

Ocena wiarygodności rodowodów koni rasy huculskiej z wykorzystaniem analiz mitochondrialnych

Aleksandra Błaszczak¹, Bogusława Długosz², Grażyna Polak¹, Monika Stefaniuk-Szmukier³

¹Zakład Ochrony Bioróżnorodności Zwierząt Gospodarskich i Hodowli Koni, Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy, Balice k. Krakowa

²Katedra Rozrodu, Anatomii i Genomiki Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

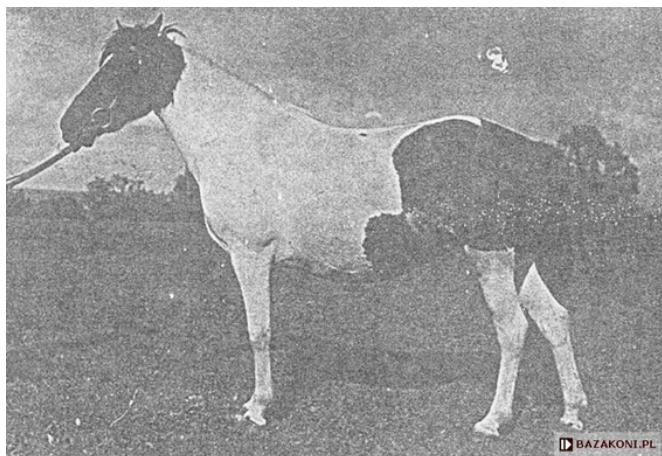
³Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Zootechniki – Państwowy Instytut Badawczy, Balice k. Krakowa

Rasa koni huculskich wykształciła się w rejonie Karpat Wschodnich, prawdopodobnie w wyniku krzyżowania się koni arabskich, tatarskich, tureckich, koni Przewalskiego, noryckich oraz innych ras orientalnych i azjatyckich. Pierwsza znana wzmianka o koniach tej rasy pochodzi z 1603 roku i znajduje się w dziele „Hippica” Krzysztofa Dorohostajskiego, w którym określono je jako doskonałe konie górskie, dobrze przystosowane do trudnych warunków środowiskowych [19]. Po II wojnie światowej w państwowej hodowli zachowały się jedynie trzy klacze i dwa ogiery. W celu odbudowy populacji sprowadzono do Polski w ramach rewindykacji 12 klaczy i ogiera z Węgier, a dodatkowo udało się odnaleźć sześć klaczy będących w rękach prywatnych hodowców, choć w większości bez pełnej dokumentacji hodowlanej [12].

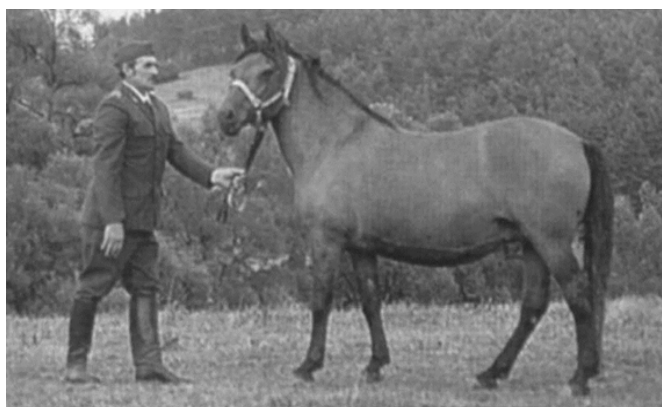
W 1994 r. została założona Międzynarodowa Federacja Konia Huculskiego (HIF) zrzeszająca hodowców z 8 krajów: Polski, Węgier, Słowacji, Austrii, Rumunii, Czech, Niemiec i Ukrainy. Organizacja ta upoważniła Polskę do prowadzenia księgi stadnej oraz określania zasad selekcji, hodowli i standardów rasowych obowiązujących w państwach Unii Europejskiej [17].

Konie huculskie należą do najstarszych ras koni występujących w Polsce i są jednocześnie zagrożone wyginięciem. Z tego względu zostały objęte Programem Ochrony Zasobów Genetycznych (POZG), którego celem jest zachowanie różnorodności genetycznej zwierząt gospodarskich [9]. W polskiej populacji koni rasy

huculskiej wyróżnia się obecnie 14 historycznie ukształtowanych linii żeńskich oraz 7 linii męskich, stanowiących podstawę krajowego programu hodowlanego tej rasy [18]. W zootechnice pojęcie „rodziny” odnosi się do potomstwa wywodzącego się od określonej klaczy [1]. Wśród 14 linii żeńskich koni rasy huculskiej wyróżnia się rodziny klaczy: Agatki, Bajkałki, Czeremchy, Wrony, Gurgul, Jagody (Góralki Nowosądeckiej), Laliszki, Nakonecznej, Wołgi, Polanki, Sroczi, Sekundy (Żyrki), Wydry i Redy (Fot. 1-4). W I tomie Khc wymieniono tak-



