

ESTUDIO DE LA METODOLOGÍA APLICADA PARA EL CÁLCULO DEL PESO SECO DEL CRISTALINO COMO CRITERIO DE EDAD EN LA LIEBRE IBÉRICA (*Lepus granatensis* ROSENHAUER, 1856)

ALFONSO FERNÁNDEZ¹, RAMÓN C. SORIGUER² Y FRANCISCO CARRO²

1. Joaquín Puy 5, 3ª izda. 31610 Villava (Navarra) (edualf@telefonica.net)
2. Estación Biológica de Doñana (CSIC). Avd. M^a Luisa s/n. 41013 Sevilla.

RESUMEN

Se analizó la influencia de los procesos de manipulación y fijación en el estado de conservación y en el peso final del cristalino y su uso como criterio para calcular la edad de *L. granatensis*. A modo de conclusión se propone un protocolo metodológico para su aplicación. Se analizaron 341 cristalinos procedentes de 217 ejemplares recogidos en Navarra. Se diferenciaron dos métodos de conservación: congelación previa y tratamiento en fresco; y dos estados de conservación: translucido o bien conservado y opaco o dañado. Se estudió el efecto del método de conservación en el estado de conservación y el efecto del estado de conservación en el peso seco final de los cristalinos. No se encontraron diferencias significativas entre los pesos secos de los dos cristalinos de un mismo ejemplar, independientemente del tratamiento al que fueron sometidos. La congelación tuvo un claro efecto sobre el estado de conservación de las lentes por lo que se sugiere desechar aquellas muestras que no queden translúcidas tras el proceso de fijación. Además, se encontró una correlación significativa entre el tiempo de congelación y la diferencia en peso respecto a las muestras tratadas en fresco. Sin embargo, el tiempo de fijación no influyó de forma significativa en las diferencias finales de peso obtenidas.

Palabras clave: cristalino, edad, *Lepus granatensis*, Navarra.

ABSTRACT

Study of the methodology applied to calculating dry-eye lens weight as an age criterion in the Iberian hare (Lepus granatensis Rosenhauer, 1856)

The influence of handling and preservation processes on the physical appearance and dry weight of hare's eye lenses as an age criterion was studied in *Lepus granatensis*. A methodological protocol is proposed as a conclusion. In total, 341 lenses were removed from 217 individuals collected in Navarra province. Two main storage treatments were employed: previously frozen or fresh; and two physical appearances were distinguished: shiny surface or undamaged, and dull surface or damaged. Lenses were dried and weighed following a standardised protocol and the

effect of storage treatment on the physical appearance of the lenses was studied as well as the effect of this physical appearance on the final dry weight of lenses. No significant differences in dry weight between lenses from the same individual were found regardless of whether the lens was frozen or fresh. Freezing had a clear effect on the final physical appearance of lenses, and thus we suggest rejecting those samples presenting a dull surface after the preservation process. At the same time, there was a significant correlation between the time lenses had been kept frozen and the difference in dry weight compared to those preserved fresh.

Key words: age, eye lenses, *Lepus granatensis*, Navarra.

INTRODUCCIÓN

Uno de los parámetros demográficos más importantes para entender la dinámica poblacional de cualquier especie, y especialmente de aquellas sometidas a una fuerte presión y mortalidad no natural como en el caso de la liebre, es la determinación de su estructura de edades y los procesos dependientes de ella (Stearns 1992). Conocer este parámetro, así como el sex-ratio de las poblaciones, es fundamental para poder aplicar medidas de gestión y conservación (Lucio 1996).

Sin embargo, obtener estimas de edad no es fácil ni viable en especies como la liebre ibérica puesto que, para su determinación, se hace necesario recurrir al análisis de ejemplares en mano (Sáenz de Buruaga *et al.* 2001). Es por ello que, en los planes de gestión y explotación de esta especie, se recurre preferentemente al análisis de parámetros cuantitativos como la abundancia relativa o la densidad (Lucio 1996). En todo caso hacen falta tamaños de muestra elevados para calcular la estructura de edades real de una población por lo que, contar con un método que permita la determinación rápida y fiable de este parámetro resultaría de gran ayuda.

