



Regione Toscana



Ente Parco Regionale  
Migliarino San Rossore  
Massaciuccoli



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE  
GESAAF  
CENTRO ITALIANO DI GESTIONE  
DEI SISTEMI AGRARI  
ALIMENTARI E FORESTALI



# LAYMAN'S REPORT LIFE08/NAT/IT/342 DEMETRA

Development of a quick Monitoring index as a tool to assess  
Environmental impacts of TRANsgenic crops





*Beneficiary's name*

Plant Genetics Institute, UOS Firenze, CNR (Coordinator)  
Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agrari, Alimentari e Forestali (GESAAF),  
University of Florence  
Ente Parco Regionale Migliarino San Rossore Massaciuccoli  
Regione Toscana

*Contributors*

CNR – IGV: Cristina Vettori, Anna Buonamici, Francesca Donnarumma, Elena Balducci, Filippo Cimò, Cesarea Caroppo, Giuliana Senatore, Catia Boggi, Simonetta Bianchi, Sandro Capaccioli, Giovanni Giuseppe Vendramin, Valeria Tomaselli, Giuseppe Veronico, Giambattista Polignano, Pasquale Cataldo, Giocchino Carella, Domenico Pignone, Enrico Casalone (BIO – UNIFI), Francesco Vitali (BIO – UNIFI), Cristina Indorato (BIO – UNIFI), Donatella Paffetti (DISPAA – UNIFI), Maria Celeste Labriola (DISPAA – UNIFI) e Stefano Biricolti (DISPAA – UNIFI)  
CNR – ISE: Lorenzo Chelazzi, Isabella Colombini  
CNR – IBIMET: Alessandro Materassi e Gianni Fasano  
GESAAF – UNIFI: Davide Travaglini, Susanna Nocentini, Francesca Bottalico, Silvia Fiorentini, Chiara Lisa  
ENTE PARCO REGIONALE MIGLIARINO SAN ROSSORE MASSACIUCCOLI: Antonio Perfetti, Olga Mastroianni  
REGIONE TOSCANA: Laura Bartalucci, Carlo Chiostrì, Roberto Pagni, Carla Lazzarotto, Fabio Boscaleri, Alvaro Fruttuosi, Marco Sulas, Simonetta Demuro, Rossana Nencioni, Marisa Nigro, Riccardo Russu, Barbara Camboni

*Project duration*

01/01/2010 - 30/06/2013

*Total cost and EU contribution*

Total project budget: 1.822.590 €  
European Commission contribution: 897.834 €

*Project's contact details*

Coordinator and scientific responsible of the project  
Cristina Vettori – CNR-IGV  
Madonna del Piano 10 -  
50019 Sesto Fiorentino  
Firenze (Italia)  
Uff. +39 055 5225728  
Fax +39 055 5225729  
[cristina.vettori@cnr.it](mailto:cristina.vettori@cnr.it)

*Project Manager*

Laura Bartalucci – Regione Toscana  
Via di Novoli, 26  
50127 – Firenze (Italia)  
Uff. +39 055 4385268  
Fax +39 055 4383134  
[laura.bartalucci@regione.toscana.it](mailto:laura.bartalucci@regione.toscana.it)

*Technical coordination*

Communication Manager  
Alvaro Fruttuosi - Regione Toscana

*Communication staff*

Marco Sulas - Regione Toscana  
Simonetta Demuro - Regione Toscana

*Website*

[www.life-demetra.eu](http://www.life-demetra.eu)

Realizzazione: centro stampa Giunta Regione Toscana

## Indice - Index

- 5 **Contenuti del progetto** - Project Content
- 6 **Obiettivi del progetto** - Project Objectives
- 8 **Aree del progetto** - Project Areas
- 12 **Attività e risultati del progetto** - Activities and achievements of the projects
- 22 **Continuazione e contesto** - Project follow-up and socio-economic context of the project



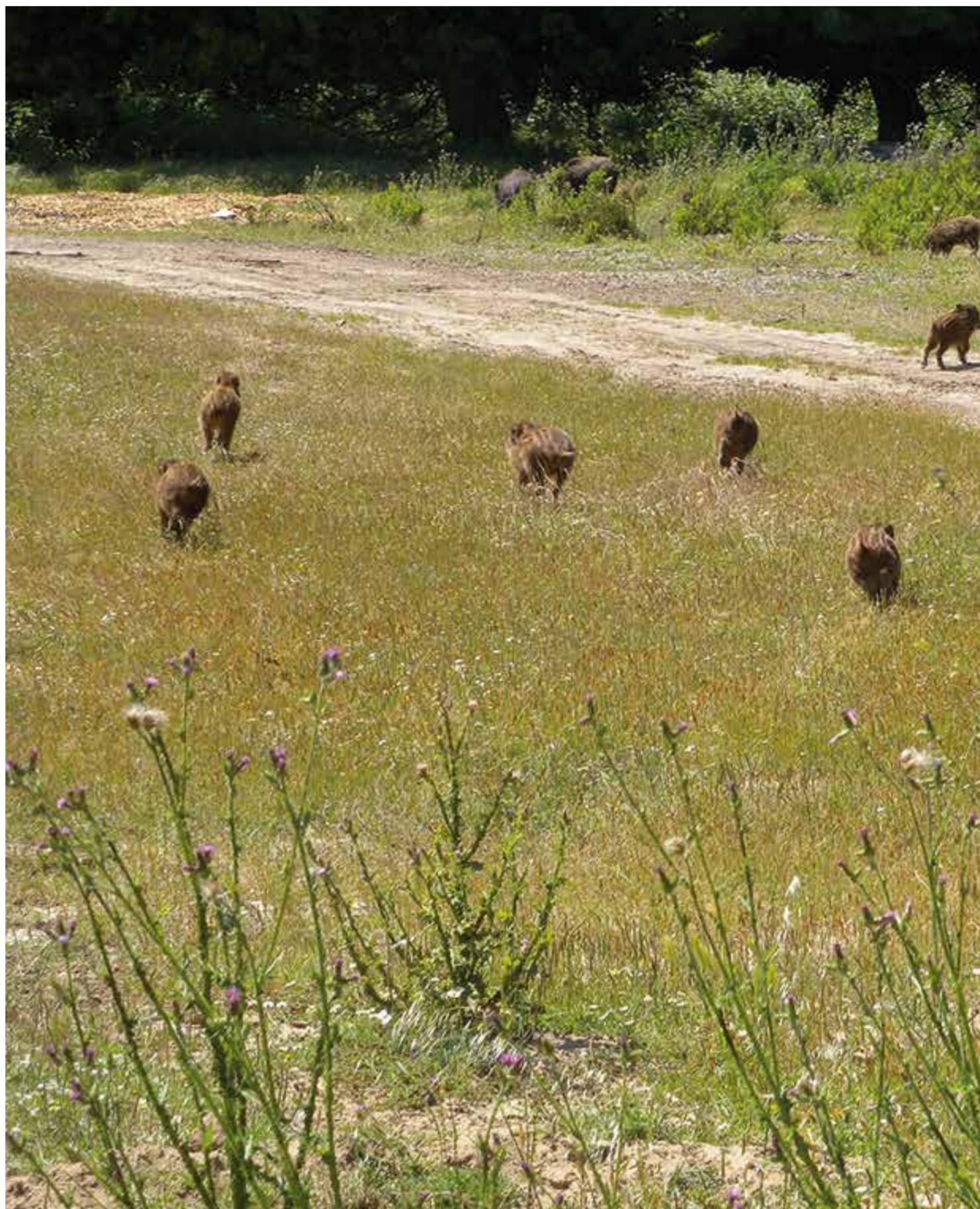
Regione Toscana



## CONTENUTI DEL PROGETTO - CONTENT OF THE PROJECT

Nel 2008 il programma comunitario LIFE+ ha dato l'opportunità di presentare dei progetti per sviluppare e approfondire il tema della valutazione del rischio ambientale degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM), attraverso lo sviluppo di specifici sistemi di monitoraggio ambientale. In quel periodo l'Italia stava delineando un quadro legislativo che suggeriva il bisogno di definire regole di coesistenza per adempiere ai vincoli della legge comunitaria e osservare quanto previsto dalla legislazione nazionale in vigore (L. n. 5/2005). In questo quadro normativo, la Regione Toscana promosse l'idea di sviluppare un progetto LIFE+ sul tema del monitoraggio ambientale degli OGM, per riempire il vuoto connesso alla mancanza di strumenti standardizzati per portare avanti tale monitoraggio e, allo stesso tempo, rispondere al bisogno di proteggere il territorio dai rischi connessi con le colture transgeniche. Il progetto promosso dalla Regione Toscana, denominato DEMETRA (DEvelopment of a quick Monitoring index as a tool to assess Environmental impacts of TRANsgenic crops), contribuisce a costruire una base condivisa sul piano comunitario per il monitoraggio degli OGM nell'ambiente, sia che essi siano coltivati per scopi commerciali che per scopi di ricerca. L'obiettivo principale del progetto era la creazione di uno strumento innovativo per implementare i sistemi di monitoraggio che gli Enti pubblici devono adottare nei territori destinati a coltivazioni transgeniche. In particolare, i risultati del progetto aiuteranno gli Enti preposti a stabilire quando, dove e come eseguire la raccolta di dati di monitoraggio.