Fot. 1. Klacz Pisanka po Jeleń II od Agatka urodzona w 1940 r. [2]

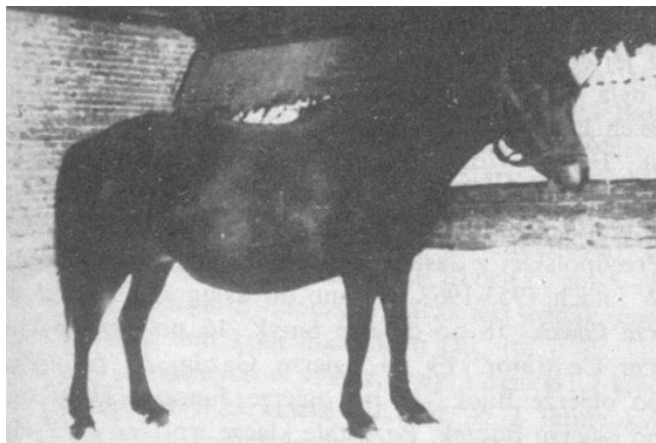


Fot. 2. Klacz Gurgul V-23 po Gurgul V od Goral Xi-6 urodzona w 1974 r. [2]

że trzy klacze – Cyrłę, Gostkę i Kukulkę – które zapoczątkowały własne rodziny, jednak linie te nie przetrwały do chwili obecnej [12, 14, 19].

Informacje źródłowe o klaczach-założycielkach rodzin są bardzo ubogie [3, 14, 19]:

- klacz Agatka, maści srokatej. Przypuszcza się, że mogła być córką ogiera Góral, pochodzącego z Austro-Węgier. Jej pierwsze źrebię urodziło się w roku 1940 r.;
- klacz Bajkałka, wyhodowana w hodowli Stanisława Koziola, przyszła na świat w 1944 r.;
- klacz Czeremcha, prawdopodobnie wywodząca się z rasy konik czarnomorski, urodziła się w 1941 r. w ZSRR, później własność Stadniny Koni (SK) Racot;
- trzy klacze: Wrona (ur. 1934 r.), Wołga (ur. 1936 r.) i Wydra (1929 r.) pochodziły z Węgier. Po II wojnie światowej sprowadzono je do Polski w ramach rewindykacji i ulokowano w Kwiliczu, choć nie posiadały pełnej dokumentacji rodowodowej;
- klacz Jagoda, urodzona w 1937 r. w hodowli Jakuba



Fot. 3. Klacz Nakoneczna, założycielka rodziny urodzona w 1934 r. [2]



Fot. 4. Klacz Pastuszka po Goral-12 od Polanka urodzona w 1930 r. [2] Nakoneczna, założycielka rodziny urodzona w 1934 r.

Twardowskiego, była zimbredowana na klacz Góralkę Nowosądecką, obecną w rodowodzie zarówno po stronie ojca, jak i matki;

- klacz Laliszka, ur. w 1945 r., pochodziła z hodowli Stanisława Stawiarskiego. Istnieje podejrzenie, że w jej rodowodzie występowały konie małopolskie;
- klacz Nakoneczna ur. w 1934 r. w SK Łuka, trafiła w późniejszym okresie do SK Racot;
- klacz Polonina była matką klaczy Polanka i babką klaczy Pastuszka z hodowli Stanisława Mencla;
- klacz Sroczka (ur. 1947 r.) pochodziła z powiatu nowosądeckiego i również mogła mieć w rodowodzie konie małopolskie;
- klacz Gurgul V-23, urodzona w 1974 r. w SK Topolczanki na Słowacji, sprowadzona w 1984 r. do SK Siary posiadała pełną dokumentację do trzeciego pokolenia, a jej linia ojcowska sięgała aż 1871 r. do ogiera Miszka;
- klacz Żyrka dała początek rodzinie poprzez córkę Sekundę urodzoną w 1956 r.;
- klacz Reda, której rok urodzenia nie jest znany, urodziła pierwsze źrebię w 1961 r.

Linie wywodzące się od dwóch ostatnich klaczy przez wiele lat utrzymywane były wyłącznie w hodowlach prywatnych [3, 14, 19].