Se han empleado múltiples métodos para determinar la edad en mamíferos (ver revisión en Morris 1972). En el caso de las diferentes especies de Lagomorfos, el interés se ha centrado principalmente en los métodos que permiten estimar la edad relativa de los individuos, distinguiendo los adultos de los juveniles (Kahuala y Soveri 2001). En ocasiones se han intentado también poner en práctica métodos de estima de edad absoluta, aunque ésta resulta considerablemente más complicada de calcular (Kovacs y Ocsenyi 1981). Los diferentes métodos utilizados han sido revisados y evaluados por diversos autores (véase por ejemplo Bujalska *et al.* 1965, Broekhuizen y Maaskamp 1979, Suchentrunk *et al.* 1991, Kahuala y Soveri 2001). De todos los métodos, el peso seco del cristalino ha sido considerado como

el más fiable y es por ello uno de los más empleados (Walhovd 1965, Andersen y Jensen 1972, Cabon-Raczynska y Raczynski 1972). Esta técnica se basa en el hecho de que el cristalino aumenta paulatinamente de peso y tamaño a lo largo de la vida siendo su masa proporcional a la edad del animal (Morris 1972). En todo caso, la tasa de crecimiento se reduce notablemente cuando se detiene el crecimiento corporal (Lord 1959) por lo que, una vez alcanzado el máximo desarrollo del animal, el uso de este criterio como indicativo de la edad absoluta debe ser tomado con precaución, siendo necesario conocer el patrón de crecimiento en peso en función de la edad para la especie en cuestión (Broekhuizen y Maaskamp 1979). Por esta razón la técnica ha sido empleada fundamentalmente como criterio cualitativo para la diferenciación de ejemplares jóvenes, cuyo desarrollo aún no ha finalizado, de adultos (ver Broekhuizen y Maaskamp 1979 y Cabon-Raczynska y Raczynski 1972).

En cualquier caso, el peso final del cristalino está fuertemente influenciado por una serie de factores metodológicos relacionados con el manejo y la conservación del mismo. Entre ellos podemos destacar: 1) el tiempo de fijación (Pelton 1970), 2) la concentración del producto empleado (Friend 1967), 3) el tiempo y la temperatura de secado (Cabon-Raczynska y Raczynski 1972), 4) el grado de descomposición que presente la muestra (Montgomery 1963, Rongstad 1966) y 5) el hecho de haber sido o no congelados previamente (Montgomery 1963, Pelton 1970).

En el presente estudio se ha tratado de hacer una evaluación metodológica de los procesos de conservación y manejo del cristalino en la liebre ibérica, estudiando la influencia que éstos pudieran tener sobre el peso final de los mismos. Finalmente, se propone un protocolo metodológico para su manejo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Número de muestras analizadas

Se analizaron un total de 341 cristalinos procedentes de 217 ejemplares de liebre ibérica, recolectados en varios acotados de caza de la provincia de Navarra entre los años 2001 y 2003 (Tabla 1). El 52% de las muestras procedían de ejemplares abatidos durante la temporada de caza y el resto se obtuvieron en el curso de un proyecto de investigación sobre las poblaciones de la especie a lo largo del año 2002.

TABLA 1

Número de ejemplares analizados (n) para cada tratamiento de conservación y número de cristalinios obtenidos a partir de ellos.

Number of hares analyzed (n) for each of the storage methods and number of lenses removed from them.

Tratamiento	n	1 cristalino	2 cristalinios	Total cristalinios
Congelados	140	78	62	202
Frescos	55	15	40	95
Cong – fresco	22		22	44
Total	217			341

Manejo de muestras

Las muestras eran tratadas en fresco o congeladas hasta su posterior análisis en el laboratorio. Según este criterio, un 65% de los cristalinios fueron congelados y un 35% fue analizado en fresco (Tabla 1). Se desecharon los globos oculares que habían sido afectados por el disparo al haberse comprobado que, en la gran mayoría de los casos, estos cristalinios son parcial o totalmente destruidos (Fernández y Soriguer 2003). En 22 casos, como parte de un ensayo de comparación de tratamientos, uno de los cristalinios de un mismo individuo se manejó en fresco mientras el otro era congelado durante un periodo comprendido entre 60 y 90 días.

En los ejemplares tratados en fresco, los globos oculares eran extraídos y fijados en Formol 10%. Cuando no era posible su manejo en fresco, la cabeza completa del animal era congelada (-20°C) hasta su posterior tratamiento. El tiempo medio de congelación fue de 64,7 días. Previamente a su fijación, las muestras eran descongeladas en un frigorífico a 4°C. La literatura indica tiempos de fijación que van desde los 7 días en algunas especies (Lord 1959) a los cinco meses en otras (Andersen y Jensen 1972). En todo caso, se recomienda la estandarización de este periodo en función de la especie de que se trate (Morris 1972). En nuestro caso, para el estudio del efecto del tiempo de fijación, se sometieron 22 pares de cristalinios a tiempos de fijación que iban de los 20 a los 89 días. Para el resto de cristalinios, el periodo mínimo de fijación fue de 7 días y el máximo de 45.

