

**Determinación de la edad de la culebra real de  
California (*Lampropeltis californiae*) en Gran Canaria**

**Age determination of the California kingsnake  
(*Lampropeltis californiae*) in Gran Canaria**



Trabajo de Fin de Grado

**SELENE REVERÓN ARTEAGA**

Tutorizado por Marta López Darias, Borja Maestresalas Andueza  
y Marcos Báez Fumero

Grado en Biología (Julio) 2021



# ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	1
INTRODUCCIÓN .....	3
OBJETIVOS .....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
Especie de estudio .....	5
Selección de ejemplares .....	7
Esqueletocronología .....	7
Extracción y conteo.....	8
Análisis estadístico.....	9
RESULTADOS.....	10
DISCUSIÓN .....	12
CONCLUSIONES.....	15
CONCLUSIONS .....	15
ANEXO I.....	16
BIBLIOGRAFÍA .....	18

## RESUMEN

La edad es uno de los parámetros más importantes en estudios poblacionales de fauna, especialmente cuando se trata de especies exóticas invasoras, ya que su análisis permite obtener datos biológicos de gran interés que pueden ser útiles para mejorar la gestión de estas especies. La culebra real de California (*Lampropeltis californiae*), que invade la isla de Gran Canaria desde hace 20 años, es un ofidio cuya presencia está ocasionando graves impactos en los ecosistemas de la isla. En este estudio se ha aplicado la esqueletocronología sobre el hueso ectopterigoides para estimar la edad de individuos de esta especie capturados en Gran Canaria. Además, se estudiaron las posibles diferencias en la estructura de edad en función del sexo y el núcleo de población. El resultado de este trabajo permitirá estimar la edad de los individuos que se capturen en la isla a partir de la información de la longitud hocico-cloaca (SVL), aplicando el modelo de regresión resultado de este estudio. La determinación de la relación entre estos dos parámetros biológicos puede arrojar información útil sobre la biología de la especie que permita establecer técnicas de gestión y manejo más eficaces.

Palabras clave: ectopterigoides, especies exóticas invasoras, esqueletocronología, marcas de crecimiento, serpiente.

## ABSTRACT

The age of the animals is an important parameter in population studies, especially when they involve invasive alien species, since its analysis allows obtaining other biological data of great interest that can be useful to improve the management of these species. The California kingsnake, which has invaded the island of Gran Canaria since 20 years, is a snake whose presence is generating serious impacts on the island's ecosystems. In this study, the skeletochronology has been applied to the ectopterygoid bone to estimate the age of individuals of this species captured in Gran Canaria. In addition, possible differences in age structure based on sex and population of origin are investigated. The result of this work will allow estimating the age of the individuals caught on the island from the snout-vent length (SVL) information, applying the regression model resulting from this research. Determining the relationship between these two biological

parameters can provide useful information on the biology of the species that allows the establishment of more effective management techniques.

Keywords: ectopterygoid, growth marks, invasive alien species, skeletochronology, snake.

## INTRODUCCIÓN

Un aspecto fundamental en cualquier estudio poblacional es la comprensión de los procesos demográficos, muchos de los cuales suelen ser específicos de la edad de los individuos (Waye & Gregory, 1998). Por tanto, la determinación o estimación de la edad individual es esencial en aquellos campos de investigación que se ocupan del estudio de las interacciones entre organismos, poblaciones y sus hábitats (Castanet, 1994). A su vez, el conocimiento de la edad de los animales permite adquirir información sobre otras variables poblacionales de interés como la tasa de crecimiento, la longevidad, el tamaño o la edad de la madurez sexual (Smirina, 1994; Tsiora & Kyriakopoulou-Sklavounou, 2002). Todos estos parámetros, además, pueden estar relacionados entre sí; así, por ejemplo, en reptiles y anfibios existe una relación positiva entre la edad y el tamaño corporal (Fornasiero et al., 2016; Monzón-Argüello et al., 2015; Tsiora & Kyriakopoulou-Sklavounou, 2002) y éstos van a depender a su vez de la tasa de crecimiento que, igualmente, está influenciada por el entorno. Por consiguiente, comparar poblaciones de la misma especie en diferentes zonas de su rango de distribución permite comprender cómo las condiciones tróficas y climáticas dan forma a la edad y al tamaño en la madurez sexual (Fornasiero et al., 2016).

Existen varios métodos más o menos fiables para determinar la edad de los animales. Por un lado, el análisis de la distribución de frecuencia de tallas permite establecer clases de edad en función de las modas de las distintas frecuencias de tamaño (Bjorndal et al., 2000). Por otro lado, el método de captura-marcaje-recaptura, uno de los más utilizados y que consiste a grandes rasgos en la captura, marcaje, medición y liberación de individuos que posteriormente serán recapturados en intervalos de tiempo regulares (Durham & Bennett, 1963), proporciona datos fidedignos sobre la relación edad-tamaño (Halliday & Verrell, 1988). Por su parte, la esqueletocronología posibilita la estimación de la edad en reptiles y anfibios ya que su crecimiento periódico queda registrado en forma de marcas de crecimiento en ciertos tejidos duros como los huesos (Castanet, 1994; Halliday & Verrell, 1988; Waye & Gregory, 1998). Estas marcas están directamente relacionadas con los ritmos endógenos de los animales (Castanet, 1994) pero, en gran medida, son el resultado de los cambios estacionales en las tasas de deposición ósea (Roitberg & Smirina, 2006). Los factores causantes de las alteraciones en dichas

deposiciones óseas afectan a las actividades fisiológicas y son muy variables; sin embargo, todos ellos dependen de la estacionalidad, pudiendo estar afectados por la temperatura, las horas de luz, o incluso la disponibilidad de alimento (Patón & Juarranz, 1990).

