

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra obecné zootechniky a etologie



Huculský kuň jako genová rezerva

Bakalářská práce

Autor práce: Kateřina Zemanová

Vedoucí práce: Ing. Barbora Hofmanová, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Huculský kůň jako genová rezerva" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Barboře Hofmanové, Ph.D. za poskytnuté rady, podklady a trpělivost při vedení mé bakalářské práce.

Huculský kůň jako genová rezerva

Souhrn

Úkolem této práce bylo zmapovat chov huculského koně jako genové rezervy. Huculští koně pocházejí z východní oblasti pohoří Karpat. Jsou to potomci původního lesního tarpana. Vynikají svou odolností, skromností a schopností dobře zdolávat složité terény. Tělesná stavba je obdélníkovitého tvaru. Velikost tělesných rozměrů závisí na pohlaví, místě původu, ale i na příslušnosti k jednotlivým liniím a příměsi jiných genů, například arabských nebo fjordských. Kohoutková výška se pohybuje v rozmezí 134 až 145 centimetrů. U zbarvení převažují různé odstíny hnědé, primitivním znakem koní je výskyt zebrování na nohách a tak úhořího pruhu na hřbetě.

Chovným cílem u huculských koní je upevnění typu malého horského koně. První oficiální chov huculských koní byl založen v roce 1856 v Luczině. V průběhu let byly zakládány další chovy na území Slovenska, Maďarska, Polska, Rumunska, Ukrajiny, Rakouska a České republiky. Dnes je chov na území České republiky soustředěn do pěti velkých chovů.

Zvířata se do genových rezerv zařazují především kvůli zachování ohrožených druhů a plemen. Huculský kůň byl mezi zvířata chráněná genofondem FAO zařazen v roce 1979. Velký podíl na záchraně huculských koní a jejich zařazení do genofondu FAO má organizace Hucul Club, která byla založena v roce 1972. Později, v roce 1993, byl huculský kůň prohlášen za genovou rezervu České republiky. Od roku 2000 má na starosti řízení chovu huculských koní federace chovatelů huculského koně (HIF) založena v roce 1994 v Polsku.

Genové rezervy zvířat jsou uchovány několika způsoby. Základní způsob je tak zvané uchování in situ, kdy jsou chována živá zvířata v přirozeném prostředí. Druhou možností je kryokonzervační způsob, ex situ, kdy se uchovávají vajíčka, spermie, embrya nebo tkáně.

Při sestavování přípařovacích plánů huculských klisen je potřeba brát ohled na koeficient příbuznosti a inbreedingu. Koeficient příbuznosti se stanovuje před spářením sledovaných jedinců, kdy se hodnotí rodokmeny a sleduje se výskyt příbuzných jedinců v rodokmenech. Vzhledem k malé populaci huculských koní je třeba udržovat koeficient inbreedingu v nízkých hodnotách, což se v chovu daří. Hodnota inbreedingu se pohybuje v rozmezí od 0% do maximálně 5%. Pro identifikaci jedinců, kontrolu původu a populační studie se využívá analýzy mikrosatelitů, která se provádí z krve nebo z chlupových cibulek.

Klíčová slova: Huculský kůň, genová rezerva, zbarvení, chov, biodiverzita

The Hucul horse as a gene resource

Summary

The objective of this thesis was to explore the breeding of the Hucul horse as a gene reserve. Hucul horses come from the eastern region of the Carpathian Mountains. They are descendants of the original Forest Tarpan. Hucul horses excel in resistance, undemanding character and ability to cope with difficult terrains. The shape of their body is rectangular. The size of their physical dimensions depends on sex, place of origin, but also on belonging to individual pedigrees and admixtures of other genes, e.g. from Arabian horses or Fjord horses. Height at the withers ranges from 134 to 145 centimetres. Various shades of brown dominate in their colours; a primitive feature of these horses is the occurrence of zebra stripes on the legs and a dorsal stripe on the back.

The objective of breeding of the Hucul horses is to support this type of small mountain horses. The first official breeding of the Hucul horses was established in Luczin (today's Romania) in 1856. In the course of the following years, breeding farms were established in the territory of Slovakia, Hungary, Poland, Romania, Ukraine, Austria as well as the Czech Republic. Today, breeding in the territory of the Czech Republic is concentrated in five large farms.

Animals are included in gene reserves mainly due to the protection of endangered species and breeds. The Hucul horse was included among the protected animals of the FAO gene pool in 1979. The Hucul Club organisation, founded in 1972, contributed greatly to the rescue of the Hucul horses and to their inclusion in the FAO gene pool. Later, in 1993, the Hucul horse was declared a gene reserve of the Czech Republic. Since 2000, the Hucul International Federation (HIF) founded in Poland in 1994, has been responsible for managing the breeding of the Hucul horses.

Gene reserves of animals are preserved in several ways. The basic method of preservation is "in situ" – live animals are bred in their natural environment. The second possibility is cryopreservation, "ex situ" – egg cells, sperms, embryos and tissues are preserved by cooling to very low temperatures.

When putting together the mating plans for Hucul mares, it is necessary to take into account the coefficient of kinship and inbreeding. Kinship coefficient is determined before mating of the monitored individuals, and it evaluates the pedigrees and occurrence of related individuals in the family lines. Due to the small population of Hucul horses, it is necessary to

keep inbreeding coefficient in low values, which is achieved in breeding. The value of inbreeding ranges from 0% up to a maximum of 5%. Microsatellite analysis, which is done from blood or hair bulbs, is used to identify individuals, control of origin and for studies of the population.

Keywords: Hucul horse, gene reserve, coloring, breeding, biodiversity

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.1	Původ plemene	3
3.1.1	Charakteristika plemene	3
3.1.1.1	Tělesná stavba	4
3.1.1.2	Zbarvení	5
3.1.2	Chovný cíl	6
3.1.3	Využití huculských koní	6
3.1.3.1	Využití huculských koní v minulosti	6
3.1.3.2	Využití huculských koní dnes	7
3.1.4	Chov huculských koní	7
3.1.5	Plemenná kniha huculského koně	9
3.1.5.1	Plemenná kniha hřebců	10
3.1.5.2	Plemenná kniha klisen	10
3.1.6	Selekce v chovu huculských koní	11
3.2	Genové rezervy	12
3.2.1	Důvody zařazení zvířat jako genových rezerv	12
3.2.1.1	Stupně ohrožení populace dle parametrů FAO	12
3.2.1.2	Efektivní velikost populace	13
3.2.2	Způsoby uchování genových rezerv	13
3.2.2.1	Čistě živý způsob uchování	13
3.2.2.2	Čistě kryokonzervační způsob (ex situ) uchování	14
3.2.2.3	Kombinace obou schémat uchování	16
3.2.3	Stanovení koeficientu příbuznosti a koeficientu inbreedingu	16
3.2.3.1	Koeficient příbuznosti	16
3.2.3.2	Koeficient inbreedingu	16
3.2.4	Analýzy mikrosatelitů	18
3.2.5	Zařazení huculských koní do genových rezerv ČR	19
3.2.5.1	Počet genových rezerv na území ČR	21
4	Závěr	22
5	Seznam použité literatury	23
6	Přílohy	26

1 Úvod

Huculský kůň je velmi odolné horské plemeno pocházející z východních Karpat. Pro své výborné vlastnosti byl dříve používán jako pomocník při práci v lesích, na polích, na ježdění nebo jako soumar. Během druhé světové války jeho populace výrazně početně zeslábla a tak byl v roce 1979 prohlášen organizací FAO za chráněný genofond. V roce 1993 byl pak ustanoven jako genová rezerva České republiky.

Za genovou rezervu jsou ustanoveny zvířata a rostliny, které se dostávají do ohrožení a jejich početní stavy klesají. Jejich vymření by pro svět znamenalo ztrátu cenných genetických materiálů, ztrátu rozmanitosti a v některých případech i ztrátu kulturního dědictví. Proto je zapotřebí chránit všechny zvířata a rostliny, zvláště pak ohrožené druhy.

2 Cíl práce

Cílem práce je vytvořit literární rešerši shrnující poznatky o huculském koni se zdůrazněním jeho významu jako genové rezervy.

3 Literární rešerše

3.1 Původ plemene

Původ huculských koní je i v dnešní době stále nejasný. Autoři se pouze shodují na místě původního výskytu koní, kterým je východní oblast pohoří Karpat, která se dnes nachází na hranicích Rumunska a Ukrajiny. V blízkosti této oblasti se nachází povodí řeky Prut a Czeremosz. Na vrcholcích hor kde koně volně žijí, se vyskytují louky a pastviny, které jim slouží jako zdroj potravy (Purzyc, 2007).

