



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

Índice

1. Resumen	1
1. Abstract	1
2. Introducción	3
2.1. Los inicios de la conservación ambiental	3
2.2. Las cumbres de la Tierra	5
2.2.1.- Cumbre de la Tierra de Estocolmo	5
2.2.2.- Cumbre de la Tierra de Río	6
2.2.3.- Cumbre de la Tierra de Johannesburgo	9
2.2.4.- Cumbre de la Tierra de Río +20	10
2.3.- El Milano real	11
2.3.1.- Clasificación y morfología del Milano real	11
2.3.2.- Biología	12
2.3.3.- Distribución	13
2.3.4.- Situación actual	13
2.3.5.- Planes de conservación	14
2.4.- Estudios genéticos ¿Por qué es útil estudiar la secuencia de ADN de determinados genes en un organismo?	15
2.4.1.- La región control mitocondrial	17
3. Justificación y objetivos	18
3.1.- ¿Por qué estudiar el Milano real (<i>Milvus milvus</i>) en este trabajo?	18
3.2.- Objetivos	18
4. Metodología	19
4.1.- Metodología de laboratorio	19
4.2.- Metodología estadística	19
5. Resultados y discusión	21
5.1.- Análisis descriptivo de los resultados obtenidos	21
5.2.- Análisis inferencial	24
6. Conclusiones	26
6. Conclusions	26
7. Valoración personal	27
8. Bibliografía	28

1. Resumen

La conservación de la fauna silvestre es un tema de interés tanto económico, como político y social, que ha adquirido una gran importancia en épocas recientes, hasta el punto de lograr que los diferentes países del mundo colaboren para tomar medidas comunes que eviten la desaparición de especies animales en peligro de extinción. En este trabajo se destacarán las consideraciones básicas a tener en cuenta en la conservación de las especies de animales silvestres, propuestas por las cuatro Cumbres de la Tierra que han tenido lugar a lo largo de la Historia.

Se utilizará como modelo de gestión y de conservación faunística, el programa de reintroducción del Milano real (*Milvus milvus*) llevado a cabo por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de La Alfranca, situado en Pastriz (Zaragoza) y el Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, tanto en la población de Milano real de Aragón, como de la población de las Islas Baleares. Se analizarán los resultados genéticos obtenidos mediante los estudios de sexaje y de secuencias de ADN de la región *D-Loop* mitocondrial.

Los objetivos de este estudio serán analizar el grado de variabilidad genética, determinar el número de machos y de hembras existente en cada población, establecer las diferencias genéticas entre individuos de una misma población y entre las dos poblaciones estudiadas, determinar las distancias genéticas y establecer, así, la situación de cada población y de las dos poblaciones, dentro del programa de recuperación y conservación de esa especie. Para lograrlo se contará con los resultados genéticos ya obtenidos de todos los ejemplares, y para el estudio estadístico se utilizarán los programas informáticos PSPP, Bio Edit, y Dnasp4.

1. Abstract

The conservation of wildlife is an issue of economic, political and social interest, which has become very important in recent times, to the extent that different countries of the world collaborate to take common measures to prevent the disappearance of Species in extinction situation. This paper will highlight the basic considerations to be taken into account in the conservation of wild animal species proposed by the four Earth Treatments that have taken place throughout history.

As a conservation model, the program of reintroduction of the Red kite (*Milvus milvus*) carried out by the Wildlife Recovery Center of La Alfranca, (Pastriz, Zaragoza) and the Laboratory of Citogenetics and Molecular Genetics in the Faculty of Veterinary, will be used as a management and for fauna. We will study the real kite of Aragon and the Balearic Islands

populations. We will analyse the genetic results obtained through the sexing studies and DNA sequences of the mitochondrial *D-Loop* region.

The objectives of this study will be to analyse the degree of genetic variability, to determine the number of males and females in each population, to establish the genetic differences between individuals of the same population and between both populations studied. At the same time, we will determine the genetic distances in order to know the situation of each population within the program of recovery and conservation of that species. To achieve this, the genetic results already obtained will be used in order to apply the statistical and bioinformatic methods using the PSPP, Bio Edit, and Dnasp4 software.

2. Introducción

2.1. Los inicios de la conservación ambiental

Desde el comienzo de la civilización, el hombre se ha preocupado por conservar los diferentes recursos naturales de los cuales depende su supervivencia, para evitar comprometer dichos suministros a largo plazo, produciéndose en ese caso lo que se conoce como la “tragedia de los comunes”, la cual es una situación teórica que se da cuando los diferentes beneficiarios de un recurso compartido actúan según sus intereses personales y acaban comprometiendo la disponibilidad de dicho recurso (Hardin, 1968).

Como ejemplo de ello están las reglas y restricciones de las tribus indígenas norteamericanas del Noroeste del Pacífico, que conocían la cantidad de salmones que solían remontar los ríos y arroyos de la región cada año (Ramos y Mason, 2004). La conservación medioambiental también estaba presente en los primeros escritos religiosos y filosóficos, de hecho Platón en el año 400 a. C. ya se preocupaba por la erosión de los suelos causada por la agricultura desmedida. En la Biblia se refleja cómo, a través de Moisés, Dios mandó dejar descansar la tierra de cultivo cada siete años y en el relato del Arca de Noé, se demuestra que Dios apreciaba tanto al hombre como al resto de su Creación. En el caso del budismo, una de las enseñanzas básicas es la empatía o compasión hacia el resto de seres con los que el ser humano comparte el mundo que le rodea. En los 6236 versos del Corán, los teólogos han encontrado más de 500 versos que recomiendan llevar una vida respetuosa con los animales y las plantas (Van Dyke, 2008).

Sin embargo, aunque estas prácticas funcionaron bien en el Viejo Mundo, durante la época colonial, con la idea de comenzar una nueva vida en una tierra diferente, el hombre fue desvinculándose poco a poco de la naturaleza y solamente se orientó al engrandecimiento personal, la máxima productividad de las nuevas tierras, y una obsesión por extender las expectativas de su vida. Esto dio lugar a la extinción de numerosas especies de plantas y animales, así como la transformación de grandes extensiones de terreno en tierras de cultivo y pastoreo en detrimento de los hábitats naturales (eco-sitio, 2009).

Todo esto dio origen al surgimiento en el siglo XIX de una nueva corriente de pensamiento, el conservacionismo, que tiene sus bases en las obras de Thoreau en 1854 y de Marsh en 1864 (Heckscher, 2002). El primer autor hace alusión a la naturaleza virgen como un elemento vital para nutrir el espíritu humano, mientras que el segundo argumenta que el colapso de las

grandes civilizaciones mediterráneas se debió al continuo impacto humano sobre el medio ambiente a través de la deforestación, la caza, la agricultura y ganadería masiva, etc. Esto hizo que la sociedad de Estados Unidos comprendiera la importancia de la preservación de las zonas vírgenes que aún quedaban, culminando con la fundación, el 1 de marzo de 1872, del parque nacional de Yellowstone, en los estados de Wyoming, Idaho y Montana. Así, con el tiempo surgió la primera organización gubernamental de conservación norteamericana, el “Boone and Crockett Club”, fundado por el presidente de los Estados Unidos Theodore Roosevelt en 1877, y que englobaba las principales zonas de interés social por su riqueza en biodiversidad repartidas a lo largo del territorio estadounidense. Esta nueva forma de gestión de los espacios naturales se extendió a todo el mundo, surgiendo variantes como parques naturales, provinciales, reservas de la Biosfera, etc. (Heckscher, 2002).

Sin embargo, a pesar de estos esfuerzos, en la década de los 70 del siglo XX, los problemas medioambientales eran una dificultad a nivel internacional: los océanos se contaminaron con pesticidas, metales pesados, nitratos y fosfatos, etc.; la atmósfera estaba llena de gases contaminantes surgidos de la industria desmedida; y grandes regiones sufrían problemas de erosión fruto del sobrepastoreo y la agricultura intensiva. Todos estos eran problemas que ningún país podía controlar por sí solo, lo cual hizo que se hicieran nuevas conferencias internacionales, se firmaran nuevos tratados y convenciones, y en general las diferentes naciones del mundo declararan la urgencia del problema ambiental que sufría el planeta. Esta situación dio lugar a que en 1972 la Organización de las Naciones Unidas (ONU) celebrara la Conferencia de Naciones Unidas sobre el Medio Humano, en Estocolmo (Suecia), siendo esta la primera gran conferencia internacional donde se debatieron cuestiones ambientales de tipo mundial, y que marcó un punto de inflexión en el desarrollo de la política entre naciones respecto al medio ambiente (eco-sitio, 2009). Ha habido un total de 4 conferencias de este tipo convocadas por la ONU, las cuales han adquirido el sobrenombre de Cumbres de la Tierra.

