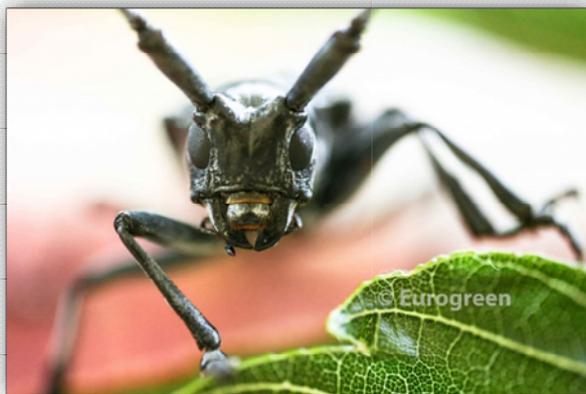


Laboratorio Fitopatologico del SFR Toscana

Report 2019

a cura di

Domenico Rizzo, Giovanni Cappellini e Mauro Evangelisti



Servizio Fitosanitario Regionale

Introduzione	3
Attività complessive svolte dal laboratorio SFR nel corso del 2019	3
Monitoraggi di Patogeni da Quarantena e/o legati al Piano Annuale di Attività del SFR.....	14
Monitoraggio art. 9.8 della Decisione UE 2015/789 – Xylella fastidiosa	24
Certificazione Vivaistica della Vite ai sensi del DM 07/07/2006.....	28
Monitoraggio Fitoplasmi della Vite	31
Campionamenti effettuati da personale SFR in attività non previste dai Monitoraggi Istituzionali ma comunque di Interesse Fitosanitario.....	33
Campionamenti effettuati da tecnici/vivaisti/privati su segnalazione e di Interesse Fitosanitario per il SFR o per attività legate all’Autocontrollo Fitosanitario	36
Monitoraggio di Xylella fastidiosa	40
Attività effettuate presso il Laboratorio di Guasticce (LI) del punto di entrata di Livorno.....	42
Software gestionale del Lab – FITOSIRT	47
Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio - periodo 2013-2019	52
Collaborazioni e Convenzioni con altri Enti e Istituzioni Scientifiche.....	55
Confronti Interlaboratori e Ring Test con Enti/Istituzioni Scientifiche.....	59
Metodiche e Protocolli Diagnostici del Laboratorio del SFR.....	60
Costi e Investimenti per il Laboratorio	60
Pubblicazioni.....	61
Conclusioni	61
Tabella 1 - Elenco completo delle specie oggetto d’indagine nel 2019 dal Laboratorio SFR.....	62
Tabella 2 - Elenco completo degli ON oggetto d’indagine nel 2019 dal Laboratorio SFR.....	66

Introduzione

Nel corso del 2019 il laboratorio fitopatologico del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana (di seguito Lab) con sede a Pistoia, pur continuando ad effettuare le analisi, prove e diagnosi ordinarie previste nel piano annuale di attività del Servizio ha dovuto fronteggiare e gestire un considerevole numero aggiuntivo di campioni prelevati a seguito del ritrovamento di *Xylella fastidiosa* avvenuto nel mese di novembre 2018 nel territorio del Comune di Monte Argentario (GR).

L'emergenza *Xylella fastidiosa* del Monte Argentario, pur comportando un notevole aggravio del carico di lavoro, non ha compromesso il regolare svolgimento dell'attività ordinaria e il rispetto delle tempistiche previste 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, all'attivazione di collaborazioni con personale esterno che ha provveduto ad ottimizzare parte delle lavorazioni propedeutiche alle analisi (preparazione delle aliquote dai campioni vegetali), all'implementazione del software gestionale delle attività del laboratorio e all'ottimizzazione dei processi estrattivi, sfruttando al massimo le potenzialità delle attrezzature del laboratorio.

Attività complessive svolte dal laboratorio SFR nel corso del 2019

Andando ad esaminare le diverse attività del lab nel corso del 2019, possiamo fare una serie di distinzioni, al fine di comprendere meglio le differenziazioni che vanno a caratterizzare una attività complessa come quella di laboratorio in ambito fitosanitario. Una prima caratterizzazione può essere evidenziata considerando il numero/tipologia di richieste/verbali di prelievo con il relativo numero di campioni e analisi effettuate complessivamente nel corso del 2019. Vengono presi in considerazione i dati complessivi del lab del SFR, oltre ad evidenziare le attività derivanti dai controlli all'import svolte nel lab di Guasticce (LI) per il punto di entrata di Livorno porto e Pisa aeroporto, scorporandole dal totale per delinearne la relativa incidenza. I

Richieste / Campioni / Analisi					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	4.795		135	2,8	
Campioni	21.708		949	4,4	
Patogeni	104		47	45,2	
Metodi	163		68	41,7	
Specie	176		22	12,5	
Prove di amplificabilità	23.389	34,2	1.558	2,3	24,8
Analisi	45.009	65,8	4.726	6,9	75,2
Analisi totali	68.398		6.284	9,2	

A fronte di 4.795 richieste o verbali di campionamento/prelievo sono stati prelevati 21.708 campioni per un numero complessivo di 45.009 analisi effettuate. A tali analisi vanno aggiunte le verifiche di amplificabilità o prove di amplificabilità sugli estratti di acidi nucleici (DNA) o cDNA (RNA) per la valutazione della integrità e qualità degli acidi nucleici estratti al fine delle analisi biomolecolari successive specifiche per i vari target (ON). Si tratta di analisi di tipo tecnico che vanno comunque conteggiate al fine di una valutazione complessiva delle attività svolte dal Lab.

Per cui, considerando anche quest'ultimo tipo di attività analitica, complessivamente sono state effettuate 68.398 analisi nel corso del 2019 da parte del Lab.

Altri aspetti importanti da prendere in considerazione sono il numero di ON che sono stati indagati nel corso del 2019, pari a 104 oltre che le tecniche/protocolli biomolecolari utilizzate/i risultanti 163 su una tipologia di campioni vegetali riassumibili in 163 specie vegetali complessivamente oggetto di indagine.

La tipologia di utenza relativa alle attività analitiche svolte. Con utenza, in questo caso si intende il destinatario del campionamento effettuato, ovvero se si tratta di campioni prelevati in vivai, garden, importatori, a livello territoriale, ecc.

Tipo Utente					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Autorizzati	563	66,7	19	2,3	35,8
Non Autorizzati	136	16,1	18	2,1	34
Importatori	12	1,4	0	0	0
Altri Soggetti	3	0,4	2	0,2	3,8
Territorio	130	15,4	14	1,7	26,4

Come si può notare, la maggior parte delle attività ha riguardato gli operatori vivaisti (autorizzati).

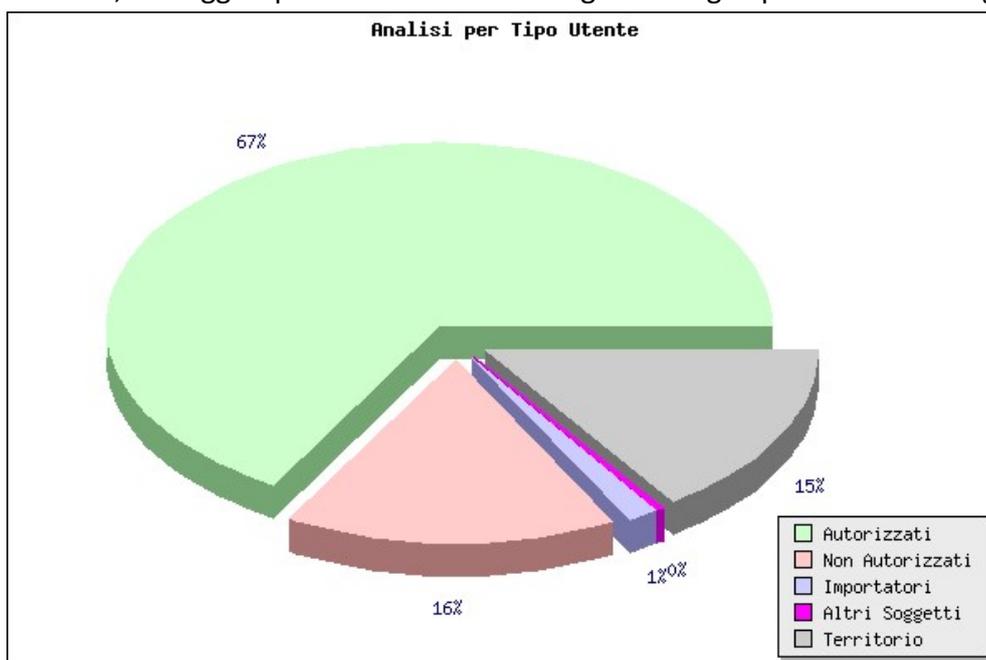


Fig – Analisi per tipo utente (attività complessive del lab)

Per i risultati analitici ottenuti, vedasi i dati in tabella. Quasi il 3% dei campioni pervenuti in lab è risultato positivo al target richiesto e oggetto di indagine.

Risultati					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Risultati Positivi	1243	2,8	246	19,8	5,2
Risultati Negativi	43723	97,1	4478	10,2	94,8
Risultati Indeterminati	43	0,1	2	4,7	0

Quest'anno, in una ottica di qualità/miglioramento continuo, sono stati presi in considerazione anche tutti i risultati indeterminati o "nd" (non determinabili). Si tratta di tutte quelle non conformità relative alla matrice di partenza (deteriorata, secca, ec.), oppure a difficoltà estrattive con verifiche di amplificabilità che non hanno dato esito valido, o ancora ad errori in sede di prelievo campioni e relativa assegnazione dei target (ON) di cui richiedere le verifiche analitiche. Per fortuna si tratta di valori residuali rispetto ai totali. Costituiscono, comunque degli indicatori a livello qualitativo del servizio svolto sia livello di analisi sia a livello di prelievo in campo.

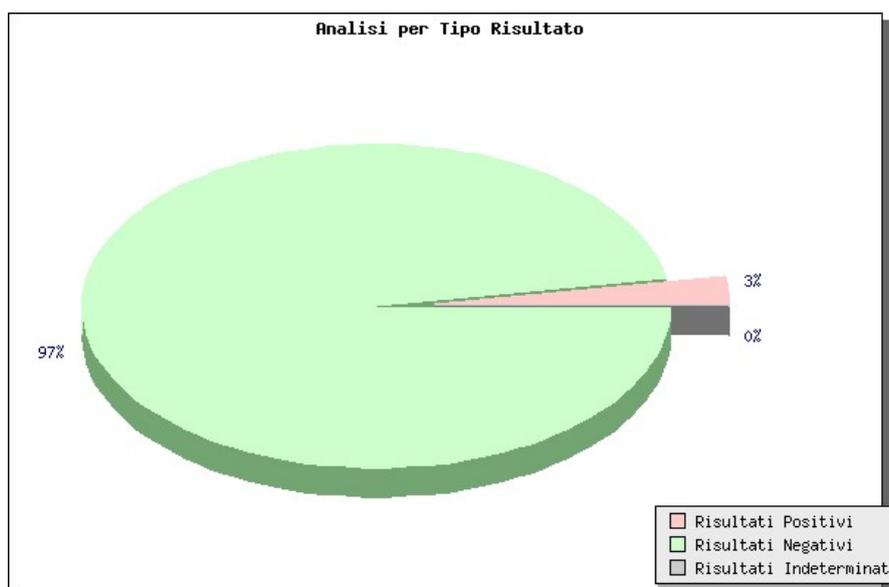


Fig – Analisi per tipo risultato (attività complessive del lab)

Volendo fare una differenziazione, anche in funzione del tipo di tecnica/ metodologia/protocollo utilizzata/o nel corso dell'anno per far fronte alla complessità delle analisi richieste si evince che:

Tecnica Analisi		
Parametro	Generale	% Totale
PCR real-time SYBR Green	2.853	6,3
PCR real-time Probe	38.700	86
Amplificazione isoterica LAMP	14	0
PCR end point	318	0,7
Analisi sierologiche (ELISA)	3.093	6,9

Da tali dati si denota che quasi il 94% di tutte le attività sono svolte tramite tecniche di Real Time PCR o RT qPCR con sonde TaqMan o in SybrGreen. Si tratta di tecniche complesse ma, allo stesso tempo, sensibili, specifiche e accurate per garantire un risultato analitico affidabile.

E graficamente:

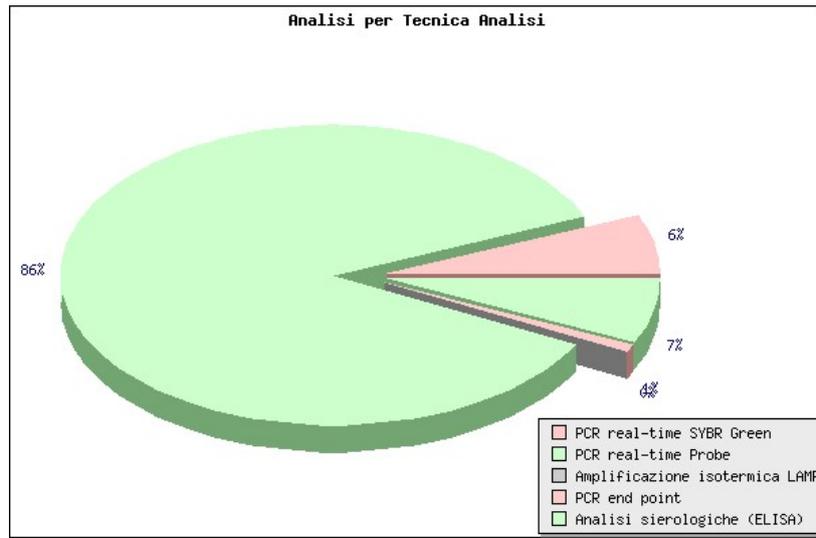


Fig – analisi per tipo tecnica (attività complessive del lab)

Analizzando i campioni pervenuti in lab in relazione alla specie vegetale oltre che per i vari ON di cui è stata richiesta o effettuata la verifica analitica si possono avere le seguenti rappresentazioni grafiche che danno un quadro di insieme esaustivo.

Gli elenchi completi relativi alle specie campionate e agli ON investigati complessivamente sono riportati in **Allegato 1 - Tabelle 1 e 2.**

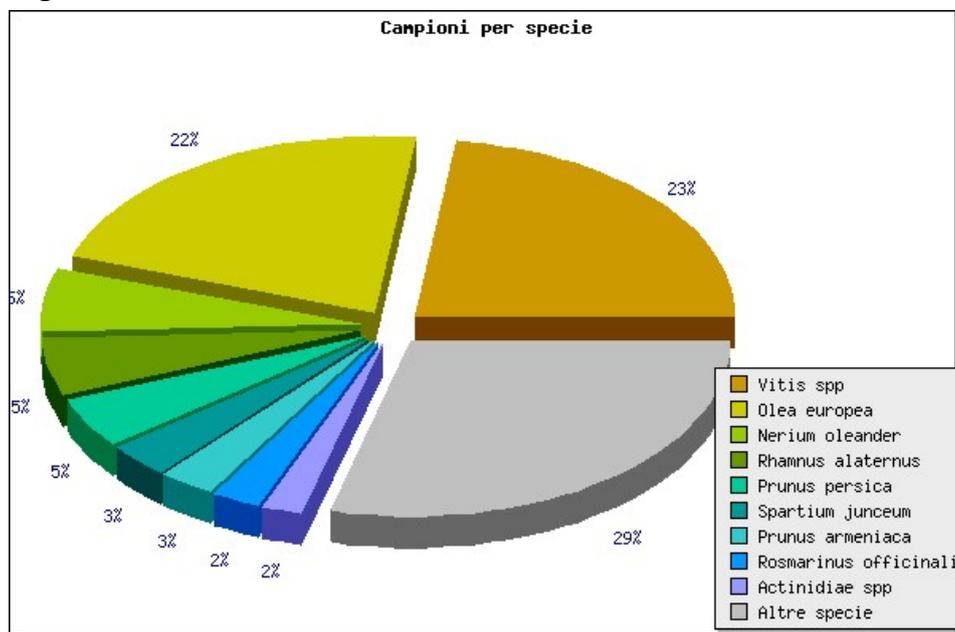


Fig. - campioni per specie (attività complessive del lab)

La vite la fa da padrone, in questo caso, anche in considerazione della peculiarità che tale specie assume a livello regionale, con prodotti di eccellenza in tal senso. I numeri così alti sono legati alle attività di monitoraggio territoriale e vivaistico ai sensi della normativa specifica per la "Flavescenza Dorata" (*Phytoplasma vitis_EPPO*) oltre che per la certificazione vivaistica della vite a livello di vivai viticoli.

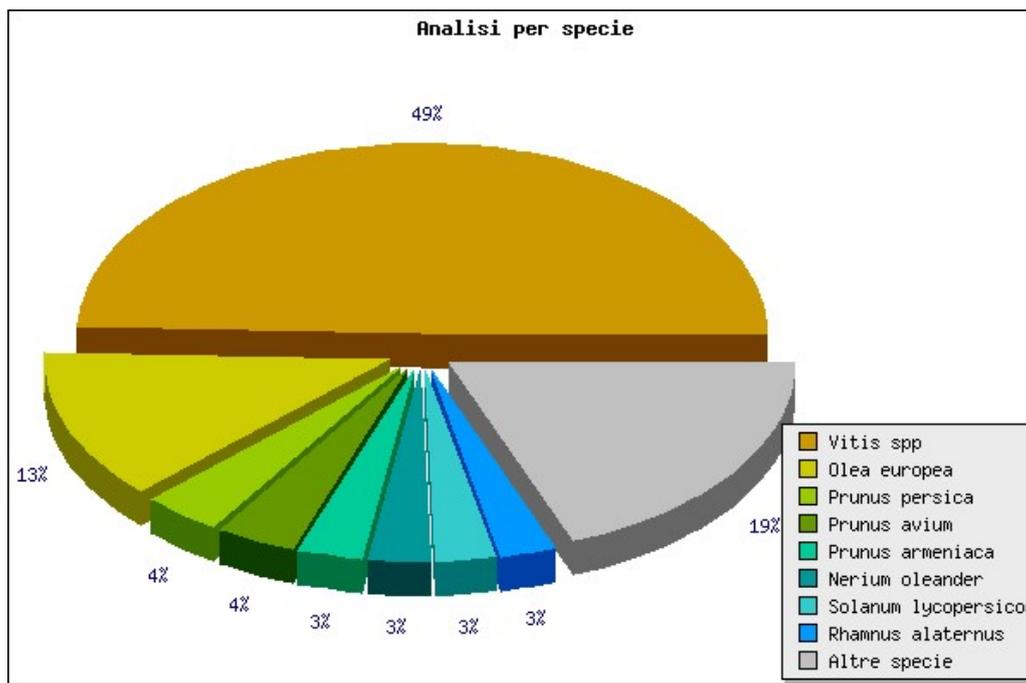


Fig. - analisi per specie (attività complessive del lab)

Osservando graficamente il numero di analisi complessive in funzione della specie vegetale oggetto di indagine, si può vedere come venga avvalorato quanto detto precedentemente per l'analisi dei campioni per specie. Ovvero che la vite, a livello regionale, è oggetto di un maggior numero di analisi rispetto ad altre specie vegetali. Tale aspetto è legato principalmente al fatto che il laboratorio nel corso dell'anno sugli stessi campioni di vite pervenuti per un dato Organismo Nocivo (di seguito ON) target, ha effettuato, di sua iniziativa, ulteriori screening fitosanitari per ulteriori ON potenzialmente presenti su vite. Questo sia a livello territoriale (impianti) sia a livello vivaistico. Tali analisi "duplicate" sono avvenute nella maggior parte dei casi in accordo con l'ispettore fitosanitario di riferimento. Per quel che concerne, invece i principali ON investigati nel 2019, di seguito tabelle e grafici relativi:

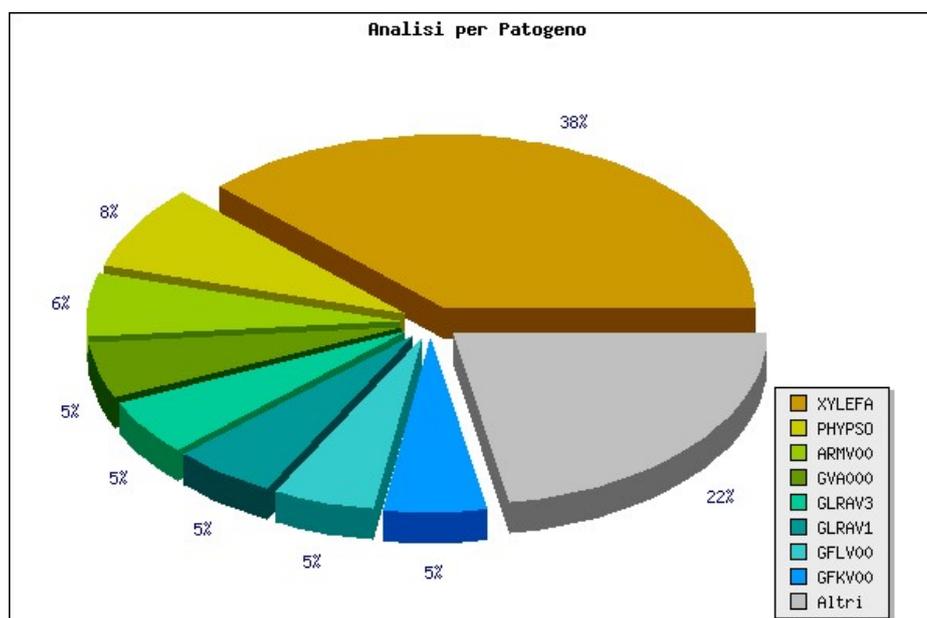


Fig – analisi per patogeno (analisi complessive del lab)

Tipologia	Patogeno	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	N.D.
batteri	<i>Xylella fastidiosa</i>	16922	16922	16709	205	8
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma solani</i>	3551	3551	3381	170	0
virus	<i>Arabid Mosaic virus (ArMV)</i>	2689	2689	2687	2	0
virus	<i>Grapevine fan leaf virus (GFLV)</i>	2377	2377	2364	13	0
virus	<i>Grapevine fleck virus (GFkV)</i>	2377	2377	2285	92	0
virus	<i>Grapevine leaf roll associated virus - 1 (GLRaV-1)</i>	2377	2377	2372	5	0
virus	<i>Grapevine leaf roll associated virus - 3 (GLRaV-3)</i>	2377	2377	2331	46	0
virus	<i>Grapevine virus A (GVA)</i>	2377	2377	2333	44	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma vitis</i>	1319	1319	1159	142	18
virus	<i>Prune dwarf virus (PDV)</i>	754	754	663	91	0
virus	<i>Plum pox virus (PPV)</i>	687	687	671	16	0
viroidi	<i>Peach latent mosaic viroid (PLMVd)</i>	669	669	557	112	0
virus	<i>Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)</i>	669	669	616	53	0
virus	<i>Citrus Tristeza Virus (CTV)</i>	350	350	309	41	0
virus	<i>Cherry leaf roll virus (CLRV)</i>	319	319	319	0	0
virus	<i>Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)</i>	312	312	310	2	0
batteri	<i>Pseudomonas syringae pv actinidiae</i>	282	282	256	26	0
virus	<i>Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)</i>	261	261	261	0	0
virus	<i>Cucumber Mosaic Virus (CMV)</i>	248	248	248	0	0
virus	<i>Apricot latent virus (ApLV)</i>	212	212	212	0	0
fitoplasmi	<i>Candidatus phytoplasma prunorum</i>	205	205	205	0	0
viroidi	<i>Hop Stunt Viroid (HSVd)</i>	204	204	176	28	0
virus	<i>American plum line pattern virus (APLPV)</i>	204	204	204	0	0
virus	<i>Peach rosette mosaic virus (PRMV)</i>	204	204	204	0	0
virus	<i>Plum bark necrotic spot associated virus (PBNSPaV)</i>	204	204	204	0	0
batteri	<i>Ralstonia solanacearum</i>	202	202	202	0	0
batteri	<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	192	192	176	16	0
batteri	<i>Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii</i>	189	189	176	13	0
virus	<i>Pepino Mosaic virus (PepMV)</i>	181	181	160	20	1
viroidi	<i>Potato spindle tuber viroid (PSTVd)</i>	166	166	138	28	0
virus	<i>Tomato spotted wilt virus (TSWV)</i>	152	152	152	0	0
funghi	<i>Verticillium spp</i>	114	114	114	0	0
virus	<i>Olive latent Virus - 1 (OLV-1)</i>	109	109	109	0	0
virus	<i>Olive latent Virus - 2 (OLV-2)</i>	108	108	108	0	0
virus	<i>Olive latent yellow associated virus (OLYaV)</i>	108	108	108	0	0
virus	<i>Olive ring spot virus (OLRSV)</i>	108	108	108	0	0
virus	<i>Tobacco necrosis virus (TNV)</i>	108	108	108	0	0
ALTRI	ALTRI PATOGENI	1130	1130	1036	78	16

La distinzione delle analisi in funzione degli ON indagati evidenzia come le analisi per *Xylella fastidiosa* abbiano inciso profondamente sulla totalità delle attività del lab. Infatti quasi il 40% di quest'ultime è focalizzato su tale ON.