Skutečné předky těchto koní, však nelze s úplnou přesností označit. Leiský (2000) uvádí, že: „Huculský kůň je nejpřímějším potomkem divokého koně evropského – tarpana.“ Na genotyp koní měly vliv i války a tažení armád přes území Karpat, kdy se koně svévolně křížili s koňmi mongolských a asijských stepí (Vogeltanz and Tetzeli, 1997). V neposlední řadě se setkáváme i s názorem, že na vzniku plemene se podíleli, kromě již zmiňovaných i koně orientální. Mezi ně řadíme například arabské, maďarské, turecké a tatarské koně. Další možnou příměsí krve je krev koní nordického původu. (Purzyc, 2007).

Další nejednoznačnou záležitostí ohledně těchto koní, je odvození názvu plemene. Jedním z návrhů pojmenování je podle Rumunských horolezců, kterým se přezdívalo huculové. Pojmenování mohli být i dle Polského slova „kotzul“, což v překladu znamená pastevec. V neposlední řadě by mohl původ jména být v rumunském slově „ho-clu“, v překladu loupežník. (Kolářová, 2012; Purzyc, 2007).

3.1.1 Charakteristika plemene

Huculští koně jsou velice houževnatí a odolní horští koně (Volf, 1972). Vynikají vysokou schopností velmi dobře zvládat horský nebo jiný složitý terén díky své opatrnosti a obratnosti (Březinová a kol., 1961). Jejich předností je i skromnost, nenáročnost a vysoká odolnost vůči nemocem. Huculští koně mají živý temperament a klidnou povahu. Vyznačují se vysokou vitalitou a s tím i spojenou dlouhověkostí. Dožívají se kolem 35 let. Známý jsou i vysokou plodností (Purzyc, 2007). Jsou velice nenároční na výživu a klimatické podmínky. Velmi vydatná krmná dávka může být pro koně i škodlivá. Může způsobovat ztrátu typických vlastností, jako pracovitost, ale může docházet i k zdravotním problémům (Volf, 1972). U huculských klisen byla pozorována velmi svědomitá péče o hříbata. Neustále o svá, ale i nevlastní hříbata ve stádě pečují. Kromě dobré péče o potomstvo se klisny vyznačují i

vysokou plodností, která často přesahuje věk 22 let. I v takto pokročilém věku jsou schopna rodit zdravá, života schopná hříbata (Vogeltanz and Tetzeli, 1997).

3.1.1.1 Tělesná stavba

Huculští koně jsou méně ušlechtilí a harmoničtí koně obdélníkovitého tvaru tělesného rámce (Sambraus, 2001). Analýzou tělesných rozměrů koní se zabývali Matoušová – Malbohanová et al. (2003). Bylo zjištěno, že tělesné rozměry závisí jak na pohlaví koní, jejich věku, příslušnosti k otcovské linii, tak i na zemi původu hodnocených koní. Například výzkum ukázal, že koně z českých chovů dosahují vyšších výškových tělesných rozměrů (KVH, KVP, výška v sedle, výška v kříži, výška kořene ohonu) i vyšších šířkových rozměrů (šířka pánve přední a střední) než koně z polských chovů. Naproti tomu, huculští koně z českých chovů dosahují oproti huculům z polských chovů nižší mohutnost a kostnatosti. Menší velikost hlavy polských koní a větší výskyt strakatých koní se může přisuzovat vyššímu zastoupení arabských genů v chované populaci. Nelze ale zastoupení arabských genů v populaci určovat jen dle exteriérových vlastností koní. K určení podílů genů by bylo nutno provést analýzu genetických markerů.

Proces intenzity růstu kohoutkové výšky se liší v období po narození mláďete a se zvyšujícím věkem má klesající tendenci (Maftai et al, 2008a). Největší růst je z pravidla kolem věku 1,5 let. V první třetině života koně dosahují většinou své konečné kohoutkové výšky. Na správný růst má však velký vliv okolní prostředí, pokud nejsou podmínky optimální, následky jsou ve většině případů trvalé (Maftai et al., 2008b).

Kohoutková výška koní se pohybuje v rozmezí od 134 cm do 145 cm (Sambraus, 2001). Závisí zejména na pohlaví, kdy hřebci mají obvykle vyšší kohoutkovou výšku než klisny. Vliv zde má i příslušnost k otcovské linii. Potomci po hřebcích Pietros a Prislop vykazují vyšší kohoutkovou výšku než potomci po jiných hřebcích. (Matoušová – Malbohanová a kol. 2003). Hmotnost dospělého koně je obvykle v rozmezí mezi 380 až 450 kg (Kolářová, 2012).

Huculští koně mají poměrně těžkou, štíhlou hlavu s různými typy profilů (Purzyc, 2007). Nejčastěji se vyskytujícím profilem je rovný, následuje mírně štíčí a nejméně se vyskytujícím je profil s mírným náznakem klabonosu. Mírně štíčí profil pravděpodobně získali po své předkovi tarpanovi a je považován za nejstarší typ profilu hlavy u huculů (Dobroruka a Kholová, 1992). Obličejová část lebky je středně dlouhá vzhledem k neurokranium, čelo je široké a poměrně krátké, ale spodní čelist je dobře vyvinutá. Zuby se huculům opotřebovávají velmi pomalu, tak že odchylka při určování stáří koní se pohybuje v rozmezí 3 až 5 let.

Krk je středně dlouhý, nízko nasazený (Purzyc, 2007). U hřebců a klisen se ve vysoké tělesné kondici často vyskytuje tukový hřeben. Hřívka je kratší, ale hustá (Kolářová, 2012). Prsa jsou široká a lopatka strmá. Trup je silný, hluboký a široký s dlouhými, dobře klenutými žebry, které vytváří široký a hluboký hrudník. Kohoutek není příliš vysoký, ale je dobře tvarovaný. Hřbet mají huculští koně silný, dlouhý, rovný nebo lehce konkávní. Bedra mají dobře osvalená, silná a dlouhá. Zád' je zaoblená nebo mírně svažité, velmi silná a často přestavěná a je charakteristickým znakem horských koní (Purzyc, 2007). Ocas má vysoko nasazený a nesený, žíně jsou hrubé a silné (Harris and Swinney, 2011). Kopyta koní velmi ovlivňují využití, proto se řadí mezi nejdůležitější části těla koní (Luszczynski et al., 2007). Rohovina je velmi tvrdá a odolná (Kolářová, 2012). Díky tomu se nemusí huculští koně kovat (Georgescu et al., 2011). Pozice končetin a péče o kopyta ovlivňují tvar kopyt. Kopyta se liší tvarem i u předních a zadních končetin. Další odlišnosti jsou u sklonu, úhlu přední stěny a velikosti (Luszczynski et al., 2007).

3.1.1.2 Zbarvení

Huculští koně mají hrubší, hustou, velmi dobře izolující srst proti horskému podnebí (Kolářová, 2012). Původní nejrozšířenější barvou koní byla myšově šedá nebo tmavě šedá s tmavým pruhem na zádech a tmavými končetinami. Při křížení s jinými dovezenými koňmi se barva koní začala postupně měnit (Dobroruka a Kholová, 1992). V dnešní době jsou dominantní barvou u huculských koní odstíny hnědé, v menší míře se vyskytuje zbarvení myšák, vraník, ryzák nebo plavák (Hermsen, 2006). Stachurska et al. (2012) zkoumali populace huculských koní v Polsku a zjistili následující zastoupení zbarvení koní. Hnědá zbarvení se vyskytovalo u 51% populace. Méně často se vyskytovalo zbarvení myšáci (14,8%) nebo vraníci (4,7%). Zbytek koní mělo zbarvení ryzák nebo plavák (8%).

V posledních letech se vyskytuje u huculů i tak zvané zbarvení tobiano, bílé skvrny na těle. V Polské populaci huculských koní se vyskytovalo 21,5% koní s tímto zbarvením (Stachurska et al., 2012). Bílé skvrny se mohou vyskytovat ve spojení s libovolnou barvou a jejich umístění na těle zvířat je zcela nahodilé. Jen končetiny jsou u tobiano ve většině případů alespoň z části bílé. Bílé skvrny vznikají nedostatkem melanocytů v chlupových folikulech a kůži, u koní jsou přítomny od narození a po celý život zůstávají stejné. K tomuto zbarvení se váže i modré zbarvení oka. Barva žíní záleží na barvě okolní kůže, můžou být tedy bílé, strakaté či černé. Tobiano zbarvení se dědí jako dominantní znak (Stachurska and Jansen, 2015). I přes to, že jsou bílé skvrny pro chov a šlechtění nežádoucí, jelikož strakatost

nepatří mezi původní zbarvení huculských koní (Kolářová, 2012), u chovatelů jsou oblíbené pro jejich atraktivnost (Stachurska and Jansen, 2015).

U velkého počtu koní se přes hřbet a bedra až k ocasu táhne tmavý úhoří pruh (Kolářová, 2012). Společně s ním nebo i zvlášť se může vyskytovat tmavé zebrování na končetinách. Oba tyto znaky jsou typické pro primitivní plemena koní a tedy i hucula (Purzyc, 2007).

3.1.2 Chovný cíl

Chovným cílem u huculských koní je upevnit typ malého horského koně při dodržení ustanovení plemenného standardu. Musí být udržena dostatečná genetická rozmanitost a přiměřený stupeň koeficientu příbuznosti. Je snaha o naplnění čistokrevnosti chovu v České republice (Jelínek, 2016).