2.2. Las cumbres de la Tierra

Las Cumbres de la Tierra, conocidas también como Conferencias de Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, son una serie de encuentros internacionales entre jefes de estado de todos los países integrantes de la ONU, para lograr acuerdos sobre la conservación del medio ambiente, el desarrollo económico, el cambio climático, la biodiversidad y otros temas relacionados. A continuación, se mostrará un resumen de las principales decisiones tomadas en cada una de ellas, resaltando únicamente aquellas que se refieran a la política de conservación del Medio Natural.

2.2.1.- Cumbre de la Tierra de Estocolmo

Conocida también como la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Humano, fue realizada entre los días 5 y 16 de junio de 1972, en la ciudad de Estocolmo (Suecia). Fue convocada por la ONU para debatir sobre la situación del medio humano e intentar hallar soluciones para asegurar la supervivencia a largo plazo de la especie humana, definiendo al medio humano como el entorno que afecta y condiciona las circunstancias de vida de las personas o de la sociedad en su conjunto. En ella, entre otros temas, se debatió por primera vez en la historia sobre el estado mundial del medio ambiente a causa de la intervención humana. La Conferencia fue presidida por el Primer Ministro sueco Olof Palme, y el Secretario General de la ONU Kurt Waldheim, y participaron un total de 1200 delegados en representación de 113 países (tanto desarrollados como en vías en desarrollo), 19 organismos intergubernamentales, y más de 400 organizaciones intergubernamentales y no gubernamentales (Declaración de Estocolmo, 1972). Cabe destacar que a esta Conferencia no asistió ninguno de los países conformantes de la antigua Unión Soviética ni tampoco de sus aliados.

En la Conferencia, tras una serie de debates se llegó a un acuerdo en el que se dictaminó la conocida como Declaración de Estocolmo, un edicto compuesto por un total de 26 principios y 103 recomendaciones, sintetizados en 7 grandes principios fundamentales que deberían de seguir todos los países participantes de la Conferencia, creándose así una visión ecológica del mundo que defendía la interrelación existente entre los actos del ser humano y su repercusión en el medio que le rodea (Declaración de Estocolmo, 1972).

Algunos de estos puntos y principios fueron los siguientes (Declaración de Estocolmo, 1972):

- “El hombre es a la vez obra y artífice de su entorno, lo que le da el sustento material y le brinda la oportunidad de desarrollarse intelectual, moral, social y espiritualmente”.

- “La capacidad de la Tierra para producir recursos vitales renovables debe mantenerse y, siempre que sea posible, restaurar o mejorar”.
- “El hombre tiene la responsabilidad especial de proteger y gestionar sabiamente la herencia de la vida silvestre y su hábitat”.

Otro gran avance derivado de esta Conferencia fue la creación del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), con el fin de coordinar y desarrollar instrumentos para proteger el medio ambiente a nivel internacional, como por ejemplo, promover la creación de ministerios del medio ambiente (Naciones Unidas, 2017).

Gracias a esta Conferencia surgió el concepto de derecho ambiental (conjunto de principios y normas jurídicas que regulan las conductas individuales y colectivas con incidencia en el ambiente), y comenzó el movimiento ecologista que ha perdurado hasta la actualidad (Significado Legal, 2009). Como ejemplo de la influencia de esta Cumbre, el día 5 de junio es celebrado como el Día Mundial del Medio Ambiente, en honor al día en el que comenzó este acontecimiento único y pionero en la conservación ambiental.

2.2.2.- Cumbre de la Tierra de Río

La siguiente gran Cumbre de la Tierra fue la celebrada en la ciudad de Río de Janeiro (Brasil), del 3 al 14 de junio de 1992 y fue conocida como la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo (CNUMAD). A grandes rasgos, esta Cumbre se considera la más trascendental e influyente de todas las que han tenido lugar hasta ahora, ya que en ella se sentaron las bases de las políticas sociales, económicas y ambientales que seguirían la mayoría de países del mundo hasta nuestros días.

Este fue un evento sin precedentes, con una participación y seguimiento mucho mayor que en la anterior Cumbre de Estocolmo veinte años atrás. En total asistieron representantes de 178 estados, entre los que se encontraban 108 jefes de estado y de gobierno, y 400 integrantes de organizaciones no gubernamentales tomaron parte en todas las sesiones de la Cumbre. Más de 17000 personas asistieron al Foro de ONG celebrado paralelamente al evento, al que se le otorgó un estatus consultivo, siendo este un antecedente del importante papel que hoy en día tienen las ONG en todas las Conferencias relacionadas con el medio ambiente (Cumbre de la Tierra de Río de Janeiro, 1992). También estuvieron presentes más de 8000 periodistas y miles de activistas locales y extranjeros. La Cumbre fue presidida por el Secretario General de la ONU Maurice Strong. Fue en esta Cumbre donde se dio a conocer el concepto de desarrollo sostenible, que es aquel que satisface las necesidades de la generación presente sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias necesidades.

Una vez más, para entender cómo se dio lugar a la convocación de este evento tan importante, hay que hacer un balance de los acontecimientos ocurridos en el pasado. Tras la anterior Cumbre de Estocolmo en 1972, las diferentes naciones del mundo lograron nuevos acuerdos internacionales para lograr la preservación de los espacios naturales y de las especies amenazadas por la actividad humana. Ejemplos de ello son la firma en Washington del Convención CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre, 1973), en el cual se elaboró una lista de especies de plantas y animales clasificados en distintos niveles según su nivel de amenaza y peligro de desaparición, para así reducir y regular el tráfico internacional de las mismas.

En la Cumbre de Río algunos de los temas tratados, fueron los residuos contaminantes del uso de las energías convencionales y el desarrollo de fuentes alternativas de energía, entre otras. También se indicó que el transporte público podría ser importante en la disminución de las emisiones contaminantes de los vehículos, además de atacar directamente las problemáticas urbanas relacionadas con el tránsito y los inconvenientes de salud provocados por la polución ambiental. Otro dato importante fue la decisión por parte de la ONU de que, para llevar a cabo todos estos proyectos por parte de todas las naciones, los países desarrollados deberían donar un 0,7% de su PIB para cooperar en el desarrollo de los mismos y reducir así la diferencia entre países desarrollados y en vías de desarrollo. Como resultado final de las negociaciones que tuvieron lugar en la Cumbre se establecieron los siguientes edictos y declaraciones (Cumbre para la Tierra +5, 1997):

- Programa 21: También conocido como Agenda 21, fue un tratado de tipo no vinculante cuyo objetivo era apoyar iniciativas que abarcaran todos los ámbitos del medio humano para construir un modelo de desarrollo sostenible de cara al siglo XXI.
- Declaración de Río sobre el medio ambiente y el desarrollo: Este acuerdo intentaba impulsar una nueva forma de cooperación entre los Estados, los sectores y las personas. En sus 27 Principios abarcaba temas como la protección del medio ambiente; la cooperación entre los países para proteger, preservar y restablecer “la salud” y los recursos naturales de la tierra; la responsabilidad de los Estados a promulgar las leyes eficaces sobre el medio ambiente; la relación entre el desarrollo económico, sostenible y ambiental, así como la participación ciudadana en la protección del medio ambiente, entre otras.
- Declaración de los Principios Relativos a los Bosques: La Declaración disponía entre otras cosas que todos los países, sobre todo los países desarrollados, deberían

esforzarse por reverdecer la Tierra mediante la reforestación y la conservación forestal; y que los países en desarrollo recibirían recursos financieros destinados a establecer programas de conservación forestal para promover una política económica y social de sustitución.

