

## MISCIBILITÀ DI FORMULATI A BASE DI CHITOSANO CON AGROFARMACI UTILIZZATI IN VITICOLTURA BIOLOGICA

G. ROMANAZZI<sup>1</sup>, S. PIANCATELLI<sup>1</sup>, V. MANCINI<sup>1</sup>, D. COPPA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Agrarie Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche - Via Breccie Bianche, 10, 60131 Ancona

<sup>2</sup> Terre Cortesi Moncaro Società Cooperativa Agricola, Via Piandole, 7/A  
60036 Montecarotto (AN)  
g.romanazzi@univpm.it

### RIASSUNTO

Il chitosano è un biopolimero naturale, ottenuto per deacetilazione della chitina, che sta trovando interesse nella protezione antiperonosporica della vite, anche a fronte delle limitazioni poste all'uso dei prodotti cuprici. Nel 2019 è stata condotta una prova con diversi formulati a base di chitosano per valutarne la miscibilità con una serie di prodotti impiegati nella protezione della vite dalle malattie. La prova è stata condotta miscelando cinque diverse formulazioni di chitosano con quattro prodotti cuprici, tre prodotti a base di zolfo ed uno contenente olio essenziale di arancio dolce. Dall'indagine è emerso un diverso livello di miscibilità dei formulati di chitosano con i prodotti commerciali. In particolare, nessuno dei formulati saggiati è risultato miscibile con idrossido di rame, poltiglia bordolese e zolfo bagnabile. Un formulato a base di chitosano è risultato compatibile con solfato di rame tribasico, tre con ossicloruro di rame e tre con olio essenziale di arancio dolce. La compatibilità fra formulati usati in combinazione è condizione necessaria per l'utilizzo di una molecola nuova in strategie di protezione delle piante dalle malattie.

**Parole chiave:** chitosano, combinazione, olio essenziale, rame, zolfo

### SUMMARY

#### COMBINATION OF CHITOSAN-BASED FORMULATIONS WITH FUNGICIDES USED IN ORGANIC VITICULTURE

Chitosan is a natural biopolymer, obtained from chitin deacetylation, that is gaining increasing interest in the control of grapevine downy mildew, particularly with the limitations that have been applied to copper compounds. In 2019, we carried out a trial on several chitosan-based formulations to test their combination with traditional fungicides that are used to protect grapevines from fungal diseases. Five chitosan-based formulations were mixed with four copper compounds, three sulfur compounds, and one formulation based on orange essential oil. Differential compatibilities were seen for the combinations of these chitosan formulations with the other products. None of the tested chitosan-based formulations were miscible with copper hydroxide, Bordeaux mixture, or the wettable sulfur. However, one chitosan-based formulation is compatible with tribasic copper sulphate, three with copper oxychloride, and three with sweet orange essential oil. Testing for compatibility of formulations used in combination is a preliminary evaluation for the use of any innovative compounds for plant protection.

**Keywords:** blend, chitosan, copper, essential oil, sulfur

### INTRODUZIONE

I fungicidi più utilizzati nel controllo delle principali malattie fungine della vite, specialmente nei vigneti biologici, sono tuttora quelli a base di rame e di zolfo (Miotto et al., 2014). Il rame, in particolare, è classificato come metallo pesante e il suo ripetuto uso, così

come le dosi eccessive impiegate, hanno portato ad un accumulo di questo elemento nel suolo (García-Esparza et al., 2006; Duca et al., 2016). Tale accumulo si è rivelato causa di diversi effetti ambientali negativi, come l'inquinamento delle falde acquifere e l'alterazione dell'attività biologica nel suolo (Rusjan et al., 2007) e riduzione delle popolazioni di lombrichi (Paoletti et al., 1998). Nonostante il rame sia un microelemento essenziale per lo sviluppo delle piante, dosi eccessive possono influenzarne negativamente la crescita e la produttività: una elevata presenza di rame sulle bacche, oltre a rappresentare un rischio per la salute umana, può ridurre la concentrazione di importanti aminoacidi liberi nell'uva (Garde-Cerdán et al., 2017), compromettendo la qualità del vino (García-Esparza et al., 2006; Miotto et al., 2014; Gutiérrez-Gamboa et al., 2019).