Ze względu na to, że rodziny żeńskie w rasie huculskiej określane są na podstawie pochodzenia od klaczy założycielki, kluczowe znaczenie dla oceny ich rzeczywistego pochodzenia ma analiza markerów przekazy-

wanych wyłącznie w linii matecznej. Markery te stanowią mitochondrialne DNA (mtDNA), obecne w wielu kopiach w każdej komórce. MtDNA cechuje się wyższym poziomem zmienności niż genom jądrowy, stanowiąc precyzyjne narzędzie do identyfikacji haplotypów, rekonstrukcji relacji filogenetycznych oraz weryfikacji poprawności zapisów rodowodowych. W populacjach objętych programami ochrony, takich jak konie huculskie, w których linie żeńskie wywodzą się od kłaczy o niepełnej lub niepewnej dokumentacji historycznej, analiza mtDNA umożliwia nie tylko dokładne określenie zróżnicowania matecznego, lecz także ujawnienie potencjalnych błędów w księgach stadnych oraz ocenę stopnia zachowania unikalnych zasobów genetycznych [16]. W poprzednich badaniach dotyczących koni rasy huculskiej analiza mtDNA została wykorzystana do oceny zgodności zapisów rodowodowych z rzeczywistym pochodzeniem w liniach żeńskich. Pomimo istnienia 14 formalnie uznanych linii, w badanej próbie zidentyfikowano 17 odrębnych haplotypów mtDNA, co wskazuje na obecność błędów w rodowodach oraz możliwe nieprawidłowe przypisanie części osobników do poszczególnych rodzin [4]. Wyniki te podkreśliły potrzebę szczegółowej analizy dostępnych informacji.

Celem niniejszej pracy była weryfikacja wiarygodności rodowodów koni rasy huculskiej poprzez analizę zgodności formalnie wyróżnionych linii żeńskich ze strukturą haplotypową mitochondrialnego DNA [4] oraz identyfikacja ewentualnych rozbieżności między zapisami w księgach stadnych a rzeczywistym pochodzeniem genetycznym. Dodatkowym celem badań było określenie filogenetycznego umiejscowienia polskich rodzin matecznych na tle innych populacji europejskich koni huculskich.

Materiał i metody

Dane rodowodowe

Do analiz rodowodowych wykorzystano dane z Księgi Stadnej Koni Huculskich (Khc) oraz internetowej bazy Polskiego Związku Hodowców Koni [3], obejmującej konie zaliczane do 7 linii męskich i 14 polskich linii żeńskich. Pomimo obserwowanego wzrostu liczebności, populacja pozostaje stosunkowo nieliczna, zwłaszcza w odniesieniu do nierównomiernego rozmieszczenia kłaczy w poszczególnych liniach żeńskich, co uzasadnia kontynuację działań ochronnych. Z ksiąg stadnych wyłączono kłacze nienależące do 14 uznanych polskich linii żeńskich. Ostatecznie zebrano dane rodowodowe dla ponad 8000 kłaczy urodzonych w latach 1930-2022.

Dobór koni do analizy mitochondrialnej

Analizy przedstawione w niniejszej pracy przeprowadzono na sekwencjach mitochondrialnego DNA (region D-loop) uzyskanych uprzednio dla polskich kłaczy rasy huculskiej

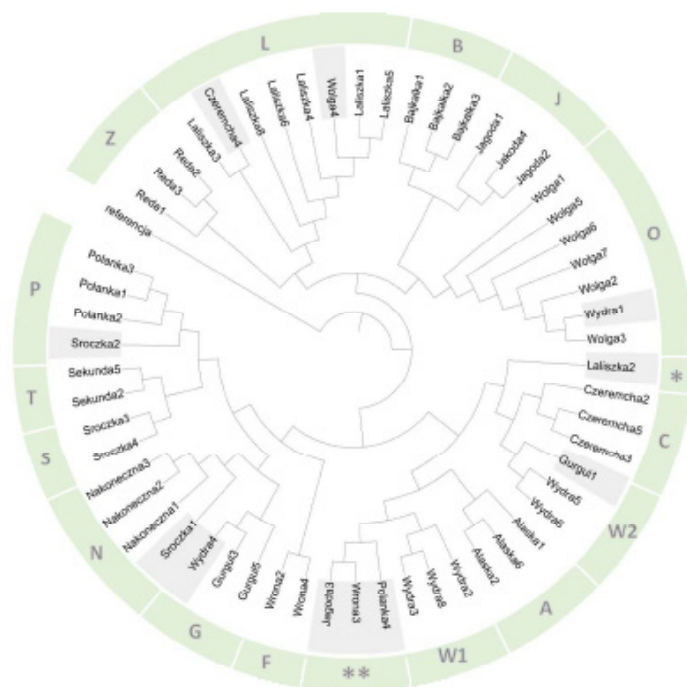
i opublikowanych przez Błaszczak i wsp. [4]. Procedury laboratoryjne, obejmujące izolację DNA, reakcje PCR oraz sekwencjonowanie, zostały szczegółowo opisane we wspomnianej publikacji.

