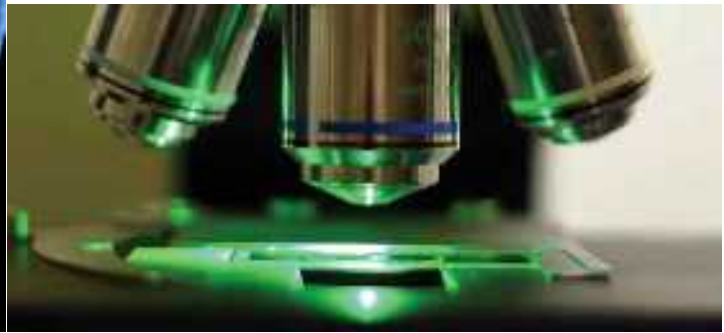


REGIONE
TOSCANA



**Servizio fitosanitario
regionale**

*Il laboratorio di
diagnostica fitopatologica
e biologia molecolare*



Laboratorio Fitopatologico_Multisito del Servizio Fitosanitario della Regione
Toscana

RELAZIONE ATTIVITA' ANNO 2024

a cura di

Domenico Rizzo

Servizio Fitosanitario Regionale

Introduzione.....	3
Attività effettuate presso il Laboratorio ufficiale di Guasticce – Collesalveti (LI) collegate al punto di entrata del porto di Livorno.....	15
Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio - periodo 2013-2024.....	17
Collaborazioni e Convenzioni con altri Enti e Istituzioni Scientifiche.....	18
Metodiche e Protocolli Diagnostici del Laboratorio del SFR.....	22
Costi e Investimenti per il Laboratorio.....	23
Pubblicazioni.....	23
Conclusioni.....	24
Allegati.....	26
Tabella 1 - Elenco completo delle specie oggetto d'indagine nel 2024.....	26

Introduzione

Nel corso del 2024 i laboratori del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana (Pistoia, Guasticce – Collesalveti – LI, Firenze e Orbetello) comprensivi del laboratorio multi sito ufficiale del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana (di seguito LAB) con le due sedi di Pistoia in via Ciliegiole 99 c/o GEA (sede principale) e in Via delle Colline, loc. Guasticce, Collesalveti (LI), hanno effettuato le analisi, prove e diagnosi ordinarie previste nel piano annuale di attività del Servizio Fitosanitario. Le attività analitiche hanno riguardato principalmente i campioni prelevati in aree indenne e delimitata per *Xylella fastidiosa* (a seguito del ritrovamento avvenuto nel mese di novembre 2018) oltre che per le indagini territoriali finalizzate alla verifica della presenza di Flavescenza Dorata (*Grapevine flavescence dorée phytoplasma*) nelle vigne e nei vivai viticoli.

Nel corso del 2024 il laboratorio ha conservato l'accreditamento ISO 17025 rilasciato da ACCREDIA per i cinque organismi nocivi oggetto di accreditamento (*Xylella fastidiosa*, ToBRFV, *Anoplophora chinensis*, *Phyllosticta citricarpa*/*P. paracitricarpa* e *Bursaphelenchus xylophilus*) già acquisito nel corso del 2023 per la sede di Pistoia, Via Ciliegiole 99) mentre ha ulteriormente sviluppato e validato ulteriori metodi di prova interni per la sede di Guasticce – Collesalveti – LI) per verifica diagnostica di *Phyllosticta citricarpa* su Citrus sp. Sono state inoltre migliorate le prove per *Xylella fastidiosa*, semplificando i metodi estrattivi disponibili ed introducendone uno innovativo e molto veloce ma allo stesso tempo performante. Per cui allo stato attuale il LAB è accreditato per undici prove diagnostiche e per queste è stato designato laboratorio ufficiale .

Anche nel corso del 2024 (al pari del 2023) vi sono state diverse modifiche legate all'organizzazione interna del laboratorio. Infatti sono state attivate complessivamente tre nuove borse di studio dell'Università di Pisa da svolgersi presso i laboratori.

Il LIMS, ovvero il software gestionale delle attività del laboratorio per l'ottimizzazione dei processi estrattivi, è stato ulteriormente implementato, sfruttando al massimo le potenzialità delle attrezzature oltre che delle risorse messe a disposizione del LAB.

Attività complessive svolte dal laboratorio SFR nel corso del 2024

Andando ad esaminare le diverse attività del lab nel corso del 2024, possiamo fare alcune distinzioni nell'attività complessiva del laboratorio.

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 2024.

Richieste / Campioni / Analisi	
Parametro	Generale
Richieste	3.269
Campioni processati	12.558
Patogeni indagati	136
Metodi utilizzati	146
Specie vegetali indagate	204
Prove di amplificabilità	13.357
Analisi	16.893
Analisi totali	30.250

Tab. 1 – Richieste/Campioni/Analisi

A fronte di 3.269 richieste o verbali di campionamento/prelievo, sono stati prelevati 12.558 campioni per un numero complessivo di 16.893 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).

Considerando anche quest'ultimo tipo di attività analitica, complessivamente nel corso del 2024 sono state effettuate da parte del LAB 30.250 analisi.

Si tratta di numeri importanti anche se in flessione rispetto all'anno precedente (2.549 campioni e 4.212 analisi in meno nel corso del 2024 rispetto al 2023). Tale diminuzione è dovuta all'attività parallela volta all'adeguamento ed alla gestione del sistema LAB relativamente ai requisiti previsti dalla ISO 17025. Infatti nel corso del 2024 si è avuto un appesantimento dovuto anche alla necessità di revisionare le prove accreditate con la nuova validazione dei metodi di prova interni da sottoporre a nuovo accreditamento come nuova revisione. In tale ambito, è da rimarcare il considerevole lavoro svolto da parte di tutti coloro che hanno partecipato alle attività sia di laboratorio (anche parzialmente) sia per tutto quello che concerne l'adeguamento del sistema LAB ai requisiti ISO 17025 di cui sopra nel corso del 2024.

Un altro aspetto importante è il numero di organismi nocivi (ON) che sono stati indagati nel corso del 2024, pari a 136 oltre alle 146 tipologie diverse di tecniche/protocolli biomolecolari utilizzate. Le specie vegetali indagate sono state 204.

La tipologia di utenza relativa alle attività analitiche svolte.

Come si può notare, la maggior parte delle attività ha riguardato campioni provenienti dai vivai di operatori autorizzati all'emissione del passaporto delle piante.

Tipo Utente		
Parametro	Generale	% Totale
Autorizzati	983	66,5
Non Autorizzati	99	6,7
Importatori	3	0,2
Altri Soggetti	1	0,1

Tab. 2 – tipo utente

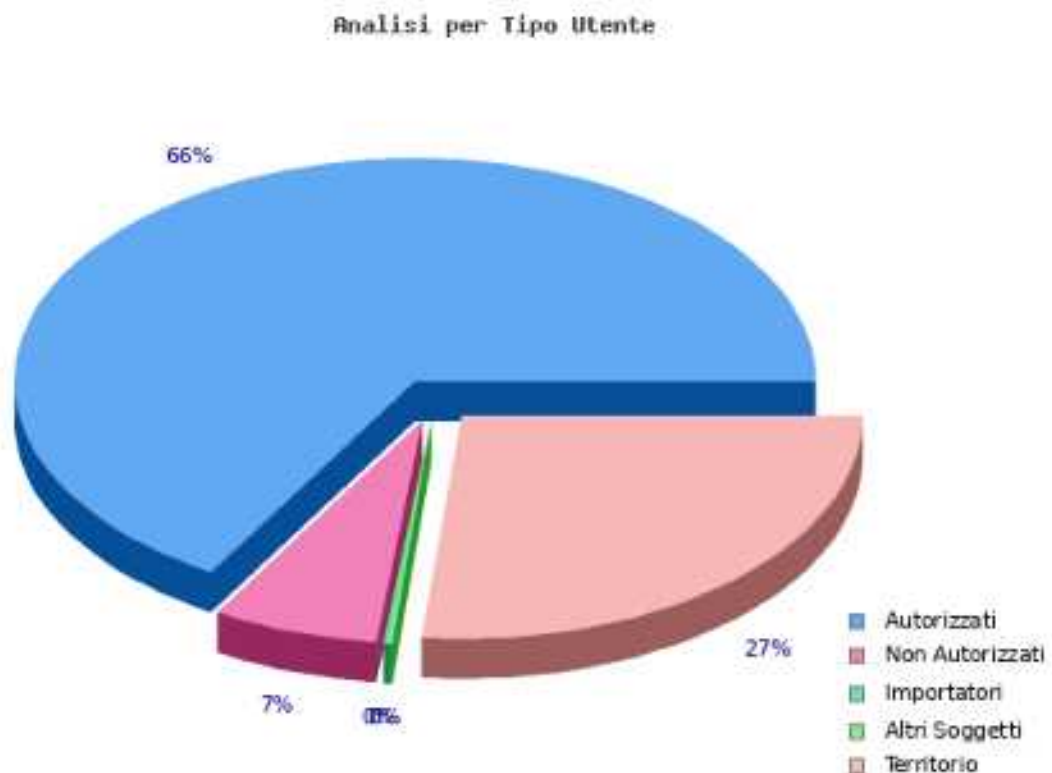


Fig 1 – Analisi per tipo utente (attività complessive del lab)

Come si può vedere in tabella, il 4,9% dei campioni pervenuti in LAB è risultato positivo all'ON target oggetto di indagine.

Risultati		
Parametro	Generale	% Totale
Risultati Positivi	825	4,9
Risultati Negativi	15970	94,5
Risultati Indeterminati	96	0,6

Tab. 3 – Risultati analitici

Anche nel corso 2024, in una ottica di qualità/miglioramento continuo, sono stati presi in considerazione anche tutti i risultati “nd” (non determinabili). Il concetto di “non determinabile” nel caso della LIMS del LAB deriva da non conformità relative alla matrice

di partenza (deteriorata, secca, ecc.), 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.