Como mención especial hay que resaltar las Convenciones de Río, que surgieron de las negociaciones de la Cumbre, siendo conocidas también como las “hermanas de Río” (MAPAMA):

- Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC). El objetivo de su creación fue aplicar medidas para limitar el aumento de la temperatura media del planeta y el consecuente cambio climático fruto de la emisión de gases de efecto invernadero por la combustión industrial y los vehículos de transporte humanos; y de hacer frente a sus consecuencias. Se firmó el 13 de junio de 1992 en Washington, y entró en vigor el 21 de marzo de 1994. Como principal medida en respuesta a esta situación, se declaró que los países desarrollados debían reducir sus emisiones de dióxido de carbono y otros “gases de efecto invernadero” a los niveles de 1990 antes del fin del año 2000.
- Convenio sobre la Diversidad Biológica. Se firmó el 5 de junio de 1992 en Río, y entró en vigor el 29 de diciembre de 1993, y establecía tres metas principales: conservar la diversidad biológica, utilizar de forma sostenible sus componentes y distribuir de forma justa y equitativa los beneficios derivados de la utilización de los recursos genéticos.
- Convención de las Naciones Unidas para la Lucha contra la Desertificación (UNCCD). El fin de este acuerdo fue promover una respuesta global contra el grave proceso de desertificación que sufrían ciertas partes del planeta, debida principalmente al cultivo y el pastoreo excesivo, la deforestación y la falta de riego en regiones áridas o semiáridas. Se firmó el 14 de octubre de 1994 en París, y entró en vigor el 26 de diciembre de 1996.

En resumen la Cumbre de Río de 1992 marcó el camino a seguir hasta el día de hoy para ralentizar el deterioro del planeta por parte del ser humano y llegar a una situación que permita la supervivencia de todos los seres vivos a corto y a largo plazo y a su vez asegure el desarrollo económico y social del ser humano, es decir, que permita el desarrollo sostenible.

2.2.3.- Cumbre de la Tierra de Johannesburgo

Después de 10 años de la Cumbre de Río de Janeiro, la ONU convocó una nueva Cumbre de la Tierra en la ciudad de Johannesburgo (Sudáfrica), entre el 26 de agosto y el 4 de septiembre de 2002, con el objetivo de hacer un balance de lo que se había logrado durante esos años para alcanzar las medidas propuestas en la anterior Cumbre. Conocida como la Cumbre Mundial sobre el Desarrollo Sostenible, fue un acontecimiento de mayores proporciones incluso que la Conferencia de 1992, ya que asistieron representantes de los 191 países que conformaban la ONU por aquel entonces, y en total hubo unas 60000 personas involucradas, entre jefes de estado, representantes de ONG, empresas y periodistas (Cumbre de la Tierra de Johannesburgo, 2002) . El Secretario General de la Cumbre fue el economista indio Nitin Desai, que en ese momento era además el Secretario General Adjunto de Asuntos Económicos y Sociales de las Naciones Unidas.

Los resultados de la Cumbre quedaron recogidos en dos importantes documentos: la “Declaración de Johannesburgo sobre el Desarrollo Sostenible” suscrita por todos los Jefes de Estado y de Gobierno, y el “Plan de Aplicación de Johannesburgo”. La primera fue similar a la Declaración de Río, donde los jefes de estado y representantes de ONG y asociaciones internacionales se comprometieron a cumplir con los objetivos establecidos en el Programa 21, para alcanzar un desarrollo económico y social sostenible con el medio ambiente a través de la creación de políticas ambientales a niveles nacionales, y haciendo un seguimiento exhaustivo de sus avances. Los principales objetivos a alcanzar fueron erradicar la pobreza y favorecer la igualdad social de todas las personas; y modificar el modelo de producción y consumo de los países desarrollados, haciendo un uso consciente y controlado de los recursos naturales. El Plan de Aplicación fue por su parte, establecer una serie de metas a seguir para lograr los objetivos plasmados en la Declaración de Johannesburgo para el año 2015.

La Cumbre de Johannesburgo fue considerada a grandes rasgos como una oportunidad perdida, ya que básicamente se hizo un recordatorio de los objetivos planteados 10 años atrás sin que se propusieran nuevas metas para llegar al estado de desarrollo sostenible. Sin embargo, algo positivo que resaltar fue el anuncio por parte de Canadá y Rusia de que ratificarían el Protocolo de Kioto (Protocolo de Kioto, 1997), un edicto de tipo vinculante creado en 1997 en el que los países integrados se comprometían a reducir en un 5% las emisiones de Gases de Efecto Invernadero (GEI) respecto a las emitidas en 1990 antes del año 2012. Con estas dos incorporaciones, se logró el compromiso de los países responsables del 57,8% de las emisiones totales del planeta (mínimo un 55%) dando luz verde a su puesta en marcha. Sin embargo se echó en falta una acción igual por parte de EE.UU., el país que más GEI

aportaba a la atmósfera (36% de las emisiones), algo que a día de hoy, aún no ha tenido lugar (Cumbre de la Tierra de Johannesburgo, 2002).

2.2.4.- Cumbre de la Tierra de Río +20

Es la más reciente, acontecida en Río de Janeiro entre los días 20 y 22 de junio de 2012. Fue conocida como la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible, o Río +20, en conmemoración a los veinte años transcurridos desde la Cumbre de la Tierra de 1992. Estuvo presidida por el Secretario General de las Naciones Unidas, el surcoreano Ban Ki-moon, y la presidenta del gobierno de Brasil, Dilma Rousseff, congregando a un total de 50000 participantes aproximadamente entre los que se encontraban representantes de 193 países, miembros del sector privado y ONG (Cumbre sobre Desarrollo Sostenible Río+20, 2012). Fue promocionada como la mayor cumbre de la historia de la ONU, y la que definiría los objetivos a cumplir en las siguientes décadas para frenar el cambio climático, acabar con la pobreza y la desigualdad, y conservar la biodiversidad del planeta.

En la Cumbre de Río+20, la biodiversidad y el cambio climático fueron valorados junto con la lucha contra la pobreza, el hambre, la igualdad social y la educación para analizar los avances llevados a cabo desde que estos problemas se pusieran sobre la mesa en la Cumbre de 1992. El resultado final de estas valoraciones se engloba en “El futuro que queremos”, un documento de 60 páginas, dividido en 6 apartados y compuesto por 283 puntos (Asamblea General de Naciones Unidas, 2012). En lo que respecta a la preservación y cuidado de la biodiversidad del planeta, en este tratado las naciones integradas en la ONU y las asociaciones internacionales reafirmaron su compromiso en la preservación de la biodiversidad del planeta al indicar su valor intrínseco, su papel primordial al prestar servicios esenciales para el desarrollo sostenible y el bienestar humano, y reconocieron la gravedad de la pérdida mundial de biodiversidad y la degradación de los ecosistemas. Un hito logrado en esta Cumbre fue la formulación de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en sustitución de los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM) formulados en el año 2000 y recopilados en la “Declaración de Johannesburgo sobre el Desarrollo Sostenible”. Se componían de 17 Objetivos con 169 metas de carácter integrado e indivisible que abarcaban las esferas económica, social y ambiental, con un periodo de aplicación hasta el año 2030. De estos Objetivos, el número 15 se centraba en la preservación y uso sostenible de los ecosistemas terrestres para preservar su variabilidad biológica, a través de medidas como crear santuarios de los ecosistemas de elevada biodiversidad, restringiendo su acceso a los seres humanos solo con fines de estudio o vigilancia, y promoviendo el turismo sostenible o ecoturismo, respetuoso con la diversidad biológica.

Esta última cumbre cometió los mismos errores que la de Johannesburgo, sin embargo respecto a la conservación y protección ambiental sirvió para apoyar la aprobación del Protocolo de Nagoya, adoptado en el año 2010, y el cual era un tratado que exigía a todas las naciones integrantes de la ONU un reparto justo y equitativo de los beneficios económicos obtenidos de la explotación de los recursos genéticos del planeta para el beneficio humano (Cumbre sobre Desarrollo Sostenible Río+20, 2012).