3.1.3 Využití huculských koní

Huculští koně představují víceúčelový typ koní, kteří se hodí téměř pro jakékoliv využití (Purzyc, 2007). Díky své mírné, poslušné povaze a snadné ovladatelnosti se hodí i pro méně zkušené chovatele k více druhům využití (Harris and Swinney, 2011).

3.1.3.1 Využití huculských koní v minulosti

V minulosti lidé žijící v horských oblastech podkarpatské Rusi byli prakticky závislí a pomoci svých koní. Práce s koňmi byla výsadou mužů, kteří se předbíhali ve zručnosti v práci s nimi (Vogeltanz and Tetzeli, 1997). Huculští koně byli využíváni především jako soumaři nebo jezdečtí koně. Jejich velkou předností je schopnost unést velmi těžký náklad, který může dosáhnout hmotnosti i okolo 150 kilogramů, což je téměř polovina jejich tělesné hmotnosti. I s takto velkou zátěží byli huculové schopni překonat i více jak 100 kilometrovou vzdálenost za den. Byli také využíváni jako tažní koně pro stahování dřeva z horských lesů na pily (Purzyc, 2007). V tahu byli využíváni i v zemědělství, kde pomáhali při obdělávání polí a luk nebo při přepravě materiálů (Vogeltanz and Tetzeli, 1997). Při obdělávání polí koně velice usnadňovali a urychlovali práci (Volf, 1972). Huculští koně byli využíváni ve světových válkách. Ve druhé světové válce huculy využívala rudá armáda při průniku Dukelským průsmykem. Vojenská operace sice dopadla úspěšně, ale za obět' jí padl chov huculských koní z podkarpatské Rusi (Vogeltanz and Tetzeli, 1997).

3.1.3.2 Využití huculských koní dnes

V dnešní době jsou huculští koně využíváni především jako jezdeckí koně. Jejich využití v tahu v zemědělství a v lesnictví bylo nahrazeno moderními technikami. V záprahu je můžeme vidět velice zřídka, spíše jen na výstavách nebo chovatelských akcích jako atrakci. Své uplatnění našli huculové díky své klidné povaze na dětských táborech a při výuce jízdy na koni. (Kolářová, 2012). Huculové jsou také využíváni v rekreační a horské turistice a v dnešní době velmi oblíbené agroturistice (Kolářová, 2012; Purzyc, 2007).

V roce 1976 začal Hucul Club pod vedením Prof. MUDr. Lewita, DrCs. využívat huculské koně pro hipoterapii. Tyto koně využil jako první ve střední a východní Evropě (Leiský, 2000).

Hipoterapie je jezdecký program pro lidi postižené tělesnou, mentální, sociální, behaviorální nebo s jinou poruchou. Klasická hipoterapie je používána od roku 1960 po celé Evropě dle německého modelu. V této terapii jde čistě o pohyb koně, který má vliv na klienta. Klient může být na koni umístěn buď obkročmo směrem dopředu nebo dozadu, v leže na břicho nebo na zádech. Je zde nezbytný neustálý dohled terapeuta, který má za úkol sledovat reakce klienta a v případě potřeby upravit pohyb koně. Klasická hipoterapie se uplatňuje při problémech s držení těla nebo při pohybových problémech. Mohou se však vyskytnout i účinky na dýchací soustavu a na vývoj a zlepšení řeči (Heine and Benjamin, 1997).

Na vhodnost huculů pro hipoterapii byly prováděny studie, které ukázaly, že jsou pro tuto práci velmi vhodné díky svým kladným vlastnostem, jako je klidná povaha, dobrá ovladatelnost, a tělesné stavbě (Ciešla, 2007). Dále byli vhodní pro tento účel díky své malé kohoutkové výšce (Dobroruka a Kholová, 1992).

3.1.4 Chov huculských koní

Za první zmínku o využití huculských koní můžeme považovat antické plastiky, kde jsou vyobrazeny boje římských císařů Traiana a Domitiana s karpatskými Dáky. Bojovníci z kmene Dáků jsou zde vyobrazeni v boji na meších koních velice se podobajících huculům. První písemný záznam o výskytu huculských koní provedl téměř před 400 lety Hackl. Ve své literatuře se o něm zmiňuje jako o „horském tarpanovi“ (Leiský, 2000).

Huculský kůň je jedním z prvních plemen koní chovaných na území České republiky. V hipologické literatuře je toto plemeno popsáno již v roce 1606 (Jelínek, 2004). Avšak první oficiální záznamy o chovu huculských koní sahají do poloviny roku 1800. Tehdy velící důstojník rakouského hřebčína Radovce, Martin von Herrmann vytvořil první stádo

huculských koní. Koně zakoupil v oblasti Zabie, Kossowo a Vorochta. Hřebce do chovu mu dodala provincie Rakousko-Uherského království. Jeho žádosti na zřízení pobočky chovu bylo vyhověno v roce 1856 a tak byl založen další chov huculských koní v Luczině. Chov se v Luczině nacházel na místním zámku v nadmořské výšce 981 metrů (Purzyc, 2007). Do chovu bylo dodáno deset klisen (Leiský, 2000), původem ze Sedmihradska a dva hřebci Bajdosz a Subry (Kolářová, 2012). Chov byl však v roce 1870 (Purzyc, 2007), někteří autoři uvádějí, že až v roce 1872 (Kolářová, 2012) uzavřen. Klisny z tohoto chovu byly rozprodány místním obyvatelům a hřebci byli převezeni do hřebčína Ober Wikow, který se nachází poblíž Radovce (Purzyc, 2007). Již v roce 1876 byla činnost obnovena a chov se pomalu rozšiřoval. Klisny byly nakoupeny zpět od místních obyvatel, hřebci byli dopraveni z jiných chovů. K plemenitbě zde byli využíváni dnes již vymřelé linie hřebců Stirbul, Myszka, Czeremosz nebo Taras (Leiský, 2000). Stálá snaha o nalezení nových genetických materiálů může za objevení dvou nejznámějších plemenů Hroby a Goral. Tito hřebci byli údajně objeveni ve venkovské stáji a díky naplnění očekávání chovatelů byli zařazeni do chovu (Kolářová, 2012). Jejich linie společně s dalšími hřebci Pietrosul, Gurgul nebo Oušor existují v chovech huculských koní dodnes (Leiský, 2000).

První hřebčín v tehdejší Československu byl založen v roce 1922 v Topolčankách. Celkem 15 klisen a hřebci Goral I a Hroby I sem byli dovezeni hřebčína Luczina (Kolářová, 2012). Kvůli zabránění příbuzenské plemenitby byl v roce 1925 zakoupen ve východním Slovensku hřebec Gurgul a tím byla založena jeho samostatná linie. Chov huculských koní v Topolčankách existuje nepřetržitě až do dnes (Dušek, 1992). V padesátých letech byl chov huculů rozšířen do hřebčína Muráň u Přešova. Tam docházelo k zušlechťování plemene křížením s haflingy a fjordskými poníky (Vogeltanz and Tetzeli, 1997).

Ke změně v chovu huculů došlo v roce 1972, kdy se Svaz pro ochranu přírody a krajiny „TIS“ zasloužil o založení Hucul Clubu. Jako cíl si nově vzniklý klub uložil záchranu huculských koní z hřebčína Muráň. O záchranu se zasloužily i okolní státy, jako jsou Polsko, Slovensko, Rumunsko, Ukrajina, Rakousko a Maďarsko (Kolářová, 2012). Díky působení Hucul Clubu byl huculský kůň v roce 1979 zařazen mezi zvířata chráněná genofondem FAO. V roce 1993 byl prohlášen jako genová rezerva hospodářských zvířat v České republice (Leiský, 2000).

V současné době se střediska chovu huculských koní na území České republiky nachází na pěti větších farmách. Mezi ně patří: Farma Hucul ve Vítkovicích v Krkonoších, Hucul klub Zmrzlík Praha Řeporyje, Farma Y Cunkov u Tábora, Farma Olšovka v Březí u Žinkova a Zakšín u České lípy (Kolářová, 2012). Plemenná kniha huculů v České republice je

vedena Asociací chovatelů huculského koně. Plemenná kniha je vedena dle schváleného řádu a šlechtitelského programu (Jelínek, 2016).

V současnosti jsou huculové chováni v poměrně drsných, horských podmínkách na pastvinách, často v režimu celoročního venkovního ustájení. Tyto podmínky však zvládají ve většině případů velmi dobře bez jakýchkoli zdravotních problémů (Jelínek, 2016).

3.1.5 Plemenná kniha huculského koně

Plemenná kniha huculského koně je vedena na základě zákona číslo 154/2000 Sb., o šlechtění, plemenitbě a evidenci hospodářských zvířat. Při vedení plemenné knihy jsou dále závazné stanovy asociace chovatelů huculského koně, šlechtitelský program plemene a stanovy národního programu konzervace využití genetických zdrojů pro výživu a zemědělství. Plemenná kniha je vedena za účelem cílevědomého a soustavného udržování a zdokonalování genetické úrovně populace.

