p \leq 0,05$.

Capitolo 4 RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Parametri vegetativi

Il grafico presente nella Figura 4-1 mostra l'andamento della lunghezza media dei germogli per i 3 differenti trattamenti. I valori riportati nel grafico e separati per trattamento, sono stati ottenuti mediando le lunghezze dei singoli germogli.

Figura 4-1 Grafico relativo alla lunghezza media dei germogli nei tre differenti trattamenti.



Inizialmente la lunghezza media dei germogli non presenta differenze sostanziali tra i tre diversi trattamenti, soprattutto per quanto riguarda +400 EC e +600 EC, il +500 EC ha un valore maggiore e si discosta maggiormente dagli altri. Dall'analisi statistica sono emerse differenze statisticamente significative a partire dal 29 luglio 2020, infatti le piante dove viene applicata una soluzione nutritiva con una conducibilità elettrica di + 500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ rispetto a quella dell'acqua d'irrigazione mostrano una lunghezza media dei germogli statisticamente superiore rispetto ai trattamenti +600 EC e +400 EC, che tra loro non mostrano differenze significative.

Nei seguenti rilievi, quindi con il procedere della stagione (Figura 4-2), la differenza tra lunghezza dei germogli del trattamento +500 EC e quella di +600 EC e +400 EC aumenta maggiormente, fino al 29 settembre 2020, data dell'ultimo rilievo dove i valori di lunghezza media sono pari a 779,91 mm per il trattamento + 500 EC, 617,55 mm e 613,06 mm rispettivamente per + 600 EC e + 400 EC. Queste ultime due tesi mostrano durante l'arco di tempo in cui sono stati effettuati i rilievi un andamento simile, con curve in alcune fasi perfettamente sovrapponibili.

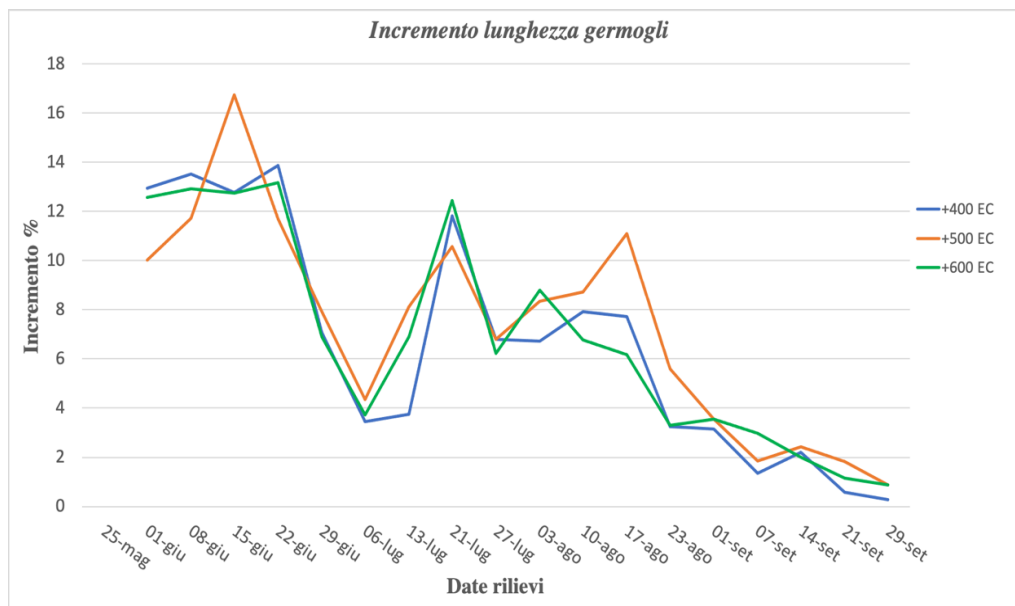
Figura 4-2 *Differente sviluppo dei germogli tra giugno (A) e agosto (B).*



Il presente studio mostra risultati non in linea con quelli di Cheon et al. (2019) dove a piante della varietà “Duke” coltivata in vaso vengono apportati settimanalmente due differenti volumi di soluzione nutritiva (4L e 8L) somministrati in un uno, due e tre interventi settimanali. In tale sperimentazione la lunghezza maggiore dei germogli viene ottenuta quando si applica la quantità maggiore di nutrienti frazionata in 3 interventi settimanali, mentre il valore più basso è stato riscontrato applicando la stessa quantità ma in un unico intervento. Con gli apporti del volume minore e frazionato in più applicazioni sono state riscontrate lunghezze intermedie tra i due casi appena citati (8L in 3 interventi e in un solo intervento). Questo mette in evidenza che ai fini di un maggiore sviluppo della vegetazione è importante frazionare l'applicazione dei nutrienti in più interventi (Cheon, et al., 2019). Anche nello studio di Cheon, et al.(2018), riferito sempre a piante della varietà “Duke” coltivate in vaso,

la lunghezza dei germogli e il numero di germogli per pianta presentano valori maggiori quando si applica la quantità più elevata di fertilizzante azotato (Cheon, et al., 2018).

Figura 4-3 Grafico relativo all'incremento percentuale settimanale della lunghezza dei germogli.