2.3.- El Milano real

A la hora de realizar este trabajo se decidió elegir al Milano real (*Milvus milvus*) como especie objeto de estudio porque es un animal que señala muy bien la situación de conservación, respeto y recuperación del medio ambiente, ya que vive en lugares cercanos a la población humana y se alimenta, en gran parte, de los desechos y restos sobrantes de la producción humana, además de que habita cerca de granjas, colectividades ganaderas, alrededor de las poblaciones rurales y urbanas, etc., y por lo tanto su recuperación es indicativa de una mejor relación entre el hombre y la naturaleza.

2.3.1.- Clasificación y morfología del Milano real

El Milano real es un ser perteneciente al Reino *Animalia*, Filo *Chordata*, Subfilo *Vertebrata*, Clase *Aves*, Orden *Falconiformes*, Familia *Accipitridae*, Género *Milvus* y especie *milvus*. Es un ave englobada en el grupo conocido como rapaces o aves de presa, que son aquellas con hábitos totalmente carnívoros y que cuentan con un pico curvo y afilado para desgarrar la carne, además de patas terminadas en garras grandes, curvas y afiladas para sujetar a sus presas. Se caracteriza por tener un pico fuerte con una curvatura en su parte superior que sobrepasa la mitad inferior. En este mismo pico se encuentran las narinas, cubiertas por un engrosamiento carnoso llamado cera. También tiene patas relativamente cortas, y presenta una posición anisodáctila, es decir, que tiene 3 dedos hacia adelante y uno hacia atrás, una característica propia de las rapaces diurnas o Falconiformes (Manzanares, 1991). Otras de las diferencias entre ambos tipos de rapaces, diurnas y nocturnas, o también llamadas Estrigiformes, son que estas cuentan con un oído más desarrollado, una cara redondeada y plana en vez de alargada y estrecha, y unos ojos más grandes que las diurnas. Como añadidura, esta especie presenta dos características exclusivas, las cuales son un marcado ahorquillamiento en el extremo de las plumas de la cola o rectrices, y unas manchas blancas en la parte interior de las alas detrás de las rémiges primarias que ayudan a su distinción a larga distancia (Figura 1).



Figura 1.- Ejemplar adulto de Milano real volando (Econews, 2016).

Es una rapaz de tamaño medio, con una longitud total de 59-66 cm, una envergadura de alas de entre 140-170 cm, y un peso de 760-920 g en los machos, y de 890-1100 g para las hembras. Los ejemplares adultos tienen la cabeza cubierta de plumas grisáceas, mientras que el cuerpo es de un color marrón rojizo con tonos aladrillados tanto dorsal como ventralmente, con una serie de manchas verticales negras sobre las plumas cobertoras del pecho. Las alas son estrechas y largas, permitiendo el vuelo en planeo ágil a mediana y baja altura característico de la especie, y presentan las plumas rémiges primarias acabadas en color negro.

2.3.2.- *Biología*

Esta ave presenta una dieta extremadamente variada, la cual depende según las estaciones. Durante el otoño y el invierno se alimenta principalmente de carroña, como el Milano negro, frecuentando los basureros de pueblos y ciudades en busca de desperdicios de todo tipo, llegando a congregarse en grupos de docenas e incluso cientos de individuos. Durante la primavera y el verano se alimenta sobre todo de presas vivas, entre las que se incluyen invertebrados, anfibios, reptiles, algunos peces, aves hasta del tamaño de una paloma, y pequeños y medianos mamíferos hasta del tamaño de un conejo (Manzanares, 1991).

El hábitat de esta especie también varía con la época del año. Durante el periodo reproductor, comprendido entre primavera y verano, vive en bosques grandes o pequeños, ya sean de coníferas o caducifolios, siendo por norma general un ave típicamente forestal. En otoño e invierno prefiere los terrenos abiertos como pastizales, cultivos, y otras zonas generalmente próximas al hombre donde puede encontrar fácilmente basuras y carroña para alimentarse.

La época de celo comienza en febrero, momento en el cual el macho y la hembra se unen como mínimo durante todo el periodo de nidificación y crianza, pudiéndose extender esta relación durante el resto de sus vidas. Anidan en los mismos territorios año tras año, eligiendo

los grandes árboles, especialmente los pinos, para ubicar sus nidos, aunque ocasionalmente pueden criar en roquedos. La puesta tiene lugar entre finales de marzo y finales de mayo, y se compone normalmente de 2 o 3 huevos, aunque los extremos van de 1 a 4, y son puestos a intervalos de tres días. Son blancos, con manchas pardas rojizas, elípticos y sin brillo, y miden aproximadamente 57,5 x 44,7 milímetros. La incubación dura entre 28 y 32 días, y la realiza principalmente la hembra, aunque a veces interviene el macho mientras ella come. Los polluelos nacen con un plumón blanco, y comienzan a desarrollar las plumas a las dos semanas de vida. Cuando alcanzan las ocho semanas comienzan a emprender el vuelo, y a los tres meses de edad aproximadamente abandonan el territorio paterno.

2.3.3.- Distribución

El Milano real es un ave endémica del Paleártico occidental, habitando de forma fragmentaria y discontinua el oeste y centro de Europa, Turquía y norte de África, entre los grados 59^o y 33^o N, ocupando un área de distribución total de aproximadamente 10,5 millones de km². Antiguamente la especie se extendía por el Este hasta los Urales, el Cáucaso y el Suroeste de Asia, y por el Oeste hasta Escocia y las Islas Canarias, donde desapareció en los años 60. Tanto en la Península Ibérica como en la España insular, es posible encontrar ejemplares sedentarios y migratorios. En el mediterráneo habita en la región occidental, en las islas de Mallorca, Menorca, Córcega, Cerdeña y Sicilia. En España y el resto de Europa vive la subespecie típica *Milvus milvus milvus*, mientras que en las islas del Cabo Verde hay una subespecie diferente, *Milvus milvus fasciicauda*, probablemente extinta (Ferguson-Lees *et al.*, 2001).

2.3.4.- Situación actual

A día de hoy, el Milano real es considerado por la IUCN, como una especie casi amenazada o NT (*Near Threatened*), ya que desde los siglos XVIII y XIX la especie ha sufrido un declive demográfico moderadamente rápido. La principal causa de este descenso poblacional ha sido el uso directo de venenos destinados a exterminar a depredadores de ganado y animales de caza (zorros, lobos, etc.), y el envenenamiento indirecto por consumo de roedores intoxicados por rodenticidas diseminados en las tierras de cultivo para controlar las plagas. Otras amenazas a las que se enfrenta este animal son la pérdida de hábitat, el impacto contra aerogeneradores y tendidos eléctricos, y la desaparición en España de los muladares propios de las explotaciones ganaderas, reduciéndose drásticamente los recursos alimenticios aprovechados por las poblaciones reproductoras e invernantes.

Actualmente, la población europea de Milanos reales es de aproximadamente 25200-33400 parejas reproductoras, representando el 95% del total global. A su vez, las mayores

concentraciones del continente se encuentran en Alemania, con 12000-18000 parejas, Francia con 2335-3022, y España con 3810-4150. A estos últimos hay que sumarles un total aproximado de 50000 individuos que pasan el invierno en territorio español, albergando este país en los meses invernales el 75% de la población mundial. Sin embargo, las poblaciones de estas tres naciones llevan disminuyendo desde la década de 1990, especialmente en España, afectando tanto a la población nativa como a los ejemplares migratorios. Esta tendencia poblacional se vio reflejada en un estudio publicado por Birdlife International en 2015, en el cual se estipulaba que la población mundial de Milanos estaba disminuyendo a una tasa de aproximadamente el 30% en 34,5 años (tres generaciones), la cual podría aumentar en los próximos años.

Sin embargo, desde la década de 1970, se están llevando a cabo planes de protección y recuperación de esta especie por todo el continente, especialmente en países donde la población original de Milanos reales era muy escasa como Suiza, Polonia, Reino Unido y Suecia. Estos proyectos están resultando ser un éxito, aumentando el número de parejas reproductoras en dichos países, con el aliciente de que estos ejemplares no migran en invierno al sur del continente, permaneciendo en sus zonas de apareamiento del norte de Europa, y disminuyendo así sus tasas de mortalidad. Esto puede dar a entender que a pesar de la tendencia actual de la especie a disminuir, a largo plazo gracias a los ejemplares reintroducidos en el Centro y Norte de Europa, la población mundial tenderá a estabilizarse e incluso a ascender (Red List, 2017).