In 2008 the Community program LIFE + gave the opportunity to present projects to develop and deepen the theme of the environmental risk assessment of Genetically Modified Organisms (GMOs), through the development of specific environmental monitoring systems. At that time Italy was outlining a legislative framework which suggested the need to define the rules of coexistence to fulfill its obligations under Community law and comply with the national legislation in force (Law n.5/2005). In this regulatory framework, the Tuscany Region promoted the idea of developing a LIFE + project on the theme of the monitoring of GMOs, to try to fill the gap related to the lack of standardized tools to carry out environmental monitoring of GMOs and, at the same time, respond to the need to protect its territory from risks determined by transgenic crops. The DEMETRA project contributes to building a shared basis at Community level for the monitoring of GMOs into the environment, whether they are directly cultivated for commercial purposes, whether they are used in a given place for research purposes. The main objective of the Project was the creation of an innovative instrument to rapidly address monitoring efforts that Public Bodies should implement in their territories when transgenic crops are cropped. Particularly on when, where and how the data collection should be switched on.



## OBIETTIVI DEL PROGETTO - PROJECT OBJECTIVES

L'obiettivo principale del progetto DEMETRA è definire un metodo innovativo per valutare il rischio ambientale causato dalla presenza di colture geneticamente modificate e definire un indice sintetico di monitoraggio, il Quick Monitor Index (QMI), che evidenzia le aree e gli indicatori da prendere in considerazione per le azioni di monitoraggio. Le attività del progetto **non hanno previsto l'uso di organismi transgenici**, e la metodologia adottata si è basata su una dettagliata analisi degli ecosistemi su cui si è inserito lo studio di una matrice di rischio collegata a piante transgeniche (esistenti a livello internazionale), derivante da dati bibliografici e da dati ecologico-biologici rilevati nel corso del progetto.

*Il progetto ha previsto la realizzazione delle seguenti azioni:*

- Raccolta, analisi e selezione dei parametri che descrivono gli ambienti considerati in relazione alle condizioni atmosferiche locali, alla funzionalità del terreno, alle catene trofiche, agli usi del territorio, alla biodiversità animale e vegetale;
- Valutazione dei dati raccolti e selezione di quelli più significativi per sviluppare l'indice QMI;
- Sviluppo dell'indice QMI e analisi degli effetti potenziali che le colture transgeniche possono apportare a un certo ecosistema o biotipo;
- Identificazione di specifici siti di studio dove simulare l'applicazione del QMI;
- Modellizzazione su base cartografica dell'indice QMI utilizzando un Sistema Informativo Geografico (GIS).
- Sviluppo di linee guida e *best practices* per applicare gli schemi di monitoraggio nelle aree a rischio OGM.

The main objective of the DEMETRA project is to define an innovative method to assess the environmental risk caused by the presence of genetically modified crops and to define a synthetic index of monitoring, the Quick Monitor Index (QMI) that highlights the areas and indicators that might be taken into consideration for monitoring actions.

The activities of the project **have not involved the use of transgenic organisms**, because the methodology adopted is based on detailed analysis of ecosystems and environmental resources on which is grafted the study of a matrix of risk related to transgenic plants (existing at international level and potentially used in the studied area), derived from bibliographic data and ecological/biological data derived from the project.

*The project foresees the following overall actions:*

- Collecting, analysing and selecting already known parameters linked to weather local conditions, soil functionality, trophic chains, landscape uses, biodiversity and biodiversity loss to generate a model, which are the basis for the generation of the quick monitoring index.
- Assessing the suitability of data collected with the most relevant monitoring programs and selecting the most relevant ones.
- Developing the index so to express the potential perturbation that transgenic crops could pose to a certain ecosystem or biotope.
- Identifying and creating specific study sites to generate simulations of the application of the QMI.
- Creating a GIS platform to run the modeling system.
- Developing guidelines and best practices to apply monitoring schemes in high risk areas.



Gli ecosistemi presi in esame dal progetto DEMETRA comprendono le foreste, gli ambienti umidi, le aree agricole ed incolti. In ciascun ecosistema sono stati rilevati e analizzati i seguenti dati:

- condizioni meteorologiche (piovosità, temperatura e umidità dell'aria, velocità e direzione del vento, radiazione diffusa e globale, eliofanìa) attraverso l'installazione di tre stazioni meteorologiche;
- biodiversità attraverso la quantificazione di specie microbiche, vegetali e animali e lo studio delle relazioni trofiche mediante analisi degli isotopi stabili ( $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$ );
- flusso di polline delle specie vegetali coinvolte nel progetto (mais, girasole, colza e pioppo) con campioni di polline raccolto da impollinatori e trappole polliniche, con conseguente analisi di laboratorio mediante marcatori molecolari.



To do this forest, wetland and agricultural areas were selected. In each study area the following data were assessed:

- meteorological conditions (rainfall, air temperature and humidity, wind speed and direction, diffused and global radiation, sunshine duration). To this aim three weather stations were placed;
- biodiversity through the quantification of microbial, plant and animal species and through the study of trophic webs using stable isotope analysis ( $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$ );
- pollen flows of the study cropped species (maize, sunflower, oilseed rape and poplar) with pollen samples collected by pollinators and by pollen traps, and consequent laboratory analysis by molecular markers.



## AREE DEL PROGETTO - PROJECT AREAS

La raccolta dei dati è stata condotta nel Parco Regionale di Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli, in provincia di Pisa. L'area protetta è caratterizzata da un'ampia diversità di ecosistemi naturali e da un'alta presenza di terreni adatti all'agricoltura. Il progetto si è concentrato su tre aree di studio caratterizzate da differenti ecosistemi. In ciascuna area di studio sono stati compiuti diversi tipi di analisi.

### AREA DI STUDIO 1 (LAGO DI MASSACIUCCOLI)

Il "Lago e Padule di Massaciuccoli" (Cod. Natura2000 IT5120021) ricopre una superficie complessiva di 1.908,01 ha ed è un Sito di Importanza Comunitaria (SIC) ai sensi della Direttiva 92/43/CEE. Inoltre, il SIC si aggiunge al Sito di Importanza Regionale (SIR) ai sensi della L.R. 56/2000. Il sito è completamente incluso nel Parco Regionale di Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli e nell'area contigua. All'interno del sito è anche presente un'area protetta gestita dalla LIPU (Lega Italiana per la Protezione degli Uccelli). È uno specchio d'acqua dolce circondato da paludi, formazioni eliofitiche (canneti e cladieti) e frammenti di vegetazione legnosa. L'area è caratterizzata anche da boschi. Inoltre sono presenti numerose specie a rischio e annoverate nelle liste rosse regionali e nazionali, tra cui *Cladium mariscus* e altre specie rare, come la *Periploca graeca* (una delle poche stazioni italiane) e la *Drosera rotundifolia*, una specie particolarmente rara nelle paludi.

Fieldworks were carried out in the Regional Park of Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli, in the province of Pisa (central Italy). The protected area is characterized by a wide diversity of natural ecosystems and a high presence of lands suitable for agriculture. The project focused on three study areas characterized by different ecosystems. In each study area several types of analysis were performed.

### STUDY AREA 1 (MASSACIUCCOLI LAKE)

The "Lago e Padule di Massaciuccoli" (Cod. Natura2000 IT5120021) covers a total area of 1,908.01 ha, and it is a "Site of Community Importance" (SCI) according to the directive 92/43/CEE. Additionally, the SCI overlaps the "Site of Regional Importance" (SIR) according to the Regional Law L.R. 56/2000.

This site is entirely included in the Regional Park of Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli and in the contiguous area. A protected area managed by LIPU (Italian League for Protection of Birds) is inside the site here considered.

The land of the project area is designed to agriculture and it falls in a private property.

Lake of fresh water surrounded by elophytic formations (reeds and spp. *Cladium*), bogs and upland vegetation. The area is also characterized by upland forests. It is characterized by numerous threatened species, according to national and regional red lists, such as *Cladium mariscus* and other rare species, such as *Periploca graeca* (one of the few Italian stations) and *Drosera rotundifolia*, a very rare upland species in the bog.



Il Lago di Massaciuccoli (insieme all'area circostante) costituisce uno dei più importanti habitat di ambienti umidi in Italia. Il lago è ampio e poco profondo, mediamente meno di due metri, con ovvi problemi di eutrofizzazione.

Gli habitat di interesse comunitario (Annex I Dir. 92/43 CEE) sono: 3140 - "Acque oligomesotrofe calcaree con vegetazione bentica di *Chara* spp.", 7150 - "Depressioni su substrati torbosi del *Rhynchosporion*" e l'habitat prioritario 7210 - "Paludi calcaree con *Cladium mariscus* e specie del *Caricion davallianae*". Tra le specie vegetali *Marsilea quadrifolia* è inclusa nell'allegato II della Dir 92/43 CEE.

Le specie animali sono molto più numerose. È un importante sito per gli uccelli migratori e anche di svernamento. Tra le specie più significative c'è certamente il tarabuso (*Botaurus stellaris*), per il quale il lago è la più importante area di nidificazione a livello nazionale; poi si sottolinea la presenza di *Ixobrychus minutus*, *Ardea purpurea*, *Himantopus himantopus*, *Circus aeruginosus* e *Acrocephalus melanopogon*. Tutte queste specie sono prevalentemente collegate alle aree paludose, in particolare i canneti.

