

Metodické problémy při určování stáří hlodavců na základě hmotnosti očních čoček

Methodical problems in the age identification of rodents on the base of the eye lens weight

Eva JÁNOVÁ¹, Marta HEROLDOVÁ², Josef BRYJA² & Emil TKADLEC³

¹ Katedra zoologie a ekologie, PřF MU Brno, Kotlářská 2, 611 37 Brno

² Ústav biologie obratlovců AV ČR, Květná 8, 603 65 Brno

³ Katedra ekologie a životního prostředí, PřF UP Olomouc, tř. Svobody 26, 771 46 Olomouc

došlo 18. 6. 2003

Abstract. Determination of age based on eye lens mass is a commonly applied method in small mammals. Published papers are focused mostly on removing eyes from freshly killed animals. In practice, animals are usually frozen first and the removal of lenses, followed by fixation, is postponed to be done later according to time conditions. The aim of this paper is to describe some methodological problems in age identification using the eye lens weight in the cases when lenses were frozen before dissection and when the lens weight was affected by the fixative. Another question was sex dependence of the eye lens weight. It was found that when using frozen eye lens, the slope of calibration curve was statistically significant, therefore, this method is available for age determination. A faster growth of lens was recorded in males than in females. The weight of lens, especially the dry one, correlated with body measures, most strongly with body length. Differences in weight between the two lenses were low, so it was possible to use one lens weight multiplied by two in the model. Both frozen and unfrozen lenses lost their weight (9.21% on average) after fixation in 10% formalin. The length of fixation had no effect on lens weight. In frozen lenses, fluctuations in weight during the whole process were similar to those recorded in lenses which were processed immediately after killing. As a conclusion, authors using this method are advised to appoint their own calibration curve established from the population under study. All material used within one study should be processed under the same conditions, especially as to the length of storage in fridge, the length of fixation and temperature of drying.

ÚVOD

Určování stáří podle hmotnosti oční čočky je v zoologické praxi zejména u drobných savců standardně používanou metodou (HLAVÁČ 1978, HAGEN et al. 1980, THOMAS & BELLIS 1980, GURNELL & KNEE 1982, HANSSON 1983, RÓDEL 1987, QUERE & VINCENT 1989, CARRENO et al. 1990, MILLS et al. 1992, PROVENSAL & PELOP 1993, MONADIEM 1998). Při zoologickém výzkumu tuto metodu poprvé použil LORD (1959) při studiu králíka východoamerického (*Sylvilagus floridanus*) (FRIEND 1967a, b). Její nespornou výhodou je to, že je použitelná i pro starší zvířata, protože hmotnost čočky se zvyšuje v průběhu celého života, ačkoli v období růstu je rychlost růstu čočky nejvyšší a určení stáří je tedy nejpřesnější. Navíc je tato metoda lehce proveditelná a technicky nenáročná. Největší nevýhodou ovšem je, že se jedná o metodu destrukční, která je

samořejmě proveditelná pouze po usmrcení jedince. Věk odchycených jedinců neznámého stáří lze určovat výpočtem z kalibračních rovnic zvířat známého stáří získaných chovem.

Je pravděpodobně, že drobní savci narození v různých obdobích roku mají různou rychlost růstu čočky. Jarní jedinci mají zpravidla rychlejší růst čočky oproti jedincům narozeným na podzim (BEALE 1962, MARTINET & SPITZ 1971, POKROVSKIJ 1971, HLAVÁČ 1978). Na hmotnost čočky naopak zřejmě nemá vliv složení potravy (FRIEND 1967b, THOMAS & BELLIS 1980, ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA 1973). Celkově je možno konstatovat, že rychlost růstu čočky není příliš závislá na podmínkách prostředí (NABAGLO & PACHINGER 1979). Lze ovšem pozorovat rozdíly u různých populací, kdy populace v drsnějších životních podmínkách vykazuje těžší čočky, což je možná pouze dalším projevem Bergmanova ekologického pravidla o severojižním gradientu (BOTHMA et al. 1972, CONNOLLY et al. 1969).