2.3.5.- Planes de conservación

- En Europa: La especie *Milvus milvus* figura en el Anexo I de la Directiva de Aves de la UE establecida en el año 2009 para la conservación de aves silvestres, contando además con un Plan de Conservación exclusivo de la especie dictaminado en el año 2010 (Directiva de Aves de la UE, 2009).
- En España: Desde el año 2011, el Milano real fue declarado legalmente “En peligro de extinción” en el Catálogo Español de Especies Amenazadas, debido al rápido declive de la población local e invernante. La creación en 1989 de la Ley 4/1989 del 27 de marzo, de Conservación de los Espacios Naturales y de la Flora y Fauna Silvestres, detuvo la persecución de estas especies, catalogándolas como especies protegidas por el estado y prohibiendo su caza y exterminio.
- En Aragón: Esta comunidad autónoma presenta la cuarta mayor población de Milanos reales del país, por detrás de Castilla y León, Navarra y Extremadura. Sin embargo, el

descenso poblacional de esta especie también ha sido acuciante en la Comunidad, lo que llevó a su inclusión en el Catálogo de Especies Amenazadas de Aragón en el año 2011, dentro de la categoría de especies de fauna sensibles a la alteración de su hábitat, tras ser declarada especie en peligro de extinción a nivel nacional. Sin embargo, el Gobierno de Aragón ya había actuado previamente para preservar la especie dentro de su territorio, al aprobar en 2006 el inicio de un programa de cría en cautividad de la especie gestionado por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de La Alfranca en el municipio de Pastriz (Zaragoza). Este proyecto, pionero en el mundo por aquel entonces, se inició con la incorporación de huevos extraídos de la naturaleza que eran incubados y criados en el Centro hasta que los Milanos alcanzaban la madurez sexual, para después criar a sus propios polluelos los cuales serían liberados posteriormente en el medio ambiente. Los ejemplares recogidos para crear el stock poblacional pertenecían a nidos localizados en municipios repartidos por todo Aragón, para asegurar la variabilidad genética de la descendencia. La cría de los polluelos que serían puestos en libertad exigía un contacto mínimo por parte de los cuidadores, el cual se limitaba al anillamiento previo a la suelta. Este programa de cría ha sido un éxito, sirviendo de inspiración a otras comunidades autónomas a hacer lo mismo, como el centro de cría de la Fundación Natura Parc de Mallorca en 2010, al cual se han cedido ejemplares. También se han destinado animales criados en La Alfranca, a Italia para ayudar en su recuperación de la especie, y se ha constatado que un ejemplar liberado ha sido encontrado en el Pirineo Francés, demostrando la buena adaptación de los ejemplares criados en el Centro al medio natural.

2.4.- Estudios genéticos ¿Por qué es útil estudiar la secuencia de ADN de determinados genes en un organismo?

El estudio de la secuencia del ADN permite conocer no sólo el orden de los nucleótidos Adenina (A), Citosina (C), Timina (T) y Guanina (G) en un gen en concreto, sino también conocer las variaciones de dicha secuencia que presenta cada individuo. Con esta información se pueden realizar estudios comparativos, que permiten identificar tanto la diversidad nucleotídica, como la distancia genética que se haya producido entre los individuos de una o de varias poblaciones dentro de una misma especie, y también comparar entre individuos de diversas especies, géneros o familias.

La diversidad entre organismos es consecuencia de las diferencias en las secuencias de ADN y de los efectos ambientales. La variación genética es notable, y cada individuo de una especie, a excepción de los gemelos monocigóticos, posee una secuencia de ADN única. Las variaciones

del ADN se clasifican como “neutras” cuando no originan cambios en los caracteres metabólicos o fenotípicos, y por consiguiente no están sometidas a selección positiva, negativa o de reequilibrio; en caso contrario, se denominan “funcionales”. La mejor forma de realizar estudios de secuencias de ADN es proceder a su alineamiento. El alineamiento de secuencias consiste en la comparación de las secuencias homologas para localizar las inserciones, deleciones o cambios puntuales en los nucleótidos que se hayan podido producir en el proceso de divergencia de ambas desde el ancestro común. Lo interesante en el caso de analizar las secuencias de ADN es comprobar el polimorfismo que existe en la población estudiada y poder comparar poblaciones entre sí. El programa de secuenciación da una secuencia concreta y su complementaria, es decir, cuando se analiza una de las dos cadenas del ADN del que está formado, se estudia la llamada secuencia directa, pero también da la secuencia inversa de la otra cadena, que sirve de complemento para identificar cualquier alteración que se detecte (Figura 2).

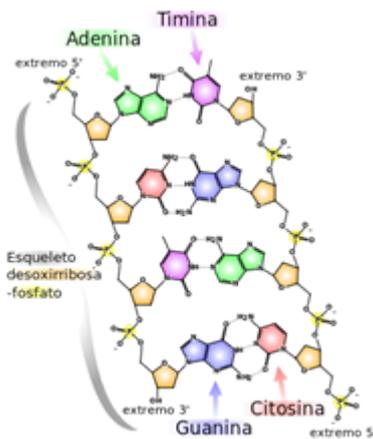


Figura 2.- Esquema de una secuencia de bases nitrogenadas de dos cadenas complementarias de ADN (Mariecuriesnews, 2014).

A la diferencia de secuencias entre los individuos se llama haplotipo. Un haplotipo en genética es una combinación de alelos de diferentes loci de un cromosoma que son transmitidos juntos. Un haplotipo puede ser un locus, varios loci, o un cromosoma entero dependiendo del número de eventos de recombinación que han ocurrido entre un conjunto dado de loci. Y así, se puede estudiar una población de una especie por el número de haplotipos diferentes que existen en la población, es decir por el número de individuos que tienen un haplotipo u otro. Cuanta mayor variabilidad genética haya, mejor se recuperará una especie. La uniformidad genética, es decir, el hecho de que haya muy pocos haplotipos diferentes, hace que los individuos estén compartiendo un mismo haplotipo que han heredado de un ancestro común y eso lleva a la consanguinidad, dando lugar a una recuperación muy difícil de la especie.

2.4.1.- La región control mitocondrial

Por las características del ADN mitocondrial de los vertebrados, como la herencia materna, la presencia de una sola copia de genes ortólogos, la casi inexistencia de recombinación, la alta tasa de mutación y su relativamente fácil amplificación por ser multicopia, determinan que esta biomolécula sea esencial en estudios genéticos, taxonómicos, sistemáticos y evolutivos, y que se use particularmente en genética para la conservación de la biodiversidad. Se ha convertido en la fuente más popular de marcadores moleculares en las últimas décadas (Galtier *et al.*, 2009). Los genomas mitocondriales son moléculas circulares de doble cadena cerradas, que contienen unos 13 genes codificantes para proteínas, unos 2 genes para ARN ribosomal y unos 22 genes para ARNt. Las regiones no codificantes se limitan a las áreas denominadas región control o *D-loop*, involucrada en la replicación y la transcripción de estas moléculas, y la región OL, cuyo papel funcional se asocia al inicio de la replicación (Shadel *et al.*, 1997). Varios estudios revelan que la parte de más rápida evolución del genoma mitocondrial es la región control o *D-loop* (Saccone *et al.*, 1993).

3. Justificación y objetivos

3.1.- ¿Por qué estudiar el Milano real (*Milvus milvus*) en este trabajo?

El Milano real es un animal que señala muy bien la situación de conservación, respeto y recuperación del medio ambiente. A nivel personal este trabajo me ha permitido aplicar métodos de estudio para conocer mejor dicha especie y poder aplicar estos conocimientos en el ámbito profesional. También he tenido la oportunidad de estar en contacto con los profesionales del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de La Alfranca, creado en 1985 por el Gobierno de Aragón y gestionado por el Departamento de Desarrollo Rural y Sostenibilidad. Es un hospital de atención veterinaria que tiene entre sus objetivos reintegrar al medio natural, con garantías de supervivencia, a aquellos animales silvestres afectados por alguna problemática, e indagar sobre las causas de mortalidad/morbilidad que inciden sobre la fauna silvestre en Aragón. Además de ello este Centro lleva a cabo desde 2006 un programa de cría en cautividad del Milano real, gracias al cual se han liberado hasta el momento 54 ejemplares en la naturaleza.