La estimación de la edad puede ser particularmente útil en el ámbito de las poblaciones de reptiles invasores, ya que un conocimiento exhaustivo de este parámetro puede arrojar información esencial sobre la biología de la especie que permita establecer técnicas de gestión y manejo más eficaces. En Canarias, han sido citadas varias especies de ofidios exóticos, tales como la culebrilla ciega de las macetas (*Indotyphlops braminus*), la pitón real (*Python regius*) y la culebra viperina (*Natrix maura*), entre otras (Pleguezuelos et al., 2004; Zamora-Camacho, 2017). No obstante, es particularmente alarmante la invasión de la culebra real de California (*Lampropeltis californiae*) en la isla de Gran Canaria debido a los severos impactos ecológicos que causa sobre el frágil ecosistema insular (Gallo-Barneto et al., 2016; Mateo et al., 2011; Piquet & López-Darias, en revisión). Los primeros avistamientos de culebras reales de California en la isla datan del año 1998 en el barranco Real de Telde y sus proximidades (Patiño Martínez, 2015; Pether & Mateo, 2007). A pesar de ello, la confirmación de la existencia de poblaciones establecidas no tiene lugar hasta los años 2007 y 2010, cuando son localizados el primer y segundo núcleo, respectivamente (Monzón-Argüello et al., 2015). El primero y principal incluye, actualmente, los municipios de Telde, Santa Brígida, Valsequillo y San Mateo, al este de la isla. El segundo se localiza en los alrededores del municipio de Gáldar, al noroeste. En el año 2015, un tercer núcleo es descubierto al sur del municipio de San Bartolomé de Tirajana, y en la actualidad hay capturas de la especie en numerosas localidades de la isla (GESPLAN, 2015; LIFE + LAMPROPELTIS, s. f.). Debido a su fácil mantenimiento, manejo, docilidad, diseños y coloraciones inusuales, la culebra real de California es un animal muy apreciado y comercializado por el colectivo terrariófilo (Gallo & Mateo, 2020). Esto, sumado a las conclusiones del estudio genético de Monzón-Argüello et al. (2015), confirman que la principal causa de su introducción en la isla se debe al escape o la liberación de ejemplares en cautividad. Para luchar contra esta invasión se han habilitado diversos proyectos entre los que se incluye el LIFE “Control de la especie invasora *Lampropeltis getula californiae* en la isla de Gran Canaria

- LIFE<sub>10</sub> NAT/ES/000565”, que se inicia en el año 2011, o posteriormente, la ejecución del “Plan Post-Life-Lampropeltis” y la reciente aprobación del “Plan Estratégico para el Control de la Culebra Real de California (*Lampropeltis californiae*) en Canarias (2019-2022)”. A lo largo de este periodo, y en el marco de estos proyectos, se han realizado diversas aportaciones al conocimiento de la biología y los efectos de *L. californiae* sobre el ecosistema (ej. Patiño Martínez, 2015; Piquet & López-Darias, en revisión). Sin embargo, la información de la biología de la especie en la isla sigue siendo insuficiente. Concretamente y respecto a la edad, se ha estimado que la edad media de la población de la isla es de 6.5 años, analizando desde ejemplares neonatos (0 años) hasta los individuos de la mayor edad estimada (18 años en este caso) (Patiño Martínez, 2015). Sin embargo, este análisis se realizó a partir de esqueletocronología del hueso angular izquierdo de la mandíbula, si bien para serpientes y lagartos, estudios comparativos indican que los huesos de la maxila (como el ectopterigoides) y los fémures son los más fiables para inferir la edad (Castanet et al., 1988; Hailey & Davies, 1987).

## **OBJETIVOS**

En este contexto, el objetivo principal de este estudio es estimar la edad de ejemplares de culebra real de California capturados en la isla de Gran Canaria a partir del hueso ectopterigoides, sobre el que quedan registradas las marcas de crecimiento resultado del crecimiento periódico del animal (Waye & Gregory, 1998) y los cambios estacionales en las tasas de deposición ósea (Roitberg & Smirina, 2006). Además, se pretende determinar si existen diferencias en la edad entre los núcleos de invasión y el sexo de los individuos y establecer la relación que existe entre la longitud corporal de los individuos y su edad, con el propósito de facilitar la estima de la edad de todos los individuos que se capturen en el programa de control.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### ***Especie de estudio***

*Lampropeltis californiae* es un colúbrido distribuido naturalmente por todo el suroeste de Norte América, más específicamente en la mayor parte de California, hasta Sonora en México (Krysko, 2001; Nafis, 2000). En su área nativa puede vivir hasta los 2.164 m

s.n.m., aunque se suele encontrar entre los 914 m (Sierra Nevada, CA) y los 1.707 m s.n.m. (Sierra San Pedro de Mártir) (Hubbs, 2009; Wiseman et al., 2019). En su área de distribución invasora, esta especie se ha naturalizado en altitudes más bajas, de manera que en Canarias las mayores cotas rondan los 620 m (p. ej. La Gavia) (Pether & Mateo, 2007); si bien, las condiciones climáticas de la isla no suponen un obstáculo para una distribución más amplia de la especie (Piquet et al., 2021). La especie exhibe un comportamiento diurno (Hubbs, 2009), encontrándose principalmente bajo el suelo (hipogeas) (Anguiano & Diffendorfer, 2015; Gallo & Mateo, 2020) aunque, en su área nativa, también se las puede ver sobre los sauces a varios metros de altura (Wiseman et al., 2019). Sus temperaturas óptimas oscilan entre los 18 °C y 31 °C, con una media de 28 °C (Brattstrom, 1965). Según Hubbs (2009), se trata de un ofidio de tamaño medio (61-130 cm los adultos) que rara vez supera los 160 cm y con un peso medio de 222,4 g (Gallo & Mateo, 2020). Posee una cabeza estrecha, hocico redondeado, ojos bien desarrollados y carece de colmillos inoculadores de veneno. Presenta escamas dorsales alargadas, lisas, brillantes y solapadas que dan lugar a varios patrones de coloración (rayado, anillado y albino entre otros) (Gallo & Mateo, 2020; Hubbs, 2009). Una de las particularidades de esta especie se encuentra en la placa anal, la cual es única (en otras serpientes las placas anales están divididas); además, una de las formas más eficaces de diferenciar a la especie es a través de la morfología de los hemipenes (Hubbs, 2009). *Lampropeltis californiae* es una serpiente constrictora, es decir, mata a sus presas por asfixia. Su dieta es eurífaga, predominando los vertebrados (roedores, lagartos, aves, huevos, etc.) incluidas otras serpientes, pudiendo llegar a practicar el canibalismo (Hubbs, 2009; Jackson et al., 2004; Wiseman et al., 2019). En Gran Canaria, su dieta es oportunista, consumiendo lagartos endémicos (*Gallotia stehlini*), lisa grancanaria (*Chalcides sexlineatus*), perenquenes (*Tarentola boettgeri*) o pequeños mamíferos, principalmente (Hubbs, 2009; Mateo et al., 2011; Monzón-Argüello et al., 2015). La culebra real de California es ovípara, con un único pico estacional en el mes de marzo y una sola puesta al año de entre 5 y 17 huevos, con un promedio de 10 (Hubbs, 2009).