Si tratta di numeri notevoli mai raggiunti fino ad ora da parte del laboratorio, che denotano un considerevole lavoro svolto durante il corso dell'anno da parte di tutti coloro che, partecipando alle attività di laboratorio (anche parzialmente) hanno contribuito a tale raggiungimento.

La denominazione sia degli ON sia delle specie vegetali avviene a livello di software gestionale del lab con i codici EPPO, di cui si riportano. In allegato 1 – tabelle 1 e 2 sono riportati tutte le denominazioni ufficiali con i relativi codici EPPO.

Graficamente, nel complesso, i prelievi relativi alla totalità dei campioni pervenuti in laboratorio nel corso del 2019, hanno avuto, graficamente, la seguente distribuzione territoriale.

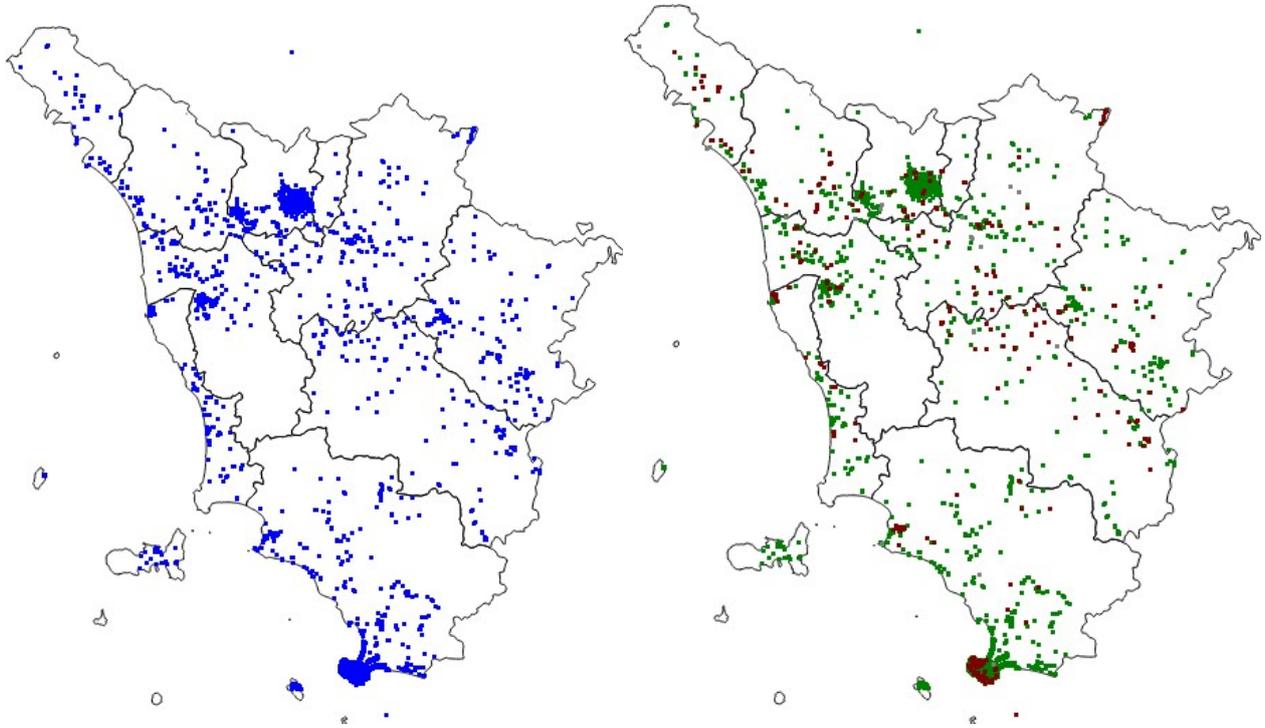


Fig. distribuzione territoriale dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo).
Come si può vedere sia a livello di distribuzione dei campioni prelevati, sia a livello di risultati, le aree maggiormente rappresentate sono costituite dal polo vivaistico della provincia di Pistoia e dalla zona del focolaio di *Xylella fastidiosa* del Monte Argentario (GR).
Analizzando graficamente proprio queste due aree caratterizzate dalla maggior parte delle attività di prelievo ed relative analisi, possiamo avere:

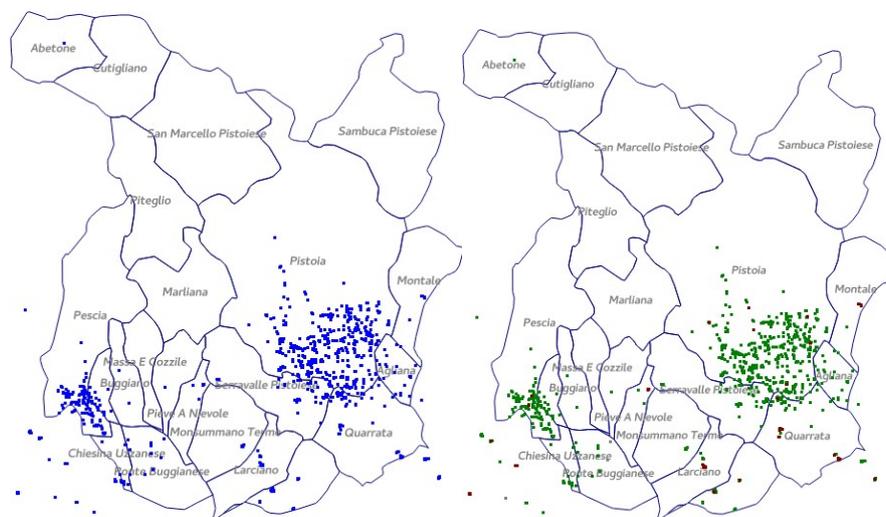


Fig. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale in provincia di Pistoia dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2019.

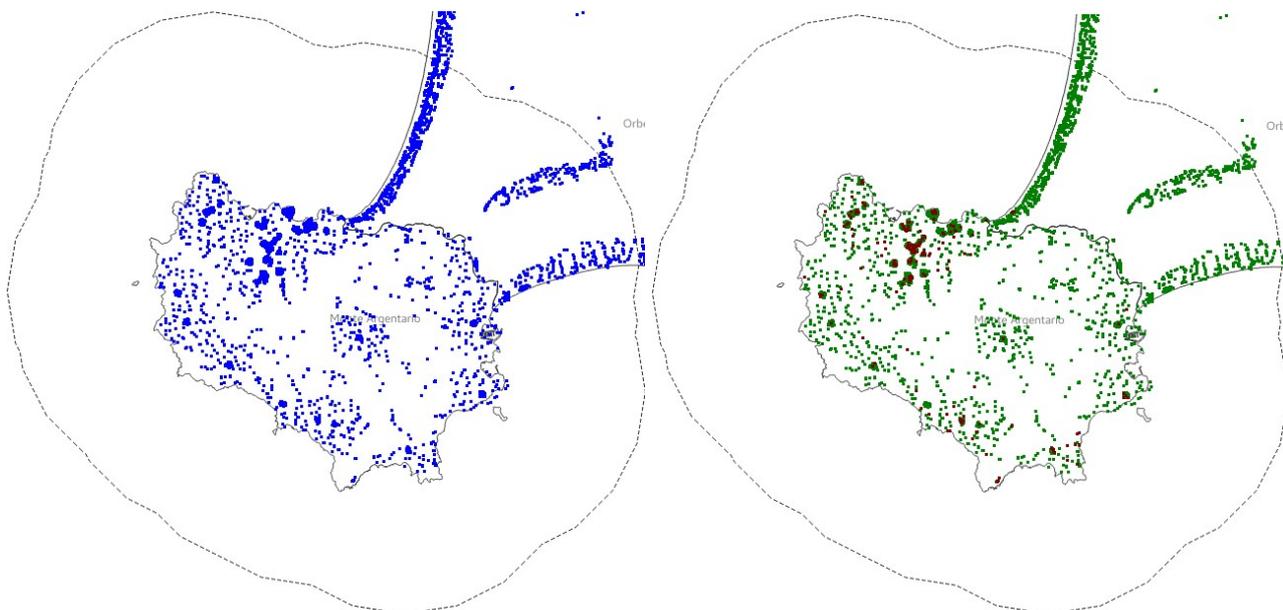


Fig. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale presso il territorio del Monte Argentario (GR) dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2019.

Analizzando il carico di lavoro mensile possiamo schematizzare in questo modo la distribuzione del carico e intensità lavorativa del laboratorio SFR nel corso del 2019.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	105	55	1338	181	1519	16
Febbraio	75	54	300	578	878	23
Marzo	255	298	1274	8940	10214	262
Aprile	227	192	1816	1542	3358	15
Maggio	1269	1255	2538	3351	5889	86
Giugno	266	338	1153	1189	2342	51
Luglio	281	187	1977	1862	3839	46
Agosto	129	114	917	1352	2269	43
Settembre	902	462	5845	2395	8240	163
Ottobre	1032	1067	4237	4411	8648	87
Novembre	220	495	239	17280	17519	307
Dicembre	25	266	74	1928	2002	144

Graficamente, possiamo esprimere attraverso varie modalità le tipologie di attività con relativi carichi mensili. A livello di numero di richieste e referti diagnostici.

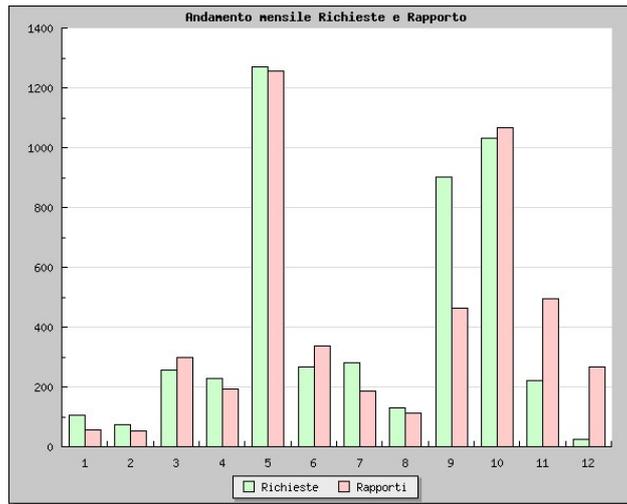


Fig. carico di lavoro annuale distinto per mese. Andamento mensile richieste di analisi e referti diagnostici emessi.

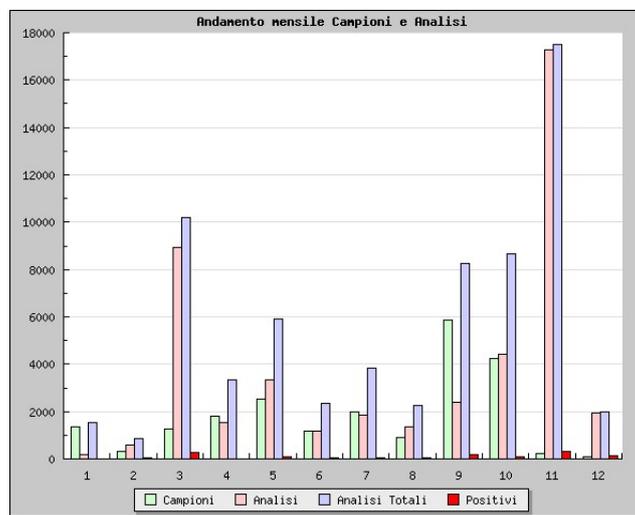


Fig. carico di lavoro annuale distinto per mese. Andamento mensile campioni pervenuti in laboratorio e numero di analisi effettuate, analisi totali (con verifiche di amplificabilità) e con numero delle positività riscontrate.

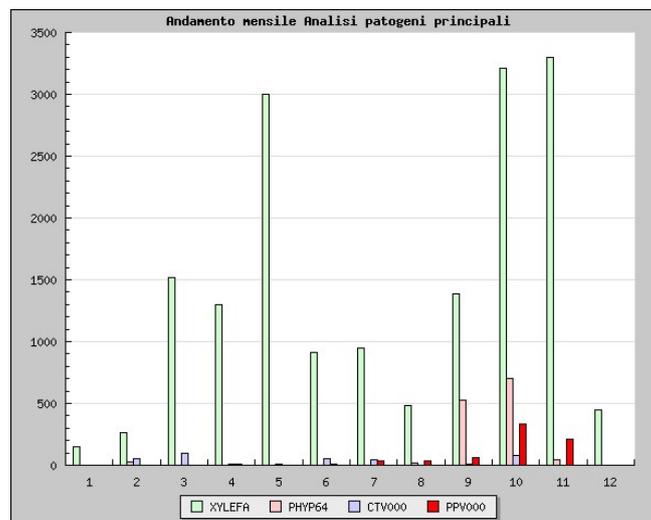


Fig. carico di lavoro annuale distinto per mese. Distribuzione mensile delle analisi effettuate nei confronti dei principali ON oggetto di indagine da parte del SFR in Toscana. Dove: XYLEFA = Xylella fastidiosa, PHYP64 = Phytoplasma vitis, CTV000 = Citrus Tristeza Virus, PPV000 = Plum Pox Virus.

Interessanti sono anche i dati legati ai tempi di risposta o di refertazione del lab dal momento in cui è pervenuta una richiesta di analisi fino al momento in cui viene emesso il referto analitico.

Giorni Analisi	
Parametro	Generale
GG per 50% analisi	7
GG per 60% analisi	9
GG per 70% analisi	13
GG per 80% analisi	17
GG per 90% analisi	32
GG per 100% analisi	153

Dalla tabella si desume che, mediamente, per il 50% di tutte le analisi effettuate viene emesso il relativo referto diagnostico entro una settimana (7 giorni). Per il 60% delle analisi entro 9 giorni e così via, fino ad arrivare al valore medio di 153 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.

Nel corso del 2019 le attività di diagnostica fitopatologica del laboratorio SFR possono essere raggruppate in diverse categorie a seconda della tipologia e finalità del campionamento effettuato:

- 1. Monitoraggi di patogeni da quarantena e/o legati al Piano Annuale di attività del SFR.**
- 2. Monitoraggi DECISIONE UE 2017/2352 e successive modifiche – Xylella fastidiosa**
- 3. Certificazione vivaistica della vite ai sensi del DM 07/07/2006**
- 4. Monitoraggio dei fitoplasmi della vite a livello territoriale e vivaistico**
- 5. Campionamenti effettuati da personale SFR in attività non previste dai monitoraggi istituzionali ma comunque di interesse fitosanitario**
- 6. Campionamenti effettuati da tecnici/vivaisti/privati su segnalazione e di interesse fitosanitario per il SFR o per attività legate ad autocontrollo fitosanitario.**

Monitoraggi di Patogeni da Quarantena e/o legati al Piano Annuale di Attività del SFR

Rientrano in tale ambito la maggior parte dei campioni pervenuti nel laboratorio, in quanto provenienti dai monitoraggi “ufficiali” e/o istituzionali del Servizio Fitosanitario. I risultati di tutte le analisi effettuate sono illustrate nei resoconti delle diverse attività di monitoraggio del Servizio Fitosanitario Regionale.

Di seguito si riportano il resoconto complessivo su tale tipologia di attività, i dati per specie vegetale e i dati per organismo nocivo.

È la parte maggiormente rappresentativa di tutto il lavoro fatto nel corso del 2019, d'altra parte basta guardare i dati complessivi che scaturiscono da tutte le attività previste dal Piano Annuale del SFR nel corso del 2019. Sono state effettuate 52.394 analisi su 16.121 campioni che hanno previsto la verifica della presenza di 97 Organismi Nocivi. In questa categoria rientrano diverse indagini concordate con i referenti regionali su ulteriori Organismi Nocivi non contemplati dal Piano Annuale del SFR ma che sono stati ricondotti ad un carattere di istituzionalità in seguito a valutazione congiunta con i vari referenti regionali delle singole attività (es. Certificazione Vivaistica della Vite, monitoraggio PPV, ecc.). I vivai controllati con prelievo campioni sono stati 873. Altro aspetto importante è legato all'operatività diagnostica del laboratorio che, in questa categoria, si è estrinsecata attraverso l'utilizzo di 150 metodi/protocolli diagnostici distinti.

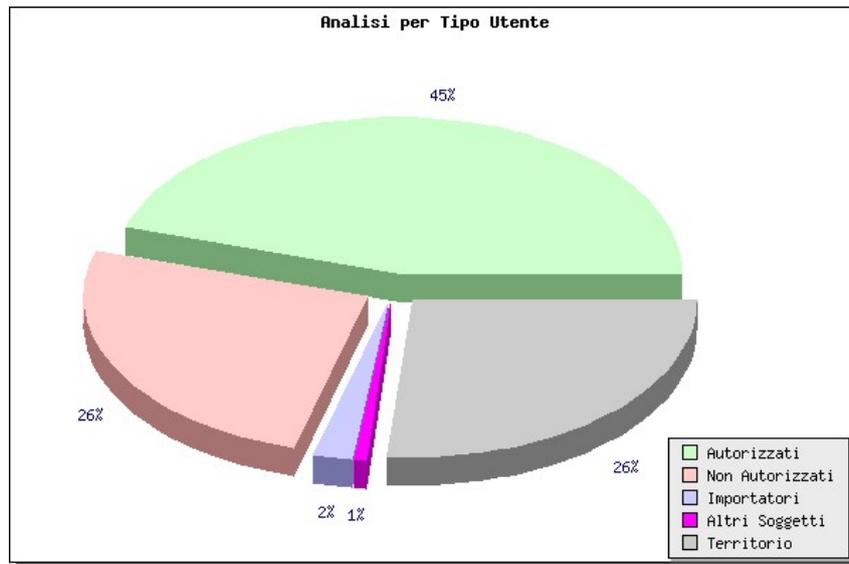
Nel corso del 2019 sono state sottoposte ad analisi di verifiche mediante analisi di sequenza del gene *nuoL* di *Xylella fastidiosa* (Yuan et al., 2010) n. 215 estratti di acidi nucleici da matrici vegetali di origine diversa forniti all'uso dal Servizio Fitosanitario Regionale. Le successive analisi di sequenziamento in forward e reverse effettuate su 101 ampliconi hanno chiaramente evidenziato una identità di sequenza del 100% con l'allele 21 del gene *NuoL* di *Xylella fastidiosa*. Ai fini di una verifica, è stato effettuato l'approccio MLST su 20 dei suddetti estratti di acidi nucleici di origine vegetale e su quelli di un insetto potenzialmente vettore del batterio. In tutti i casi le analisi di sequenza hanno permesso di rilevare, in maniera inequivocabile, la presenza del solo ST87.

Analizzando i vari dati scorporandoli dai dati complessivi, si possono avere i relativi dati legati al numero di richieste/campioni ed analisi derivanti dai monitoraggi “ufficiali” e/o istituzionali del Servizio Fitosanitario.

Richieste / Campioni / Analisi					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	4137		119	2,9	
Campioni	14586		439	3	
Patogeni	96		29	30,2	
Metodi	147		44	29,9	
Specie	175		18	10,3	
Prove di amplificabilità'	17124	34	622	1,2	34,1
Analisi	33267	66	1204	2,4	65,9
Analisi totali	50391		1826	3,6	

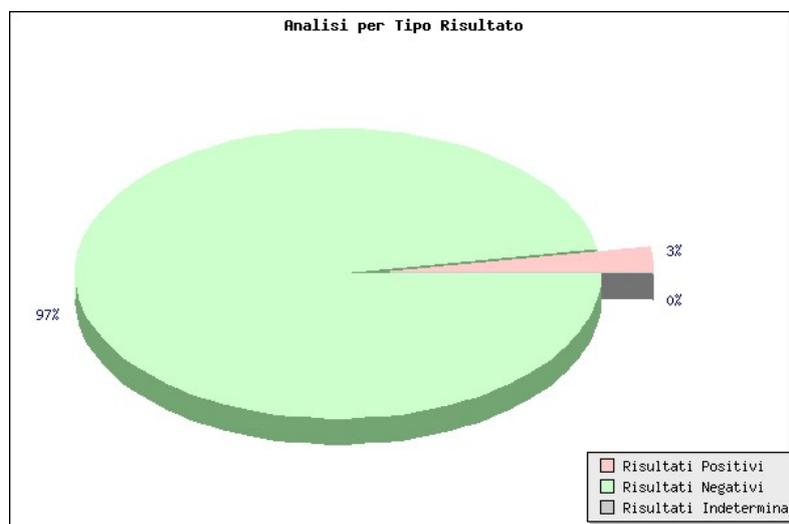
Per tipologia di utente (tabelle e grafici):

Tipo Utente					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Autorizzati	223	45,2	15	3	30,6
Non Autorizzati	126	25,6	18	3,7	36,7
Importatori	11	2,2	0	0	0
Altri Soggetti	3	0,6	2	0,4	4,1
Territorio	130	26,4	14	2,8	28,6



In base ai risultati ottenuti (tabelle e grafici):

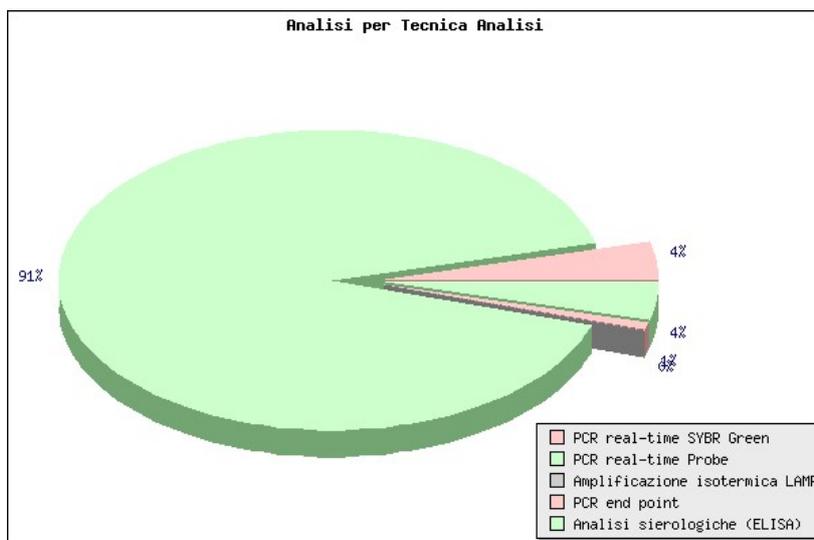
Risultati					
Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Risultati Positivi	899	2,7	76	8,5	6,3
Risultati Negativi	32343	97,2	1126	3,5	93,5
Risultati Indeterminati	25	0,1	2	8	0,2



In base alle tecniche analitiche utilizzate (tabelle e grafici):

Tecnica Analisi		
Parametro	Generale	% Totale
PCR real-time SYBR Green	1314	4
PCR real-time Probe	30298	91,2
Amplificazione isotermica LAMP	14	0
PCR end point	281	0,8
Analisi sierologiche (ELISA)	1329	4

La stragrande maggioranza delle attività analitiche sono state effettuate utilizzando tecniche di amplificazioni geniche in Real Time (Probe e SybrGreen)



I dati legati ai tempi di risposta o di refertazione del lab, dal momento in cui è pervenuta una richiesta di analisi fino al momento in cui viene emesso il referto analitico, riprendono quanto detto a livello di attività complessive. In generale si denota 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 dalla peculiarità dei monitoraggi a livello territoriale che, spesso, hanno un lungo decorso (anche 2-3 mesi) e la conseguente refertazione si accumula alla fine del monitoraggio stesso. Per cui, facendo la media, i valori tendono ad allungarsi.

Giorni Analisi	
Parametro	Generale
GG per 50% analisi	6
GG per 60% analisi	8
GG per 70% analisi	11
GG per 80% analisi	14
GG per 90% analisi	23
GG per 100% analisi	103

Principali Specie vegetali oggetto d'indagine su campioni provenienti dai monitoraggi "ufficiali" e/o istituzionali del Servizio Fitosanitario.

