

REPORT DELLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO DI DIAGNOSTICA FITOPATOLOGICA E BIOLOGIA MOLECOLARE DEL SERVIZIO FITOSANITARIO DELLA REGIONE TOSCANA NELL'ANNO 2020



la
o
at
r
o
i
o
a
bl
g
c
e

Servizio Fitosanitario Regionale

Introduzione.....	3
Attività complessive svolte dal laboratorio SFR nel corso del 2020.....	3
Attività effettuate presso il Laboratorio presso l'interporto di Guasticce (LI) presso la sede del SFR addetta al punto di entrata di Livorno.....	16
Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio - periodo 2013-2020.....	21
Collaborazioni e Convenzioni con altri Enti e Istituzioni Scientifiche.....	23
Confronti Interlaboratori e Ring Test con Enti/Istituzioni Scientifiche.....	26
Metodiche e Protocolli Diagnostici del Laboratorio del SFR.....	26
Costi e Investimenti per il Laboratorio.....	26
Pubblicazioni.....	27
Conclusioni.....	27
Allegati.....	28
Tabella 1 - Elenco completo delle specie oggetto d'indagine nel 2020.....	28
Tabella 2 - Elenco completo degli ON oggetto d'indagine nel 2020.....	33

Introduzione

Il laboratorio di diagnostica fitopatologica e biologia molecolare del SFR svolge un ruolo attivo e fondamentale nell'ambito delle attività di monitoraggio e controllo fitosanitario eseguite sul territorio regionale, [svolgendo analisi finalizzate](#) alla verifica della presenza/[assenza di organismi](#) nocivi da quarantena sui campioni vegetali pervenuti. [Tali attività vengono svolte presso i laboratori di Pistoia e Livorno.](#)

Nel corso dell'anno 2020, nonostante l'emergenza sanitaria Covid-19, i laboratori del Servizio Fitosanitario (~~di seguito Lab~~) con sedi a Pistoia e Livorno, hanno continuato ad effettuare le analisi, le prove e le diagnosi ordinarie previste nel piano annuale delle attività del Servizio nonostante un considerevole aumento di campioni derivanti dalle attività di monitoraggio delle aree indenni e delimitate per *Xylella fastidiosa* (a seguito del ritrovamento avvenuto nel mese di novembre 2018), garantendo anche il rispetto delle tempistiche per la refertazione delle analisi effettuate.

Questo è stato reso possibile grazie alla collaborazione e alla sinergia di tutto il personale del Servizio Fitosanitario Regionale e all'attivazione di collaborazioni con fornitori di servizi esterni che hanno provveduto ad effettuare parte delle attività propedeutiche alle analisi (preparazione delle aliquote dei campioni vegetali), allo sviluppo del software gestionale delle attività del laboratorio e all'ottimizzazione dei processi estrattivi, sfruttando al massimo le potenzialità delle attrezzature del laboratorio.

[Durante il 2020, una notevole attività lavorativa è stata svolta anche presso il laboratorio che ha sede presso l'Interporto Toscano "Amerigo Vespucci" \(località Guasticce, Livorno\) che svolge prevalentemente le analisi su campioni vegetali \(soprattutto frutta fresca e sementi\) prelevati durante i controlli fitosanitari all'importazione.](#)

Attività complessive svolte dai laboratori del Servizio Fitosanitario Regionale nel corso del 2020

Esaminando le diverse attività del laboratorio svolte nel 2020, una prima caratterizzazione può essere evidenziata considerando il numero di richieste, di campioni e di analisi effettuate complessivamente nel corso del 2020 (Tabella 1). Sulla base delle attività svolte distinguiamo tra:

- i controlli ufficiali effettuati presso vivai;
- controlli ufficiali che riguardano altri operatori professionali autorizzati (OPA): importatori, esportatori, commercianti all'ingrosso ecc..
- controlli alle importazioni svolti presso il laboratorio di Livorno;
- monitoraggi sul territorio;
- altro.

Tipo Attivita'	Richieste	Campioni	Prove Amplificabilità	Analisi	Analisi Totali
Controlli ufficiali vivai autorizzati	561	5904	5904	9044	14948
Controlli ufficiali altri OPA	1974	4543	4543	5207	9750
Controlli import	159	2077	2077	2338	4415
Monitoraggi sul territorio	1483	3167	3167	3292	6459
Altro	106	1163	1163	1473	2636

TOTALE	4283	16.854	17381	21.349	38.730
Controlli ufficiali OPA vivai- sti	13,1%	35,0%	35,0%	42,4%	39,1%
Controlli ufficiali altri OPA	46,1%	27,0%	27,0%	24,4%	25,5%
Controlli import	3,7%	12,3%	12,3%	10,9%	11,6%
Monitoraggi sul territorio	34,6%	18,8%	18,8%	15,4%	16,9%

Tabella 1. Attività complessive svolte dai laboratori di Pistoia e Livorno

A fronte di 4.283 richieste sono stati prelevati 16.854 campioni per un numero di analisi pari a 21.349. A tale risultato vanno aggiunte le verifiche o prove di amplificabilità sugli acidi nucleici estratti (DNA ed RNA) con l'obiettivo di valutare la loro integrità e qualità e per poter procedere con lo svolgimento delle analisi biomolecolari specifiche per i vari organismi nocivi.

Queste ultime sono analisi di tipo tecnico che vanno conteggiate per una valutazione complessiva delle attività svolte dal laboratorio.

Quindi complessivamente sono state effettuate 38.730 analisi

Un'altra modalità di lettura dei risultati del 2020 è la tabella seguente (Tabella 2), da cui emerge che il numero di patogeni ricercati è pari a 116; le tecniche/protocolli biomolecolari utilizzate/i sono stati 179 e le analisi sono state eseguite su campioni vegetali derivanti da 218 specie vegetali oggetto di indagine.

Richieste / Campioni / Analisi					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. Livorno
Richieste	4283		128	3	
Campioni	16854		500	3	
Patogeni	116		44	37,9	
Metodi	179		64	35,8	
Specie vegetali	218		33	15,1	
Prove di amplificabilità'	17381	44,9	745	1,9	35,9
Analisi	21349	55,1	1331	3,4	64,1
Analisi totali	38730		2076	5,4	

Tabella 2. Attività complessive svolte dai laboratori di Pistoia e Livorno

Relativamente alla provenienza dei campioni vegetali prelevati, dalla tabella sottostante e successivo grafico a torta (tabella 3 e figura 1) si evince che la maggior parte di essi proviene da operatori professionali (OP) autorizzati.

Tipo Utente					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
OP Autorizzati	446	70,6	45	7,1	54,9
OP Non Autorizzati	78	12,3	22	3,5	26,8
OP Importatori	3	0,5	0	0	0
Altri Soggetti	2	0,3	1	0,2	1,2
Territorio	103	16,3	14	2,2	17,1

Tabella 3. Tipologia di utenza da cui provengono i campioni analizzati

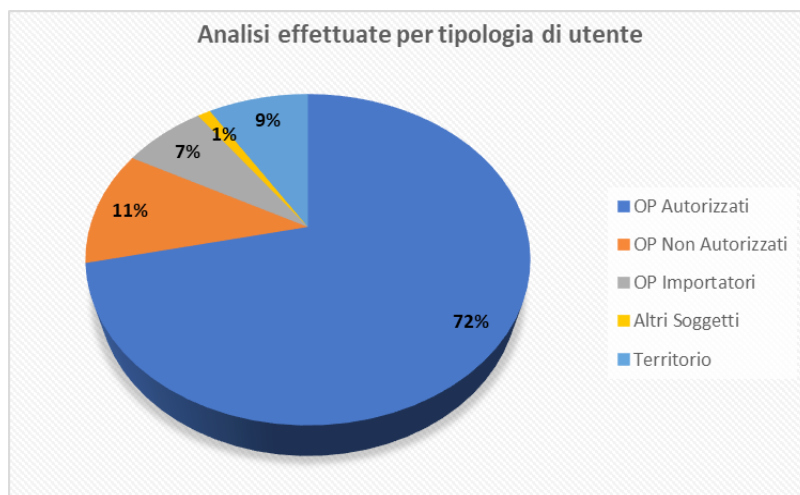


Fig. 1. Tipologia di utenza da cui provengono i campioni analizzati

Nella tabella sottostante (tabella 4) sono riassunti i risultati ottenuti a seguito delle analisi di laboratorio effettuate: quasi il 3% dei campioni pervenuti in laboratorio è risultato positivo agli organismi nocivi oggetto di indagine. Inoltre, sono stati considerati anche i risultati indeterminati o non determinabili (ND) dovuti a:

- non conformità legata alla matrice di partenza che può risultare deteriorata, secca, ec.);
- difficoltà estrattive con verifiche di amplificabilità che non hanno dato esito valido;
- errori durante il prelievo dei campioni e relativa assegnazione dei target (ON) di cui richiedere le verifiche analitiche.

Sebbene si tratta di valori residuali rispetto a quello totale, costituiscono indicatori utili per determinare la qualità del servizio svolto.

Risultati					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. Livorno
Risultati Positivi	618	2,9	62	10	4,7
Risultati Negativi	20675	96,8	1267	6,1	95,2
Risultati Indeterminati	56	0,3	2	3,6	0,2

Tabella 4. Risultati ottenuti a seguito delle analisi di laboratorio

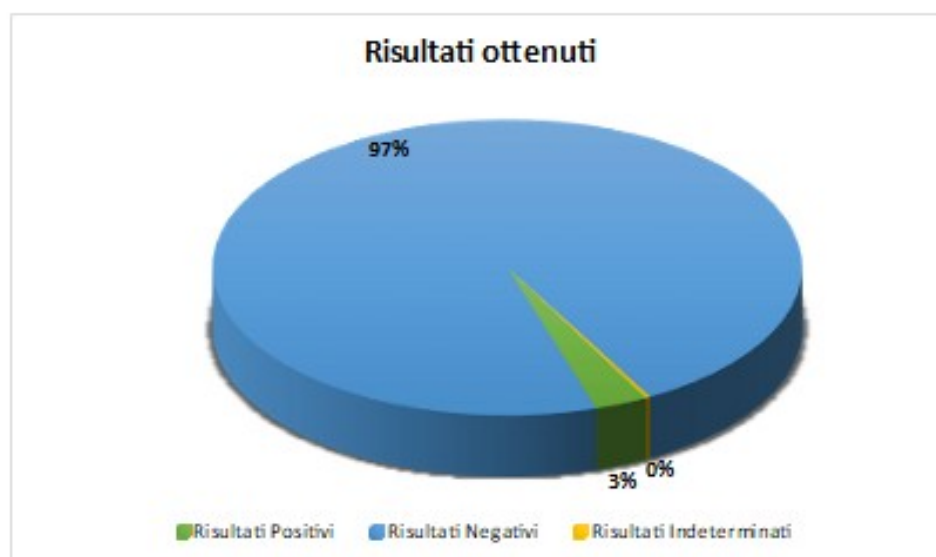


Fig. 2. Risultati complessivi delle analisi di laboratorio

Sulla base della differenziazione in base al tipo di tecnica/ metodologia/protocollo utilizzata/o nel corso dell'anno (tabella 5 e figura 3) per far fronte alla complessità delle analisi richieste, si denota che circa l'85% di tutte le attività sono state svolte tramite tecniche di *Real Time* PCR o qPCR con sonde *TaqMan* o *SybrGreen*. Si tratta di tecniche complesse ma, allo stesso tempo, sensibili, specifiche e accurate che garantiscono un risultato analitico affidabile.