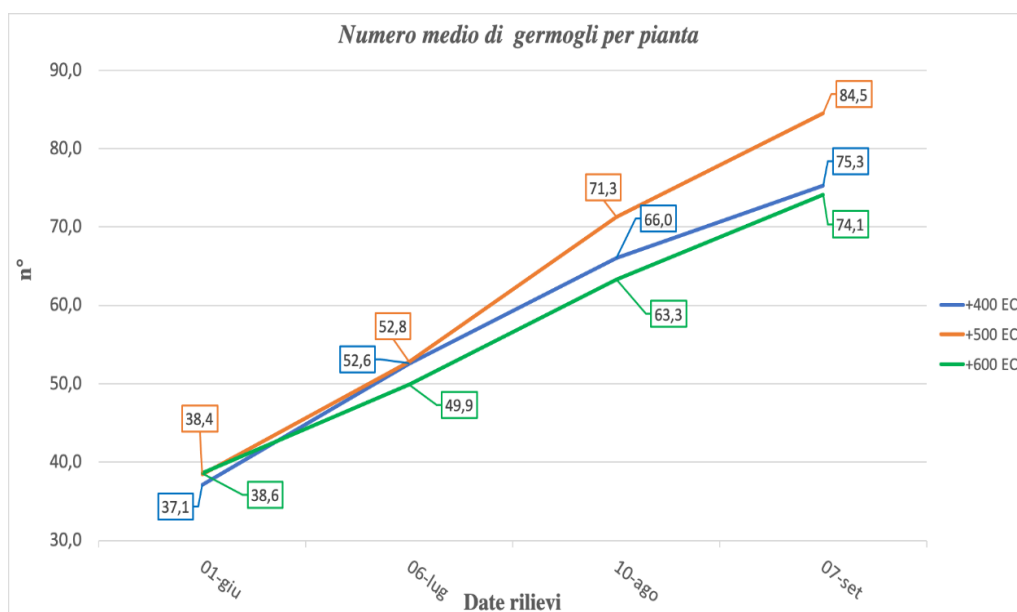
Il grafico nella Figura 4-3 mostra invece l'incremento percentuale settimanale della lunghezza dei germogli. Nei primi rilievi sono stati registrati gli incrementi percentuale più elevati per tutte le differenti tesi, successivamente, in concomitanza con l'inizio della maturazione dei primi frutti l'incremento di lunghezza diminuisce in quanto la pianta utilizza le sostanze nutritive per questo processo. Durante la stagione vegetativa la maggior parte dei nutrienti assorbiti dalle radici raggiunge le foglie ed i germogli o i frutti. Nel caso di elementi mobili per via floematica, una porzione significativa di nutrienti risiede solo temporaneamente nelle foglie e viene ritraslocata verso i frutti, gli apici in fase di sviluppo e le foglie giovani. Il trasferimento di importanti quantità di azoto e potassio dalle foglie verso i frutti avviene quando questi si avvicinano alla maturazione, il tutto a scapito degli organi vegetativi (Sansavini, et al., 2012).

Nelle piante sottoposte al trattamento +500 EC la raccolta è iniziata con una settimana di anticipo, l'8 giugno 2020, rispetto agli altri due trattamenti (Tabella 3-6) e come possiamo notare dal grafico nella Figura 4-3 la crescita rallenta prima. Nelle piante in cui vengono applicati i trattamenti +400 EC e +600 EC, la maturazione più tardiva posticipa il rallentamento della crescita. In tutti i trattamenti, man mano che le piante portano a maturazione sempre un maggior numero di frutti, l'incremento di lunghezza diminuisce maggiormente. Quando le piante sono scaricate dai frutti, la pianta alloca le proprie risorse per

lo sviluppo vegetativo: infatti, l'incremento di lunghezze torna a valori nettamente più elevati rispetto alla precedente fase a partire dal periodo compreso tra il 6 e 13 luglio 2020, come si può notare dalle curve nel grafico.

In prossimità del rilievo del 27 luglio 2020 si è verificata una grandinata che ha portato alla rottura di alcuni germogli e per tale motivo, come si può vedere dal grafico nella Figura 4-3 c'è un rallentamento della crescita. Successivamente i germogli riprendono il loro sviluppo per poi iniziare una graduale riduzione della crescita fino ad arrivare ad una crescita quasi nulla a fine settembre. Nelle tesi +400 EC e +500 EC il rallentamento della crescita avviene in concomitanza del periodo compreso tra il 17 agosto e 23 agosto 2020, settimana in cui viene sospesa la concimazione azotata per favorire la lignificazione dei germogli e affrontare il freddo invernale; nel trattamento +600 EC la crescita dei germogli rallenta prima. Una volta sospesa la concimazione azota, la pianta rallenta gradualmente la crescita come detto in precedenza, in quanto sfrutta l'azoto residuo nel substrato e quello negli organi della pianta.

Figura 4-4 Grafico relativo al numero medio di germogli per pianta nei diversi trattamenti.



Nel grafico in Figura 4-4 viene riportato il numero medio di germogli per pianta. Tale parametro vegetativo è stato confrontato tra i 3 diversi trattamenti in ognuna delle date in cui sono stati effettuati i rilievi. Dall'analisi statistica non sono emerse differenze significative anche se il trattamento +500 EC è quello che determina la maggior formazione di germogli per pianta, all'ultimo rilievo erano 84,5 per pianta. Le piante in cui viene applicata la soluzione nutritiva con la conducibilità elettrica di +400 $\mu\text{S}/\text{cm}$ rispetto a quella dell'acqua d'irrigazione mostrano, seppur di poco, un numero di germogli per pianta superiore a quelle di +600 EC.