3.2.- Objetivos

Los objetivos que se desean alcanzar realizando este trabajo son los siguientes:

1. A partir de los datos cedidos por el Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, aplicar los programas informáticos BioEdit y PSPP para ampliar el conocimiento de la situación genética del Milano real en nuestra Comunidad Autónoma y en las islas Baleares.
2. Valorar las posibilidades de desarrollo autónomo que presentan ambas poblaciones a partir de estas características genéticas.

4. Metodología

4.1.- Metodología de laboratorio

La metodología del análisis genético laboratorial, que comprende la extracción del ADN a partir de las muestras de sangre, la secuenciación de la región *D-Loop* del ADN mitocondrial de los 105 Milanos reales estudiados en este trabajo, así como los alineamientos de dichas secuencias, ha sido realizada y cedida por el Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

4.2.- Metodología estadística

Tras la colaboración con el Laboratorio, se ha obtenido una base de datos para la realización del trabajo. La base de datos consta de la secuenciación genética de las 354 bases nitrogenadas procedentes de los 105 Milanos reales estudiados en este trabajo. Algunas de las variables recogidas son sexo y procedencia.

Inicialmente, la información disponible se traslada a formato Excel, donde ha sido depurada mediante la búsqueda de inconsistencias, con la unificación de variables recogidas como texto. Durante este proceso, se revisan las secuencias genéticas de cada animal, comprobando el tipo de base nitrogenada de la región de ADN estudiada. De esta forma, se ha obtenido una serie de patrones de bases que se repiten según un número determinado de individuos, identificándose así los diferentes haplotipos presentes en el conjunto, y el número total de individuos que presentan dichos haplotipos. Para facilitar este proceso se ha utilizado un código de colores para identificar más fácilmente los haplotipos dentro del conjunto de todos los ejemplares de Milano real estudiados. Posteriormente, la base de datos se recodifica a un formato CSV delimitado por comas, estando así lista para exportarla al programa conocido como PSPP. En caso de ser necesario pueden establecerse nuevas categorías a las variables.

A continuación, se realiza el estudio estadístico con el programa PSPP de software libre (<https://www.gnu.org/software/pspp/>). Este programa permite obtener las frecuencias de las variables estudiadas así como encontrar asociaciones entre ellas. En este caso, las variables son cualitativas, y en concreto nominales. Para trabajar estadísticamente con este tipo de variables, los programas informáticos habitualmente lo hacen con éstas codificadas a numéricas, por una cuestión de simplificación de cálculos y optimización de la base de datos. En el caso del programa PSPP, esto se ha hecho mediante la opción “recodificación automática”, cambiando el nombre de las variables que se querían transformar, y añadiéndolas a la base de datos. Una vez que las variables cualitativas se han codificado, se realiza su descripción mediante el cálculo y representación de sus respectivas frecuencias. En

cuanto a los estadísticos de interés, al ser variables nominales, tan sólo tiene sentido el cálculo de la moda, que corresponde con la frecuencia máxima.

Posteriormente, se estudian asociaciones dos a dos entre las variables mediante tablas cruzadas o de contingencia. Para llevar a cabo este estudio se ha realizado un contraste estadístico basado en la prueba de Chi-cuadrado, la cual es una prueba de hipótesis que determina si dos variables están relacionadas entre sí con un nivel de confianza estadístico determinado. A la hora de formular esta prueba se seleccionan las variables a comparar y se establecen dos hipótesis, la hipótesis nula (H_0 : indica que ambos parámetros son independientes), y la hipótesis alternativa (H_1 : estipula que las dos variables son interdependientes). A continuación se calcula el parámetro Chi-cuadrado, para lo cual se le resta a la frecuencia del valor observado la frecuencia del valor deseado, se eleva al cuadrado dicho resultado y se divide por la frecuencia del valor deseado.

$$\chi_{cal}^2 = \sum \frac{(F_o - F_e)^2}{F_e}; \quad F_o = F \text{ absoluta observada}, \quad F_e = F \text{ absoluta esperada}$$

En todas las pruebas de hipótesis que se han realizado en el trabajo, se ha utilizado un nivel de significación del 5%, indicando que había un 95% de posibilidades de que la hipótesis nula fuera cierta, nivel de confianza del 95%.

Para estudiar y presentar las tablas en el trabajo, los resultados se han exportado a HTML y de allí se han trasladado a formato Excel.

5. Resultados y discusión

5.1.- Análisis descriptivo de los resultados obtenidos

Con los análisis de las secuencias obtenidos mediante la amplificación de la región *D-loop* mitocondrial el Laboratorio ha logrado identificar 13 haplotipos diferentes en la población de los 105 Milanos estudiados (Tabla I).

Tabla I.- Frecuencias de los haplotipos presentes en la población de 105 Milanos reales

Haplotipos	n	Frecuencia
H1	64	0,6095
H2	1	0,0095
H3	1	0,0095
H4	4	0,0381
H5	1	0,0095
H6	12	0,1143
H7	1	0,0095
H8	11	0,1048
H9	3	0,0286
H10	1	0,0095
H11	3	0,0286
H12	1	0,0095
H13	2	0,0191
TOTAL	105	1

Se observa que la mayor parte de los animales pertenecen al haplotipo H1 (un 60,95%), estando presentes los haplotipos H9 en un 11,43% y el H11 en un 10,48% y los demás haplotipos están presentes en uno, dos, tres o cuatro ejemplares únicamente, demostrándose de esta forma que existe una amplia e interesante variabilidad haplotípica en la población objeto del estudio.

La población estudiada en este trabajo se compone de 84 Milanos reales (80%) en Aragón y de 21 ejemplares (20%) en Baleares. En los ejemplares pertenecientes a Aragón se han encontrado un total de 11 haplotipos diferentes, siendo el haplotipo más abundante dentro de este conjunto el H1 seguido por el H3 y del H5 (Figura 3).

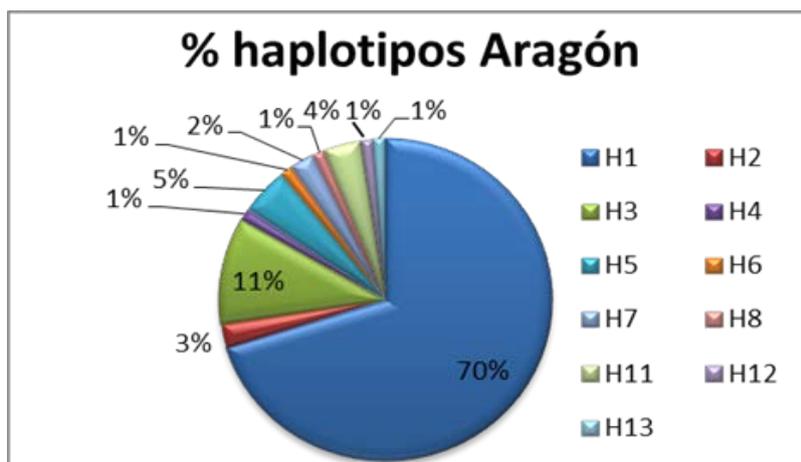


Figura3.- Distribución de los haplotipos en los Milanos de Aragón en la población estudiada.

Mientras tanto en los Milanos de Baleares se han hallado 5 haplotipos en total, siendo el más frecuente el H2, seguido de los haplotipos H1 y H3 (Figura 4).