Un'ulteriore tecnica utilizzata soprattutto presso il laboratorio di Livorno è la amplificazione isoterma LAMP (*loop mediated isothermal amplification*), che consente di ottenere risultati in tempi relativamente brevi.

Tecnica/metodologia/protocollo di analisi utilizzato		
Parametro	Generale	% Totale
PCR real-time SYBR Green	1242	5,9
PCR real-time Probe	14154	66,8
Amplificazione isoterma LAMP	3724	17,6
PCR end point	876	4,1
Analisi sierologiche (ELISA)	1206	5,7

Tabella 5. Metodiche di laboratorio utilizzate

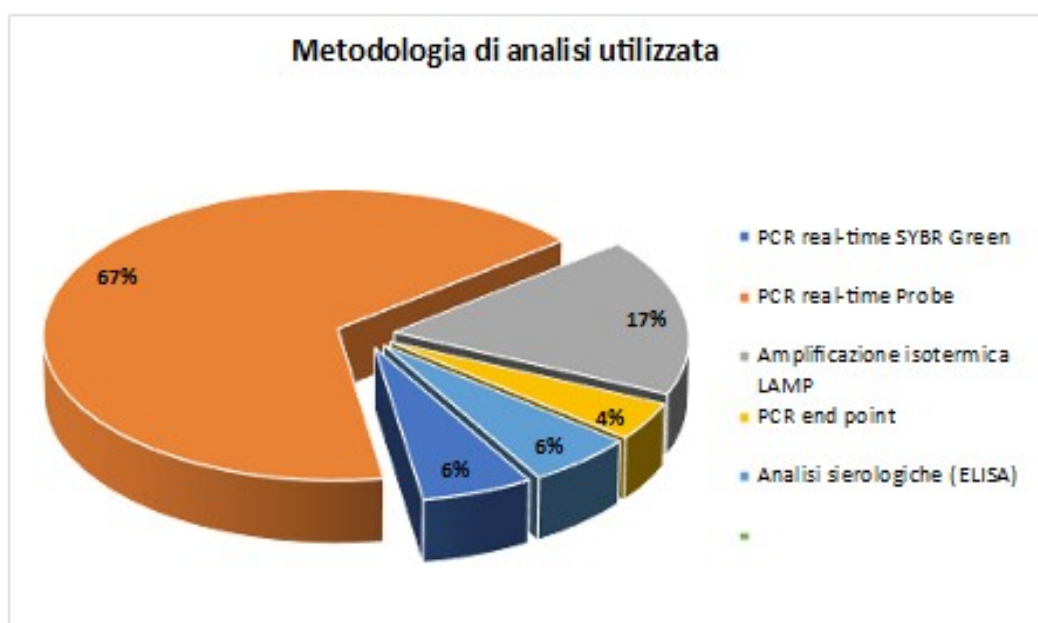


Fig. 3. Tipologia di metodica di laboratorio impiegata

Analizzando i campioni pervenuti in laboratorio in relazione alla specie vegetale (figura 4), si denota che l'olivo e la vite sono le specie maggiormente rappresentative. Per quanto riguarda l'olivo, i numeri così alti sono dovuti all'intenso campionamento effettuato per il monitoraggio di *Xylella fastidiosa* in aree indenni; mentre relativamente alla vite, la percentuale elevata è legata alle attività di indagine condotte sul territorio regionale e nei vivai per il controllo della flavescenza dorata e ai fini della certificazione vivaistica della vite.

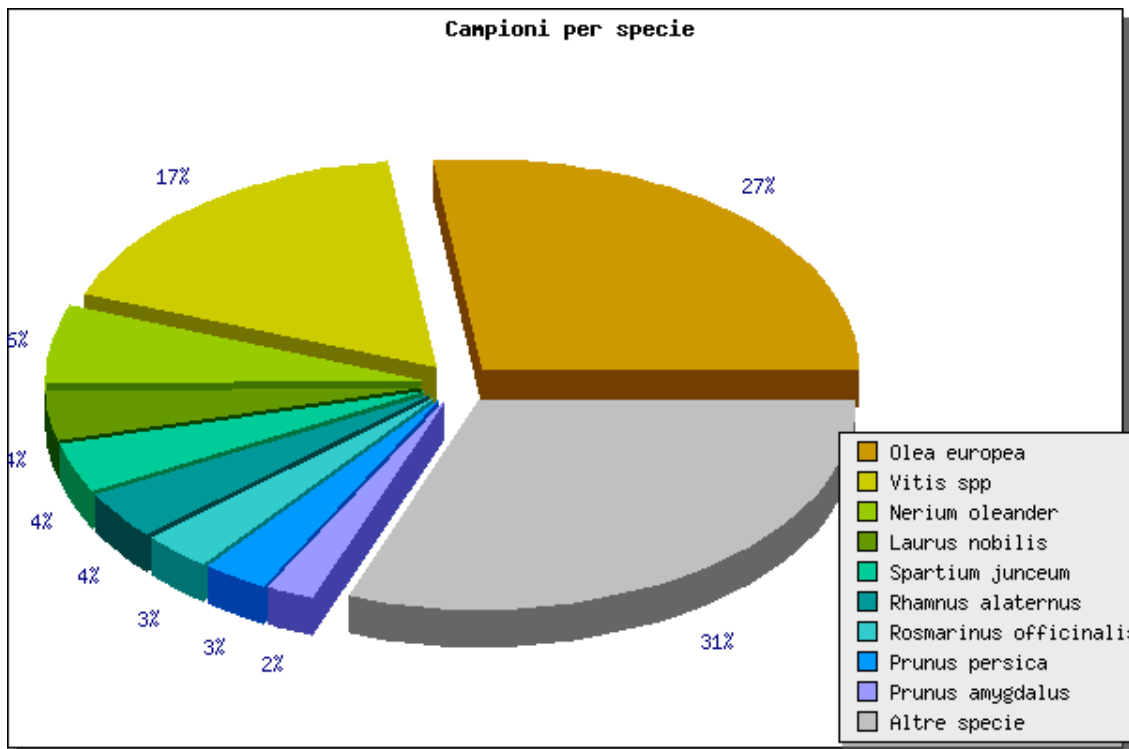


Fig. 4. Suddivisione dei campioni pervenuti in laboratorio in base alla specie vegetale

Gli elenchi completi relativi alle specie campionate e agli organismi nocivi investigati complessivamente sono riportati in **Allegato 1 (Tabelle 1 e 2)**

Relativamente ai principali organismi nocivi ricercati nel 2020, dal grafico e dalla tabella sottostanti si denota che la maggior parte delle analisi hanno interessato la *Xylella fastidiosa* per la quale sono state eseguite ispezioni ufficiali nelle aree indenni e in quella delimitata.

Si tratta di numeri notevoli, nonostante l'epidemia da COVID-19 e le interruzioni lavorative imposte per la salvaguardia della salute pubblica.

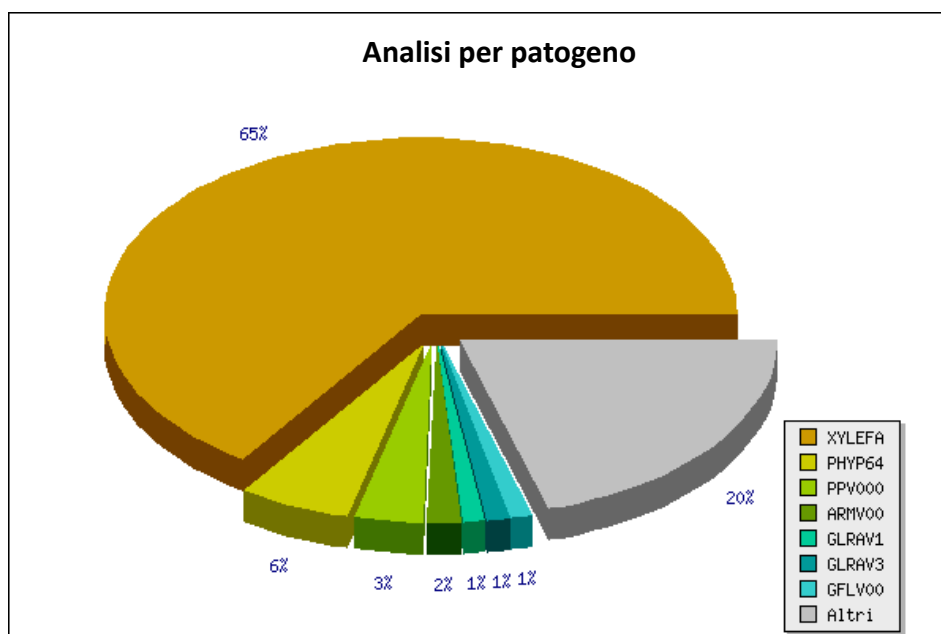


Fig. 5. Suddivisione dei campioni pervenuti in laboratorio in base alla specie vegetale