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Vitis spp	VITSS	3417	19233	18891	342	0
Olea europea (Olivo)	OLVEU	1142	2101	2092	8	1
Rhamnus alaternus	RHAAL	1138	1160	1107	52	1
Prunus persica	PRNPS	989	1044	916	128	0
Spartium junceum	SPUJU	667	674	604	66	4
Rosmarinus officinalis	RMSOF	509	512	510	2	0
Prunus armeniaca (Albicocco)	PRNAR	492	526	521	5	0
Actinidiae spp	ATISS	447	457	431	26	0
Nerium oleander (Oleandro)	NEROL	432	447	447	0	0
Citrus spp	CIDSS	416	608	546	60	2
Prunus domestica	PRNDO	407	428	414	14	0
Cistus creticus	CSTIC	228	228	228	0	0
Pistacia lentiscus	PIALE	215	219	219	0	0
Prunus spinosa	PRNSN	210	210	209	1	0
Solanum lycopersicon (pomodoro)	LYPES	202	1233	1156	76	1
Myrtus communis	MYVCO	193	196	195	1	0
Arbutus unedo	ARDUN	190	192	192	0	0
Laurus nobilis	LURNO	186	205	201	4	0
Prunus spp	PRNSS	166	243	237	6	0
Cistus monspeliensis	CSTMO	160	162	160	2	0
Ficus carica	FIUCA	126	132	132	0	0
Prunus amygdalus (Mandorlo)	PRNDU	124	127	109	18	0
Quercus ilex	QUEIL	124	125	125	0	0
Polygala myrtifolia	POGMY	117	117	101	16	0
Phillyrea latifolia	PLRLA	98	98	98	0	0
Phillyrea angustifolia	PLRAN	93	99	99	0	0
Cistus spp	CSTSS	87	90	85	5	0
Altre specie		2011	2401	2318	67	16

Come si può denotare il numero di campioni distinto per specie vegetale non riflette il numero di analisi effettuate sulle specie vegetali. Questo perché per alcune specie vegetali sono stati indagati due o più ON.

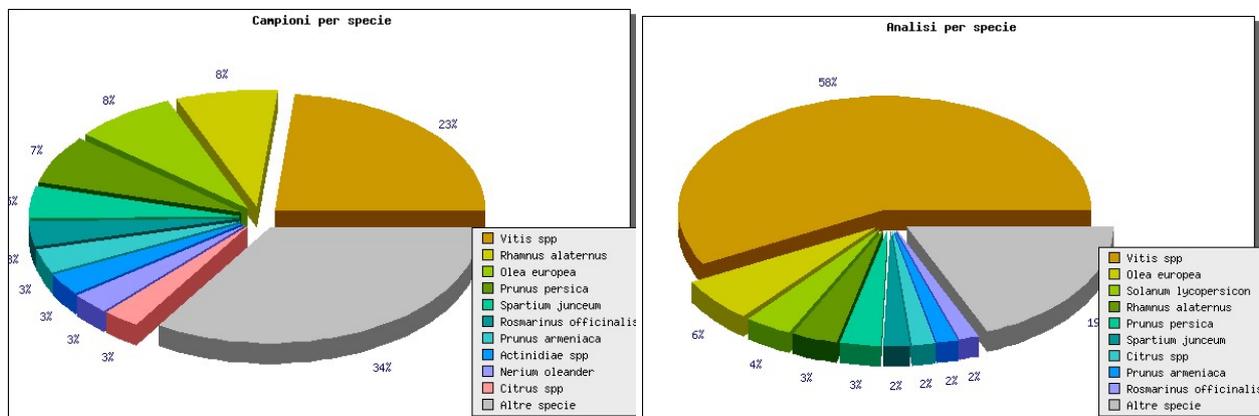


Fig. rappresentazione grafica del numero di campioni e analisi effettuate (monitoraggi istituzionali) per le principali specie vegetale nel 2019.

Si denota come la maggior parte delle attività analitiche sono state effettuate in relazione ai campionamenti della vite a livello territoriale e vivaistico.

Analizzando la distribuzione territoriale dei campionamenti effettuati nell'ambito dei monitoraggi istituzionali possiamo avere:

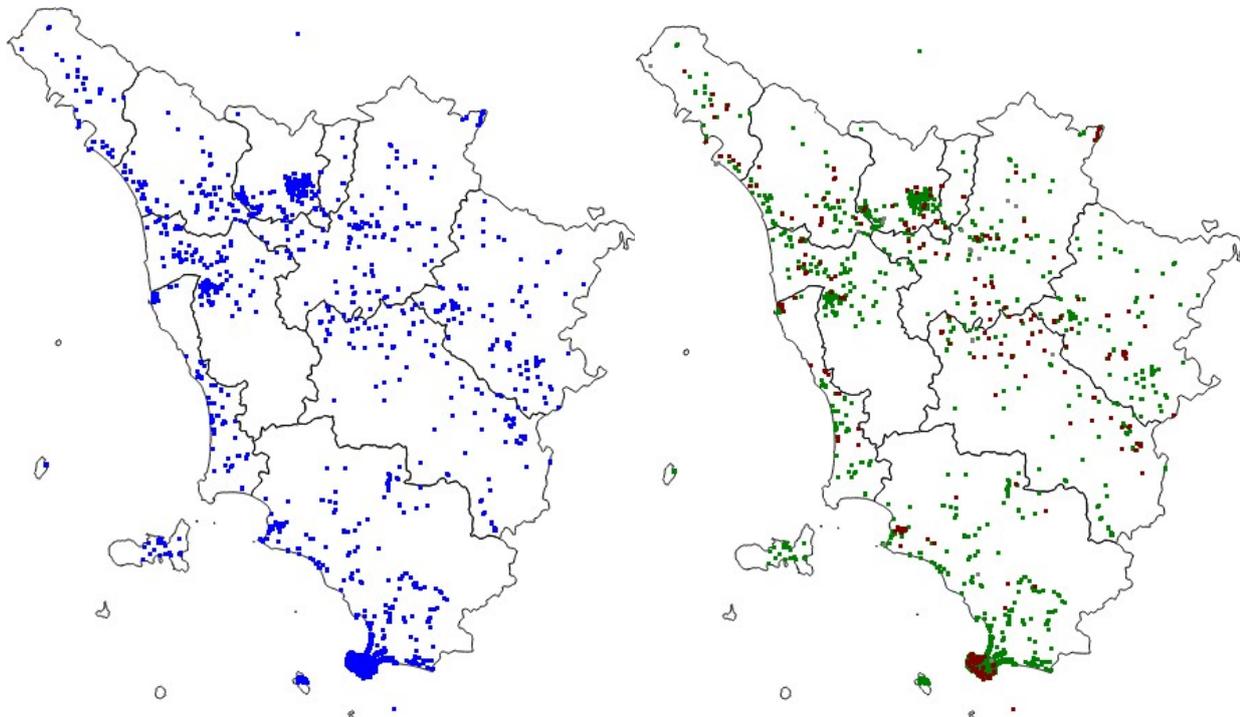


Fig. distribuzione territoriale dei campioni prelevati a livello regionale delle attività del laboratorio relative ai monitoraggi istituzionali. Distribuzione complessiva dei campioni (blu) e dei risultati ottenuti (verde = negativo, rosso = positivo)

Anche in questo caso, visto che costituisce la maggior parte delle attività del laboratorio, la distribuzione riflette quanto visto a livello generale. Ovvero le aree a maggior impatto di attività di campionamento sono costituite dal polo vivaistico di Pistoia e, soprattutto, l'area delimitata del focolaio di *Xylella fastidiosa* del Monte Argentario (GR). Nel dettaglio:

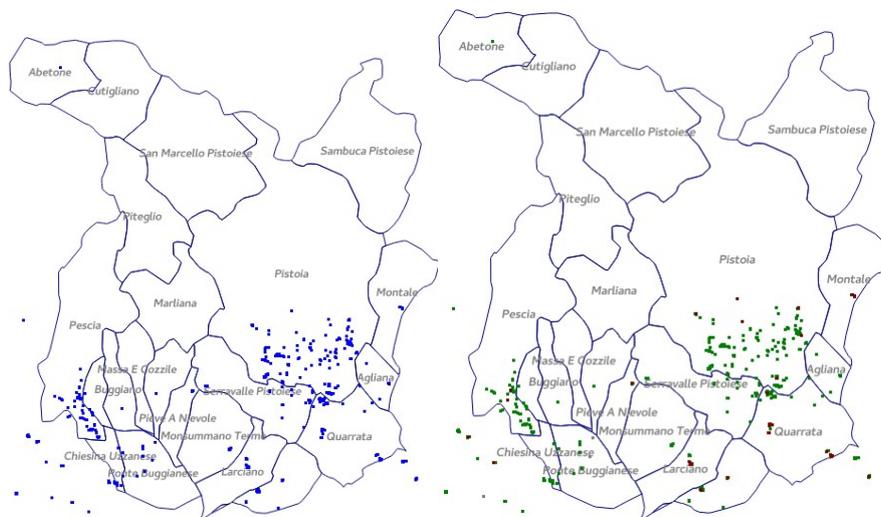


Fig. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale (monitoraggi istituzionali) in provincia di Pistoia dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2019.

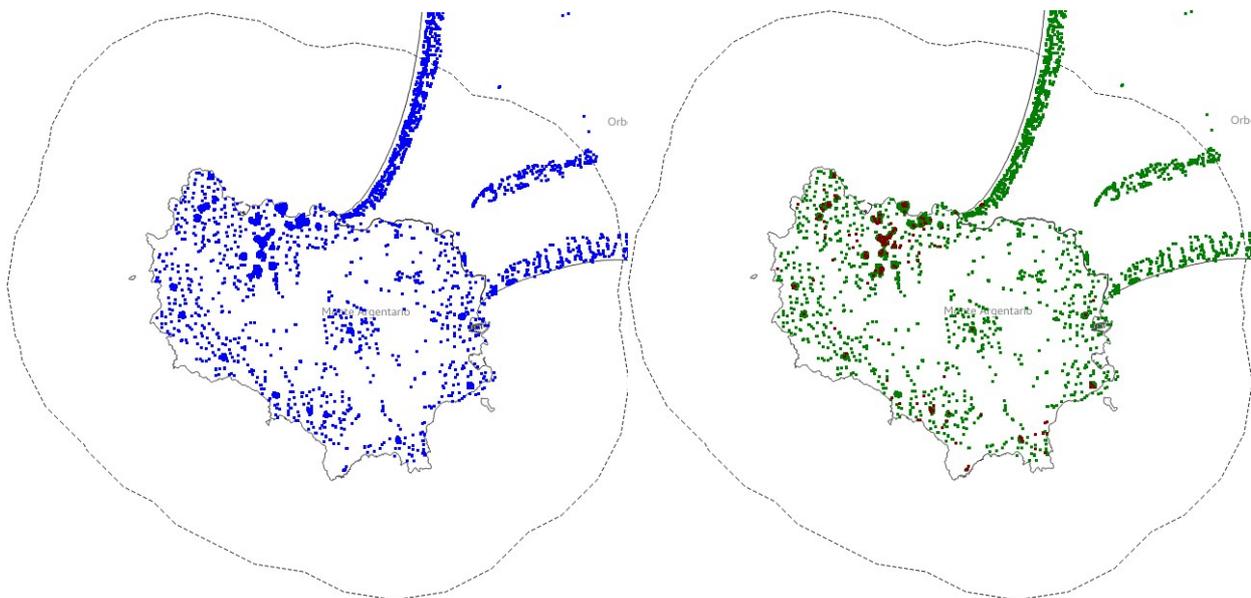


Fig. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale (monitoraggi istituzionali) presso il territorio del Monte Argentario (GR) dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2019.

Elenco dei principali organismi nocivi oggetto d'indagine su campioni provenienti dai monitoraggi "ufficiali" e/o istituzionali del Servizio Fitosanitario

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	ND
Xylella fastidiosa	XYLEFA	11609	11397	204	8
Candidatus phytoplasma solani	PHYPSO	3551	3381	170	0
Arabis Mosaic virus (ArMV)	ARMV00	2191	2189	2	0
Grapevine fan leaf virus (GFLV)	GFLV00	2083	2070	13	0
Grapevine fleck virus (GFKV)	GFKV00	2083	1991	92	0
Grapevine leaf roll associated virus - 1 (GLRaV-1)	GLRAV1	2083	2082	1	0
Grapevine leaf roll associated virus - 3 (GLRaV-3)	GLRAV3	2083	2061	22	0
Grapevine virus A (GVA)	GVA000	2083	2041	42	0
Prune dwarf virus (PDV)	PDV000	551	545	6	0
Plum pox virus (PPV)	PPV000	481	465	16	0
Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)	PNRSV0	465	430	35	0
Peach latent mosaic viroid (PLMVd)	PLMVD0	465	369	96	0
Citrus Tristeza Virus (CTV)	CTV000	350	309	41	0
Pseudomonas syringae pv actinidiae	PSDMAK	282	256	26	0
Cucumber Mosaic Virus (CMV)	CMV000	248	248	0	0
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis	CORBMI	191	175	16	0
Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii	XANTEU_multi	189	176	13	0
Pepino Mosaic virus (PepMV)	PEPMV0	181	160	20	1
Potato spindle tuber viroid (PSTVd)	PSTVD0	166	138	28	0
Ralstonia solanacearum	RALSSL	157	157	0	0
Tomato spotted wilt virus (TSWV)	TSWV00	152	152	0	0
Verticillium spp	VERTSP	114	114	0	0
Olive latent Virus - 1 (OLV-1)	OLV100	109	109	0	0
Cherry leaf roll virus (CLRV)	CLRV00	108	108	0	0

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	ND
Olive latent Virus - 2 (OLV-2)	OLV200	108	108	0	0
Olive latent yellow associated virus (OLYaV)	OLYAV0	108	108	0	0
Olive ring spot virus (OLRSV)	OLRSV0	108	108	0	0
Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)	SLRSV0	108	106	2	0
Tobacco necrosis virus (TNV)	TNV000	108	108	0	0
Ceratocystis platani	CERAFP	84	62	19	3
Candidatus liberibacter solanacearum	LIBEPS	53	53	0	0
Candidatus phytoplasma vitis	PHY64	49	49	0	0
Potato leaf roll virus (PLRV)	PLRV00	45	44	1	0
Potato virus X	PVX000	45	45	0	0
Erwinia amylovora	ERWIAM	32	32	0	0
Globodera pallida	HETDPA	31	29	0	2
Xanthomonas citri pv citri	XANTCI	30	20	10	0
Globodera rostochiensis	HETDRO	29	29	0	0
Guignardia citricarpa	GUIGCI	26	17	8	1
Xanthomonas arboricola pv pruni	XANTPR	18	18	0	0
Spodoptera frugiperda	LAPHFR	16	15	0	1
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus	CORBSE	15	15	0	0
Phytophthora ramorum	PHYTRA	15	15	0	0
Synchytrium endobioticum	SYNCEN	15	15	0	0
Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	TOBRFV	14	14	0	0
Tomato leaf curl New Daehli Virus (ToLNDV)	TOLCND	14	14	0	0
Ditylenchus dipsaci	DITYDI	12	12	0	0
Universali per Insetti		12	10	2	0
Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	ACLSV0	12	12	0	0
Plasmopara halstedii	PLASHA	12	12	0	0
Candidatus phytoplasma mali	PHYMA	11	11	0	0
Apple mosaic virus (ApMV)	APMV00	11	11	0	0
Bursaphelenchus xylophilus	BURXXY	10	5	0	5
Ditylenchus destructor	DITYDE	10	10	0	0
Pseudomonas syringae pv viridiflava	PSDMSX_viri	8	8	0	0
Apricot latent virus(ApLV)	ALV000	8	8	0	0
Xanthomonas spp	XANTSP	7	6	1	0
Clavibacter michiganensis subsp. Insidiosus	CORBIN	6	6	0	0
Anoplophora chinensis	ANOLCN	6	6	0	0
Pseudomonas syringae	PSDMSX	5	3	2	0
Armillaria spp	1ARMLG	5	5	0	0
Fusarium solani	FUSASO	5	0	5	0
Phytophthora sp	PHYTSP	5	5	0	0
Chrysanthemum stunt viroid (ChSVd)	CSVD00	4	4	0	0
Curtobacterium flaccumfaciens	CORBFL	3	3	0	0
Pseudomonas savastanoi pv savastanoi	PSDMSA	3	3	0	0
Xanthomonas axonopodis pv phaseoli	XANTPH	3	3	0	0
Xanthomonas campestris	XANTAR	3	3	0	0
Radopholus similis	RADOSI	3	3	0	0
Apple stem grooving virus (ASGV)	ASGV00	3	3	0	0
Apple stem pitting virus (ASPV)	ASPV00	3	3	0	0
Chrysanthemum stem necrosis virus (CSNV)	CSNV00	3	3	0	0
Tobacco streak virus (TSV)	TSV000	3	3	0	0
Gibberella circinata	GIBBCI	3	2	0	1
Apple dimple fruit viroid (ADFVd)	ADFVD0	3	3	0	0
Apple Scar skin viroid (ASSVd)	ASSVD0	3	3	0	0

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	ND
Pantoea stewartii	ERWIST	2	2	0	0
Anoplophora glabripennis	ANOLGL	2	2	0	0
Popillia japonica	POPIJA	2	0	0	2
Xylosandrus compactus	XYLSCO	2	0	2	0
Xylosandrus crassiusculus	XYLBCR	2	1	1	0
Elsinoe fawcettii	ELSIFA	2	1	0	1
Xanthomonas arboricola pv fragariae	XANTAF	1	1	0	0
Xanthomonas campestris pv campestris	XANTCA	1	1	0	0
Xanthomonas vesicatoria	XANTVE	1	1	0	0
Candidatus phytoplasma prunorum	PHYPPR	1	1	0	0
Aromia bungii	AROMBU	1	1	0	0
Meloidogyne sp	MELGSP	1	0	1	0
Tomato ring spot virus (ToRSV)	TORSV0	1	1	0	0
Biscognauxia mediterranea	HYPOME	1	0	1	0
Chalara fraxinea	CHAAFR	1	1	0	0
Colletotrichum gloesporioides	GLOMCI	1	0	1	0
Geosmithia morbida	GEOHMO	1	1	0	0
Guignardia mangiferae	GUIGMA	1	1	0	0
Phytophthora cambivora	PHYTCM	1	1	0	0
Sphaeropsis sapinea	DIPDPI	1	1	0	0

Graficamente (per i principali ON):

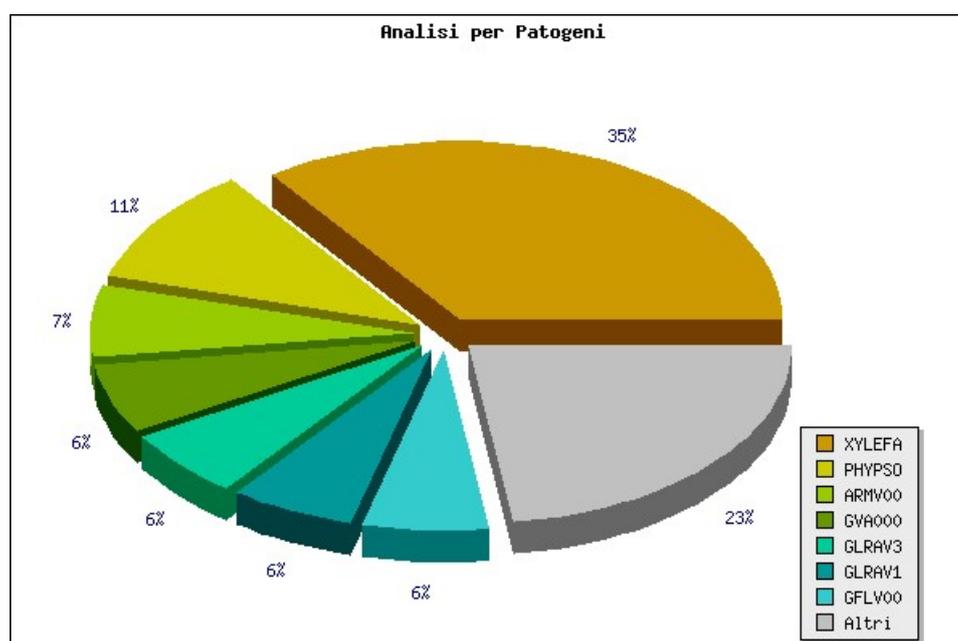


Fig. distinzione delle analisi relative ai monitoraggi istituzionali del laboratorio in funzione dell'ON indagato.

Sia dalle tabelle sia dai grafici relativi, si evidenzia come la maggior parte delle analisi sono state effettuate nei confronti di *Xylella fastidiosa*. Seguono le attività parallele che il laboratorio svolge nei confronti dei monitoraggi vitivinicoli dal punto di vista fitosanitario, ovvero le indagini sui principali virus e fitoplasmi della vite.

Dal punto di vista del carico di lavoro, discriminando gli andamenti mensili relativi alle attività analitiche per i monitoraggi istituzionali in forma tabellare e grafica, si possono avere i seguenti dati.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	52	51	1003	155	1158	15
Febbraio	46	48	229	332	561	23
Marzo	195	186	256	6541	6797	232
Aprile	151	96	390	431	821	15
Maggio	1112	1114	1363	1686	3049	86
Giugno	252	311	713	883	1596	51
Luglio	207	131	970	1188	2158	46
Agosto	87	85	534	1080	1614	41
Settembre	822	390	5138	1688	6826	63
Ottobre	970	976	3757	3631	7388	48
Novembre	217	476	200	13740	13940	135
Dicembre	17	261	23	1902	1925	144

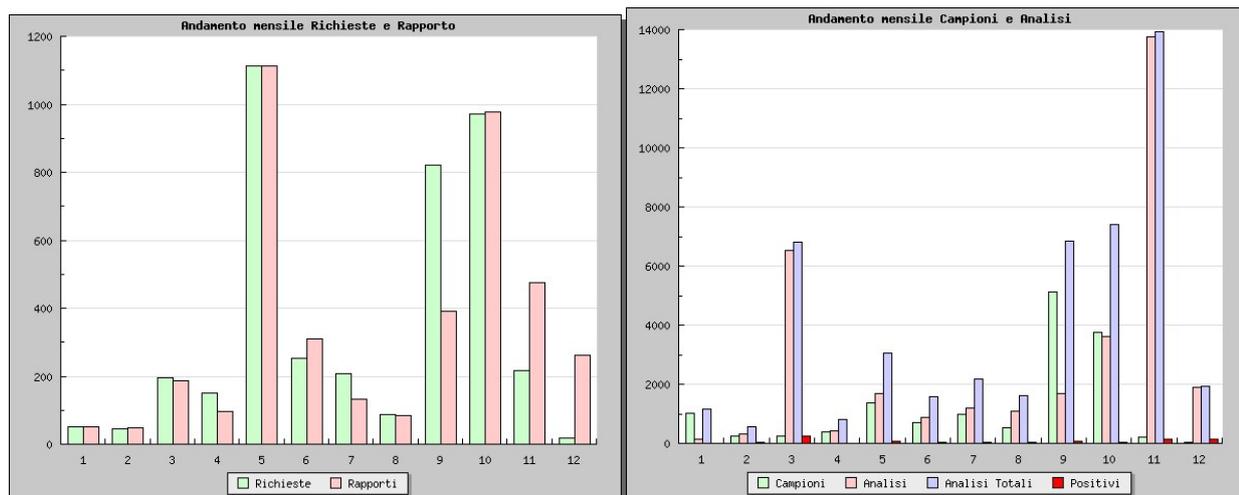


Fig. carico di lavoro annuale (monitoraggi istituzionali) distinto per mese. Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Dal punto di vista delle richieste e (quindi) dei relativi referti diagnostici, si possono denotare come i maggiori flussi lavorativi avvengano nei mesi di maggio e ottobre-novembre. Tali dati si giustificano in relazione ai periodi di maggiore attività di campionamento da parte del SFR dovuta ai periodi ottimali per le verifiche fitosanitarie della maggior parte degli ON indagati.

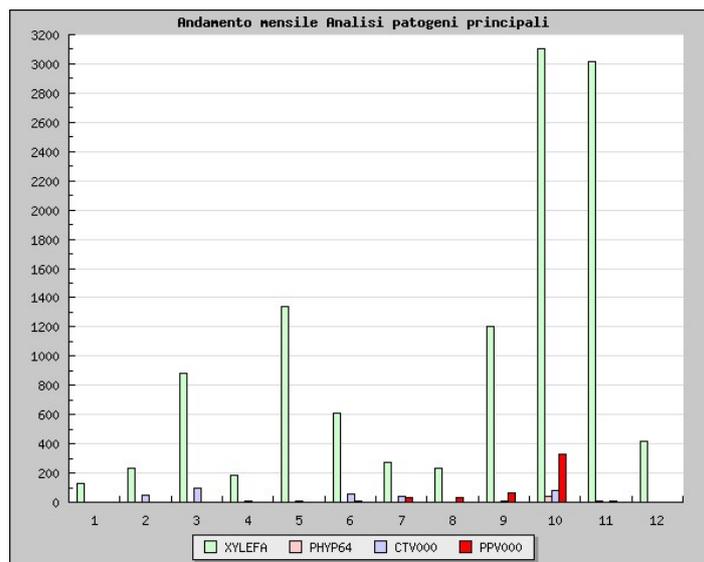


Fig. carico di lavoro annuale distinto per mese. Distribuzione mensile delle analisi effettuate (monitoraggi istituzionali) nei confronti dei principali ON oggetto di indagine da parte del SFR in Toscana. Dove: XYLEFA = Xylella fastidiosa, PHYP64 = Phytoplasma vitis, CTV000 = Citrus Tristeza Virus, PPV000 = Plum Pox Virus.