W niniejszym opracowaniu sekwencje mtDNA uporządkowano do odpowiednich rodzin na podstawie rodowodów, a następnie porównano uzyskaną strukturę haplotypową z podziałem na linie żeńskie określone w POZG. Pozwoliło to na identyfikację ewentualnych niezgodności pomiędzy zapisami w księgach stadnych a rzeczywistym pochodzeniem oraz ocenę stopnia zmienności pierwiastka żeńskiego w badanej populacji. Ponadto, w celu określenia filogenetycznego umiejscowienia polskich rodzin na tle innych populacji europejskich, wykorzystano dostępne w bazach danych sekwencje mtDNA jako materiał porównawczy [7, 11, 13].

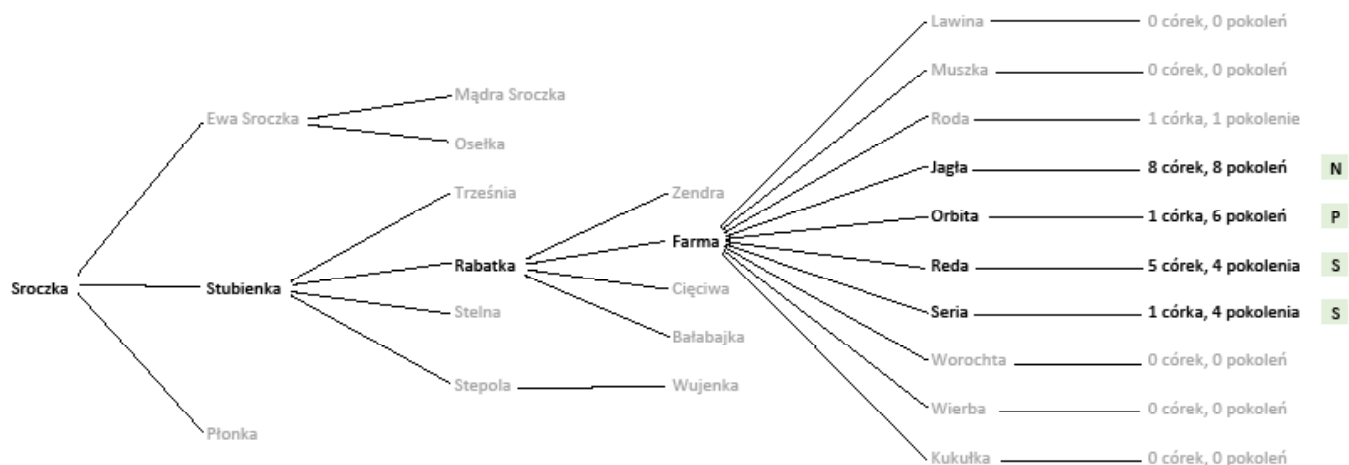
Wyniki i dyskusja

Weryfikacja pochodzenia rodzin

W celu zweryfikowania poprawności rodowodów koni rasy huculskiej, reprezentujących 14 rodzin, przeprowadzono porównanie danych z profilami mitochondrialnymi opublikowanymi wcześniej przez Błaszczak i wsp. [4]. Analiza ujawniła, że u 11 koni (spośród badanych 57 koni) wystąpiły rozbieżności między deklarowaną w rodowodzie rodziną żeńską a rzeczywistym haplotypem mitochondrialnym. Oznacza to, że 19,3% badanych osobników mogło zostać przypisanych do niewłaściwych rodzin na skutek błędów w dokumentacji hodowlanej (rodowodach).



Ryc. 1. Wyniki przedstawione w formie drzewa filogenetycznego. Wokół zaznaczono dużymi literami haplotypy dla linii żeńskich (A-Agatka, B-Bajkałka, C-Czeremcha, F-Wrona, G-Gurgul, J-Jagoda, L-Laliszka, O-Wołga, P-Polanka, S-Srocza, T-Sekunda, W1/W2-Wydra, Z-Reda). Nazwy świadczą o przynależności rodowodowej kłaczy do danej rodziny. Haplotypy * i ** nie są zgodne z żadną z rodzin (ryc. na podstawie [4]; na licencji CC BY 4.0; zmodyfikowano)