Tras la fijación, los cristalinos eran extraídos de los globos oculares con ayuda de un bisturí y pinzas, separados del humor vítreo, secados ligeramente en papel de filtro y pesados (Peso Fijado= PF). Para cada muestra se tuvo en cuenta el tratamiento de conservación empleado (congelación o fresco) y el estado de conservación en que se encontraba (translúcido u opaco). Estas dos categorías de conservación hacen referencia a la apariencia externa de la lente una vez fijada. Si no ha sufrido alteración aparece translúcida, con la superficie lisa, brillante y forma esférica. Si, por el contrario, ha sufrido algún tipo de alteración, aparece opaca, de color blanquecino apagado y con la superficie rugosa (Figura 1).

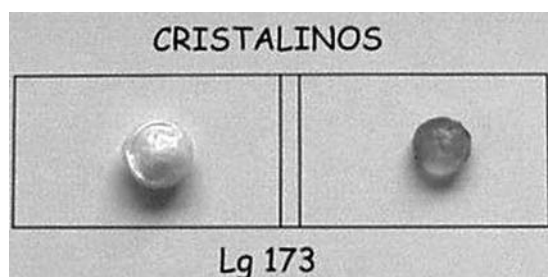


Figura 1. Estado de conservación de los dos cristalinos de un mismo individuo (Lg_173) sometidos a ambos tratamientos. A la izquierda en Fresco y derecha Congelado.

Physical appearance of both lenses from the same individual (Lg 173) subject to the two storage treatments. On the left Freshly and on the right Freezing.

A continuación, los cristalinos eran secados en una estufa a 80°C durante un periodo de 4 a 6 días (Peso Seco= PS). El secado es el proceso crítico para la determinación final del peso del cristalino (Cabon-Raczinska y Raczinski 1972). Diversos autores recomiendan diferentes tiempos y distintas temperaturas para secar lentes de Lagomorfos. Por esa razón se procedió a la realización de un ensayo de pérdida de peso en el que se determinó que el tiempo mínimo para trabajar con lentes de *L. granatensis* era de 4 días (Fernández y Soriguer 2003). Por último, los cristalinos fueron pesados en una balanza de precisión a la milésima de gramo. Dada la naturaleza higroscópica de las lentes tras el secado, éstas fueron pesadas inmediatamente tras ser sacadas de la estufa.

Análisis de las muestras

Se estudió: 1) el efecto del proceso de conservación de las muestras (Congeladas o en Fresco) sobre el estado de conservación final (Translúcido u Opaco) de los cristalinos y 2) la posible existencia de una relación entre el método de conservación de los cristalinos y el Peso Seco final (PS) de los mismos. Previamente a este análisis se trató de verificar si el peso de los dos cristalinos de un mismo individuo era el mismo. Para ello, se aprovecharon los casos en los que se disponía de los dos cristalinos del mismo ejemplar. En total se dispuso de 41 pares de cristalinos fijados en fresco y de 62 pares congelados.

Procedimientos estadísticos

La normalidad de los datos fue comprobada con el test de Kolmogorov-Smirnov. Cuando los datos no se ajustaron a un patrón normal de distribución, se empleó la transformación $\text{Log}(X+1)$ y la homogeneidad de las varianzas se analizó mediante una prueba F de dos colas (Fowler y Cohen 1999). Para valorar la diferencia entre pesos promedio de los cristalinos se empleó un ANOVA de una vía (Dytham 2003). La comparación entre promedios de las diferencias de PS y PF entre cristalinos se realizó mediante un test Z previa transformación de los datos. Los promedios de los 22 pares de cristalinos sometidos a ambos tratamientos se compararon mediante el test t de Student. Se utilizó el coeficiente no paramétrico de correlación de Spearman para verificar la existencia o no de una relación entre el número de días de congelación y las diferencias en peso entre cristalinos. Todos los test han sido realizados empleando el programa informático de análisis estadístico STATISTICA v. 6.

RESULTADOS

1. Influencia del tratamiento en el estado de conservación de los cristalinos

El 97% de los cristalinos fijados en Fresco (n=112) no sufrió ningún tipo de alteración, conservándose translúcidos a simple vista. Un 34,5% de los cristalinos congelados (n=116) sufrieron algún tipo de alteración estructural y aparecían opacos (Figura 2).