Monitoraggio art. 9.8 della Decisione UE 2015/789 – Xylella fastidiosa

In data 16 dicembre 2017 è stata pubblicata in Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea la "Decisione di esecuzione (UE) 2017/2352 della commissione del 14 dicembre 2017 che modifica la decisione di esecuzione (UE) 2015/789 relativa alle misure per impedire l'introduzione e la diffusione nell'Unione della Xylella fastidiosa".

Per favorire l'applicazione della Decisione e consentire la movimentazione sul territorio dell'Unione delle piante delle specie sopra riportate, il SFR della Regione Toscana ha previsto un apposito piano di verifiche e ispezioni ufficiali, con relativi campionamenti effettuato mediante collaboratori esterni. In base ai campionamenti effettuati sono state effettuate le analisi sotto riportate.

Dati Generali campioni provenienti da Monitoraggi DECISIONE UE 2352 – Xylella fastidiosa:

Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	419		5	1.2	
Campioni	5.045		57	1.1	
Patogeni	4		1	25	
Metodi	6		1	16.7	
Specie	31		3	9.7	
Prove di amplificabilita'	23.389	82.3	1.558	5.5	96.5
Analisi	5.047	17.7	57	0.2	3.5
Analisi totali	28.436		1.615	5.7	
Autorizzati	410	100	5	1.2	100
Non Autorizzati	0	0	0	0	0
Importatori	0	0	0	0	0
Altri Soggetti	0	0	0	0	0
Territorio	0	0	0	0	0
Risultati Positivi	0	0	0	0	0
Risultati Negativi	5.047	100	57	1.1	100
Risultati Indeterminati	0	0	0	0	0

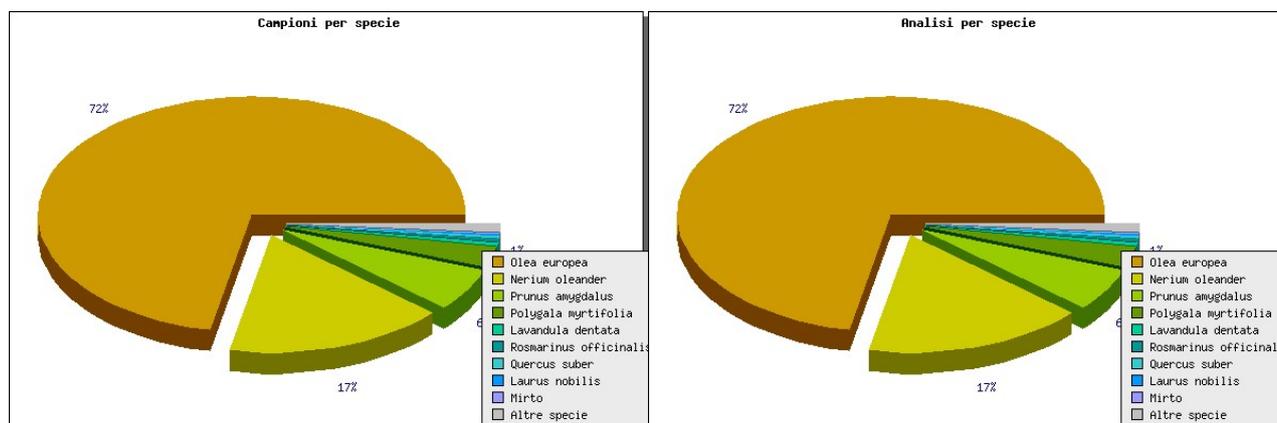


Fig. distinzione delle attività relative ai monitoraggi 2017/2352 e successive, in funzione dei campioni e delle relative analisi distinti per specie vegetali oggetto di prelievo. La distribuzione dei campioni (in questo caso) per specie è, ovviamente, uguale alle analisi per specie vegetale.

Specie vegetali oggetto d'indagine su campioni provenienti da Monitoraggi DECISIONE UE 2352 – Xylella fastidiosa:

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Olea europea (Olivo)	OLVEU	3619	3619	3619	0	0
Nerium oleander (Oleandro)	NEROL	839	839	839	0	0
Prunus amygdalus (Mandorlo)	PRNDU	298	298	298	0	0
Polygala myrtifolia	POGMY	139	139	139	0	0
Lavandula dentata	LAVDE	27	27	27	0	0
Rosmarinus officinalis	RMSOF	19	19	19	0	0
Quercus suber	QUESU	16	16	16	0	0
Laurus nobilis	LURNO	13	13	13	0	0
Mirto	MYVCO	11	11	11	0	0
Spartium junceum	SPUJU	10	10	10	0	0
Coffea sp.	COFSS	5	5	5	0	0
Cistus monspeliensis	CSTMO	4	4	4	0	0
Lavandula sp	LAVSS	3	3	3	0	0
Phillyrea angustifolia	PLRAN	3	3	3	0	0
Rhamnus alaternus	RHAAL	3	3	3	0	0
Rosmarinus officinalis var. prostrata	RMSOF_PR	3	3	3	0	0
Acacia dealbata	ACADA	2	2	2	0	0
Cistus spp	CSTSS	2	2	2	0	0
Ficus carica	FIUCA	2	2	2	0	0
Ficus sp.	FIUSS	2	2	2	0	0
Lavandula angustifolia	LAVAN	2	2	2	0	0
Metrosideros excelsa	MTDEX	2	2	2	0	0
Myoporum insulare	MYMIN	2	2	2	0	0
Prunus armeniaca (Albicocco)	PRNAR	2	2	2	0	0
Prunus domestica	PRNDO	2	2	2	0	0
Westringia fruticosa	WESRO	2	2	2	0	0
Helichrysum italicum	HECIT	1	1	1	0	0
Pelargonium graveolens	PELGV	1	1	1	0	0
Prunus avium (Ciliegio)	PRNAV	1	1	1	0	0
Prunus persica	PRNPS	1	1	1	0	0
Quercus ilex	QUEIL	1	1	1	0	0

Analizziamo l'andamento del carico di lavoro in funzione di questo tipo di attività in formato tabellare.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi	XYLEFA
Gennaio	0	3	0	25	25	0	25
Febbraio	1	1	36	36	72	0	36
Marzo	60	37	1015	634	1649	0	634
Aprile	76	96	1423	1109	2532	0	1109
Maggio	157	141	1173	1658	2831	0	1658
Giugno	9	27	152	306	458	0	306
Luglio	66	56	808	674	1482	0	674
Agosto	21	25	212	252	464	0	252
Settembre	12	15	69	164	233	0	164
Ottobre	6	10	59	114	173	0	114
Novembre	3	3	39	39	78	0	39
Dicembre	8	5	51	26	77	0	26

In formato grafico ed in funzione del numero di richieste/referti diagnostici oltre che in relazione al numero di campioni/analisi nel corso dell'anno a base mensile.

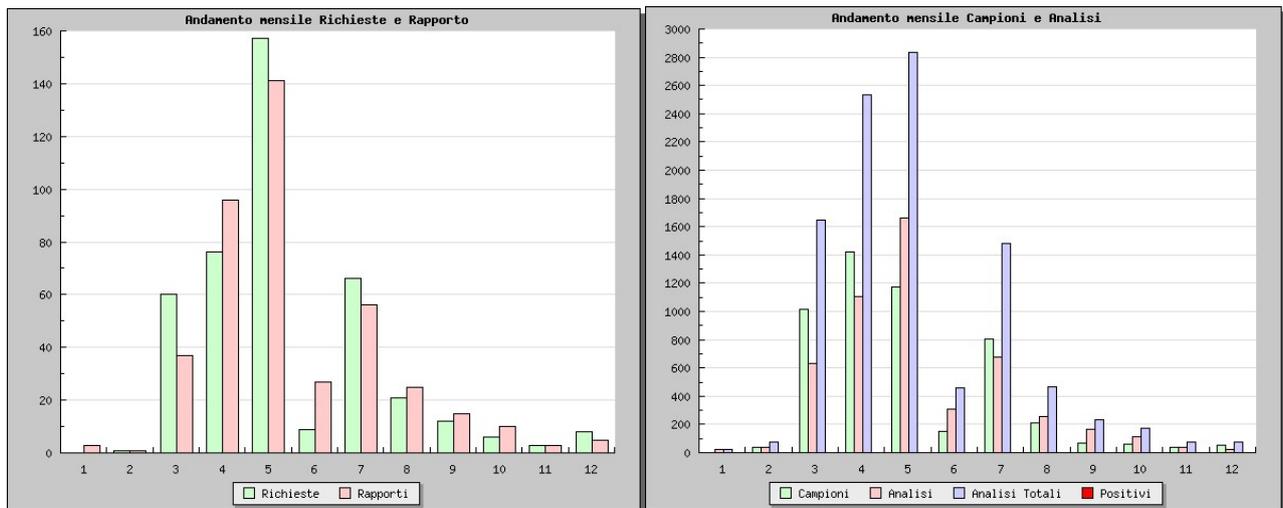
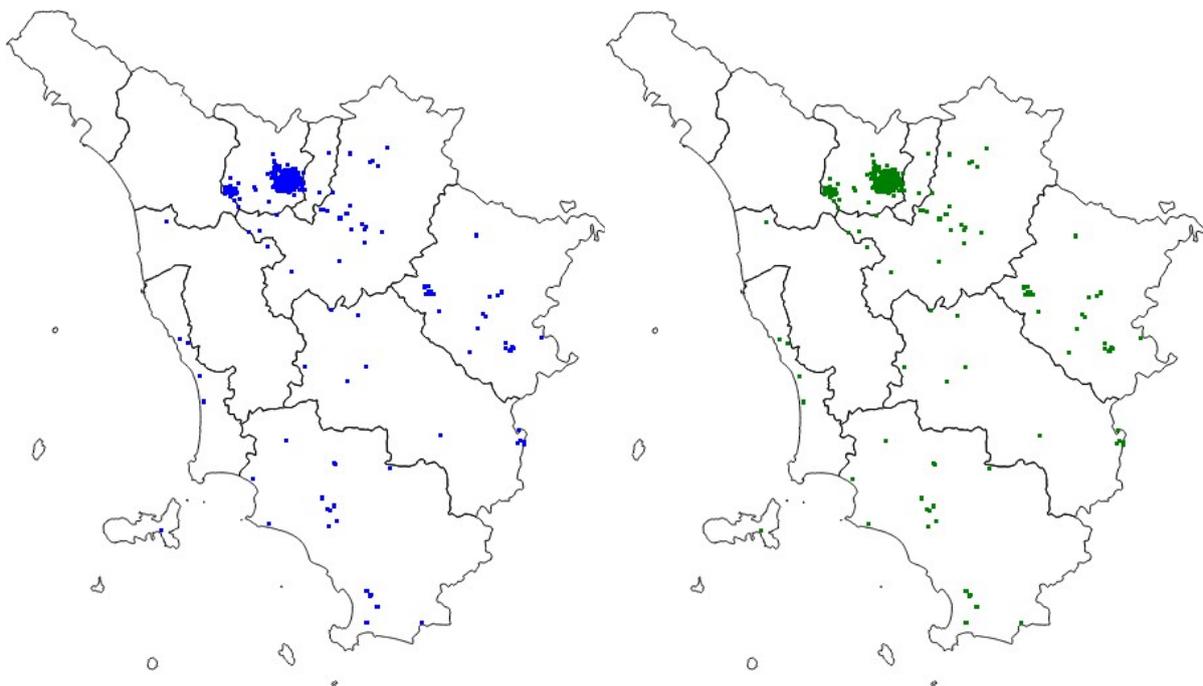


Fig. carico di lavoro annuale (monitoraggio Dec. UE 2017/2352 e successive) distinto per mese. Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Da questi dati si può evincere come i maggiori carichi di attività avvengano nel periodo aprile-maggio e a luglio.

La distribuzione territoriale dei campioni prelevati riflette quella dei vivai.



In questa categoria (Dec. UE 2017/2352 e successive) la distribuzione territoriale dei campioni prelevati e dei risultati ottenuti (verde: negativi; rossi: positivi) riflette la distribuzione della

produzione vivaistica della regione. Di conseguenza le massime concentrazioni dei prelievi e campionamenti sono situate nel comprensorio vivaistico di Pistoia e di Pescia (PT).

In quest'ultimo caso, in dettaglio, si possono evidenziare meglio da punto di vista grafico, la distribuzione dei prelievi (blu) e dei risultati (in verde - tutti negativi) .

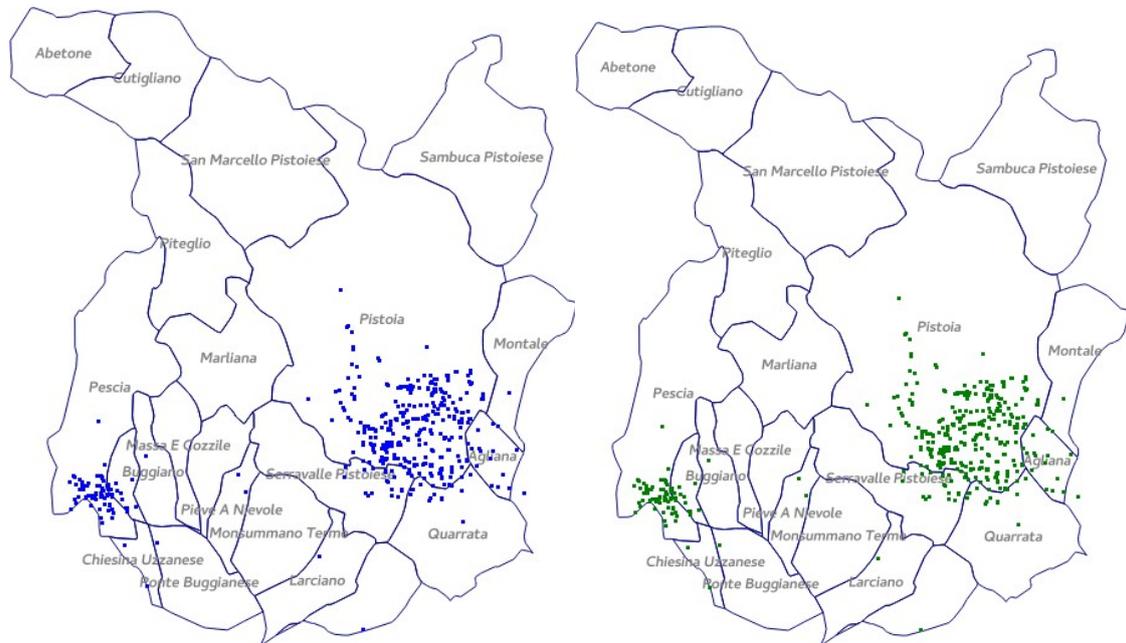


Fig. Rappresentazione grafica della distribuzione territoriale (monitoraggi Dec. UE 2017/2352 e successive) in provincia di Pistoia dei campioni prelevati (blu) e dei relativi risultati (verde = negativo, rosso = positivo) nel corso del 2019.

Certificazione Vivaistica della Vite ai sensi del DM 07/07/2006

Rientrano in tale ambito le attività di certificazione vivaistica della vite prevista dalla normativa di cui sopra.

Nel corso della prima parte del 2019 sono state completate le attività analitiche per la verifica della presenza delle virosi oggetto della certificazione (*ArMV*, *GFLV*, *GFKV*, *GLRaV-1*, *GLRaV-3*, *GVA*) per i vivai monitorati.

I campioni sono stati 294 a fronte di 2058 analisi complessive. Tale attività è avvenuta in collaborazione con il laboratorio di virologia vegetale dell'Università di Pisa, (Prof. A. Materazzi). I dati di dettaglio sono di seguito esplicitati:

Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	75		0	0	
Campioni	294		0	0	
Patogeni	6		0	0	
Metodi	6		0	0	
Specie	1		0	0	
Prove di amplificabilita'	294	14,3	0	0	0
Analisi	1764	85,7	0	0	0
Analisi totali	2058		0	0	
Autorizzati	3	21,4	0	0	0
Non Autorizzati	11	78,6	0	0	0
Importatori	0	0	0	0	0
Altri Soggetti	0	0	0	0	0
Territorio	0	0	0	0	0
Risultati Positivi	30	1,7	0	0	0
Risultati Negativi	1734	98,3	0	0	0
Risultati Indeterminati	0	0	0	0	0

Graficamente analizzando la distribuzione delle analisi per tipo utente ed in funzione del risultato.

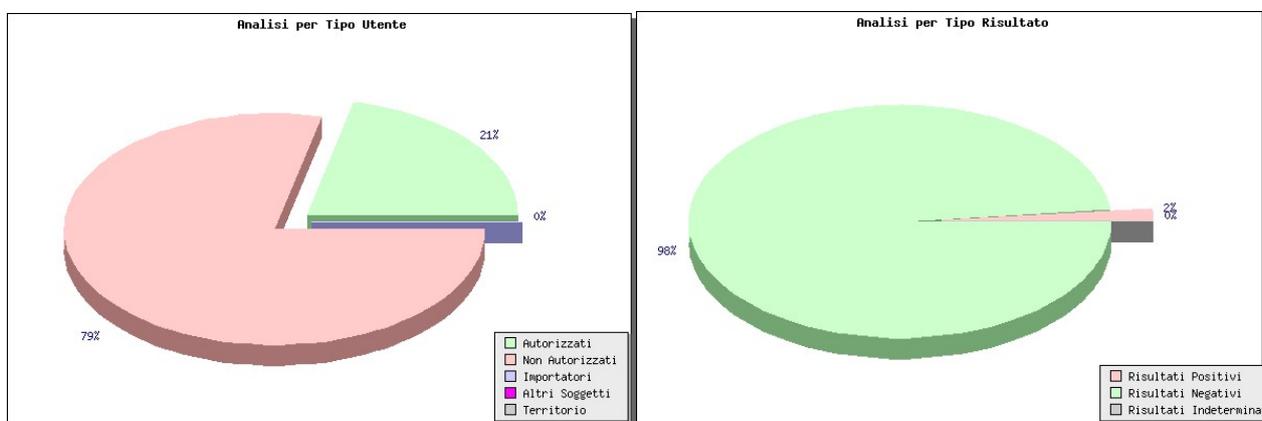


Fig. distinzione delle analisi per tipologia di utente e in relazione ai risultati ottenuti (certificazione vivaistica della vite).

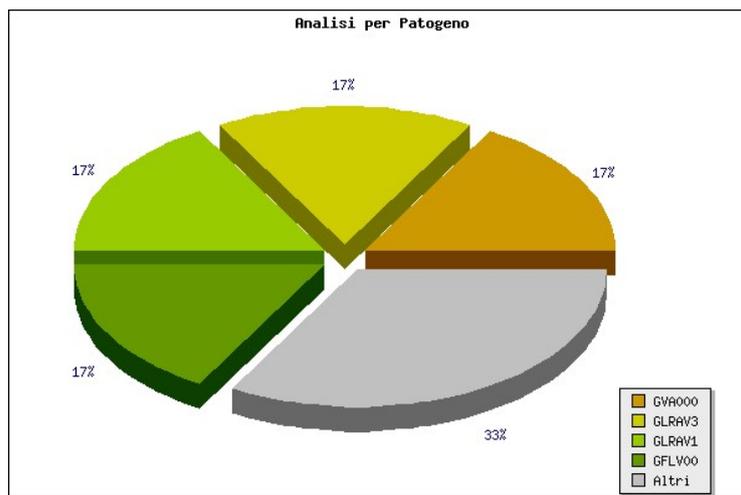


Fig. distinzione delle analisi per ON indagato (certificazione vivaistica della vite).

Tipologia dei vari organismi nocivi indagati ai sensi del DM 07/07/2006 per la certificazione vivaistica della vite, con i relativi numeri analitici risultanti dall'attività del 2019.

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Arabis Mosaic virus (ArMV)	ARMV00	294	294	0	0
Grapevine fan leaf virus (GFLV)	GFLV00	294	294	0	0
Grapevine fleck virus (GFKV)	GFKV00	294	294	0	0
Grapevine leaf roll associated virus - 1 (GLRaV-1)	GLRAV1	294	290	4	0
Grapevine leaf roll associated virus - 3 (GLRaV-3)	GLRAV3	294	270	24	0
Grapevine virus A (GVA)	GVA000	294	292	2	0

Per quanto riguarda il carico di lavoro, come si può denotare dalla tabella e dai relativi grafici collegati, il prelievo dei campioni è avvenuto nei primi due mesi dell'anno, mentre le analisi e i relativi referti diagnostici entro la fine di marzo.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	51	0	280	0	280	0
Febbraio	24	0	14	0	14	0
Marzo	0	75	0	1764	1764	30
Aprile	0	0	0	0	0	0
Maggio	0	0	0	0	0	0
Giugno	0	0	0	0	0	0
Luglio	0	0	0	0	0	0
Agosto	0	0	0	0	0	0
Settembre	0	0	0	0	0	0
Ottobre	0	0	0	0	0	0
Novembre	0	0	0	0	0	0
Dicembre	0	0	0	0	0	0

Graficamente:

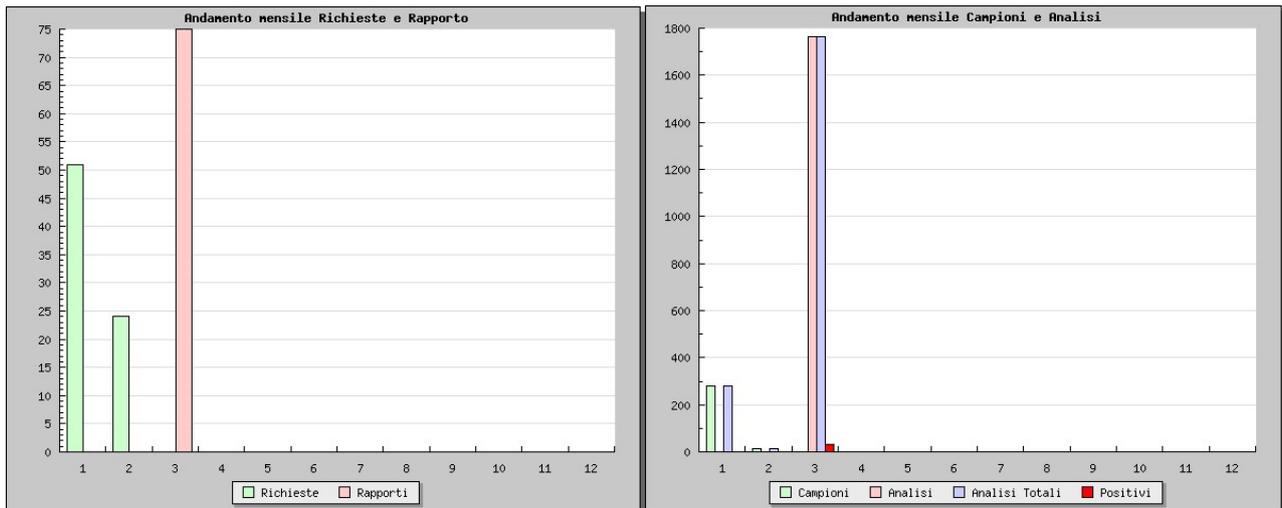


Fig. carico di lavoro annuale (certificazione vivaistica della vite) distinto per mese. Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Monitoraggio Fitoplasmi della Vite

Quest'anno si è avuto una riduzione, rispetto all'anno scorso, delle attività in questo ambito. Anche in relazione ad affidamenti esterni per il monitoraggio a livello di impianti produttivi nelle principali aree vitivinicole della regione. I campioni prelevati complessivamente sono stati 1274 con corrispondenti circa 2548 analisi. Nel dettaglio:

Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	149		0	0	
Campioni	1274		0	0	
Patogeni	2		0	0	
Metodi	3		0	0	
Specie	4		0	0	
Prove di amplificabilità	1274	50	0	0	0
Analisi	1274	50	0	0	0
Analisi totali	2548		0	0	
Autorizzati	4	3,1	0	0	0
Non Autorizzati	49	37,4	0	0	0
Importatori	0	0	0	0	0
Altri Soggetti	1	0,8	0	0	0
Territorio	77	58,8	0	0	0
Risultati Positivi	142	11,1	0	0	0
Risultati Negativi	1114	87,4	0	0	0
Risultati Indeterminati	18	1,4	0	0	0

La distribuzione per specie evidenzia ulteriori specie vegetali, oltre alla vite, che sono state oggetto di indagine. Ciò è dovuto ad attività di sperimentazione e verifiche della presenza dei citoplasmi della vite su specie spontanee adiacenti ai vigneti, al fine di verificarne l'infettività o meno.