A causa di questi problemi, nell'Unione Europea l'utilizzo di rame in agricoltura biologica è stato limitato dal Regolamento UE 473/2002, a 6 kg/ha di rame metallo per anno, limite poi portato a 4 kg per ettaro annui con il Regolamento UE 1981/2018, che ha approvato i prodotti cuprici, peraltro inclusi nella lista dei candidati alla sostituzione, per un periodo di soli 7 anni. Inoltre, alcuni Paesi hanno ulteriormente ridotto tale limite per l'uso in viticoltura (ad esempio 3 kg/ha in Germania, Austria e Repubblica Ceca) ed in qualche caso (Danimarca, Finlandia, Paesi Bassi, Norvegia e Svezia) lo hanno addirittura portato a zero (La Torre et al., 2018).

Tutto ciò ha disorientato soprattutto le aziende viticole a conduzione biologica, in cui i prodotti a base di rame continuano ad essere i soli capaci di garantire una efficace protezione contro gli attacchi di *P. viticola*, agente di peronospora della vite e, nel contempo, ha stimolato sperimentazioni pluriennali di campo volte all'ottimizzazione degli apporti cuprici e alla ricerca di alternative nei principali areali della penisola vocati alla viticoltura (Bortolotti et al., 2006; Sancassani et al., 2006; Dongiovanni et al., 2010; Romanazzi et al., 2016; D'Arcangelo et al., 2018; Mancini et al., 2018).

Dalle limitazioni imposte dall'Unione Europea, nasce la necessità di sperimentare nuovi prodotti e di sviluppare nuove strategie di protezione fitosanitaria, che possano sostituire le pratiche tradizionali. A questo proposito è stato preso in considerazione il chitosano, che in prove sperimentali pluriennali ha fornito un livello di protezione paragonabile a quello del rame (Romanazzi et al., 2016). Il chitosano è un biopolimero naturale, ottenuto per deacetilazione dalla chitina, ricavata dal carapace di alcuni crostacei, da tempo conosciuto per la sua biocompatibilità, biodegradabilità e bioattività. Oltre ad essere popolare nelle diete dimagranti, viene utilizzato anche in campo medico come stabilizzante dei principi attivi e, grazie alla sua bassa tossicità, è stata la prima sostanza di base approvata dalla Comunità Europea per la protezione dei vegetali (Reg. UE 2014/563). Una volta applicato sulle superfici vegetali, il chitosano esplica una triplice attività: a) elicitante, che contribuisce per il 35% alla sua attività; b) antimicrobica, con un contributo di circa il 40%; c) filmogenica, con un contributo di circa il 25% (Romanazzi et al., 2018). A seguito della sua applicazione, si forma sulla superficie trattata una pellicola commestibile, la quale, su foglie e giovani germogli in crescita, tende a ridurre la traspirazione e la vigoria (Romanazzi et al., 2016).

Alla luce di ciò, è stata condotta una prova per valutare la capacità di diversi formulati a base di chitosano di formare una miscela stabile ed omogenea con alcuni dei prodotti impiegati nella protezione della vite dalle malattie fungine.

## MATERIALI E METODI

Per valutare il livello di miscibilità fra prodotti innovativi e prodotti comunemente impiegati nella protezione antioidica e antiperonosporica, sono stati presi in considerazione cinque diversi formulati a base di chitosano (tabella 1).

Tabella 1. Prodotti a base di chitosano utilizzati con relativa composizione e formulazione

Nome	Azienda produttrice	Sostanza attiva, concentrazione	Formulazione
Chitosano <sup>1</sup>	ChiPro GmbH (Brema, Germania)	Chitosano cloridrato, 100%	Polvere
Chito Plant <sup>2</sup>	ChiPro GmbH (Brema, Germania)	Chitosano cloridrato, 2,5%	Liquido
Mastgrape <sup>2</sup>	Enoceca (Vegrar, Italia)	Chitosano, 5%	Liquido
KaitoSol <sup>2</sup>	Advanced Green Nanotechnologies Sdn Bhd (UK)	Chitosano, 1,25%	Liquido
OII-YS <sup>2</sup>	Venture Innovations (USA)	Chitosano (2%) ed estratto di yucca (6%)	Liquido

<sup>1</sup>Approvato come sostanza di base ai sensi del Reg. EU 1107/2009; <sup>2</sup>Non approvato come sostanza di base

Ognuno di questi prodotti è stato miscelato con otto formulati commerciali: quattro a base di rame, tre a base di zolfo ed un prodotto contenente olio essenziale di arancio dolce (tabella 2).