Lo sviluppo di meristemi ascellari che danno vita a nuovi germogli secondari durante il corso della stagione (Figura 4-5) è stato anche influenzato dalla presenza della cecidomia del mirtillo; tale fitofago, come riportato nel paragrafo 1.5.6, porta al disseccamento degli apici determinando successivamente lo sviluppo di nuovi getti (germogli) dalle gemme sottostanti. L'emissione di nuovi germogli si è verificata in modo analogo quando gli apici vegetativi dei germogli sono stati rotti in seguito ad eventi metereologici, come grandine e vento, in quanto viene a mancare la dominanza apicale.

Figura 4-5 *Germogli secondari (in giallo) che si sono sviluppati nel corso della stagione. In rosso germoglio principale.*



Nella Tabella 4-1 è riportato il numero medio di gemme totali, a fiore e a legno per germoglio nei diversi trattamenti (Figura 4-6). Dall'analisi statistica emergono differenze significative tra i vari trattamenti. Infatti, come possiamo notare dalla tabella, il numero di gemme a fiore e a legno per germoglio, nelle piante sottoposte al trattamento +500 EC è statisticamente superiore a quello dei trattamenti +400 EC e +600 EC che non mostrano tra

loro differenze statisticamente significative. Anche il numero totale di gemme, dato dalla somma delle gemme a fiore e a legno, mostra lo stesso comportamento.

Tabella 4-1 Numero medio di gemme a fiore, a legno e totale per germoglio. Dati medi \pm deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	N° gemme a fiore	N° gemme a legno	N° gemme totale
+400 EC	15,2 \pm 4,6 b	31,5 \pm 9,0 b	46,7 \pm 15,4 b
+500 EC	21,8 \pm 6,1 a	48,1 \pm 10,9 a	69,9 \pm 14,4 a
+600EC	16,1 \pm 6,2 b	30,2 \pm 10,0 b	46,4 \pm 15,5 b

Figura 4-6 Gemme a fiore (giallo) e a legno (verde).



4.2 Parametri produttivi

I dati nella Tabella 4-2 si riferiscono alla produzione media per pianta e al peso medio delle bacche relativi a vari trattamenti.

Per quanto riguarda la produzione media per pianta, dall'analisi statistica sono emerse differenze significative tra le tre differenti soluzioni nutritive, in particolare le piante sottoposte al trattamento in cui la soluzione nutritiva aveva una conducibilità elettrica di +500 $\mu\text{S}/\text{cm}$, rispetto alla conducibilità dell'acqua d'irrigazione, mostrano una produzione statisticamente superiore rispetto agli altri trattamenti, con un valore di 877 g/pianta.

Tabella 4-2 Produzione media per pianta e peso medio dei frutti nei diversi trattamenti. Dati medi \pm deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	Produzione media per pianta (g/pianta)	Peso medio frutti (g)
+400 EC	607 \pm 100 b	2,72 \pm 0,22 ns
+500 EC	877 \pm 77 a	2,98 \pm 0,21 ns
+600 EC	692 \pm 75 b	2,92 \pm 0,11 ns

L'applicazione della soluzione nutritiva +400 EC, quindi con la minor concentrazione di elementi nutritivi, determina la produzione media per pianta più bassa. Il trattamento +600 EC si colloca in una posizione intermedia anche se statisticamente non ci sono differenze significative con il trattamento +400 EC. Questi dati si potrebbero confrontare con quelli ottenuti da Ehret et al. (2014) su mirtili al primo anno di produzione coltivati in suolo e concimati apportando differenti quantità di azoto, che in media hanno mostrato produzioni per ettaro di 2 t (Ehret, et al., 2014), mentre nell'impianto oggetto di studio nel presente lavoro, considerando il sesto di impianto, la produzione ad ettaro nel caso del trattamento +500 EC è superiore alle 2,7 t/ha e di 2 t/ha in +400 EC.

I risultati ottenuti sono in linea con quanto riscontrato da Strik et al. (2017) in un lavoro di ricerca di otto anni in cui il fertilizzante è applicato a due differenti dosi sia in forma granulare che tramite fertirrigazione. Considerando i dati produttivi ottenuti dalle parcelle sottoposte a fertirrigazione e riferiti al primo anno, si può notare che la dose minore determina una maggiore produzione, ma dall'analisi statistica non emergono differenze significative (Strik, et al., 2017).

Figura 4-7 Grappolo con frutti di differenti dimensioni e ad un differente stadio di maturazione



Il nostro lavoro di ricerca presenta risultati simili anche con quanto dimostrato dal lavoro di Cheon et al. (2019) prima descritto, dove è stato riscontrato che la quantità maggiore di elementi nutritivi non assicura le migliori performance a livello produttivo. Infatti riducendo il volume della soluzione nutritiva e applicandola in più interventi la produzione aumenta, probabilmente in quanto c'è una migliore efficienza nell'assorbimento e nell'utilizzo dei nutrienti (Cheon, et al., 2019). Risultati discordanti sono invece stati riscontrati con quelli ottenuti da Messiga et al. (2018) dove vengono apportati 3 differenti quantitativi di azoto tramite fertirrigazione, in piante di mirtillo coltivate però in suolo. All'aumentare della quantità di azoto somministrata aumenta anche la produzione (Messiga, et al., 2018). Altri dati pubblicati in letteratura evidenziano come non vi siano differenze significative tra la produzione di piante a cui vengono applicate quantità di fertilizzanti differenti (Milivojević, et al., 2018) (Cheon, et al., 2018).

