

Mutacja ta powoduje rozpoczęcie translacji białka w kolejnym najbliższym kodonie dla metioniny, co w efekcie powoduje skrócenie białka SDE2 o 83 aminokwasy, łącznie z tzw. *cleavage site* niezbędnym dla aktywacji białka. W ostatecznym efekcie powoduje to całkowitą dysfunkcję białka SDE2 i – co za tym idzie – poważne konsekwencje dla rozwoju zarodka. Przypuszcza się, że dysfunkcja białka SDE2 prowadzi do zamierania zarodków po kilku podziałach mitotycznych, co koresponduje z zanikiem żywych homozygot recesywnych oraz podwyższonym wskaźnikiem niepowtarzalności rui po 56. dniu. Badania populacyjne u ponad 46 tys. zwierząt wykluczyły występowanie mutacji u innych ras niż holsztyńska, takich jak jersey, brown swiss, charolaise, limousine, montbelliarde, blonde d'Aquitaine, normandzkiej i innych [2].

Badania wykonane na populacji 29 tys. zwierząt rasy holsztyńskiej wykazały brak osobników w stanie homozygotycznym, co upoważnia do stwierdzenia, że omawiana mutacja ma charakter letalny. Wykryto natomiast 1,3% nosicieli we francuskiej populacji bydła holsztyńskiego. Stwierdzono, że założycielem mutacji jest buhaja MOUNTAIN noszący numer HOLUSAM000002070579 [2]. Był on buhajem wybitnym, szeroko stosowanym na świecie, popularnym także w Polsce. Zasoby Polskiego Banku DNA Buhajów nie zawierają próbki pochodzącej od buhaja MOUNTAIN, ale zachowane są próbki 8 jego synów. W systemie SYMLEK zarejestrowano 157 synów tego buhaja, z czego 66 było urodzonych w Polsce, a dwa buhaje zostały sprowadzone do naszego kraju (PFHBiPM, informacja ustna). Można spodziewać się co najmniej takiej samej liczby samic, które ze względu na wysoką wartość hodowlaną ojca mogły być typowane na matki buhajów. Wartości te wskazują, że w polskiej populacji bydła phf może segregować allel wywołujący defekt genetyczny HH6 oraz że nosiciele HH6 mogą brać udział w rozrodzie. Wstępne badania prowadzone w Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie wykazały, że dwa popularne w przeszłości buhaje holenderskie – SARATOGA NL129637213 i ADDISON NL839380546 – są nosicielami HH6. Istnieje zatem konieczność przebadania buhajów na nosicielstwo HH6, co nie wyczerpuje innych dróg

poszukiwania potencjalnych nosicieli wśród buhajów oraz matek buhajów.

Reasumując należy stwierdzić, że liczba męskich potomków buhaja założyciela defektu HH6 wskazuje, że wysoce prawdopodobne jest występowanie nosicieli defektu HH6 wśród buhajów użytkowanych rozplodowo, a także w populacji krów. Dlatego należy podjąć badania na nosicielstwo HH6 wśród potencjalnych nosicieli mających w rodowodzie buhaja MOUNTAIN lub jego synów/wnuków i unikać zakupu buhajów nosicieli bądź zakupu nasienia od takich buhajów. Dodatkowo, trzeba wspierać dążenia, aby negatywny wpływ haplotypów, w tym HH6, na cechy płodności był uwzględniany w genomowej ocenie buhajów. A zatem, jeśli buhaj jest homozygotyczny pod względem jednego lub kilku haplotypów wartość hodowlana dla cech płodności powinna być znacząco niższa, co stanowiłoby skuteczny sygnał ostrzegawczy dla hodowcy.