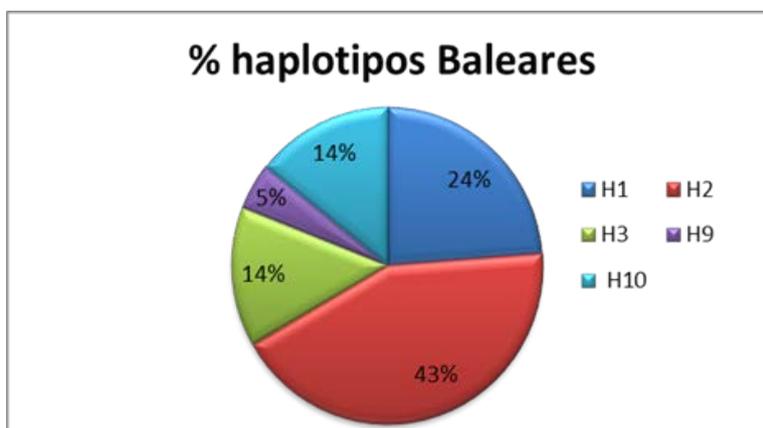


Figura 4.- Distribución de los haplotipos en los Milanos de Baleares en la población estudiada.

Como puede observarse, al estratificar el haplotipo según la procedencia, tanto en Baleares como en Aragón hay Milanos portadores de los haplotipos H1, H2 y H3. Esto lleva a pensar que esta situación se haya producido por la donación de ejemplares que se realiza por parte del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de La Alfranca a la Fundación Natura Parc desde el año 2010, teniendo lugar el cruzamiento entre animales autóctonos con ejemplares aragoneses, dando como resultado una amplia variabilidad haplotípica hallada en los Milanos procedentes de Baleares. De hecho al calcular la variabilidad genética según la procedencia, en Aragón se ha obtenido un índice de 0,13 y en Baleares de 0,24. En ambos casos la variabilidad genética hallada se considera suficiente para no peligrar la recuperación de estas poblaciones, sin embargo en los ejemplares de Baleares, a pesar del escaso número de animales estudiados, se ha encontrado una variabilidad mayor que en los animales de Aragón, donde se ha podido apreciar una mayor homogeneidad.

Si estratificamos la muestra según la variable sexo se observa una distribución equitativa, 52 hembras (49,52%) y 53 machos (50,48%) siendo el haplotipo H1 el más frecuente en ambos sexos. A continuación, al estratificar la variable sexo según la procedencia se obtiene que el número de machos y hembras es equitativa en ambos territorios sin que ninguno de los dos sexos prevaleciese significativamente sobre el otro. Aun así tanto en Aragón (Figura 5) como en Baleares (Figura 6) el número de machos es ligeramente mayor que el de hembras.

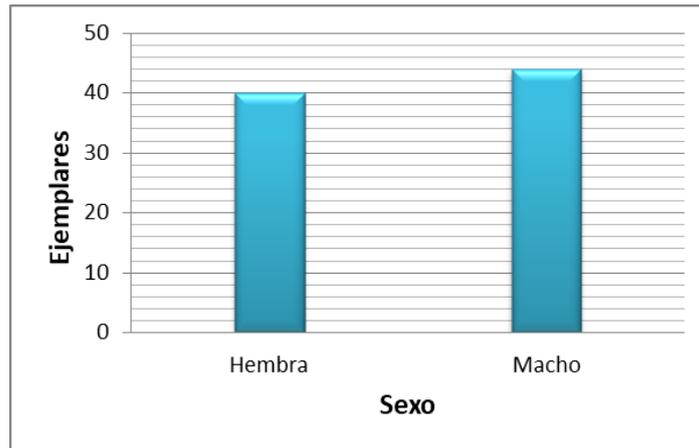


Figura 5.- Número total de machos y hembras de Aragón en la población estudiada.

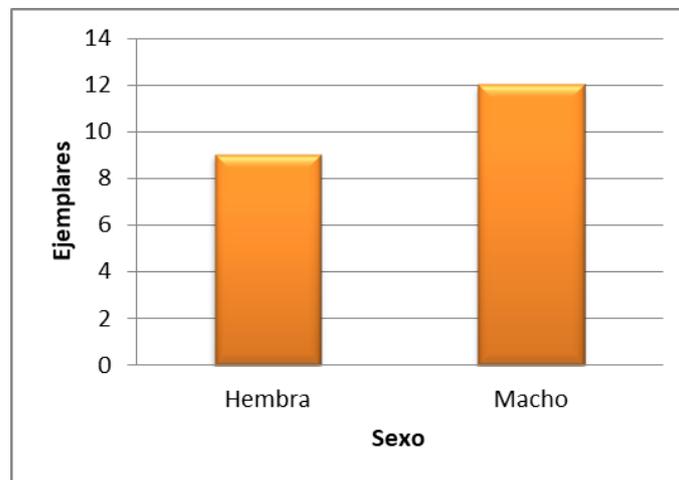


Figura 6.- Número total de machos y hembras de Baleares en la población estudiada.

Por último, si se estratifican los haplotipos de los animales según el sexo de éstos, se observa que su distribución dentro de la población estudiada también está equilibrada, con el haplotipo H1 siendo el más abundante en ambos sexos, habiendo haplotipos que sólo se han encontrado en los ejemplares masculinos (Figura 7), y otros que sólo se han hallado en las hembras (Figura 8).

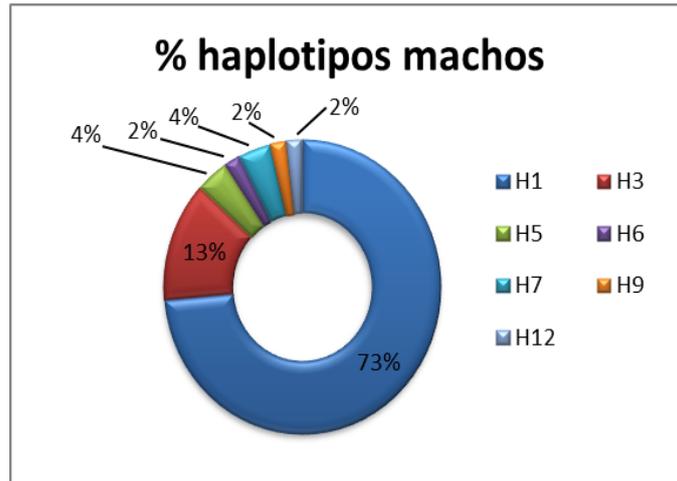


Figura 7.- Distribución de los haplotipos en los machos de la población estudiada.

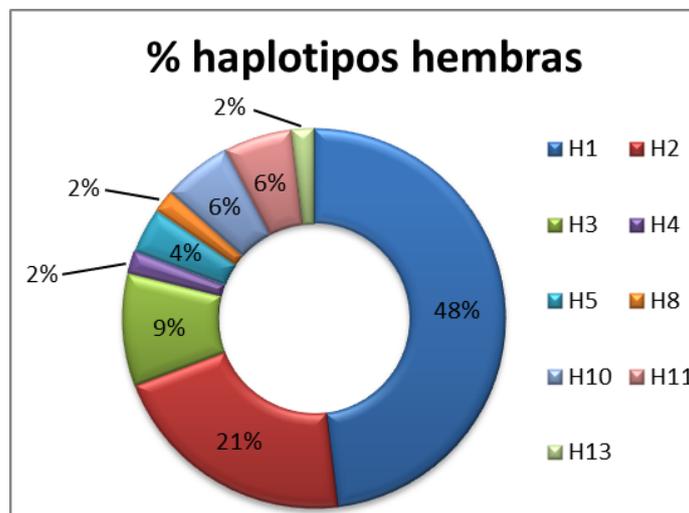


Figura 8.- Distribución de los haplotipos en las hembras de la población estudiada.

Esto junto a la amplia variabilidad haplotípica de ambas poblaciones, augura una recuperación a largo plazo de ambas poblaciones que contribuirán en su conjunto al aumento censal de Milanos reales en todo el país, retrasando así su extinción en el territorio nacional.

5.2.- Análisis inferencial

Al comparar el haplotipo con la variable sexo usando la prueba Chi-cuadrado se han encontrado diferencias significativas ($p=0,005$), indicando que las frecuencias de los diferentes haplotipos varían en función del sexo. A pesar del resultado obtenido en este estudio, como se sabe el haplotipo y el sexo son variables independientes, por ello una posible explicación de este resultado podría ser que dado que estos machos han recibido la información exclusivamente de sus madres, estas hembras pueden haber desaparecido de la población de Aragón y Baleares por diversas razones (migración, muerte, etc.).