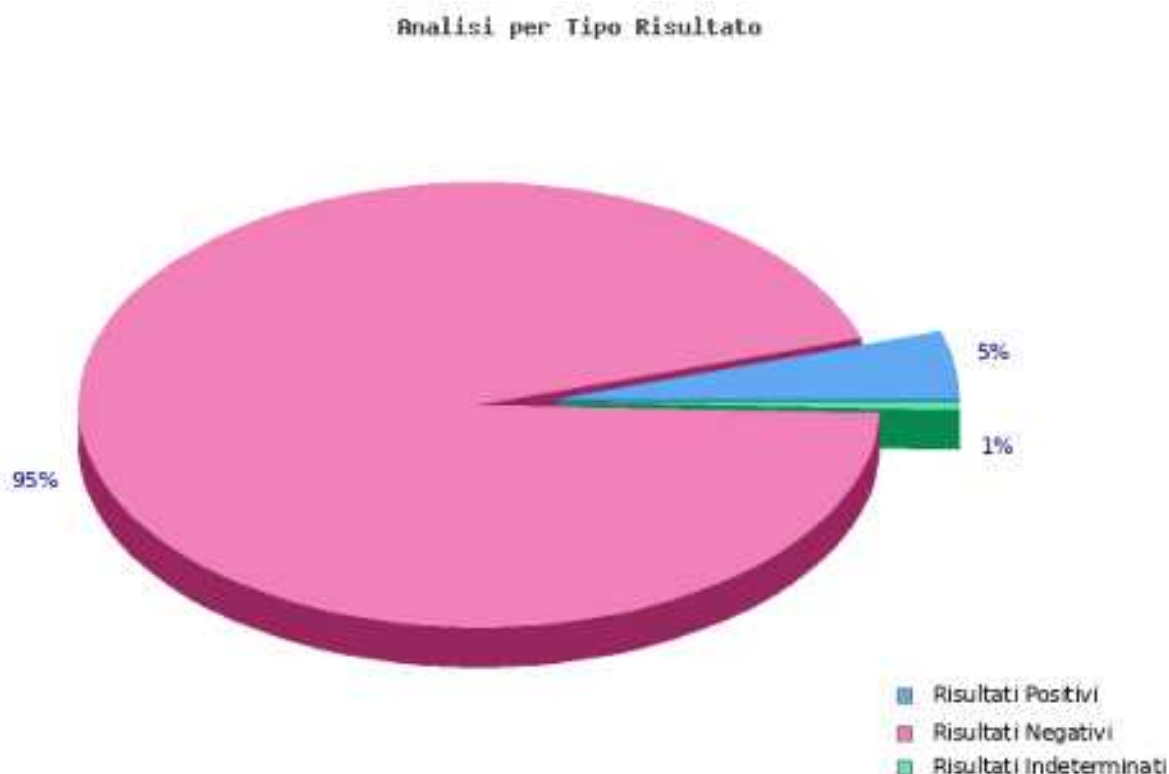


Fig 2 – Analisi per tipo risultato (attività complessive del lab)

Per fortuna si tratta di valori residuali rispetto ai totali. Costituiscono, comunque indicatori a livello qualitativo del servizio svolto sia livello di analisi sia a livello di prelievo in campo.

Di seguito una differenziazione in funzione del tipo di tecnica/ metodologia/protocollo utilizzati nel corso dell'anno per far fronte alla complessità delle analisi:

Tecnica Analisi		
Parametro	Generale	% Totale
PCR real-time SYBR Green	1020	6
PCR real-time Probe	14389	85,2
Amplificazione isoterma LAMP	58	0,3
PCR end point	1416	8,4
Analisi Morfologica	8	0

Tab. 4 – Tecnica analitica

Dai dati si deduce che quasi il 92,0% di tutte le attività è svolto tramite tecniche di Real Time PCR o 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. Vi è stato un aumento delle attività di PCR end point nel corso del 2024 rispetto al 2023 legato all'incremento delle attività di sequencing (barcoding, et c.).

Analisi per Tecnica Analisi

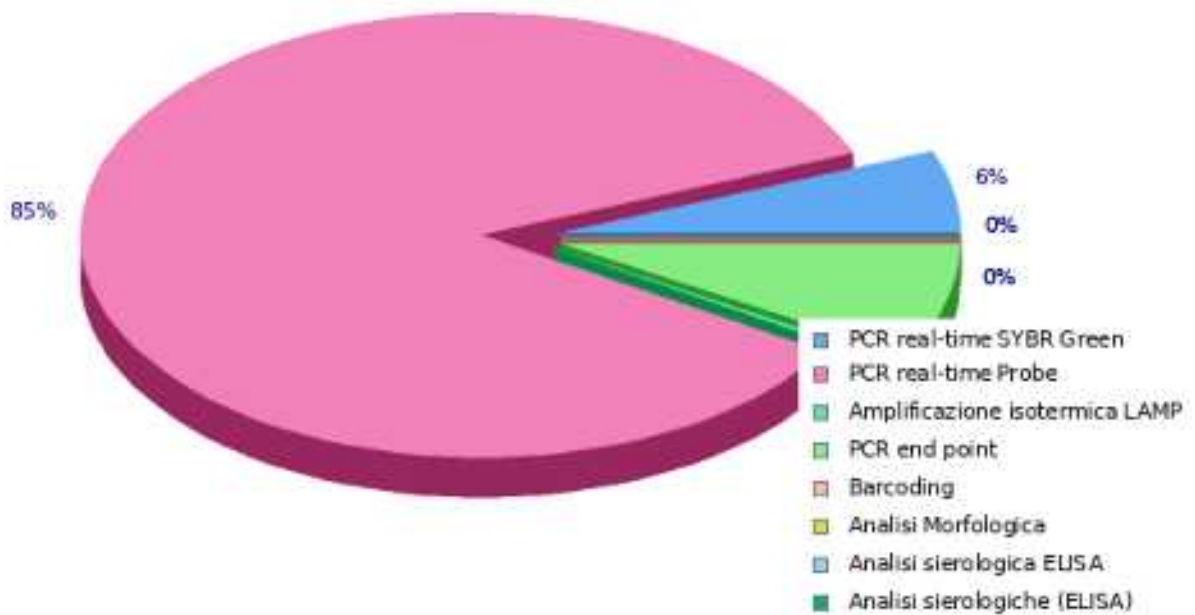


Fig 3 – analisi per tecnica (attività complessive del lab)

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 (Fig. 4 e 5) che danno un quadro di insieme esaustivo.

Campioni per specie

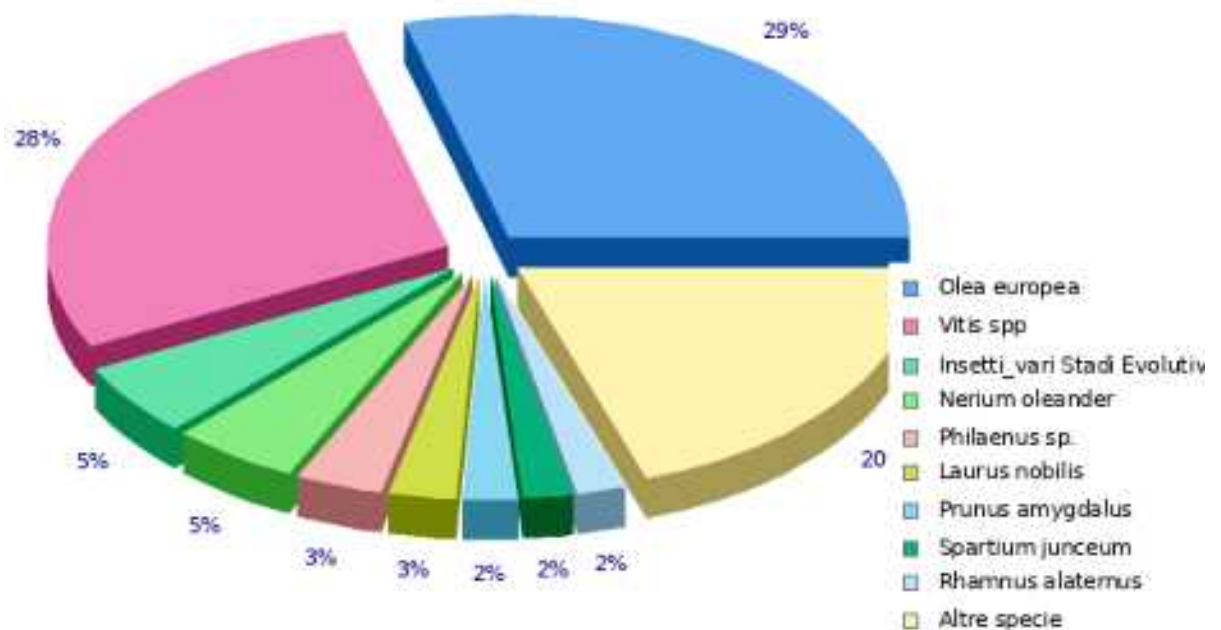


Fig. 4 - % campioni per specie (attività complessive del lab)

L'olivo e la vite sono le specie maggiormente rappresentate, anche in considerazione dell'importanza che tali specie assumono a livello regionale. Il gran numero di indagini è concentrato sulla ricerca di "Flavescenza Dorata" (Grapevine Flavescence Doree_EPPO), per la certificazione vivaistica del materiale prodotto nei vivai viticoli e, per quanto riguarda l'olivo, le indagini per *Xylella fastidiosa* in aree indenni ed in area delimitata.