Literatura: 1. Czarnik U., Grzybowski G., Kamiński S., Prusak B., Zabolewicz T., 2007 – Effectiveness of a program aimed at the elimination of BLAD-carrier bulls from the Polish Holstein-Friesian cattle. *Journal of Applied Genetics* 48, 375-377. 2. Fritz S., Hoze C., Rebours E., Barbat A., Bizard M., Chamberlain A., Escoufflaire C., Jagt C.V., Boussaha M., Grohs C., Allais-Bonnet A., Phillippe M., Vallee A., Amigues Y., Hayes B.J., Boichard D., Capitan A., 2018 – An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science* 101, 6220-6231. 3. Kamiński S., Ruś A., 2016 – Cholesterol Deficiency – new genetic defect transmitted to Polish Holstein-Friesian cattle. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 4, 849-851. 4. Kamiński S., Ruś A., 2017 – Haplotypy obniżające płodność bydła. *Przegląd Hodowlany* 1, 6-8. 5. OMIA 002149-9913. *Database Online Mendelian Inheritance of Animals* (<http://omia.angis.org.au>). 6. Ruś A., Kamiński S., 2015 – Detection of Brachyspina carriers within Polish Holstein-Friesian bulls. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 18, 453-454. 7. Ruś A., Hering D., Puckowska P., Barcewicz M., Kamiński S., 2013 – Screening of Polish Holstein-Friesian bulls towards eradication of Complex Vertebral Malformation (CVM) carriers. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 16, 579-581. 8. VanRaden P.M., Olson K.M., Null D.J., Hutchison J.L., 2011 – Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. *Journal of Dairy Science* 94, 6153-6161.

Czy stężenie kortyzolu jest przydatnym wskaźnikiem w ocenie stresu cieplnego u bydła mlecznego?

Joanna Marć-Pieńkowska

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Immunobiologii

Temperatura jest jednym z najważniejszych czynników kształtujących mikroklimat w oborze. Optymalna wartość temperatury w pomieszczeniu dla dorosłych krów to 8-16°C [20], a stre-

fa komfortu ciepła dla bydła mlecznego, według Westa [24], mieści się w granicach od 5 do 25°C. Choć określenie wartości górnej granicy strefy termoneutralnej jest problematyczne, gdyż według Ginnekena [6] stres cieplny ujawnia się już przy 22°C, a według Broučka i wsp. [2] przy 27°C, to bezdyskusyjny pozostaje sam mechanizm – krowy podczas ekspozycji na zbyt wysokie temperatury otoczenia nie mogą odprowadzić dostatecznej ilości ciepła, następuje jego kumulacja, co skutkuje zaburzeniem termoregulacji i wystąpieniem stresu cieplnego [17]. Inicjowane są wówczas behawioralne i fizjologiczne reakcje organizmu, mające na celu zmniejszenie produkcji ciepła i zwiększenie jego strat, by utrzymać temperaturę ciała w obrębie normalnych zakresów. Zapewnienie homeostazy i dostosowanie się organizmu do stresu termicznego jest wynikiem zintegrowanych działań, w które zaangażowane są układ nerwowy i endokryny [4].

Konsekwencje stresu cieplnego

Początkowe reakcje krów mlecznych na stres cieplny obejmują: wzrost temperatury rektalnej, zwiększenie pocenia się i czę-

stotliwości oddychania, zmniejszenie tętna i spożycia paszy, a w konsekwencji spadek wydajności mlecznej [9]. Oprócz zmian metabolizmu i podstawowych parametrów fizjologicznych, obserwuje się zakłócenia w rozrodzie (wzrost śmiertelności zarodków, upośledzenie funkcji lutealnej, zaburzenia w wydzielaniu gonadotropiny i estradiolu) [19, 25, 26], zmiany w zachowaniu zwierząt (krowy spędzają więcej czasu stojąc, by usprawnić utratę ciepła poprzez zwiększenie powierzchni skóry wystawionej na działanie przepływu powietrza i wiatru) [15] oraz zmiany statusu neurohormonalnego [8], gdyż zbyt wysoka temperatura otoczenia jest dla bydła źródłem stresu [26]. Odpowiedzią organizmu na stres jest aktywacja osi HPA-przysadkowo-korowo-nadnerczowej, w konsekwencji odnotowuje się wzrost stężenia hormonów – kortyzolu i kortykotropiny, co na zasadzie dodatnich i ujemnych sprzężeń zwrotnych powoduje zmiany w całym ustroju [22].