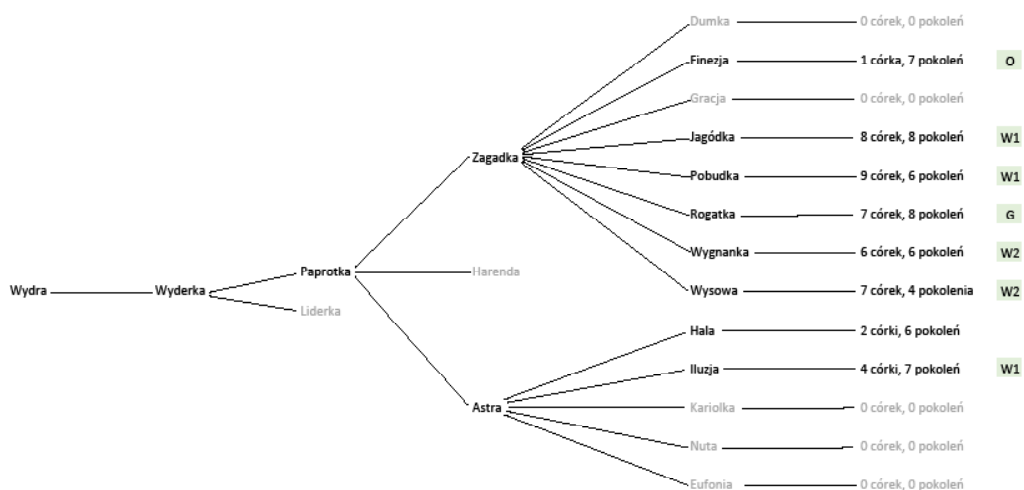
Ryc. 2. Fragment drzewa rodowodowego rodziny klaczy Sroczka. Szarym czcionką zaznaczono sublinie, które zanikły. Po prawej stronie, dużymi literami zakreślonymi na szaro zaznaczono haplotyp klaczy reprezentującej daną podrodzinę

Dalsze analizy przeprowadzono w oparciu o opublikowane wcześniej wyniki, obejmujące sekwencje mtDNA (region D-loop) klaczy rasy huculskiej [4]. Stwierdzono, że rodowodowa linia Wydry nie tworzy jednolitej grupy genetycznej, lecz dzieli się na dwie wyraźne gałęzie, obejmujące grupy po 2–3 klacze każda (Ryc. 1). Takie rozgałęzienie sugeruje, że w obrębie linii wystąpiły dodatkowe warianty mitochondrialne, które nie zostały odzwierciedlone w tradycyjnej dokumentacji rodowodowej, co daje dodatkowe 3,5–5,3% błędów.

W rodzinach klaczy Reda, Bajkałka, Wołga, Czeremcha, Agatka i Sekunda nie wykryto błędów w zapisach rodowodów. W linii Sroczki (S) dwie klacze (Sroczka 3 i Sroczka 4) pochodziły z właściwej im rodziny, jedna pochodziła z rodziny klaczy Polanka (P) i jedna z rodziny Nakoneczna (N) (Ryc. 2). Oznacza to, że w pokoleniach między klaczami Jagła ur. 1976 i Orbita ur. 1982, a 2007 rokiem, w którym wprowadzono kontrolę pochodzenia przy pomocy markerów genetycznych, doszło do błędu w zapisie rodowodu.

Najwięcej błędów można zaobserwować w rodzinie klaczy Wydra (W1/W2). Widoczne są 2 różne haplotypy w obrębie rodziny (jeden dla Wydry 2, 3 i 8; drugi dla Wydry 5 i 6), dodatkowo widoczna jest zamiana klaczy Wydra 4 i Gurgul 1 (Ryc. 1). Dodatkowo w rodzinie klaczy Wydra odnaleziono haplotypy odpowiadające klaczy Wołga (O) i Gurgul (G) (Ryc. 3).

W rodzinach klaczy Wrona, Jagoda i Polanka u jednej klaczy z każdej rodziny odnotowano haplotyp (**), które-