I risultati relativi al peso medio dei frutti, come si evince dalla Tabella 4-2 e confermato dall'analisi statistica, non mostrano differenze significative tra i vari trattamenti. I frutti prodotti dalle piante sottoposte al trattamento +500 EC sono quelli che presentano il maggior peso medio, mentre nel trattamento +600 EC si ha una maggiore uniformità rispetto agli altri trattamenti come si può notare dalla deviazione standard che è notevolmente più bassa. Come

riscontrato nel presente lavoro, anche Milivojević et al. (2018) non riscontrano differenze statisticamente significative tra il peso medio dei frutti. Nel lavoro di ricerca di Milivojević et al. (2018) si fa riferimento a piante della varietà “Bluecrop” dove vengono apportate differenti quantitativi di fertilizzanti sia in forma granulare che solubile (Milivojević, et al., 2018).

Tabella 4-3 Volume delle bacche e numero di frutti considerati per il calcolo. Dati medi \pm errore standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	Volume (cm ³)	Numero frutti
+400 EC	3,15 \pm 0,019 c	1713
+500 EC	3,39 \pm 0,017 a	1922
+600 EC	3,24 \pm 0,017 b	1831

Il volume medio delle bacche, rilevato su un elevato numero di frutti, come possiamo osservare dalla Tabella 4-3, mostra differenze statisticamente significative tra le diverse tesi (Figura 4-7). Le bacche con la pezzatura più elevata sono state ottenute dalle piante sottoposte al trattamento +500 EC, seguito da +600 EC. Il trattamento +400 EC è quello che determina la produzione di frutti con il volume minore.

4.3 Parametri qualitativi

Il gusto e il sapore dei frutti sono caratteri qualitativi importanti e determinati principalmente dal contenuto in zuccheri e acidi.

Come si può vedere nella Tabella 4-4 il contenuto in zuccheri totali nei tre diversi trattamenti risulta essere molto simile e dall’analisi statistica non emergono differenze significative. Confrontando i dati ottenuti nel presente studio con altri valori presenti su prove di confronto varietale già pubblicate in letteratura, per la varietà “Duke”, si possono riscontrare valori piuttosto simili. Saftner, et al (2008). e Matiacevich, et al. (2013) nei loro studi riportano valori di zuccheri totali rispettivamente di 10,9 e 10,3 °Brix (Matiacevich, et al., 2013) (Saftner , et al., 2008).

Per quanto riguarda sia il contenuto in zuccheri che l’acidità titolabile, da diversi dati presenti in letteratura non emergono differenze significative quando il mirtillo è sottoposto a differenti quantità di fertilizzanti (Milivojević, et al., 2018) (Cheon, et al., 2018) (Cheon, et

al., 2019), proprio come riscontrato nel nostro lavoro. Invece Strik et al. (2017) evidenzia come all'aumentare della dose di fertilizzante, aumenta anche il contenuto zuccherino.

Tabella 4-4 Contenuto in zuccheri totali e acidità titolabile. Dati medi \pm deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	Zuccheri totali (°Brix)	Acidità titolabile (%)
+400 EC	10,9 \pm 0,9 ns	0,71 \pm 0,32 ns
+500 EC	10,8 \pm 0,7 ns	0,50 \pm 0,10 ns
+600 EC	11,0 \pm 0,7 ns	0,60 \pm 0,20 ns

4.4 Parametri nutrizionali

4.4.1 Capacità antiossidante totale (CAT)

I valori della capacità antiossidante totale (CAT) sono riportati nella Tabella 4-5 ed espressi sia come $\mu\text{mol Trolox Eq/g frutto}$ che $\mu\text{mol FE}^{2+} \text{Eq/g frutto}$. I risultati non mostrano differenze in termini di CAT tra i frutti prodotti da piante sottoposte a differenti apporti nutrizionali, come confermato dall'analisi statistica, in quanto non emergono differenze significative. Tuttavia, si può osservare come la CAT aumenti al diminuire della concentrazione di elementi nutritivi nella soluzione nutritiva, infatti il valore maggiore è stato ottenuto nel trattamento +400 EC seguito dal trattamento +500 EC e +600 EC.