Specie	Patogeno	Analisi	Risultati negativi	Risultati positivi	Non determinati
batteri	<i>Xylella fastidiosa</i>	13971	13719	243	9
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma vitis</i>	1220	1047	171	2
virus	<i>Plum pox virus (PPV)</i>	733	711	22	0
virus	<i>Arabid Mosaic virus (ArMV)</i>	348	348	0	0
virus	<i>Grapevine leaf roll associated virus - 1</i>	238	238	0	0
virus	<i>Grapevine leaf roll associated virus - 3</i>	237	237	0	0
virus	<i>Grapevine fan leaf virus</i>	236	236	0	0
virus	<i>Grapevine fleck virus</i>	235	235	0	0
virus	<i>Grapevine virus A</i>	235	235	0	0
virus	<i>Tomato brown rugose fruit virus</i>	215	211	4	0
virus	<i>Citrus Tristeza Virus</i>	206	171	34	1
batteri	<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	174	165	9	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma solani</i>	167	159	8	0
viroidi	<i>Potato spindle tuber viroid</i>	161	139	22	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter asiaticus</i>	145	145	0	0
batteri	<i>Xylophilus ampelinus</i>	145	145	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter africanus</i>	139	139	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter americanum</i>	139	139	0	0
virus	<i>Tomato leaf curl New Daehli Virus</i>	130	130	0	0
virus	<i>Pepino Mosaic virus (PepMV)</i>	119	113	6	0
Specie	Patogeno	Analisi	Risultati negativi	Risultati positivi	Non determinati
virus	<i>Cherry leaf roll virus</i>	116	116	0	0
virus	<i>Strawberry latent ring spot virus</i>	116	116	0	0
virus	<i>Cucumber Mosaic Virus</i>	115	115	0	0
virus	<i>Olive latent Virus - 1</i>	113	113	0	0
virus	<i>Olive leaf yellowing-associated virus</i>	113	113	0	0
virus	<i>Olive ring spot virus</i>	113	113	0	0
funghi	<i>Verticillium spp</i>	112	112	0	0
virus	<i>Olive latent Virus - 2</i>	111	111	0	0
virus	<i>Tobacco necrosis virus</i>	111	111	0	0
virus	<i>Tomato spotted wilt virus</i>	109	106	3	0
funghi	<i>Guignardia citricarpa</i>	89	48	41	0
batteri	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	84	84	0	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii</i>	75	61	14	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	71	71	0	0
batteri	<i>Xanthomonas gardnerii</i>	71	71	0	0
batteri	<i>Xanthomonas perforans</i>	71	71	0	0
virus	<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	67	67	0	0
batteri	<i>Erwinia amylovora</i>	51	45	5	1
batteri	<i>Xanthomonas arboricola pv pruni</i>	38	38	0	0
funghi	<i>Ceratocystis platani</i>	37	29	8	0
batteri	<i>Xanthomonas citri pv citri</i>	23	15	8	0
insetti	<i>Anoplophora chinensis</i>	22	16	4	2
funghi	<i>Phytophthora ramorum</i>	17	17	0	0
insetti	<i>Aleurocanthus spiniferus</i>	16	8	7	1
batteri	<i>Pseudomonas syringae pv actinidiae</i>	14	14	0	0

Tabella 6. Analisi e risultati ottenuti in relazione all'organismo nocivo ricercato

I prelievi relativi ai campioni pervenuti in laboratorio nel corso del 2020, hanno avuto la distribuzione territoriale riportata in figura 5.

Come si può osservare dalla distribuzione territoriale dei campioni prelevati, le aree maggiormente rappresentative sono costituite dal polo vivaistico della provincia di Pistoia e dalla zona del focolaio di *Xylella fastidiosa* del Monte Argentario (GR).

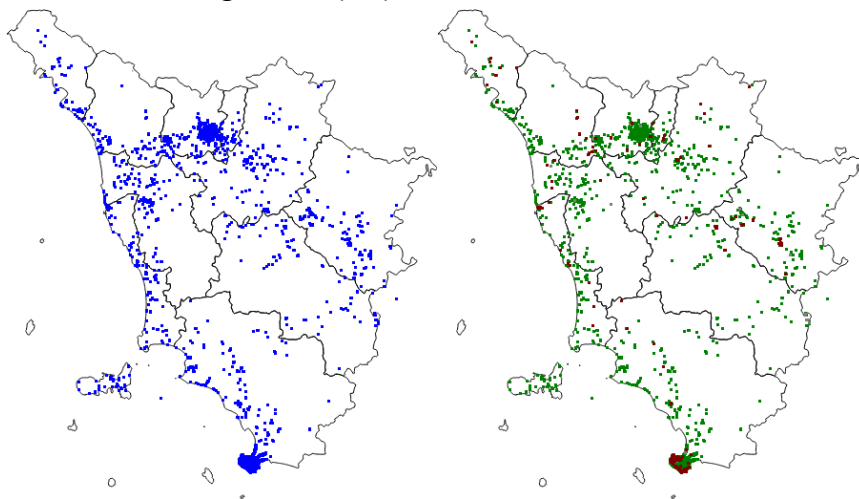


Fig. 6. Distribuzione territoriale dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo).

Nelle sottostanti figure 7 e 8 si riportano alcuni approfondimenti grafici:

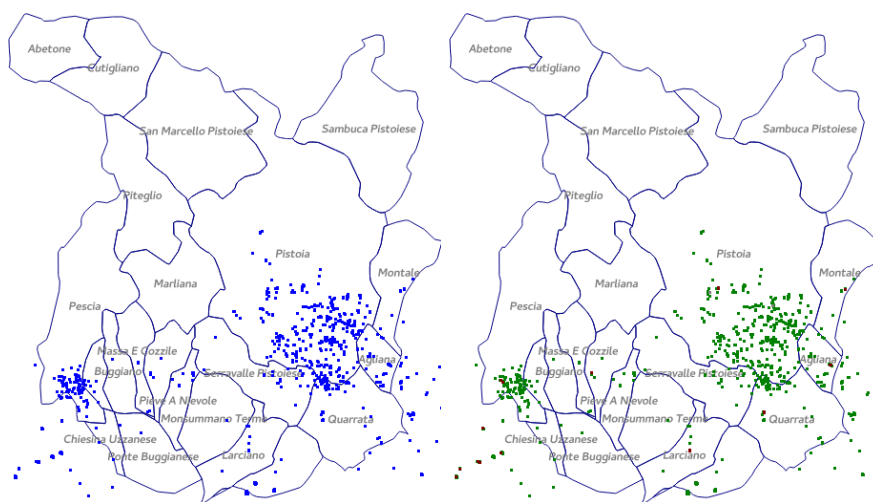


Fig. 7. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale in provincia di Pistoia dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2020.

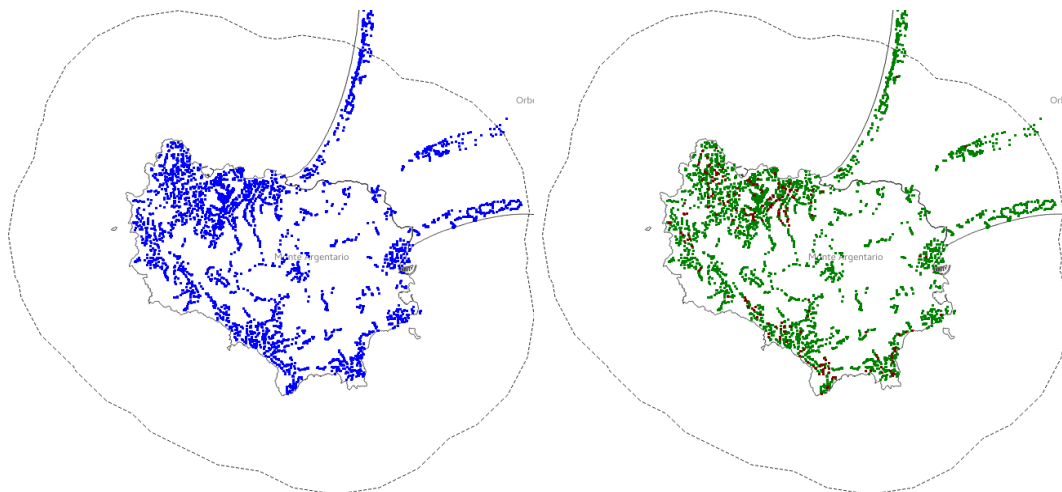


Fig. 8. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale presso il territorio del Monte Argentario (GR) dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2020.

Nella seguente tabella 7, viene riportata la distribuzione del carico del lavoro svolto dal lab nel corso del 2020.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	77	47	2580	354	2934	21
Febbraio	94	80	445	534	979	51
Marzo	19	87	166	1591	1757	9
Aprile	9	10	128	314	442	24
Maggio	15	15	124	129	253	3
Giugno	110	43	1117	316	1433	18
Luglio	223	213	2137	3083	5220	12
Agosto	152	155	1188	1613	2801	10
Settembre	816	405	3228	3651	6879	136
Ottobre	1190	1038	2908	2987	5895	148
Novembre	1498	1031	2151	2274	4425	46
Dicembre	80	1159	682	4503	5185	140

Nelle successive figure 9, 10 e 11, si riportano graficamente le tipologie di attività con relativi carichi mensili. La distinzione è stata fatta sulla base del numero di richieste e referti diagnostici.

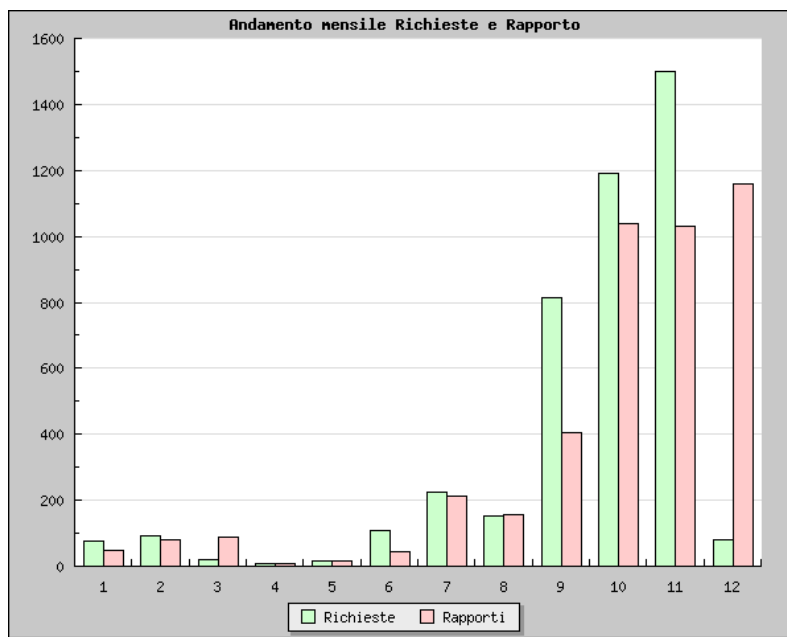


Fig. 9. Carico di lavoro annuale distinto per mese. Andamento mensile richieste di analisi e referti diagnostici emessi.