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Clematis vitalba	CLVVT	4	4	4	0	0
Convolvulus sp.	CONSS	2	2	2	0	0
Rovo	RUBFR	1	1	1	0	0
Vitis spp	VITSS	1267	1267	1107	142	18

Graficamente:

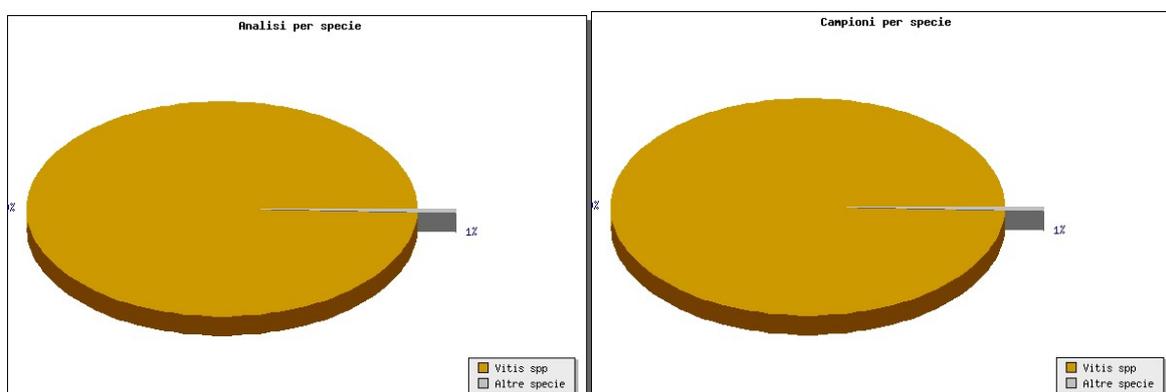


Fig. distinzione delle attività relative ai monitoraggi per i fitoplasmi della vite, in funzione dei campioni e delle relative analisi distinti per specie vegetali oggetto di prelievo. La distribuzione dei campioni (in questo caso) per specie è, ovviamente, uguale alle analisi per specie vegetale.

Come si può vedere per le altre specie spontanee, si tratta di valori residuali rispetto alla Vite.

Per quanto riguarda il carico di lavoro annuale, distinto per mese, in questo le attività si concentrano nel periodo autunnale, da settemte fino a novembre.

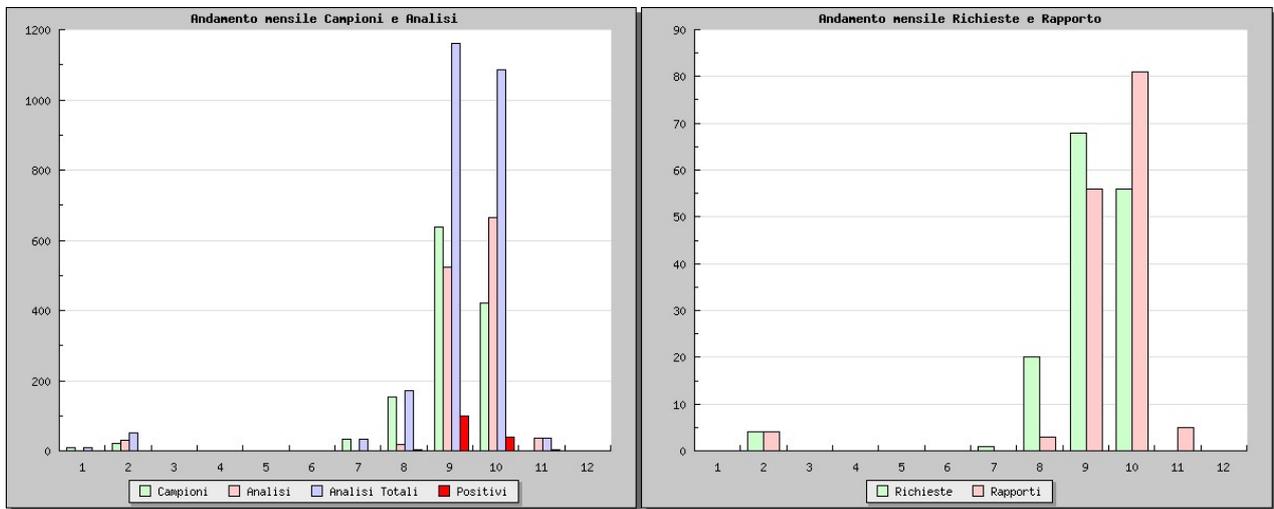


Fig. carico di lavoro annuale (fitoplasmi della vite) distinto per mese. Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Campionamenti effettuati da personale SFR in attività non previste dai Monitoraggi Istituzionali ma comunque di Interesse Fitosanitario

In questa categoria rientrano le attività che riguardano:

- campioni prelevati dagli ispettori fitosanitari nel corso di monitoraggi istituzionali (ma non gestiti con l'applicativo Fitosirt) con sintomatologie "sospette" che necessitavano di conferme diagnostiche, in quanto potenzialmente di interesse fitosanitario;
- campioni prelevati dai tecnici di laboratorio per verifiche diagnostiche finalizzate alla validazione e sviluppo di nuovi metodi di analisi per patogeni di qualità o comunque non contemplati dalla normativa di quarantena;
- campioni derivanti da indagini *extra* svolte dal laboratorio su diversi Organismi Nocivi previsti dalla normativa fitosanitaria ma non contemplati dal Piano delle Attività del SFR per il 2019.

Dati Generali campionamenti effettuati da personale SFR in attività non previste dai monitoraggi istituzionali ma comunque di interesse fitosanitario.

Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	3		0	0	
Campioni	65		0	0	
Patogeni	7		0	0	
Metodi	7		0	0	
Specie	3		0	0	
Prove di amplificabilità	110	35,4	0	0	0
Analisi	201	64,6	0	0	0
Analisi totali	311		0	0	
Autorizzati	0	0	0	0	0
Non Autorizzati	0	0	0	0	0
Importatori	3	100	0	0	0
Altri Soggetti	0	0	0	0	0
Territorio	0	0	0	0	0
Risultati Positivi	1	0,5	0	0	0
Risultati Negativi	200	99,5	0	0	0
Risultati Indeterminati	0	0	0	0	0

Graficamente:

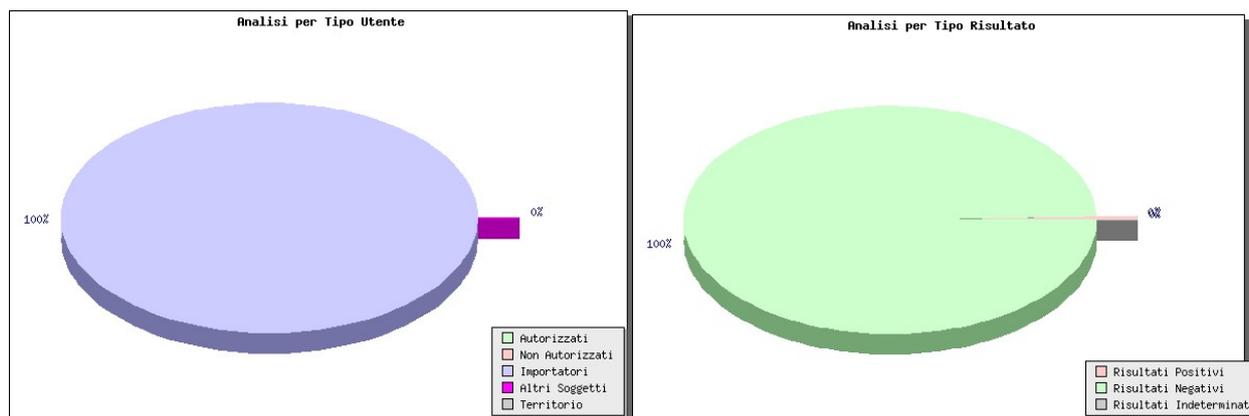


Fig. distinzione delle analisi per tipologia di utente e in relazione ai risultati ottenuti (personale SFR_interesse fitosanitario).

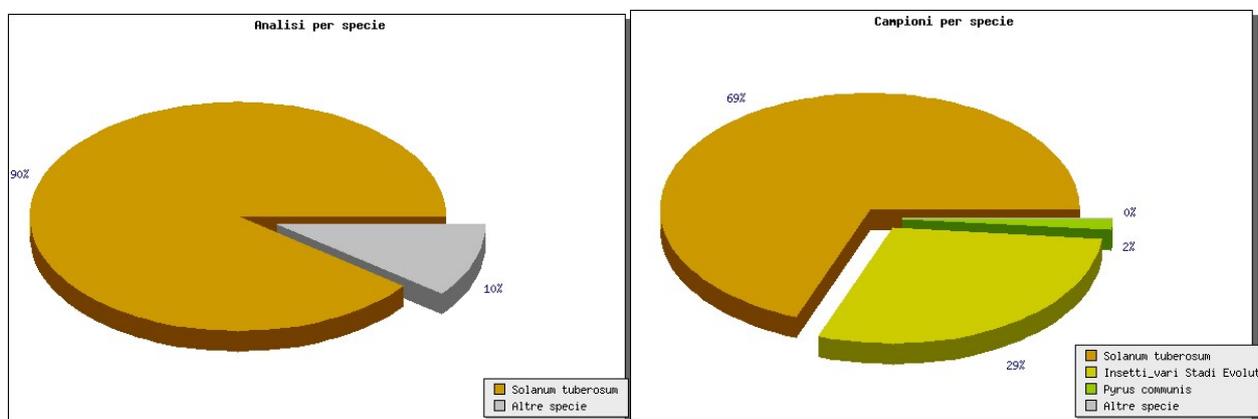


Fig. distinzione delle analisi e campioni in funzione delle specie vegetali oggetto di prelievo (personale SFR_interesse fitosanitario).

In forma tabellare, specie vegetali/insetti

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Insetti_vari Stadi Evolutivi	AJJJJJ	19	19	18	1	0
Pyrus communis	PYUCO	1	2	2	0	0
Solanum tuberosum	SOLTU	45	180	180	0	0

ed elenco ON oggetto d'indagine.

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Ralstonia solanacea rum	RALSSL	45	45	0	0
Xylella fastidiosa	XYLEFA	19	18	1	0
Apple stem grooving virus (ASGV)	ASGV00	1	1	0	0
Apple stem pitting virus (ASPV)	ASPV00	1	1	0	0
Potato mop top virus (PMTV)	PMTV00	45	45	0	0
Potato virus Y	PVY000	45	45	0	0
Tobacco rattle virus (TRV)	TRV000	45	45	0	0

È importante considerare che l'unico campione positivo riscontrato è costituito da un esemplare di *Neophilaenus campestris* risultato positivo a *Xylella fastidiosa*.

Per quanto riguarda il carico di lavoro annuale, per tale categoria di attività:

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	1	0	45	0	45	0
Febbraio	0	1	0	180	180	0
Marzo	0	0	0	0	0	0
Aprile	0	0	0	0	0	0
Maggio	0	0	0	0	0	0
Giugno	0	0	0	0	0	0
Luglio	1	0	1	0	1	0
Agosto	1	1	19	2	21	0
Settembre	0	1	0	19	19	1
Ottobre	0	0	0	0	0	0
Novembre	0	0	0	0	0	0
Dicembre	0	0	0	0	0	0

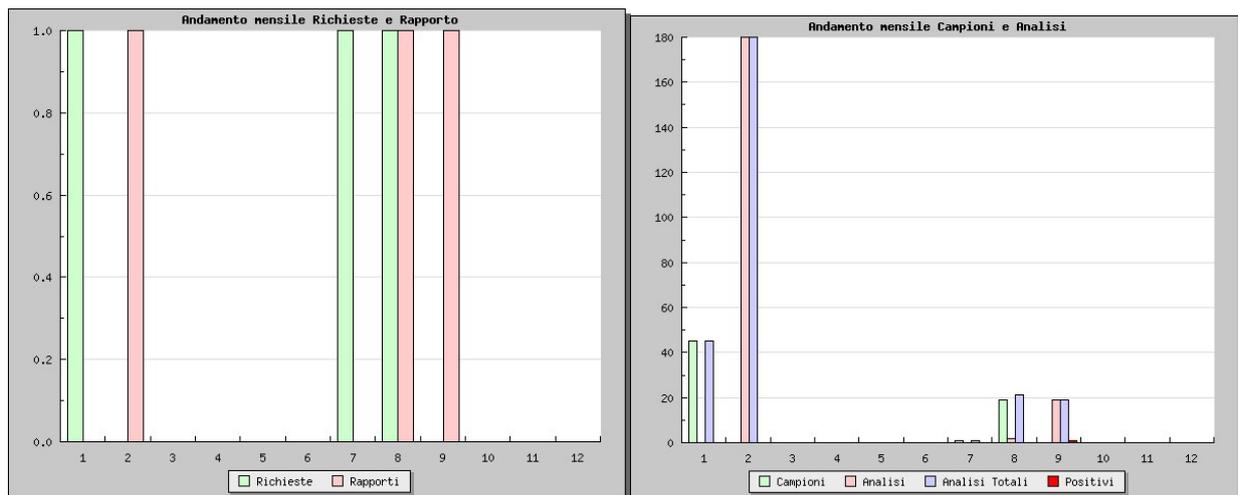


Fig. carico di lavoro annuale (personale SFR_interesse fitosanitario) distinto per mese. Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Campionamenti effettuati da tecnici/vivaisti/privati su segnalazione e di Interesse Fitosanitario per il SFR o per attività legate all'Autocontrollo Fitosanitario

Il numero di richieste complessive pervenute in laboratorio nel corso del 2019 provenienti da vivaai, consulenti tecnici, aziende ortoflorovivaistiche, ditte sementiere e privati in genere, sono state complessivamente 12 per un totale di 454 campioni. Rientrano in questa categoria anche le richieste di autocontrollo fitosanitario dei vivaai di piante ornamentali.

Molti privati e/o tecnici anche quest'anno ci hanno contattato per delle analisi intese come servizi a terzi. In relazione alla revoca del tariffario del laboratorio SFR avvenuta ad inizio 2016), in molti di questi casi siamo stati costretti a declinare le richieste dirottandole su altri laboratori, prettamente di ricerca (Università di Pisa e Firenze), mentre in altri di interesse fitosanitario abbiamo effettuato la ricerca di organismi di quarantena inglobando i relativi dati all'interno dei monitoraggi previsti a livello regionale. In allegato troviamo il quadro generale delle attività effettuate dal laboratorio per questa categoria. Si evince un numero complessivo di analisi effettuate pari a 3920, anche in considerazione del fatto, che per analisi si intende ogni attività analitica volta sia alla diagnosi di un agente patogeno sia alla determinazione di un gene endogeno per verificare l'amplificabilità degli acidi nucleici estratti. I numeri molto alti verificatisi nel corso del 2019, sono dovuti principalmente alle attività analitiche effettuate per la verifica fitosanitaria del germoplasma autoctono di varietà di fruttiferi regionali (Prunus sp e Pyrus sp) come da accordo/convenzione con Terre regionali Toscane.

Dati Generali campionamenti effettuati da tecnici/vivaisti/privati su segnalazione e di interesse fitosanitario per il SFR:

Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	12		11	91,7	
Campioni	454		453	99,8	
Patogeni	23		22	95,7	
Metodi	29		28	96,6	
Specie	5		4	80	
Prove di amplificabilita'	999	22,4	998	22,4	22,4
Analisi	3.466	77,6	3.465	77,6	77,6
Analisi totali	4.465		4.463	100	
Autorizzati	0	0	0	0	0
Non Autorizzati	0	0	0	0	0
Importatori	0	0	0	0	0
Altri Soggetti	1	100	1	100	100
Territorio	0	0	0	0	0
Risultati Positivi	171	4,9	170	99,4	4,9
Risultati Negativi	3.295	95,1	3.295	100	95,1
Risultati Indeterminati	0	0	0	0	0

Graficamente:

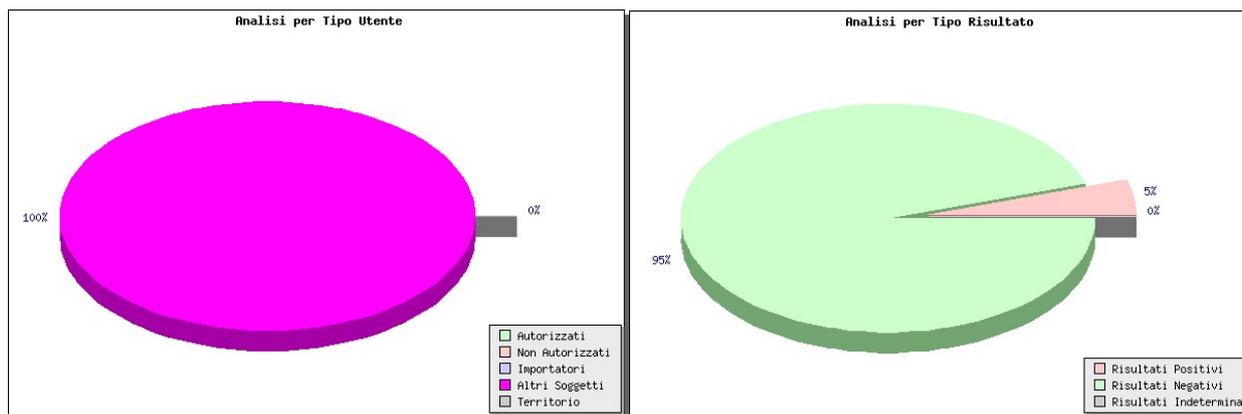


Fig. distinzione delle analisi per tipologia di utente e in relazione ai risultati ottenuti (richiesta esterna_interesse fitosanitario).

Dati per specie vegetale

Specie	Campioni
<i>Prunus armeniaca</i> (Albicocco)	112
<i>Prunus avium</i> (Ciliegio)	210
<i>Prunus persica</i> (Pesco)	86
<i>Pyrus spp</i>	45
<i>Quercus spp</i>	1

Graficamente:

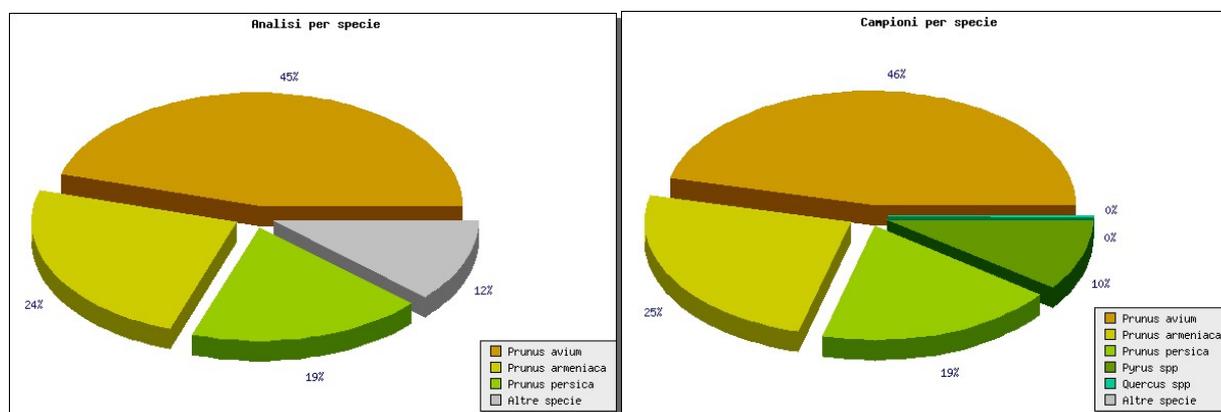


Fig. distinzione delle analisi e dei campioni in funzione delle specie vegetali oggetto di prelievo (richiesta esterna_interesse fitosanitario).

Organismi Nocivi oggetto di indagine (richiesta esterna_Interesse fitosanitario).

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Xylella fastidiosa	XYLEFA	249	249	0	0
Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	ACLSV0	249	249	0	0
Candidatus phytoplasma prunorum	PHYPPR	204	204	0	0
American plum line pattern virus (APLPV)	APLPV0	204	204	0	0
Apricot latent virus(ApLV)	ALV000	204	204	0	0
Arabis Mosaic virus (ArMV)	ARMV00	204	204	0	0
Cherry leaf roll virus (CLRV)	CLRV00	204	204	0	0
Peach rosette mosaic virus (PRMV)	PRMV00	204	204	0	0
Plum bark necrotic spot associated virus (PBNSPaV)	PBNSPA	204	204	0	0
Plum pox virus (PPV)	PPV000	204	204	0	0
Prune dwarf virus (PDV)	PDV000	204	119	85	0
Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)	PNRSV0	204	186	18	0
Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)	SLRSV0	204	204	0	0
Hop Stunt Viroid (HSVd)	HSVD00	204	176	28	0
Peach latent mosaic viroid (PLMVd)	PLMVD0	204	188	16	0
Erwinia amylovora	ERWIAM	45	45	0	0
Candidatus phytoplasma mali	PHYPMA	45	45	0	0
Apple mosaic virus (ApMV)	APMV00	45	45	0	0
Apple stem grooving virus (ASGV)	ASGV00	45	45	0	0
Apple stem pitting virus (ASPV)	ASPV00	45	34	11	0
Apple dimple fruit viroid (ADFVd)	ADFVD0	45	45	0	0
Apple Scar skin viroid (ASSVd)	ASSVD0	45	33	12	0
Biscognauxia mediterranea	HYPOME	1	0	1	0

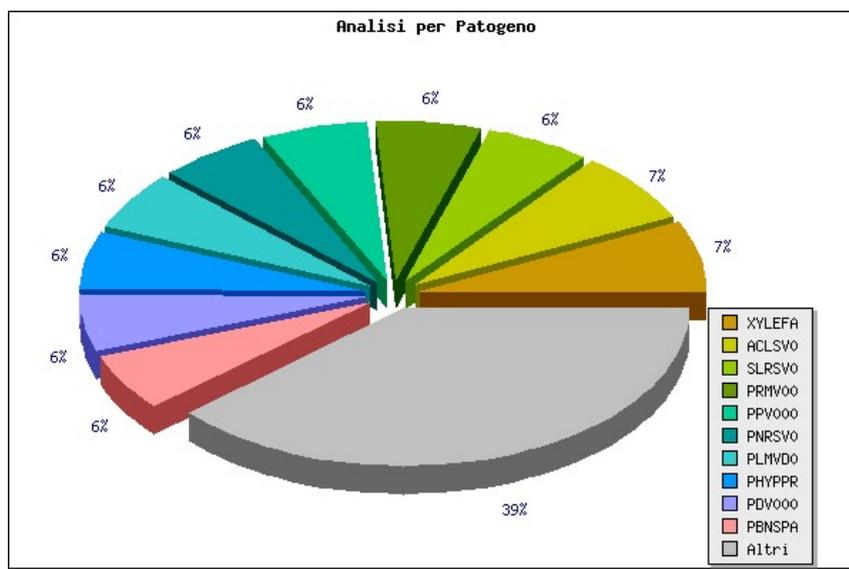


Fig. distinzione delle analisi in funzione degli ON indagati (richiesta esterna_interesse fitosanitario).

Sull'andamento delle attività nel corso dell'anno, in forma tabellare:

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	1	1	1	1	2	1
Febbraio	0	0	0	0	0	0
Marzo	0	0	0	0	0	0
Aprile	0	0	0	0	0	0
Maggio	0	0	0	0	0	0
Giugno	5	0	288	0	288	0
Luglio	6	0	165	0	165	0
Agosto	0	0	0	0	0	0
Settembre	0	0	0	0	0	0
Ottobre	0	0	0	0	0	0
Novembre	0	11	0	3465	3465	170
Dicembre	0	0	0	0	0	0

E graficamente

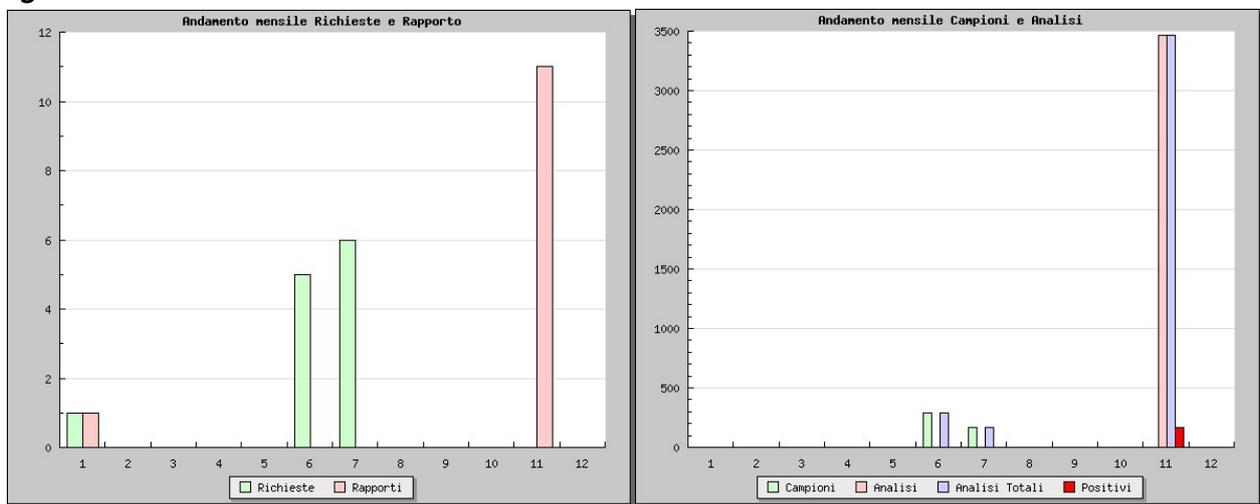


Fig. carico di lavoro annuale (richiesta esterna_interesse fitosanitario) distinto per mese. Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

Monitoraggio di *Xylella fastidiosa*

Un dettaglio a parte merita l'analisi delle attività svolte per il monitoraggio di *Xylella fastidiosa* nel corso del 2019 alla luce del ritrovamento del focolaio nell'area del Monte Argentario (GR). Infatti, in questo caso le attività si sono diversificate a seconda che il monitoraggio è stato effettuato in aree indenni dal focolaio oppure in area delimitata ai sensi della normativa specifica.