## ***Selección de ejemplares***

Para este estudio se analizaron un total de 88 ejemplares de culebra real de California capturados en Gran Canaria durante el año 2020 en el marco de las acciones post-LIFE mantenidas por parte del Gobierno de Canarias y el Cabildo de Gran Canaria tras la finalización del LIFE previamente mencionado. Estos individuos fueron cedidos por la empresa pública GESPLAN al IPNA-CSIC. Todos los ejemplares elegidos para los análisis fueron adultos del núcleo principal y secundario, que fueron seleccionados en 4 rangos de tamaño de manera que la muestra fuera lo más representativa posible de las distintas tallas: 50-70 cm, 70-90 cm, 90-110 cm y mayores de 110 cm de SVL (del inglés Snout-to-Vent Length o longitud hocico-cloaca). Así, se incluyeron un total de 28 hembras y 31 machos del núcleo principal y 14 hembras y 15 machos del núcleo secundario.

## ***Esqueletocronología***

Para estimar la edad de los animales seleccionados, se utilizó el conteo de marcas óseas del hueso ectopterigoides izquierdo (Fig. 1A) (Castanet, 1994; Fornasiero et al., 2016; Hailey & Davies, 1987; Reed & Tucker, 2012; Wayne & Gregory, 1998). Se trata de un hueso dérmico y plano (ZFIN, 2019), ubicado en la mandíbula superior y formando parte del complejo palatomaxilar, donde es el único hueso no dentado. En su parte distal forma una articulación con el maxilar y en la proximal se une al pterigoides funcionando como transportador de fuerzas musculares entre estos dos huesos (Albright & Nelson, 1959; Lombard et al., 1986).

Existen dos formas principales de observar las marcas de crecimiento en los huesos. Para huesos largos se realizan cortes delgados y, en la mayoría de los casos, se tratan con diferentes tinciones (Castanet, 1994; Roitberg & Smirina, 2006; Wayne & Gregory, 1998; Zug et al., 1986). En los huesos planos, la lectura puede realizarse directamente sobre la superficie del elemento óseo bajo luz transmitida o reflejada (Castanet, 1994; Fornasiero et al., 2016), tal y como ocurre para el ectopterigoides. En los huesos de los reptiles se pueden reconocer tres tipos de marcas de crecimiento:

1. Capas opacas. También denominadas zonas, que se corresponden con periodos donde la deposición y el crecimiento del hueso son rápidos. Debido a esta gran

actividad osteogénica, las capas presentan una matriz ósea mal estructurada espacialmente y rica en lagunas osteocíticas distribuidas aleatoriamente (Castanet, 1994; Fornasiero et al., 2016). A causa de su estructura, las zonas aparecen más opacas que otras marcas, oscuras bajo luz transmitida y claras en luz reflejada (Castanet, 1994).

2. *Annuli* o anillos, que son marcas que se alternan con las zonas y corresponden a periodos lentos de osteogénesis. Es por ello que la matriz está mejor estructurada que en el caso anterior (normalmente está hecha de hueso laminar), siendo menos frecuentes los osteocitos (Fornasiero et al., 2016). Así, los anillos aparecen más translúcidos que las zonas, oscuros en luz reflejada y más claros bajo luz transmitida (Castanet, 1994).
3. Líneas de crecimiento detenido (LAGs del inglés Lines of Arrested Growth), que se forman por la detención temporal de la osteogénesis local o general. Suelen ser estrechas y no siempre visibles, pueden estar rodeando los anillos, dentro de estos (Fornasiero et al., 2016) o solas cuando se alternan directamente con las zonas. Las LAGs aparecen como la estructura ósea más brillante bajo luz polarizada (Castanet, 1994).

Las marcas óseas anteriores a la madurez sexual están bien diferenciadas, y los anillos y LAGs se separan por amplias zonas. Sin embargo, una vez alcanzada la edad de madurez sexual, las marcas comienzan a aparecer más estrechas y de forma irregular (Fornasiero et al., 2016). Además, a medida que la culebra envejece, es más probable que ocurra reabsorción de las primeras marcas de crecimiento. Por lo tanto, cuanto mayor sea la serpiente, más difícil será asignarla a un grupo de edad concreto (Waye & Gregory, 1998).

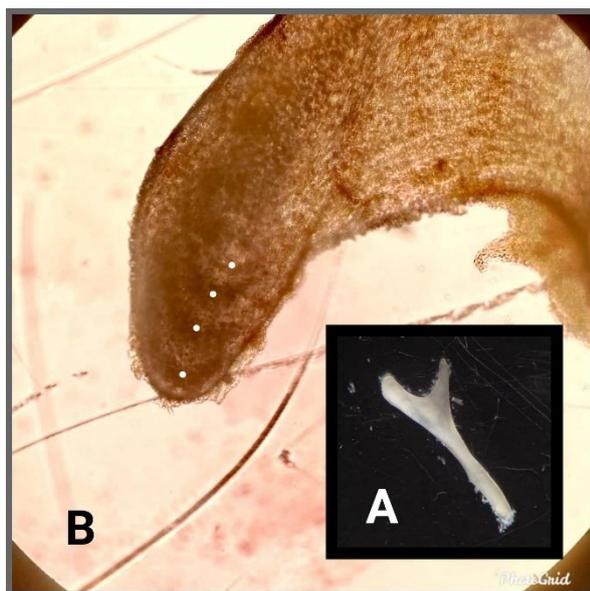
### ***Extracción y conteo***

Para optimizar la extracción y limpieza del hueso ectopterigoides, se realizaron en primer lugar varias pruebas preliminares hasta detectar el método más rápido y efectivo que permitiera una clara visión de las marcas de crecimiento (ver Anexo I para el detalle de las pruebas previas realizadas). Finalmente, el protocolo seguido para la extracción consistió en retirar el ectopterigoides de la mandíbula, previa cocción de la cabeza de

los individuos durante 20-30 minutos. La extracción del hueso se completó con materiales de disección, realizándose al término de la acción una limpieza rápida con pinzas de punta recta y lisa, evitando rayar el hueso. Todos los huesos extraídos fueron identificados individualmente y almacenados en tubos Eppendorf con agua corriente hasta su lectura.

Para la lectura de las marcas de crecimiento, los huesos extraídos fueron fotografiados bajo la luz transmitida de un microscopio binocular Zeiss Axioskop 40, a 10 aumentos.

La luz del microscopio se mantuvo baja y el hueso sumergido en agua con la finalidad de mejorar el contraste entre las marcas de crecimiento (Fornasiero et al., 2016). En este caso, las únicas marcas claramente visibles eran las zonas y, en algunos casos puntuales, las LAGs. Es por ello que, para estimar la edad, solo se tuvieron en cuenta las zonas (Fig. 1B). El recuento de marcas en cada hueso se llevó a cabo por tres investigadores de forma independiente y totalmente ciega a la identidad de la muestra. Posteriormente, los tres



**Fig. 1.** A) Fotografía a la lupa binocular del hueso ectopterigoides izquierdo; B) Fotografía al microscopio de un ejemplar de 4 años; los puntos blancos indican las zonas identificadas.

investigadores compararon los resultados y revisaron todas las fotografías, consensuando el número de líneas. Cuando no se alcanzó un consenso o la visión de las líneas no fue del todo clara, el hueso quedó descartado del análisis.