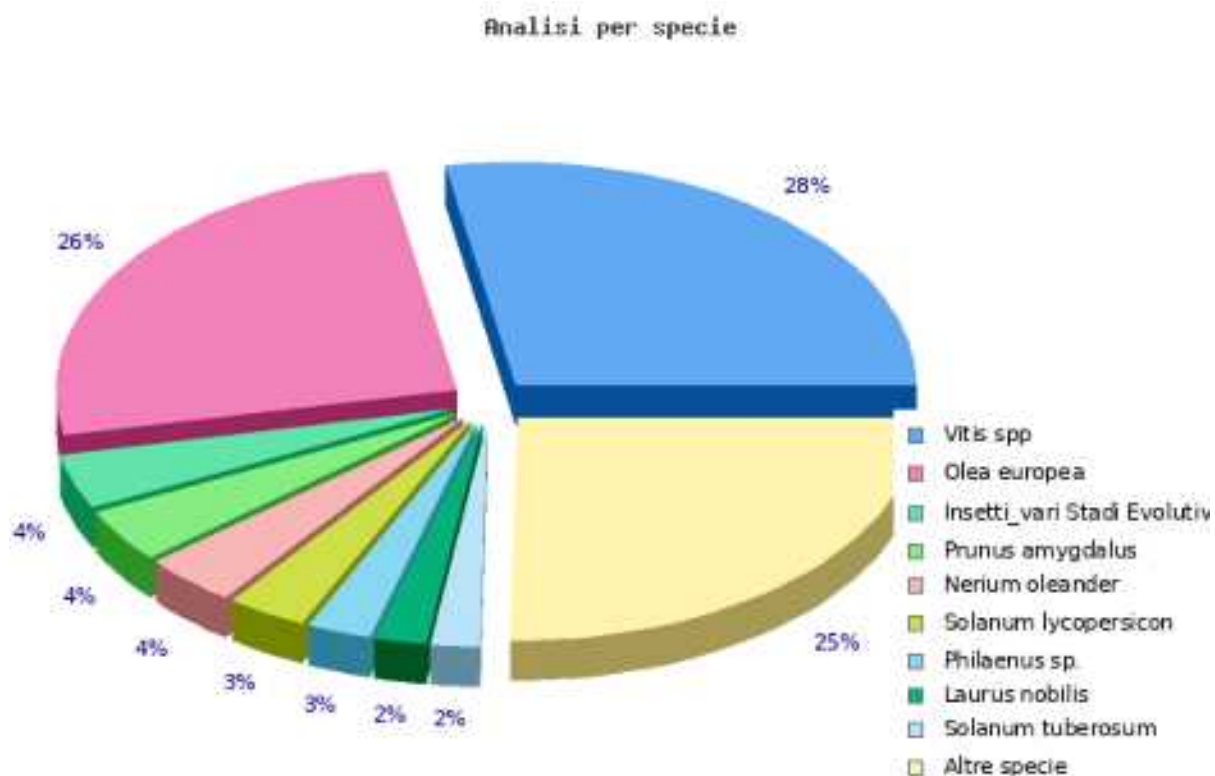


Fig. 5 - analisi per specie (attività complessive del lab)

Di seguito le tabelle ed i grafici relativi ai principali ON investigati nel 2024:

Patogeno	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
<i>Xylella fastidiosa</i>	8341	8285	55	1
Grapevine flavescence dorée phytoplasma	3306	2632	601	73
Arabis Mosaic virus (ArMV)	364	364	0	0
Grapevine leaf roll associated virus - 1 (GLRaV-1)	252	249	1	2
Grapevine fan leaf virus (GFLV)	249	249	0	0
Grapevine leaf roll associated virus - 3 (GLRaV-3)	249	211	38	0
Grapevine virus A (GVA)	249	237	12	0
Tomato ring spot virus (ToRSV)	243	243	0	0
American plum line pattern virus (APLPV)	184	184	0	0
Plum pox virus (PPV)	184	183	1	0
Cherry rasp leaf virus (CRLV)	180	180	0	0
Peach mosaic virus (PCMV)	180	180	0	0
Peach rosette mosaic virus (PRMV)	179	179	0	0
Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)	162	158	4	0
Citrus Tristeza Virus (CTV)	126	117	9	0
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	118	117	1	0
<i>Candidatus liberibacter africanus</i>	117	117	0	0

Laboratorio fitopatologico – Servizio Fitosanitario Regione Toscana

Candidatus liberibacter americanum	117	117	0	0
Candidatus liberibacter asiaticus	117	117	0	0
Grapevine fleck virus (GFKV)	117	113	4	0
Pseudomonas savastanoi pv savastanoi	116	115	1	0
Verticillium dahliae	116	116	0	0
Cherry leaf roll virus (CLRV)	115	115	0	0
Strawberry latent ring spot virus (SLRSV)	115	115	0	0
Erwinia amylovora	109	93	16	0
Tomato leaf curl New Daehli Virus (ToLNDV)	74	74	0	0
Aromia bungii	52	21	30	1
Bursaphelenchus xylophilus	40	40	0	0
Potato spindle tuber viroid (PSTVd)	39	36	3	0
Ralstonia solanacearum	37	37	0	0
Xanthomonas euvesicatoria pv euvesicatoria	37	37	0	0
Xanthomonas gardneri	37	37	0	0
Xanthomonas perforans	37	37	0	0
Meloidogyne chitwoodi	30	27	0	3
Meloidogyne fallax	30	27	0	3
Ceratocystis platani	30	25	5	0
Xanthomonas vesicatoria	29	29	0	0
Phytophthora ramorum	28	25	3	0
Globodera pallida	27	24	0	3
Globodera rostochiensis	27	24	0	3
Tomato spotted wilt virus (TSWV)	27	27	0	0
Candidatus phytoplasma solani	26	26	0	0
Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)	26	26	0	0
Phyllosticta citricarpa	24	14	10	0
Potato leaf roll virus (PLRV)	23	23	0	0
Potato mop top virus (PMTV)	23	23	0	0
Potato virus X	23	20	3	0
Potato virus Y	23	22	1	0
Clavibacter michiganensis subsp. Insidiosus	21	21	0	0
Ralstonia pseudosolanacearum	17	17	0	0
Pepino Mosaic virus (PepMV)	17	17	0	0
Candidatus liberibacter solanacearum	15	15	0	0
Geosmithia morbida	15	15	0	0
Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus	14	14	0	0
Pantoea stewartii	14	14	0	0
Epitrix tuberis	14	14	0	0
Synchytrium endobioticum	14	14	0	0
Arkansas Fig Closterovirus 1	12	12	0	0
Arkansas Fig Closterovirus 2	12	12	0	0
Cauliflower mosaic virus (CaMV)	12	12	0	0
Fig Cryptic virus 1	12	12	0	0
Fig Leaf Mottle associated Virus 3	12	12	0	0
Fig badnavirus-1	12	9	3	0
Fig fleck-associated virus	12	7	5	0
Fig latent virus 1	12	12	0	0
Fig leaf mottle-associated virus 1	12	10	2	0
Fig leaf mottle-associated virus 2	12	12	0	0
Fig mild mottle-associated virus	12	12	0	0
Fig mosaic virus	12	9	3	0
Popillia japonica	11	9	2	0
Xiphinema diversicaudatum	11	11	0	0
Tobacco mosaic virus (TMV)	11	11	0	0
Tomato mosaic virus (ToMV)	11	11	0	0
Meloidogyne arenaria	10	10	0	0

Laboratorio fitopatologico – Servizio Fitosanitario Regione Toscana

Meloidogyne javanica	10	10	0	0
Meloidogyne incognita	10	10	0	0
Pratylenchus vulnus	10	10	0	0
Acidovorax citrulli	9	9	0	0
Meloidogyne graminicola	8	8	0	0
Ditylenchus dipsaci	7	7	0	0
Toumeyella parvicornis	6	3	3	0
Meloidogyne enterolobii	6	6	0	0
Curtobacterium flaccumfaciens	5	5	0	0
Pseudomonas syringae pv actinidiae	5	5	0	0
Aleurocanthus spiniferus	5	5	0	0
Dendrolimus sibiricus	5	5	0	0
Cucumber Mosaic Virus (CMV)	5	5	0	0
Biscogniauxia mediterranea	5	5	0	0
Chryphonectria parasitica	5	5	0	0
Cronartium sp	5	5	0	0
Elsinoe phaseoli	5	5	0	0
Phomopsis longicolla	5	5	0	0
Phytophthora phaseoli	5	5	0	0
Xanthomonas arboricola pv pruni	4	4	0	0
Xanthomonas axonopodis pv phaseoli	4	4	0	0
Xanthomonas axonopodis pv phaseoli var fuscans	4	4	0	0
Pochazia shantungensis	4	0	4	0
Meloidogyne sp	4	2	2	0
Nematodi da quarantena	4	3	0	1
Cladosporium halotolerans	4	0	0	4
Xanthomonas citri pv citri	3	3	0	0
Listronotus bonariensis	3	3	0	0
Prunus necrotic ring spot virus (PNRSV)	3	3	0	0
Tobacco ringspot virus (TRSV)	3	3	0	0
Ralstonia solanacearum species complex	2	2	0	0
Pityophthorus juglandis	2	2	0	0
Zeuzera pyrina	2	2	0	0
Colletotrichum spp	2	2	0	0
Plasmopara halstedii	2	2	0	0
Pseudomonas syringae pv persicae	1	1	0	0
Xylophylus ampelinus	1	1	0	0
Candidatus phytoplasma prunorum	1	1	0	0
Anoplophora chinensis	1	1	0	0
Anoplophora glabripennis	1	1	0	0
Lasioptera berlesiana	1	0	1	0
Lycorma delicatula	1	1	0	0
Ripersiella hibisci	1	0	1	0
Ditylenchus destructor	1	1	0	0
Xiphinema sp	1	0	1	0
Bean yellow mosaic virus (BYMV)	1	1	0	0
Olive latent Virus - 1 (OLV-1)	1	1	0	0
Olive latent Virus - 2 (OLV-2)	1	1	0	0
Olive leaf yellowing-associated virus (OLYaV)	1	1	0	0
Olive ring spot virus (OLRSV)	1	1	0	0
Olive vein yellowing associated virus	1	1	0	0
Olive yellow mottling and decline associated virus	1	1	0	0
Pea early browning virus	1	1	0	0
Pea mild mosaic virus	1	1	0	0
Pea seed-borne mosaic virus	1	1	0	0
Pea stem necrosis virus	1	1	0	0
Rose Rosette Virus	1	1	0	0

Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)	1	1	0	0
Armillaria sp	1	0	0	1
Phoma sp	1	0	0	1
Phyllosticta citriasana	1	1	0	0
Verticillium sp	1	1	0	0

Tab. 5 – Organismi nocivi analizzati nel corso del 2024. Tali dati sono comprensivi anche delle varie prove interne effettuate per la ottimizzazione e validazione di protocolli diagnostici specifici per un dato organismo nocivo.