Tabella 2. Fungicidi commerciali utilizzati, con relativa composizione, azienda produttrice e dose utilizzata

Principio attivo	Formulato commerciale, azienda produttrice	Dose di etichetta
Idrossido di rame	Funguran, Certis Europe	0,4 L/hL
Poltiglia bordolese	Poltiglia Disperss, UPL Italia	0,8 kg/hL
Solfato di rame tribasico	Cuproxat p.a.15,2%, Sipcam	0,5 L/hL
Ossicloruro di rame	Pasta Caffaro, Sumitomo Chemical Italia	0,25 L/hL
Zolfo bagnabile 1	Microthiol, UPL Italia	0,8 kg/hL
Zolfo bagnabile 2	Zolfo AZF, L.I.F.A.	0,6 kg/hL
Polisolfuro di calcio	Polisolfuro di calcio, Chemia	2 kg/hL
Olio essenziale di arancio dolce	Prev-Am, Oro Agri	0,8 L/hL

Per ogni tipologia di chitosano, utilizzato ad una concentrazione dello 0,5%, sono state effettuate nove miscele (una per ogni prodotto commerciale da testare più il controllo non miscelato). I prodotti commerciali sono stati utilizzati alla dose massima di etichetta prevista per la protezione della vite. Una volta combinati, i prodotti sono stati agitati e lasciati interagire per circa dieci minuti.

La valutazione della miscibilità è stata fatta osservando il comportamento delle diverse miscele dieci minuti dopo la miscelazione e ad un giorno di distanza. Il livello di miscibilità è stato classificato in 3 categorie: 1) miscibile, 2) parzialmente miscibile e 3) non miscibile. Rientrano nella categoria 1 le combinazioni considerate miscibili, che non presentano reazioni o fasi che potrebbero compromettere la buona riuscita di un trattamento antiparassitario. Nella categoria 3 sono state incluse le miscele che danno luogo a separazioni nette o formano gel, flocculazioni e precipitati solidi. Nella seconda categoria sono state incluse le miscele che formano dei sedimenti, subito o dopo 24 ore. Per ogni miscela è stata descritta il tipo di interazione fra le due componenti ed è stato misurato il pH.

## RISULTATI

Alla luce delle valutazioni effettuate, sono emerse sia delle combinazioni che manifestano un'elevata miscibilità, sia combinazioni che risultano completamente incompatibili (tabella 3).

Tabella 3. Risultati delle prove di miscibilità dei formulati a base di chitosano con prodotti utilizzati in agricoltura biologica. Il livello di miscibilità è stato classificato in 3 categorie: miscibile (1), parzialmente miscibile (2) e non miscibile (3)

Formulati da saggiare per la miscibilità	Formulati a base di chitosano				
	Chitosano	Chito Plant	Mastgrape	KaitoSol	OII-YS
Idrossido di rame	3 - Gel	3 - Precipitato	2 - Miscibile con leggero sedimento	2 - Sedimento	3 - Precipitato
Poltiglia bordolese	3 - Gel	3 - Precipitato	3 - Flocculato	3 - Precipitato	3 - Precipitato
Solfato di rame tribasico	3 - Flocculato	3 - Sospensione con sedimento	1 - Miscibile	3 - Precipitato	3 - Precipitato
Ossicloruro di rame	1 - Miscibile	2 - Miscibile con leggero sedimento	1 - Miscibile	3 - Precipitato	1 - Miscibile
Zolfo bagnabile 1	2 - Miscibile con leggero sedimento	2 - Miscibile con leggero sedimento	2 - Miscibile con leggero sedimento	2 - Miscibile con sedimento	2 - Miscibile con leggero sedimento
Zolfo bagnabile 2	2 - Miscibile con sedimento	3 - Precipitato	2 - Sedimenta dopo un po'	2 - Sedimenta dopo un po'	2 - Miscibile con sedimento
Polisolfuro di calcio	3 - Flocculato	2 - Miscibile con leggero sedimento	3 - Precipitato	3 - Precipitato	1 - Miscibile
Olio essenziale di arancio dolce	1 - Miscibile	2 - Miscibile con leggero sedimento	1 - Miscibile	1 - Miscibile	2 - Miscibile con leggero sedimento