Haciendo un análisis más detenido de las tablas de contingencia, en el H1 la diferencia entre el número de machos y hembras no llega a ser significativa, mientras que para el H2 se observa que todos sus portadores son hembras, lo que explica el resultado del test.

A continuación, comparando el haplotipo y la variable procedencia se comprueba están asociadas ($p=0,001$), encontrándose H1 fundamentalmente en Aragón (59 / 64), el H10 sólo en Baleares y el H2 con una mayoría en Baleares (9 / 11).

Finalmente entre las variables sexo y procedencia no se han hallado diferencias significativas ($p=0,435$), lo que indica por lo tanto que la supervivencia tanto de unos como de otros no está condicionada al hábitat de los animales.

6. Conclusiones

Las conclusiones que se pueden extraer de este trabajo son las siguientes:

1. Ambas poblaciones de Milanos reales disponen de un nivel adecuado de variabilidad genética sin presencia de riesgos elevados de endogamia que pongan en peligro la viabilidad de los animales, por lo que ambas poblaciones son capaces de desarrollarse autónomamente sin la necesidad de introducir nuevos ejemplares para sanearlas.
2. La población de machos y hembras es equitativa en ambos territorios sin que ninguno de los dos sexos prevalezca significativamente sobre el otro, de modo que la supervivencia de ambos no se encuentra relacionada con su hábitat.

6. Conclusions

The conclusions that can be drawn from this work are the following:

1. Both populations of red kites have an adequate level of genetic variability without the presence of high risks of inbreeding that endanger the viability of the animals, so that both populations are able to develop autonomously without the need to introduce new specimens to clean them.
2. The population of males and females is equal in both territories without either sex prevailing significantly over the other, so that the survival of both is not related to their habitat.

7. Valoración personal

Este trabajo me ha permitido descubrir que la preocupación del ser humano por el medio que le rodea es más antigua de lo que pensaba, y que en estas últimas décadas, se han creado multitud de proyectos y metas para reducir el impacto del hombre sobre el planeta y así asegurar un futuro propicio para las nuevas generaciones. Si bien los logros alcanzados han sido menores de los que podrían obtenerse con un mayor consenso entre las naciones, son un indicio de que se está yendo por el buen camino, y que el ser humano es más consciente del poder que tiene tanto para proteger y conservar como para destruir. He conocido las características del Milano real y su situación actual, comprobando que nuestro país es de vital importancia para la supervivencia de la especie, y que su estado en la nación es peor del que pensaba, ya que está sufriendo una importante disminución por culpa de la mala acción del ser humano sobre el medio ambiente, al no haber un control más exhaustivo del uso de venenos, tanto con fines cinegéticos como agrícolas. Además, he podido conocer la labor que se está haciendo para salvar la especie en Aragón, concretamente la realizada en el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de La Alfranca, cuyo programa de cría en cautividad ha sido un éxito y un modelo a seguir para nuevos proyectos similares para salvaguardar a este animal en España. También gracias a esta actividad he comprobado que en la conservación medioambiental tienen cabida ciencias como la Genética y la Estadística, las cuales son de vital importancia para conocer el estado poblacional de los animales objeto de estudio y tomar en consecuencia unas decisiones u otras para permitir su correcto desarrollo en el medio natural. Por otra parte me he puesto al día en programas y metodologías de estudio genético, mediante el programa BioEdit, para alinear secuencias de ADN de regiones concretas de interés. Por último, el hecho de cursar esta asignatura me ha permitido ampliar mis conocimientos de Estadística al emplear programas informáticos que desconocía hasta ahora como lo era el PSPP, y al aprender cómo relacionar diferentes variables biológicas para comprobar si estas son o no independientes gracias a la prueba de Chi-cuadrado, sirviendo esto para darme cuenta de que en la naturaleza no todo depende del azar, y sabiendo qué podemos modificar y qué no, podemos reparar los errores del pasado, y crear así un mundo mejor y más próspero para nuestros hijos. Para acabar, quisiera mostrar mi agradecimiento al Centro de Recuperación de Fauna Silvestre de La Alfranca, y al Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza por aportarnos y codificar la información objeto de este estudio, y a mis tutoras María Victoria Arruga Laviña, Chelo Ferreira González, y Ana Muniesa del Campo, por dedicar parte de su tiempo a compartir sus conocimientos conmigo, y guiarme durante la elaboración de este trabajo.

8. Bibliografía

Asamblea General de Naciones Unidas. 2012. Resolución del 27 de julio de 2012. 66/288. El futuro que queremos. 27 de julio de 2012, en:

http://www.un.org/ga/search/view_doc.asp?symbol=A/RES/66/288&Lang=S

Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres.

CITES. 1973. Firmada en Washington el 3 de marzo de 1973. En: <http://www.cites.es/es-ES/elconveniocytes/Paginas/Introduccion.aspx>

Cumbre de la tierra de Johannesburgo. 2002. En: <http://www.sommetjohannesburg.org/>

Cumbre de la Tierra de Rio de Janeiro. 1992, en:

<http://www.un.org/spanish/esa/sustdev/documents/declaracionrio.htm>

Cumbre para la Tierra +5. 1997. Periodo extraordinario de sesiones de la Asamblea General para el Examen y la Evaluación de la Aplicación del Programa 21. En:

<http://www.un.org/spanish/conferences/cumbre&5.htm>

Cumbre sobre Desarrollo Sostenible Río+20. 2012. En: <http://www.uncsd2012.org/rio20/>

Declaración de Estocolmo. 1972. En: <http://www.prodiversitas.bioetica.org/doc89.htm>

Directiva de Aves de la UE. 2009. En: <http://eur-lex.europa.eu/legal>

<content/EN/ALL/?uri=CELEX:32009L0147>

Eco-sitio. 2009. Portal de Medio Ambiente y Ecología. Historia de la Conservación. En:

<http://www.eco-sitio.com.ar/node/303>

Ferguson-Lees J, Christie DA. 2001. Guía de Identificación Rapaces del Mundo. Omega. 391-395.

Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst GD. 2009. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Mol Ecol*, 18 (22): 4541-4550.

Hardin G. 1968. The Tragedy of the Commons, *Science*, 162 (3859): 1243-1248.

Heckscher JJ, ed. 2002. Selected Events in the Development of the American Conservation Movement. Washington D.C.: Library of Congress. Retrieved 17 November 2008.

Ley 4/1989 de Conservación de los Espacios Naturales y de la Flora y Fauna Silvestres. 27 de marzo de 1989. En: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1989-6881>

Manzanares A. 1991. Guía de Campo de las Aves rapaces de España. Omega. 127-130.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Gobierno de España. 2017. En: <http://www.mapama.gob.es>

Naciones Unidas. 2017. Temas mundiales. Medio ambiente. En: <http://www.un.org/es/globalissues/environment/>

Protocolo de Kioto. 1997, en: <http://unfccc.int/2860.php>

Ramos J, Mason R. 2004. Traditional Ecological Knowledge of Tlingit People concerning the Sockeye Salmon Fishery of the Dry Bay Area. A Cooperative Agreement Between Department of the Interior National Park Service and the Yakutat Tlingit Tribe. Final Report (FIS) Project 01-091, Yakutat, Alaska.

Red List. 2017. Guiding Conservation for 50 years. The IUCN Red List of Threatened Species. *Milvus milvus*. En: <http://www.iucnredlist.org/details/22695072/0>

Saccone C, Lavane C, Pesole G, Sbisa E. 1993. Peculiar features and evolution of mitochondrial genomes in mammals. In: DiMauro S, Wallace DC, editors. Mitochondrial DNA in human pathology. New York: Raven Press. p: 27-37.

Shadel GS, Clayton DA. 1997. Mitochondrial DNA maintenance in vertebrates. Annu Rev Biochem. 66: 409-435.

Significado Legal. 2009. Concepto de Desarrollo Ambiental, en: <http://www.significadolegal.com/2009/03/concepto-de-derecho-ambiental.html>

Van Dyke F. 2008. Conservation biology: foundations, concepts, applications (2nd ed.). New York.