Dal punto di vista grafico:

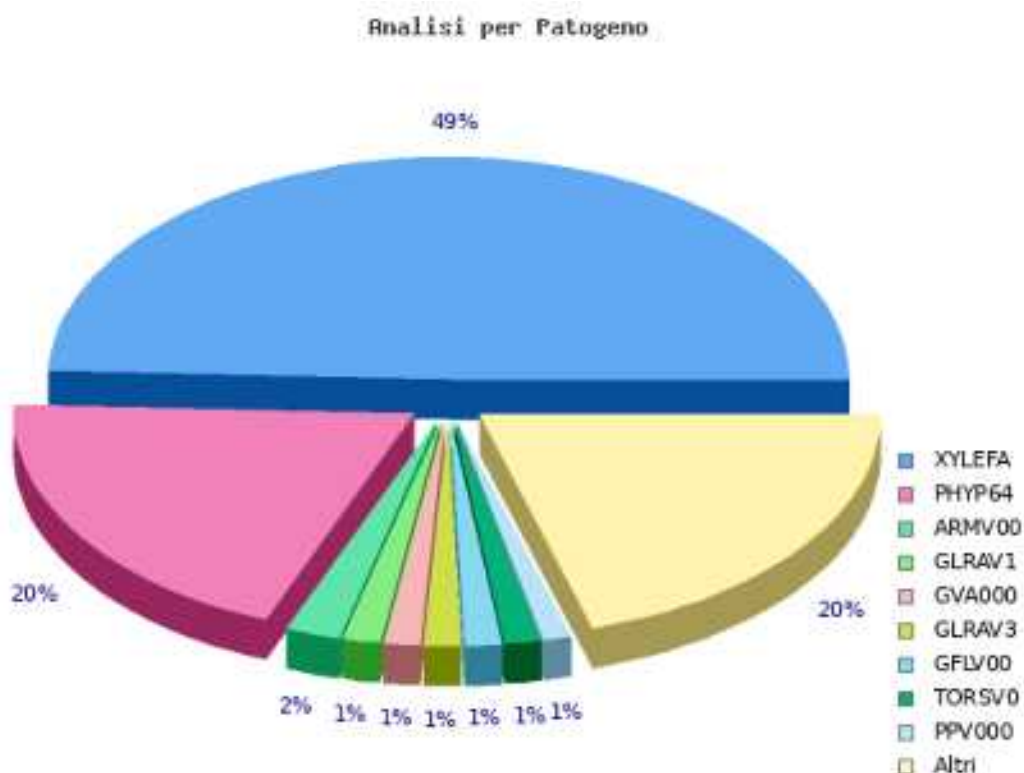


Fig 6 – analisi per patogeno (analisi complessive del lab)

La distinzione delle analisi in funzione degli ON indagati evidenzia come le analisi per *Xylella fastidiosa* siano prevalenti rispetto alla totalità delle attività del LAB.

Si tratta di numeri notevoli che hanno, tutto sommato, continuato con il trend operativo degli ultimi anni rispetto alle principali attività a livello territoriale (Grapevine Flavescence doree e *Xylella fastidiosa*).

I prelievi dei campioni pervenuti in laboratorio nel corso del 2023 hanno avuto la seguente distribuzione territoriale.

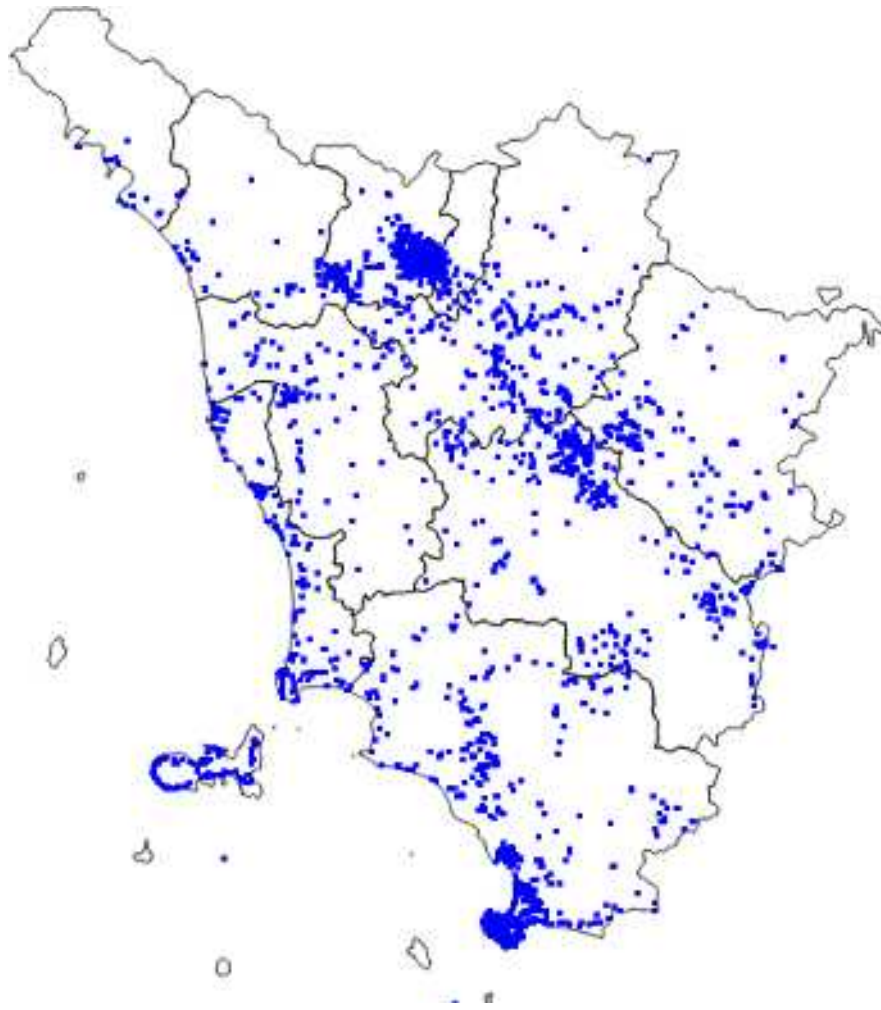


Fig. 7 - distribuzione territoriale dei campioni prelevati (blu)

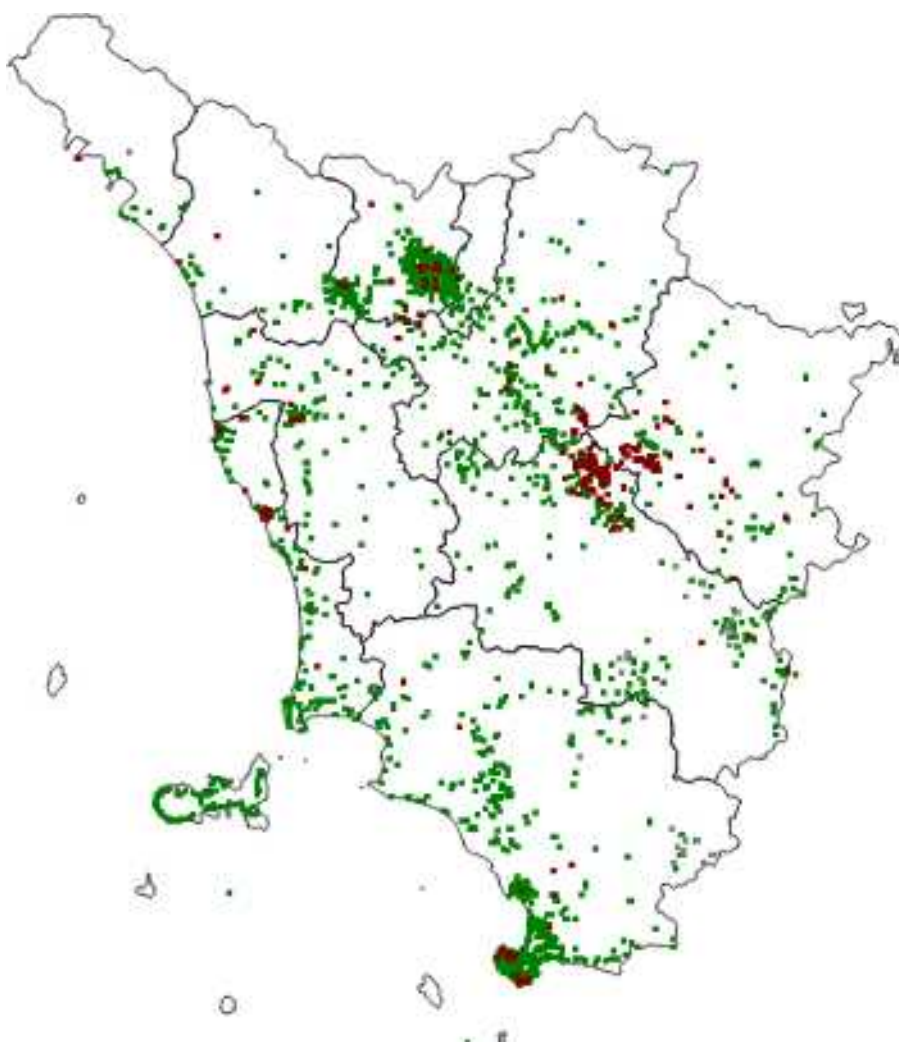


Fig. 8 distribuzione territoriale dei risultati analitici (verde = negativo, rosso = positivo).

Come si può osservare dalla distribuzione territoriale dei campioni prelevati, le aree maggiormente rappresentate (al pari degli ultimi anni) sono costituite dal polo vivaistico della provincia di Pistoia, dal focolaio di *Xylella fastidiosa* del Monte Argentario (GR) e dalle aree interne del Chianti senese e fiorentino in relazione alle indagini per la verifica della presenza di *Grapevine Flavescence doree phytoplasma*.

Analizzando il carico di lavoro mensile possiamo schematizzare in questo modo la distribuzione del carico e intensità lavorativa del laboratorio SFR nel corso del 2024.