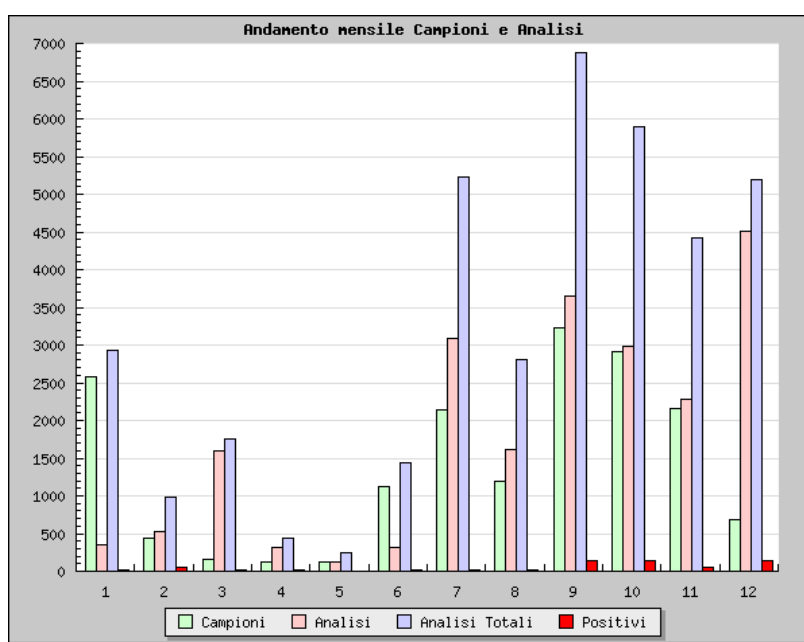


Fig. 10. Carico di lavoro annuale distinto per mese. Andamento mensile campioni pervenuti in laboratorio e numero di analisi effettuate, analisi totali (con verifiche di amplificabilità) e con numero delle positività riscontrate.

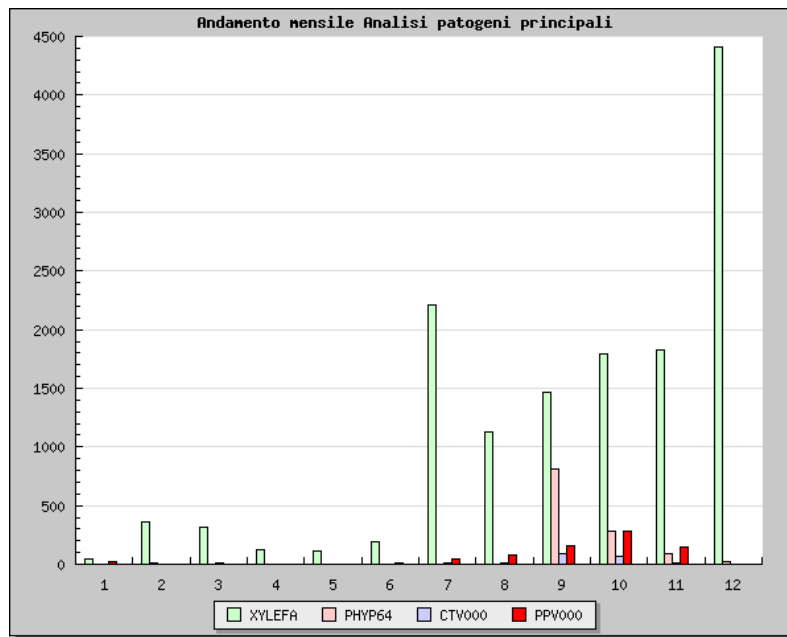


Fig.11. Carico di lavoro annuale distinto per mese. Distribuzione mensile delle analisi effettuate nei confronti dei principali organismi nocivi oggetto di indagine da parte del Servizio Fitosanitario. Dove: XYLEFA = *Xylella fastidiosa*, PHYP64 = *Phytoplasma vitis*, CTV000 = *Citrus Tristeza Virus*, PPV000 = *Plum Pox Virus*.

Interessanti sono anche i dati legati ai tempi di risposta o di refertazione del laboratorio dal momento in cui perviene una richiesta di analisi fino al momento in cui viene emesso il referto analitico (Tabella 8).

Giorni Analisi	
Parametro	Numero di giorni
GG per 50% analisi	14
GG per 60% analisi	18
GG per 70% analisi	23
GG per 80% analisi	30
GG per 90% analisi	42
GG per 100% analisi	134

Tabella 8. Tempi medi di refertazione del laboratorio

Dalla tabella si desume che, mediamente, per il 50% di tutte le analisi effettuate viene emesso il relativo referto diagnostico entro due settimane (14 giorni). Per il 60% delle analisi entro 18 giorni e così via, fino ad arrivare al valore medio di 134 giorni per emettere il referto analitico per il 100% delle analisi.

Si tratta di dati importanti che denotano una notevole velocità media di risposta per il 50% delle analisi ma con tempi molto lunghi per un 10% di analisi da parte del lab. Tali valori si spiegano dal fatto che alcune richieste hanno riguardato monitoraggi che hanno avuto un lungo decorso (anche 2-3 mesi) con relativa refertazione cumulata in fondo all'anno. Facendo la media, allora, i valori tendono ad allungarsi.

Attività effettuate presso il laboratorio di Livorno (Interporto Amerigo Vesupucci- località Guasticce)

Presso la sede del Servizio Fitosanitario Regionale situata all'interno dell'Interporto Toscano "Amerigo Vesupucci" (località Guasticce - Livorno) deputata allo svolgimento di controlli ufficiali su vegetali e prodotti vegetali importati nei posti di controllo frontaliere (porto di Livorno e aeroporto di Pisa), è stato allestito un laboratorio di biologia molecolare a supporto delle attività eseguite dagli ispettori di tale sede. Le analisi vengono effettuate prevalentemente su campioni prelevati nell'ambito delle attività sopracitate, al fine di diagnosticare velocemente alcuni organismi nocivi da quarantena.

Tuttavia negli ultimi anni, grazie ad una borsa di ricerca derivante da un accordo di collaborazione con il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali dell'Università di Pisa, le attività del laboratorio, oltre alle analisi effettuate per i controlli all'importazione, hanno interessato campioni derivanti dal monitoraggio della coltura del pomodoro e dalle indagini sulla *Xylella fastidiosa* (ai sensi della Decisione di esecuzione 2017/2352 e del nuovo Regolamento 2020/1190), effettuate presso i vivai delle provincie di Pisa e Livorno.

Nel 2020, su 500 campioni pervenuti in laboratorio, sono state effettuate complessivamente 2076 analisi (Tabella 9).

Parametro	Generale
Richieste	128
Campioni	500
Patogeni	44
Metodi analitici	64
Specie vegetali	33
Prove di amplificabilità	745
Analisi	1331
Analisi totali	2076

Tabella 9. Dati generali sul laboratorio di Livorno

Relativamente alla tipologia di campione pervenuto in laboratorio e conseguenti analisi effettuate, dai grafici sottostanti (Figure 12 e 13) si evince che la specie vegetale maggiormente rappresentativa è stato il pomodoro (*Solanum lycopersicum*) seguita dall'olivo (considerate le indagini per *Xylella fastidiosa*) e arance per il controllo all'importazione di un organismo nocivo prioritario, la *Phyllosticta citricarpa*, ai sensi del Regolamento 2016/2031 e successivo Regolamento 2019/2072

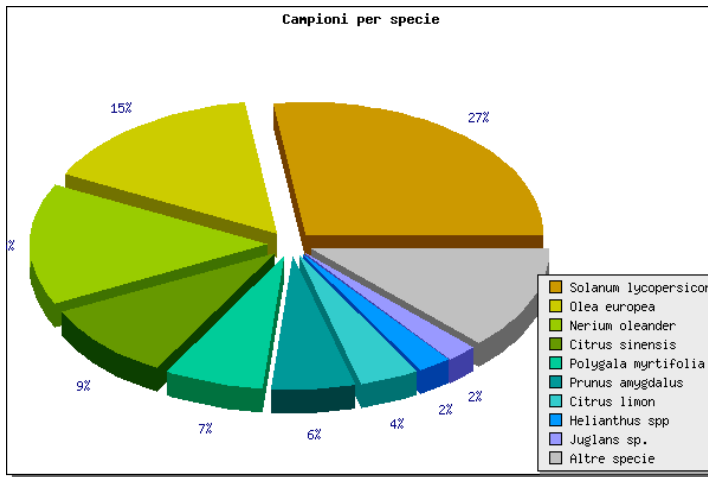


Fig. 12. distinzione dei campioni pervenuti in laboratorio in relazione alla specie vegetale

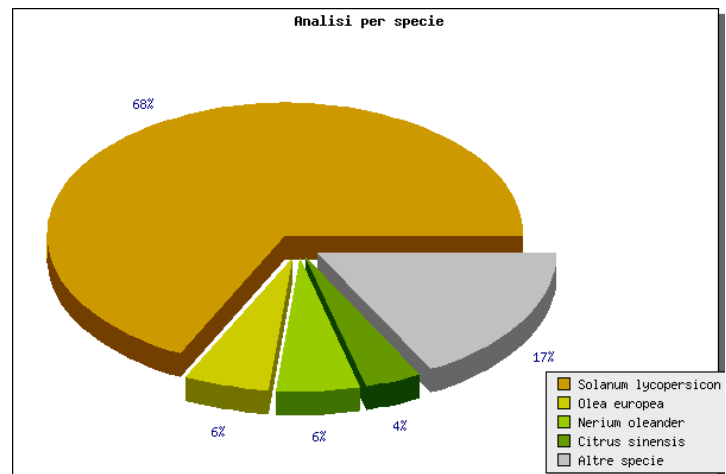


Fig. 13. Analisi svolte per tipologia di specie vegetali oggetto di prelievo

Dei 500 campioni pervenuti e analizzati in laboratorio, il 5% di essi ha dato esito positivo (Tabella 10 e relativa Figura 14):

Risultati		
Parametro	Generale	% Totale
Risultati Positivi	62	4,7
Risultati Negativi	1267	95,2
Risultati Indeterminati	2	0,2

Tabella 10. Risultati ottenuti dalle analisi di laboratorio

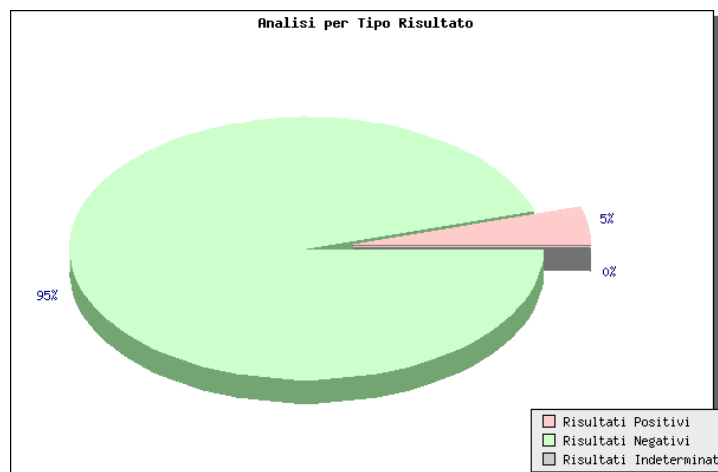


Fig. 14. Risultati delle analisi di laboratorio

Le analisi vengono svolte impiegando la *PCR* real-time con Sonda *Taqman* e *SybrGreen* e la *PCR LAMP (loop mediated isothermal amplification)* (tabella 11) Quest'ultima tecnica consente di ottenere in un tempo più breve rispetto ad una *PCR* real-time, il risultato delle analisi. Questo aspetto è molto importante nell'ambito dei controlli all'importazione per rilasciare quanto prima il nulla osta all'importazione che consente alla merce importata di essere introdotta nel territorio dell'U.E.