Plemennou knihu huculského koně zpravuje asociace chovatelů huculského koně. Pod jejím vedením je stanoven šlechtitelský program a metody šlechtění, chovný cíl a standard plemene. Dále má za úkol registraci chovů, plemenných zvířat a jejich potomků. Zabývá se také osvědčování původu koní. V plné míře se zaslouhuje o výběr plemenných zvířat dle stanovených parametrů (Řád plemenné knihy, 2010).

Zapsání koní do plemenné knihy zahrnuje splnění výkonostních zkoušek. Výkoností zkoušky se pro plemeno huculský kůň rozděluje na dva typy, typ „A“ a „B“.

Výkonostní zkoušky typu „A“:

- I. Plemenný typ koně
- II. Exteriér koně
- III. Temperament koně
- IV. Charakter koně
- V. Přiježděnost (hodnotí se práce v kroku, klusu a cvalu, drezurní schopnosti a skokové schopnosti, u kterých se však nehodnotí styl, ale ochota ke skoku)
- VI. Distanční jízda v lehké zápřeži a ovladatelnost (distanční jízda a ovladatelnost se hodnotí samostatně)
- VII. Spolehlivost v tahu smykem (zkouška se provádí na travnaté nebo písčité dráze, tři samovolná zastavení znamenají diskvalifikaci koně)
- VIII. Mechanika pohybu (subjektivní hodnocení kroku a klusu)

Výkonnostní zkoušky typu „B“:

- a) Zkouška pod sedlem: zahrnuje část zkoušky z typu „A“ pod body I., II., III., IV., V. a VIII.
- b) Zkouška v tahu: zahrnuje část zkoušky typu „B“ pod body I., II., III., IV., VI., VII. a VIII.

(Šlechtitelský program huculského koně, 2009)

3.1.5.1 Plemenná kniha hřebců

Uznání hřebce jako plemenného a jeho zapsání, do plemenné knihy je podmíněno několika požadavky. Hřebec musí splnit dané podmínky, které se uvádí ve šlechtitelském programu (Řád plemenné knihy, 2010). Majitel hřebce musí při hodnocení doložit jeho původ po 4. generace, ve kterých musí být zachována jeho čistokrevnost. Při hodnocení exteriéru a typu musí dosáhnout minimálně 7 bodů. Stejně nejmenší bodové ohodnocení, tedy 7 bodů, musí hřebec dosáhnout i při výkonnostních zkouškách. V neposlední řadě musí úspěšně složit výkonnostní zkoušky typu „A“. Dále musí splňovat plemenný standard pro kohoutkovou výšku – hůlkovou a předepsanou sílu kostry (Šlechtitelský program huculského koně, 2009).

3.1.5.2 Plemenná kniha klisen

Do plemenné knihy klisen jsou zařazeny všechny klisny, které majitelé přihlásí k zapsání. Klisny jsou zařazovány po splnění předepsaných podmínek do jednoho ze čtyř oddílů plemenné knihy.

- a) Hlavní plemenná kniha – při zařazení klisny musí majitel doložit původ od matky a otce minimálně po 4. generace, které náleží do daného plemene a je ověřen DNA testem. Exteriérové hodnocení a hodnocení typu musí dosahovat minimální hranice 6,5 bodu. Výkonnostní zkoušku musí dosáhnout alespoň typu „B“.
- b) Plemenná kniha – majitel klisny doloží oboustranný původ nejméně po 4. generace, které náleží do daného plemene a je ověřen DNA testem. Exteriérové hodnocení a hodnocení typu klisny dosahuje nejméně 4 bodů. Dále klisna musí úspěšně absolvovat výkonnostní zkoušky nejméně typu „B“.
- c) První vedlejší plemenná kniha – oboustranný původ je doložen alespoň po 2. generace, které přísluší do stejného plemene. Exteriérové hodnocení a hodnocení typu dosahuje nejméně 3 bodů.

- d) Druhá vedlejší plemenná kniha – oboustranný původ je doložen alespoň po 2. generace, které přísluší do stejného plemene. Exteriérové hodnocení a hodnocení typu však nedosahuje 3 bodů. Ve výjimečných případech zde může být zapsána i klisna, která dosahuje více jak 3 body za exteriér a typ, ale nemá známého jednoho předka ve 2. generaci nebo tento předek pochází z jiné plemenné příslušnosti. Procentuální množství cizích plemen však nesmí překročit hranici 31,25% (Řád plemenné knihy, 2010).

3.1.6 Selektce v chovu huculských koní

Stejně jako v jiných šlechtitelských programech i u huculského koně je třeba provádět selekci jedinců, kteří by měli být zapsáni do plemenné knihy a využíváni k reprodukci. Zvláště u genetických rezerv je třeba dbát na správný výběr, aby byly zachovány kvalitní a neporušené genetické informace. K hodnocení koní a tím i k selekci koní dochází většinou při výkonnostních zkouškách hřebců i klisen. U klisen může k hodnocení docházet i při zápisu do plemenné knihy a označování hříbat.

Hlavním kritériem, které se při výběru jedinců do plemenitby zohledňuje, je původ. Ten musí být doložen nejméně po 4. generace.

Druhým bodem při selekci je posouzení exteriéru zvířat. Nejdůležitější je hodnocení plemenného typu, dále následuje tělesná stavba a pohlavní výraz. Poslední částí u hodnocení exteriéru je prostornost a pravidelnost chodů, která se hodnotí v kroku i klusu. Na závěr se udělují body za celkový dojem z hodnoceného zvířete.

Třetí částí selekce je posuzování vlastností koně. Posuzuje se především temperament, charakter, krmitelnost, zdraví, konstituční tvrdost, mechanika pohybu, pracovní ochota a vlastní výkonnost koně. Ta se zpravidla posuzuje při výkonnostních zkouškách koně.

Dalšími selekčními kritérii může být hodnocení plodnosti a dlouhověkosti v reprodukci. Zjišťují se také dědičné vady, kterou jsou naprosto nežádoucí (Šlechtitelský program huculského koně, 2009).

3.2 Genové rezervy

Po celém světě stále ubývá mnoho druhů zvířat. Ve většině případů má vliv na úbytek druhů zvířat na Zemi člověk. Proto je celosvětově snaha o záchranu každého ohroženého druhu zvířat. Jednou z možností ochrany je zařazení do genetických rezerv živočišných zdrojů (Jakubec a kol., 2012).

3.2.1 Důvody zařazení zvířat jako genových rezerv

Zařazení zvířat do genových zdrojů může být provedeno z několika důvodů. Ve vyspělých zemích, jsou nejdůležitějšími kritérii pro zařazení zvířat do genových zdrojů především zachování ohrožených plemen, ať už z důvodů tradic chovu nebo kulturní hodnoty živočichů. Ztráta typických plemen může pro některé kultury znamenat ztrátu identity, typické pro dotyčnou komunitu a také ztrátu součásti lidského dědictví. Rozmanitost zvířat je i nedílnou součástí životního prostředí a její ztráta by zvýšila nestabilitu a riziko neschopnosti reagovat na změny v prostředí. Zachování a rozvoj adaptovaných plemen je nesmírně důležité i pro zajištění potravin. V neposlední řadě by měla být rozmanitost domácích zvířat chráněna pro vzdělávání a výzkum v oblasti genetiky, výživy, reprodukce, imunologie a adaptace na klimatické a jiné změny v prostředí (FAO, 2012).

Dle odhadů je na světě ohrožena až třetina populace savců a ptáků. V roce 1992 se v brazilském Rio de Janeiru uskutečnila konference Spojených národů. Byla zde podepsána Konvence o biodiverzitě, kterou podepsalo celkem 153 států světa (Jakubec a kol., 2012)

3.2.1.1 Stupně ohrožení populace dle parametrů FAO

Ukazatele pro stupně ohrožení populace musí být snadno měřitelné a spolehlivé. Nejzákladnějším, první ukazatelem je nízký počet zvířat. Posuzuje se většinou početní vývoj stavu populace, kterému se dává přednost před hodnocením okamžitého stavu populace. Nejčastěji se posuzuje dle počtu samic, který je brán jako rozhodující ukazatel. Kromě přímého stupně ohrožení je možné stanovit i ukazatel výstrahy, kdy se také hodnotí početní stav, který však ještě není rizikový. U hodnocení stavu ohrožení je důležité monitorovat i zvířata, která nejsou zapsána v plemenných knihách daného druhu. Zvířata mimo plemennou knihu by mohli být použiti k záchraně plemene při velmi kritické situaci plemene. Dále je třeba při hodnocení stavu ohrožení sledovat reprodukční potenciál sledované populace, kam můžeme zařadit plodnost daného druhu, generační interval a poměr samců a samic. Dle pokynů FAO jsou čtyři kategorie ohrožení. Kritický stav, ohrožení, zranitelný a stav bez

rizika. Tabulka s doporučenými kritérii FAO pro stanovená ohrožení s ohledem na reprodukční kapacitu viz příloha číslo 1 (Rámcová metodika pro Národní program uchování genetických zdrojů).