Mese	Richieste	Rapporti	Campioni	Analisi	Analisi Totali	Positivi
Gennaio	145	47	331	524	855	11
Febbraio	56	153	793	1427	2220	58
Marzo	48	71	540	1457	1997	16
Aprile	188	75	829	521	1350	5
Maggio	236	211	565	608	1173	1
Giugno	254	262	705	891	1596	13
Luglio	209	208	1003	1122	2125	15
Agosto	344	228	958	2296	3254	25
Settembre	740	654	2980	2431	5411	185
Ottobre	623	627	2537	2916	5453	424
Novembre	410	466	1186	1781	2967	46

Tab. 6 – Intensità lavorativa nel corso del 2024

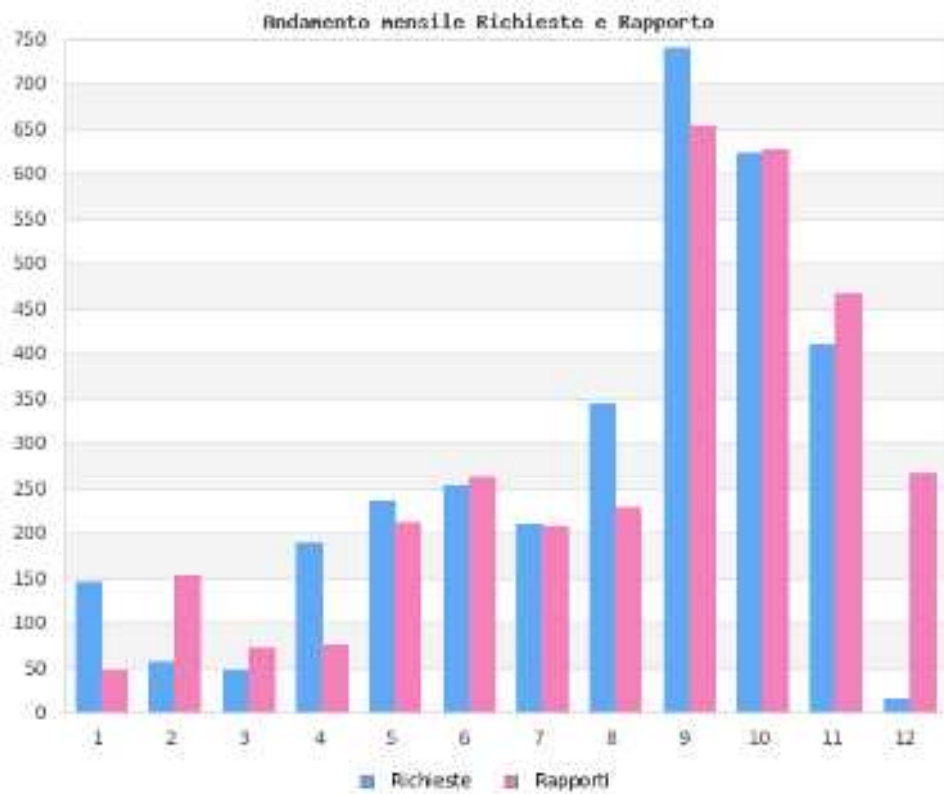


Fig. 10 - carico di lavoro per mese. Andamento mensile delle richieste di analisi e dei referti diagnostici emessi.

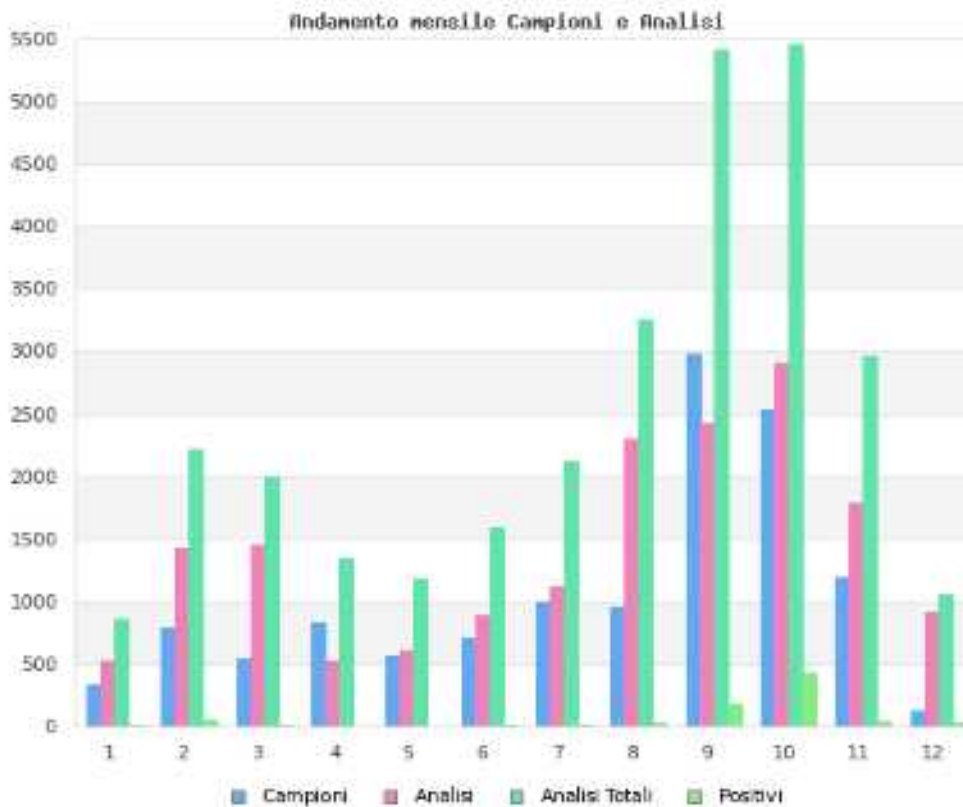


Fig. 11 - carico di lavoro per mese. Andamento mensile dei campioni pervenuti in laboratorio e numero di analisi effettuate e di analisi totali (con verifiche di amplificabilità), con il numero delle positività riscontrate.

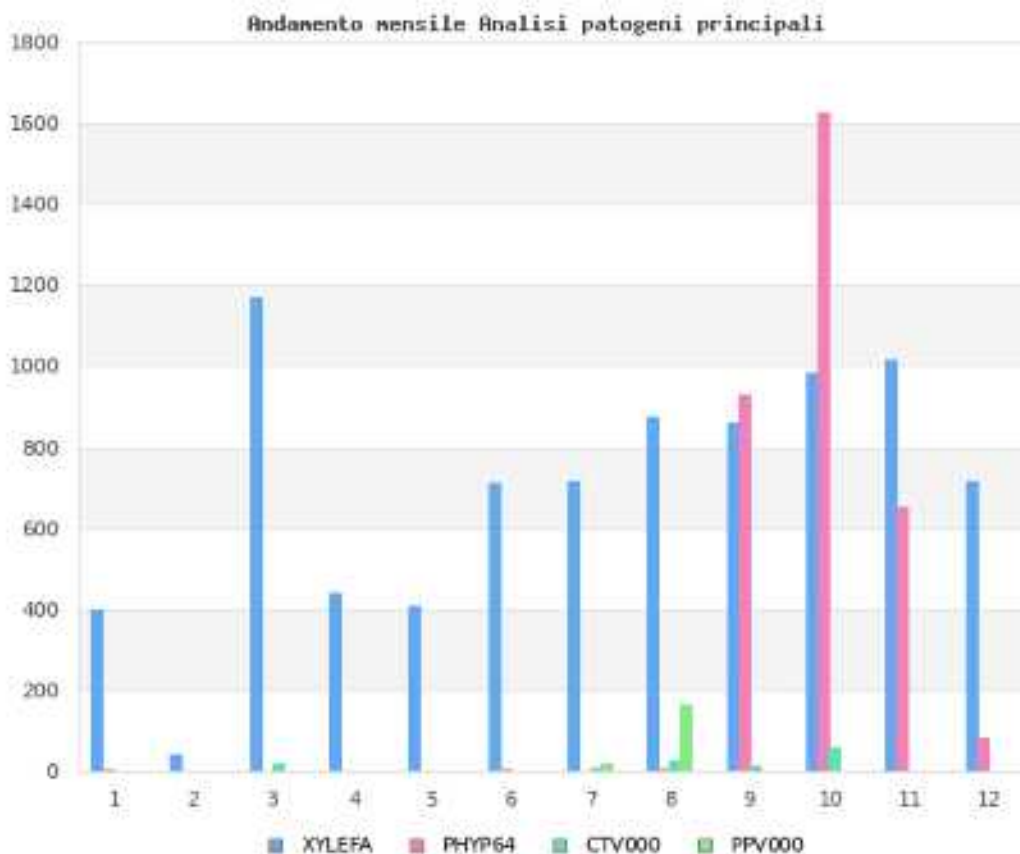


Fig. 12 -carico di lavoro per mese. Distribuzione mensile delle analisi effettuate per i principali ON oggetto di indagine da parte del SFR in Toscana. XYLEFA = Xylella fastidiosa, PHYP64 = Grapevine Flavescence doore phytoplasma, CTV000 = Citrus Tristeza Virus, PPV000 = Plum Pox Virus.

Attività effettuate presso il Laboratorio ufficiale di Guasticce – Collesalveti (LI) collegate al punto di entrata del porto di Livorno

Il laboratorio multi sito (LAB) comprende anche la sede B situata a Guasticce - Collesalveti (LI), che svolge i controlli all'importazione nel punto di entrata del porto di Livorno. Nel corso del 2024 la sede B è stata accreditata in conformità della norma ISO 17025 per una prova diagnostica relativa alla verifica della presenza di *Phyllosticta citricarpa* tramite qPCR Probe, oltre a quella pregressa del 2023 relativa a *Xylella fastidiosa*, la designazione quale laboratorio ufficiale per tali prove è stata emessa di conseguenza. Per cui la sede B allo stato attuale può effettuare analisi nell'ambito dei controlli ufficiali ed altre attività ufficiali per le categorie di organismi nocivi afferenti ai Batteri e Funghi (Reg UE 2021/1353). Il LAB sede B, nel corso del 2024 è stato ulteriormente potenziato con personale dedicato. La sezione dedicata alla biologia molecolare, con termociclatori, materiale ed attrezzature per estrazioni acidi nucleici, etc è operativa e funzionale alle attività previste ai fini dei controlli su piante e vegetali.