Tecnica Analisi	Generale	% Totale
PCR real-time SYBR Green	175	13,1
PCR real-time Probe	582	43,7
Amplificazione isoterica LAMP	285	21,4
PCR end point	289	21,7
Analisi sierologiche (ELISA)	0	0

Tabella 11. Metodi diagnostici impiegati in laboratorio per le analisi

Elenco degli organismi nocivi che sono stati indagati nel laboratorio

Tipo Rack	Patogeno	Analisi	Negativi	Positivi	ND
batteri	<i>Xylella fastidiosa</i>	226	226	0	0
virus	<i>Tomato brown rugose fruit virus</i>	144	144	0	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	128	120	8	0
virus	<i>Tomato leaf curl New Daehli Virus</i>	110	110	0	0
viroidi	<i>Potato spindle tuber viroid</i>	87	77	10	0
virus	<i>Pepino Mosaic virus</i>	78	77	1	0
batteri	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	74	74	0	0
funghi	<i>Guignardia citricarpa</i>	71	37	34	0
virus	<i>Tomato spotted wilt virus</i>	68	66	2	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	61	61	0	0
batteri	<i>Xanthomonas gardneri</i>	61	61	0	0
batteri	<i>Xanthomonas perforans</i>	61	61	0	0
virus	<i>Tomato yellow leaf curl virus</i>	53	53	0	0
batteri	<i>Xanthomonas citri pv citri</i>	14	10	4	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii</i>	13	12	1	0
funghi	<i>Plasmopara halstedii</i>	11	11	0	0
virus	<i>Citrus Tristeza Virus</i>	8	8	0	0
funghi	<i>Ceratocystis platani</i>	7	6	1	0

funghi	<i>Pseudocercospora angolensis</i>	5	5	0	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis subsp. Insidiosus</i>	4	4	0	0
batteri	<i>Pantoea stewartii</i>	4	4	0	0
int_cont	<i>Universali per Insetti</i>	4	3	0	1
funghi	<i>Botrytis cinerea</i>	4	4	0	0
funghi	<i>Elsinoe australis</i>	4	4	0	0
funghi	<i>Elsinoe fawcettii</i>	4	4	0	0
batteri	<i>Xanthomonas axonopodis pv phaseoli var fuscans</i>	3	3	0	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus</i>	2	2	0	0
batteri	<i>Xanthomonas axonopodis pv phaseoli</i>	2	2	0	0
insetti	<i>Xylosandrus compactus</i>	2	2	0	0
insetti	<i>Xylosandrus crassiusculus</i>	2	1	1	0
nematodi	<i>Ditylenchus dipsaci</i>	2	2	0	0
int_cont	<i>Universali</i>	2	1	0	1
funghi	<i>Geosmithia morbida</i>	2	2	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter africanus</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter americanum</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter asiaticus</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter solanacearum</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Xanthomonas arboricola</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Xanthomonas arboricola pv pruni</i>	1	1	0	0
nematodi	<i>Bursaphelenchus xylophilus</i>	1	1	0	0
int_cont	<i>Universali per Insetti e Mammiferi</i>	1	1	0	0
virus	<i>Plum pox virus</i>	1	1	0	0
virus	<i>Tomato mosaic virus</i>	1	1	0	0

Tabella 12. Elenco degli organismi nocivi oggetto d'indagine presso il laboratorio di Livorno

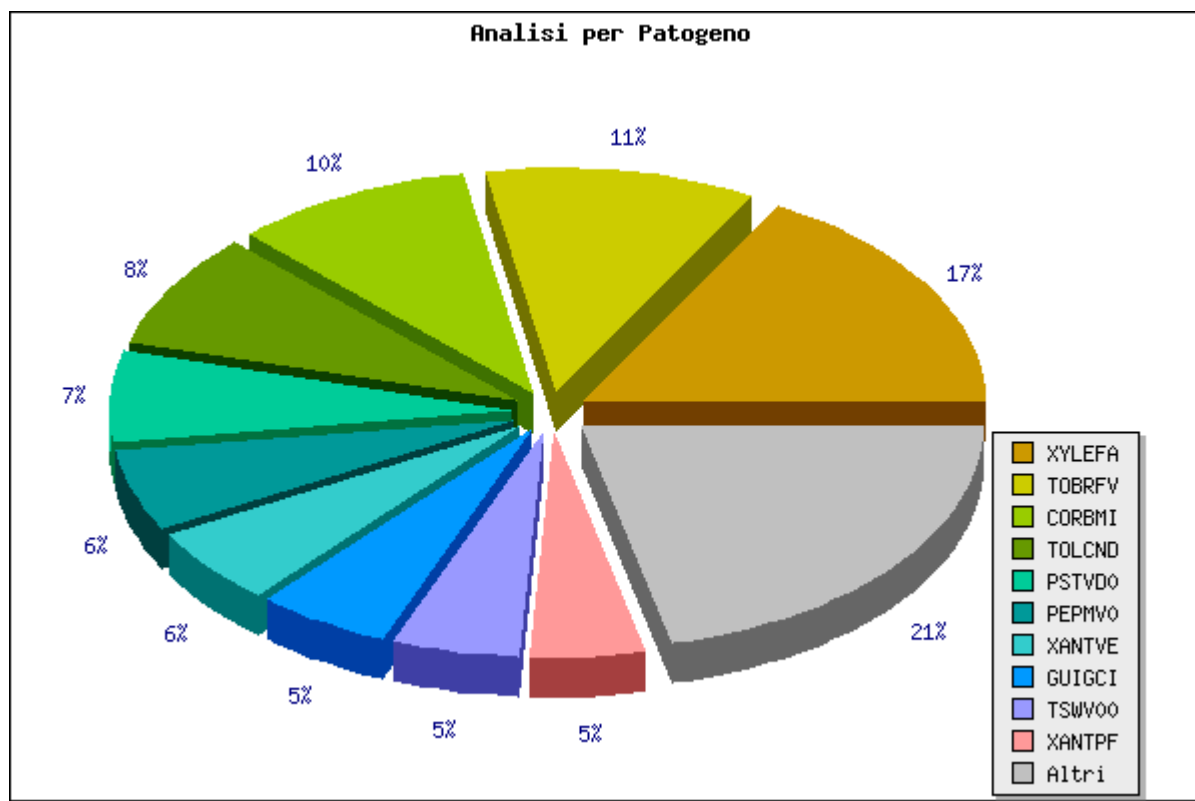


Fig. 15 Distinzione delle attività analitiche per tipologia di organismo nocivo oggetto di indagine presso il laboratorio di Livorno.

Elenco delle specie vegetali analizzate presso il laboratorio di Livorno

Specie vegetali	Campioni	Analisi	Risultati negativi	Risultati positivi	Risultati Indeterminati (ND)
<i>Solanum lycopersicon</i>	136	901	886	15	0
<i>Olea europea</i>	77	77	77	0	0
<i>Nerium oleander</i>	74	74	74	0	0
<i>Citrus sinensis</i>	47	51	21	30	0
<i>Polygala myrtifolia</i>	34	34	34	0	0
<i>Prunus amygdalus</i>	28	28	28	0	0
<i>Citrus limon</i>	20	38	31	7	0
<i>Helianthus spp</i>	11	15	15	0	0
<i>Juglans sp.</i>	10	12	9	1	2
<i>Capsicum annuum</i>	9	37	30	7	0
<i>Platanus spp</i>	7	7	6	1	0
<i>Citrus spp</i>	6	6	5	1	0
<i>Medicago sativa</i>	6	8	8	0	0
<i>Citrus paradisi</i>	4	5	5	0	0
<i>Zea mays</i>	4	4	4	0	0
<i>Citrus maxima</i>	3	3	3	0	0
<i>Laurus nobilis</i>	3	3	3	0	0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	3	3	3	0	0
<i>Citrus</i>	2	5	5	0	0
<i>Lavandula dentata</i>	2	2	2	0	0
<i>Phaseolus vulgaris</i>	2	4	4	0	0
<i>Acacia dealbata</i>	1	1	1	0	0
<i>Cistus spp</i>	1	1	1	0	0
<i>Citrus aurantium</i>	1	1	1	0	0
<i>Cucurbita pepo</i>	1	1	1	0	0
<i>Grevillea sp.</i>	1	1	1	0	0
<i>Lactuca sp.</i>	1	1	1	0	0
<i>Lavandula sp</i>	1	1	1	0	0
<i>Mirto</i>	1	1	1	0	0
<i>Phaseolus spp</i>	1	1	1	0	0
<i>Pinus spp</i>	1	1	1	0	0
<i>Prunus domestica</i>	1	3	3	0	0
<i>Quercus spp</i>	1	1	1	0	0

Tabella 13. Elenco delle specie vegetali pervenute presso il laboratorio di Livorno

Dalla tabella sottostante si evidenzia come, nel corso dell'anno, l'attività si concentra prevalentemente nel periodo che va da giugno ad ottobre in quanto, nell'ambito dei controlli fitosanitari all'importazione, vengono importate notevoli quantità di frutti di limone e arance, essendo quasi assente la produzione nazionale. Inoltre durante il periodo estivo viene eseguito il monitoraggio della coltura del pomodoro.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	9	7	22	12	34	2
Febbraio	7	7	11	85	96	4