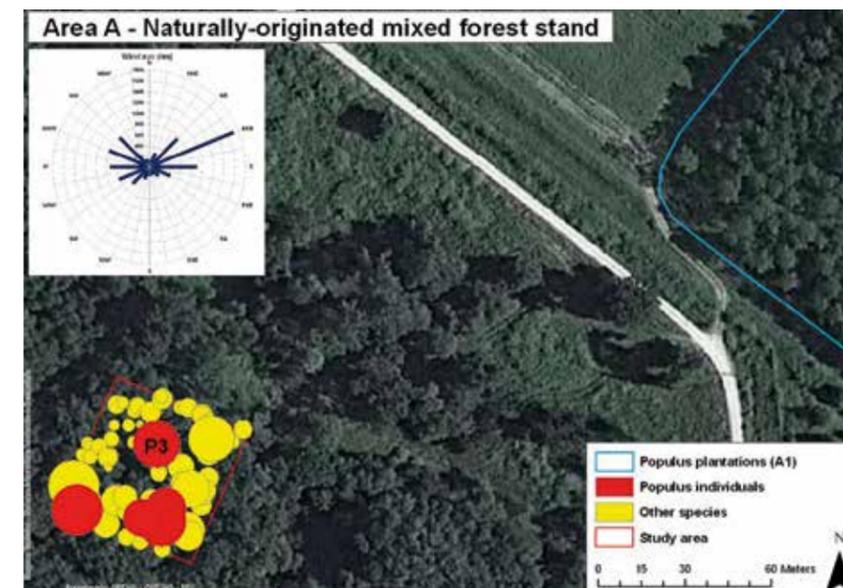
L'*Amphibian Triturus carnifex*, un endemismo italiano e il Reptile *Emys orbicularis* sono specie di interesse comunitario, menzionate nell'Annex II della Dir 92/43/CEE.

Massaciuccoli Lake and its surrounding marsh area is one of the most important wetland habitats in Italy. It is characterized by a large lake slightly deep, on average less than two meters, with obvious problems of eutrophication and wide marsh areas, particularly in northern part of the site.

Habitats of community interest (according to the Annex I Dir. 92/43) are: 3140 - "Hard oligo-mesotrophic waters with benthic vegetation of *Chara* spp.", 7150 - "Depressions on peat substrates of the *Rhynchosporion*" and the priority habitat 7210 - "Calcareous fens with *Cladium mariscus* and species of the *Caricion davallianae*". Among the plant species, *Marsilea quadrifolia* is included in the Annex II of the Dir 92/43.

The animal species are much more numerous. In addition, it is an important site for migratory and wintering species of birds. Among the breeding species of greatest importance is certainly the bittern (*Botaurus stellaris*), for which the lake is the most important nesting area at national level; then, we underline the presence of *Ixobrychus minutus*, *Ardea purpurea*, *Himantopus himantopus*, *Circus aeruginosus* and *Acrocephalus melanopogon*. All these species are related mainly to the marsh areas and in particular reeds.

The *Amphibian Triturus carnifex*, an Italian endemism, and the Reptile *Emys orbicularis* are species of Community interest, named in Annex II of Dir. 92/43/CEE.



## AREA DI STUDIO 2 (FIUME SERCHIO) E AREA DI STUDIO 3 (FIUME ARNO)

Queste aree di studio rientrano nel SIC/SIR/SPA "Selva Pisana" (Cod. Natura2000 IT5170002) e coprono complessivamente una superficie di 9.658,34 ha.

Il sito è interamente incluso nel Parco Regionale di Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli.

Le aree di studio del progetto ricadono nella proprietà pubblica della Regione Toscana e sono gestite dal Parco Regionale di Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli.

La zona litoranea è caratterizzata da una costa sabbiosa, prevalentemente in regressione, composta dalla tipica serie di vegetazione dunale con cakileto, agropireto, ammofoleto, elicriseto e ginepreto (*Cakile maritima*, *Elymus farctus*, *Ammophila littoralis*, *Helichrysum stoechas*, *Juniperus oxycedrus ssp. macrocarpa*). Nelle zone più interne la tipologia ambientale prevalente è quella di un sistema di dune e interdune fossili con alternanza di pinete di pino marittimo, pino domestico e lecci, macchia alta, aree umide salmastre e dolci, vasti boschi mesofili a farnia e boschi igrofilii con ontano e frassino. Le aree umide interne si caratterizzano per la presenza di mosaici di salicornieti, formazioni di eliofite e prati umidi allagati nel periodo invernale. Gli ecosistemi dunali e le aree umide retrodunali ospitano habitat e specie rare di flora ad alto interesse naturalistico.

In Toscana, uno tra i migliori esempi di habitat dunale lievemente influenzato dall'uomo è incluso nell'area considerata che, insieme al vicino sito "Duna costiera di Torre del Lago", è l'unico in buono stato di conservazione nel nord della Toscana. Queste considerazioni relative agli ambienti dunali riguardano habitat di interesse comunitario (ai sensi della Dir 92/43 CEE), quali: 1210 - "Vegetazione annua delle linee di deposito marine" (cakileto); 2110 - "Dune embrionali mobili" (agropireto); 2120 - "Dune mobili del cordone litorale con presenza di *Ammophila arenaria* (dune bianche)" (ammofoleto); 2130 - "Dune costiere fisse a vegetazione erbacea (dune grigie)" (elicriseto, habitat prioritario); 2250 - "Dune costiere con *Juniperus spp.*" (ginepreto, habitat prioritario).

## STUDY AREA 2 (SERCHIO RIVER) AND STUDY AREA 3 (ARNO RIVER)

These study areas fall within the SCI/SIR/SPA "Selva Pisana" (Cod. Natura2000 IT5170002) with a total area of 9,658.34 ha.

This site is entirely included in the Regional Park of Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli.

The land of the project area falls in the public property of the Region of Tuscany and it is managed by the Regional Park of Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli.

It is a sandy coast, mostly in regression, characterized by the typical sequence of plant formations of sand heaths (*Cakile maritima* community, *Elymus farctus* community, *Ammophila littoralis* community, *Helichrysum stoechas* community and *Juniperus oxycedrus ssp. macrocarpa* community). In the inland, the area is characterized by an internal system of fossil dunes and interdunes with alternance of pine forests with *Pinus pinaster* or *Pinus pinea*, high bush, freshwater and brackish wetlands, wet forests with ash and alder. The inland wetlands and salt marshes are characterized by a mosaic of halophilous shrub communities and helophytic plant formations, such as *Phragmites australis* communities and *Carex sp.pl.* communities, and other wet meadows flooded in winter.

Dunal ecosystems and humid retrodunal areas host habitats and species of flora and fauna with high conservatory interest. One of the 2-3 best examples of dunal habitat in Tuscany, slightly influenced by man, is included in the considered area. Dunal habitat of this area represent one of the best ones along the Tyrrhenian coast and, together with the neighbouring site "Coastal Dune of Torre del Lago", the only one in a good state of conservation in the northern Tuscany. These considerations are related to habitats of UE interest (according to the 92/43 EEC Directive), 1210 - "Annual vegetation of drift lines" (*Cakile maritima* comm.); 2110 - "Embryonic shifting dunes" (*Elymus farctus* comm.); 2120 - "Shifting dunes along the shoreline with *Ammophila arenaria*" (white dunes; *Ammophila arenaria* comm.); 2130 - "Fixed coastal dunes with herbaceous vegetation (grey dunes)" (*Helichrysum stoechas* comm., priority habitat); 2250 - "Coastal dunes with *Juniperus spp.*" (priority habitat).

Altri habitat di interesse comunitario presenti nelle aree di studio sono, per quanto riguarda la vegetazione forestale: 91E0 - "Foreste alluvionali di *Alnus glutinosa* e *Fraxinus excelsior* (*Alno-Padion*, *Alnion incanae*, *Salicion albae*)"; 91F0 - "Foreste miste riparie di grandi fiumi a *Quercus robur*, *Ulmus laevis* e *Ulmus minor*, *Fraxinus excelsior* o *Fraxinus angustifolia* (*Ulmenion minoris*)"; 92A0 - "Foreste a galleria di *Salix alba* e *Populus alba*"; 9340 - "Foreste di *Quercus ilex* e *Quercus rotundifolia*"; 2270 - "Dune con foreste di *Pinus pinea* e/o *Pinus pinaster*". Per quanto riguarda le aree umide: 1150 - "Lagune costiere"; 1410 - "Pascoli inondati mediterranei (*Juncetalia maritimi*)"; 1420 - "Praterie e fruticeti alofili mediterranei e termo-atlantici (*Sarcocornietea fruticosi*)"; 1510 - Steppe salate mediterranee (*Limnietalia*); 6420 - "Praterie umide mediterranee con piante erbacee alte del *Molinio-Holoschoenion*".

Le paludi, incluse nell'area qui considerata, sono di interesse nazionale e talvolta anche internazionale, per lo svernamento di uccelli acquatici e per la sosta durante la migrazione lungo la costa tirrenica.