3.2.1.2 Efektivní velikost populace

Efektivní velikost populace je důležitým kritériem v populační genetice, které indikuje genetickou životaschopnost. Měla by být interpretována s ohledem na faktory, mezi které lze zařadit faktory jako je druh zvířat, struktura sledované populace a použitá metoda.

K zjištění efektivní velikosti populace na základě poměru pohlaví se využívá následující vzorec:

$$N_e = \frac{4N_s N_d}{N_s + N_d}$$

kde N_s = počet samců v populaci

N_d = počet samic v populaci

Druhou možností je zjišťování velikosti efektivní populace z individuálního zvýšení inbreedingu:

$$N_{eF} = \frac{1}{2\Delta F}$$

kde ΔF = zvýšení inbreedingu, které se vypočítá dle vzorce $\Delta F_i = 1 - \sqrt[t_i]{1 - F_i}$

kde F_i = koeficient inbreedingu sledovaného jednice

(Vostrá – Vydrová et al., 2016)

3.2.2 Způsoby uchování genových rezerv

Specifické cíle a cíle na zachování ovlivňují výběr vhodné metody pro zachování živočišných zdrojů (FAO, 2012). Způsob uchování genetických zdrojů můžeme rozdělit do třech konzervačních schémat. První je čistě živý (in situ, ex situ živě), druhy čistě kryokonzervací (ex situ) a poslední třetí je kombinace obou schémat (Jakubec a kol., 2012).

3.2.2.1 Čistě živý způsob uchování

3.2.2.1.1 In situ

V metodě In situ jsou zvířata chována v přirozeném prostředí nebo ve vytvořených náhradních systémech. Tato metoda je především o aktivním chovu populace zvířat. Rozmanitost je optimálně využita v krátkodobém horizontu a udržována v horizontu dlouhodobém. Činnosti zachování In situ zahrnují zaznamenávání výkonnostních režimů, rozvoj chovných programů a řízení genetické rozmanitosti populace (FAO, 2012).

3.2.2.1.2 Ex situ živě

Ex situ konzervací se rozumí ochrana původních biotopů, která jsou charakteristická pro daný živočišný druh. Do tohoto způsobu konzervace se dá zahrnout i zachování živých zvířat, ale i kryokonzervace (FAO, 2012).

3.2.2.2 Čistě kryokonzervační způsob (ex situ) uchování

Kryokonzervace zahrnuje sběr a hluboké zmrazení spermatu, vajíček, embryí nebo tkání živočichů pro případné budoucí využití regenerace ohrožených nebo vyhynulých zvířat a jejich šlechtění. U kryokonzervace je velmi důležitá základna, do které se zahrnuje zařízení, dostatek odborných znalostí pracovníků a hlavně finanční stránka. Náklady a dostupnost skladovacích zařízení je třeba řešit dříve, než bude tato metoda v dané populaci a v místě chovu uvedena do provozu (FAO, 2012).

3.2.2.2.1 Kryokonzervace spermií

Výběr plemenů pro uchování genetického materiálu musí provádět tak, aby byla zachována dostatečná genetická variabilita populace k tvorbě přípařovacích plánů. Je důležité zejména kvůli minimalizaci stupně příbuznosti v populaci. Nízký stupeň příbuznosti by se dal zajistit zařazením vždy jen jednoho syna do plemenitby od daného plemene.

Spermie jsou při kryokonzervaci uchovávány v podobě inseminačních dávek při teplotě -196°C v tekutém dusíku. Tato metoda je v dnešní době zcela nejrozšířenější, jelikož je to nejpraktičtější, nejspolehlivější a nejlevnější. U jednotlivých inseminačních dávek musí být kladen velký důraz na kvalitu ejakulátu, jinak by tato metoda ztrácela svůj význam. Každý ejakulát je podrobován důkladnému zkoumání. V makroskopickém zkoumání se hodnotí jeho objem, konzistence, barva, pach a cizí příměsi. Pokud ejakulát splní všechny ukazatele, je dále podroben mikroskopickému zkoumání. V něm se hodnotí aktivita spermií, vířivost pohybu a koncentrace. V poslední části se provádí biologické zkoušky ejakulátu, kde se provádí test přežitelnosti, stanovují se procenta živých a mrtvých spermií barvením a stanovuje se pH spermatu. Dle získaných parametrů se určuje poměr ředění a dávkování do inseminačních dávek (Jakubec a kol., 2012).

3.2.2.2.2 Kryokonzervace vajíček

Při kryokonzervaci vajíček by mělo být stejně jako při kryokonzervaci spermií dbáno na zachování dostatečné genetické variability. Vajíčka se mohou pro konzervaci získávat ze živých samic, ale i z poražených (Jakubec a kol., 2012).

Vajíčka savců jsou velice citlivá na chlad, a proto není technika kryokonzervace zcela obvyklá. Od embryí mají vajíčka odlišnou plasmatickou membránu, která má nízkou propustnost kryoprotektantů. V mnoho případech pak dochází k poškození vajíček, i když závisí i na druhu zvířat, původu vajíček a jejich vývojové fázi. I přes některá úskalí se tato metoda využívá a stále se pracuje na jejím zdokonalování. Vajíčka jsou při kryokonzervaci, stejně jako spermie, uchovávána v tekutém dusíku při teplotě -196°C . Při tak nízké teplotě se zastaví biologická aktivita a buňky si tak zachovávají funkční stav po několik desítek let (Prentice and Anzar, 2010).

3.2.2.2.3 Kryokonzervace embryí

Kryokonzervace embryí má oproti konzervaci spermií nebo vajíček určitou výhodu. Uchovává se při ní totiž kompletní genetická informace budoucího jedince. Jistou výhodou je i možné sexování embryí, díky kterému je možno zachovat embrya v určitém poměru pohlaví. I zde se musí dbát na výběr rodičovského páru správným sestavením pářovacího plánu, aby byl dodržen co nejnižší koeficient příbuznosti (Jakubec a kol, 2012).

Přenos embryí u koní se začal používat mezi roky 1970 až 1980. Většina embryí byla použita pro okamžitý přenos, jelikož technika kryokonzervace nebyla ještě příliš obvyklá. Možné bylo pouze zchlazení embryí na 5°C a následné uchování na 12 až 24 hodin. Nárůst uchovávání embryí byl zaznamenán až v posledních desetiletích. Jednou z nevýhod u koní při získávání embryí je, že není možné, jako například u skotu, docílit superovulace. Získávání embryí je tedy závislé pouze na jedné ovulaci. I přes tuto nepřízeň, má kryokonzervace embryí i své výhody. Je to zejména možnost uchovávání embryí od mladých klisen, které teprve dělají zkoušky, ale mají dobrý předpoklad do budoucího chovu. Možnost transportu embryí mezi stanicemi nebo státy. Tato technika má však i svá úskalí. Embryo se velmi rychle po oplození vyvíjí a zvětšuje svou velikost. S rostoucí velikostí embryí se snižuje jejich přežitelnost a následná schopnost správného vývoje a růstu. U embrya většího než $300\ \mu\text{m}$ je schopnost příjemkyň udržet březost jen 20% až 30% (Squires and McCue, 2016).

3.2.2.2.4 Kryokonzervace tkání

Kryokonzervace tkání závisí na uchování kmenových, nediferencovaných buněk. Z těchto buněk je později získané jádro, které je vloženo do enukleovaného vajíčka a poté vloženo do připravené příjemkyně. Tímto způsobem se vlastně získávají klony původního jedince. Kryokonzervace tkání je v dnešní době velmi málo využívaná pro svou nákladnost (Jakubec, 2012).

3.2.2.3 Kombinace obou schémat uchování

Kombinace obou schémat, tedy uchovávání živých jedinců a jejich chov a uchovávání pomocí kryokonzervace je asi nejlepší řešením chovu vše genetických zdrojů. Chovem zvířat se stále zvyšuje genetická variabilita populace a uchováváním genetických zdrojů kryokonzervací máme vždy k dispozici dostatek potřebného materiálu pro případné znovu obnovení populace (Jakubec, 2012; FAO, 2012).

3.2.3 Stanovení koeficientu příbuznosti a koeficientu inbreedingu

3.2.3.1 Koeficient příbuznosti

Koeficientem příbuznosti se stanovuje genetická podoba mezi jedinci. Využívá se při sestavování pářovacích plánů, výpočtu plemenných hodnot a při páření zvířat z různých linií. Koeficient příbuznosti se stanovuje pomocí zhodnocení rodokmenů dvou jedinců, kteří jsou určeni k páření mezi sebou. Hodnocení je zaměřeno na sledování společných předků a dále je vyhodnocen případný stupeň inbreedingu. Koeficient příbuznosti musí být nízký, aby mohlo dojít k páření vybraných jedinců. V opačném případě plemenitba není povolena a musí se najít jiní, vhodnější jedinci (Bezdíček a kol, 2013).