### ***Análisis estadístico***

En primer lugar, se llevó a cabo un análisis de outliers para la identificación de valores atípicos en los datos que pudieran tener efectos excesivos en los resultados. Posteriormente, tanto SVL como número de zonas detectadas fueron transformadas a Ln. A continuación, se verificaron los supuestos de normalidad (prueba de Kolmogorov-Smirnov) y homocedasticidad (test de Levene) para el conjunto de datos de las edades

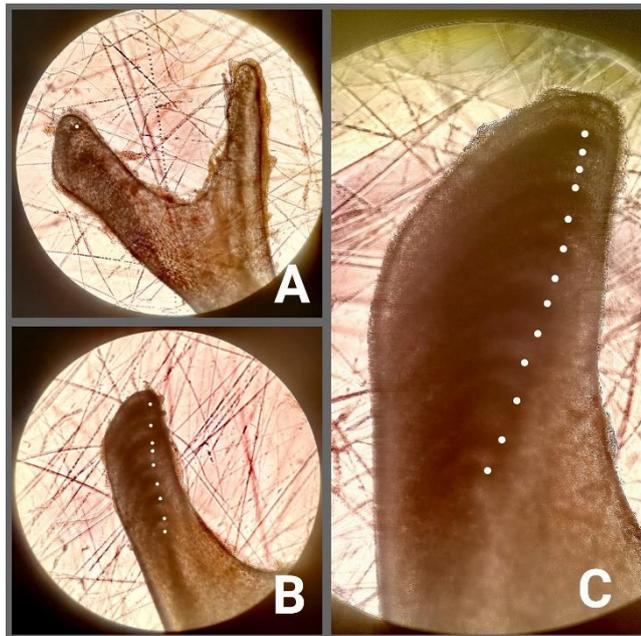
de los individuos, tomando un nivel de significación de  $p = 0.05$ . Dado que la edad no se distribuyó de manera normal, la determinación de las posibles diferencias en la estructura de edad en función del sexo y la localización (núcleo principal y secundario) se realizó a partir de la prueba no paramétrica de Mann Whitney. Finalmente, con el propósito de determinar la relación entre la edad y la longitud hocico-cloaca (SVL), se llevó a cabo una correlación de Pearson y, posteriormente, una regresión lineal simple.

Todos los procedimientos estadísticos anteriores se llevaron a cabo en el programa SPSS Statistics V21 (IBM Corp., 2012).

## RESULTADOS

El consenso de los conteos y el análisis de outliers resultó en el descarte de 14 individuos (un 50% correspondían a ejemplares mayores de 100 cm de SVL, además del ejemplar más joven).

Por tanto, el tamaño muestral se redujo a 74 huesos. La edad de los ejemplares analizados mostró un promedio de  $12.92 \pm 3.87$  años, alcanzando el más longevo las 22 marcas y el más joven 4 marcas (Fig. 2). La media de edad varía en función del rango de SVL de los individuos seleccionados en el análisis; así, los individuos de entre 50-70 cm de SVL mostraron una media de  $8.21 \pm 2.81$  años, para los de 70-90 cm ésta fue de  $11.13 \pm 1.83$  años y en el caso del rango 90-110



**Fig. 2.** Ejemplos de lectura de marcas de crecimiento en ectopterigoides; A) 1 año; B) 9 años; C) 13 años; los puntos blancos indican la edad en años.

cm, alcanzó los  $14.53 \pm 2.5$  años. Los individuos de SVL mayor a 110 cm mostraron una media de edad estimada de  $17.5 \pm 2.9$  años (Tabla 1).

**Tabla 1.** Medias y desviaciones típicas de la edad en cada clase de tamaño

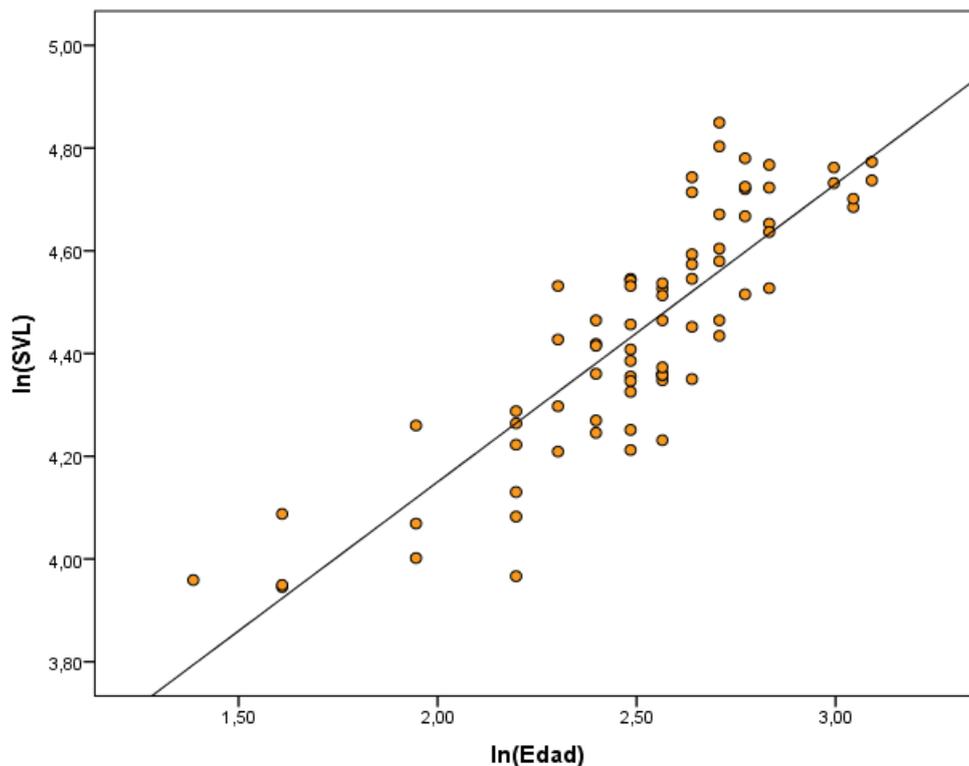
Clases de tamaño	50-70 cm	70-90 cm	90-110 cm	+110 cm
Media $\pm$ Desv. típ. (años)	8.21 $\pm$ 2.81	11.13 $\pm$ 1.83	14.53 $\pm$ 2.5	17.5 $\pm$ 2.9

La edad no fue significativamente diferente ni entre los sexos ( $\phi = 35$ ,  $\mu_{\phi} = 13.29 \pm 3.68$ ;  $\sigma = 39$ ,  $\mu_{\sigma} = 12.59 \pm 4.06$ ;  $t = -0.99$ ,  $p = 0.32$ ) ni entre los núcleos (Principal = 50, secundario = 24;  $t = -0.36$ ,  $p = 0.72$ ).