Nel 2024 complessivamente sono state effettuate 202 analisi (relative a 99 campioni). Si tratta di numeri piccoli rispetto a quelli relativi al LAB della sede A di Pistoia, ma tali valori

aumenteranno nel corso del 2025 anche alla luce del nuovo accreditamento ISO 17025 per la prova su *Phyllosticta citricarpa*.

Serie Storiche delle attività di Diagnostica Fitopatologia del Laboratorio - periodo 2013-2024

Per evidenziare la dimensione delle attività svolte dal laboratorio nel corso degli ultimi 12 anni, a partire dal 2013, sono stati messi a confronto dati annuali più significativi, così rappresentati:

Anno	Richieste Ricevute	Campioni processati	Analisi Effettuate
2013	564	2.036	2.036
2014	559	4.216	4.224
2015	1.451	10.193	10.520
2016	1.238	6.591	6.611
2017	2.214	13.559	29.236
2018	2.113	15.974	25.372
2019	4.944	21.708	45.009
2020	4.283	16.854	38.730
2021	3.668	11.627	27.827
2022	2.818	11.530	27.013
2023	3.853	15.107	34.462
2024	3.304	12.760	30.452

Tab. 7 – serie storica di richieste ricevute, campioni processati e analisi effettuate

L'andamento dei campioni lavorati e delle analisi effettuate dà un'idea di come l'attività del laboratorio si è evoluta negli ultimi 12 anni:

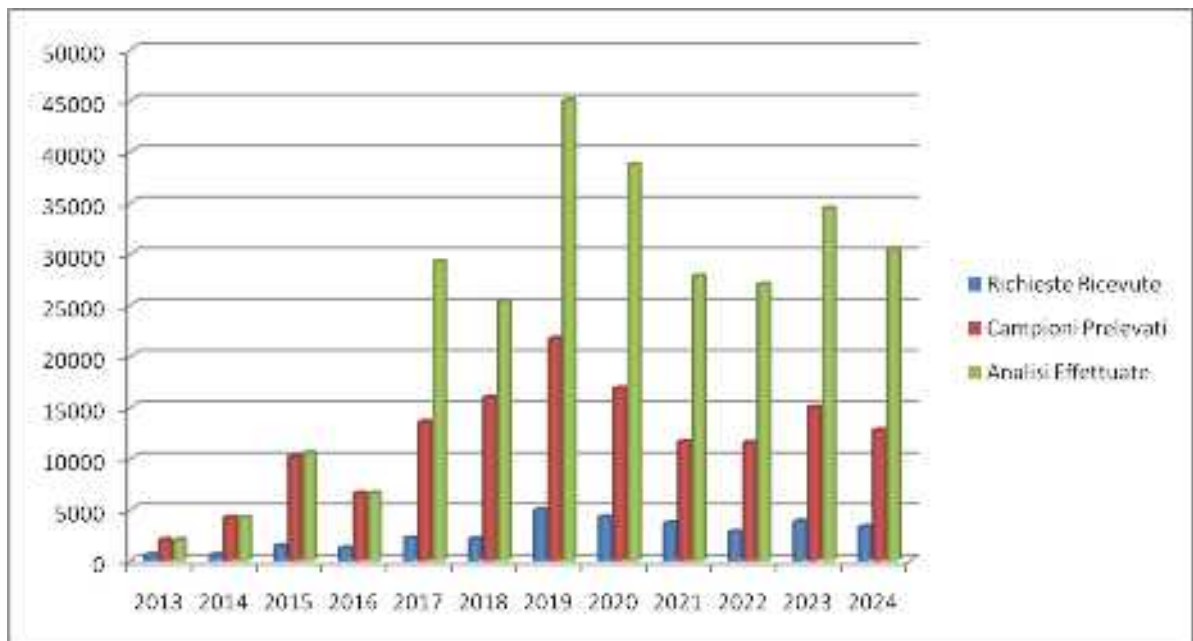


Fig. 13 – rappresentazione grafica della serie storica di richieste ricevute, campioni processati e analisi effettuate

Collaborazioni e Convenzioni con altri Enti e Istituzioni Scientifiche

Nel corso del 2024 sono proseguite le collaborazioni a carattere scientifico tra il laboratorio del Servizio Fitosanitario della Regione Toscana ed i vari centri di ricerca scientifica con cui il LAB ha da tempo istituito rapporti di collaborazione.

Il LAB è coinvolto per quel che concerne gli aspetti diagnostici e/o di conferma analitica. Le tematiche legate alla diagnostica fitopatologia che sono state oggetto di collaborazione/sperimentazione nel corso del 2024, possono essere così descritte.

1. Università di Pisa

- Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali Università di Pisa,) per attività analitiche volte alla diagnosi dei virus delle colture ornamentali, della vite e dell'Olivo.
- Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali Università di Pisa, per collaborazioni in merito alla diagnosi biomolecolare di *Hyalestes obsoletus* e *Scaphoideus titanus*
- Per collaborazioni scientifiche legate alla caratterizzazione di *Grapvine flavescence doree phytoplasma* su vite.

2. Università di Firenze

- dipartimento di Biotecnologie agrarie 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 per attività analitiche legate alla validazione di metodi estrattivi innovativi, performanti e rapidi da diverse matrici vegetali finalizzate alla diagnosi di *Xylella fastidiosa*.
- dipartimento di Biotecnologie agrarie 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 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). Collaborazione volta alla diagnosi di *Elsinoe australis* e *E. fawcettii*.
- dipartimento di entomologia forestale per collaborazione volta alla diagnosi di *Agrilus planipennis*, *Neophilaenus campestris* e *Philaenus spumarius*.
- Università di Firenze dipartimento di entomologia agraria per collaborazioni scientifiche legate alla diagnosi di *Bactrocera dorsalis*, *Neophilaenus campestris*, *Philaenus spumarius*, *Anastrepha fraterculus*, *Anastrepha ludens*.

3. Università di Udine

- Per collaborazioni scientifiche legate alla caratterizzazione di *Grapvine flavescence doree phytoplasma* su vite.

4. CREA di Conegliano Veneto

- Per collaborazioni scientifiche legate alla caratterizzazione di *Grapvine flavescence doree phytoplasma* su vite.

5. CREA-DC di Roma

- Per attività analitiche di biologia molecolare volte alla diagnosi dei ceppi specifici per CTV.
- Per attività analitiche di biologia molecolare volte alla predisposizione di metodi *multiplex* per la diagnosi di *Xylella fastidiosa*

6. CREA-DC di Firenze (Cascine del Riccio)

- Per attività comparative relative a metodi estrattivi da rosure legnose di *Aromia bungii*
- Per attività analitiche di biologia molecolare volte alla diagnosi di *Monochamus* sp (europei) da rosura, di *Bactrocera zonata*, di *Phloeosinus aubei* e *Phloeosinus armatus*.
- per attività volte alla diagnosi e identificazione “genetica” di alcuni importanti insetti xilofagi o di fitofagi di temuta introduzione in Italia

7. Regione Piemonte – Laboratorio Servizio Fitosanitario

- Per attività comparative relative a metodi estrattivi da rosure legnose di *Aromia bungii*

8. Regione Lombardia – laboratorio Servizio Fitosanitario

- Per attività volte alla diagnosi e identificazione “genetica” di alcuni importanti insetti xilofagi (*Xylotrechus chinensis*) di nuova introduzione in Italia.
- Per attività comparative relative a metodi estrattivi da rosure legnose di *Aromia bungii*

9. CNR di Sesto Fiorentino (FI)

- per attività di diagnosi in campo, oltre che di confronti interlaboratori, mediante reazioni isotermiche (LAMP) per la diagnosi di vari organismi nocivi alle piante.
- Per attività analitiche di biologia molecolare volte alla diagnosi di *Agrilus anxius*, *Agrilus planipennis*, *Anoplophora chinensis*, *Bactrocera zonata* e *Xylella fastidiosa* con tecniche innovative.

10. CNR di Napoli (NA)

- Per attività analitiche di biologia molecolare volte alla diagnosi di *Aleurocanthus spiniferus*, *Bactrocera dorsalis*, *Ceratitis capitata*, *Ceratitis FARQ* e *Agrilus auroguttatus* in Real Time PCR (probe).

11. Università di Portici (NA)

- collaborazioni per attività di *screening* da campo per la diagnosi di *Toumeyella parvicornis* in Real Time PCR (probe).
- Per attività analitiche legate alla validazione di metodi estrattivi innovativi, performanti e rapidi da diverse matrici vegetali incentrate comunque sulle rosure di *Aromia bungii*, *Anoplophora chinensis* e *glabripennis*

12. 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 *Agrilus planipennis*.

13. Università della California (USA), Department of Entomology, USA

- per attività di collaborazione relativamente alla diagnosi biomolecolare indiretta di *Agrilus auroguttatus* da insetti adulti, larve e rosure legonse ("tracce biologiche").

14. Animal and Plant Health Inspection Service U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA.APHIS)

- per attività di collaborazione relativamente alla diagnosi biomolecolare indiretta di *Agrilus planipennis* da insetti adulti, larve e rosure legonse ("tracce biologiche").

15. Università di Catania (CT)

- Attività di collaborazione in merito alla diagnosi di *Aleurocanthus camelliae* e *A. spiniferus*.

Il laboratorio del SFR nel corso del 2024 ha effettuato diversi confronti interlaboratori (come anticipato in alcuni casi precedentemente) sia con istituzioni scientifiche sia internamente tra le due sedi del LAB, per tematiche legate alla diagnostica fitopatologica.