L'habitat dunale e retrodunale ospita specie vegetali rare, come la *Solidago virgaurea* L. spp. *litoralis* (Savi)Burnat (un endemismo della costa sabbiosa versiliese-pisana), *Stachys recta* L. var. *psammofila* Fiori (endemismo della costa tirrenica), *Periploca graeca* L. (una delle poche stazioni italiane). Sono altresì presenti diverse popolazioni nidificatrici di specie di interesse comunitario (in particolare *Burhinus oedicnemus*). Popolazioni riproduttive di *Rhinolophus ferrumequinum* e *Myotis emarginatus*, specie inserite nell'Annex II della Direttiva CEE 92/43, vivono nell'area considerata. La colonia di *Rhinolophus ferrumequinum* è l'unica conosciuta in Toscana ed è la più grande in Italia; alcuni individui di questa colonia svernano in un fabbricato presente all'interno del sito.

Other habitat types of UE interest are: 91E0 - "Alluvial forests with *Alnus glutinosa* and *Fraxinus excelsior* (*Alno-Padion*, *Alnion incanae*, *Salicion albae*)"; 91F0 - "Riparian mixed forests of *Quercus robur*, *Ulmus laevis* and *Ulmus minor*, *Fraxinus excelsior* or *Fraxinus angustifolia*, along the great rivers (*Ulmenion minoris*)"; 92A0 - "*Salix alba* and *Populus alba* galleries"; 9340 - "*Quercus ilex* and *Quercus rotundifolia* forests"; 2270 - "Wooded dunes with *Pinus pinea* and/or *Pinus pinaster*". As far as wetlands and wet meadows: 1150 - "Coastal lagoons"; 1410 - "Mediterranean salt meadows (*Juncetalia maritimi*)"; 1420 - "Mediterranean and thermo-Atlantic halophilous scrubs (*Sarcocornietea fruticosi*)"; 1510 - Mediterranean salt steppes (*Limnietalia*); ; 6420 - "Mediterranean tall humid herb grasslands of the *Molinio-Holoschoenion*".

The wetlands included in the area here considered, are interesting at National and sometimes at International level, for the wintering of waterfowl and for the rest during migration along the Tyrrhenian coast route.

Dunal and retrodunal habitat host rare species of plants, such as *Solidago virgaurea* L. spp. *litoralis* (Savi)Burnat (an endemism of versiliese-pisano sandy coast), *Stachys recta* L. var. *psammofila* Fiori (endemism of the Tyrrhenian coast), *Periploca graeca* L. (one of the few Italian stations).

Several nesting populations of UE interest species (in particular *Burhinus oedicnemus*).

Reproductive populations of *Rhinolophus ferrumequinum* and *Myotis emarginatus*, species inserted in the Annex II of 92/43 EEC Directive, live in the considered area. *Rhinolophus ferrumequinum*'s colony is the only one known in Tuscany and the biggest in Italy; some individuals of this colony winter in a building inside the site.



## ATTIVITÀ E RISULTATI DEL PROGETTO ACTIVITIES AND ACHIEVEMENTS OF THE PROJECTS

### ORGANIZZAZIONE E RACCOLTA DELLA DOCUMENTAZIONE

E' stata raccolta tutta la documentazione tecnica, scientifica e legislativa. Un database con i risultati della raccolta bibliografica è disponibile per la consultazione sul sito del progetto (<http://www.life-demetra.eu>). Questa raccolta è stata costantemente aggiornata.

### AREA COLTIVATA

Diverse varietà di mais, girasole e colza sono state coltivate nell'Area della "Culatta" (Area di Studio 3). Le coltivazioni sono state ripetute per tre anni consecutivi in modo da ottenere informazioni su:

- Dispersione del polline delle diverse specie,
- Biodiversità in associazione alle colture,
- Percorsi trofici a livello ecosistemico.

### DATI METEOROLOGICI

È stata installata una stazione meteorologica in ciascuna area di studio per raccogliere i dati relativi a temperatura e umidità dell'aria, piovosità, velocità e direzione del vento. Inoltre sono state misurate l'umidità e la temperatura del suolo e i flussi radiativi solari (globale, diffuso, ultravioletto A e B, eliofanìa).

Per ottenere dati non influenzati dalla presenza di vegetazione erbacea e/o arborea in prossimità delle stazioni meteo, i parametri meteorologici (fatta eccezione per i flussi radiativi solari) sono stati misurati in una zona aperta del campo a 2,5 m di altezza, mentre velocità e direzione del vento sono stati registrati a 5 e a 10 m di altezza. Tutti i parametri sono stati registrati ogni 3 minuti, mentre le medie sono state calcolate e registrate ogni 15 minuti.

I bollettini meteorologici annuali sono disponibili sul sito del progetto e continueranno a essere registrati anche dopo la conclusione dello stesso.

### ORGANIZATION AND COLLECTION OF DOCUMENTATION

All relevant technical, scientific and legislative documents were collected. A database of the current bibliographical collection containing the scientific literature, created externally to the project, and collected during the activity, is available in the website of the project (<http://www.life-demetra.eu>). This collection was kept updated during project duration.

### CROPPED AREA

Different varieties of maize, sunflower and oilseed rape were cropped in the Area "Culatta" (Area 3). Cultivations were repeated for three consequent years so as to obtain information on:

- pollen dispersal of the different species,
- the biodiversity in association to the crops;
- the trophic pathways at ecosystem level.

### METEOROLOGICAL PHYSICAL DATA

Meteorological stations were set in three sites within three test area (cropped site, non cultivated site, Massaciuccoli Lake), to collect data related to air humidity, air temperature, rainfall and wind speed and direction. Additionally, measures were taken to determine: soil moisture and soil temperature, solar radiative fluxes (global, diffuse, ultraviolet A and B, and sunshine duration).

In order to obtain data not influenced by the type of vegetation (grass or trees), in cropped and non cultivated sites meteorological parameters (except for solar radiation fluxes) were measured in an "open" zone of the field at 2.5 m of height, while wind speed and direction were registered at 5 and 10 m of height. All parameters were recorded every 3 minutes and averages were performed and memorized every 15 minutes. Annual meteorological bulletin are available in the website of the project and will be continued to be registered also after its conclusion.

### VALUTAZIONE DEL FLUSSO DI POLLINE

Per studiare la dispersione pollinica delle specie coltivate (mais, girasole, colza e pioppo) dovuta al trasporto del vento sono state installate delle trappole polliniche intorno alle colture a diverse distanze.

È stato così determinato il trend della concentrazione di polline in funzione della distanza dalle specie coltivate. Il polline di mais è stato trovato fino ad una distanza di 300 m, quello di colza fino a 34 m, quello di girasole fino a 19 m e quello di pioppo fino a 540 m.

Sulla base dei dati raccolti è stato osservato che la concentrazione di polline del pioppo rimaneva costante fino a 540 m di distanza dalle pioppete coltivate; la concentrazione del polline di colza diminuiva entro i primi 3 m per poi rimanere costante e diminuire nuovamente a 30 m di distanza dalle coltivazioni; la concentrazione del polline di girasole rimaneva costante nei primi 5 m per poi diminuire drasticamente ed arrivare a zero dopo i 19 metri dalle coltivazioni; la concentrazione di polline di mais tendeva a zero a diverse distanze, ma non ve n'era più traccia dopo 300 m.

Per studiare il flusso pollinico dovuto agli impollinatori si è così proceduto:

- Otto alveari sono stati installati a diverse distanze (1 km, 2 km, 3 km) dal campo sperimentale di girasole per studiare il trasporto di polline da parte dell'*Apis mellifera*.
- 40 trappole sono state installate intorno ai campi di mais e girasole a distanze crescenti dal bordo delle coltivazioni fino a una distanza di 3 km per studiare il trasporto di polline effettuato dall'impollinatore Hymenoptera.

### POLLEN FLOW EVALUATION

To study the pollen dispersion by wind of the cultivated species (maize, sunflower, oilseed rape and poplar) pollen traps were installed in strategic positions around marked crops (maize, sunflower, oilseed rape) and the poplar plantation. The trend of pollen concentration in relation to distances in meter was determined. In each cultivation, maize pollen was found at a distance of 300 m, oilseed rape at 34 m, sunflower at 19 m, and poplar at 540 m. Focusing on the concentration of pollen we found that poplar pollen concentration remained constant to 540 m; oilseed rape pollen decreased after 3 m then it was constant and then decreased again at 30 m; sunflower pollen concentration remained constant to 5 m, then drastically decreased and arrived at zero after 19 m; maize pollen tend to zero at different distances, after 300 m it is not found.

To study the pollen flow by insect pollinator:

- eight bee hives were installed at different distances (1 km, 2 km, 3 km) from the experimental field of sunflower to study pollen flow by *Apis mellifera*.
- forty insect traps were installed around the field of maize and sunflower at increased distance from the border of the cultivations up to a distance of 3 km to study pollen flow by pollinator Hymenoptera.



## VALUTAZIONE DELLA BIODIVERSITÀ LOCALE

### 1) Diversità vegetale (erbe e legnose)

Attraverso la raccolta e la classificazione di campioni raccolti nei diversi siti di studio, sono stati identificati e censiti 307 taxa vegetali. Alcuni di essi sono specie a rischio, o sono ad alto interesse conservativo, in accordo con le liste rosse nazionali e regionali, quelle del CITES o dell'allegato II della Direttiva Habitat (CEE 92/43).

Molte di queste ricadono nell'area del Lago di Massaciuccoli: *Periploca graeca* L. e *Hibiscus palustris* L. [vulnerabile (VU) a livello nazionale]; *Hydrocotyle vulgaris* L. [a rischio (EN) a livello nazionale] e *Anagallis tenella* (L.) L. [gravemente a rischio (CR) a livello nazionale].