La edad y SVL mostraron una correlación positiva y significativa ( $R = 0.85$ ,  $p = 0.000$ ) y el modelo de regresión lineal simple (Fig. 3; Ecuación 1) fue significativo y mostró un valor  $R^2 = 0.73$  ( $p = 0.000$ ):

$$\text{Ecuación 1: } y = 2.99 + 0.58x$$

donde “y” representa el logaritmo neperiano del SVL y “x” el logaritmo neperiano de la edad.



**Fig. 3.** Relación entre ln(Edad) y ln(SVL) para *L. californiae* sin distinción de sexos ni localidades.

## DISCUSIÓN

Esta investigación demuestra que la esqueletocronología a partir del hueso ectopterigoides es un buen método de determinación de la edad en *L. californiae*, como ya se ha demostrado en estudios similares sobre otras especies de ofidios (ej. *Hierophis viridiflavus* y *H. carbonarius* (Fornasiero et al., 2016) o *Thamnophis* spp. (Waye & Gregory, 1998)). Una de las ventajas de este método es que no requiere un seguimiento a largo plazo de la población (Fornasiero et al., 2016). Además, como las deposiciones óseas están en consonancia con los ritmos estacionales y no se ven afectadas por variaciones específicas, poblacionales o individuales, no es necesario un sistema de referencia para cada estudio (Castanet, 1994). No obstante, se encontraron algunas dificultades a la hora de realizar la lectura de las marcas de crecimiento, principalmente, las debidas a la reabsorción y la aparición de marcas irregulares, compactas y poco visibles (Zug, 1991). La dificultad hallada en la estimación del número de zonas en individuos mayores a 110 cm, teniendo que descartar más de una decena de huesos, puede deberse al hecho de que, en animales más longevos, es frecuente una reabsorción endóstica acusada que provoca la pérdida de las capas más internas del hueso (Waye & Gregory, 1998). Es por ello que, a lo largo de los años, se han desarrollado técnicas y cálculos inversos que permiten determinar con exactitud el número de LAGs, incluidos los que se han perdido por reabsorción (Castanet & Baez, 1991). Dado que en este estudio se han contado las zonas y no los LAGs, la utilización de estos métodos no ha sido necesaria. Respecto a la aparición de marcas irregulares y compactas, cabe destacar que la tasa de crecimiento suele disminuir con la edad del ejemplar, generando la aparición de marcas poco espaciadas entre sí y difíciles de distinguir en la parte más distal del hueso (Reed & Tucker, 2012). Por tanto, al igual que en el caso anterior, estos inconvenientes fueron encontrados, sobre todo, en individuos más longevos cuyo SVL sobrepasaba los 110 cm.

En nuestra lectura de los ectopterigoides de *L. californiae* pudimos detectar líneas finas (LAGs), si bien éstas no fueron abundantes ni frecuentes. Según Castanet & Baez (1991), la presencia o ausencia de estas líneas finas se debe a la climatología del lugar. Así, aunque pueden aparecer en animales sometidos a unas condiciones ambientales aparentemente homogéneas, éstas se expresan mejor cuando los individuos viven bajo

una estacionalidad marcada, con diferencias acusadas entre las estaciones del año. En Canarias, el clima subtropical genera temperaturas medias anuales de 20 a 24 °C, que varían en función del mes, con una amplitud térmica de 6 a 7 °C (Agencia Estatal de Meteorología (España) & Instituto de Meteorología (Portugal), 2012). En estas condiciones climáticas, las culebras adultas están muy activas entre los meses de marzo y junio, con el pico más alto en mayo; mientras que, para los meses de agosto a enero, esta actividad baja un 90% (Fisher et al., 2019). Dicha actividad está también relacionada con la época de reproducción, ya que los adultos están activos en busca de pareja (Cabrera-Pérez et al., 2012). Fisher et al. (2019) apuntan que una elevada abundancia de presas podría disminuir la detección de culebras fuera de la época reproductiva, ya que éstas no necesitan desplazarse largas distancias para encontrar alimento y, por ende, la exposición para su detección se vería limitada. Por tanto, cabría esperar que esta abundancia de presas junto al clima favorable de la isla de Gran Canaria permitiera que la especie pueda alimentarse y crecer de forma continua durante todo el año, lo que explicaría la poca frecuencia con la que aparecen LAGs en las muestras de la isla. De existir un periodo de ayuno durante la etapa de actividad, éste no sería lo suficientemente largo como para dejar constancia en el tejido óseo.

La amplia valencia ecológica de *L. californiae* hace que sea capaz de desarrollarse en localizaciones muy distintas entre sí. Así, el núcleo principal es una zona periurbana degradada típica, con cultivos de frutales y berros, mientras que el núcleo secundario se extiende por un espacio natural protegido donde abunda el cardonal-tabaibal característico del piso basal canario (Gallo-Barneto et al., 2016). La ausencia de diferencias significativas detectadas entre los núcleos de población podría ser indicativa de que, independientemente del sustrato y/o las condiciones meteorológicas, la estructura de edad no varía. Estos resultados contrastan con los expuestos por Monzón-Argüello et al. (2015), quienes detectaron que los individuos del núcleo secundario (Gáldar) eran más largos, pesados y de mayor edad que los del núcleo principal. Sin embargo, parece que estos resultados estarían relacionados con las actividades antropogénicas, es decir, con el hecho de que los individuos del núcleo principal han estado sometidos a los esfuerzos de erradicación durante un periodo de tiempo más prolongado que el secundario (Monzón-Argüello et al., 2015). De ser así, los datos

obtenidos en nuestro trabajo indicarían una homogeneización de las poblaciones respecto a la edad debido a una posible disminución de la edad en el núcleo secundario por el efecto antrópico. Respecto a las diferencias entre los sexos, Monzón-Argüello et al. (2015) confirman que las hembras son, de media, 1.36 años más longevas que los machos para un mismo SVL en ambos núcleos poblacionales. A pesar de ello, los estudios realizados durante el proyecto LIFE sobre la edad, muestran una clara disminución de la edad media de las hembras desde el año 2012 hasta el 2015 (Patiño Martínez, 2015). Suponiendo que esta tendencia se haya mantenido hasta la actualidad, encontrar diferencias no significativas entre los sexos sería la consecuencia esperada. No obstante, es factible que las posibles diferencias, tanto entre poblaciones como entre sexos, se hayan visto camufladas bajo el hecho de que se trata de un estudio realizado sobre ejemplares seleccionados y no escogidos al azar de toda la población.