Kortyzol jako wskaźnik stresu cieplnego

W sytuacjach stresowych uwolnienie hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) z przedniego płata przysadki pobudza korę nadnerczy do wydzielania kortyzolu [5]. Wysoka temperatura, jako źródło stresu, może zwiększyć u bydła sekrecję kortyzolu z kory nadnerczy [8, 22]. Według Kaufmanna i Thun [12], analiza stężenia kortyzolu pozwala na ocenę intensywności przebiegu reakcji stresowej, jako skutku niekorzystnego oddziaływania środowiska zewnętrznego na organizm. Jednak, według Bertoniego i wsp. [1], tylko gwałtowny bodziec może być przyczyną wzrostu stężenia kortyzolu, a jego najwyższe stężenie obserwuje się po 10-20 minutach od zadziałania stresora. Zgodnie z powyższym, wzrost stężenia kortyzolu u krów poddanych działaniu wysokiej temperatury powinien być obserwowany tylko w krótkim czasie od momentu ekspozycji bydła na ponadnormatywne warunki klimatyczne, natomiast przy długotrwałym oddziaływaniu stresu cieplnego, po początkowym wzroście stężenia kortyzolu powinien nastąpić jego spadek do wartości wyjściowych [11]. Christison i Johnson [3] oraz Ronchi i wsp. [18] odnotowali z kolei niższe stężenie kortyzolu we krwi krów narażonych na działanie wysokiej temperatury przez długi czas w porównaniu z osobnikami utrzymywanymi w warunkach komfortu cieplnego. Według Yousefa i Johnsona [27], obniżenie stężenia omawianego hormonu u zwierząt poddanych chronicznemu oddziaływaniu stresu cieplnego jest pozytywnym mechanizmem termoregulacyjnym. Redukcja aktywności kory nadnerczy w warunkach stresu termicznego może działać ochronnie, zapobiegając wzrostowi metabolicznej produkcji ciepła [18].

Czy zatem stężenie kortyzolu jest przydatnym wskaźnikiem w ocenie stresu termicznego u bydła mlecznego? Aby odpowiedzieć na to pytanie dokonano przeglądu literatury przy wykorzystaniu anglojęzycznej wyszukiwarki w internetowej bazie danych, zawierającej artykuły z dziedziny nauk biologicznych – Pub Med. Przy wyszukiwaniu wpisano następujące słowa kluczowe: dairy cattle, heat stress, cortisol. Otrzymano 34 rezultaty – publikacje wydane w latach 1975-2019. Na potrzeby niniejszego artykułu przeanalizowano jedynie prace najbardziej aktualne, tj. z lat 2009-2019. W tym okresie w rozpatrywanej bazie, przy użyciu wspomnianych słów kluczowych, zaindeksowanych zostało 21 publikacji. Spośród nich 2 artykuły dotyczyły bydła utrzymywanego w klimacie gorącym lub tropikalnym. Były to najczęściej krowy ras rodzimych, które mogły wykształcić odpowiednie mechanizmy adaptacyjne do bardziej wymaga-

jących warunków klimatycznych. Ze względu na możliwość odmiennej reakcji na stres cieplny u tych zwierząt, zdecydowano o rezygnacji z włączenia powyższych prac do manuskryptu.

W wyszukiwanych artykułach pojawiały się dodatkowe czynniki doświadczalne (na przykład zastosowanie preparatów umożliwiających ograniczenie skutków stresu cieplnego, wykorzystanie zacienienia, krzyżowanie bydła, wpływ umaszczenia na stężenie kortyzolu w sierści krów poddanych oddziaływaniu stresu termicznego), jednak na potrzeby publikacji rozważano wyłącznie dane w układzie, który pozwalał na ocenę sekrecji kortyzolu w reakcji na stres cieplny. W przypadku 7 prac (1. – na temat wpływu pory roku wycielenia na stężenie hormonów stresu, 2. – dotycząca wpływu umaszczenia na stężenie kortyzolu w sierści krów poddanych oddziaływaniu stresu cieplnego, 3. – mająca na celu określenie wpływu synchronizacji owulacji ludzką gonadotropiną kosmówkową (hCG) na płodność krów mlecznych w sezonie gorącym, 4. – na temat wpływu podawania betainy na wydajność produkcyjną bydła podczas stresu cieplnego latem, 5. – dotyczącej wpływu chłodzenia zacielenych krów w okresie letnim na odporność bierną i komórkową cieląt, 6. – mającej na celu zbadanie wpływu suplementowania chromem na wydajność krów poddanych oddziaływaniu stresu termicznego we wczesnej laktacji, 7. – na temat wpływu chłodzenia krów matek poddanych stresowi cieplnemu w okresie zaususzenia na stężenie kortyzolu we krwi) układ doświadczenia uniemożliwił taką analizę, dlatego również zrezygnowano z włączenia tych publikacji do treści niniejszego artykułu. Należy jeszcze zaznaczyć, że pomimo wyszukiwania prac na temat bydła mlecznego, 5 publikacji dotyczyło bawołów i te pozycje także wyeliminowano. Ostatecznie do opracowania manuskryptu wykorzystano jedynie 7 artykułów, opisanych w tabeli.