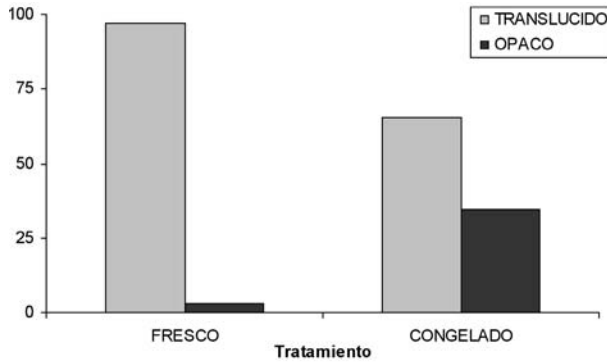


Figura 2. Estado de conservación de los cristalinos sometidos a ambos tratamientos; en Fresco (n=112) y Congelados (n=116).

Physical appearance of lenses subject to both storage treatments; Freshly (n=112) and Frozen (n=116).

2. Influencia del tratamiento en el peso de los cristalinos

No se detectaron diferencias significativas entre los pesos (PS y PF) de los cristalinos de un mismo ejemplar para ninguno de los dos tratamientos (Tabla 2). La diferencia promedio de PF entre ambos cristalinos fue del 3,9% en el caso de los fijados en Fresco, y del 9,5% cuando habían sido Congelados (test $Z = 3,85$; $p < 0,01$). Por su parte, la diferencia promedio de PS cuando eran fijados en Fresco fue del 2,06%, mientras que cuando habían sido Congelados ascendió al 6,95% (test $Z = 4,67$; $p < 0,01$).

TABLA 2

Pesos promedios (mg) de los cristalinos sometidos a los dos tipos de tratamiento de conservación; Fresco y Congelado. Se analizan las diferencias entre promedios mediante ANOVA de una vía. Se indica además el porcentaje promedio de las diferencias entre ambos cristalinos de cada par. PF: Peso Fijado, PS: Peso Seco.

Mean weight (mg) of lenses subject to both storage treatments; Freshly and Frozen. Differences between mean weights are analyzed with one way ANOVA. Mean percentages of differences in weight between both lenses of the same pair are also showed. PF: Fixed weight, PS: Dry weight

		CRIST 1	CRIST 2	F	DIF (1- 2)%
Fresco (n= 41)	PF	394 ± 110	411 ± 110	ns	3,95 ± 3,1
	PS	198 ± 64	202 ± 666	ns	2,06 ± 1,85
Congelado (n= 62)	PF	395 ± 148	436 ± 159	ns	9,55 ± 7,51
	PS	163 ± 77	174 ± 80	ns	6,95 ± 7,91

2.1 Efecto del tratamiento en el peso seco del cristalino

En el caso de los 22 pares de cristalinos sometidos a los dos tipos de tratamiento, los promedios de los cristalinos sometidos a congelación diferían del obtenido para los fijados en fresco (Tabla 3). Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas en el caso de los PF ($t= 2,37$; $p < 0,05$), pero no así en los PS finales ($t= 0,97$; ns). En este último caso la pérdida de peso promedio entre ambos cristalinos fue del 18,5%, un valor notablemente superior al observado en los anteriores casos (Tabla 2).

TABLA 3

Peso promedio (mg) de 22 pares de cristalinos sometidos a los dos tratamientos; Congelado y Fresco. Se indican los pesos PF y PS y los promedios de las diferencias entre ambos cristalinos. Se empleó un test t de student para analizar las diferencias entre promedios. PF: Peso Fijado, PS: Peso Seco.

Mean weight of 22 lens pairs subject to both storage treatments; Freshly and Frozen. Mean percentages of differences in weight between both lenses of the same pair are also showed. Differences between mean weights are analyzed with t student test. PF: Fixed weight, PS: Dry weight.

	TRATAMIENTO	PESO (mg)	DIF 1-2 (%)
PF (n= 21)	Fresco	407 ± 119	19,3 ± 7,1
	Congelado	505 ± 141 *	
PS (n= 21)	Fresco	211 ± 73	18,5 ± 1,3
	Congelado	189 ± 74	

* $p < 0,05$

2.2 Efecto del tiempo de congelación en el peso seco del cristalino

En la Tabla 4 se muestra las diferencias promedio observadas en el PS del cristalino en función del número de días que la muestra había permanecido congelada. Se observa un claro efecto del tiempo de congelación sobre las diferencias de PS, existiendo una correlación significativa entre ambas variables ($r= 0,664$; $p < 0,01$).