Další proměnlivost v hmotnosti čoček může být způsobena metodicky nedodržením laboratorního protokolu. Při zpracování jsou z mrtvého zvířete vyjmuty obě oči, které jsou fixovány 10 % formalínem (nebo 5 % formalínem). Cílem fixace je vytvrzení oční struktury, které snižuje riziko poškození čočky při vyjímání z oka. Vypreparované čočky jsou pak váženy buď v tomto formalínovém stavu nebo až po vysušení do konstantní hmotnosti. Většina kalibračních křivek vznikla na základě materiálu z čerstvě usmrcených zvířat a následné fixací očí (MARTINET & SPITZ 1971, ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA 1973, KOZAKIEWICZ 1976, HLAVÁČ 1979, NABAGLO & PACHINGER 1979, HAGEN et al. 1980, THOMAS & BELLIS 1980). V praxi jsou ale zvířata často nejprve zmrazena a podle časových možností je pak provedena pitva s následným vyjmutím a fixací očí. U takto přemražených čoček může dojít k porušení vnitřní struktury v důsledku tvorby ledových krystalů a tím i k ovlivnění hmotnosti čočky (MONTGOMERY 1963 ex MORRIS 1972). Hlavním cílem této studie je dokázat, že je možno využít i čočky zamražených zvířat. Práce je založena na studiu populace hraboše polního (*Microtus arvalis*), u kterého se určování věku na základě hmotnosti očních čoček často používá (MARTINET 1966, LE LOARN 1971, MARTINET & SPITZ 1971, HLAVÁČ 1978). V této souvislosti byly formulovány následující otázky: (1) zda má hmotnost oční čočky zamražených jedinců dostatečný vztah ke stáří a jestli je tento vztah závislý na pohlaví, (2) jak těsný je vztah hmotnosti čočky těchto jedinců a tělesných rozměrů, (3) jaká je symetrie v hmotnosti obou očních čoček, (4) jaký je vztah mezi hmotností čočky fixované formalínem a suchou hmotností čočky, (5) zda lze u různě těžkých čoček fixovaných formalínem po vysušení očekávat stejný relativní úbytek hmotnosti a (6) zda fixace a její délka mají také vliv na výslednou hmotnost čoček.

MATERIÁL A METODIKA

Hraboš polní, *Microtus arvalis* (Pallas, 1778), je velmi vhodným modelovým druhem pro studium metod určování věku, neboť je to náš nejhojnější savec a věk zvířat je navíc významnou proměnnou při vysvětlování jeho víceletých populačních fluktuací (TKADLEC & ZEJDA 1998). Pro výzkum použitelnosti metody určování stáří podle hmotnosti zmražených očních čoček byli využiti jak jedinci odchycení v přírodních populacích na jižní Moravě (okolí obce Drnholec, okr. Břeclav), tak i hraboši známého věku z laboratorního chovu ÚBO AV ČR ve Studenci. Všechna usmrcená a uhynulá zvířata byla nejprve zmrazena. Podle časových možností byla provedena jejich pitva. Byla zjištěna délka a hmotnost těla každého jedince. Při pitvě byly také vyjmuty oči, které byly vloženy do polyethylenových mikrozkušavek obsahujících 10% formalín. Zde byly uchovány po dobu nejméně 3 týdny, maximálně 350 dní. Při vlastním zpracování byly z očí vypreparovány čočky, ze kterých byla odsáta přebytečná tekutina filtračním papírem, a poté byl celý pár čoček dohromady zvážen na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Tato hmotnost je nazývána formalínová. Pokud byla čočka nějakým způsobem narušena, byla z datového souboru vyřaze-

na. Pokud byla použitelná pouze jedna čočka z páru, což může být i důsledkem neúspěšného vyjmutí oka při pitvě, byla hmotnost vážené čočky násobena dvěma. Zvážené čočky byly umístěny do čistých a suchých zkumavek a sušeny při teplotě 60 °C do konstantní hmotnosti. Opakovaným vážením bylo zjištěno, že se hmotnost nemění již po 48 hodinách. Usušené čočky byly opět obě dohromady zváženy s přesností na 0,1 mg. Tato hmotnost je označována jako hmotnost sušiny či suchá hmotnost.

Z hmotnosti 239 párů čoček zamražených hrabošů známého stáří (od 20 do 766 dnů), kteří byli chováni v laboratorních podmínkách (teplota 20±2 °C, fotoperioda 12 hod., voda a speciální krmná směs pro hraboše podávána ad libitum) byla vypracována kalibrační křivka pro formalinovou hmotnost čočky. Vztah mezi formalinovou a suchou hmotností přemražených čoček byl studován na jedincích odlovených v přírodních populacích hraboše polního.

Statistická analýza dat

Hmotnosti čoček nebyly ve většině případů normálně rozloženy, neboť stáří jedinců během sezóny je značně variabilní, což je dáno zejména obdobím reprodukčního klidu v zimě, kdy není populace omlazována přílivem mladých zvířat. Korelace byly proto stanoveny Spearmanovým korelačním koeficientem r_s . Statistická významnost těchto koeficientů bylo posuzována pomocí Fisherovy transformace na normální rozložení, kdy bylo pro každý r_s stanoveno z :

$$z=1,1513 \text{ Log } [(1+r_s) / (1-r_s)]$$

Hodnoty z pro jednotlivé soubory pak mohou být porovnány:

$$z=z_1 - z_2 / \sqrt{[1/(n_1-3)+1/(n_2+3)]}$$

Pomocí tabulek normálního rozložení je pak možno zjistit statistickou významnost (p) zjištěného rozdílu. Párová data (symetrie oční čočky, vliv fixace na hmotnost čočky) byla porovnána neparametrickým Wilcoxonovým testem. Vliv pohlaví na hmotnost čoček byl analyzován pomocí všeobecných lineárních modelů (general linear models), předpokládající normální distribuci chyby a počítající parametry metodou nejmenších čtverců. Hmotnost čoček a věk zvířat byly nejdříve transformovány na přirozené logaritmy. Všechny statistické testy byly provedeny s použitím programu Statistica for Windows 6.0.