Tabella 4-5 Capacità antiossidante totale (CAT). Dati medi \pm deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	CAT ($\mu\text{mol Trolox Eq/g frutto}$)	CAT ($\mu\text{mol FE}^{2+} \text{Eq/g frutto}$)
+400 EC	14,6 \pm 2,0 ns	30,90 \pm 3,57 ns
+500 EC	14,5 \pm 3,2 ns	30,62 \pm 5,90 ns
+600 EC	14,4 \pm 1,9 ns	30,28 \pm 3,43 ns

Confrontando i valori ottenuti nel presente studio con quelli presenti su studi già pubblicati in letteratura, si può evincere che la CAT misurata nel presente studio raggiunge valori

paragonabili a quella ottenuta in prove condotte a Boves in provincia di Cuneo, una delle principali zone italiane per la produzione del mirtillo, e nel Nord-Ovest della Romania, dove i valori sono rispettivamente di 32,81 e 33,03 $\mu\text{mol FE}^{2+}$ Eq/g di frutto (Beccaro, et al., 2006) (Bunea, et al., 2011). Risultati discordanti sono emersi confrontando i dati della presente sperimentazione con quelli ottenuti in una prova biennale condotta nei pressi di Zagabria, dove nell'annata 2006 la CAT era di 50,87 $\mu\text{mol FE}^{2+}$ Eq/g e di 39,03 $\mu\text{mol FE}^{2+}$ Eq/g nel 2007 (Dragovic-Uzelac, et al., 2010).

4.4.2 *Contenuto totale in antociani*

Il contenuto totale in antociani è riportato nella Tabella 4-6.

Durante la maturazione delle bacche la clorofilla viene degradata sia a causa di processi non enzimatici (variazioni del pH) sia a causa di specifici enzimi (clorofillasi) che ossidano le molecole di clorofilla. Questo fenomeno rivela i pigmenti preesistenti e rende evidenti quelli sintetizzati ex-novo. La sintesi di antociani, che sono i responsabili della colorazione blu del mirtillo, è uno dei più importanti cambiamenti nei frutti in maturazione (Sansavini, et al., 2012).

Tabella 4-6 Contenuto totale in antociani. Dati medi \pm deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	Contenuto totale antociani (mg CYA-3-GLU/kg FW)
+400 EC	1213 \pm 243 ns
+500 EC	1177 \pm 262 ns
+600 EC	1181 \pm 203 ns

Anche per quanto riguarda il contenuto totale in antociani, espresso in milligrammi di cianidina-3-glucoside su chilo di frutti, non emergono differenze statisticamente significative tra i diversi trattamenti. Come per la capacità antiossidante totale, anche per gli antociani il contenuto maggiore, pari a 1212 mg CYA-3-GLU/kg FW è stato riscontrato apportando alle piante di mirtillo una soluzione nutritiva con una conducibilità elettrica di +400 $\mu\text{S/cm}$ rispetto a quella dell'acqua d'irrigazione, quindi quando si apporta la minor quantità di nutrienti. Questo andamento viene riscontrato anche nei risultati ottenuti in lavori svolti da Ochmian et al. (2018) e Milivojević et al. (2020) in differenti cultivar, ovvero "Bluecrop", "Sunrise" e

“Brigitta”, coltivate in suolo e sottoposte a tre diversi livelli di fertilizzazione. Il contenuto in antociani più elevato viene riscontrato proprio quando il quantitativo di fertilizzanti apportato è il minore (Ochmian, et al., 2018) (Milivojević, et al., 2020).

Il contenuto in antociani tra le diverse cultivar di mirtillo gigante americano varia tra i 250 e 4950 mg CYA-3-GLU/kg FW e per la cultivar “Duke” in letteratura sono riportati valori, ottenuti da studi condotti in Italia, che variano dai 790 ai 2000 mg CYA-3-GLU/kg FW. Tali valori sono molto bassi se rapportati a quelli dei mirtilli di origine europea, in cui il contenuto totale in antociani oscilla tra i 3000 e i 6980 mg CYA-3-GLU/kg FW (Beccaro, et al., 2006) (Contessa, et al., 2013).

4.4.3 *Contenuto totale in polifenoli*

I fattori in grado di influenzare il contenuto in polifenoli nel mirtillo sono diversi. Risultati ottenuti da molteplici studi suggeriscono che il contenuto e la composizione dei polifenoli nel mirtillo sono influenzati dalla cultivar, dalla località, dalle condizioni climatiche e dalle pratiche culturali (Saftner, et al., 2008).

Tabella 4-7 Contenuto totale in polifenoli. Dati medi \pm deviazione standard. Valori indicati con lettere diverse differiscono statisticamente per $p \leq 0,05$ (Test LSD).

Trattamento	Contenuto totale polifenoli (mg GA/kg frutti)
+400 EC	2102 \pm 333 b
+500 EC	2266 \pm 483 a
+600 EC	2452 \pm 380 a

Nella Tabella 4-7 sono riportati i valori riguardanti il contenuto in polifenoli espressi in mg di acido gallico per chilo di frutti. Il valore più elevato è stato riscontrato nel trattamento + 600 EC, con un valore di 2452 mg GA/kg frutti, seguito dal trattamento + 500 EC e + 400 EC, rispettivamente con valori di 2266 e 2102 mg GA/kg frutti. Dall’analisi statistica non sono emerse differenze significative tra i trattamenti +500 EC e +600 EC, che invece mostrano valori statisticamente superiori rispetto al trattamento +400 EC.

Il contenuto in polifenoli in relazione al differente regime di fertirrigazione ottenuto nel presente elaborato non trova riscontri in letteratura; Ochmian, et al. (2018) e Milivojević et al. (2020) dimostrano che una dose maggiore di fertilizzante, nelle tre cultivar riportate nel

paragrafo 4.4.2, stimola una minore produzione di polifenoli. Al diminuire della dose di fertilizzante, aumenta il contenuto in polifenoli (Ochmian, et al., 2018) (Milivojević, et al., 2020).