A livello regionale, le specie a rischio sono: *Leucojum aestivum* L. subsp. *aestivum* (CR) e *Cladium mariscus* (L.) Pohl (LR), *Euphorbia palustris* L. (VU), *Carex panicea* L. (VU), *Carex vesicaria* L. (VU), *Oenanthe lachenalii* Gmelin (VU) e *Thelypteris palustris* Schott (VU), tutte specie vegetali fortemente condizionate dalle alterazioni dell'habitat palustre.

Per quanto riguarda invece gli altri ambienti/siti di studio, solo poche delle specie vegetali censite rientrano nelle liste rosse e sono state registrate nei due siti di studio "Lame" e "Bosco misto" dell'Area 3: *Ranunculus flammula* L., particolarmente vulnerabile (VU) su tutto il territorio nazionale; *Ranunculus ophioglossifolius* Vill e *Carex panicea* L., vulnerabile (VU) a livello regionale.

Per quanto riguarda la diversità a livello di comunità vegetali, sono stati identificati un'ampia varietà di tipi di vegetazione, in conformità con l'ampio range di tipi di habitat presenti nei siti di studio.

- **Paludi.** Il Lago di Massaciuccoli (Area 1) e le "Lame" (Area 3) sono prevalentemente caratterizzati da comunità erbacee igrofile. In merito al Lago di Massaciuccoli sono predominanti le comunità di *Phragmites australis* (Cav.) Trin. L'area umida delle "Lame" è caratterizzata da un'ampia varietà di carici e giunchi, tra cui: *Carex distans* L., *C. hirta* L., *Carex otrubae* Podp., *C. divisa* Huds., *Juncus articulatus* L., *J. maritimus* Lam., *J. acutus* L.

## ASSESSMENT OF LOCAL BIODIVERSITY

### 1) Plant Diversity (weeds and trees)

Through the collection and classification of plant samples taken in the different study sites, 307 plant taxa were identified. Some of them are threatened species, or have high conservation interest, as belonging to national and regional red lists, or to the CITES lists or to the Annex II of the Habitat Directive (92/43 EEC Directive).

Most of them fall within the area of the Massaciuccoli Lake: *Periploca graeca* L. and *Hibiscus palustris* L. [vulnerable (VU) at national level]; *Hydrocotyle vulgaris* L. [endangered (EN) at national level] and *Anagallis tenella* (L.) L. [critically endangered (CR) at national level].

At the regional level, threatened species are: *Leucojum aestivum* L. subsp. *aestivum* (CR) and *Cladium mariscus* (L.) Pohl (LR), *Euphorbia palustris* L. (VU), *Carex panicea* L. (VU), *Carex vesicaria* L. (VU), *Oenanthe lachenalii* Gmelin (VU) and *Thelypteris palustris* Schott (VU), all plant species strongly affected by alterations of marsh habitat.

As far as the other environments/study sites, there are only few plant species included in the Red Lists, and have been recorded in the two study sites "Lame" and "Bosco misto" of the Area 3: *Ranunculus flammula* L., particularly vulnerable (VU) in the whole Italian national territory; *Ranunculus ophioglossifolius* Vill and *Carex panicea* L., vulnerable (VU) at regional level.

As regards plant diversity at the level of plant communities, a wide variety of vegetation types were identified, according to the wide range of different habitat types occurring in the study sites.

- **Wetlands and marshes.** Massaciuccoli Lake (Area 1) and "Lame" (Area 3) site are characterized mainly by hygrophilous herbaceous communities. Massaciuccoli Lake is dominated by *Phragmites australis* (Cav.) Trin communities. The wet area of "Lame" is characterized by a large number of sedges and rushes, including: *Carex distans* L., *C. hirta* L., *Carex otrubae* Podp., *C. divisa* Huds., *Juncus articulatus* L., *J. maritimus* Lam., *J. acutus* L.

- **Vegetazione boschiva.** La maggior parte dei boschi meso-igrofilo in San Rossore sono rappresentati dall'associazione *Fraxino angustifoliae-Quercetum roboris* Gellini, Pedrotti, Venanzoni 1986. In alcune aree, caratterizzate da lunghe inondazioni, è stata trovata una variante di pioppo chiamata *Populus alba* L. (Tomei et al., 2004). Nel sito della "Culatta" (Area 3), lungo la costa, sono molto diffusi impianti a *Pinus pinea* L.. Qui lo strato erbaceo è caratterizzato da diverse specie, soprattutto *Gramineae* (*Brachypodium sylvaticum* (Huds.) Beauv., *Dactylis glomerata* L., *Agropyron repens* (L.) Beauv.). Il bosco naturale con pioppi nell'area del Serchio (Area 2) può essere riferita all'associazione *Carici remotae-Fraxinetum oxycarpae* Pedrotti (1970) 1992. Si tratta di boschi planiziali con una forte componente di *Fraxinus oxycarpa* Bieb.
- **Le aree coltivate e incolte** sono caratterizzate da varie tipologie di vegetazione sinantropiche. L'incolto localizzato nel sito del "Serchio" (Area 2) è caratterizzato da una vegetazione ad alte erbe perenni e nitrofile che crescono su suoli ricchi di nitrati. Le specie dominanti sono: *Artemisia verlotorum* L., *Cirsium vulgare* (Savi) Ten, *Cirsium arvense* (L.) Scop, *Dipsacus* L. fullonum. L'area incolta della "Culatta" (Area 3) è dominata da specie annuali nitrofile e semi-nitrofile, come *Sinapis arvensis* L., *Avena sterilis* L., *Sonchus asper* (L.) Hill., *Lolium multiflorum* Lam., *Papaver rhoeas* L..

- **Woody vegetation.** Most of the meso-hygrophilous forest in S. Rossore are represented by the association *Fraxino angustifoliae-Quercetum roboris* Gellini, Pedrotti, Venanzoni 1986. In some areas, characterized by long water flooding, a variant with *Populus alba* L. was found (Tomei et al., 2004). In the "Culatta" site (Area 3), along the coast, *Pinus pinea* L. woods are widespread. The herbaceous layer is characterized by several species, mainly *Gramineae* (*Brachypodium sylvaticum* (Huds.) Beauv., *Dactylis glomerata* L., *Agropyron repens* (L.) Beauv.). The natural wood with poplar in area Serchio (Area 2) can be referred to the association *Carici remotae-Fraxinetum oxycarpae* Pedrotti (1970) 1992. It is a lowland forests with a tree component largely consisting of *Fraxinus oxycarpa* Bieb.
- **Cultivated and fallow areas** are characterized by synanthropic vegetation types. The abandoned land located in the "Serchio" site (Area 2) is characterized by perennial, nitrophilous grasslands, that grow on soils rich in nitrates. Dominant species are: *Artemisia verlotorum* L., *Cirsium vulgare* (Savi) Ten, *Cirsium arvense* (L.) Scop, *Dipsacus* L. fullonum. The fallow area "Culatta" (Area 3) is dominated by annual nitrophilous and semi-nitrophilous species, as *Sinapis arvensis* L., *Avena sterilis* L., *Sonchus asper* (L.) Hill., *Lolium multiflorum* Lam., *Papaver rhoeas* L..



- **Variabilità genetica e incrocio.** Nel Parco Regionale di Migliarino San Rossore Massaciuccoli sono state selezionate due aree test con lo scopo di caratterizzare la variabilità genetica delle popolazioni di pioppo e di studiare il potenziale incrocio tra popolazioni di origine naturale e quelle coltivate. La prima area (Area A) è stata selezionata nella zona del Serchio in corrispondenza di un bosco misto con presenza di piante di pioppo autoctono vicine a una pioppeta di origine artificiale. La seconda area (Area B) è stata selezionata nella zona del Lago di Massaciuccoli dove è presente una popolazione di pioppo sparsa vicina a coltivazioni di pioppo nelle aree agricole circostanti. Nell'area boschiva (Area A) sono stati identificati pioppi di origine naturale e sono stati classificati come appartenenti alle specie *P. alba* e *P. tremula*, nonché al loro ibrido naturale *P. x canescens*. Nell'area umida del Lago di Massaciuccoli (Area B) i pioppi di origine naturale sono risultati essere ibridi delle specie *P. nigra* x *P. deltoides*. L'analisi di variabilità ha messo in evidenza un più alto valore di diversità genetica tra le piante presenti nelle popolazioni di origine naturale rispetto alla diversità genetica osservata nelle piantagioni di pioppo. In entrambe le aree si è riscontrata una complessa struttura spaziale della diversità genetica. In particolare ciò si evidenzia nel sito del Lago di Massaciuccoli. Le differenze tra le due aree dipendono dalle loro caratteristiche ambientali. L'analisi di paternità ha indicato che vi è stato incrocio tra una pianta femmina di pioppo (indicata con la sigla P3) presente nell'Area A ed un pioppo maschio della piantagione limitrofa.

Alcune specie di piante selvatiche appartenenti alla famiglia delle Brassicaceae sono state selezionate nel sito coltivato della "Culatta" (Area di studio 3), al fine di valutare il flusso genico ed il possibile incrocio con la varietà coltivata di colza. La scelta delle Brassicaceae è stata fatta considerando i possibili impollinatori ed il periodo di fioritura. Tra le specie di Brassicaceae presenti è stata considerata la specie *Sinapis arvensis* come una possibile candidata per l'ibridizzazione con la colza.