VÝSLEDKY

Vliv věku a pohlaví

Formalinová hmotnost očních čoček hraboše polního zjišťovaná v laboratorních podmínkách je významně závislá na stáří jedinců; $F_{1,237}=1703,33$; $p=0,00$ (obr. 1). Rovněž pohlaví je významným prediktorem hmotnosti čoček ($F_{1,240}=10,92$; $p=0,002$). Proto byly vypracovány rovnice pro každé pohlaví zvlášť (t je výsledkem t -testu významnosti regresního koeficientu):

samice: $\ln(\text{hmotnost čoček}) = 0,809 + 0,314 \ln(\text{stáří})$;

$$R^2=0,85; t=28,81; p<0,001$$

samci: $\ln(\text{hmotnost čoček}) = 0,536 + 0,335 \ln(\text{stáří})$;

$$R^2=0,91; t=29,67; p<0,001$$

Délka a hmotnost těla

Délka a hmotnost těla jedinců z přírodní populace významně koreluje se formalinovou i suchou hmotností čoček (tab. 1). Hmotnost sušiny oční čočky významně lépe koreluje s délkou těla než formalinová hmotnost čočky (Fischerova transformace, $z=2,86$; $p<0,01$), což nebylo potvrzeno v případě hmotnosti těla (Fischerova transformace, $z=1,724$; $p>0,01$). Délka těla významně lépe

Tab. 1. Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu a odpovídající p pro vztah mezi tělesnými rozměry a hmotností čoček

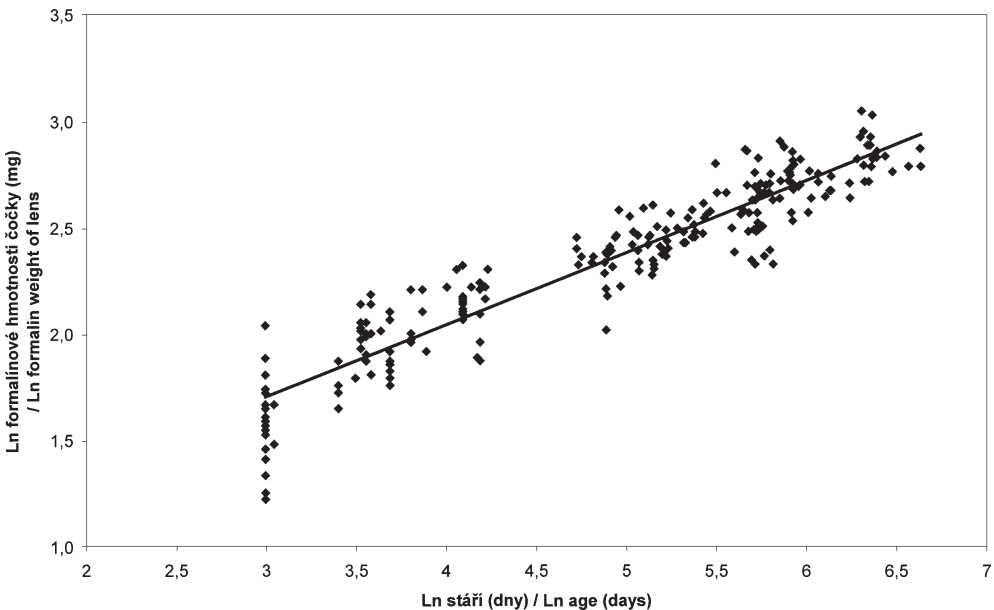
Tab. 1. The Spearman's correlation coefficient and appropriate p for the relation between the body measurements and the eye lenses weight

tělesný rozměr	measurement	r_s	p
formalínová hmotnost čoček (n = 552)	formalin lens weight		
hmotnost těla	body weight	0,230	<<0,01
délka těla	body length	0,303	<<0,01
suchá hmotnost čoček (n = 747)	dry lens weight		
hmotnost těla	body weight	0,319	<<0,01
délka těla	body length	0,423	<<0,01