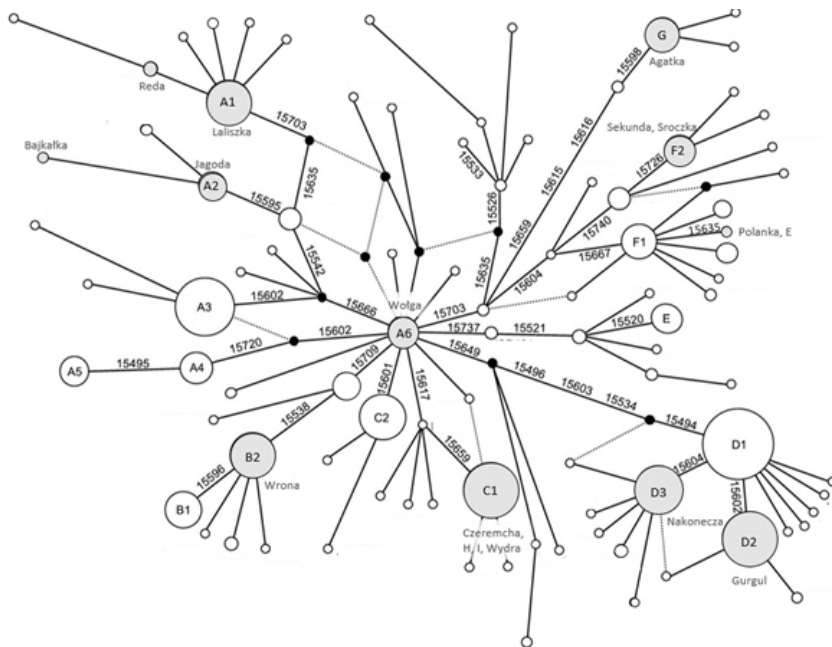


Ryc. 3. Fragment drzewa rodowodowego rodziny klaczy Wydra. Szarym czcionką zaznaczono sublinie, które zanikły. Po prawej stronie, dużymi literami zakreślonymi na szaro zaznaczono haplotyp klaczy reprezentującej daną podrodzinę

go nie udało się przypisać do żadnej z rodzin żeńskich. Może to świadczyć o wykorzystaniu klaczy z linii zagranicznej, innej rasy lub o obecności w hodowli rodzin uznawanych za wymarłe. Haplotyp charakterystyczny dla rodziny klaczy Laliszka (L) wykazywały jeszcze klacze rodowodowo przypisane do rodziny Wołgi (O) i Czeremchy (C).

Struktura haplogrup mtDNA koni huculskich w Polsce w odniesieniu do pozostałych populacji

Analiza struktury haplogrup mitochondrialnego DNA (mtDNA) koni huculskich w Polsce została przeprowadzona zgodnie z klasyfikacją haplotypów opracowaną w pracy Jansen i wsp. (2002) [10], która powstała na podstawie badań fragmentu mtDNA u koni udomowionych i dzikich, w tym pochodzących ze stanowisk archeologicznych. Badane rodziny przypisano do sześciu głównych grup pochodzeniowych: A, B, C, D, F i G (Ryc. 4). Odczytane haplotypy porównano między sobą oraz z innymi znanymi sekwencjami dostępnymi w literaturze.



Ryc. 4. Wyniki Schemat sieci filogenetycznej mtDNA koni opracowany na podstawie Jansen i wsp. [10] (edycja własna). Sieć filogenetyczną zbudowano na bazie sekwencji mtDNA 652 koni należących do 43 ras z całego świata. Grube linie wyznaczają postulowane najbardziej parsymoniczne drzewo. Poszczególne połączenia odpowiadają mutacjom w określonych pozycjach nukleotydowych mtDNA, zaznaczonych przy gałęziach. Węzeł A6 stanowi korzeń sieci, określony na podstawie grup zewnętrznych dla koniowatych. Położenie rodzin huculskich naniesiono w miejscach odpowiadających ich haplotypom, wyznaczonym na podstawie fragmentu HVR1A

Najliczniej reprezentowana w populacji polskich koni huculskich była haplogrupa A, następnie F oraz C (Tab. 1), co wskazuje na znaczną różnorodność mitochondrialną tej populacji. Podobny układ haplogrup odnotowano u koni huculskich z Czech [7], gdzie również dominowała haplogrupa A, choć z nieco wyższą frekwencją (Tab. 1).

Tab. 1. Procentowy udział linii żeńskich koni rasy huculskiej w Polsce i Czechach wg haplogrup

Haplogrupa [10]	Polska	Czechy
A	29,4%	46,6%
B	5,9%	13,3%
C	23,5%	6,7%
D	12,8%	6,7%
E	-	6,7%
F	23,5%	20,0%
G	5,9%	-

Uzyskane dane pozwoliły również na określenie pochodzenia ewolucyjnego analizowanych linii mitochondrialnych. Analiza wykazała, że sekwencje mtDNA u koni objętych niniejszym badaniem wywodzą się z okresów od późnego plejstocenu do średniowiecza, a geograficznie pochodzą z bardzo zróżnicowanych regionów: od Syberii, przez Koreę, Kazachstan, Europę (poza Półwyspem Iberyjskim), Azję Mniejszą, po Chiny i Mongolię [5].