1. Proficiency Test per la diagnosi dei Virus della Vite soggetti a norme fitosanitarie (GVA, ARMV, GFLV, GLRAV1, GLRAV-3, GFKV), a cura del laboratorio nazionale di riferimento del CREA-DC, Roma, Italy. CREA-DC_PT2024_01_VirusVite
2. Proficiency Test_ToBRFV_laboratorio Multisito sede Pistoia a cura della Sede A del LAB relativamente alle prove accreditate. A questo PT hanno partecipato sia la sede A sia la sede B del LAB.
3. Proficiency Test_*Ips typographus*_laboratorio Multisito sede Pistoia a cura della Sede A del LAB relativamente alle prove accreditate. A questo PT hanno partecipato sia la sede A sia la sede B del LAB.
4. Proficiency Test_*Xylotrechus chinensis*_laboratorio Multisito sede Pistoia a cura della Sede A del LAB relativamente alle prove accreditate. A questo PT hanno partecipato sia la sede A sia la sede B del LAB.
5. Proficiency Test_*Anomala orientalis*_laboratorio Multisito sede Pistoia a cura della Sede A del LAB relativamente alle prove accreditate. A questo PT hanno partecipato sia la sede A sia la sede B del LAB.
6. Proficiency Test_*Philaenus italosignus*_laboratorio Multisito sede Pistoia a cura della Sede A del LAB relativamente alle prove accreditate. A questo PT hanno partecipato sia la sede A sia la sede B del LAB.
7. Proficiency Test per la caratterizzazione genetica di *Grapevine Flavescence Dorè* Phytoplasma tramite duplex qPCR Probe, a cura della Sede A del LAB. I laboratori coinvolti sono stati: Univ. Di Pisa, Univ. Di Udine, CREA di Conegliano Veneto, Sede A del LAB.
8. Proficiency Test per la diagnosi di *Agrilus anxius* tramite qPCR Probe su insetti adulti e frass artificiali a cura della Sede A del LAB. I laboratori coinvolti sono stati: CNR di Sesto Fiorentino, Sede A del LAB.
9. Proficiency test per la diagnosi di *Bursaphelenchus xylophilus* a cura del laboratorio nazionale di riferimento del CREA-DC, Roma, Italy. CREA-DC_PT2024_2_BURXSX
10. Proficiency test per la diagnosi di *Phyllosticta citricarpa/P. paracitricarpa* a cura del laboratorio nazionale di riferimento del CREA-DC, Roma, Italy. CREA-DC_PT2024_03_GUIGCI. A questo PT hanno partecipato sia la sede A sia la sede B del LAB.
11. Proficiency test per la diagnosi di *Liberibacter sp* a cura del laboratorio nazionale di riferimento del CREA-DC, Roma, Italy.

Metodiche e Protocolli Diagnostici del Laboratorio del SFR

Nel corso del 2024, 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.

Nel corso del 2024 il laboratorio ha sviluppato/ottimizzato ulteriori metodi interessando ulteriori target (Organismi nocivi) portando a **1.428 metodi/protocolli diagnostici** per **584 Organismi Nocivi** di quarantena e/o di interesse fitosanitario, potenzialmente oggetto di verifiche analitiche da parte del laboratorio.

Costi e Investimenti per il Laboratorio

In relazione all'attività svolta nel corso del 2024 sono stati sostenuti costi legati ai beni di consumo (reagenti, plastiche, materiale di consumo vario, ecc.) pari a € 229.401,40 euro; i costi per i servizi sono stati pari a € 126.869,65 euro, mentre € 152.609,06 euro sono stati investiti per strumenti ed arredi. L'aumento dei costi sostenuti per i servizi è dovuto sia all'aumento delle attività complessive del laboratorio sia agli adeguamenti necessari per l'accreditamento ISO 17025.

Complessivamente nel corso del 2024 per il laboratorio del SFR Toscana sono stati spesi € 508.880,11 euro.

Pubblicazioni

Nel corso del 2024, i tecnici del 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. Rizzo, D.; Zubieta, C.G.; Sacchetti, P.; Marrucci, A.; Miele, F.; Ascolese, R.; Nugnes, F.; Bernardo, U. **Diagnostic Tool for the Identification of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera: Tephritidae) Using Real-Time PCR.** *Insects* 2024, 15, 44. <https://doi.org/10.3390/insects15010044>
2. Pedrelli A, Carli M, Panattoni A, Pellegrini E, Rizzo D, Nali C and Cotrozzi L (2024) **Investigating a new alarming outbreak of flavescence dorée in Tuscany (Central Italy): molecular characterization and map gene typing elucidate the complex phytoplasma ecology in the vineyard agroecosystem.** *Front. Plant Sci.* 15:1489790. doi: 10.3389/fpls.2024.1489790
3. Matteo Bracalini, Anita Nencioni, Sara Campigli, Guido Marchi, Domenico Rizzo, Tiziana Panzavolta. **Advancements in the study of *Xylella fastidiosa* vectors: biology and biometrics of *Philaenus italosignus* juveniles.** Atti del convegno *the 26th IUFRO World Congress. FORESTS & SOCIETY TOWARDS 2050. BOOK OF ABSTRACTS. FORESTS & SOCIETY TOWARDS 2050.*
4. **Using hyperspectral data to early detect "flavescence dorée" in Tuscany vineyards.** Marco Carli, Athos Pedrelli, Lorenzo Cotrozzi, Alessandra Panattoni, Piero Braccini, Domenico Rizzo and Cristina Nali. Atti del convegno "European workshop on "flavescence dorée" – 25-26 January 2024 - Verona, Italy".
5. **Leaf disk processing technique to enhance DNA extraction and sample storage for "flavescence dorée" phytoplasma detection by real-time LAMP assay.** Rocco Caracciolo, Giulia Casini, Laura Mugnai, Franco Valentini, Matteo Voltarelli, Annamaria Scavuzzo, Domenico Rizzo and Anna Maria D'Onghia. Atti del convegno "European workshop on "flavescence dorée" – 25-26 January 2024 - Verona, Italy".
6. **Emergence of *Cryptostroma corticale* in Italy, a fungal plant pathogen of concern for human health and a challenging drive to select maple varieties and provenances suitable for urban forestry.** Ghelardini Luisa, Pepori Alessia Lucia, Schloesser Rebekka, Bariselli Massimo, Boggi Valentina, Campani Carlo, Ferrari Dario, Ferrini

Francesco, Maresi Giorgio, Morri Anna, Parigi Camilla, Rizzo Domenico, Santini Alberto. Poster. Atti del Convegno “Forum Nazionale della Biodiversità” 20-21 maggio 2024, Palermo.

7. **Rapid identification of *Ips sexdentatus* (Boerner, 1766) (Curculionidae) from adults and frass with real-time PCR based on probe technology.** D. Rizzo, C. G. Zubieta, M. Carli, A. Marrucci, C. Ranaldi, B. Palmigiano, L. Bartolini, F. Pennacchio, M. Bracalini, A. P. Garonna, T. Panzavolta, M. Moriconi. Journal of Plant Diseases and Protection <https://doi.org/10.1007/s41348-024-00902-4>.
8. **Rapid identification of *Ripersiella* (= *Rhizoecus*) *hibisci* (Kawai & Takagi, 1971) (Hemiptera: Rhizoecidae) with TaqMan probe-based real-time PCR.** EPPO Bulletin. 2024;54:41–48. DOI: 10.1111/epp.13002. D. Rizzo, M. Moriconi, M. Carli, I. Stabile, C. G. Zubieta, A. Marrucci, C. Ranaldi, B. Palmigiano, A. d'Agostino, M. Guastini, G. Gilli, L. Bartolini, F. Miele, U. Bernardo, E. Rossi.
9. Schlößer, R., Santini, A., Pepori, A.L., Baschieri, T., Campani, C., Ferrari, D., Maresi, G., Rizzo, D., Stazione, L., Biscioni, G., & Ghelardini, L. (2024). **Cryptostroma corticale in Italy: new reports of sooty bark of *Acer pseudoplatanus* and first outbreak on *Acer campestre*.** Phytopathologia Mediterranea 63(3): 399-406. doi: 10.36253/phyto-15744.
10. **La Flavescenza Dorata su Sangiovese ritarda la senescenza fogliare.** Informatore Agrario 3/2024 | Vite&Vino. P. Braccini, C. G. Zubieta, M. Moriconi, P. Bianco. D. Rizzo.
11. **Transmission of *Xylella fastidiosa* subspecies *multiplex* from naturally infected to healthy *Rhamnus alaternus* by *Philaenus spumarius* and *Neophilaenus campestris*.** Anita Nencioni, Elisabetta Gargani, Agostino Strangi, Domenico Rizzo, Immacolata Iovinella, Patrizia Sacchetti, Pio Federico Roversi, Ilaria Cutino. Journal of Pest Science <https://doi.org/10.1007/s10340-024-01775-0>.
12. **Identification of the ambrosia beetle *Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg, 1837) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) from frass and adult DNA by TaqMan Probe real-time-PCR.** Domenico Rizzo, Igor Stabile, Andrea Marrucci, Chiara Ranaldi, Claudia Gabriela Zubieta, Andrea d'Agostino, Linda Bartolini, Fabrizio Pennacchio, Elisabetta Rossi, Antonio P. Garonna. EPPO Bulletin. 2024;00:1–11. DOI: 10.1111/epp.12970

Conclusioni

In considerazione di quanto esposto, anche nel corso del 2024 il carico di lavoro per il LAB è stato notevole, con picchi lavorativi considerevoli nel corso dell'anno. Il lavoro legato all'adeguamento del LAB ai requisiti richiesti dalla norma ISO/IEC 17025 ha determinato un ulteriore appesantimento delle attività.

È da rimarcare che i risultati prodotti, anche in relazione al carico di lavoro di cui sopra, sono stati possibili grazie alla collaborazione e alla sinergia di tutto il personale del LAB, all'affidamento di alcune attività a soggetti esterni per ottimizzare parte delle lavorazioni

propedeutiche alle analisi (preparazione delle aliquote dai campioni vegetali) e allo sviluppo del software gestionale delle attività del laboratorio.

L'anno appena trascorso ha comunque fatto emergere alcune criticità per il laboratorio che sarà opportuno affrontare nel corso dei prossimi anni, investendo risorse in particolare per una nuova LIMS, per la ottimizzazione dei processi di analisi in funzione delle tipologie di matrici potenziali, delle attrezzature, delle infrastrutture e del personale per eseguire le attività nel rispetto degli standard sempre più elevati richiesti dal Reg. 625/2017.