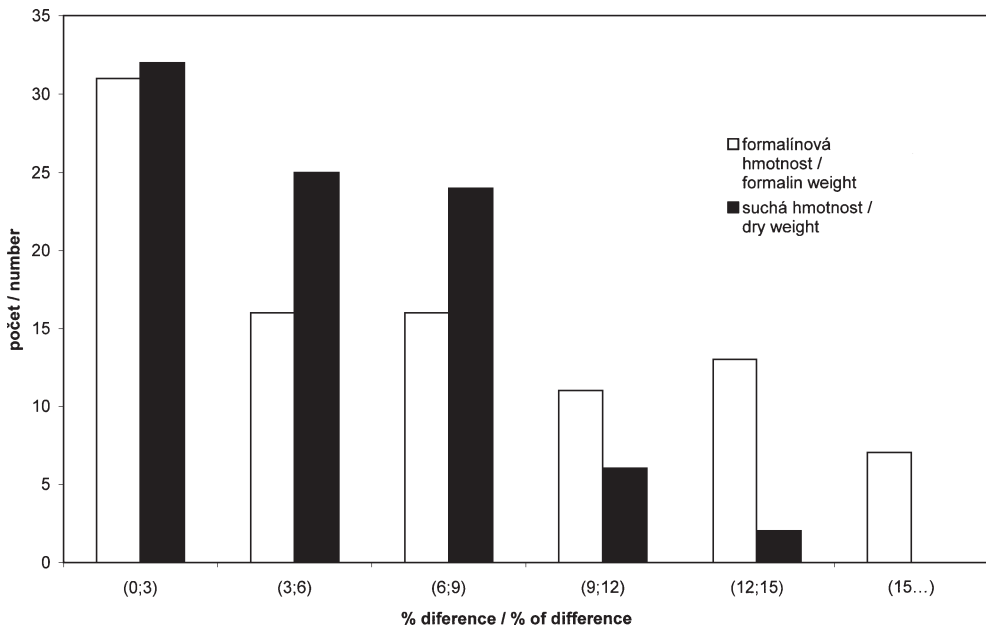
koreluje se suchou ($z=28,82$; $p<0,01$) i formalínovou hmotností čočky ($z=23,17$; $p<0,01$) než hmotnost těla a má tedy lepší predikční schopnosti. Mezi délkou a hmotností těla je nicméně velmi vysoká míra korelace ($r_s=0,925$; $p<0,01$).

Symetrie očních čoček

Rozložení procentuálních hodnot rozdílů hmotností mezi oběma čočkami téhož zvířete vykazuje nenormální rozložení. Průměrný rozdíl mezi formalínovými hmotnostmi obou čoček (obr. 2) je



Obr. 1. Kalibrační rovnice závislosti formalínové hmotnosti oční čočky na stáří u jedinců obojího pohlaví.
Fig. 1. The calibration curve of relationship between the formalin eye-lens weight and the age of animals of both sexes together.



Obr. 2. Rozložení rozdílů mezi hmotnostmi obou čoček v rámci jednotlivých párů.

Fig. 2. The distribution of differences between the weight of both eye-lenses in the frame of individual pairs (white columns – formaldehyde fixed lenses, black columns – dried lenses)

6,83 %, mediánový rozdíl je 5,88 % a maximální rozdíl je 20,28 % (n=94 párů). Hmotnosti obou čoček v páru spolu značně korelují ($r_s=0,93$; $p<0,001$). Průměrný rozdíl mezi sušinou obou čoček činil 4,08 %, mediánový rozdíl 4,65 % a maximální rozdíl byl 12,5 % (n=89 párů). Hmotnosti obou čoček spolu opět významně korelují ($r_s=0,982$; $p<0,001$).

Pokud jsou analyzovány oba procentuální rozdíly u téhož páru před a po vysušení, zjistíme, že zde je statisticky významný rozdíl mezi těmito diferencemi (Wilcoxonův test, n=82 párů; $z=7,86$; $p<0,01$). To znamená, že v rámci jednoho páru není možno odvozovat z rozdílu formalinových hmotností rozdíl mezi hmotnostmi sušiny, tedy značný rozdíl mezi čočkami ve formalinovém stavu nemusí nutně znamenat velký rozdíl v jejich sušinách.

Formalínová a suchá hmotnost čoček

Vztah mezi formalínovou a suchou hmotností čočky je lineární $y=0,4152x+0,577$; kde x = formalinová hmotnost; y = hmotnost sušiny (obr. 3), tato křivka je statisticky významná ($F_{1,659}=1260,47$, $p=0,00$). Formalinová hmotnost čoček je schopna vysvětlit 58 % proměnlivosti v suché hmotnosti čoček. Obě hodnoty spolu vždy značně korelují (n=660; $r_s=0,77$; $p<0,01$).