Interesujące jest porównanie polimorfizmów we fragmencie HVR1A z dostępnymi sekwencjami koni rasy huculskiej występującymi w Czechach [7], na Słowacji, Węgrzech i w Austrii [13] (Ryc. 5). Rodzina klaczy Nakoneczna występuje poza Polską na Węgrzech i w Austrii, za to osobnik przypisany do tej rodziny pochodzący z Czech należy prawdopodobnie do rumuńskiej rodziny Aglaia, obecnej też na Węgrzech (tak jak nasza założycielka polskiej rodziny - Gurgul V-23, która miała pochodzić z tej linii [11]). Rodzina klaczy Reda całkowicie pasuje do słowackiej rodziny klaczy Dagmar, obecnej również w Czechach, co wskazuje na wspólne pochodzenie. Klacz Reda urodzona była w 1948 r. w hodowli prywatnej w Polsce, a klacz Dagmar, ur. w 1944 roku, prawdopodobnie pochodziła z krzyżowania z koniem w typie haflingera. Została wyhodowana przez hrabiego Johana Palffyho w Brezinicy w Czechach, a po II wojnie światowej trafiła do SK Topolczanki na Słowacji [14]. Rodzina klaczy Sroczka, poza Polską występuje w Czechach i na Słowacji, a rodzina klaczy Polanka na Węgrzech. Założycielka polskiej linii - klacz Wołga, która była sprowadzana z Węgier po II wojnie światowej jest zgodna z rodziną węgierskiej klaczy Kittka, zatem mogła z niej pochodzić. Konie o haplocyplu klaczy Bajkałka występują też na Słowacji i Węgrzech, jednak w dokumentacji przypisane są do rodziny klaczy Polanka. Rodzina klaczy Wydra pojawiła się także w Austrii, za to osobniki z rodzin Agatka, Laliszka, Jagoda, Wrona i Sekunda nie brały udziału w innych badaniach.

Porównując wyniki mtDNA z danymi dotyczącymi koników polskich [6], stwierdzono, że haplotypy rodzin klaczy Czeremcha oraz Agatka są całkowicie zgodne z haplotypami koników polskich we fragmencie obejmującym pozycje 15532-15826. Analiza tylko tego fragmentu nie umożliwia oddzielenia wszystkich linii koni huculskich objętych badaniem, jednak sam ten fragment jest wspólny dla koni wielu ras różnego pochodzenia.

Zgodnie z najnowszymi ustaleniami dotyczącymi pochodzenia i rozprzestrzeniania koni DOM2 – czyli przodków dzisiejszych koni, współczesne populacje wywodzą się od zwierząt zasiedlających zachodnią Eurazję w późnym IV i wczesnym III tysiącleciu p.n.e [15]. Sam proces domestykacji obejmował udomowienie co najmniej 77 klaczy [10] co stworzyło szeroką bazę klaczy-założycielek i tłumaczy wysokie podobieństwo sekwencji mtDNA pomiędzy rasami geograficznie bardzo odległymi. Badania filogenetyczne wykazały, że wiele ras – takich jak koniki polskie, konie islandzkie, exmoor, kuce szetlandzkie, kaspijskie czy achaltekińskie – grupuje się w głównym kładzie mtDNA, natomiast konie huculskie

często umieszczane są poza nim [8]. Co więcej, inne analizy wskazały, że haplotypy huculskie mogą pojawiać się w wielu różnych kładach, wykazując w zależności od wariantu większe podobieństwo do innych prymitywnych lub współczesnych ras koni [13]. Złożony układ tych relacji jest zgodny z szerszym obrazem rozprzestrzeniania



Ryc. 5. Mapa przedstawiająca porównanie wyników badań mtDNA koni huculskich z Czech, Węgier, Austrii i Słowacji. Linia ciągłą oznaczono zgodność danych, a linią przerywaną – przypadki, w których informacje rodowodowe nie pokrywały się z wynikami badań, prowadząc do właściwej genetycznie rodziny. Opracowanie własne na podstawie mapy konturowej z serwisu static.vecteezy.com/

się koni DOM2, które dopiero od ok. 2200–2000 r. p.n.e. zaczęły dynamicznie ekspandować poza pierwotny obszar stepu, stopniowo zastępując lokalne populacje i kształtując współczesną strukturę matczyną obserwowaną w wielu rasach.

Podsumowanie

W analizie 57 koni huculskich wykazano 17 haplotypów oraz łączny odsetek błędów w rodowodach na poziomie ok. 19–25%. Najwięcej rozbieżności odnotowano w rodzinach klaczy Wydra i Sroczka, natomiast linie klaczy Reda, Bajkałka, Wołga, Czeremcha, Agatka i Sekunda okazały się zgodne z zapisami rodowodowymi. W kilku przypadkach stwierdzono haplotypy nieprzypisane do żadnej z wyodrębnionych rodzin żeńskich koni huculskich, co może wskazywać na udział klaczy innych ras lub na istnienie rodzin uznawanych dotąd za wygasłe. Analiza struktury haplotypów mtDNA koni huculskich w Polsce wykazała przynależność badanych rodzin do sześciu głównych grup filogenetycznych (A, B, C, D, F i G). Najliczniej reprezentowana była haplogrupa A, co potwierdza wcześniejsze obserwacje w populacji czeskiej. Porównania z innymi krajami wskazują na liczne powiązania rodowodowe pomiędzy liniami huculskimi w Polsce, Czechach, Austrii, Słowacji i Węgrzech, a także na potencjalne błędy w zapisach rodowodowych. Zidentyfikowano rodziny o wspólnym pochodzeniu (Reda i Dagmar, Kittka i Wołga). Wyniki potwierdzają złożone i wielokierunkowe dziedzictwo mitochondrialne koni huculskich, związane z wędrówkami klaczy i mieszaniem się linii żeńskich na przestrzeni ostatnich stuleci. Uwzględnienie wyników