Allegati

Tabella 1- Elenco completo delle specie oggetto d'indagine nel 2024

Specie	Campioni	Analisi	Negativi	Positivi	Indeterminati
Olea europea (Olivo)	3667	4313	4311	2	0
Vitis spp	3549	4692	3962	656	74
Insetti_vari Stadi Evolutivi	668	668	662	6	0
Nerium oleander (Oleandro)	638	638	636	2	0
Philaeus sp.	439	439	421	18	0
Laurus nobilis	343	348	348	0	0
Prunus amygdalus (Mandorlo)	277	655	654	1	0
Spartium junceum	250	250	232	18	0
Rhamnus alaternus	244	245	239	6	0
Solanum lycopersicon (pomodoro)	119	541	536	5	0
Rosmarinus officinalis	102	102	102	0	0
Neophilaenus sp.	100	100	99	1	0
Pistacia lentiscus	73	73	73	0	0
Prunus laurocerasus	72	74	74	0	0
Solanum tuberosum	71	327	311	4	12
Mirto	66	67	67	0	0
Acer sp	61	62	60	2	0
Lavandula sp	58	58	58	0	0
Phillyrea angustifolia	55	55	55	0	0
Prunus armeniaca (Albicocco)	50	208	194	14	0
Arbutus unedo	48	48	48	0	0
Citrus spp	47	168	163	5	0
Prunus domestica	45	203	195	7	1
Prunus lusitanica	45	46	46	0	0
Viburnum tinus	45	46	43	3	0
Elaeagnus sp.	43	43	43	0	0
Rosmarinus sp.	42	42	42	0	0
Pinus spp	38	39	36	3	0
Pyrus spp	36	36	28	8	0
Vitis vinifera	36	45	43	1	1
Limone	35	120	114	6	0
Prunus persica	35	213	211	2	0
Cistus creticus	34	34	34	0	0
Prunus avium (Ciliegio)	34	195	195	0	0
Liquidambar sp.	32	32	32	0	0
Platanus spp	31	31	26	5	0
Quercus ilex	30	30	30	0	0
Ilex sp.	29	29	29	0	0
Calicotome spinosa	28	28	24	4	0
Cistus monspeliensis	28	28	28	0	0
Quercus suber	28	40	40	0	0
Ficus carica	27	107	103	4	0
Erica multiflora	26	26	26	0	0
Citrus sinensis	25	94	93	1	0
Magnolia grandiflora	25	25	23	2	0
Lagerstroemia sp.	24	24	24	0	0
Malus domestica	22	22	20	2	0
Olea europea (Olivo) (OLVEU)	22	0	0	0	0
Rosa spp	22	23	23	0	0
Solanum lycopersicon (pomodoro) (LY-	22	0	0	0	0

Laboratorio fitopatologico – Servizio Fitosanitario Regione Toscana

PES)					
Calicotome villosa	21	21	19	2	0
Polygala myrtifolia	20	20	20	0	0
Prunus spp	19	49	44	5	0
Pyrus communis	15	15	15	0	0
Zea mays (Mais)	14	14	14	0	0
Lavandula dentata	13	13	13	0	0
Phillyrea sp.	13	13	13	0	0
Robinia sp.	13	13	13	0	0
Acacia dealbata	12	12	12	0	0
Capsicum spp	12	68	68	0	0
Cercis siliquastrum	12	12	12	0	0
Magnolia sp.	12	12	12	0	0
Pyracantha spp	12	12	10	2	0
Citrus limetta	11	39	33	6	0
Citrus paradisi	11	47	46	1	0
Citrus reticulata	11	39	39	0	0
Crataegus spp	11	11	8	3	0
Fortunella spp	11	51	51	0	0
Viburnum sp.	11	11	11	0	0
Brassica sp.	10	41	41	0	0
Pistacia sp.	10	10	10	0	0
Teucrium sp.	10	10	10	0	0
Capsicum annuum (Peperone)	9	55	53	2	0
Cistus salviifolius	9	9	9	0	0
Cistus spp	9	9	9	0	0
Cotoneaster spp	9	9	9	0	0
Phaseolus vulgaris	9	28	28	0	0
Ginkgo biloba	8	8	8	0	0
Globularia alypum	8	8	8	0	0
Juglans nigra	8	8	8	0	0
Juglans regia	8	8	8	0	0
Morus sp.	8	8	8	0	0
Oryza sativa	8	8	8	0	0
Pittosporum sp.	8	8	8	0	0
Rosmarinus officinalis var. prostrata	8	8	8	0	0
Varie	8	8	7	0	1
Clematis flammula	7	7	7	0	0
Elaeagnus	7	7	7	0	0
Ligustrum sp.	7	19	17	2	0
Prunus pissardi	7	7	7	0	0
Eriobotrya sp.	6	6	5	1	0
Helichrysum italicum	6	6	6	0	0
Sixalix atropurpurea	6	6	6	0	0
Actinidia spp	5	7	7	0	0
Allium ampeloprasum	5	10	10	0	0
Citrus medica	5	21	21	0	0
Ficus sp.	5	45	36	9	0
Ilex aquifolium	5	5	5	0	0
Lavandula angustifolia	5	5	5	0	0
Lonicera sp.	5	5	5	0	0
Malus spp	5	5	5	0	0
Pinus pinea	5	5	5	0	0
Salvia sp.	5	5	5	0	0
Teucrium fruticans	5	5	5	0	0
Clematis vitalba	4	4	4	0	0
Dittrichia viscosa	4	4	4	0	0

Laboratorio fitopatologico – Servizio Fitosanitario Regione Toscana

Helichrysum sp.	4	4	4	0	0
Inula sp.	4	4	4	0	0
Quercus spp	4	8	8	0	0
Asparagus acutifolius	3	3	2	0	1
Callistemon sp.	3	3	3	0	0
Cappero	3	3	3	0	0
Citrus australasica	3	15	15	0	0
Citrus x nobilis	3	15	15	0	0
Cytisus scoparius	3	3	3	0	0
Hibiscus spp	3	3	3	0	0
Pelargonium sp.	3	3	3	0	0
Photinia spp	3	3	3	0	0
Pittosporum	3	3	3	0	0
Prunus cerasifera	3	3	3	0	0
Prunus serrulata	3	21	21	0	0
Sorbus spp	3	3	3	0	0
Allium cepa	2	2	0	0	2
Amelanchier spp	2	2	2	0	0
Chamaerops sp.	2	0	0	0	0
Citrus aurantium	2	6	6	0	0
Citrus mitis	2	10	10	0	0
Citrus spp	2	2	2	0	0
Corylus sp.	2	2	2	0	0
Cucurbita maxima (Zucca)	2	2	2	0	0
Cucurbita pepo (Zucchino)	2	2	2	0	0
Daphne	2	2	2	0	0
Eucaliptus spp	2	2	2	0	0
Euphorbia sp.	2	2	2	0	0
Helianthus spp	2	2	2	0	0
Medicago sativa (Erba medica)	2	4	4	0	0
Metrosideros sp.	2	2	2	0	0
Myoporum insulare	2	2	2	0	0
Palma generica	2	2	2	0	0
Pennisetum clandestinum	2	2	2	0	0
Phillyrea latifolia	2	2	2	0	0
Pisum sativum	2	7	7	0	0
Prunus nucipersica	2	8	7	1	0
Quercus pubescens	2	2	0	0	2
Rosa canina	2	2	2	0	0
Rovo	2	2	2	0	0
Rubus sp.	2	2	2	0	0
Sansevieria sp.	2	2	2	0	0
Solanum melongena	2	4	3	1	0
Terreno	2	4	4	0	0
Trachelospermum jasminoides	2	2	2	0	0
Westringia sp.	2	2	2	0	0
Acacia saligna	1	1	1	0	0
Acer campestre	1	1	1	0	0
Ailanthus altissima	1	1	1	0	0
Allium schoenoprasum	1	2	1	0	1
Allium sp.	1	1	0	0	1
Anthyllis hermanniae	1	1	1	0	0
Arbutus spp	1	1	1	0	0
Brassica pekinensis (cavolo cinese)	1	5	5	0	0
Cercis sp.	1	1	1	0	0
Chaenomeles sp.	1	1	1	0	0
Chamaerops humilis	1	1	0	1	0

Laboratorio fitopatologico – Servizio Fitosanitario Regione Toscana

Citrullus lanatus	1	1	1	0	0
Citrus bergamia	1	5	5	0	0
Citrus myrtifolia	1	5	5	0	0
Coffea sp.	1	1	1	0	0
Crocus sativa	1	1	1	0	0
Cucumis melo (Melone)	1	1	1	0	0
Cucumis sativus	1	1	1	0	0
Cucurbita moschata	1	1	1	0	0
Cucurbita sp	1	1	1	0	0
Cupressus spp	1	1	1	0	0
Cynodon sp.	1	1	1	0	0
Daucus carota (carota)	1	1	1	0	0
Erica arborea	1	1	1	0	0
Erigeron	1	1	1	0	0
Fraxinus spp	1	1	1	0	0
Gardenia sp.	1	1	1	0	0
Globularia sp.	1	1	1	0	0
Grevillea juniperina	1	1	1	0	0
Juniperus spp	1	1	1	0	0
Lactuca sp.	1	1	1	0	0
Ligustrum lucidum	1	1	1	0	0
Mespilus spp	1	1	1	0	0
Metrosideros excelsa	1	1	1	0	0
Myrtus sp.	1	1	1	0	0
Nandina sp.	1	1	1	0	0
Polygala flavescens	1	1	1	0	0
Poncirus spp	1	5	5	0	0
Prunus cerasus	1	1	0	1	0
Quercus cerris	1	5	5	0	0
Quercus robur	1	1	1	0	0
Quercus x hispanica	1	1	1	0	0
Rhamnus sp.	1	1	1	0	0
Ribes idaeus	1	1	1	0	0
Ruscus spp	1	1	1	0	0
Sambucus sp.	1	1	1	0	0
Sonchus sp.	1	5	5	0	0
Vinca sp.	1	1	1	0	0
Vitex agnus-castus	1	1	1	0	0
Wisteria sp	1	1	1	0	0
mirabolano	1	1	1	0	0
Viburnum tinus	0	0	0	0	0