CONCLUSIONI

Lo scopo del presente lavoro di tesi è stato quello di analizzare la tecnica di coltivazione del mirtillo fuori suolo nell'area del medio Adriatico, in particolare ci si è focalizzati su un aspetto molto importante come quello della fertirrigazione. Alle piante di mirtillo sono state apportate tre differenti soluzioni nutritive, ognuna con un differente quantitativo di elementi nutritivi e sono stati poi valutati diversi parametri.

La valutazione della risposta vegetativa del mirtillo è stata effettuata prendendo in considerazione la lunghezza media dei germogli, l'incremento percentuale di lunghezza (tra i vari rilievi) e il numero di germogli per pianta. La lunghezza e il numero dei germogli ci ha permesso di mettere in evidenza una cosa molto interessante, applicando la maggiore concentrazione della soluzione nutritiva, non si ottiene il maggior sviluppo vegetativo, che è stato riscontrato invece applicando la concentrazione intermedia. Analizzando invece l'incremento di lunghezza tra un rilievo e l'altro è stato possibile individuare differenti momenti di crescita e soprattutto come il processo della maturazione sottragga grandi quantità di risorse allo sviluppo vegetativo. Infatti, durante la maturazione dei frutti la crescita dei germogli si è più che dimezzata rispetto alla precedente fase. Il trattamento +500 EC è quello che determina la maggiore formazione di gemme, sia a legno che a fiore.

Anche per quanto riguarda i parametri produttivi i migliori risultati sono stati ottenuti apportando la soluzione nutritiva con una concentrazione intermedia, ovvero quella indicata con +500 EC. Questo trattamento ha fornito produzioni per pianta statisticamente maggiori rispetto agli altri due trattamenti, +400 EC e +600 EC, e anche bacche di dimensioni maggiori. I trattamenti non hanno invece influenzato il peso medio dei frutti.

I tre diversi trattamenti non hanno influenzato i parametri qualitativi valutati, zuccheri totali e acidità titolabile. Questo comportamento è stato riscontrato anche in diversi lavori presenti in bibliografia.

Nel presente lavoro sono stati valutati anche tre parametri nutrizionali: la capacità antiossidante totale, il contenuto in antociani e in polifenoli. Per quanto riguarda la capacità antiossidante totale e il contenuto in antociani è stato evidenziato come i differenti trattamenti non influenzino in modo significativo questi parametri, tuttavia si può notare come questi

raggiungano valori più elevati quando l'apporto nutritivo è minore, comportamento confermato da diversi lavori presenti in bibliografia. È stato invece osservato un comportamento opposto nel caso dei polifenoli, dove ad un maggior apporto di nutrienti corrisponde un maggior contenuto in polifenoli; tale risultato non ha trovato conferme in letteratura.

Nonostante i dati siano riferiti solamente al secondo anno di impianto e al primo anno di produzione, è stato possibile evidenziare nuove e importanti indicazioni per la coltivazione del mirtillo in fuori suolo, tecnica ancora non molto diffusa come testimoniato anche dal numero limitato di lavori presenti in bibliografia. Sarà molto importante continuare a monitorare l'influenza dei diversi trattamenti nei successivi anni in modo da poter confermare i risultati ottenuti nel lungo periodo.

In conclusione, in base ai dati ottenuti, possiamo affermare che la tecnica di coltivazione del mirtillo fuori suolo permette di superare i limiti naturali del terreno garantendo allo stesso tempo risultati produttivi, sia a livello qualitativo che quantitativo, simili o addirittura superiori a quelli della coltivazione in suolo. Tutto ciò potrebbe favorire l'espansione della coltivazione del mirtillo in nuovi areali e fornire nuove opportunità per gli agricoltori, anche grazie al crescente interesse dei consumatori verso i così detti prodotti *health-improving*, alla buona remunerazione e ai molteplici utilizzi di questi frutti.

BIBLIOGRAFIA

- Agnolin, C. et al., 2007. La coltivazione dei piccoli frutti in Trentino manuale tecnico-pratico. s.l.:s.n.
- Banados, P., Strik, B., Bryla, D. & Righetti, T., 2012. Response of Highbush Blueberry to Nitrogen Fertilizer During Field Establishment, I: Accumulation and Allocation of Fertilizer Nitrogen and Biomass. *HortSci.*, 47(5), pp. 648-655.
- Beccaro, G. L. et al., 2017. Piccoli frutti "made in Italy" un comparto in aumento. *Frutticoltura*, Volume 26, pp. 50-53.
- Beccaro, G. et al., 2006. Phenolic and Anthocyanin Content and Antioxidant Activity in Fruits of Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and of Highbush Blueberry (*V. corymbosum* L.) Cultivars in North Western Italy. *ISHS Acta Hort.* , Volume 715, pp. 553-557.
- Benzie, I. & Strain, J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, Volume 239, pp. 70-76.
- Bounous, G., 2017. Piccoli frutti e altri superfrutti. Prima edizione a cura di s.l.:Edagricole.
- Bryla, D. & Linderman, R., 2007. Implications of Irrigation Method and Amount of Water Application on Phytophthora and Pythium Infection and Severity of Root Rot in Highbush Blueberry. *HortScience*, 46(2), pp. 1463-1467.
- Bryla, D., Shireman, A. & Machado, R., 2010. Effects of Method and Level of Nitrogen Fertilizer Application on Soil pH, Electrical Conductivity, and Availability of Ammonium and Nitrate in Blueberry. *Acta Hort. ISHS*, Volume 868, pp. 95-102.
- Bryla, D. & Strik, B., 2015. Nutrient Requirements, Leaf Tissue Standards, and New Options for Fertigation of Northern Highbush Blueberry. *HortTechnology*, Volume 25, p. 2015.
- Bunea, A. et al., 2011. Comparative Polyphenolic Content and Antioxidant Activities of Some Wild and Cultivated Blueberries from Romania. *Not Bot Horti Agrob*, 39(2), pp. 70-76.
- Caspersen, S. et al., 2016. Blueberry—Soil interactions from an organic perspective. *Scientia Horticulturae* , Volume 208, pp. 78-91.