Marzo	4	6	16	40	56	8
Aprile	0	0	0	0	1	0
Maggio	3	3	3	8	11	0
Giugno	19	8	110	105	215	3
Luglio	27	32	92	693	785	11
Agosto	20	25	36	135	171	4
Settembre	24	21	120	138	258	0
Ottobre	13	17	84	104	188	30
Novembre	1	1	2	8	10	0
Dicembre	1	1	3	3	6	0

Tabella 14. Distribuzione del carico di lavoro del laboratorio nel corso dell'anno 2020

Dal punto di vista grafico



Fig. 16. Carico di lavoro annuale del laboratorio di Livorno e relativa distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio - periodo 2013-2020

Per meglio evidenziare l'andamento crescente delle attività del laboratorio nel corso degli ultimi anni, sono stati messi a confronto i seguenti dati significativi:

Anno	Richieste Ricevute	Campioni ricevuti	Analisi Effettuate
2013	564	2036	2036
2014	559	4216	4224
2015	1451	10193	10520
2016	1238	6591	6611
2017	2214	13559	29236
2018	2113	15974	25372
2019	4944	21708	45009
2020	4283	16854	38730

Tabella 15. Confronto di alcuni dati significativi nel periodo 2013-2020

Graficamente, l'andamento dei campioni ricevuti e delle analisi effettuate dà un'idea di come è cresciuta l'attività del laboratorio negli ultimi anni:

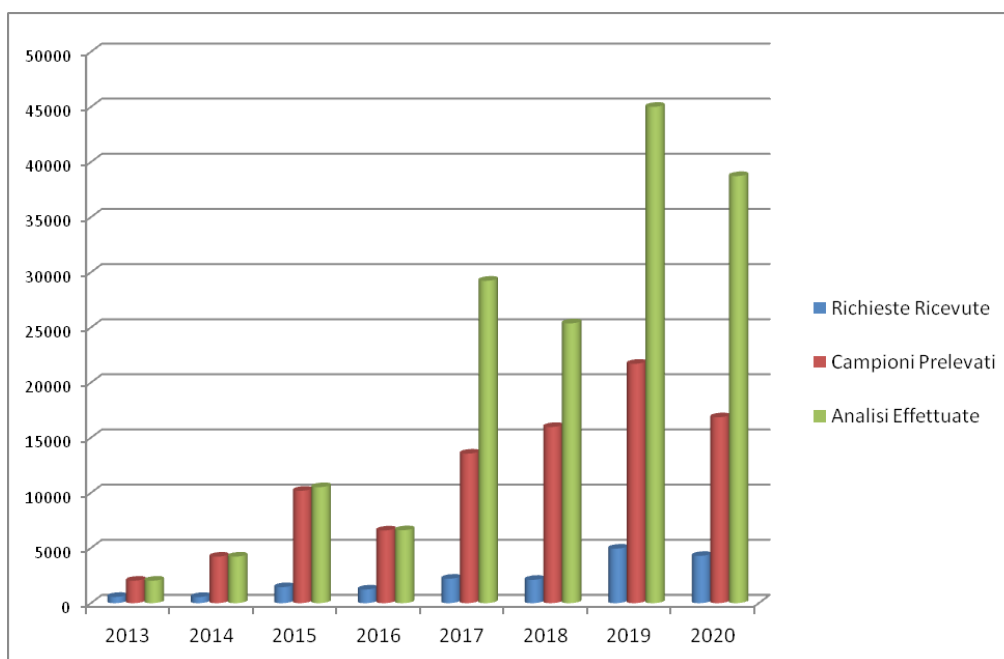


Fig. 17. Rappresentazione grafica della crescente attività del laboratorio nel periodo 2013-2020

Collaborazioni e Convenzioni con altri Enti e Istituzioni Scientifiche

Nel corso del 2020 sono continuate le collaborazioni di carattere scientifico tra il Servizio Fitosanitario della Toscana e istituti scientifici toscani, nazionali ed internazionali incentrati su attività di sviluppo ed affinamento delle modalità di indagine sugli organismi nocivi per le piante di maggiore importanza per la regione Toscana.

Le collaborazioni hanno interessato:

1. **Il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali dell'Università di Pisa** per quanto riguarda:
 - La diagnosi dei fitoplasmi della vite, dei virus *Tomato brown fruit rugose virus* e *Plum Pox Virus* nonché dei virus delle colture florovivaistiche, della vite e dell'olivo;
 - diagnosi dei virus della vite inclusi nei protocolli di certificazione vivaistica della vite ai sensi del DM 07/07/2006.
 - diagnosi biomolecolare di *Popillia japonica*, *Thaumatotibia leucotreta*, *Aromia bungii* (da rosura), *Aleurocanthus sp*, *Anoplophora glabripennis* (da rosura) etc..
 - diagnosi biomolecolare di *Macrophomina phaseolina*.
2. **Il Dipartimento di Biotecnologie agrarie dell'Università di Firenze** per attività analitiche legate al riconoscimento morfologico e molecolare del batterio *Xylella fastidiosa* nonché alla validazione di metodi estrattivi innovativi, performanti e rapidi partendo da diverse matrici vegetali ai fini del suo rilevamento.

Altre attività hanno riguardato la diagnosi di batteri: *Pseudomonas syringae pv actinidiae* e *P. syringae pv viridiflava* attraverso prove sperimentali su aspetti epidemiologici e diagnostici nonché di funghi agenti di marciumi/necrosi al colletto delle piante ornamentali da vivaio (*Phytophthora sp*). Ulteriori attività analitiche hanno riguardato organismi nocivi rilevanti per il territorio dell'Unione Europea quali: *Geosmithia morbida* e *Pythiophthorus juglandis.*, *Thaumatotibia leucotreta*, *Bactrocera dorsalis*, *Anastrepha fraterculus*, *Anastrepha ludens*.
- 3- **CREA-DC di Roma** per attività analitiche di biologia molecolare volte alla diagnosi di virus e viroidi dannosi alle piante (es. *PLMVd*, *PSTVd*, *PPV*, ecc.)
- 4- **Laboratorio del Servizio Fitosanitario del Friuli Venezia Giulia** per attività di validazione scientifica di metodi diagnostici, sulla certificazione di sistema e di laboratorio ISO 17025.
- 5- **Laboratorio del Servizio Fitosanitario della Lombardia** per attività volte alla diagnosi e identificazione genetica di alcuni importanti insetti xilofagi (*Anoplophora sp*) di nuova introduzione in Italia.
- 6- **Università di Stellenbosh (South Africa)** per la diagnosi biomolecolare di *Thaumatotibia leucotreta* dei vari stati evolutivi del lepidottero di quarantena suddetto.

- 7- **CNR di Sesto Fiorentino (FI)** per attività di diagnosi in campo, oltre che di confronti interlaboratori, attraverso reazioni isotermiche (LAMP) per la diagnosi di vari organismi nocivi alle piante.
- 8- **CNR di Napoli (NA)** per la diagnosi di *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* (ToBRFV), *Tomato Mosaic Virus* (ToMV) e *Tomato Mild Mottle Virus* (ToMMV) nonché per attività volte alla diagnosi e allo *screening* da campo per la diagnosi di *Aromia bungii* da rosura in Real Time PCR (probe e SybrGreen) oltre che LAMP.
- 9- **CREA-DC di Firenze** per attività volte alla diagnosi e identificazione genetica di alcuni importanti insetti xilofagi (*Anoplophora glabripennis* e *Xylosandrus germanus*) o di fitofagi di temuta introduzione in Italia (*Thaumatotibia leucotreta*) e insetti vettori della *Xylella fastidiosa*.
- 10- **Università di Portici (NA)** per attività volte alla diagnosi e *screening* da campo per la diagnosi di *Aromia bungii* da rosura in Real Time PCR (probe e SybrGreen) oltre che LAMP. Quest'anno si sono attivate collaborazioni anche in relazione alla diagnosi di *Pityophthorus juglandis*.
- 11- **Laboratorio europeo di riferimento entomologico** (Plant Health Laboratory ANSES) per attività di collaborazione scientifica su *Anoplophora glabripennis*, *Thaumatotibia leucotreta*, *Anoplophora chinensis* e *Aromia bungii*.
- 12- **Laboratorio dell'istituto "Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants", Quedlinburg, Germany** per attività di collaborazione per la diagnosi da "tracce biologiche" di *Anoplophora glabripennis* e *Anoplophora chinensis*.

Confronti interlaboratori e Ring Test con enti/istituzioni scientifiche

Il laboratorio del SFR nel corso del 2020 ha effettuato diversi confronti interlaboratori (come anticipato in alcuni casi precedentemente) con istituzioni scientifiche per tematiche legate alla diagnostica fitopatologica.

1. Ring test internazionale su diversi metodi estrattivi da matrici difficili e da insetti per la diagnosi di *Xylella fastidiosa* a cura del laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Bari, Italy.
2. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi Real Time PCR con probe and Sybrgreen di *Anoplophora glabripennis* da rosura con il laboratorio dell'istituto "Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants", Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Germany e il laboratorio europeo di riferimento entomologico, Plant Health Laboratory ANSES, Avenue du Campus 755, Agropolis, 34988 Montpellier sur Lez, France.

Metodiche e protocolli diagnostici del laboratorio del SFR

Nel corso del 2020 è stato svolto un notevole lavoro di validazione e ottimizzazione di metodiche e protocolli operativi di biologia molecolare per la diagnosi dei principali patogeni dei vegetali da parte del personale tecnico del laboratorio.

In totale sono stati sviluppati/ottimizzati **1.208 metodi/protocolli diagnostici per 439 Organismi Nocivi** di quarantena e/o di interesse fitosanitario, potenzialmente oggetto di verifiche analitiche.

Costi e investimenti per il laboratorio

Nel corso del 2020 sono state effettuate spese legate ai beni di consumo o di esercizio (reagenti, plasticheria, materiale di consumo vario, ecc.) per 103.368 euro; i costi per i servizi sono stati pari a 23.321, mentre le spese per investimenti sono state di 31.861 euro.

Complessivamente nel corso del 2020 sono stati spesi per il laboratorio del SFR Toscana **158.551 euro**, per il funzionamento in generale oltre che per investimenti per il futuro.