En el conjunto de individuos estudiados se detectó una relación elevada y significativa entre la edad estimada y la longitud del ejemplar. Gracias a ello, la regresión establecida permitirá inferir la edad de los individuos a partir de su SVL sin necesidad de aplicar técnicas específicas para la determinación de dicho factor. La habituación de las especies a ecosistemas nuevos o cambiantes pasa por una adaptación de los parámetros del ciclo de vida, entre los que se encuentran la edad de madurez sexual, las tasas de crecimiento, fecundidad o mortalidad (Beamish & McFarlane, 1983). Por un lado, la combinación de parámetros como la edad y el tamaño, junto a factores morfológicos como el sexo, posibilita llevar a cabo una estimación de la tasa de crecimiento. Poder estimar esta tasa es clave para comprender si las poblaciones se encuentran sometidas a algún tipo de estrés que les impide llevar a cabo un crecimiento rápido o si, por el contrario, disponen de los recursos necesarios para crecer rápidamente (Lazcano et al., 2011). Por otro lado, a partir de la edad, es posible desarrollar proyecciones de natalidad para intervalos de edad específicos, obteniendo así información sobre los patrones reproductivos en los distintos núcleos poblacionales de la isla. Además, incluyendo una proyección de supervivencia, se podría determinar la dinámica de estas poblaciones. El conocimiento de la edad de los individuos también permite estimar la mortalidad para las distintas clases de edad. Con esta información, es posible hacer suposiciones sobre cómo cambian las poblaciones a lo largo del tiempo o cómo responden a las perturbaciones

ambientales (Esparza, 2006). La comprensión de los fenómenos demográficos antes mencionados y la obtención de otros parámetros biológicos ayudará a completar la información sobre la biología y ecología de la invasión de *L. californiae* en Gran Canaria y a complementar los esfuerzos de manejo que se están llevando a cabo para controlar la invasión de este colúbrido en las islas Canarias.

## **CONCLUSIONES**

Con este estudio hemos demostrado la efectividad del método de la esqueletocronología para determinar la edad en *L. californiae*. Aunque no se han detectado diferencias en la edad entre los núcleos poblacionales y los sexos, esto podría deberse al hecho de que los individuos sujetos al estudio fueron preseleccionados en base a clases de tamaño, de modo que éstas fueran homogéneas entre localidades y sexos. Sin embargo, se ha detectado una clara relación entre la longitud (SVL) y la edad en esta especie de culebra, lo que permitirá a partir de ahora estimar la edad de los individuos a partir de su medida de SVL.

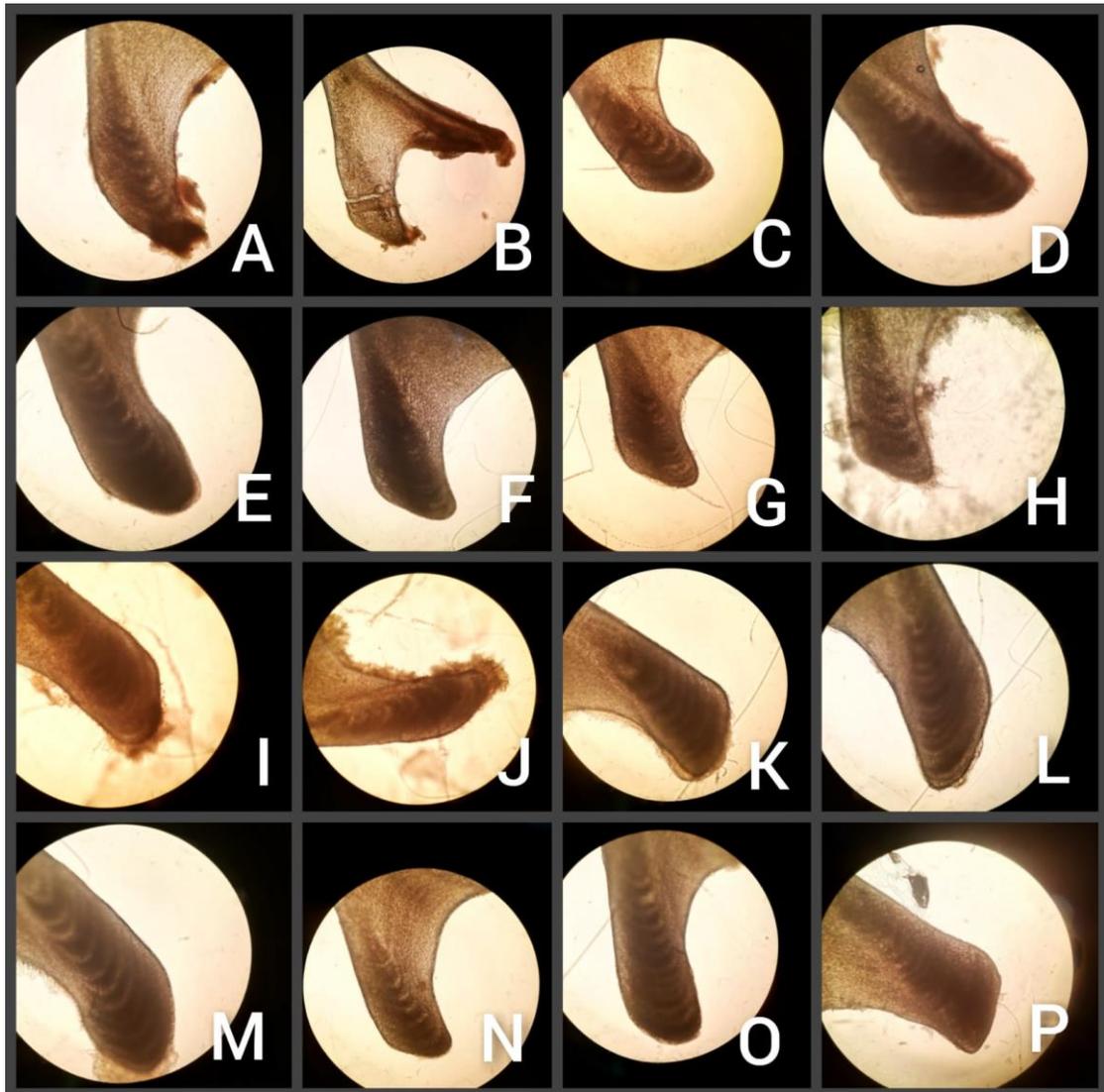
## **CONCLUSIONS**

In this study, we have shown the effectiveness of the skeletochronology to determine the age of *L. californiae*. Although no differences in age have been detected between populations and sexes, this could be due to the fact that the analyzed individuals were preselected based on size classes, so that these classes were homogeneous between localities and sexes. However, a clear relationship between length (SVL) and age has been detected in this species of snake, which will make it possible to estimate the age of individuals from their SVL measurement.