Wright (1922) definoval koeficient příbuznosti dle následujícího vzorce:

$$R_{XY} = a_{ij} = a_{ji} = \frac{\sum (1/2)^{n_1+n_2} (1 + F_A)}{\sqrt{(1 + F_X)(1 + F_Y)}}$$

kde n_1 = počet generací mezi jedincem X a společným předkem A

n_2 = počet generací mezi jedincem Y a společným předkem A

F_A = koeficient inbreedingu společného předka

F_X = koeficient inbreedingu jedince X

F_Y = koeficient inbreedingu jedince Y

\sum = sumace příbuznosti pro více úseků jedinců X a Y ke společným předkům

V případě, že nejsou jedinci X a Y produkty inbreedingu, používá se pro výpočet pouze výrazu v čitateli uvedeného vzorce.

3.2.3.2 Koeficient inbreedingu

Inbreeding můžeme definovat jako páření dvou příbuzných jedinců v populaci. Stanovení koeficientu inbreedingu je důležitým genetickým parametrem pro určení stupně příbuznosti předků daného jedince (Jakubec a kol., 2012). Zejména v malých populacích zvířat je určování koeficientu příbuznosti velice důležité, aby nedocházelo k páření

příbuzných jedinců a tím pádem k inbreední depresi (Jelínek, 2004). Intenzita inbreední deprese se může značně lišit v závislosti na zakladateli dané populace (Allendorf et al., 2010). Kwiecińska a Olech (2008) uvádí, že hladina inbreedingu negativně koreluje s plodností.

Vostrá – Vydrová et al. (2016) zjistili, že i přes poměrně malou populaci huculských koní je hodnota inbreedingu poměrně nízká, kolem 5%. Ve své práci dále vypočítávali velikosti populace, kde bylo zjištěno následující: efektivní velikost populace huculských koní na základě poměru pohlaví byla 76,81; efektivní velikost populace z růstu inbreedingu byla 54,15 a efektivní velikost populace z individuálního zvýšení inbreedingu by byla 59,61.

Občas může docházet i k páření velmi blízce příbuzných jedinců, jako otec a dcera nebo bratr a sestra. Zpravidla je blízký inbreeding z chovu vyloučen a jsou při páření použiti jiní, geneticky hodnotní jedinci. Inbreeding se může projevovat dvěma způsoby. V prvním případě jde o již zmíněnou inbreední depresi, kdy dochází k snížení hmotnosti, plodnosti a vitality jedinců. Druhý vliv může být pozitivní ve smyslu zvýšení uniformity populace. Z toho pohledu lze usoudit, že inbreeding není ve všech případech pouze neprospěšný, ale jeho kladné i záporné vlivy se projevují zcela náhodně (Wright, 1922).

Wright (1922) definoval koeficient inbreedingu takto:

$$F_Z = a_{ij} = \sum (1/2)^{n_1+n_2+1} (1 + F_A)$$

kde n_1 = počet generací mezi rodičem X jedince Z a společným předkem A

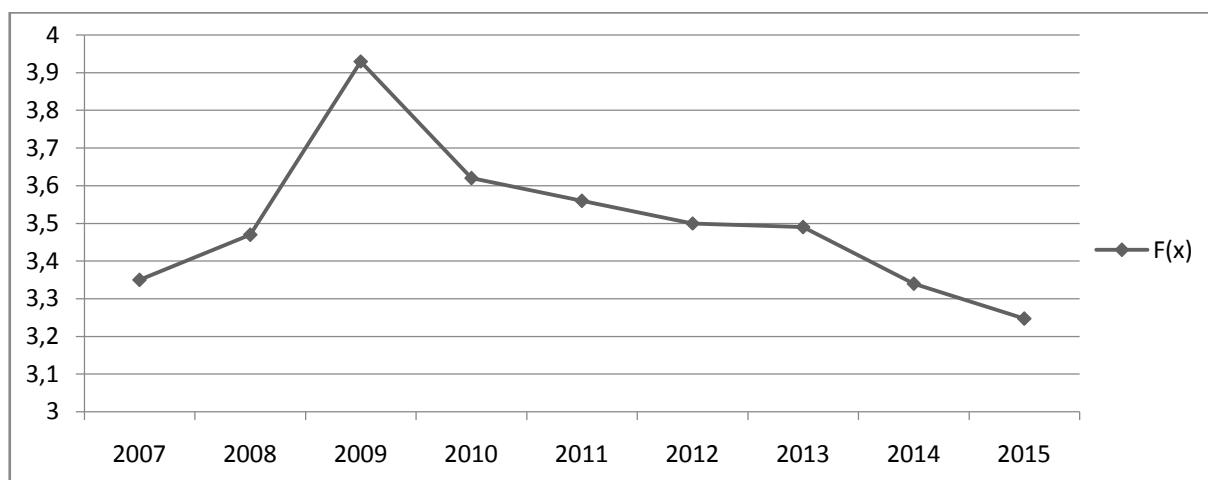
n_2 = počet generací mezi rodičem Y jedince Z a společným předkem A

F_A = koeficient inbreedingu společného předka

\sum = sumace příbuznosti pro více úseků jedinců X a Y ke společným předkům

U huculských klisen byl průměrný stav koeficientu inbreedingu v roce 2015 $F(x) = 3,247$. Koeficient byl počítán od 5. generace a z následujícího grafu může vidět, že se v posledních letech mírně snižuje.

Vývoj koeficientu inbreedingu u huculských klisen zařazených do genových rezerv.



U huculských klisen bylo dále zjišťováno procentuální zastoupení dle hodnot koeficientu inbreedingu. Klisny byly dle koeficientu rozděleny do tří skupin následovně: zcela nepříbuzné $F(x) = 0$; $F(x) = 0,1$ až 5 a $F(x) \geq 5$. Získané hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce.

Rok	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
F(x) = 0	5	6	6	6	6	10	7,7
F(x) = 0,1 - 5	68,26	67,97	67,24	70,92	70,92	68,85	76,92
F(x) ≥ 5	26,74	26,03	26,76	23,08	23,08	21,15	15,38

(Jelínek, 2016)

3.2.4 Analýzy mikrosatelitů

Mikrosatelity neboli jednoduché sekvenční opakování jsou tandemově opakované úseky DNA složené z 1 až 6 párů bází. Jsou přítomny v prokaryotech i eukaryotech. Vzhledem k jejich vysoké mutabilitě se předpokládá, že mikrosatelity hrají významnou roli při vývoji genomu tím, že vytvoří a udrží kvantitativní genetickou variaci (Tóth et al., 2000). Jsou běžně využívaných pro populační studie a pro identifikaci a kontroly původu (rodokmenu) u koní (Fornal et al., 2013). Aby mohla být provedena analýza, je nejdříve zapotřebí odebrat zkoumaným jedincům 10 ml krve, uchované při -20°C až do analýzy, která se provádí v určených laboratořích (Józsa et al., 2005). V dnešní době se více využívá odebrání chlupů nebo hřívý, musí však mít chlupové cibulky (Marcinková, Beran, 2013). Pomocí PCR metody jsou ze vzorků stanoveny sekvence DNA (Józsa et al., 2005).

Studiem mikrosatelitů u huculských koní se zabýval Kusza et al. (2013). Jejich cílem bylo získat informace o genetické variabilitě a mateřské rozmanitosti. Analýzy prováděli celkem u 17 mikrosatelitních lokusů a na mitochondriální DNA. Vzorky byly srovnávány

s primitivními plemeny koní, jako je polský koník a kůň Převalského. Dále zkoumali 200 sekvencí mitochondriální DNA získaných z genových bank, aby se dozvěděli více o původu a genetických vztazích huculských koní. U obou testů byla prokázána velká genetická variabilita plemene. Bylo zjištěno celkem 130 alel a průměrný počet pozorovaných alel v mikrosatelitu byl 7,647. Vysoký počet zjištěných alel, svědčí o vysoké heterozygotnosti populace, čím je dokázána nízká hladina příbuzenské plemenitby. Analýza mitochondriální DNA odhalila 18 haplotypů u huculů. Nejčastěji byla mtDNA přítomna v haploskupině A (48%). Tato skupina byla nalezena i u koně Převalského, zatím co polský koník patřil do haploskupin C, F a G. Dle výsledků bylo zjištěno, že studovaná populace huculských koní byla dle Hardy – Weinbergova zákona v rovnováze. Dále nebyl zjištěn ani jeden společný haplotyp u všech třech plemen. Největší rozdíl byl zjištěn mezi polským koníkem a koněm Převalského. Naopak nejmenší rozdíl byl zjištěn mezi polským koněm a huculským koněm.

Studiem mikrosatelitů se také zabýval Fornal et al.(2013), který došel jen s malými odchylkami ke stejným závěrům jak v předchozí studii.