Nel corso del 2019, inoltre, sono state sottoposte ad analisi di caratterizzazione genetica mediante analisi di sequenza del gene *nuoL* di *Xylella fastidiosa* (Yuan et al., 2010) n. 215 estratti di acidi nucleici da matrici vegetali di origine diversa forniti all'uso dal Servizio Fitosanitario Regionale. Le successive analisi di sequenziamento in forward e reverse effettuate su 101 ampliconi hanno chiaramente evidenziato una identità di sequenza del 100% con l'allele 21 del gene *NuoL* di *Xylella fastidiosa*. Ai fini di una verifica, è stato effettuato l'approccio MLST su 20 dei suddetti estratti di acidi nucleici di origine vegetale e su quelli di un insetto potenzialmente vettore del batterio. In tutti i casi le analisi di sequenza hanno permesso di rilevare, in maniera inequivocabile, la presenza del solo ST87.

Dati Generali campioni provenienti dal monitoraggio istituzionale del Servizio Fitosanitario per *Xylella fastidiosa* in relazione al numero e tipologia delle richieste di analisi/verbali di campionamento:

Richiesta				
Tipo Richiesta	Analisi richiesta da ispettore	Analisi extra concordata	Analisi extra per laboratorio	TOTALE
Richiesta esterna	6	0	0	6
No monitoraggio, ma di interesse fitosanitario	1	0	0	1
Monitoraggio istituzionale	3045	541	21	3607
Certificazione vivaistica della vite	0	0	0	0
Fitoplasmi della vite	0	0	0	0
Decisione UE 2352 - <i>Xylella fastidiosa</i>	419	0	0	419
Autocontrollo fitosanitario	0	0	0	0
TOTALE	3471	541	21	4033

Il maggior numero di verbali di prelievo/richieste DF (diagnostica fitopatologia) per il laboratorio si sono estrinsecate attraverso i monitoraggi istituzionali e sui monitoraggi legati alla Dec. UE 2017/2352. Una ulteriore parte deriva da attività concordata con gli ispettori fitosanitari preposti e concerne alcune attività, quali quelle sulla vite (certificazione vivaistica, fitoplasmi), su PPV e CTV dove viene ricercata e indagata anche la *Xylella fastidiosa* oltre all'ON target per cui sono richieste le analisi. Seguono voci residuali, quali richiesta esterna e di interesse fitosanitario, dove sono state effettuate anche le analisi per la ricerca di *Xylella fastidiosa*. Una visione dell'entità numerica del peso di ciascuna voce, si può avere analizzando il numero di campioni corrispondente a ciascuna categoria. Per cui discriminando, numero e tipologia dei campioni prelevati per verifiche su *Xylella fastidiosa*, si ha:

Campione				
Tipo Richiesta	Analisi richiesta da ispettore	Analisi extra concordata	Analisi extra per laboratorio	TOTALE
Richiesta esterna	249	0	0	249
No monitoraggio, ma di interesse fitosanitario	19	0	0	19
Monitoraggio istituzionale	7422	3974	213	11609
Certificazione vivaistica della vite	0	0	0	0
Fitoplasmi della vite	0	0	0	0
Decisione UE 2352 - Xylella fastidiosa	5037	0	0	5037
Autocontrollo fitosanitario	0	0	0	0
TOTALE	12727	3974	213	16914

Attività effettuate presso il Laboratorio di Guasticce (LI) del punto di entrata di Livorno

Presso il punto di entrata di Livorno, a Guasticce (LI), è stato predisposto nel corso degli ultimi anni un piccolo laboratorio di diagnostica di pronto intervento ad uso e consumo degli ispettori/agenti che operano per i controlli fitosanitari all'Import. Vi è una sezione dedicata alla biologia molecolare, con termociclatori, materiale ed attrezzature per estrazioni acidi nucleici, et c. In particolar modo, è stata sviluppata la diagnostica da campo isotermica tipo "LAMP - *Loop mediated isothermal amplification*" per alcuni Organismi Nocivi il cui controllo è maggiormente rappresentativo. Per cui in relazione alle varie necessità operative, ed in collaborazione con l'Università di Pisa, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agroambientali (ref. Prof. Alberto Materazzi) vengono effettuate delle analisi per gli ON di cui sopra. Dal 2018, vi è una borsa di studio da parte dell'Università di Pisa, nell'ambito degli accordi di collaborazione scientifica con la Regione Toscana, dedicata a tali attività oltre alla ricerca scientifica che provvede alle principali attività diagnostiche in tale laboratorio. Nel 2019 complessivamente sono state effettuate 6.284 analisi (relative a 949 campioni), distribuite in questo modo:

Parametro	Generale	% Totale	Livorno	% Totale	% Tot. LI
Richieste	135		135	100	
Campioni	949		949	100	
Patogeni	47		47	100	
Metodi	68		68	100	
Specie	22		22	100	
Prove di amplificabilità	1558	24,8	1558	24,8	24,8
Analisi	4726	75,2	4726	75,2	75,2
Analisi totali	6284		6284	100	
Autorizzati	19	35,8	19	35,8	35,8
Non Autorizzati	18	34	18	34	34
Importatori	0	0	0	0	0
Altri Soggetti	2	3,8	2	3,8	3,8
Territorio	14	26,4	14	26,4	26,4
Risultati Positivi	246	5,2	246	100	5,2
Risultati Negativi	4478	94,8	4478	100	94,8
Risultati Indeterminati	2	0	2	100	0

Dal punto di vista grafico, alcuni elementi da evidenziare.

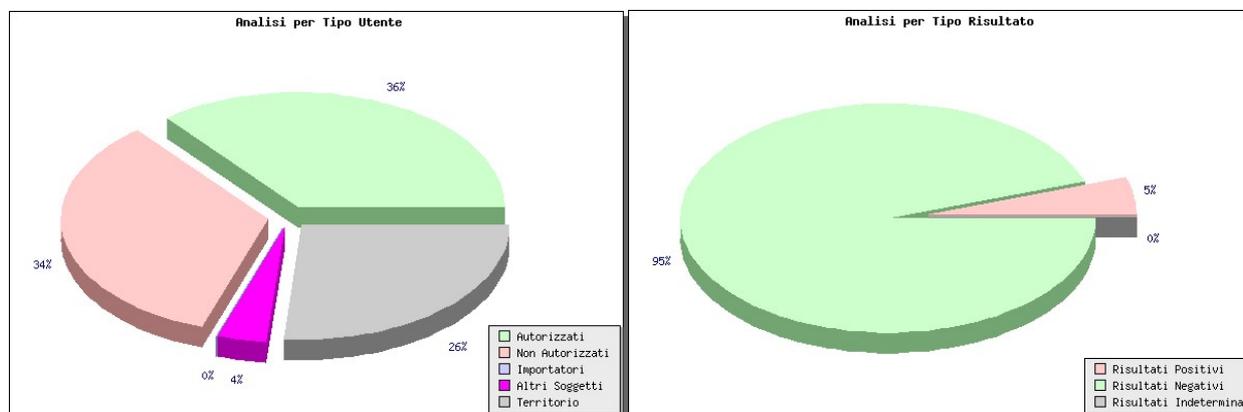


Fig. distinzione delle analisi per tipologia di utenze ed in funzione del risultato analitico (laboratorio SFR Guasticce)

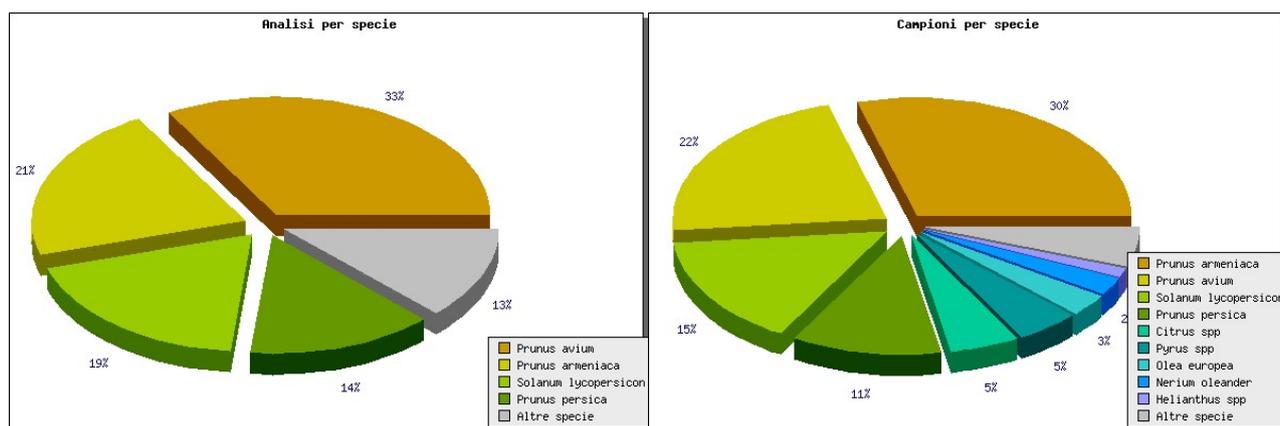


Fig. distinzione dei campioni e analisi per tipologia di specie vegetali oggetto di prelievo (laboratorio SFR Guasticce)

Elenco delle specie vegetali oggetto di prelievo durante le attività ispettive del punto di entrata del porto di Livorno

Specie	ID	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Capsicum spp	226	CPSSS	6	18	17	1	0
Citrus spp	238	CIDSS	49	60	41	18	1
Helianthus spp	276	HELSS	12	12	12	0	0
Juglans sp.	1064	IUGSS	3	3	2	1	0
Laurus nobilis	1067	LURNO	1	1	0	1	0
Malus domestica	303	MABSD	1	1	1	0	0
Medicago sativa (Erba medica)	309	MEDSA	6	6	6	0	0
Nerium oleander (Oleandro)	318	NEROL	23	23	23	0	0
Olea europea (Olivo)	319	OLVEU	29	29	29	0	0
Phaseolus vulgaris	1094	PHSVX	2	2	2	0	0
Pinus spp	336	PIUSS	3	3	3	0	0
Platanus spp	342	PLTSS	7	7	1	6	0
Polygala myrtifolia	1103	POGMY	11	11	11	0	0
Prunus armeniaca (Albicocco)	351	PRNAR	280	1008	987	21	0
Prunus avium (Ciliegio)	353	PRNAV	210	1575	1485	90	0
Prunus persica (Pesco)	359	PRNPS	107	666	630	36	0
Pyrus spp	368	PYUSS	45	405	382	23	0
Solanum lycopersicon (pomodoro)	388	LYPES	143	885	836	48	1
Spartium junceum	1122	SPUJU	2	2	2	0	0
Ulmus sp.	1130	ULMSS	1	1	1	0	0
Varie	404	XXXXX	6	6	5	1	0
Zea mays (Mais)	413	ZEAMX	2	2	2	0	0

Organismi Nocivi oggetto di indagine (laboratorio SFR Guasticce – LI)

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Candidatus liberibacter solanacearum	LIBEPS	53	53	0	0
Clavibacter michiganensis subsp. Insidiosus	CORBIN	6	6	0	0
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis	CORBMI	140	137	3	0
Erwinia amylovora	ERWIAM	45	45	0	0
Pantoea stewartii	ERWIST	2	2	0	0
Ralstonia solanacearum	RALSSL	94	94	0	0
Xanthomonas axonopodis pv phaseoli	XANTPH	2	2	0	0
Xanthomonas citri pv citri	XANTCI	30	20	10	0
Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii	XANTEU_multi	144	141	3	0
Xanthomonas spp	XANTSP	2	2	0	0
Xanthomonas vesicatoria	XANTVE	1	1	0	0
Xylella fastidiosa	XYLEFA	325	325	0	0
Candidatus phytoplasma mali	PHYPPMA	45	45	0	0
Candidatus phytoplasma prunorum	PHYPPR	204	204	0	0
Xylosandrus compactus	XYLSCO	1	0	1	0
Xylosandrus crassiusculus	XYLBCR	1	1	0	0
Bursaphelenchus xylophilus	BURXSY	1	1	0	0
Universali per Insetti		11	9	2	0
American plum line pattern virus (APLPV)	APLPV0	204	204	0	0
Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	ACLSV0	249	249	0	0
Apple mosaic virus (ApMV)	APMV00	45	45	0	0
Apple stem grooving virus (ASGV)	ASGV00	45	45	0	0
Apple stem pitting virus (ASPV)	ASPV00	45	34	11	0
Apricot latent virus(ApLV)	ALV000	204	204	0	0
Arabis Mosaic virus (ArMV)	ARMV00	204	204	0	0
Cherry leaf roll virus (CLRV)	CLRV00	204	204	0	0
Cucumber Mosaic Virus (CMV)	CMV000	94	94	0	0
Peach rosette mosaic virus (PRMV)	PRMV00	204	204	0	0
Pepino Mosaic virus (PepMV)	PEPMV0	124	108	15	1
Plum bark necrotic spot associated virus (PBNSPaV)	PBNSPA	204	204	0	0
Plum pox virus (PPV)	PPV000	204	204	0	0
Prune dwarf virus (PDV)	PDV000	267	182	85	0
Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)	PNRSV0	267	249	18	0
Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)	SLRSV0	204	204	0	0
Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	TOBRFV	14	14	0	0
Tomato leaf curl New Daehli Virus (ToLNDV)	TOLCND	14	14	0	0
Tomato spotted wilt virus (TSWV)	TSWV00	94	94	0	0
Ceratocystis platani	CERAFF	7	1	6	0
Elsinoe fawcettii	ELSIFA	2	1	0	1
Guignardia citricarpa	GUIGCI	25	17	8	0
Guignardia mangiferae	GUIGMA	1	1	0	0
Plasmopara halstedii	PLASHA	12	12	0	0
Apple dimple fruit viroid (ADFVd)	ADFVD0	45	45	0	0
Apple Scar skin viroid (ASSVd)	ASSVD0	45	33	12	0
Hop Stunt Viroid (HSVd)	HSVVD00	204	176	28	0
Peach latent mosaic viroid (PLMVd)	PLMVD0	267	251	16	0

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Potato spindle tuber viroid (PSTVd)	PSTVD0	121	93	28	0

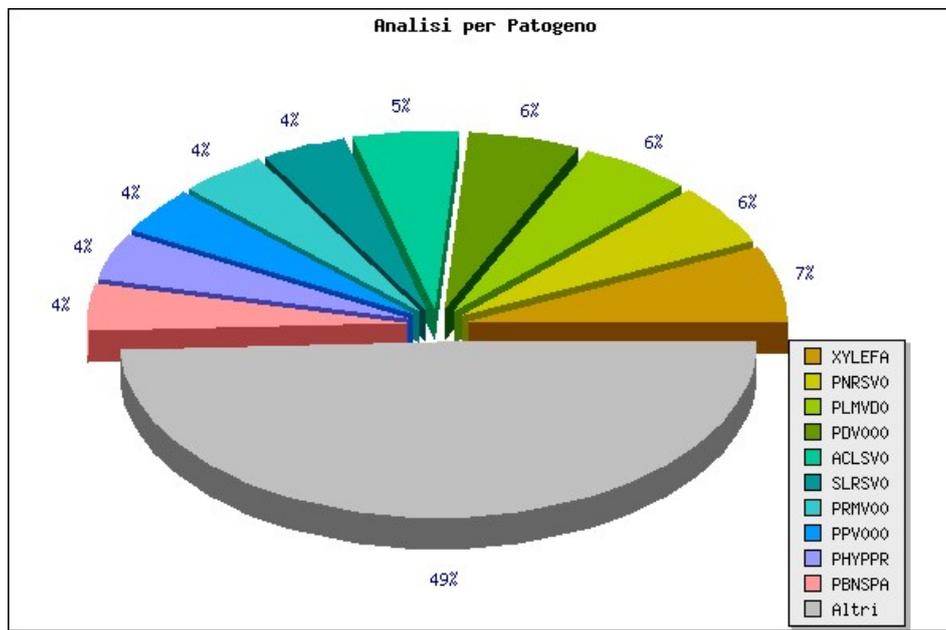


Fig. distinzione delle attività analitiche per tipologia di ON oggetto di indagine (laboratorio SFR Guasticce)

In relazione al carico di lavoro distinto a livello mensile, possiamo denotare quanto segue:

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	5	5	9	7	16	4
Febbraio	3	3	11	43	54	2
Marzo	6	5	31	27	58	2
Aprile	6	6	22	45	67	0
Maggio	16	11	54	255	309	0
Giugno	10	9	330	103	433	6
Luglio	48	21	419	309	728	33
Agosto	8	15	8	82	90	3
Settembre	8	5	14	29	43	1
Ottobre	11	11	20	22	42	4
Novembre	10	23	27	3610	3637	187
Dicembre	4	19	4	194	198	4

Dal punto di vista grafico

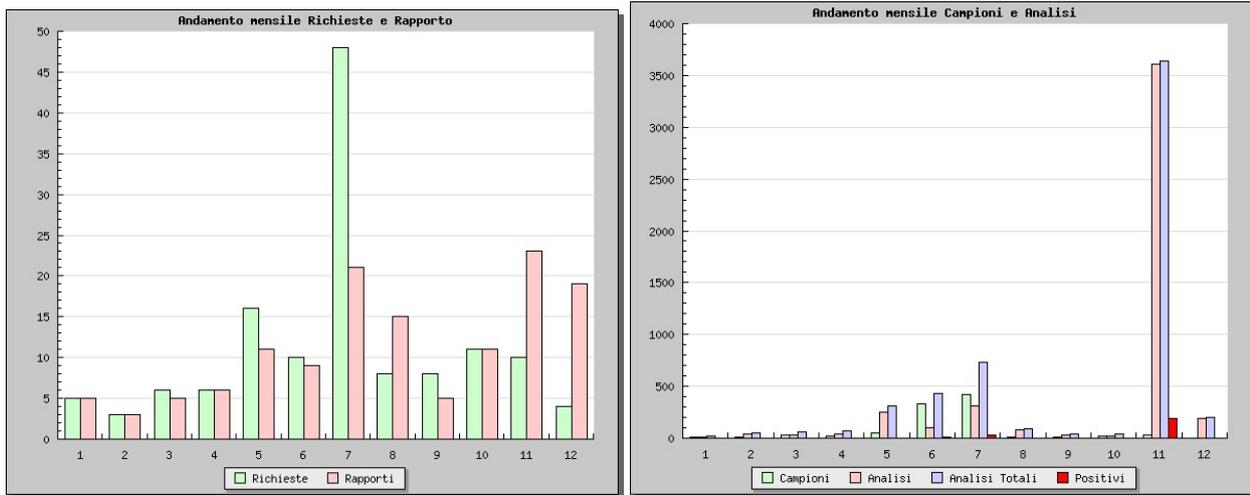
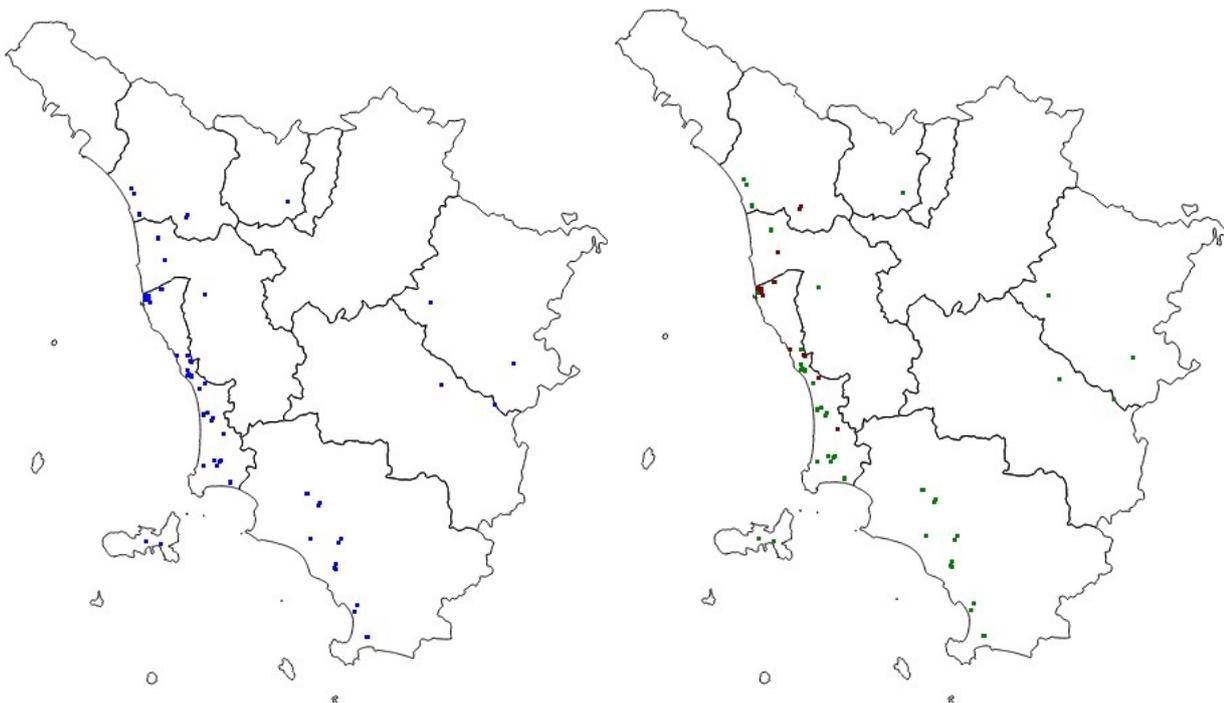


Fig. carico di lavoro annuale (laboratorio SFR Guasticce - LI). Distribuzione mensile in funzione del numero di richieste/referti e numero di campioni/analisi

La differenziazione che si evidenzia tra il periodo temporale che intercorre tra le richieste del mese di luglio e le relative analisi/campioni del mese di novembre, è giustificata dal fatto che la maggior parte di tali richieste hanno riguardato (anche in questo caso) le attività analitiche effettuate nei confronti del germoplasma autoctono di varietà di fruttiferi regionali come da accordo/convenzione con Terre regionali Toscane.

Dal punto di vista della distribuzione territoriale dei campioni prelevati, come si evince dalle mappe sottostanti, si nota come rifletta la parte costiera e più o meno di pertinenza territoriale della sede di Livorno – Pisa del SFR.



Software gestionale del Lab – FITOSIRT

A partire dal 2018 la gestione del laboratorio è cambiata con l'utilizzo del nuovo software gestionale FitoSIRT. Questo applicativo ha riorganizzato la gestione amministrativa e ha rivoluzionato l'attività di monitoraggio in campo attraverso un'APP utilizzata con i dispositivi mobili (Tablet e Smartphone).

La maggior quantità di dati di alta qualità ha praticamente azzerato l'impegno ad inserire manualmente i dati acquisiti in campo per procedere alla loro gestione in laboratorio, lasciando libere risorse importanti per supportare l'incrementato carico di lavoro. Come descritto in "*Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio*", la quantità di campioni e di analisi nel 2019 è stato circa 3.5 volte quello medio degli anni precedenti (2013-2018). Pertanto, l'ottimizzazione dell'acquisizione dati introdotta da FitoSIRT ha reso possibile rispondere alle richieste provenienti dagli ispettori, senza tuttavia allungare troppo il tempo di attesa dei risultati, che pur essendo aumentato di circa il 50% si è mantenuto entro i 7 gg, passando da 3.5 gg nel 2017 e 4.6 gg nel 2018 a 6.9 gg nel 2019.

Vediamo quindi quali sono le caratteristiche di FitoSIRT che hanno contribuito ad ottimizzare il lavoro del laboratorio:

- dati di campionamento acquisiti da APP
- visibilità richiesta immediata alla chiusura del verbale di campionamento
- accettazione dati
- gestione veloce
- refertazione veloce
- gestione manualistica metodi di analisi
- supporto alla refertazione automatica
- diario ritrovamenti

I dati di campionamento acquisiti con l'APP hanno migliorato drasticamente la qualità dei dati ed hanno reso automatica la creazione della richiesta, senza alcun intervento da parte dei tecnici in laboratorio. In sintesi, quando un verbale di campionamento viene chiuso, i dati vengono inviati dal dispositivo mobile al server FitoSIRT, che valida i dati, crea i verbali e l'eventuale richiesta analisi al laboratorio specificato (Pistoia o Livorno). Il miglioramento della qualità dei dati è consistita in:

- informazioni anagrafiche codificate
- nastro sigillo correttamente formattato e sicuramente univoco
- specie vegetale codificata (EPPO)
- matrice codificata
- target di analisi codificato (EPPO)
- coordinate geografiche acquisite da GPS e validate in fase di import
- tipologia di utente automatica in base al tipo di verbale nell'ambito del quale è stato effettuato il campionamento

FitoSIRT ha adottato la codifica EPPO sia per le specie vegetali sia per gli organismi nocivi, riducendo così i possibili errori e migliorandone la capacità di comunicazione. Come noto EPPO sta per *“European and Mediterranean Plant Protection Organization”*, che è una organizzazione intergovernativa responsabile della cooperazione per la protezione delle piante in Europa e nella regione mediterranea. L’adozione di una codifica standard rende più agevole comunicare a livello internazionale il lavoro svolto. L’adozione dello standard EPPO ha migliorato anche l’interazione del SFR con il sistema di allerta fitopatologica chiamato EUOPHYT-Outbreaks, che è basato sulla *“Commission Implementing Decision 2014/917/EU”*.