- **Genetic variability and breeding.** In the Migliarino-San Rossore-Massaciuccoli Regional Park in Tuscany (Italy) two test areas were selected: a mixed forest stand (Area A) and a scattered poplar population in the wetland area of Massaciuccoli Lake (Area B) as the aim was the characterization of the spatial genetic structure in poplar stand, and the study of the potential breeding between natural and cultivated populations. In the mixed forest stand "natural" poplars were identified and classified as belonging to *P. alba* and *P. tremula* species, and their hybrid *P. x canescens*. In the wetland area of Massaciuccoli Lake the natural poplars are hybrids of *P. nigra* x *P. deltoides*. The analysis of genetic diversity reveal a higher genetic variability in both test areas than in the *Populus* plantation. In both stands there is a complex spatial structure of genetic diversity. In particular the genetic diversity was higher in the Massaciuccoli Lake area than in the mixed forest stand. The differences between the two test areas depended on their environmental features. The paternity analysis performed indicated that the hybridization occurred between P3 (female) in the Area A and a male of the poplar plantations. Some wild plant species belonging to Brassicaceae were selected in the cropped site called "Culatta" (Area 3), to evaluate possible hybridization and gene flow. The choice of Brassicaceae was done considering the pollinating fauna and the flowering period. *Sinapis arvensis* was considered as one possible candidate to hybridize with oilseed rape.



## 2) Diversità animale

Per valutare la diversità dei macroinvertebrati nelle diverse aree di studio sono stati usati sistemi standardizzati di trappolamento e sono stati condotti campionamenti in due differenti stagioni, primavera ed autunno. Inoltre, durante il periodo di fioritura, sono stati compiuti campionamenti di macroinvertebrati sulle infiorescenze delle piante coltivate, colza, mais e girasole e su pioppi naturali.

Delle 443 differenti specie campionate nei differenti siti, il 77,6 % appartengono agli insetti. Degli insetti, i coleotteri sono risultati i più abbondanti (145 specie) seguiti dagli imenotteri (65 specie) e dai ditteri (42 specie).

Il più alto valore di diversità dei macroinvertebrati è stato registrato durante la primavera nel campo non coltivato ad Ontanelli (Area 2; S21) mentre il valore più basso è stato registrato in autunno nelle aree ripariali del Lago di Massaciuccoli.

Per ciò che riguarda le infiorescenze, il più alto valore di diversità è stato registrato sul girasole dove l'ordine maggiormente campionato è stato quello degli eterotteri seguito dagli omotteri e dai coleotteri.

Le catene trofiche sono state studiate tramite l'analisi degli isotopi stabili del C e del N. I risultati hanno indicato la presenza di due catene trofiche che hanno origine da due differenti livelli. Nel caso della catena trofica "a" i consumatori primari sono molluschi polmonati, collemboli e blatte che si nutrono prevalentemente di alghe unicellulari, funghi e batteri. Nel caso della catena trofica "b", invece, i consumatori primari sono i lepidotteri che si nutrono prevalentemente di piante C3. In ambedue le catene trofiche individuate i livelli trofici più alti sono occupati da ragni e coleotteri predatori. Va notato che solo la larva di una specie di lepidottero (*Ostrinia nubilalis*) presenta segnali isotopici tali da fare supporre una sua totale dipendenza dalle piante di mais.



## 2) Animal diversity

To assess macroinvertebrate diversity in the different study areas a standard system of traps was used. Samplings were carried out during spring and autumn seasons. In particular, to assess the invertebrate population associated to planted crops, flowers of sunflower, maize, poplar and rapeseed were also sampled.

A total of 443 species were captured, of which the insects were most representative and made up 77,6 % of the total number of species. Of these the coleopterans were the most abundant (145 species) followed by hymenopterans (65 species) and dipterans (42 species).

The highest value for macroinvertebrate diversity was recorded during spring at the non cultivated area of the Ontanelli locality (Area 2). Instead the lowest value occurred at the site of Lago di Massaciuccoli during spring.

As regards to the inflorescences, the highest diversity value was recorded for the sunflower crops where the most important order was that of the Heteroptera, followed by those of the Homoptera and Coleoptera.

To study food webs a stable isotope analysis was performed. This analysis showed that the isotopic signature of sunflower, rapeseed and poplar crops belonged to the group of C3 plants whereas that of maize crop to that of the C4 plants. The results indicated the presence of two food webs originating from different trophic levels. In the case of the food chain "a" the lowest levels occurred for primary consumers such as pulmonate molluscs, collembolans and blattidae that mainly feed on fungus, unicellular algae and bacteria. In the case of the second food web "b" here again the lowest levels occurred for primary consumers such as lepidotteran but these mainly feed on C3 plants. Predator species belonging to the Araneae and Coleoptera order occurred in both food chains and presented the highest values. Note that only the larvae of a Lepidopteran species (*Ostrinia nubilalis*) perfectly matched the trophic enrichment for maize showing its total dependence to the crop.



### 3) Diversità dei microrganismi

Per quanto invisibili a occhio nudo, i microrganismi del suolo costituiscono un'ampia porzione della diversità biologica sulla Terra.

L'analisi della diversità microbica del suolo è stata eseguita su campioni stagionali di suolo (un cilindro di circa 10 cm di diametro e 20 cm di profondità) associati alle radici superficiali di alberi - aceri (*Acer*) e pioppi (*Populus*) - e piante erbacee - la colza (*Brassica napus*) e la sua corrispettiva selvatica (*Sinapis arvensis*), in due differenti aree del Parco: Area 2, vicino al fiume Serchio (località Fortino Nuovo) e Area 3, vicino al fiume Arno (località Culatta).

Inizialmente la diversità microbica è stata studiata attraverso l'isolamento e la coltivazione di microrganismi su un terreno di coltura solido, in questo modo si ottiene un titolo vitale dei microrganismi presenti (CFU/g di suolo). Comunque, poiché la maggior parte dei microrganismi del suolo non è coltivabile in laboratorio, la diversità microbica è stata indagata anche con una tecnica molecolare (T-RFLP), indipendente dalla coltivazione dei microrganismi, analizzando direttamente il DNA purificato dal suolo. La T-RFLP fornisce un profilo o *fingerprinting* delle comunità microbiche del suolo e fornisce informazioni sulla sua struttura, vale a dire ricchezza di specie microbiche e numerosità delle specie; queste informazioni sono sintetizzate nell'indice di Shannon.

I risultati dell'analisi mostrano che:

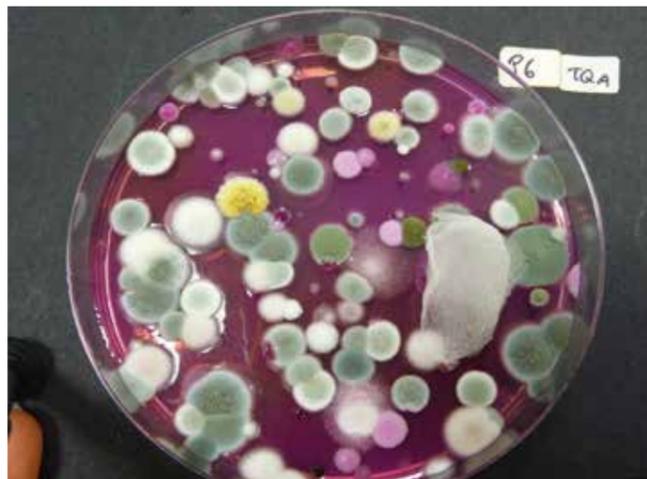
1. Le comunità di batteri, rispetto a quelle fungine, hanno un numero di cellule vitali e una ricchezza di specie maggiori, mentre la numerosità delle specie è meno uniforme;
2. I conteggi vitali di batteri e funghi ha un andamento stagionale che è simile nei tre diversi terreni boschivi;
3. I conteggi vitali di batteri e funghi nei campioni di suolo di pioppi coltivati sono sempre più alti che nei campioni provenienti da altri alberi, mentre i valori di ricchezza (e quindi gli indici di Shannon) sono più bassi.

### 3) Microorganisms diversity

Although invisible to the naked eye, soil microorganisms comprise a large portion of the biological diversity on Earth. Soil microbial diversity analysis was performed on seasonal samples of soils (a cylinder of around 10 cm diameter and 20 cm depth) associated to the superficial roots of trees, maples (*Acer*) and poplars (*Populus*), and herbaceous, rape-seed (*Brassica napus*) and its wild relative (*Sinapis arvensis*), in two different areas of the park, Serchio River (Fortino Nuovo) in Area 2 and Arno River (Culatta) in Area 3.

At first, microbial diversity was studied by isolation and cultivation of the microorganisms, and viable counts (CFU/g of soil) on solid media was determined.

However, since most soil microorganisms are not cultivable in laboratory, microbial diversity has been studied also by a cultivation-independent molecular technique (T-RFLP) by analyzing total microbial DNA directly purified from soil samples. T-RFLP analysis gives a profile or fingerprinting of the microbial community, from which information can be derived about its structure, that is species richness and abundance. These information are synthesized in the Shannon's index.