Úbytek hmotnosti sušením

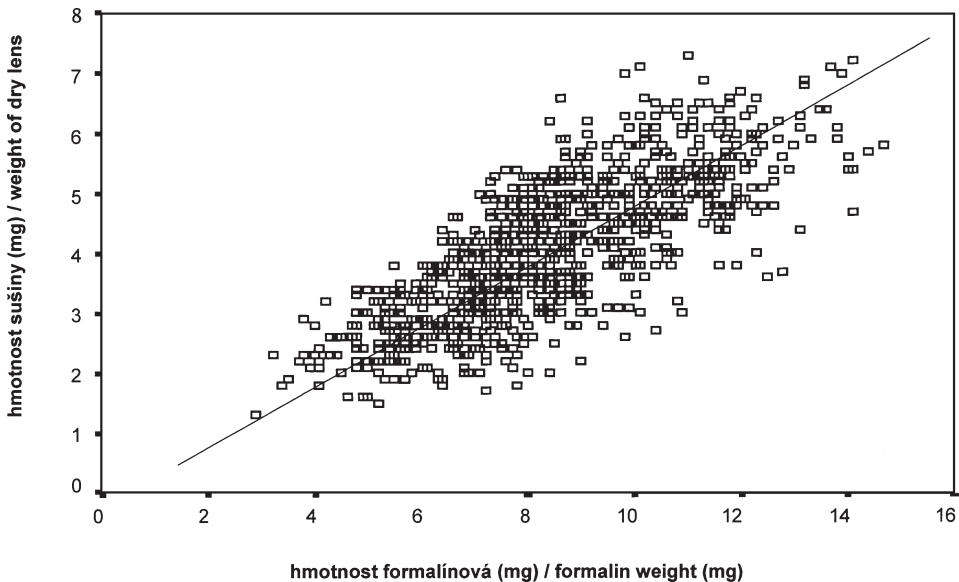
Procentuální rozdíl mezi hmotnostmi celého páru čoček před vysušením a po vysušení vykazoval normální distribuci (obr. 4). Průměrný úbytek hmotnosti sušiny oproti formalínové hmotnosti činí 50,41 %, medián 50,69 %, minimální 23,68 % a maximální 81,73 % (n=661; SD=9,3).

Vliv fixace

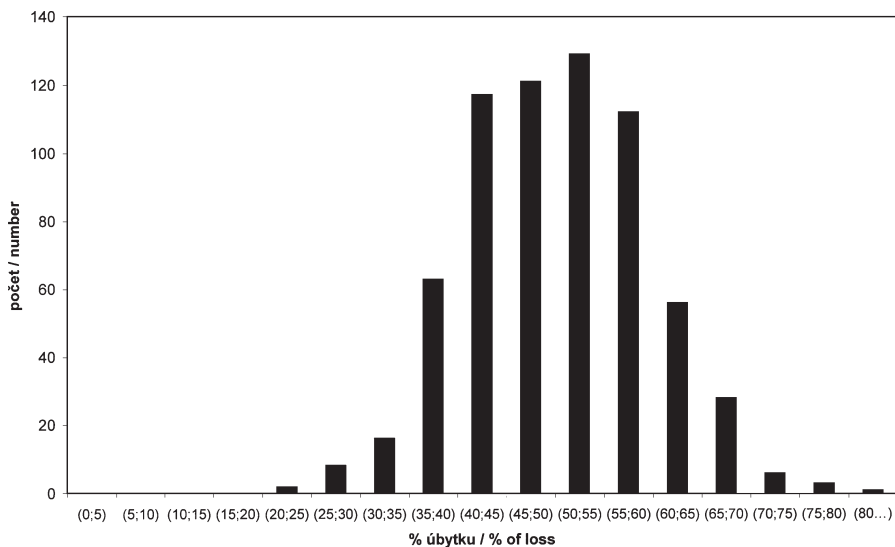
Byl testován rozdíl mezi hmotností čočky před fixací a po 30 dnech fixace. Fixací se tato hmotnost značně snížila (Wilcoxonův test, n=24; z=4,286; p<0,01), a to v průměru o 9,21 % (obr. 5). Hmotnosti před a po fixaci spolu značně korelují ($r_s=0,98$, p<0,01). Průměrná hmotnost formalinových čoček po 30 dnech fixace ($3,53 \pm se 0,721$) a po 142 dnech fixace ($3,48 \pm 0,709$) se významně nelišila (Wilcoxonův test, n=24; z=1,525; p>0,05).

DISKUSE

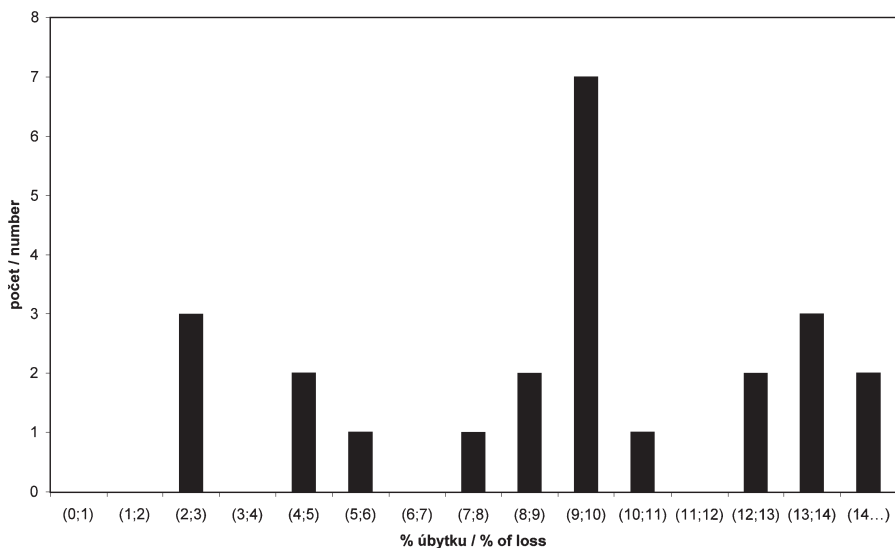
V předložené práci jsme studovali proměnlivost ve hmotnosti přemražených očních čoček u hraboše polního v závislosti na věku jedinců, pohlaví a tělesných rozměrech. Vedle míry symetrie mezi čočkami jsme rovněž sledovali vztahy mezi formalínovou a suchou hmotností přemražených čoček a také vliv délky fixace na formalínovou hmotnost těchto čoček. Na materiálu z laboratorních chovů jsme zjistili, že hmotnost očních čoček je významně závislá na stáří a pohlaví zvířat a stanovili jsme regresní rovnice pro obě pohlaví. Suchá hmotnost čoček lépe koreluje