Na podstawie analizy treści wyszukiwanych publikacji można stwierdzić, że wzrost temperatury otoczenia powyżej strefy komfortu bydła indukuje wzrost stężenia kortyzolu. Tę dodatnią korelację potwierdzono we wszystkich rozpatrywanych pracach. Pozytywnie zatem można zweryfikować tezę o tym, że wysoka temperatura, jako źródło stresu, zwiększa sekrecję kortyzolu z kory nadnerczy u krów. Jednak w większości artykułów nie podjęto próby ustalenia, po jakim czasie od pojawienia się bodźca następuje wzrost stężenia kortyzolu oraz jak długo owo stężenie utrzymuje się na wysokim poziomie. W pracach, w których stopień narażenia zwierząt na stres cieplny określano na podstawie wskaźników THI (Temperature Humidity Index) i HLI (Heat Load Index), nie podano informacji o tym, jakie wartości miały owe parametry w dniach poprzedzających pobranie materiału biologicznego. Ma to kluczowe znaczenie. Jeśli bowiem wysokie wartości wskaźnika THI utrzymywały się przez dłuższy czas, a badanie zostało wykonane w losowy dzień, bez uwzględnienia potrzeby zachowania dużej amplitudy temperatury pomiędzy dniem pobrania materiału a okresem poprzedzającym doświadczenie, to można stwierdzić, że wzrost stężenia kortyzolu może być obserwowany w całym okresie narażenia zwierząt na wysoką temperaturę. Taka sytuacja mogła mieć miejsce w dwóch eksperymentach, w których porównywano stężenia hormonu w różnych porach roku [14, 28]. W tych pracach nie podano, ile dni trwała ekspozycja zwierząt na wysokie temperatury i czy dzień przed wykonaniem badania warunki meteorologiczne były bardziej korzystne dla krów, a zatem czy narażenie miało charakter ostry czy chroniczny. Jeśli eks-

Tabela

Wpływ stresu cieplnego na stężenie kortyzolu w materiale biologicznym krów mlecznych – przegląd publikacji