### METODO DI ANALISI PER I RISCHI DI PIANTE GENETICAMENTE MODIFICATE NELL'AMBIENTE

Un indice sintetico di monitoraggio (Quick Monitoring Index - QMI) è stato sviluppato per valutare il rischio potenziale generato dalle piante transgeniche, attraverso lo studio dei possibili impatti sull'ecosistema. A questo scopo, sono stati considerati gli effetti di piante geneticamente modificate su specie target/non target, biodiversità, flusso genico. Il QMI è un metodo che integra l'approccio quantitativo alle linee guida dettate dall'EFSA sulla valutazione del rischio ambientale (Environmental Risk Assessment - ERA). Gli indici sono stati combinati utilizzando una matrice in modo da valutare il rischio per l'ambiente e le misure richieste per prevenire gli effetti avversi di piante geneticamente modificate. Il metodo si propone di analizzare gli eventuali rischi associati al rilascio delle piante transgeniche, valutando singolarmente ogni evento di trasformazione (case-by-case procedure) e sovrastimando gli effetti negativi rispetto ai positivi (worst-case scenarios).

### LINEE GUIDA PER LA DEFINIZIONE DELLE AREE DI MONITORAGGIO E LA SELEZIONE DI RILEVANTI PARAMETRI DI MONITORAGGIO

I dati riguardanti il livello di biodiversità nelle aree di studio del progetto e le principali specie individuate come "sensibili" sono state tenute in considerazione per fornire una guida di monitoraggio alla Regione Toscana. Tale guida potrà essere utilizzata dalla Regione per monitorare gli ambienti sensibili nel caso siano realizzate coltivazioni OGM in Toscana. La guida di monitoraggio è in linea con le direttive della CE e le politiche sugli OGM come descritte nella direttiva EC2001/18 e nelle leggi italiane e della Regione Toscana, nonché con altre direttive in materia di conservazione e protezione ambientale e di tutela del consumatore. Inoltre, la guida di monitoraggio è compatibile con le metodologie e le raccomandazioni dell'EFSA (European Food Safety Authority) (Guidance on the post market environmental monitoring of GMOs, EFSA 2011) e con il monitoraggio ambientale sviluppato da DG SANCO e dalle autorità competenti degli Stati membri.



### ANALYSIS METHOD FOR THE RISKS OF GENETICALLY MODIFIED PLANTS ON THE ENVIRONMENT

The Quick Monitoring Index (QMI) was developed to rapidly assess the potential risk generated by transgenic plants, by studying and pondering any possible impact on ecosystem. To this end, the effects of GM plants on target/non target species, biodiversity, gene flow, and the evolution of resistance were considered. QMI is a method that integrates a quantitative approach with the guidelines on Environmental Risk Assessment (ERA) provided by the European Food Safety Authority. The indexes were combined using a matrix in order to assess the risk for the environment and the measures required to prevent adverse effects of GM plants. This methodology requires to be validated through the analysis of different plants and organisms, with the principal aim of analyzing the potential risks associated with the release of the plants considered individually evaluating each transformation event (using a case-by-case approach).

### GUIDELINES FOR THE DEFINITION OF MONITORING AREAS AND THE SELECTION OF RELEVANT MONITORING PARAMETERS

The data concerning biodiversity level in the project areas and the individuated sensitive and relevant species were used to provide a monitoring guidance which is applicable to the Tuscany region in order to develop a monitoring policy applicable in environmentally sensitive areas, in anticipation of a possible cultivation of GM crops in Tuscany. This monitoring guidance is in line with EC directives and policies on GMOs as described in EC2001/18 and with Italian and Tuscany laws and other directives on nature conservation, environmental protection and consumer protection. In addition the monitoring guidance is compatible with the methods and recommendations in the EFSA (Guidance on the post market environmental monitoring of GMOs, EFSA 2011) and with the environmental monitoring being developed by DG SANCO and the Competent Authorities of the Member States.



### SISTEMA INFORMATIVO GEOGRAFICO PER LA VALUTAZIONE DEL RISCHIO AMBIENTALE E IL MONITORAGGIO DEGLI OGM

Un Sistema Informativo Geografico (GIS) è un software per l'acquisizione, la gestione, l'analisi e la restituzione di dati geografici. Il GIS è utilizzato per rappresentare su cartografie digitali i fenomeni del mondo reale sia in termini di posizione geografica (in relazione a un sistema di coordinate ufficiale), sia in termini di attributi (informazioni) che descrivono i fenomeni esaminati. Grazie alle sue capacità di analisi spaziale il GIS viene impiegato per assistere i processi decisionali connessi al monitoraggio e alla pianificazione territoriale.

Il progetto DEMETRA ha utilizzato un GIS per acquisire le cartografie del Parco Regionale di Migliarino San Rossore Massaciuccoli. In particolare sono state acquisite le carte topografiche e le carte tematiche (carta dell'uso del suolo, carta dei suoli, carta della vegetazione forestale, carta delle coltivazioni) necessarie a caratterizzare i diversi ambienti del Parco. Inoltre, il GIS è stato utilizzato per agevolare la scelta delle aree di studio e per pianificare i rilievi sul campo.

I database spaziali sono stati poi utilizzati per sviluppare dei modelli del QMI. Tali modelli sono stati realizzati applicando delle analisi multi-criteriali. I risultati ottenuti con queste analisi sono delle cartografie che indicando quali sono le zone del Parco che dovrebbero essere monitorate in presenza di coltivazioni OGM, in quanto sottoposte a rischio ambientale. In sintesi, i risultati del progetto DEMETRA mostrano come il GIS possa essere utilizzato per valutare l'interazione tra colture OGM e l'ambiente ricevente, e come i dati geografici possano essere impiegati per selezionare i siti di monitoraggio degli OGM.

### GEOGRAPHICAL INFORMATION SYSTEMS FOR ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT AND GMO MONITORING

A Geographical Information System (GIS) is a software for the management and analysis of geographic (spatial) data representing phenomena from the real world in terms of position (with respect to a coordinate system) and descriptive attributes (information). These spatial data and associated attributes can be layered together for mapping and analysis, making GIS a practical tool for environmental monitoring and planning used to assist the decision-making process.

The DEMETRA project used a GIS to collect spatial data for the Regional Park of Migliarino – San Rossore – Massaciuccoli. Topographic maps and thematic layers (land use map, soil map, forest type map, and crop map) were acquired to characterize the environment of the study area and its biodiversity. Additionally, aerial remote sensing data and GIS tools were used to assist field plot selection and field works planning.

The spatial dataset was used to develop GIS-based models of the Quick Monitoring Index. To do this, a multi-criteria spatial analysis was performed to assess the environmental risk generated by simulated GMO cultivations within the study area.

The results of the DEMETRA project show how GIS might be used to assess the interaction between GMO crops and the receiving environment, and how geographic data might be used to select checkpoints for GMO monitoring.

### ATTIVITÀ DI DIVULGAZIONE E COMUNICAZIONE

Sono state condotte diverse attività di comunicazione e divulgazione dei risultati del progetto. Una parte di queste azioni è consistita nello sviluppo del sito Internet, nell'organizzazione di seminari e nella partecipazione ad altre iniziative (networking). Il pubblico a cui sono rivolte queste attività è costituito sia da enti e organi pubblici coinvolti nel monitoraggio ambientale degli OGM sia dal grande pubblico interessato alla tutela dell'ambiente.

Gli eventi principali e gli strumenti di divulgazione del progetto sono stati:

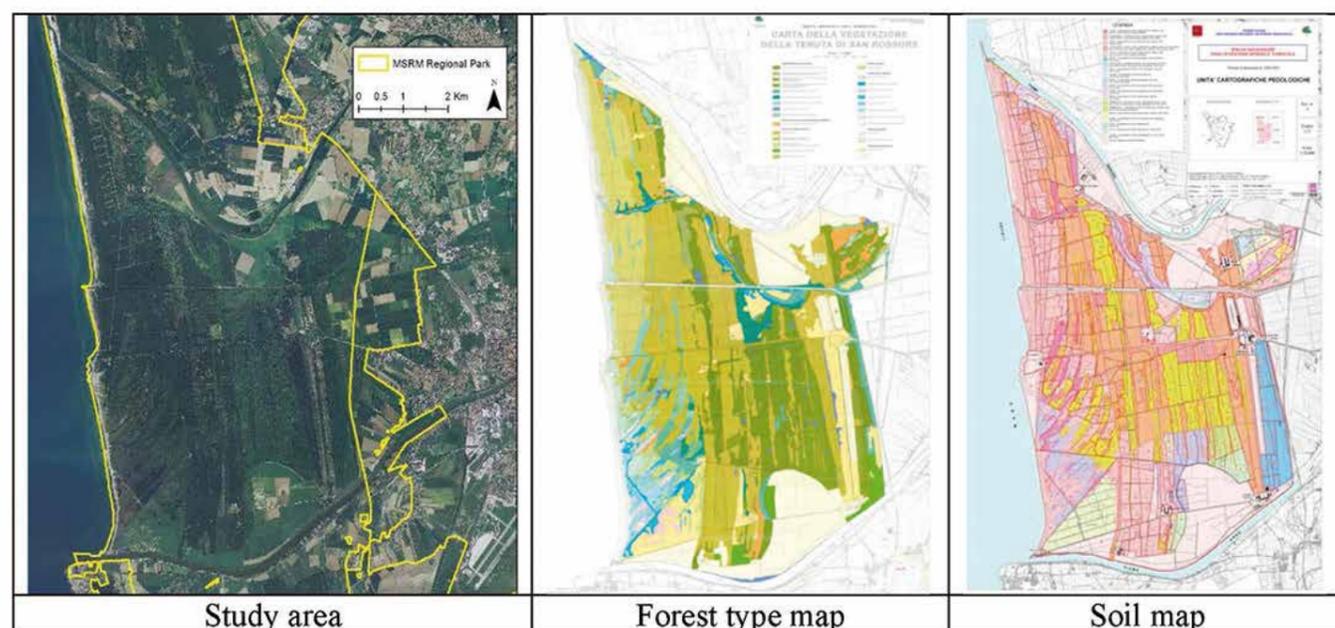
- Evento lancio del progetto LIFE+ DEMETRA: rivolto a un pubblico con un background altamente tecnico-scientifico. E' stata organizzata anche una conferenza stampa volta alla divulgazione dei contenuti del progetto ai mass media. Alcune TV e radio locali hanno realizzato servizi video e audio.
- Workshop a metà progetto: le attività e i primi risultati preliminari del progetto sono stati presentati a un pubblico di esperti del settore degli OGM e del monitoraggio ambientale.
- Video di DEMETRA che illustra l'area studio e spiega l'importanza del progetto con interviste ad esperti.
- Conferenza della Rete europea delle regioni e delle autorità locali libere da OGM: instaurazione di un rapporto con finanziatori interessati al monitoraggio degli OGM.
- Training workshop sugli OGM: seminari per studenti interessati alla biodiversità dell'ecosistema boschivo.
- Evento pubblico "Terra Futura": un evento di tre giorni aperto al pubblico (famiglie, adulti, giovani, tutti interessati ai temi ambientali) per presentare il progetto DEMETRA e la sua importanza per i territori toscani. Gli esperti del progetto hanno condotto attività pratiche di laboratorio per adulti, ragazzi e bambini su argomenti collegati all'ambiente con particolare attenzione alle piante e ai suoi "abitanti", dai micro ai macro organismi.
- Partecipazione a conferenze nazionali e internazionali: SIGA, SISEF, FISV, SIMGBM, IUFRO Tree Biotechnology, ISBGMO, ISHS, EIGMO, SBI, Secondo Congresso Annuale Mondiale su Biodiversità, Ecologia e Ambiente (BIT).
- Conferenza finale del progetto LIFE+ DEMETRA: i risultati finali sono stati presentati a specialisti, enti pubblici e privati coinvolti nel monitoraggio ambientale degli OGM.

### DISSEMINATION AND COMMUNICATION ACTIVITIES

Several communication activities and dissemination of project results were done. Part of these actions were related with the implementation of the website, the organization of seminars and the participation to other initiatives (networking). The target audience was public entities involved in the environmental monitoring of GMOs as well as general public with an interest in the safeguard of the environment.

The main events and dissemination tools of the project were:

- Launching event of the LIFE+ DEMETRA project: oriented toward an attendance with a high technical-scientific background. A press conference aimed at disseminating the project content to media was also done. Some local TV channels and radio have released video and audio services.
- Mid term workshop: the activities and first preliminary results of the project were presented to an audience of experts in the field of GMOs and environmental monitoring.
- Video of DEMETRA illustrating the study area and explaining the importance of the project with interview to the experts.
- Conference of the Network of GMO Free European Regions: networking with stakeholders interested in GMO monitoring
- Training workshop on GMOs: seminars to students interested in forest-ecosystem biodiversity
- Public event "Terra Futura": a three days event opened to the public (families, generations and all the people who care for the environment) to present DEMETRA project and its importance for natural Tuscan territories. The experts of the project carried out practical activities for all ages on some issues relating to the environment with particular attention to plants and its "inhabitants" from micro to macro-organisms.
- Participation to national and international conference: SIGA, SISEF, FISV, SIMGBM, IUFRO Tree Biotechnology, ISBGMO, ISHS, EIGMO, SBI, BIT's 2nd Annual World Congress of Biodiversity, Ecology and Environment.
- Final conference of the LIFE+ DEMETRA project: final results were presented to specialists, public and private entities involved in the environmental monitoring of GMOs.



Study area

Forest type map

Soil map



## CONTINUAZIONE E CONTESTO SOCIO ECONOMICO DEL PROGETTO PROJECT FOLLOW-UP AND SOCIO-ECONOMIC CONTEXT OF THE PROJECT

Dopo la conclusione del progetto alcune attività saranno portate avanti per divulgare i risultati dello stesso e aumentare la conoscenza delle aree studio.

- Strumenti di comunicazione istituzionale saranno utilizzati per riferire attività importanti portate avanti all'interno del progetto (sito Internet istituzionale, stampa interna, fiere, etc.)
- La divulgazione dei materiali di comunicazione del progetto continuerà nelle fiere importanti e nelle mostre in cui saranno presenti stand dei partner.

L'esperienza e la conoscenza acquisite saranno utilizzate come base per costruire una legislazione regionale o linea guida per il monitoraggio degli OGM. Inoltre, i partner hanno a disposizione un centro tecnico per effettuare prove in campo aperto, dove le strategie di monitoraggio potrebbero essere materialmente applicate.

In particolare, lo studio ha lo scopo di fornire una guida al governo regionale per tutelare il proprio territorio qualora colture geneticamente modificate dovessero essere utilizzate (nel caso si dovesse applicare il principio di coesistenza) fornendo una guida per portare avanti un monitoraggio effettivo (in termini di adeguatezza) ed efficiente (in termini di ottimizzazione delle risorse disponibili).

Chiaramente questo risultato non sarà limitato alla regione Toscana, ma la metodologia proposta potrà essere replicata in ogni regione, dove è possibile implementare il sistema di informazione con il minimo di conoscenza necessaria per calcolare l'indice di monitoraggio.

Utilizzando questo metodo ci si aspetta di migliorare gli standard di monitoraggio ambientale degli OGM a livello comunitario, oltre che incrementare l'efficacia del monitoraggio stesso, essendo in grado di puntare a quei componenti dell'ecosistema come i migliori indicatori di possibili sistemi di disordine dell'ambiente.

After the conclusion of the projects some activities will be continued to disseminate the outputs of the project and to implement the knowledge of the study areas.

- Institutional communication tools will be used to report relevant activities carried on within the project (Institutional website, internal press, fairs, etc.).
- Dissemination of project communication materials will continue in the relevant fairs or exhibitions where partner's stands will be present.

Acquired knowledge and experience will be used as a basis to build up regional legislation or guidelines for the GMOs monitoring. Furthermore, those beneficiaries have a specific technical centre for the GMO open field testing, where the monitoring strategies could be materially applied.

Specifically, the study aims at providing guidance to the Regional Government to protect its territory in the event genetically modified crops were used (should one be adopted the principle of coexistence) providing guidance to carry out effective (in terms of adequacy) and efficient (in terms of optimizing the available resources) monitoring.

Clearly this result will not be limited to Tuscan region but the proposed method can be replicated in each region, where it is possible to feed the information system with the minimum knowledge needed to compute the monitoring index. Using this method it is expected to improve the standards of environmental monitoring of GMOs at Community level, in addition to increasing the effectiveness of the monitoring itself, being able to aim at those ecosystem components that are better than other indicators of possible unrest systems environment.



Il progetto DEMETRA ha un importante impatto indiretto sul SIC all'interno del Parco Regionale di Migliarino San Rossore Massaciuccoli, avendo reso possibile un'investigazione completa a livello ecosistemico. Quest'attività, quindi, consentirà al parco di adottare azioni mirate per tutelare specie e varietà di piante e animali.

Di particolare interesse è stata la scoperta nel "bosco con pioppi naturali" (Fortino Nuovo, Area 2) di *Veronica montana* L. e di altre specie nemorali, normalmente non presenti a livello del mare, che possono essere potenziali bioindicatori dello stato di conservazione di questo particolare ambiente. Inoltre, sono stati acquisiti nuovi dati distributivi riguardanti altre specie a rischio e/o rare.

La presa di coscienza iniziata attraverso la nascita di una rete di relazioni tra i governi statali (Ministero dell'Agricoltura e dell'Alimentazione e Ministero dell'Ambiente) ha lo scopo di stimolare la possibilità che si dia inizio a un programma per il monitoraggio degli effetti degli OGM sull'ambiente utilizzando le metodologie di questo progetto.

The DEMETRA project has an important indirect impact on the SIC within the Regional Park of Migliarino - San Rossore - Massaciuccoli as it enabled a thorough investigation to ecosystem level. This activity, then, will allow the Park to implement targeted actions to protect species/varieties of plants and animals. Of particular interest was the discovery in the "forest stand with natural poplar" (Fortino Nuovo, Area 2) of *Veronica montana* L. and other nemoral species, not normally present at sea level, which may be potential biomarkers of the conservation status of these peculiar environments plains. Moreover new distribution data about other endangered species, rare and/or threatened have been acquired. The awareness initiated through Networking to state governments (Ministry of Agriculture, Food and Forestry and the Ministry for the Environment, Land and Sea) has the aim to stimulate the possibility to start a program for monitoring environmental effects of GMOs using methodologies used in this project.





*Website*

**[www.life-demetra.eu](http://www.life-demetra.eu)**