Tali miglioramenti hanno effetti benefici sia sull’attività quotidiana sia sulla rendicontazione annuale.

La richiesta di analisi al laboratorio viene creata quando un verbale di campionamento viene chiuso, quindi molto prima che i campioni arrivino fisicamente in laboratorio. Pertanto, i tecnici di laboratorio possono vedere in tempo reale le richieste che vengono preparate ed organizzarsi per gestirle nel modo più efficace possibile, gestendo anche le eventuali urgenze.

Quando i campioni giungono in laboratorio, i tecnici procedono alla loro accettazione e possono quindi verificare immediatamente che tutto il materiale atteso sia presente e conforme alla richiesta. Eventuali dubbi possono essere chiariti tempestivamente con chi ha effettuato il campionamento. L’accettazione dei campioni dà il via alla loro gestione da parte del laboratorio, tracciando così le varie fasi del processamento fino a quando verrà emesso il rapporto di prova. Ogni richiesta accettata passa attraverso una serie di fasi:

- analisi in corso
- analisi completate
- refertazione

Una volta accettata la richiesta passa in fase *“Analisi in corso”* in cui vengono decisi le analisi preliminari, i metodi di analisi ed i relativi parametri per ciascun target richiesto. Quando i risultati sono pronti, la richiesta entra nella fase di *“Analisi completate”*: l’operatore inserisce la data effettiva di inizio analisi, quella di fine ed i risultati per ciascuna coppia (Campione,Target). I risultati possono essere: Non rilevato, Rilevo o Non Determinabile.

L’incredibile aumento delle richieste ha portato allo sviluppo di una funzione di gestione veloce delle richieste che consiste nel applicare a richieste omogenee una serie di parametri comuni, target per target:

- analisi preliminari
 - preparazione reagenti
 - estrazione acidi nucleici
 - sintesi cDNA
 - verifica di amplificabilità
- metodo di analisi

La gestione veloce passa le richieste direttamente alla fase *“Analisi completate”*, richiedendo all’operatore di specificare solo i casi di positività o di non determinazione.

Un ulteriore strumento di ottimizzazione dell'attività è la "Refertazione veloce" che consiste nel produrre il referto di un gruppo omogeneo di richieste. Una volta selezione le richieste, l'operatore ha la possibilità di indicare solo i casi positivi (quindi le coppie (Campione,Target)), lasciando al sistema l'onere di generare tutti i referti. La refertazione veloce si avvale di due ulteriori strumenti messi a disposizione da FitoSIRT: gestione manualistica metodi di analisi e supporto alla refertazione automatica.

La gestione della manualistica dei metodi di analisi consente di descrivere dettagliatamente ogni metodo disponibile in laboratorio e di generarne una scheda stampabile. L'ambiente di gestione consente anche di stampare veri e propri manuali per metodica (batteri, virus, funghi, etc.), per patogeno o per gruppo creato dall'operatore. Le informazioni specificate per ciascun metodo sono le seguenti:

- Tecnica diagnostica
- Autore
- Anno di pubblicazione
- Livello di validazione del metodo
- Procedura di amplificazione in termini di Reagenti, Primer, Sonde, concentrazioni, etc.
- Controlli
- Dettagli del programma, come denaturazione, appaiamento, etc.
- Cicli termici
- Eventuale nested PCR

Al di là dei dettagli tecnici, l'importanza della gestione della manualistica dei metodi di analisi sta nel fatto di codificare dettagliatamente cosa viene fatto durante l'analisi e fornisce informazioni cruciali per il supporto alla refertazione automatica.

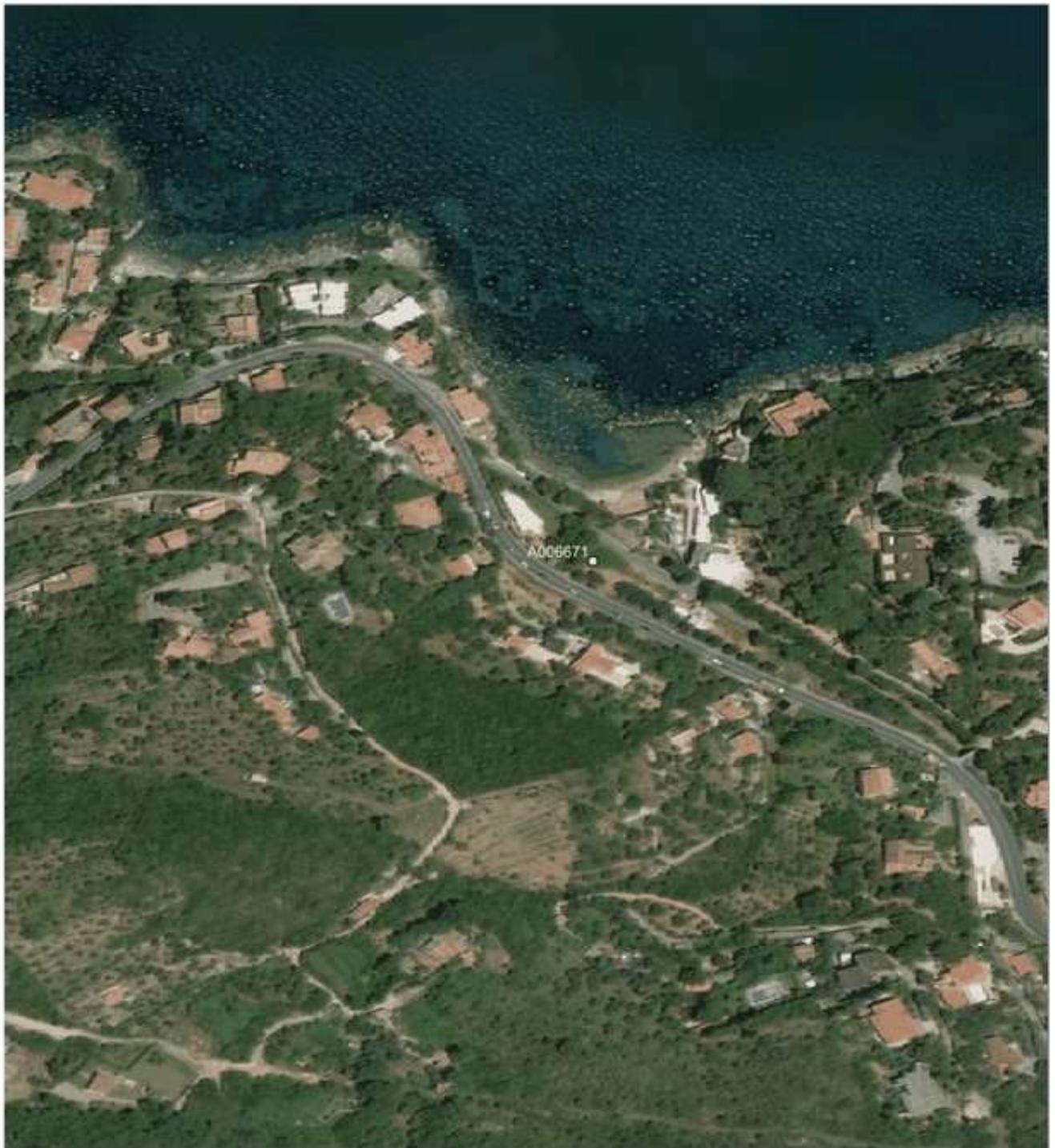
Il supporto alla refertazione automatica consiste nella capacità del sistema di generare un testo che descrive l'analisi fatta tenendo conto sia delle analisi preliminari sia delle informazioni codificate per ciascun metodo di analisi. Se si considera un es. in cui sono state richieste 8 analisi su diversi campioni, la descrizione dell'analisi sarà del tipo "*Estrazione DNA con CTAB 2% Sintesi cDNA con Kit_MasterMix_Genespin. Amplificazione genica in PCR real-time Probe per la diagnosi di Arabis Mosaic virus (ArMV), Xanthomonas arboricola pv fragariae. Amplificazione genica per la diagnosi di Globodera pallida. Amplificazione genica in PCR real-time (sonda TaqMan) per la diagnosi di Globodera rostochiensis. Amplificazione genica in PCR end point per la diagnosi di Phytophthora fragariae. Lettura ed interpretazione delle curve prodotte dalle amplificazioni geniche.*". Questa funzionalità utilizzata congiuntamente alla "Refertazione veloce" consente di gestire centinaia di richieste in qualche minuto, piuttosto che in ore.

Infine, l'implementazione del "Diario dei ritrovamenti" ha reso possibile raccogliere in un documento standard e semi-automatico tutti i dettagli di un ritrovamento, cioè di un campione positivo per un certo target. Il sistema ripercorre la catena di eventi che sono partiti dal campionamento in campo fino alla refertazione, generando un documento PDF pronto per la stampa e contenente le seguenti informazioni:

Nastro sigillo	A006671
Fascetta	A0031250
Specie	Rhamnus alaternus
Matrice	Rametti e foglie
Campionamento	13-12-2018
Ambito	Monitoraggio Xylella fastidiosa
Verbale	09/036/20181213/1111 del 13-12-2018
Coordinate GPS	42.43672 °N, 11.13500 °E
Tipo Analisi	Analisi standard

Grazie alla georeferenziazione dei campioni è possibile generare delle mappe automatiche che mostrano il contesto in cui il campione è stato acquisito:





Satellite (1:4 000)

Analizzando le informazioni disponibili, il sistema elenca gli eventi legati al campione (campionamento, consegna campioni, analisi e refertazione). Infine vengono allegati documenti di dettaglio.

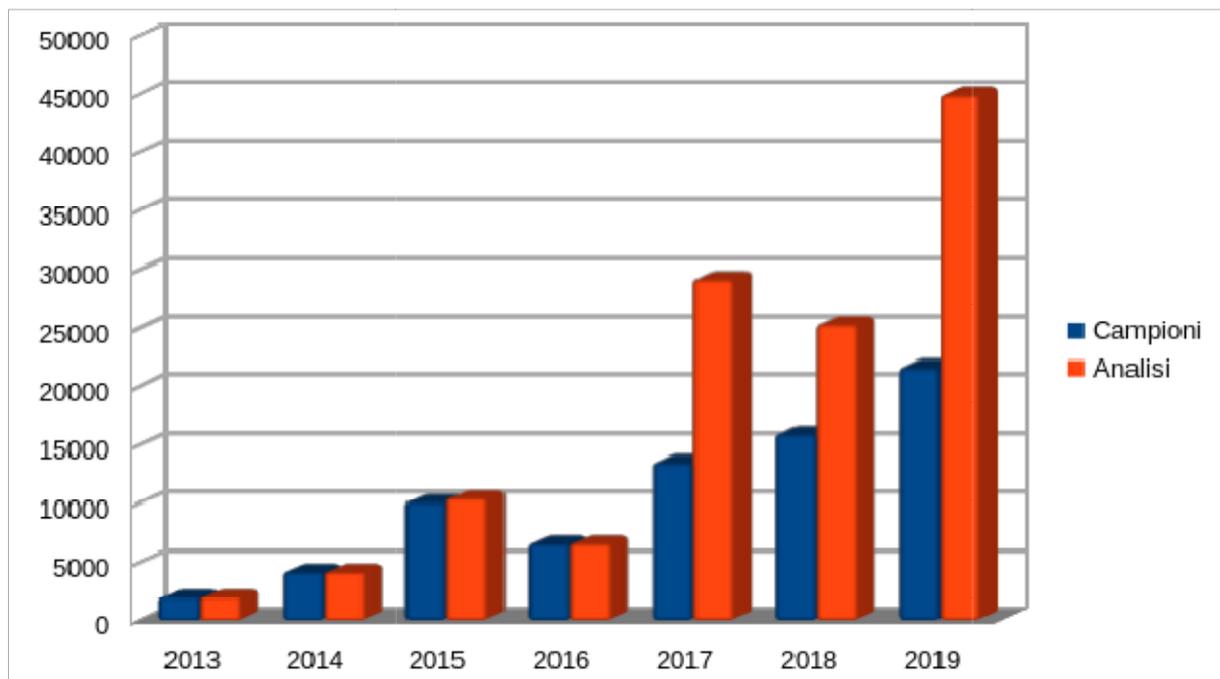
Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio - periodo 2013-2019

Per meglio discriminare il trend delle attività del laboratorio nel corso degli ultimi anni, a partire da quando si ha avuto piena operatività come laboratorio del Servizio Fitosanitario, ovvero a partire dal 2013, sono stati messi a confronto i vari dati significativi degli ultimi 7 anni.

I dai riassuntivi possono essere così rappresentati:

Anno	Richieste Ricevute	Campioni Prelevati	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

Graficamente, l'andamento di campioni prelevati e di analisi effettuate dà un'idea di come è



cambiata l'attività del laboratorio negli ultimi 7 anni:

Mediamente il laboratorio ha ricevuto 1869 richieste e 10611 campioni all'anno, effettuando una media di 17535 analisi.

Se rapportiamo i dati annuali alla media, scopriamo che il 2019 ha ricevuto il 264.5% dei campioni ed ha effettuato il 256.1% delle analisi. Detto in altri termini, il laboratorio ha lavorato 2.5 volte la media degli ultimi 7 anni.

Se analizziamo i dati del 2019 rispetto all'attività degli anni precedenti, scopriamo che fino al 2018 il laboratorio ha ricevuto 1357 richieste e 8762 campioni all'anno, effettuando una media di 13000 analisi. In quest'ottica, il laboratorio nel 2019 ha lavorato 3.5 volte la media dei precedenti 6 anni.

Per capire meglio come questa intensificazione di attività si è sviluppato possiamo analizzare l'andamento mensile dei campioni analizzati in laboratorio:

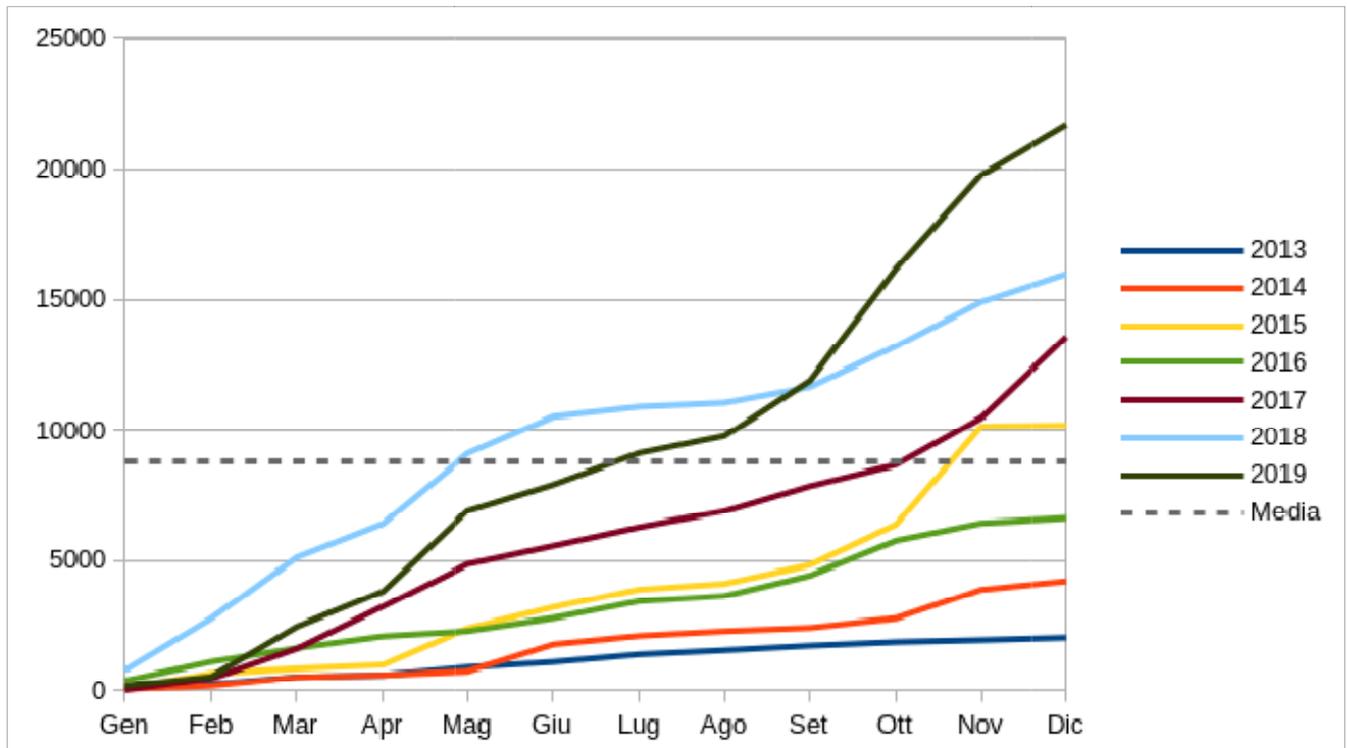
ANNO	GEN	FEB	MAR	APR	MAG	GIU	LUG	AGO	SET	OTT	NOV	DIC
2013	73	173	279	72	301	199	291	159	177	143	77	92
2014	51	126	344	84	141	1028	329	179	132	361	1109	332
2015	90	575	181	142	1409	798	695	223	710	1532	3793	45
2016	396	708	528	455	197	499	647	206	794	1312	658	191
2017	23	443	1144	1608	1632	689	712	617	974	815	1824	3078
2018	794	1972	2343	1271	2712	1428	367	148	609	1550	1707	1070
2019	181	353	1923	1349	3073	1019	1206	669	2115	4289	3604	1927

Per poter apprezzare meglio l'incremento di attività è utile considerare la progressione annuale del numero di campioni gestiti:

ANNO	GEN	FEB	MAR	APR	MAG	GIU	LUG	AGO	SET	OTT	NOV	DIC
2013	73	246	525	597	898	1097	1388	1547	1724	1867	1944	2036
2014	51	177	521	605	746	1774	2103	2282	2414	2775	3884	4216
2015	90	665	846	988	2397	3195	3890	4113	4823	6355	10148	10193
2016	396	1104	1632	2087	2284	2783	3430	3636	4430	5742	6400	6591
2017	23	466	1610	3218	4850	5539	6251	6868	7842	8657	10481	13559
2018	794	2766	5109	6380	9092	10520	10887	11035	11644	13194	14901	15971
2019	181	534	2457	3806	6879	7898	9104	9773	11888	16177	19781	21708

La colonna relativa a dicembre rappresenta quindi il numero totale di campioni elaborati.

La rappresentazione grafica della progressione dei campioni pervenuti ed analizzati fornisce un



semplice modo per analizzare l'andamento degli ultimi 7 anni:

La riga tratteggiata mostra la media annuale 2013-2018, fornendo un interessante punto di riferimento per capire come è evoluta l'attività negli anni.

Collaborazioni e Convenzioni con altri Enti e Istituzioni Scientifiche

Nel corso del 2019 sono continuate le collaborazioni a carattere scientifico tra il Servizio Fitosanitario Toscana ed i vari centri di ricerca toscani con cui il SFR ha da tempo istituito accordi di collaborazione e/o da convenzioni che hanno previsto tutta una serie attività e dove in quasi tutte è presente e/o coinvolto il laboratorio del SFR. Il contenuto di tali accordi si è incentrato su attività di supporto al controllo e monitoraggio sul territorio e/o supervisione per ON di quarantena oppure previsti dal Piano Annuale delle Attività del SFR.

Il laboratorio SFR è stato quasi sempre coinvolto per quel che concerne il supporto (o attività di collaborazione scientifica per sperimentazioni varie) agli aspetti diagnostici e/o di conferme analitiche. A tali collaborazioni scientifiche collegate con degli accordi/convenzioni si sono affiancati tutta una serie di collaborazioni scientifiche nate da comuni interessi e/o da attività di sperimentazione comune. Le tematiche/campi di interesse/argomenti legate alla diagnostica fitopatologia che sono state oggetto di collaborazione/sperimentazione nel corso del 2019, possono essere così descritte.

1. Università di Pisa

- dipartimento di patologia (Prof. A. Materazzi - Dott.ssa A. Panattoni) per attività analitiche volte alla diagnosi di ToBRFV, PPV, dei virus delle colture florovivaistiche, della vite, dell'Olivo oltre che dei Fitoplasmi della vite.
- dipartimento di patologia (Prof. A. Materazzi - Dott.ssa A. Panattoni) per attività analitiche volte alla diagnosi dei virus della vite inclusi nei protocolli di certificazione vivaistica della vite ai sensi del DM 07/07/2006.
- dipartimento di entomologia (Prof.ssa E. Rossi) per collaborazioni in merito alla diagnosi biomolecolare di *Popillia japonica*, *Aromia bungii* (da rosura) e *Anoplophora glabripennis* (da rosura).
- dipartimento di micologia (Prof.ssa S. Pecchia) per collaborazioni in merito alla diagnosi biomolecolare di *Macrophomina phaseolina*.

2. Università di Firenze

- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof. G. Marchi) per attività analitiche legate alla batteriologia sia di tipo classico "morfologico" sia legate alla biologia molecolare volte alla diagnosi di *Xylella fastidiosa*.
- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof. G. Marchi, L. Ghelardini) per attività analitiche legate alla validazione di metodi estrattivi innovativi, performanti e rapidi da diverse matrici vegetali incentrate comunque sul monitoraggio di *Xylella fastidiosa*.
- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof. G. Marchi, L. Ghelardini) per attività analitiche legate alla validazione di metodi estrattivi automatici con l'ausilio di

estrattori automatici, performanti e rapidi da diverse matrici vegetali incentrate comunque sul monitoraggio di *Xylella fastidiosa*.

- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof. G. Marchi) per attività analitiche legate alla diagnosi di *Pseudomonas syringae pv actinidiae* e *Pseudomonas syringae pv viridiflava* attraverso prove sperimentali su aspetti epidemiologici e diagnostici.
- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof.ssa L. Mugnai) per attività analitiche sia di tipo classico “morfologico” (di supporto al laboratorio) sia di biologia molecolare volte alla diagnosi dei principali funghi di interesse fitosanitario sulle colture agrarie, vite e olivo.
- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof. S. Moricca) per attività analitiche sia di tipo classico “morfologico” sia di biologia molecolare volte alla diagnosi dei principali funghi agenti di marciumi/necrosi al colletto delle piante ornamentali da vivaio (*Phytophthora* sp).
- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Prof. S. Moricca) per collaborazione volta alla diagnosi di *Geosmithia morbida* e *Pythiophthorus juglandis*.
- dipartimento di entomologia forestale (Prof.ssa T. Panzavolta) per collaborazione volta alla diagnosi di *Geosmithia morbida* e *Pythiophthorus juglandis*.
- dipartimento di Biotecnologie agrarie (Dott.ssa Valentini) per attività analitiche legate alla verifica fitosanitaria di Germoplasma autoctono di patate e/o extrartergionale di particolare pregio da salvaguardare. Tali verifiche hanno riguardato Potato mop-top virus, Potato Virus X, Potato virus Y, Potato Leaf roll virus.
- Università di Firenze dipartimento di entomologia agraria (prof.ssa Sacchetti) per collaborazioni scientifiche legate alla diagnosi di *Thaumatotibia leucotreta*, *Bactrocera dorsalis*, *Anastrepha fraterculus*, *Anastrepha ludens*.

3. CREA-PAV di Roma

- per attività analitiche di biologia molecolare volte alla diagnosi di virus e viroidi dannosi alle piante (es. PLMVd, PSTVd, PPV, ecc.)

4. Regione Friuli Venezia Giulia - Servizio Fitosanitario

- Laboratorio del Servizio Fitosanitario della Regione Friuli Venezia Giulia per confronto su attività di validazione scientifica di metodi diagnostici, sulla certificazione di sistema e di laboratorio ISO 17025.

5. Regione Lombardia – Servizio Fitosanitario

- Laboratorio del Servizio Fitosanitario della Regione 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)

- CNR di Sesto Fiorentino (FI) (Dott. N. Luchi – Dott. A. Santini) per attività di diagnosi in campo, oltre che di confronti interlaboratori, attraverso reazioni isoterme (LAMP) per la diagnosi di vari organismi nocivi alle piante.