Non mancano diverse situazioni intermedie, che potrebbero essere influenzate dalle condizioni operative. Dalle indagini emerge che nessuno dei formulati a base di chitosano è miscibile con idrossido di rame, poltiglia bordolese ed i due zolfi bagnabili. Il polisolfuro di calcio, non utilizzato sulla vite ma incluso come ulteriore prodotto a base di zolfo, è risultato miscelabile solo con uno dei formulati a confronto. Tra i prodotti cuprici, un formulato a base di chitosano è risultato miscibile con solfato di rame tribasico (Mastgrape) e tre con ossicloruro di rame (Chitosano, Mastgrape e OII-YS). Tre dei cinque prodotti saggiati sono risultati miscibili con olio essenziale di arancio dolce (Chitosano, Mastgrape e KaitoSol).

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Data la necessità di ridurre gli apporti cuprici in viticoltura biologica, l'agricoltore può tendere a miscelare sostanze diverse al fine di limitare la quantità di rame somministrata per trattamento e/o durante la stagione. Tuttavia, se i prodotti non dovessero risultare pienamente miscibili, si potrebbero verificare problemi durante l'irrorazione. La prova sperimentale ha valutato il livello di miscibilità di alcuni formulati a base di chitosano con alcuni dei fungicidi più comunemente impiegati nella protezione della vite dalle malattie in agricoltura biologica. Sono stati utilizzati cinque formulati a base di chitosano, indipendentemente dalla loro registrazione in Italia per l'uso nella protezione delle piante. Il prodotto a base di chitosano cloridrato disponibile come "Chitosano" è l'unico fra quelli saggiati ad essere autorizzato a livello comunitario come sostanza di base, ai sensi del Reg. UE 2014/563.

La prova è scaturita dall'esigenza delle aziende agricole di ridurre gli apporti cuprici, e al contempo non rischiare la produzione affidandosi a molecole non del tutto conosciute e provate in campo.

Pur utilizzando un numero relativamente limitato di formulati a base di chitosano, con caratteristiche differenti fra loro, nessuno di questi ha mostrato una buona miscibilità con idrossido di rame e con poltiglia bordolese, che sono fra i prodotti cuprici più utilizzati, così come con gli zolfi bagnabili utilizzati nella prova.

Non si può escludere che i formulati a base di chitosano possano risultare miscibili con altri formulati basati sugli stessi principi attivi. Il chitosano ha un optimum di pH intorno a 5,6 (da 5,5 a 6), pertanto formulazioni con un pH più elevato possono determinare alterazioni nella struttura della molecola, la sua precipitazione e conseguenti effetti sulla miscibilità. È invece positivo constatare che ci sono formulati a base di chitosano miscibili con prodotti a base di solfato di rame tribasico e di ossicloruro di rame, così come tre formulati sono ben compatibili con l'olio essenziale di arancio dolce.

Considerando il chitosano come un'alternativa all'uso dei prodotti rameici, per il controllo della peronospora e con un'attività collaterale nei confronti dell'oidio (Romanazzi et al., 2016), si possono ipotizzare nuove strategie di protezione della vite, che prevedano l'utilizzo del chitosano da solo o in combinazione con alcuni fungicidi tradizionali ma non con altri.

Questa indagine ha mostrato come non tutte le combinazioni tra un fungicida tradizionale e un prodotto contenente chitosano sono compatibili, per una contemporanea somministrazione alla vegetazione, ma ci sono delle possibilità che sono percorribili in questo senso. Altri studi sono necessari per approfondire le conoscenze sulle potenzialità e le caratteristiche combinatorie di questo biopolimero, che potrebbe entrare a far parte dei programmi di protezione nei confronti di alcune avversità fungine importanti, come prodotto principale o complementare.

### Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto "Strategie innovative nella filiera vitivinicola per produzioni a tutela dell'ambiente e della salute del consumatore (VITINNOVA)" promosso dal PSR Regione Marche Misura 16.1 fase 2. Si ringraziano per la collaborazione l'azienda vitivinicola Terre Cortesi-Moncaro, la Cooperativa Moderna, la Cantina Belisario, la CIA ed il Servizio Fitosanitario Regionale delle Marche, e la Dott.ssa Yeimmy Yolima Peralta Ruiz per la collaborazione alle prove.

## LAVORI CITATI

- Bortolotti P.P., Nannini R., Scannavini M., Antoniacchi L., Bugiani R., 2006. Valutazione di diversi composti rameici a basso dosaggio nella difesa antiperonosporica della vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 503-512.
- D’Arcangelo M.E.M., Valentini P., Puccioni S., 2018. Valutazione dell’efficacia di nuovi formulati nella difesa della vite contro la peronospora. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 173-178.
- Dongiovanni C., Di Carolo M., Giampaolo C., Santomauro A., Natale P., Perrelli D., Faretra F., 2010. Osservazioni sull’efficacia antiperonosporica su vite di dosi ridotte di rame e di sostanze alternative e resistenza al dilavamento di composti rameici. *Petria*, 20, 13-16.
- Duca D., Toscano G., Pizzi A., Rossini G., Fabrizi S., Lucesoli G., Servili A., Mancini V., Romanazzi G., Mengarelli C., 2016. Evaluation of the characteristics of vineyard pruning residues for energy applications: effect of different copper-based treatments. *Journal of Agricultural Engineering*, 497, 22–27.
- Garde-Cerdán T., Mancini V., Carrasco-Quiroz M., Servili A., Gutiérrez-Gamboa G., Foglia R., Pérez-Álvarez E.P., Romanazzi G., 2017. Chitosan and laminarin as alternatives to copper for *Plasmopara viticola* control: Effects on grape amino acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 75, 7379-7386.
- García-Esparza M.A., Capri E., Pirzadeh P., Trevisan M., 2006. Copper content of grape and wine from Italian farms. *Food Additives and Contaminants*, 23, 274–80.
- Gutiérrez-Gamboa G., Romanazzi G., Garde-Cerdán T., Pérez-Álvarez E.P., 2019. A review on the use of biostimulants in the vineyard for improved grape and wine quality: effects on prevention of grapevine diseases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99, 1001-1009.
- La Torre A., Iovino V., Caradonia F., 2018. Copper in plant protection: current situation and prospects. *Phytopathologia Mediterranea*, 57, 201-236.
- Mancini V., Foglia R., Gregori M., Marcolini D., Coppa D., Nardi S., Romanazzi G., 2018. Trattamenti a basso impatto ambientale per la protezione antiperonosporica e antioidica della vite in agricoltura biologica. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 523-530.
- Miotto A., Ceretta C.A., Brunetto G., Nicoloso F.T., Giroto E., Farias J.G., Tiecher T.L., De Conti L., Trentin G., 2014. Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. *Plant and Soil*, 374, 593–610.
- Paoletti M.G., Sommaggio D., Favretto M.R., Petruzzelli G., Pezzarossa B., Barbafieri M., 1998. Earthworms as useful bioindicators of agroecosystem sustainability in orchards and vineyards with different inputs. *Applied Soil Ecology*, 10, 137–150.
- Romanazzi G., Mancini V., Feliziani E., Servili A., Endeshaw S., Neri D., 2016. Impact of alternative fungicides on grape downy mildew control and vine growth and development. *Plant Disease*, 100, 1–10.
- Romanazzi G., Feliziani E., Sivakumar D., 2018. Chitosan, a biopolymer with triple action on postharvest decay of fruit and vegetables: eliciting, antimicrobial and film forming properties. *Frontiers in Microbiology*, 9:2745.
- Rusjan D., Strlic M., Pucko D., Korosec-Koruza Z., 2007. Copper accumulation regarding the soil characteristics in Sub-Mediterranean vineyards of Slovenia. *Geoderma*, 141, 111–118.
- Sancassani G.P., Buccini M., Fremiot P., Rho G., Toffolatti S.L., Vercesi A., 2006. Prove di efficacia antiperonosporica di prodotti a basso dosaggio di rame su vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 167-172.