Obr. 3. Závislost hmotnosti sušiny čočky na formalínové hmotnosti
Fig. 3. The relationship between the dry eye-lens weight and the formalin weight.



Obr. 4. Distribuce procentuálního úbytku hmotnosti čoček po vysoušení.
 Fig. 4. The distribution of the percentage decrease of the weight after the drying.



Obr. 5. Histogram procentuálních hmotnostních úbytků čoček po 30 dnech fixace v 10% formaldehydu oproti hmotnosti před fixací.
 Fig. 5. The histogram of the percentage weight of lens decreases after 30 days of fixation in 10% formaldehyd compared to the weight before the fixation.

s tělesnými mírami, zejména s délkou těla. Působením formalínu dochází k hmotnostnímu úbytku oproti nativnímu stavu. Délka doby fixace čoček formalínem však nemá vliv na výslednou hmotnost očních čoček. Vysoká korelace s věkem nám naznačuje, že hmotnost očních čoček, lze použít jako relativně přesnou metodu pro určování stáří drobných savců. Ať už pracujeme s materiálem čerstvým nebo prošlým mrazením, podstatné je, aby byl zachován jednotný metodicky postup po celou dobu experimentu. Tato metoda určení stáří je tedy oprávněně řazena mezi nejpřesnější metody určování stáří vůbec (MEAD 1967, LIDICKER & MCLEAN 1969, ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA 1973).

Byl zjištěn vliv pohlaví na formalínovou hmotnost čočky, kdy samci vykazují při stejném stáří těžší čočky. Toto bylo zjištěno v případě hmotnosti sušiny u myšice temnopásé (*Apodemus agrarius*) (ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA 1973) i u zajíce východoamerického (*Sylvilagus floridanus*) (FRIEND 1967b). Zanedbatelné rozdíly mezi růstovou rychlostí čočky mezi pohlavími byly pozorovány u pískomila Shawova (*Meriones shawi*) (RÖDEL 1987), veverky obecné (*Sciurus vulgaris*) (FISHER & PERRY 1970) a krysy mnohobradavkové (*Mastomys natalensis*) (MONADJEM 1998). Samci měli proto vzhledem k vyšší hodnotě směrnice přímky vyšší predikovatelnost hmotnosti oční čočky, a tím tedy i vyšší přesnost určení stáří.

Délka těla lépe koreluje s hmotností čoček, což je v souladu s dosud zjištěnými poznatky (GEB CZYNSKA 1964, MEUNIER & SOLARI 1972, ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA 1973). Je to zřejmě dáno tím, že ovlivnění sezónností a momentálním fyziologickým stavem zvířete není díky pevnému kosternímu základu tak velké. Naopak hmotnost těla je značně ovlivněna graviditou a zaplněním trávicího traktu. Vliv sezónnosti na hmotnost oční čočky zřejmě existuje (SCHWARZ 1967 ex HAGEN et al. 1980, POKROVSKIJ 1971, MARTINET & SPITZ 1971, HLAVÁČ 1978, MILLS et al. 1992), ale je velmi slabý (ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA 1973, NABAGLO & PACHINGER 1979) anebo podobný vlivu na růst délky těla. Následkem toho si mohou být tyto dvě růstové funkce podobnější. Za předpokladu, že hmotnost čočky má vysokou míru korelace s věkem, je možno tvrdit, že z délky těla je možno lépe odvozovat stáří než z hmotnosti těla (ZEJDA 1961).

Korelace, které jsme zjistili mezi tělesnými rozměry a hmotností sušiny, byly nižší než korelace udávané v literatuře. MEUNIER & SOLARI (1972) zjistili hodnoty 0,54 mezi hmotností sušiny a hmotností těla a 0,63 mezi sušinou a délkou těla. Citování autoři ale pracovali v laboratorních podmínkách, což se může projevit nejen odlišnou rychlostí růstu čočky (LORD 1959, 1962 ex FRIEND 1967a,b, LE BOULENGE 1977, HANSSON 1983), ale zejména odlišným věkovým složením analyzovaného souboru se širším zastoupením starších věkových tříd. Vyšší korelace sušiny s tělesnými rozměry je přirozená, neboť hmotnost sušiny je méně ovlivnitelná takovými vnějšími zásahy a podmínkami, jako jsou dokonalost vysušení tekutiny ulpívající na čočce nebo částečným vyschnutím fixativa během skladování či částečnou dekompozicí (a tedy také snížením obsahu vody) před odebráním očí zvířeti.