- Chen, S. et al., 2019. Relationship between rhizosphere soil properties and disease severity in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*). *Applied Soil Ecology*, Volume 137, pp. 187-194.
- Cheon, M. G. et al., 2018. Bush Growth and Fruit Quality of 'Duke' Blueberry Influenced by Nutritional Composition in Unheated Plastic House. *Protected Horticulture and Plant Factory*, 27(4), pp. 319-325.
- Cheon, M. G. et al., 2019. Effect of Supplying Volume and Frequency of Nutrient Solution on Growth and Fruit Quality of Blueberry. *Protected Horticulture and Plant Factory*, 28(4), pp. 447-453.
- Concha-Meyer, A. et al., 2015. Shelf Life Determination of Fresh Blueberries (*Vaccinium corymbosum*) Stored under Controlled Atmosphere and Ozone. *International Journal of Food Science*, pp. 1-9.
- Contessa, C. et al., 2013. Total antioxidant capacity and total phenolic and anthocyanin contents in fruit species grown in Northwest Italy. *Scientia Horticulturae*, Volume 160, pp. 351-357.
- Dedej, S. & Delaplane, K., 2003. Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Pollination of Rabbiteye Blueberry *Vaccinium ashei* var. 'Climax' is Pollinator Density-Dependent. *HORTICULTURAL ENTOMOLOGY*, 96(4), pp. 1215-1220.
- Deighton, N., Brennan, R., Finn, C. & Davies, H., 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J.Sci.Food.Agric.*, Volume 80, pp. 1307-1313.
- Dragovic-Uzelac, V. et al., 2010. Evaluation of Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Blueberry Cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) Grown in the Northwest Croatia. *Food Technol. Biotechnol.*, 48(2), pp. 214-221.
- Ehret, D. et al., 2014. Effects of nitrogen rate and application method on early production and fruit quality in highbush blueberry. *Plant Sci.*, Volume 94, pp. 1165-1179.
- Fang, Y. et al., 2020. A Review for Southern Highbush Blueberry Alternative Production Systems.
- Finn, C. & Warmund, M., 1997. Fertigation vs surface application of nitrogen during blueberry plant establishment. *ISHS ActaHort.* , Volume 446, pp. 397-401.
- Giordani, E. et al., 2016. Piccoli frutti, antiossidanti e salute umana. *Italus Hortus*, 23(2), pp. 15-28.

- Giovanelli, G. & Buratti, S., 2009. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chemistry*, Volume 112, pp. 903-908.
- Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E., 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, pp. F1.2.1-F1.2.13.
- Grassi, A., Giongo, L. & Palmieri, L., 2011. *Drosophila (Sophophora) suzukii* (Matsumura), new pest of soft fruits in Trentino (North-Italy) and in Europe. pp. 121-128.
- Haynes, R. J. & Swift, R., 1985. Growth and nutrient uptake by highbush blueberry plants in a peat medium as influenced by pH, applied micronutrients and mycorrhizal inoculation. *Scientia Hortic.*, Volume 27, pp. 285-294.
- Litwinczuk, W., Szczerba, G. & Wrona, D., 2005. Field performance of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. 'Herbert' propagated by cuttings and tissue culture. *Scientia Hortic.*, Volume 106, pp. 162-169.
- Lobos, T. et al., 2018. Regulated deficit irrigation effects on physiological parameters, yield, fruit quality and antioxidants of *Vaccinium corymbosum* plants cv. Brigitta. *Irrig.Sci.*, Volume 36, pp. 49-60.
- Lunati, F., 2018. I mirtilli guidano il boom dei "berry". *Fuutticoltura*, Volume 5, pp. 76-79.
- Martineau, L. et al., 2016. Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait.. *ScienceDirect*, Volume 13, pp. 612-623.
- Matiacevich, S. et al., 2013. Quality Parameters of Six Cultivars of Blueberry Using Computer Vision. *International Journal of Food Science*, Volume 2013, pp. 1-8.
- Mellano, G. & Bounous, M., 2013. Piccoli frutti in bassa valle.
- Messiga, A. J., Haak, D. & Dorais, M., 2018. Blueberry yield and soil properties response to long-term fertigation and broadcast nitrogen. *Scientia Horticulturae*, Volume 230, pp. 92-101.
- Milivojević, J. et al., 2018. Field performance of 'Bluecrop' highbush blueberry in a soilless growing system by using different fertilizers. *ISHS Acta Hortic.* , pp. 187-194.