8. CNR di Napoli (NA)

- per collaborazioni (Dott. G. Parrella) sulla diagnosi di Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV), Tomato Mosaic Virus (ToMV) e Tomato Mild Mottle Mosaic Virus (ToMMV).
- Per collaborazioni (dott. F. Nugnes) 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.
-

9. CREA-ABP di Firenze

- per attività volte alla diagnosi (dott. F. Pennacchio) e identificazione “genetica” di alcuni importanti insetti xilofagi (*Anoplophora glabripennis* e *Xylosandrus germanus*) o di fitofagi di temuta introduzione in Italia (*Thaumatotibia leucotreta*)
- per attività volte alla diagnosi (dott.ssa E. Gargani) e identificazione “genetica” di alcuni importanti insetti vettori della *Xylella fastidiosa*.

10. Regione Campania – Servizio Fitosanitario

- Laboratorio del Servizio Fitosanitario della Regione Campania per attività volte alla diagnosi e identificazione “genetica” di alcuni importanti insetti xilofagi (*Aromia bungii*) di nuova introduzione in Italia.

11. Università di Portici (NA)

- (prof. Garonna) 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.

12. Laboratorio europeo di riferimento entomologico

- Plant Health Laboratory ANSES, Avenue du Campus 755, Agropolis, 34988 Montferrier sur Lez, France; per attività di collaborazione scientifica su *Anoplophora glabripennis*, *Thaumatotibia leucotreta*, *Anoplophora chinensis* e *Aromia bungii*.

13. Laboratorio dell'istituto "Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants", Erwin-Baur-Str. 27, 06484 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 2019 ha effettuato diversi confronti interlaboratori (come anticipato in alcuni casi precedentemente) con istituzioni scientifiche per tematiche legate alla diagnostica fitopatologica.

1. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi LAMP di *Ceratocystis platani* con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
2. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi LAMP di *Xanthomonas phaseoli* con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
3. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi LAMP di *Anoplophora glabripennis* (da rosura) con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
4. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi LAMP di *Aromia bungii* (da rosura) con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
5. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi LAMP di *Bactrocera dorsalis* con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
6. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi one step RT-LAMP di *Tomato Brown Rugose Fruit Virus* (ToBRFV) con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
7. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi LAMP di *Thaumatotibia leucotreta* con il laboratorio del CNR - Institute for Sustainable Plant Protection, National Research Council (IPSP-CNR), Via Madonna del Piano, 10 I-50019 Sesto Fiorentino (Firenze), Italy.
8. Confronto interlaboratorio (proficiency test) come *blind panel* sulla diagnosi Real Time PCR con probe and Sybrgreen di *Anoplophora glabripennis* da rosura con il laboratorio del 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 Montferrier sur Lez, France.

Metodiche e Protocolli Diagnostici del Laboratorio del SFR

Nel corso del 2019, al pari degli ultimi anni, 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 sintesi allo stato attuale abbiamo:

Tipologia	Organismi nocivi diagnosticabili	Metodi diagnostici ottimizzati/sviluppati
Batteri	70	165
Fitoplasmi	15	42
Funghi	115	305
Insetti	33	73
<i>Internal control</i>	17	40
Nematodi	17	35
Ogm	4	5
Viroidi	21	66
Virus	117	340

In totale abbiamo sviluppato/ottimizzato **1.140 metodi/protocolli diagnostici** per **419 Organismi Nocivi** di quarantena e/o di interesse fitosanitario, potenzialmente oggetto di verifiche analitiche. Nell'ambito dell'operatività del laboratorio, inoltre, abbiamo sviluppato 14 Manuali Tecnico-Operativi per le principali attività analitiche del laboratorio SFR stesso.

Costi e Investimenti per il Laboratorio

In relazione a tanta attività nel corso del 2019 si contrappongono i costi di esercizio e di investimenti che si sono sostenuti nel corso dell'anno. Per cui sono stati sostenuti costi legati ai beni di consumo o di esercizio (reagenti, plastiche, materiale di consumo vario, ecc.) pari a 115.892,80 euro; mentre le spese per investimenti sono state 60.474,18 euro.

Complessivamente nel corso del 2019 il laboratorio del SFR Toscana ha richiesto costi pari a **176.376,98 euro** per il suo funzionamento generale oltre che per investimenti per il futuro.

Pubblicazioni

Nel corso del 2019, i tecnici di laboratorio hanno collaborato con diversi centri di ricerca in attività di sperimentazione finalizzate alla pubblicazione di note divulgative, articoli scientifici di interesse fitosanitario. Nel dettaglio:

1. Phytopathology, 2019. ***Draft Genome Sequence Resources of Three Strains (TOS4, TOS5, and TOS14) of Xylella fastidiosa Infecting Different Host Plants in the Newly Discovered Outbreak in Tuscany, Italy.*** Annalisa Giampetruzzi, Giusy D’Attoma, Stefania Zicca, Raied Abou Kubaa, Domenico Rizzo, Donato Boscia, Pasquale Saldarelli, and Maria Saponari.
2. European Journal of Plant Pathology, 2019. ***A new variant of Xylella fastidiosa subspecies multiplex detected in different host plants in the recently emerged outbreak in the region of Tuscany, Italy.*** M. Saponari, G. D’Attoma, R. Abou Kubaa, G. Loconsole, G. Altamura, S. Zicca, D. Rizzo, D. Boscia.
3. L’Informatore Agrario 33/2019. ***La macchia nera degli agrumi preoccupa i Paesi mediterranei*** di R. Griffò, C. Cesaroni, L. Campus, D. Rizzo, M. Minutolo, D. Alioto.
4. ***I coleotteri xilofagi: due specie a confronto.*** Elisabetta Rossi, Domenico Rizzo, Tommaso Bruscoli, Chiara Salemi, Alessandra Campanella, Claudio Carrai. Rivista “Il Vivaista”.
5. ***Primo ritrovamento di Geosmithia morbida e Pytophthora juglandis in Toscana.*** Alessandro Guidotti – Ilaria Scarpelli – Domenico Rizzo SFR della Toscana. Scheda tecnica on – line sul sito del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana.

Conclusioni

In considerazione di quanto esposto, è evidente che il carico di lavoro dell’anno appena trascorso per il laboratorio è stato notevole anche alla luce delle nuove emergenze fitosanitarie e all’aumento “fisiologico” dei controlli e monitoraggi sul territorio. Nel complesso quindi le attività del laboratorio risultano a consuntivo in aumento 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 SFR, all’attivazione di collaborazioni con fornitori esterni che hanno ottimizzato parte delle lavorazioni propedeutiche alle analisi (preparazione delle aliquote dai campioni vegetali), all’implementazione 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 prevedere di 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 eseguire tali compiti nel rispetto degli standard sempre più elevati richiesti dal Reg. 625/2017.

Allegati

Tabella 1 - Elenco completo delle specie oggetto d'indagine nel 2019 dal Laboratorio SFR

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Vitis spp	VITSS	4978	22264	21732	514	18
Olea europea (Olivo)	OLVEU	4759	5720	5711	8	1
Prunus persica	PRNPS	990	1690	1526	164	0
Prunus avium (Ciliegio)	PRNAV	269	1647	1556	91	0
Prunus armeniaca (Albicocco)	PRNAR	606	1368	1342	26	0
Nerium oleander (Oleandro)	NEROL	1271	1286	1286	0	0
Solanum lycopersicon (pomodoro)	LYPES	202	1233	1156	76	1
Rhamnus alaternus	RHAAL	1141	1163	1110	52	1
Spartium junceum	SPUJU	677	684	614	66	4
Citrus spp	CIDSS	416	608	546	60	2
Rosmarinus officinalis	RMSOF	528	531	529	2	0
Actinidiae spp	ATISS	447	457	431	26	0
Prunus domestica	PRNDO	409	430	416	14	0
Prunus amygdalus (Mandorlo)	PRNDU	422	425	407	18	0
Pyrus spp	PYUSS	49	409	386	23	0
Solanum tuberosum	SOLTU	105	386	385	1	0
Polygala myrtifolia	POGMY	256	256	240	16	0
Prunus spp	PRNSS	166	243	237	6	0
Cistus creticus	CSTIC	228	228	228	0	0
Pistacia lentiscus	PIALE	215	219	219	0	0
Laurus nobilis	LURNO	199	218	214	4	0
Prunus spinosa	PRNSN	210	210	209	1	0
Myrtus communis	MYVCO	204	207	206	1	0
Arbutus unedo	ARDUN	190	192	192	0	0
Cistus monspeliensis	CSTMO	164	166	164	2	0
Ficus carica	FIUCA	128	134	134	0	0
Quercus ilex	QUEIL	125	126	126	0	0
Phillyrea angustifolia	PLRAN	96	102	102	0	0
Phillyrea latifolia	PLRLA	98	98	98	0	0
Quercus suber	QUESU	86	95	94	1	0
Cistus spp	CSTSS	89	92	87	5	0
Phillyrea sp.	PLRSS	80	91	91	0	0
Viburnum tinus	VIBTI	85	87	86	0	1
Platanus spp	PLTSS	84	84	62	19	3
Cercis siliquastrum	CCSSI	78	80	79	1	0
Cistus salviifolius	CSTSA	69	70	70	0	0
Pittosporum sp.	PTUSS	69	69	69	0	0
Asparagus acutifolius	ASPAC	59	64	64	0	0
Varie	XXXXX	57	59	57	2	0
Rosmarinus sp.	RMSSS	54	54	51	3	0
Vitis vinifera	VITVI	36	52	52	0	0
Inula sp.	INUSS	40	51	51	0	0
Calicotome spinosa	CCOSP	48	48	32	16	0
Pistacia sp.	PIASS	48	48	48	0	0
Rosmarinus officinalis var. prostrata	RMSOF_PR	46	46	45	1	0
Clematis vitalba	CLVVT	12	44	44	0	0
Allium sp.	ALLSS	10	40	40	0	0
Insetti_vari Stadi Evolutivi	AJJJJ	37	37	33	1	3

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Calicotome sp.	CCOSP	35	35	30	4	1
Calicotome villosa	CCOVI	33	33	27	6	0
Elaeagnus angustifolia	ELGAN	32	33	32	1	0
Lavandula dentata	LAVDE	33	33	32	1	0
Rhamnus sp.	RHASS	32	32	30	2	0
Erigeron sumatrensis	ERISU	28	31	31	0	0
Pyrus communis	PYUCO	10	27	27	0	0
Asparagus spp	ASPSS	22	26	26	0	0
Convolvulus sp.	CONSS	10	26	26	0	0
Capsicum spp	CPSSS	11	23	22	1	0
Crataegus spp	CSCSS	23	23	23	0	0
Lavandula angustifolia	LAVAN	22	22	22	0	0
Rosa spp	ROSSS	22	22	22	0	0
Rovo	RUBFR	12	21	21	0	0
Pelargonium sp.	PELSS	20	20	20	0	0
Prunus laurocerasus	PRNLR	16	20	20	0	0
Quercus spp	QUESS	19	20	18	1	1
Cotoneaster spp	CTTSS	18	19	19	0	0
Lavandula sp	LAVSS	19	19	18	1	0
Ficus sp.	FIUSS	17	18	18	0	0
Prunus pissardi	PRNCX	17	18	18	0	0
Acacia dealbata	ACADA	16	17	16	1	0
Lonicera sp.	LONSS	17	17	17	0	0
Helichrysum italicum	HECIT	16	16	16	0	0
Medicago sativa (Erba medica)	MEDSA	16	16	16	0	0
Westringia fruticosa	WESRO	16	16	16	0	0
Acer sp	ACRSS	15	15	15	0	0
Viburnum sp.	VIBSS	15	15	15	0	0
Asparagus densiflorus	ASPSP	14	14	14	0	0
Erica scoparia	EIASC	14	14	14	0	0
Juglans sp.	IUGSS	13	14	12	2	0
Prunus lusitanica	PRNLU	11	14	14	0	0
Sorbus spp	SOUSS	13	14	14	0	0
Cytisus villosus	CZSVI	13	13	13	0	0
Ligustrum sp.	LIGSS	13	13	13	0	0
Pinus spp	PIUSS	11	13	9	0	4
Edera	HEEHE	12	12	12	0	0
Glycine max (Soia)	GLXMA	3	12	12	0	0
Helianthus spp	HELSS	12	12	12	0	0
Malus domestica	MABSD	3	12	12	0	0
Vinca sp.	VINSS	12	12	12	0	0
Helichrysum sp.	HECSS	11	11	10	1	0
Myrtus sp.	MYVSS	11	11	11	0	0
Chrysanthemum spp	CHYSS	4	10	10	0	0
Chenopodium sp.	CHESS	9	9	9	0	0
Juniperus spp	IUPSS	9	9	9	0	0
Pelargonium graveolens	PELGV	8	8	8	0	0
Rubus sp.	RUBSS	8	8	8	0	0
Coronilla valentina	CZRVL	7	7	7	0	0
Malus spp	MABSS	6	7	6	1	0
Punica granatum	PUNGR	7	7	7	0	0
Sambucus sp.	SAMSS	6	7	7	0	0

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Ulmus sp.	ULMSS	7	7	7	0	0
Camellia spp	CAHSS	2	6	6	0	0
Cercis sp.	CCSSS	6	6	6	0	0
Fraxinus spp	FRXSS	6	6	6	0	0
Juglans regia	IUGRE	5	6	6	0	0
Metrosideros excelsa	MTDEX	6	6	6	0	0
Teucrium sp.	TEUSS	6	6	6	0	0
Buxus sp.	BUXSS	1	5	5	0	0
Citysus spp	CZSSS	5	5	5	0	0
Coffea sp.	COFSS	5	5	5	0	0
Euonymus sp.	EUOSS	1	5	5	0	0
Loropetalum sp.	LORSS	1	5	5	0	0
Prunus cerasifera	PRNCF	4	5	5	0	0
Urtica sp.	URTSS	5	5	5	0	0
Westringia sp.	WESSS	5	5	5	0	0
Apium sp.	APUSS	2	4	4	0	0
Brassica sp.	BRSSS	2	4	4	0	0
Genista sp.	GENSS	4	4	4	0	0
Pyracantha spp	PYESS	4	4	4	0	0
Robinia sp.	ROBSS	4	4	4	0	0
Cicorium sp	CICSS	2	3	3	0	0
Cornus sp.	CRWSS	3	3	3	0	0
Corylus sp.	CYLSS	3	3	3	0	0
Dimorphocarpa sp.	DKRSS	3	3	3	0	0
Fagus sp.	FAUSS	2	3	3	0	0
Fraxinus angustifolia	FRXAN	2	3	3	0	0
Hibiscus spp	HIBSS	3	3	3	0	0
Myoporum insulare	MYMIN	3	3	3	0	0
Prunus cerasus	PRNCE	3	3	3	0	0
Rosa canina	ROSCN	3	3	3	0	0
Xanthium sp.	XANSS	3	3	3	0	0
Abies spp	ABISS	2	2	0	0	2
Acacia saligna	ACASA	2	2	2	0	0
Acacia spp	ACASS	2	2	2	0	0
Acer pseudoplatanus	ACRPP	1	2	2	0	0
Cydonia spp	CYDSS	2	2	2	0	0
Cytisus scoparius	SAOSC	2	2	1	1	0
Dianthus sp.	DINSS	2	2	2	0	0
Hebe sp.	HBESS	2	2	2	0	0
Impatiens sp	IPASS	1	2	2	0	0
Lavandula stoechas	LAVST	2	2	2	0	0
Metrosideros sp.	MTDSS	2	2	2	0	0
Olea sp.	OLVEU	2	2	2	0	0
Parthenocissus sp.	PRTSS	2	2	2	0	0
Pelargonium fragrans	PELFR	2	2	2	0	0
Phaseolus spp	PHSSS	1	2	2	0	0
Phaseolus vulgaris	PHSVX	2	2	2	0	0
Pisum sp.	PIBSS	2	2	2	0	0
Polygala spp	POGMY	2	2	2	0	0
Salix sp.	SAXSS	2	2	2	0	0
Trifolium sp.	TRFSS	2	2	2	0	0
Vinca minor	VINMI	2	2	2	0	0

Specie	EPPO	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Zea mays (Mais)	ZEAMX	2	2	2	0	0
Albizia julibrissin	ALBJU	1	1	1	0	0
Artemisia arborescens	ARTAO	1	1	1	0	0
Castanea sativa	CSNSA	1	1	1	0	0
Chaenomeles sp.	CNMSS	1	1	1	0	0
Chenopodium album	CHEAL	1	1	1	0	0
Eriobotrya sp.	EIOSS	1	1	1	0	0
Euphorbia sp.	EPHSS	1	1	1	0	0
Euryops chrysanthemoides	EYCH	1	1	1	0	0
Fragaria sp.	FRASS	1	1	1	0	0
Hedera sp.	HEESS	1	1	1	0	0
Hydrangea spp	HYESS	1	1	1	0	0
Ilex sp.	ILESS	1	1	1	0	0
Lagerstroemia sp.	LAESS	1	1	0	0	1
Malva sp.	MALSS	1	1	1	0	0
Medicago arborea	MEDAR	1	1	1	0	0
Morus sp.	MORSS	1	1	1	0	0
Nessuna pianta specificata	XXXXX_ps	1	1	1	0	0
Palma generica	FFPPA	1	1	1	0	0
Parthenocissus tricuspidata (vite americana)	PRTR	1	1	1	0	0
Platanus occidentalis	PLTOC	1	1	1	0	0
Spartium sp.	SPUJU	1	1	1	0	0
Vicia sativa	VICSA	1	1	1	0	0
Prunus persica (Pesco)	PRNPS	107	0	0	0	0

Tabella 2 - Elenco completo degli ON oggetto d'indagine nel 2019 dal Laboratorio SFR

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Xylella fastidiosa	XYLEFA	16914	16701	205	8
Candidatus phytoplasma solani	PHYPSO	3551	3381	170	0
Arabis Mosaic virus (ArMV)	ARMV00	2689	2687	2	0
Grapevine fan leaf virus (GFLV)	GFLV00	2377	2364	13	0
Grapevine fleck virus (GFKV)	GFKV00	2377	2285	92	0
Grapevine leaf roll associated virus - 1 (GLRaV-1)	GLRAV1	2377	2372	5	0
Grapevine leaf roll associated virus - 3 (GLRaV-3)	GLRAV3	2377	2331	46	0
Grapevine virus A (GVA)	GVA000	2377	2333	44	0
Candidatus phytoplasma vitis	PHYV64	1319	1159	142	18
Prune dwarf virus (PDV)	PDV000	755	664	91	0
Plum pox virus (PPV)	PPV000	687	671	16	0
Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)	PNRSV0	669	616	53	0
Peach latent mosaic viroid (PLMVd)	PLMVd0	669	557	112	0
Citrus Tristeza Virus (CTV)	CTV000	350	309	41	0
Cherry leaf roll virus (CLRV)	CLRV00	319	319	0	0
Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)	SLRSV0	312	310	2	0
Pseudomonas syringae pv actinidiae	PSDMAK	282	256	26	0
Apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV)	ACLSV0	261	261	0	0
Cucumber Mosaic Virus (CMV)	CMV000	248	248	0	0
Apricot latent virus (ApLV)	ALV000	212	212	0	0
Candidatus phytoplasma prunorum	PHYPPR	205	205	0	0
American plum line pattern virus (APLPV)	APLPV0	204	204	0	0
Peach rosette mosaic virus (PRMV)	PRMV00	204	204	0	0
Plum bark necrotic spot associated virus (PBNSPaV)	PBNSPA	204	204	0	0
Hop Stunt Viroid (HSVd)	HSVd00	204	176	28	0
Ralstonia solanacearum	RALSSL	202	202	0	0
Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis	CORBMI	191	175	16	0
Xanthomonas euvesicatoria/perforans/vesicatoria/gardnerii	XANTEU_multi	189	176	13	0
Pepino Mosaic virus (PepMV)	PEPMV0	181	160	20	1
Potato spindle tuber viroid (PSTVd)	PSTVd0	166	138	28	0
Tomato spotted wilt virus (TSWV)	TSWV00	152	152	0	0
Verticillium spp	VERTSP	114	114	0	0
Olive latent Virus - 1 (OLV-1)	OLV100	109	109	0	0
Olive latent Virus - 2 (OLV-2)	OLV200	108	108	0	0
Olive latent yellow associated virus (OLYaV)	OLYAV0	108	108	0	0
Olive ring spot virus (OLRSV)	OLRSV0	108	108	0	0
Tobacco necrosis virus (TNV)	TNV000	108	108	0	0
Ceratocystis platani	CERAFP	84	62	19	3
Erwinia amylovora	ERWIAM	77	77	0	0
Candidatus phytoplasma mali	PHYVMA	56	56	0	0
Apple mosaic virus (ApMV)	APMV00	56	56	0	0
Candidatus liberibacter solanacearum	LIBEPS	53	53	0	0
Apple stem grooving virus (ASGV)	ASGV00	49	49	0	0
Apple stem pitting virus (ASPV)	ASPV00	49	38	11	0
Apple dimple fruit viroid (ADFVd)	ADFVd0	48	48	0	0
Apple Scar skin viroid (ASSVd)	ASSVd0	48	36	12	0
Potato leaf roll virus (PLRV)	PLRV00	45	44	1	0
Potato mop top virus (PMTV)	PMTV00	45	45	0	0
Potato virus X	PVX000	45	45	0	0
Potato virus Y	PVY000	45	45	0	0

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Tobacco rattle virus (TRV)	TRV000	45	45	0	0
Globodera pallida	HETDPA	31	29	0	2
Xanthomonas citri pv citri	XANTCI	30	20	10	0
Globodera rostochiensis	HETDRO	29	29	0	0
Guignardia citricarpa	GUIGCI	26	17	8	1
Xanthomonas arboricola pv pruni	XANTPR	18	18	0	0
Spodoptera frugiperda	LAPHFR	16	15	0	1
Phytophthora ramorum	PHYTRA	16	16	0	0
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus	CORBSE	15	15	0	0
Synchytrium endobioticum	SYNCEN	15	15	0	0
Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	TOBRFV	14	14	0	0
Tomato leaf curl New Daehli Virus (ToLNDV)	TOLCND	14	14	0	0
Ditylenchus dipsaci	DITYDI	12	12	0	0
Universali per Insetti		12	10	2	0
Plasmopara halstedii	PLASHA	12	12	0	0
Bursaphelenchus xylophilus	BURXXY	10	5	0	5
Ditylenchus destructor	DITYDE	10	10	0	0
Pseudomonas syringae pv viridiflava	PSDMSX_viri	8	8	0	0
Xanthomonas spp	XANTSP	7	6	1	0
Clavibacter michiganensis subsp. Insidiosus	CORBIN	6	6	0	0
Anoplophora chinensis	ANOLCN	6	6	0	0
Pseudomonas syringae	PSDMSX	5	3	2	0
Armillaria spp	1ARMLG	5	5	0	0
Fusarium solani	FUSASO	5	0	5	0
Phytophthora sp	PHYTSP	5	5	0	0
Universali per Nematodi		4	4	0	0
Chrysanthemum stunt viroid (ChSVd)	CSVD00	4	4	0	0
Curtobacterium flaccumfaciens	CORBFL	3	3	0	0
Pseudomonas savastanoi pv savastanoi	PSDMSA	3	3	0	0
Xanthomonas axonopodis pv phaseoli	XANTPH	3	3	0	0
Xanthomonas campestris	XANTAR	3	3	0	0
Radopholus similis	RADOSI	3	3	0	0
Chrysanthemum stem necrosis virus (CSNV)	CSNV00	3	3	0	0
Tobacco streak virus (TSV)	TSV000	3	3	0	0
Gibberella circinata	GIBBCI	3	2	0	1
Pantoea stewartii	ERWIST	2	2	0	0
Anoplophora glabripennis	ANOLGL	2	2	0	0
Popillia japonica	POPIJA	2	0	0	2
Xylosandrus compactus	XYLSCO	2	0	2	0
Xylosandrus crassiusculus	XYLBCR	2	1	1	0
Biscognauxia mediterranea	HYPOME	2	0	2	0
Elsinoe fawcettii	ELSIFA	2	1	0	1
Xanthomonas arboricola pv fragariae	XANTAF	1	1	0	0
Xanthomonas campestris pv campestris	XANTCA	1	1	0	0
Xanthomonas vesicatoria	XANTVE	1	1	0	0
Aromia bungii	AROMBU	1	1	0	0
Meloidogyne sp	MELGSP	1	0	1	0
Tomato ring spot virus (ToRSV)	TORSV0	1	1	0	0
Chalara fraxinea	CHAAFR	1	1	0	0
Colletotrichum gloesporioides	GLOMCI	1	0	1	0
Geosmithia morbida	GEOHMO	1	1	0	0
Guignardia mangiferae	GUIGMA	1	1	0	0

Patogeno	EPPO	Analisi	Negativi	Positivi	Indeter.
Phytophthora cambivora	PHYTCM	1	1	0	0
Sphaeropsis sapinea	DIPDPI	1	1	0	0