Zjištěné rozdíly mezi hmotnostmi přemražených očních čoček jsou značně ovlivněny přesností váhy, která měla rozlišení pouze 0,1 mg. Ovšem už odchylka 0,1 mg mezi očima činí ve formalínovém stavu u průměrného páru 2,44 % a u průměrného páru v suchém stavu dokonce 5,03 % hmotnostních procent. Tato hmotnost je také značně závislá na preparaci (osušení fixativa atd.). Z tohoto důvodu je nutno brát průměrnou diferenci 6,83 % ve formalínovém stavu a 4,08 % v suchém stavu jako nepřilíš významnou hodnotu. Rozdíl je jinak vesměs udáván pouze u čoček před preparací nepřemražených a to značně nižší, v suchém stavu 1,06 % u hraboše polního (HLAVÁČ 1978) a 3,5 % u králíka tmavoocasého (*Lepus californicus*) (CONOLLY et al. 1969). U veverky obecné (*Sciurus vulgaris*) nebyl zjištěn žádný signifikantní rozdíl (DEGN 1973), nebo rozdíl jen zanedbatelný, a to průměrně 0,44 % (BEALE 1962). Není ovšem známo, jak přesné váhy byly

při těchto studiích použity. Hodnota Spearmanova korelačního koeficientu mezi hmotnostmi sušiny obou čoček 0,982 je v souladu se studií HLAVÁČE (1978), který zjistil 0,949. Celkově lze říci, že rozdíl hmotností čoček obou očí je malý a je tedy možné při nepoužitelnosti jedné čočky dosazovat do regresních modelů hmotnost čočky druhé násobenou dvěma.

Hodnoty formalínové a suché hmotnosti čočky spolu podle očekávání významně korelují. Praktický význam tohoto vztahu je v tom, že umožňuje přímé srovnání v případech, kdy byla aplikována pouze jedna z těchto metod. Vhodné by ovšem bylo, kdyby si každý autor stanovil tento pře počítavací vztah sám pro svou použitou metodiku a podmínky. Další význam spočívá v tom, že lze získat suchou hmotnost čoček i v případech, kdy po zvážení formalínové hmotnosti dojde k nechtěné destrukci čoček. Úbytek hmotností čoček po vysoušení je normálně rozložen, což potvrzuje vhodnost metody pro praktické využití.

Čočky po fixaci mají významně nižší formalínovou hmotnost než před fixací, a to průměrně o 9,21 %. Toto snížení hmotnosti je všeobecně známo (FRIEND 1967a, b, MEAD 1967, HAGEN et al. 1980) a je způsobeno zřejmě osmotickým unikáním vody z čočky do okolního formaldehydu (FRIEND 1967a, b). Fixace by měla trvat minimálně 1 týden (LORD 1959 ex FRIEND 1967, HAGEN et al. 1980, CARRENO et al. 1990). V našem případě nebyl shledán významný rozdíl v hmotnosti po 30 dnech a po 142 dnech fixace. Nebyl shledán významný rozdíl ani mezi 1 týdenní a 4 týdenní fixací (HAGEN et al. 1980) nebo mezi 30 a 393 denním skladováním ve formaldehydu (FRIEND 1967b). Rozdíl mezi fixovanými a nefixovanými čočkami je mnohem výraznější u formalínové hmotnosti než u sušiny (FRIEND 1967b).

Určování stáří podle hmotnosti oční čočky je v praxi standardně používanou metodou. Dosa- vadní metodické práce se ovšem podrobněji zabývají zejména metodikou založenou na odebrání očí z čerstvě zabitých zvířat, zatímco ve skutečnosti se velmi často zvířata po odchytu nejprve zmrazí a až podle časových možností je provedena pitva a následně vyjmutí a fixace čoček. Změny hmotností přemrzlých čoček během metodické postupu se blíží parametrům čoček nepřemrzlých, je zde tedy zachována symetrie hmotností obou čoček v rámci páru i vztahy k tělesným rozměrům. Metoda určování stáří podle čočky prošlé zmražením je použitelná, je ovšem nutno počítat s rozdíly v růstové rychlosti čočky mezi pohlavími.

PODĚKOVÁNÍ

Poděkování patří paní Daně HAVELKOVÉ, laborantce pracoviště UBO AV ČR ve Studenci.