Kusza et al. (2013) se také zabývali porovnáním získaných výsledků ze zkoumání mitochondriální DNA s plemennou knihou huculských koní. Zjistili, že se v plemenné knize vyskytovaly určité chyby. S ohledem na zachování původních genů v plemeni jsou tyto údaje poměrně důležité. Existují rodiny, které by mohly být považovány za původní, vykazující původní typ plemene a jejich chov by mohl mít významný vliv na celou populaci. Mezi tyto rodiny se řadí klisny Plosca, Wolga, Kitka, u kterých byl zjištěn haplotyp HT07. Haplotyp HT08 byl zjištěn pouze u jednoho jedince z rodiny Panca a jednoho jedince z rodiny Aglalia.

3.2.5 Zařazení huculských koní do genových rezerv ČR

První pokus o obnovu plemene hucul uskutečnilo v roce 1950 ředitelství Státních lesů v Košicích na Muráňské planině. Jejich pokus o záchranu však během 20 let ztroskotal. To se však nelíbilo svazu pro ochranu přírody a krajiny a v roce 1972 založili do dnes trvající Hucul Club. Jako první krok zakoupili 4 huculské klisny a jednoho hřebce z linie Gurgul. Chov byl provozován v osadě Zmrzlík v Praze – Řeporyjích. Díky velkému odhodlání a tvrdé práci mladých chovatelů se počet huculských koní z původních 300 kusů zvýšil během 30 let na více jak 1000 huculů. Hucul Club se také zasloužil o zařazení huculského koně do chráněného genofondu FAO v roce 1979. Až v roce 1993 byl huculský kůň zařazen mezi genové rezervy České republiky (Leiský, 2000). Mezi světově chráněné genetické zdroje v rámci organizace FAO je řazeno kromě chovů z České republiky ještě několik chovů z Polska, Slovenska, Rumunska, Rakouska a Maďarska (Jelínek, 2016). Později, v roce 1994, byla v Polsku

vytvořena federace chovatelů huculského koně (HIF) (Leiský, 2000). Tato mezinárodní organizace má od roku 2000 na starosti řízení chovu huculů (Jelínek, 2016).

U huculských koní byla brána jako jedna z nejzákladnějších podmínek pro zařazení do genových rezerv jeho odolnost vůči nepříznivým klimatickým podmínkám, nenáročnost a skromnost zvířat (Jelínek, 2016). Dalším důvodem k zařazení huculů do genových rezerv bylo zjištění, že jde o rizikovou kategorii zvířat dle stupnice FAO. Huculský kůň byl zařazen do stupně 2, mezi stav ohrožení až kritický stav (Jelínek, 2001). To znamená, že plemeno je udržitelné díky aktivnímu programu chovu a konzervace. Toto zařazení vyplývá z počtu jedinců v populaci. Čistokrevných plemenných klisen bylo zjištěno v rozmezí mezi 100 až 1000 kusů a počet plemenných, čistokrevných hřebců se pohybuje v rozmezí od 5 do 20 kusů (Závodská a Urban, 2001).

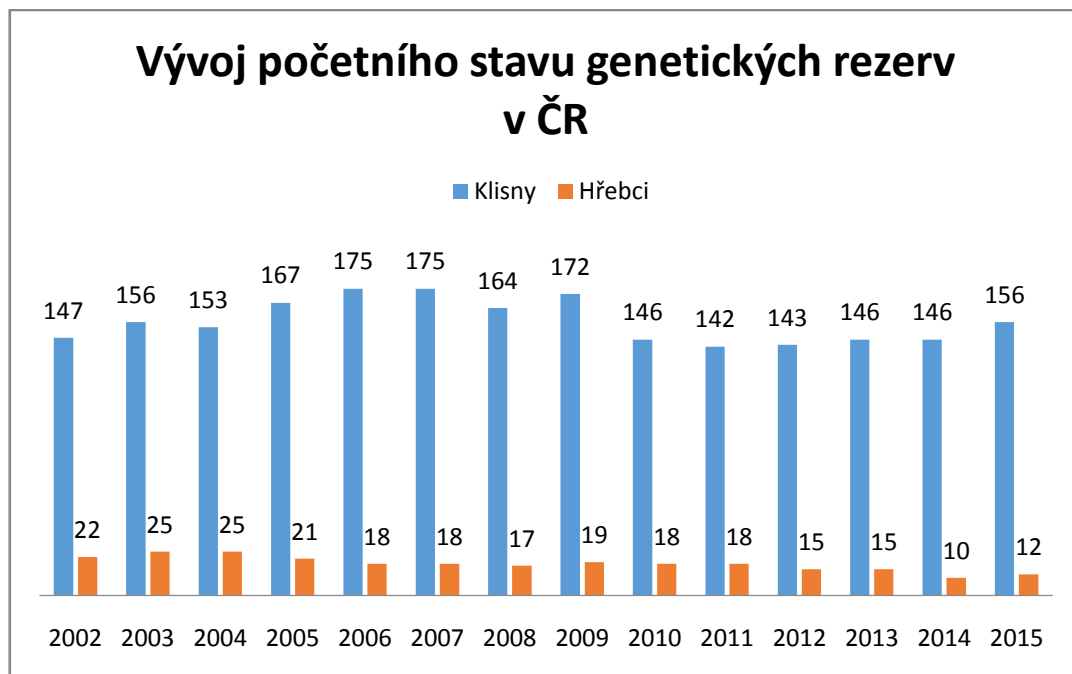
Dle metodiky uchování a konzervace genetických zdrojů jsou kritéria pro zařazení koní následující:

- a) Kůň musí mít doložený oboustranný původ do páté generace. V původu se nesmí vyskytovat více jak 6,25% genů fjordských koní u klisen, hřebci musí být čistokrevní. Procento fjordských genů je postupem času zpříšňováno, příměs jakýchkoli jiných genů je zcela zakázána.
- b) Kůň musí patřit k uznaným rodinám, které jsou zapsány ve šlechtitelském programu. Uzané rodiny viz příloha číslo 2.
- c) Huculský kůň musí být evidován v hlavní plemenné knize nebo v plemenné knize.
- d) Kůň musí být potomkem čistokrevné plemenitby.
- e) Kůň musí úspěšně absolvovat výkonnostní zkoušky alespoň typu „B“.
- f) Kůň musí splňovat plemenný standard minimálně ohodnocený 6 body.
- g) Kůň musí mít oboustranně potvrzený původ pomocí testu DNA.
- h) Jediné povolené zbarvení pro zařazení do genetických zdrojů je plášťové. Ostatní zbarvení jsou povolena mimořádně v případě genově cenných jedinců.
- i) Kůň musí být bez jakýchkoli výrazných exteriérových a dědičných vad.

Pokud je kůň jednou zařazen do genových rezerv, nikdy už nedojde k jeho vyřazení. Důvodem pro jeho vyřazení může být dostatek klisen s nižším procentuálním zastoupením genů fjordských koní (Jelínek, 2016).

3.2.5.1 Počet genových rezerv na území ČR

Na území České republiky je od roku 2002 do roku 2015 evidován následující počet klisen a hřebců zařazených do genových zdrojů:



Z předchozího grafu je patrné, že počty klisen a hřebců zařazených v genových zdrojích České republiky se v průběhu let příliš neliší (Národní program genetických zdrojů).

4 Závěr

Huculský kůň je velmi odolné horské plemeno, charakteristické svou houževnatostí, nenáročností a dlouhověkostí. Je menšího tělesného rámce a dorůstá kohoutkové výšky kolem 135 centimetrů. U většiny koní se vyskytuje hnědé zbarvení, zřídka se však můžeme setkat s koňmi černými, strakatými nebo se zbarvením myšák. Chovným cílem u toho plemene je upevnění genetické základny a zachování jeho vlastností. Dříve byl hucul chován jako pomocník při práci, dnes je používán především jako jezdecký kůň, který je vhodný i pro začátečníky v jezdeckém sportu. Dále je využíván při hipoterapii. První zmínky o huculském koně byly zaznamenány již před 400 lety. Až kolem poloviny 19. století byl však založen jeho první, oficiální chov v hřebčíně Radovec. Dnes se huculský kůň chová především v České republice, na Slovensku, v Polsku, Maďarsku, Ukrajině a v Rumunsku. Všichni příslušníci plemene jsou evidováni v plemenné knize huculského koně, kterou zpravuje Asociace chovatelů huculského koně.

Důvody zařazení zvířat do genových rezerv, jsou především zachování ohrožených a cenných druhů a zachování genetické rozmanitosti. Genové rezervy je možno udržovat několika způsoby. První z nich je chov živých zvířat. Jde o nejjednodušší způsob uchování. Další možnosti jsou kryokonzervační způsoby, kdy se můžou uchovávat vajíčka, spermie, embrya nebo tkáň. Poslední možností je kombinace obou metod, chov živých zvířat a souběžné uchování jejich genetického materiálu. Je zapotřebí kontrolovat koeficient příbuznosti a koeficient inbreedingu, aby nedocházelo k přílišnému zvyšování hodnot příbuznosti. Správnost původu je možné kontrolovat podle analýzy mikrosatelitů koní. Huculský kůň byl v České republice zařazen do genových rezerv v roce 1993. Díky tomuto programu se daří populaci huculských koní udržovat v přibližně stejném početním složení.