## ANEXO I

En total se realizaron 15 pruebas preliminares en las que se utilizaron hasta 5 sustancias diferentes y que dieron como resultado la obtención de una técnica efectiva para llevar a cabo el conteo de las marcas de crecimiento.

La primera prueba realizada consistió en extraer el ectopterigoides de la cabeza y dejarlo en agua 28 días, momento en el que se tomaba la fotografía (Fig. 4A). Este proceso fue descartado debido a la dificultad encontrada a la hora de extraer el hueso, con lo que en las siguientes pruebas se probó la maceración de las cabezas en agua oxigenada al 50% (Fig. 4B) y al 100% (Fig. 4C) durante un total de 8 días, tiempo a partir del cual se extrajeron los huesos y se mantuvieron en agua corriente por 28 días. Este procedimiento fue descartado y sustituido por el método de cocción de las cabezas como primer paso antes de la extracción del hueso. Una cocción entre 20 y 30 minutos permitía la fácil extracción del hueso, además de disminuir el olor a putrefacción. Una vez establecida la cocción como el proceso a seguir para la extracción del hueso, se procedió a comprobar la efectividad de distintas sustancias sobre el hueso con el objetivo de adquirir la visión más clara posible de las marcas de crecimiento. Así, se probó una solución de lejía al 100% y al 50% (Fig. 4. D, E, respectivamente) durante 30 días. Igualmente, se probó a hervir nuevamente los huesos por 30 min una vez separados de la cabeza y tras sumergirlos 24 horas en agua oxigenada (Fig. 4F) y en agua con jabón (Fig. 4G). Algunos ejemplares fueron sometidos a acetona comercial durante 21 horas y 30 minutos, 21 horas y 10 minutos y 16 horas (Fig. 4 H, I, J, respectivamente). Algunas muestras fueron incubadas en agua con jabón durante 18 días (Fig. 4K, L), otras durante 30 días (Fig. 4M) y otras en agua corriente por 18 días (Fig. 4N, O). Finalmente, uno de los ectopterigoides (Fig. 4P) fue sumergido en xilol durante 20 segundos aproximadamente.



**Fig. 4.** Recopilatorio de fotografías referentes a los estudios preliminares necesarios para obtener un método eficaz; las letras indican los distintos tratamientos aplicados a los huesos.

## BIBLIOGRAFÍA

Agencia Estatal de Meteorología (España) & Instituto de Meteorología (Portugal).

(2012). *Atlas climático de los archipiélagos de Canarias, Madeira y Azores.*

Agencia Estatal de Meteorología. <https://doi.org/10.31978/281-12-006-X>

Albright, R. G., & Nelson, E. M. (1959). Cranial kinetics of the generalized colubrid

snake *elaphe obsoleta quadrivittata*. I. Descriptive morphology. *Journal of*

*Morphology*, 105(2), 193-239. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051050202>

Anguiano, M. P., & Diffendorfer, J. E. (2015). Effects of Fragmentation on the Spatial

Ecology of the California Kingsnake (*Lampropeltis californiae*) *Journal of*

*Herpetology*, 49(3), 420-427. <https://doi.org/10.1670/13-014>

Beamish, R. J., & McFarlane, G. A. (1983). The Forgotten Requirement for Age

Validation in Fisheries Biology. *Transactions of the American Fisheries Society*,

112(6), 735-743.

Bjorndal, K., Bolten, A., & Martins, H. (2000). Somatic growth model of juvenile

loggerhead sea turtles *Caretta caretta*: Duration of pelagic stage. *Marine*

*Ecology Progress Series*, 202, 265-272. <https://doi.org/10.3354/meps202265>

Brattstrom, B. H. (1965). Body Temperatures of Reptiles. *American Midland Naturalist*,

73(2), 376-422. <https://doi.org/10.2307/2423461>

Cabrera-Pérez, M. Á., Gallo-Barneto, R., Esteve, I., Patiño-Martínez, C., & López-Jurado,

L. F. (2012). *The management and control of the California kingsnake in Gran*

*Canaria (Canary Islands): Project LIFE+ Lampropeltis.*

Castanet, J. (1994). Age Estimation and Longevity in Reptiles. *Gerontology*, 40, 174-

192. <https://doi.org/10.1159/000213586>

- Castanet, J., & Baez, M. (1991). Adaptation and evolution in Gallotia lizards from the Canary Islands: Age, growth, maturity and longevity. *Amphibia-Reptilia*, 12, 81-102.
- Castanet, J., Newman, D. G., & Girons, H. S. (1988). Skeletochronological Data on the Growth, Age, and Population Structure of the Tuatara, *Sphenodon punctatus*, on Stephens and Lady Alice Islands, New Zealand. *Herpetologica*, 44(1), 25-37.
- Durham, L., & Bennett, G. W. (1963). Age, Growth, and Homing in the Bullfrog. *The Journal of Wildlife Management*, 27(1), 107. <https://doi.org/10.2307/3797785>
- Esparza, H. G. (2006). Demografía e historia de vida en saurios. *Ciencia Ergo Sum*, 13(2), 183-191.
- Fisher, S. R., Fisher, R. N., Alcaraz, S. E., Gallo-Barneto, R., Patino-Martinez, C., Jurado, L. F. L., & Rochester, C. J. (2019). *Life-history comparisons between the native range and an invasive island population of a colubrid snake*. 62, 326-331.
- Fornasiero, S., Bonnet, X., Dendi, F., & Zuffi, M. (2016). Growth, longevity and age at maturity in the European whip snakes, *Hierophis viridiflavus* and *H. carbonarius*. *Acta Herpetologica*, 135-149 Pages. [https://doi.org/10.13128/ACTA\\_HERPETOL-18695](https://doi.org/10.13128/ACTA_HERPETOL-18695)
- Gallo, R., & Mateo, J. A. (2020). *Culebra real de California—Lampropeltis californiae (Blainville, 1835)* [Data set]. CSIC - Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN). <https://doi.org/10.20350/DIGITALCSIC/12540>
- Gallo-Barneto, R., Cabrera-Pérez, M. Á., Peña-Estévez, M. Á., Patiño-Martínez, C., & Monzón-Argüello, C. (2016). Culebra real de California: Una intrusa en el jardín de las Hespérides. *InDiference*, 22, 126-141.
- GESPLAN. (2015). *Control de la especie invasora Lampropeltis getula californiae en*

*Gran Canaria. Plan Post-LIFE de Comunicación y Conservación* (N.º E5; p. 46).