LITERATURA

- ADAMCZEWSKA-ANDRZEJEWSKA K. A., 1973: Growth variations and age criteria in *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771). *Acta Theriol.*, **18**: 353–394.
- BEALE D. M., 1962: Growth of the eye lens in relation to age in fox squirrels. *J. Wildlife Manag.*, **26**: 208–211.
- BOTHMA J., TEER J. G. & GATES C. E., 1972: Growth and age determination of the cottontail in south Texas. *J. Wildlife Manag.*, **36**: 1209–1220.
- CARRENO N. B., BRIGADA A. M., ROSI M. I. & CASTRO-VASQUEZ A., 1990: Estimating ages of corn mice (*Calomys musculinus*). *J. Mammal.*, **71**: 468–470.
- CONOLLY G. E., DUDZINSKI M. L. & LONGHURST W. M., 1969: The eye lens as an indicator of age in the black tailed jack rabbit. *J. Wildlife Manag.*, **33**: 159–164.
- DEGN H. J., 1973: Systematic position, age criteria and reproduction of Danish red squirrels (*Sciurus vulgaris*). *Dan. Rev. Game Biol.*, **8**: 1–24.

- FISHER E. W. & PERRY A. E., 1970: Estimating ages of grey squirrels by lens-weights. *J. Wildlife Manag.*, **34**: 825–828.
- FRIEND M., 1967: Some observations regarding eye lens weight as a criterion of age in animals. *NY Fish Game J.*, **14**: 91–121.
- FRIEND M., 1967: Relations between eye lens weight and variations in diet. *NY Fish Game J.*, **14**: 122–151.
- GEBCZYNSKA Z., 1964: Morphological changes occurring in laboratory *Microtus agrestis* with age. *Acta Theriol.*, **9**: 67–79.
- GURNELL J. & KNEE C., 1984: Determining the age of wood mice (*Apodemus sylvaticus*). *Folia Zool.*, **33**: 339–348.
- HAGEN A., STENSETH N. C., ØSTBYE E. & SKAR H. J., 1980: The eye lens as an age indicator in the root vole. *Acta Theriol.*, **25**: 39–50.
- HANSSON L., 1983: Differences in age indicators between field and laboratory small rodent populations. *Mammalia*, **47**: 371–375.
- HLAVÁČ A., 1978: *Příspěvek k určování stáří drobných hlodavců Rodentia*. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta, Brno, 80 pp.
- LE BOULENGE E., 1977: Two aging methods for muskrats: live or dead animals. *Acta Theriol.*, **22**: 509–520.
- LE LOUARN Z., 1971: Determination de l'âge par la pesée des cristallins chez quelques espèces de rongeurs. *Mammalia*, **35**: 636–643.
- LIDICKER W. Z. & MC LEAN S. F., 1969: A method for estimating age in the California vole, *Microtus californicus*. *Am. Midl. Natur.*, **82**: 450–470.
- MARTINET L., 1966: Determination de l'âge chez le campagnol des champs (*M. arvalis*, Pallas) par la pesée du cristallin. *Mammalia*, **30**: 425–430.
- MARTINET L. & SPITZ F., 1971: Variations saisonnières de la croissance et de la mortalité du campagnol des champs, *Microtus arvalis*, rôle du photoperiodisme et de la végétation sur ces variations. *Mammalia*, **35**: 38–84.
- MEAD R. A., 1967: Age determination in the spotted skunk. *J. Mammal.*, **48**: 606–616.
- MEUNIER M. & SOLARI A., 1972: Influence de la photopériode et de la qualité de la luzerne consommée sur le poids du cristallin, la longueur et le poids corporel du Campagnol des champs. *Mammalia*, **36**: 638–646.
- MILLS J. N., ELLIS B. A., CHILDS J. E., MAIZTEQUI J. I. & ASTRO-VAZQUEZ A., 1992: Seasonal changes in mass and reproductive condition of the corn mouse *Calomys musculinus* on the Argentine pampa. *J. Mammal.*, **73**: 876–884.
- MONADJEM A., 1998: Reproductive biology, age structure, and diet of *Mastomys natalensis* (Muridae: Rodentia) in Swaziland grassland. *Zschr. Säugetierk.*, **63**: 347–356.
- MORRIS P., 1972: A review of mammalian age determination methods. *Mamm. Rev.*, **2**: 69–104.
- POKROVSKIJ A. V., 1971: Seasonal changes in biological cycles in some rodents and the problem of absolute age determination. *Ann. Zool. Fenn.*, **8**: 94–96.
- PROVENSAL M.C. & POLOP J., 1993: Growth and determination of age in *Calomys musculinus* (Rodentia, Cricetidae). *Mammalia*, **57**: 245–254.
- QUERE J. P. & VINCENT J. P., 1989: Determination de l'âge le mulot gris (*Apodemus sylvaticus* L., 1758) par la pesée des cristallins. *Mammalia*, **53**: 287–293.
- RÖDEL R., 1987: Alter und Linsengewicht von *Meriones shawi grandis* (Cabrera, 1907). *Zschr. Säugetierk.*, **52**: 291–294.
- THOMAS R. E. & BELLIS E. D., 1980: An eye-lens weight curve for determining age in *Microtus pennsylvanicus*. *J. Mammal.*, **61**: 558–561.