5 Seznam použité literatury

- Allendorf, F. W., Hohenlohe, P. A., Luikart, G. 2010. Genomics and the future of conservation genetics. *Nature reviews genetics*. 11(10). 697-709.
- Bezdiček, J., Louda, F., Makarevich, A., Stádník, L. 2013. Jaké důsledky přináší příbuzenská plemenitba. *Náš chov*. 73(1). 54-57.
- Březinová, L., Kálal, F., Kendra, J. 1961. Speciální chov hospodářských zvířat: Velká zvířata. SZN. Praha. 403 s.
- Cieśla, A. 2007. The characteristic of horses used in hippotherapy in selected horse therapy centres in Poland. *Acta Sci. Pol., Zootechnica*. 6(1). 3-14.
- Dobroruka, L. J., Kholová, H. 1992. *Zkrocený vládce stepi*. Panorama. Praha. 256 s. ISBN: 80-7038-229-5
- Dušek, J. 1992. *Chov koní v Československu*. Brázda. Praha. 176 s. ISBN: 80-209-0168-X.
- FAO. *Cryoconservation of animal genetic resources*, ISBN: 978-92-5-107306-3
- Fornal, A., Radko, A., Piestrzyńska-Kajtoch, A. 2013. Genetic polymorphism of Hucul horse population based on 17 microsatellite loci. *Acta Biochim Pol.* 60. 761-765.
- 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. *Genet Mol Res.* 10(4). 4104-4113.
- Harris, M. C., Swinney, N. J. 2011. *Koně: Původ a vlastnosti 100 plemen z celého světa*. Svojk & Co. Praha. 240 stran. ISBN: 978-80-256-0470-0
- Heine, B., Benjamin, J. 1997. Introduction to hippotherapy. *NARHA Strides magazine*. 3(2). 7.
- Hermesen J. 2006. *Koně: encyklopedie*. ReboProductions CZ. Čestlice. 312 s. ISBN: 80-7234-601-6.
- Huculský kůň. Dostupné z: <http://www.cittadella.cz/genz/narodni-program-uvod/kone/narodni-program-kone-huculsky-kun/>
- Jakubec, V., Louda, F., Bezdiček, J. 2012. Šlechtění a management genetických zdrojů zvířat. *Agrovýzkum Rapotín s.r.o. Rapotín*. 410 s. ISBN: 978-80-87592-10-6.
- Jelínek, J. 2001. Huculský kůň jako genetická rezerva v České republice. *Náš chov*. 61(9). 14.
- Jelínek, J. 2004. Huculský kůň jako genetická rezerva v České republice a využití koeficientu (F_x) pro usměrnění výběru připářovaných plemeníků. *Koně*. 8(2). 14-16.
- Jelínek, J. 2016. Metodika uchování a konzervace genetických zdrojů. Dostupné z <http://www.hucul-achhk.cz/metodika-uchovavani-a-konzervace-gz.html>

Józsa, C., Bán, B., Mihók, S., Bodó, I. 2005. DNA microsatellite test of Hucul horses in Hungary. In EAAP 56th Annual Meeting. 5-8.

Kolářová, R. 2012. Hucul. Fauna. 23(6). 56-58.

Kusza, S., Priskin, K., Ivankovic, A., Jedrzejewska, B., Podgorski, T., Jávora, 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(1). 54-65.

Kwiecińska, K., Olech, W. 2008. The inbreeding influence on Hucul mares reproduction results. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Animal Science*. 45. 59-63.

Leiský, O. 2000. Zpráva o záchraně a chovu huculského koně. *Nika*. 21(1). 24.

Luszczynski J., Pieszka M., Paszkot W. 2007. The trial of founding the dependence between the size of hoof sole and biometric measurements of Hucul horses, *Lucrări științifice*

Maftai, M., (a) Popa, D., Popa, R. 2008. Study of withers height average performances in Hucul horse breed – Hroby bloodline. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 41(2). 572-576.

Maftai, M., (b) Popa, D., Popa, R. 2008. Study of withers height average performances in Hucul horse breed – Goral bloodline. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*. 41(2). 568-571.

Marciková, A. Beran, O. 2013. Molekulární genetika šetří peníze chovatelům koní. *Náš chov*. 73 (2). 45-46.

Matoušová-Malbohanová Z., Hájková M., Jiskrová I. 2004. Porovnání exteriéru huculských koní chovaných v České republice a v Polsku. *Acta Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně* (1), 153-157. ISSN: 1211- 8516.

Prentice, J. R., Anzar, M. 2010. Cryopreservation of mammalian oocyte for conservation of animal genetics. *Veterinary medicine international*, 2011.

Purzyc, H. 2007. A general characteristic of Hucul horses. *Acta Sci. Pol. Medicina Veterinaria*. 6(4). 25-31.

Purzyc, H. 2007. Remarks on the history of breeding Hucul horses. *Acta Scientiarum Polonorum – Medicina Veterinaria*. 6. 69-76.

Rámcová metodika pro Národní program uchování genetických zdrojů zvířat. Dostupné z: <<http://www.cittadella.cz/genz/narodni-program-uvod/>>

Řád plemenné knihy. 2010. Dostupné z <<http://www.hucul-achhk.cz/rad.html>>

Sambraus, H. H. 2006. Atlas plemen hospodářských zvířat. Brázda. Praha. 295 s. ISBN: 80-209-0344-5.

- Squires, E. L., McCue, P. M. 2016. Cryopreservation of equine embryos. *Journal of Equine Veterinary Science*. 41. 7-12.
- Stachurska, A., Brodacki, A., Grabowska, J. 2012. Allele frequency in loci which control coat colours in Hucul horse population. *Czech Journal of Animal Science*. 57(4). 178-186.
- Stachurska, A., Jansen, P. 2015. Crypto-tobiano horses in Hucul breed. *Czech Journal of Animal Science*. 60(1). 1-9.
- Šlechtitelský program huculského koně. 2009. Dostupné z <<http://www.hucul-achhk.cz/program.html>>
- Tóth, G., Gáspári, Z., Jurka, J. 2000. Microsatellites in different eukaryotic genomes: survey and analysis. *Genome research*. 10 (7). 967-981.
- Vogeltanz, J., Tetzeli, J. 1997. Koně evropských národních parků. Granát. Horní Bříza. 47 s. ISBN: 80-902211-0-6
- Volf, J. 1972. Po stopách koní. Státní pedagogické nakladatelství. Praha. 226 s. ISBN: 14-276-72.
- Vostrá-Vydrová, H., Vostrý, L., Hofmanova, B., Schmidová, J., Veselá, Z., Novotná, A. 2016. Estimation of effective population size by different methods for Czech endangered horse breeds based on genealogical information. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*. 19(5). 41-44.
- Wright, S. 1922. Coefficients of inbreeding and relationship. *The American Naturalist*. 56(645). 330-338.
- Závodská, I. Urban, F. 2001. Genetické živočišné zdroje v ČR. *Náš chov*. 61(12). 60-61. *Zootehnie și Biotehnologii*, vol. 40(2), Timișoara, pg.181-188.

6 Přílohy

Příloha číslo 1.: Organizace FAO doporučuje pro určení rizika ohrožení tyto kritéria:

reprodukční kapacita	počet chovných samců	počet chovných samic						
		≤100	101 – 300	301 – 1000	1001 – 2000	2001 – 3000	3001 – 6000	>6000
vysoká (králíci, prasata, drůbež)	≤5							
	6-20							
	21 – 35							
	>35							
nízká (koně a osli, skot, ovce, kozy)	≤5							
	6 – 20							
	21 – 35							
	>35							

Kritický stav
 Ohrožený
 Zranitelný
 Bez ohrožení

(Rámcová metodika pro Národní program uchování genetických zdrojů)

Příloha číslo 2.: Seznam zakladatelek huculských rodin, které byly uznány mezinárodní organizací HIF. Seznam je platný na území České republiky k 1.1.2008.

Pořadí	Jméno
1	A – Agatka (POL)
2	825 Agla (SK)
3	17 (170) Aglalia (RUM)
4	18 Barna
5	Bukovina (RUM)
6	862 Dagmar (SK)
7	86 Dermoxa L (RUM)
8	39 France (SK)
9	882 Gelnica (SK)
10	84 Hurka
11	19 Kavka (SK)
12	23 Klapta
13	108 Morža II (Moršina)
14	48 Mulica (SK)
15	N – Nakoneczna (POL)
16	P – Polanka (Pastuszka) (POL)
17	111 Rumina (Rumiva)
18	S – Srocza (POL)
19	70 Sekačka (SK)
20	Valuta (118 Irma)
21	11 Zuza
22	25 Žemla
23	Paskana
24	Czeremosz
25	90 Macocha (SK)
26	4 Kitca
27	1 Panka

(Šlechtitelský program huculského koně, 2009)