TABLA 4

Diferencias promedio en el PS entre cristalinos en función del tiempo que permanecieron congelados (coeficiente correlación Spearman $r= 0,066$; $p< 0,01$).

Mean difference in PS of lenses depending on the number of days maintained frozen.
($r= 0,066$; $p< 0,01$).

Días de congelación	nº casos (n= 21)	Diferencia Peso (1 – 2)
60 – 70	5	5,66%
70 – 80	9	12,8%
> 80	7	25,9%

2.3 Efecto del tiempo de fijación en el peso seco del cristalino

En la Tabla 5 se muestran las diferencias observadas en el peso del cristalino en función del número de días de fijación de las muestras. Las mayores diferencias se observan en aquellos cristalinos sometidos a 30-40 días de fijación y las menores en los sometidos a 20-30 días. Sin embargo, estas diferencias disminuyeron cuando las muestras habían sido sometidas a más de 40 días de fijación, lo que no permite determinar una relación clara entre los días de fijación y la pérdida de peso.

TABLA 5

Diferencia en el peso entre cristalinos en función del tiempo que permanecieron fijados.

Difference in weight of lenses depending on the number of days maintained in fixation.

Días de fijación	nº casos (n= 21)	Diferencia peso (1 – 2)
20 – 30	2	13,7%
30 – 40	8	23,2%
> 40	11	16,5%

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES METODOLÓGICAS

Se ha considerado que los dos cristalinos de un mismo individuo tienen el mismo peso (Lord 1959). Sin embargo, el tratamiento de los cristalinos se realiza de manera individual, lo que podría tener un efecto sobre el peso de los mismos. Nosotros hemos comprobado que no hay diferencias entre los dos cristalinos de un mismo individuo ni para el peso seco ni para el peso fijado. En todo caso, las diferencias entre los cristalinos de un mismo individuo cuando eran sometidos a congelación eran significativamente mayores que las de los que habían sido tratados en fresco.

La congelación de los cristalinos previa a la fijación puede producir cambios en su estructura física (Montgomery 1963, Pelton 1970). Este cambio morfológico es provocado por una deshidratación del humor vítreo del ojo al ser congelado, lo que finalmente provoca cambios en la estructura, el color y la forma de la lente (Montgomery 1963). Hemos comprobado este hecho, pues la estructura de las lentes se veía claramente afectada por el proceso de congelación.

Por otro lado, la influencia de este cambio estructural en el peso final del cristalino es discutido en diversos trabajos. Mientras que para unos autores la congelación no produce ningún efecto en el peso (Kauhala y Soveri 2001), para otros, es evidente la pérdida de peso seco final (Montgomery 1963, Pelton 1960). En nuestro caso se observa un efecto del tratamiento de congelación manifestado como una pérdida de peso seco final aunque las diferencias observadas no fueron significativas en relación a los cristalinos tratados en fresco, lo que implicaría la posibilidad de aplicar cualquiera de los dos tratamientos de conservación a las muestras. En todo caso, las importantes diferencias encontradas en los porcentajes de pérdida de los cristalinos congelados frente a los tratados en fresco sugieren evitar en la medida de lo posible la congelación.

Los resultados obtenidos dan una idea de la importancia que tiene el estado de conservación sobre el peso seco final del cristalino. En los casos en los que ambos cristalinos se conserven de forma translúcida, el tratamiento no tendría un efecto relevante pero cuando uno de ellos ha sufrido un cambio estructural, el efecto sobre el peso sería mucho más importante y, por tanto, debería de tenerse en cuenta.

Finalmente se propone la siguiente metodología de manejo de muestras de cristalinos:

- 1. Obtención de las muestras.** La extracción de los globos oculares debe de hacerse lo antes posible tras la muerte del animal, evitando de esta forma su degradación por descomposición. Ésta deberá hacerse con cuidado de no romper la cápsula que contiene la lente. Se recomienda desechar muestras en las que el globo ocular haya estallado como consecuencia del disparo.
- 2. Conservación de las muestras.** Se deberá de evitar la congelación de las muestras. En caso de congelación, el procesado se llevará a cabo en el menor tiempo posible.
- 3. Número.** Bastará con recoger uno de los globos oculares. No obstante, es recomendable recoger ambos por si alguno resultara dañado durante el proceso.
- 4. Fijación.** La fijación de las muestras se hará en Formol al 10%, manteniéndolas un numero estándar de días que no será inferior a 7 días en el caso de *Lepus granatensis*.
- 5. Extracción.** Una vez fijado el globo ocular, y con ayuda de pinzas y bisturí, se extraerá de su interior el cristalino. Se determinará de forma visual el estado de conservación en el que ha quedado la lente. Se recomienda desechar aquéllos que aparezcan opacos.
- 6. Secado.** Se realizará en una estufa a 80° durante un mínimo de 4 días.
- 7. Pesado.** Se realizará inmediatamente después de sacar los cristalinos de la estufa, empleando una balanza de precisión.

AGRADECIMIENTOS

Quisiéramos agradecer sinceramente la ayuda prestada por todas las personas que han colaborado en la recogida de muestras para la realización de éste estudio, especialmente a la Guardería de Medio ambiente del Gobierno Foral de Navarra.

REFERENCIAS

- ANDERSEN, J. Y B. JENSEN (1972). The weight of the eye lens in the European hares of known age. *Acta Theriologica*, 17 (8): 87-92.
- BROEKHUIZEN, S. Y F. MAASKAMP (1979). Age determination in the European hare (*Lepus europaeus*) in the Netherlands. *Zeitschrift fur Säugetierkunde*, 44: 162-175.
- BUJALSKA, G., K. CABON-RACZYNSKA Y J. RACZYNSKI (1965). Studies on the European hare. VI. Comparison of different criteria of age. *Acta Theriologica*, 10 (1): 1-10.
- CABON-RACZYNSKA, K. Y J. RACZYNSKI (1972). Methods for determination of age in the European hare. *Acta Theriologica*, 7: 75-86.

- DYTHAM, C. (2003). *Choosing and using statistics: A Biologist's guide*. 2º edition, Blackwell publishing, University of York, Oxford, 248 pp.
- FERNÁNDEZ, A. Y R. SORIGUER (2003). *Estudio de los principales factores que determinan la abundancia de las liebres (*Lepus granatensis* y *Lepus europaeus*) en Navarra*. CSIC-Gobierno de Navarra. Informe inédito. 452 pp.
- FOWLER, J Y L. COHEN (1999). *Estadística básica en Ornitología*. SEO/Birdlife, Madrid. 144 pp.
- FRIEND, C. (1967). Some observations regarding eye lenses weight as a criterion of age in animals. *New Zealand Journal of Ecology*, 14 (2): 92-121.
- KAHUALA, K. Y T. SOVERI (2001). An evaluation of methods for distinguishing between juvenile and adult hares *Lepus timidus*. *Wildlife Biology*, 7 (4): 295-300.
- KOVACS, G. Y M. OCSENYI (1981). Age structure and survival of a European hare population determined by periosteal growth lines. Preliminary study. *Acta Oecologica*, 2 (3): 241-245.
- LORD, R. D. (1959). The lens as an indicator of age in cottontail rabbits. *Journal of Wildlife Management*, 23 (3): 358-360.
- LUCIO, A. J. (1996). Planes Técnicos de caza. Pp: 161-180. *Curso de Gestión y Ordenación Cinegética*. Ed. Colegio Oficial de Biólogos, Granada.
- MONTGOMERY, G. (1963). Freezing, decomposition and racoon lens weights. *Journal of Wildlife Management*, 27 (3): 481-483.
- MORRIS, P. (1972). A review of mammalian age determination methods. *Mammal Review*, 2 (3): 69-104.
- PELTON, M. (1970). Effects of freezing on weights of cottontail lenses. *Journal of Wildlife Management*, 34 (1): 205-207.
- RONGSTAD, O. J. (1966). A cottontail rabbit lens growth curve from southern Wisconsin. *Journal of Wildlife Management*, 30 (1):114-121.
- SÁENZ DE BURUAGA, M., A. LUCIO Y F. PURROY (2001). *Reconocimiento de edad y sexo en especies cinegéticas*. Ed. Edielsa, León.
- STEARNS, S. C. (1992). *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford. 249 pp.
- SUCHENTRUNK, R., R. WILLING Y G. B. HARTL (1991). One eye lens weights and other criteria of brown hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 56: 365-374.
- WALHOVD, H. (1965). Age criteria of the mountain hare (*Lepus timidus*) with analyses of age and sex ratios, body weights and growth in some Norwegian populations. *Papers of the Norwegian State Game Research Institute*, 22: 1-57.