- Milivojević, J., Radivojević, D., Maksimović, V. & Dragišić Maksimović, J., 2020. Variation in health promoting compounds of blueberry fruit associated with different nutrient management practices in a soilless growing system. *Journal of Agricultural Sciences*, 65(2), pp. 175-185.
- Mingeau, M., Perrier, C. & Améglio, T., 2001. Evidence of drought-sensitive periods from flowering to maturity on highbush blueberry. *Scientia Horticulturae*, Volume 89, pp. 23-40.
- Moore, J., Brown, M. & Bordelon, B., 1993. Yield and Fruit Size of 'Bluecrop' and 'Blueray' Highbush Blueberries at Three Plant Spacings. *HortSci.*, 28(12), pp. 1162-1163.
- Muñoz, C. S., 1993. Overview of the blueberry industry in South America. *Acta Horticulturae*, Volume 346, pp. 27-32.
- Naumann, W. D., 1993. Overview of the *Vaccinium* industry in Western Europe. *ISHS Acta Hort.*, Volume 346, pp. 53-58.
- Ochmian, I., Oszmiański, J., Jaśkiewicz, B. & Szczepanek, M., 2018. Soil and highbush blueberry responses to fertilization with urea phosphate. *Folia Hort.*, 30(2), pp. 295-305.
- Olson, R. & Eaton, L., 2001. Spring frost damage to placental tissues in lowbush blueberry flower buds. *Plant Sci.*, Volume 81, pp. 779-781.
- Pavlovski, N., 2010. Influence of Winter Temperatures on the Yielding Ability of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) Cultivars in Belarus. *International Journal of Fruit Science*, Volume 10, pp. 157-165.
- Prodorutti, D., Frilli, F. & Belletti, P. A., 2003. L'impollinazione del mitillo gigante americano (*Vaccinium Corymbosum* L.). *Apicoltura*, pp. 34-36.
- Prodorutti, D., Pertot, I., Giongo, L. & Gessler, C., 2007. Highbush Blueberry: Cultivation, Protection, Breeding and Biotechnology. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, pp. 44-54.
- Saftner, R., Polashock, J., Ehlenfeldt, M. & Vinyard, B., 2008. Instrumental and sensory quality characteristics of blueberry fruit from twelve cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, Volume 49, pp. 19-26.
- Sansavini, S. et al., 2012. *Arboricoltura generale*. Bologna: Patron Editore.

- Scibisz, I. & Mitek, M., 2009. Effect of processing and storage conditions on phenolic compounds and antioxidant capacity of highbush blueberry jams. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 59(1), pp. 45-52.
- Slinkard, K. & Singleton, V. L., 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *Amer J. Enol. Vitic.*, Volume 28, pp. 49-55.
- Song, G.-q. et al., 2013. The *Vaccinium corymbosum* Flowering Locus T-like gene (VcFT): a flowering activator reverses photoperiodic and chilling requirements in blueberry. *Plant Cell Reports*, Volume 32, pp. 1759-1769.
- Strik, B., Gartung, J. & Bryla, D., 2011. Evaluation of Irrigation Methods for Highbush Blueberry—I. Growth and Water Requirements of Young Plants. *HortScience*, 46(1), pp. 95-101.
- Strik, B., Hart, L., White, L. & Yang, W., 2006. Nutrient Management for Blueberries in Oregon.
- Strik, B., Kingston, P., Scagel, C. & Bryla, D., 2017. Suitability of Sphagnum Moss, Coir, and Douglas Fir Bark as Soilless Substrates for Container Production of Highbush Blueberry. *HortScience*, 52(12), pp. 1692-1699.
- Strik, B., Kingston, P., Scagel, C. & Bryla, D., 2019. Influence of Perlite in Peat- and Coir-based Media on Vegetative Growth and Mineral Nutrition of Highbush Blueberry. *HortScience*, 55(5), pp. 658-663.
- Strik, B., Vance, A., Bryla, D. & Sullivan, D., 2017. Organic Production Systems in Northern Highbush Blueberry: I. Impact of Planting Method, Cultivar, Fertilizer, and Mulch on Yield and Fruit Quality from Planting through Maturity. *HortScience*, 52(9), pp. 1201-1213.
- Strik, B. & Yarborough, D., 2005. Blueberry Production Trends in North America, 1992 to 2003, and Predictions for Growth. *ASHS*, 15(2), pp. 391-398.
- Vargas, O. & Bryla, D., 2015. Growth and Fruit Production of Highbush Blueberry Fertilized with Ammonium Sulfate and Urea Applied by Fertigation or as Granular Fertilizer. *HortScience*, 50(3), pp. 479-485.
- Whidden, A., 2008. Commercial Blueberry Production Methods in Hillsborough County. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, Volume 121, pp. 36-37.
- Wilber, W. L. & Williamson, J. G., 2008. Effects of Fertilizer Rate on Growth and Fruiting of Containerized Southern Highbush Blueberry. *HortScience*, pp. 143-145.

Xu, C. et al., 2015. Identification and distribution of Botryosphaeriaceae species associated with blueberry stem blight in China. *Eur J Plant Pathol*, Volume 143, pp. 737-752.

Zhao, Y., 2007. *Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotio. s.l.:CRC Press .*