Pubblicazioni

Nel corso del 2020, gli ispettori addetti al laboratorio hanno collaborato con diversi centri di ricerca in attività di sperimentazione che hanno portato alla pubblicazione di note divulgative, articoli scientifici di interesse fitosanitario. Nel dettaglio:

1. Domenico Rizzo, Andrea Taddei, Daniele Da Lio, Tommaso Bruscoli, Giovanni Cappellini, Linda Bartolini, Chiara Salemi, Nicola Luchi, Fabrizio Pennacchio, and Elisabetta Rossi. Molecular Identification of *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae) From Frass by Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Journal of Economic Entomology*, XX(XX), 2020, 1–9 doi: 10.1093/jee/toaa206
2. Domenico Rizzo, Andrea Taddei, Daniele Da Lio, Francesco Nugnes, Eleonora Barra, Luciana Stefani, Linda Bartolini, Raffaele V. Griffo, Paola Spigno, Lucia Cozzolino, Elisabetta Rossi and Antonio P. Garonna. Identification of the Red-Necked Longhorn Beetle *Aromia bungii* (Faldermann, 1835) (Coleoptera: Cerambycidae) with Real-Time PCR on Frass. *Sustainability* 2020, 12, 6041; doi:10.3390/su12156041
3. Linda Abenaim - Elisabetta Rossi - Domenico Rizzo - Eric Guilbert. First report of *Stephanitis lauri* Rietschel, 2014 (Heteroptera, Tingidae) in Italy. *BOLL. SOC. ENTOMOL. ITAL.*, 152 (3): 111-114, ISSN 0373-3491 31 DICEMBRE 2020
4. Domenico Rizzo, Daniele Da Lio, Linda Bartolini, Giovanni Cappellini, Tommaso Bruscoli, Matteo Bracalini, Alessandra Benigno, Chiara Salemi, Dalia Del Nista, Antonio Aronadio, Tiziana Panzavolta, Salvatore Moricca. A duplex real-time PCR with probe for simultaneous detection of *Geosmithia morbida* and its vector *Pityophthorus juglandis*. *PLoS ONE* 15(10): e0241109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241109>

Conclusioni

In considerazione di quanto esposto, è evidente che nell'anno appena trascorso il carico di lavoro per il laboratorio è stato notevole, anche alla luce della emergenza sanitaria COVID-19, che ha fatto slittare la maggior parte dei controlli e monitoraggi sul territorio nella seconda parte dell'anno. Rispetto al 2019, le attività del laboratorio sono risultate a consuntivo inferiori nella maggior parte degli ambiti di competenza.

I risultati emersi, anche in relazione al carico di lavoro di cui sopra, sono stati possibili grazie alla collaborazione e alla sinergia di tutto il personale del SFR, all'acquisizione di servizi all'esterno per l'esecuzione di parte delle lavorazioni propedeutiche alle analisi (preparazione delle aliquote dai campioni vegetali), allo sviluppo del software gestionale delle attività del laboratorio, all'ottimizzazione dei processi estrattivi, sfruttando al massimo le potenzialità delle attrezzature del laboratorio. L'anno appena trascorso ha comunque fatto emergere alcune criticità per il laboratorio che sarà opportuno affrontare nel corso dei prossimi anni, investendo risorse in particolare per il miglioramento dei processi di analisi, delle attrezzature, delle infrastrutture e del personale per poter svolgere le attività nel rispetto degli standard sempre più elevati richiesti dal Reg. 625/2017 sui controlli ufficiali.

Allegati

Tabella 1- Elenco completo delle specie oggetto d'indagine nel 2020

Specie	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Abelia sp.	4	4	4	0	0
Abies spp	1	1	0	0	1
Acacia dealbata	27	27	25	2	0
Acer campestre	2	2	2	0	0
Acer sp	24	28	28	0	0
Actinidiae spp	15	16	16	0	0
Aesculus hippocastanum	8	8	8	0	0
Aesculus sp.	1	1	1	0	0
Albizia julibrissin	13	13	13	0	0
Albizia sp.	3	3	3	0	0
Allium sp.	4	4	1	0	3
Antirrhinum majus	1	1	1	0	0
Arbutus unedo	26	26	26	0	0
Artemisia arborescens	1	1	1	0	0
Asparagus acutifolius	102	102	100	2	0
Asparagus densiflorus	15	15	15	0	0
Asparagus spp	2	2	2	0	0
Azalea spp	1	1	1	0	0
Betula sp.	2	2	2	0	0
Bougainvillea glabra	2	2	2	0	0
Brassica sp.	1	3	3	0	0
Calicotome sp.	25	25	20	5	0
Calicotome spinosa	2	2	2	0	0
Calicotome villosa	86	86	73	13	0
Camellia spp	9	9	9	0	0
Cannabis sp	1	1	1	0	0
Capsicum annuum (Peperone)	43	136	113	23	0
Capsicum spp	17	19	18	1	0
Carex sp.	6	6	6	0	0
Celtis	4	4	4	0	0
Celtis australis	1	1	1	0	0
Cercis siliquastrum	74	74	73	1	0
Cercis sp.	4	4	4	0	0
Chamaerops humilis	1	1	1	0	0
Cistus creticus	149	149	148	1	0
Cistus monspeliensis	168	168	158	10	0
Cistus salviifolius	43	43	42	1	0
Cistus spp	9	9	9	0	0
Citrus	49	82	81	0	1
Citrus aurantium	9	18	18	0	0
Citrus australasica	8	20	20	0	0
Citrus bergamia	2	5	5	0	0
Citrus limetta	2	5	5	0	0
Citrus limon	105	190	181	9	0
Citrus macrophylla	14	35	35	0	0
Citrus maxima	12	21	21	0	0
Citrus medica	10	25	25	0	0
Citrus meyeri	2	5	5	0	0
Citrus mitis	4	10	10	0	0
Specie	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Citrus myrtifolia	4	10	10	0	0

Citrus paradisi	16	27	26	1	0
Citrus reticulata	32	53	50	3	0
Citrus sinensis	178	218	166	51	1
Citrus spp	176	347	325	21	1
Citrus x nobilis	1	1	1	0	0
Citrus spp	2	2	2	0	0
Clematis vitalba	5	5	5	0	0
Coffea sp.	6	6	6	0	0
Coronilla valentina	14	14	14	0	0
Cotoneaster spp	3	3	3	0	0
Crataegus spp	3	3	3	0	0
Cucurbita pepo (Zucchini)	1	1	1	0	0
Cupressus spp	1	1	0	0	1
Cydonia spp	3	3	3	0	0
Cytisus scoparius	8	8	8	0	0
Cytisus villosus	15	15	15	0	0
Dittrichia viscosa	7	7	7	0	0
Dodonaea viscosa	169	169	169	0	0
Edera	6	6	6	0	0
Elaeagnus angustifolia	4	4	3	1	0
Elaeagnus pungens	2	2	2	0	0
Erica multiflora	17	17	17	0	0
Erica scoparia	5	5	5	0	0
Erigeron canadensis	3	3	3	0	0
Eucaliptus spp	2	2	2	0	0
Eugenia sp.	4	4	4	0	0
Euphorbia sp.	5	10	5	0	5
Ficus carica	161	163	162	1	0
Ficus sp.	5	5	5	0	0
Fortunella spp	12	27	26	1	0
Fragaria sp.	2	8	8	0	0
Fraxinus excelsior	1	1	1	0	0
Fraxinus ornus	11	11	11	0	0
Fraxinus spp	11	11	11	0	0
Fumana thymifolia	2	2	2	0	0
Ginkgo sp.	8	8	8	0	0
Globularia alypum	2	2	2	0	0
Grevillea juniperina	6	6	6	0	0
Grevillea sp.	7	7	7	0	0
Hedera sp.	13	12	12	0	0
Hedera sp.	0	1	1	0	0
Helianthus spp	12	16	16	0	0
Helichrysum italicum	85	85	80	5	0
Helichrysum sp.	9	9	9	0	0
Hemerocallis	9	9	9	0	0
Hibiscus spp	16	16	16	0	0
Hydrangea spp	1	1	1	0	0
Insetti_vari Stadi Evolutivi	6	14	12	0	2
Inula crithmoides subsp. longifolia	1	1	1	0	0
Inula sp.	5	5	5	0	0
Jacaranda sp.	1	1	1	0	0
Specie	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Juglans nigra	6	8	2	5	1
Juglans regia	3	3	3	0	0
Juglans sp.	17	19	13	1	5

Lactuca sp.	1	1	1	0	0
Lagerstroemia indica	3	3	3	0	0
Lagerstroemia sp.	16	16	16	0	0
Laurus nobilis	634	634	627	7	0
Lavandula angustifolia	35	35	34	0	1
Lavandula dentata	13	13	13	0	0
Lavandula sp	16	16	15	0	1
Lavandula stoechas	3	3	3	0	0
Ligustrum lucidum	2	2	2	0	0
Ligustrum sp.	10	10	10	0	0
Limbarda crithmoides	1	1	1	0	0
Limonium sp.	1	1	1	0	0
Lippia sp.	2	2	2	0	0
Liquidambar sp.	14	14	14	0	0
Liriodendron sp.	15	15	15	0	0
Lonicera sp.	89	89	87	2	0
Magnolia sp.	20	21	20	1	0
Malus domestica	3	10	10	0	0
Malus spp	4	4	3	1	0
Malva sp.	5	5	5	0	0
Medicago arborea	4	4	4	0	0
Medicago sativa (Erba medica)	6	8	8	0	0
Metrosideros excelsa	3	3	3	0	0
Metrosideros sp.	9	9	9	0	0
Mirto	266	266	266	0	0
Morus sp.	7	7	7	0	0
Myrtus sp.	8	8	8	0	0
Nandina domestica	16	16	16	0	0
Nandina sp.	4	4	4	0	0
Nerium oleander (Oleandro)	1033	1033	1033	0	0
Olea europea (Olivo)	4561	5674	5671	0	3
Origanum majorana	4	4	4	0	0
Osyris alba	1	1	1	0	0
Parthenocissus sp.	8	8	8	0	0
Parthenocissus tricuspidata (vite americana)	8	8	8	0	0
Pelargonium fragrans	1	1	1	0	0
Pelargonium sp.	5	14	2	0	12
Phagnalon saxatile	17	17	16	1	0
Phaseolus spp	1	1	1	0	0
Phaseolus vulgaris	4	8	8	0	0
Phillyrea angustifolia	93	93	92	0	1
Phillyrea latifolia	22	22	21	1	0
Phillyrea sp.	10	10	10	0	0
Pinus halepensis	1	1	1	0	0
Pinus pinaster	3	3	3	0	0
Pinus radiata	2	2	2	0	0
Pinus spp	3	3	3	0	0
Pistacia lentiscus	82	82	82	0	0
Pistacia sp.	1	1	1	0	0
Specie	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Pittosporum sp.	1	1	1	0	0
Platanus spp	56	60	48	12	0
Polygala myrtifolia	122	122	117	5	0
Poncirus spp	4	16	16	0	0
Populus spp	3	4	4	0	0