tego typu badań będzie kluczowe dla realizacji programu ochrony zasobów genetycznych koni huculskich, aby kontrolować realną zmienność linii żeńskich, a co za tym idzie zróżnicowaną pulę genetyczną tej rasy.

Literatura: 1. Adamik K., Bartosik A., Berger S., Chomyszyn M., Czapliski T., Figacz E., Folejewski W., Gedymin J., Gibes C., Gili J., Guderska J., Hrobni Z., Janowski T., Kaczmarek Z., Kłoczek F., Kopański R., Kossakowski J., Kotarbińska M., Kowalski Z., Kryspin R., Kwasięborski J., Leszek W., Lisiecki H., Lutyński W., Łukaszewicz K., Majer F., Nowicki B., Ocetkiewicz J., Pawlak H., Radomska M., Rudnicki A., Staniszkis O., Tarczyński S., Tarkowski W., Weysenhof K., 1965 – Zootechniczny słownik encyklopedyczny. Wydawnictwo Rolne i Leśne, Warszawa, s. 502. 2. bazakoni.pl, dostęp online 12.09.2023. 3. baza.pzhk.pl, dostęp online 13.09.2023. 4. Błaszczak A., Stefaniuk-Szmukier M., Diugosz B., Musiał A. D., Olczak K., Ropka-Molik K., 2024 – Genetic Composition of Polish Hucul Mare Families: mtDNA Diversity. *Genes (Basel)* 15(12), 1607. 5. Cieslak M., Pruvost M., Benecke N., Hofreiter M., Morales A., Reissmann M., 2010 – Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses. *PLoS One*, 5(12), e15311. 6. Cieślak J., Wodas Ł., Borowska A., Cothran E. G., Khanshour A. M., Maćkowski M., 2017 – Characterization of the Polish Primitive Horse (Konik) maternal lines using mitochondrial D-loop sequence variation. *PeerJ*, 5, e3714. 7. Czerneková V., Kott T., Majzlík I., 2013 – Mitochondrial D-loop sequence variation among Hucul horse. *Czech Journal of Animal Science*, 58, 437–442. 8. Georgescu S.E., Manea M. A., Dudu A., Costache M., 2011 – Phylogenetic relationships of the Hucul horse from Romania inferred from mitochondrial D-loop variation. *Genetics and Molecular Research*, 10, 4104–4113. 9. IZ PIB, 2022 – Program ochrony zasobów genetycznych koni huculskich. Załącznik nr 1 do Zarządzenia Dyrektora Instytutu Zootechniki PIB nr 69/22 z dnia 15 grudnia 2022. 10. Jansen T., Forster P., Levine M. A., Oelke H., Hurler M., Renfrew C., Weber J., Olek K., 2002 – Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *PNAS*, 99(16), 10905–10910. 11. Kovalčík E., Horný M., 2006 – Huculský kôň s historiou má budú nosť. 12. Księgi Stadne Koni Fjordzkich, Huculskich i Koników, tom III (1973) Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 1–68. 13. Kusza S., Priskin K., Ivankovic A., Jędrzejewska B., Podgorski T., Jávori A., Mihók S., 2013 – Genetic characterization and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. *Biological Journal of the Linnean Society* 109, 54–65. 14. Kwiecińska-Olszewska K., 2019 – Konie huculskie. Historia rasy, Stowarzyszenie Turystyki i Rekreacji Konnej „POLAN”, Boguszynek, 334–508. 15. Librado P., Khan N., Fages A., et al., 2021 – The origins and spread of domestic horses from the Western Eurasian steppes. *Nature* 598, 634–640. 16. Nunnari J., Suomalainen A., 2012 – Mitochondria: in sickness and in health. *Cell*, 148(6), 1145–59. 17. Peckiel P., 2007 – Międzynarodowe huculy. Hodowca i Jeździec, 13, online: <https://www.hij.com.pl/miedzynarodowe-huculy/>, dostęp 27.03.2024. 18. PZHk, 2022 – Program hodowlany koni rasy huculskiej. 19. Tomczyk-Wrona I., 2008 – Zasoby genetyczne i genealogia w polskiej hodowli koni huculskich. Wydawnictwo Cztery Litery, Krośnice, ss. 560.