GESPLAN.

- Hailey, A., & Davies, P. M. (1987). Growth, movement and population dynamics of *Natrix maura* in a drying river. *Herpetological Journal*, 1, 185-194.
- Halliday, T. R., & Verrell, P. A. (1988). Body Size and Age in Amphibians and Reptiles. *Journal of Herpetology*, 22(3), 253. <https://doi.org/10.2307/1564148>
- Hubbs, B. (2009). *Common Kingsnake: A natural history of Lampropeltis getula*. Tricolor Books.
- IBM Corp. (2012). IBM SPSS Statistics for Windows (21.0) [Computer software].
- Jackson, K., Kley, N., & Brainerd, E. (2004). How snakes eat snakes: The biomechanical challenges of ophiophagy for the California kingsnake, *Lampropeltis getula californiae* (Serpentes: Colubridae). *Zoology (Jena, Germany)*, 107, 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2004.06.001>
- Krysko, K. L. (2001). *Ecology, conservation, and morphological and molecular systematics of the kingsnake, Lampropeltis getula (serpentes: colubridae)*. University of Florida.
- Lazcano, D., León, I. G. C., Hernández, R. M., & Galván, R. D. J. (2011). Variación en el crecimiento de juveniles de la cascabel de las rocas *Crotalus lepidus* (Kennicott, 1861) en condiciones de cautiverio. *Ciencia UANL*, 14(2), 162-169.
- LIFE + LAMPROPELTIS. (s. f.). Recuperado 1 de junio de 2021, de <https://www.lifelampropeltis.com/>
- Lombard, R. E., Marx, H., & Rabb, G. B. (1986). Morphometrics of the ectopterygoid in advanced snakes (Colubroidea): A concordance of shape and phylogeny. *Biological Journal of the Linnean Society*, 27(2), 133-164.

<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1986.tb01730.x>

- Mateo, J. A., Ayres, C., & López-Jurado, L. F. (2011). Los anfibios y reptiles naturalizados en España: Historia y evolución de una problemática creciente. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 22, 2-42.
- Monzón-Argüello, C., Patiño-Martínez, C., Christiansen, F., Gallo-Barneto, R., Cabrera-Pérez, M. Á., Peña-Estévez, M. Á., López-Jurado, L. F., & Lee, P. L. M. (2015). Snakes on an island: Independent introductions have different potentials for invasion. *Conservation Genetics*, 16(5), 1225-1241.
- <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0734-0>
- Nafis, G. (2000, 2021). *A guide to the Amphibians and Reptiles of California*. California Herps. <http://www.californiaherps.com/snakes/pages/l.californiae.html>
- Patiño Martínez, C. (2015). *Control de la especie exótica invasora Lampropeltis californiae en la isla de Gran Canaria. Obtención de parámetros biológicos de ejemplares de Lampropeltis Californiae* (p. 85). GESPLAN.
- Patón, D., & Juarranz, A. (1990). La esqueletocronología. Un método para la datación de edades en los animales silvestres. *Vida Silvestre*, 67, 71-75.
- Pether, J., & Mateo, J. A. (2007). La Culebra Real (*Lampropeltis getulus*) en Gran Canaria, otro caso preocupante de reptil introducido en el Archipiélago Canario. *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 18, 20-23.
- Piquet, J. C., & López-Darias, M. (en revisión). *Invasive snake causes massive loss of all endemic herpetofauna on an island*.
- Piquet, J. C., Warren, D. L., Saavedra Bolaños, J. F., Sánchez Rivero, J. M., Gallo-Barneto, R., Cabrera-Pérez, M. Á., Fisher, R. N., Fisher, S. R., Rochester, C. J., Hinds, B., Nogales, M., & López-Darias, M. (2021). Could climate change benefit

- invasive snakes? Modelling the potential distribution of the California Kingsnake in the Canary Islands. *Journal of Environmental Management*, 294, 112917. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112917>
- Pleguezuelos, J. M., Márquez, R., & Lizana, M. (Eds.). (2004). *Atlas y libro rojo de los anfibios y reptiles de España*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales.
- Reed, R. N., & Tucker, A. D. (2012). Determining Age, Sex, and Reproductive Condition. En R. W. McDiarmid, M. S. Foster, C. Guyer, J. W. Gibbons, & N. Chernoff (Eds.), *Reptile Biodiversity* (pp. 151-164). University of California Press. <https://doi.org/10.1525/9780520952072-013>
- Roitberg, E. S., & Smirina, E. M. (2006). Age, body size and growth of *Lacerta agilis boemica* and *L. strigata*: A comparative study of two closely related lizard species based on skeletochronology. *Herpetological Journal*, 16, 133-148.
- Smirina, E. M. (1994). Age Determination and Longevity in Amphibians. *Gerontology*, 40(2-4), 133-146. <https://doi.org/10.1159/000213583>
- Tsiora, A., & Kyriakopoulou-Sklavounou, P. (2002). A skeletochronological study of age and growth in relation to adult size in the water frog *Rana epeirotica*. *Zoology*, 105(1), 55-60. <https://doi.org/10.1078/0944-2006-00049>
- Waye, H., & Gregory, P. (1998). Determining the age of garter snakes (*Thamnophis* spp.) by means of skeletochronology. *Canadian Journal of Zoology*, 76, 288-294. <https://doi.org/10.1139/z97-201>
- Wiseman, K. D., Greene, H. W., Koo, M. S., & Long, D. J. (2019). Feeding Ecology of a Generalist Predator, The California Kingsnake (*Lampropeltis californiae*): Why Rare Prey Matter. *Herpetological Conservation and Biology*, 30.
- Zamora-Camacho, F. J. (2017). On the role of plant nurseries introducing *Indotyphlops*

*braminus* (Daudin, 1803), in Spain. *Herpetozoa*, 30, 69-72.

ZFIN. (2019). *Zebrafish Information Network, Anatomy Ontology: Ectopterygoid*.

<https://zfin.org/action/ontology/term-detail/ZFA:0000656>

Zug, G. R. (1991). Age determination in turtles. *Herpetological Circular*, 20, 28.

Zug, G. R., Wynn, A. H. & Ruckdeschel, C. (1986). Age Determination of Loggerhead Sea Turtles, *Caretta caretta*, by Incremental Growth Marks in the Skeleton.

*Smithsonian Contributions to Zoology*, 427.

<https://doi.org/10.5479/si.00810282.427>