Prunus amygdalus (Mandorlo)	345	345	335	10	0
Prunus armeniaca (Albicocco)	193	230	225	0	5
Prunus avium (Ciliegio)	152	175	175	0	0
Prunus cerasifera	19	19	19	0	0
Prunus cerasus	3	3	3	0	0
Prunus domestica	254	281	273	8	0
Prunus laurocerasus	73	75	75	0	0
Prunus lusitanica	9	12	12	0	0
Prunus nucipersica	41	41	38	3	0
Prunus persica	460	506	495	11	0
Prunus pissardi	106	108	108	0	0
Prunus serrulata	21	21	21	0	0
Prunus spinosa	96	96	96	0	0
Prunus spp	145	0	0	0	0
Prunus spp	0	202	200	2	0
Punica granatum	1	1	1	0	0
Pyracantha spp	6	6	6	0	0
Pyrus communis	31	38	32	5	1
Pyrus spp	10	10	10	0	0
Quercus ilex	229	230	229	1	0
Quercus pubescens	5	5	5	0	0
Quercus robur	2	2	2	0	0
Quercus rubra	6	6	6	0	0
Quercus spp	16	17	17	0	0
Quercus suber	24	24	24	0	0
Rhamnus alaternus	620	620	548	72	0
Rhamnus sp.	24	24	24	0	0
Ribes idaeus	1	1	1	0	0
Robinia sp.	5	5	5	0	0
Rosa canina	7	7	7	0	0
Rosa spp	25	26	24	2	0
Rosmarinus officinalis	512	512	499	12	1
Rosmarinus officinalis var. prostrata	37	37	37	0	0
Rosmarinus sp.	61	61	61	0	0
Rovo	12	12	12	0	0
Rubus sp.	2	2	2	0	0
Salix sp.	8	8	8	0	0
Salsola soda	2	2	2	0	0
Salvia sp.	3	3	2	0	1
Senecio sp.	1	1	1	0	0
Solanum lycopersicon (pomodoro)	187	1197	1163	34	0
Solanum melongena	1	1	1	0	0
Solanum tuberosum	5	24	22	0	2
Sorbus aucuparia	1	1	1	0	0
Sorbus spp	1	1	1	0	0
Spartium junceum	633	633	542	91	0
Terreno	2	2	0	0	2
Specie	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Teucrium sp.	7	7	7	0	0
Ulmus sp.	1	1	1	0	0
Varie	7	7	5	0	2
Viburnum tinus	21	21	20	0	1
Vinca sp.	2	2	2	0	0
Vitis rupestris	1	1	1	0	0
Vitis spp	2888	4384	4205	177	2

Vitis vinifera	27	43	41	2	0
Westringia fruticosa	15	15	15	0	0
Westringia sp.	5	5	5	0	0
Xanthium sp.	1	1	1	0	0
Zea mays (Mais)	7	7	7	0	0

Tabella 2- Elenco completo degli ON oggetto d'indagine nel 2020

Tipo Rack	Patogeno	Analisi	Negativi	Positivi	ND
batteri	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	2	2	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter africanus</i>	139	139	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter americanum</i>	139	139	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter asiaticus</i>	145	145	0	0
batteri	<i>Candidatus liberibacter solanacearum</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Insidiosus</i>	4	4	0	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	174	165	9	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	7	7	0	0
batteri	<i>Erwinia amylovora</i>	51	45	5	1
batteri	<i>Pantoea stewartii</i>	7	7	0	0
batteri	<i>Pseudomonas syringae</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>actinidiae</i>	14	14	0	0
batteri	<i>Ralstonia solanacearum</i>	10	10	0	0
batteri	<i>Spiroplasma citri</i>	6	6	0	0
batteri	<i>Xanthomonas arboricola</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>fragariae</i>	2	2	0	0
batteri	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv <i>pruni</i>	38	38	0	0
batteri	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>phaseoli</i>	4	4	0	0
batteri	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv <i>phaseoli</i> var <i>fuscans</i>	5	5	0	0
batteri	<i>Xanthomonas citri</i> pv <i>citri</i>	23	15	8	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	71	71	0	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii</i>	75	61	14	0
batteri	<i>Xanthomonas gardnerii</i>	71	71	0	0
batteri	<i>Xanthomonas perforans</i>	71	71	0	0
batteri	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	84	84	0	0
batteri	<i>Xanthomonas vesicatoria/gardnerii</i>	1	1	0	0
batteri	<i>Xylella fastidiosa</i>	13971	13719	243	9
batteri	<i>Xylophilus ampelinus</i>	145	145	0	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma pruni</i>	5	5	0	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma mali</i>	2	2	0	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma prunorum</i>	6	4	2	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma pyri</i>	7	7	0	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma solani</i>	167	159	8	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma vitis</i>	1220	1047	171	2
insetti	<i>Aleurocanthus spiniferus</i>	16	8	7	1
insetti	<i>Aleurocanthus woglumi</i>	3	3	0	0
insetti	<i>Anoplophora chinensis</i>	22	16	4	2
insetti	<i>Anoplophora glabripennis</i>	10	10	0	0
insetti	<i>Aromia bungii</i>	8	8	0	0
insetti	<i>Epitrix</i> spp	5	3	0	2
insetti	<i>Helicoverpa armigera</i>	3	0	0	3
insetti	<i>Liriomyza huidobrensis</i>	3	0	0	3
insetti	<i>Liriomyza trifolii</i>	3	0	0	3
insetti	<i>Rhagoletis fausta</i>	4	4	0	0
insetti	<i>Scaphoideus titanus</i>	1	0	0	1
insetti	<i>Spodoptera littoralis</i>	3	0	0	3
insetti	<i>Thaumatotibia leucotreta</i>	3	2	0	1
insetti	<i>Trioza erytrae</i>	4	4	0	0
insetti	<i>Xylosandrus compactus</i>	3	3	0	0
insetti	<i>Xylosandrus crassiusculus</i>	5	2	3	0
Tipo Rack	Patogeno	Analisi	Negativi	Positivi	ND

nematodi	Bursaphelenchus xylophilus	7	5	0	2
nematodi	Ditylenchus dipsaci	3	3	0	0
nematodi	Globodera pallida	4	4	0	0
nematodi	Globodera rostochiensis	4	4	0	0
int_cont	Universali	2	1	0	1
int_cont	Universali per Insetti	11	3	3	5
int_cont	Universali per Insetti e Mammiferi	1	1	0	0
int_cont	Universali per Nematodi	14	0	0	14
virus	American plum line pattern virus (APLPV)	5	5	0	0
virus	Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	5	5	0	0
virus	Apple mosaic virus (ApMV)	7	7	0	0
virus	Apple stem grooving virus (ASGV)	2	2	0	0
virus	Apple stem pitting virus (ASPV)	2	2	0	0
virus	Apricot latent virus(ApLV)	5	5	0	0
virus	Arabis Mosaic virus (ArMV)	348	348	0	0
virus	Cherry leaf roll virus (CLRV)	116	116	0	0
virus	Citrus Tristeza Virus (CTV)	206	171	34	1
virus	Cucumber Mosaic Virus (CMV)	115	115	0	0
virus	Grapevine fan leaf virus (GFLV)	236	236	0	0
virus	Grapevine fleck virus (GFkV)	235	235	0	0
virus	Grapevine leaf roll associated virus - 1 (GLRaV-1)	238	238	0	0
virus	Grapevine leaf roll associated virus - 3 (GLRaV-3)	237	237	0	0
virus	Grapevine Syrah virus - 1 (GSyV-1)	4	4	0	0
virus	Grapveine virus A (GVA)	235	235	0	0
virus	Olive latent Virus - 1 (OLV-1)	113	113	0	0
virus	Olive latent Virus - 2 (OLV-2)	111	111	0	0
virus	Olive leaf yellowing-associated virus (OLYaV)	113	113	0	0
virus	Olive ring spot virus (OLRSV)	113	113	0	0
virus	Pepino Mosaic virus (PepMV)	119	113	6	0
virus	Plum pox virus (PPV)	733	711	22	0
virus	Prune dwarf virus (PDV)	5	5	0	0
virus	Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)	7	7	0	0
virus	Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)	116	116	0	0
virus	Tobacco necrosis virus (TNV)	111	111	0	0
virus	Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	215	211	4	0
virus	Tomato brown rugose fruit virus (TOBRFV)	0	0	0	0
virus	Tomato leaf curl New Daehli Virus (ToLNDV)	130	130	0	0
virus	Tomato mosaic virus (ToMV)	1	1	0	0
virus	Tomato spotted wilt virus (TSWV)	109	106	3	0
virus	Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)	67	67	0	0
funghi	Biscognauxia mediterranea	1	0	1	0
funghi	Botrytis cinerea	4	4	0	0
funghi	Ceratocystis platani	37	29	8	0
funghi	Chalara fraxinea	1	1	0	0
funghi	Colletotrichum gloesporioides	1	1	0	0
funghi	Elsinoe australis	5	5	0	0
funghi	Elsinoe fawcettii	5	5	0	0
funghi	Eutypa lata	3	3	0	0
funghi	Geosmithia morbida	3	3	0	0
funghi	Gibberella circinata	3	3	0	0
funghi	Guignardia citricarpa	89	48	41	0
funghi	Heterobasidion spp	1	1	0	0
Tipo Rack	Patogeno	Analisi	Negativi	Positivi	ND
funghi	Phytophthora cactorum	1	1	0	0
funghi	Phytophthora fragariae	2	2	0	0

funghi	Phytophthora ramorum	17	17	0	0
funghi	Plasmopara halstedii	11	11	0	0
funghi	Plenodomus tracheiphilus	1	1	0	0
funghi	Pseudocercospora angolensis	5	5	0	0
funghi	Synchytrium endobioticum	5	5	0	0
funghi	Verticillium spp	112	112	0	0
funghi	Verticillium dahliae	1	1	0	0
ogm	35S	1	1	0	0
viroidi	Apple dimple fruit viroid (ADFVd)	2	2	0	0
viroidi	Citrus exortis viroid (CEVd)	2	0	0	2
viroidi	Peach latent mosaic viroid (PLMVd)	5	5	0	0
viroidi	Potato spindle tuber viroid (PSTVd)	161	139	22	0