Autorzy, rok	Materiał	Warunki doświadczenia	Wnioski
Kovács i wsp., 2019 [13]	Ślina	Badanie trwało 5 dni, zwierzęta były poddane oddziaływaniu następujących temperatur (średnia/maks.): 1. dnia – 22,9°C/29,4°C, 2. dnia – 28,3°C/38,8°C, 3. dnia – 26,2°C/33,5°C, 4. dnia – 23,7°C/28,7°C, 5. dnia – 21,2°C/24,7°C	Najwyższe stężenie kortyzolu w ślinie odnotowano 3. dnia doświadczenia o godzinie 12:00
Hall i wsp., 2018 [7]	Krew	Badanie trwało 21 dni: 1.-7. dnia krowy utrzymywane były w warunkach komfortu cieplnego, 8.-17. dnia – w warunkach stresu cieplnego, 18.-21. dnia – w strefie termoneutralnej. W czasie narażenia zwierząt na wysokie temperatury 3-krotnie pobrano od nich krew: 1., 3. i 10. dnia ekspozycji	Najwyższe stężenie kortyzolu odnotowano w 1. dniu stresu cieplnego
Veissier i wsp., 2018 [23]	Mleko i kał	Krowy utrzymywane były na pastwisku w warunkach klimatu umiarkowanego. Narażenie zwierząt na stres cieplny określono przy użyciu wskaźnika Heat Load Index (HLI), przydatnego do oznaczenia środowiskowego obciążenia cieplnego bydła	Stężenie kortyzolu w mleku rosło wraz ze wzrostem wskaźnika HLI
Ihsanullah i wsp., 2017 [10]	Krew	Krew od krów pobierano 4-krotnie, przy THI (Temperature Humidity Index): ≤71 – strefa komfortu cieplnego, 72-79 – łagodne obciążenie stresem cieplnym, 80-89 – umiarkowane obciążenie stresem cieplnym, ≥90 – silne obciążenie stresem cieplnym	Stężenie kortyzolu we krwi rosło wraz ze wzrostem wartości THI
Zachut i wsp., 2017 [28]	Krew	Pobierano krew od krów, u których okres wysokiej ciąży przypadła latem oraz od tych, które były w wysokiej ciąży zimą	Krowy, których ostatnie miesiące ciąży przypadły na okres letni miały wyższe stężenie kortyzolu niż te, które były w wysokiej ciąży zimą
Rees i wsp., 2016 [16]	Kał	Oznaczono metabolit kortyzolu w kale w grupie kontrolnej (nie poddanej oddziaływaniu stresu cieplnego) oraz w grupach doświadczalnych: I – narażonej na stres ostry 1-dniowy i II – narażonej na stres chroniczny	Wartości metabolitu kortyzolu w kale były wyższe u krów poddanych ostremu stresowi termicznemu w porównaniu z osobnikami z grupy kontrolnej
Maibam i wsp., 2014 [14]	Krew	Próbki krwi pobierano od zwierząt w sezonie zimowym (przy THI=60) i letnim (THI=83)	Stężenie kortyzolu w osoczu było znacznie wyższe w okresie letnim niż zimowym

pozycja na stres cieplny trwała dłużej, to nie można potwierdzić tezy, że stężenie kortyzolu – po nagłym wzroście, spadało następnie do wartości wyjściowych. Wydaje się zatem, że wyższe stężenie kortyzolu u krów może utrzymywać się przez dłuższy czas oddziaływania wysokiej temperatury, natomiast pik stężenia kortyzolu może następować krótko po zadziałaniu stresora. Zgodnie bowiem z publikacjami Kovács i wsp. [13] oraz Hall i wsp. [7], najwyższe stężenie kortyzolu notuje się odpowiednio 3. lub 1. dnia ekspozycji. Brak pełnej zgodności co do terminu piku hormonu może wynikać z innego materiału wykorzystanego do badania (ślina – 3. dzień, krew – 1. dzień). W obu doświadczeniach po osiągnięciu wartości szczytowej stężenie kortyzolu malało, ale nadal było wyższe od bazowego, odnotowanego w czasie utrzymywania krów w strefie ich komfortu cieplnego. Niewątpliwie podanie konkretnego czasu oddziaływania wysokich temperatur w większej liczbie artykułów umożliwiłoby bardziej złożoną analizę.

Badacze do oceny stężenia kortyzolu wykorzystali materiały biologiczne, takie jak ślina, kał, mleko i krew (tab.). Pobieranie krwi od krów było najbardziej popularne (57% publikacji), jednak jest metodą inwazyjną i może być obciążone błędem, istnieją bowiem problemy z oznaczeniem

podstawowego stężenia kortyzolu, które może wzrastać natychmiast po unieruchomieniu zwierzęcia. Dlatego zasadnym jest poszukiwanie innych możliwości oceny stężenia kortyzolu. Być może pozyskiwanie materiałów biologicznych w sposób niewymagający immobilizacji bydła, stanie się bardziej powszechne w ocenie narażenia zwierząt na stres.

Choć ze względu na przyjęte kryteria ostatecznie przeanalizowano jedynie 7 spośród 34 publikacji, to jednak można stwierdzić, że zainteresowanie zagadnieniem funkcjonowania układu hormonalnego u bydła mlecznego narażonego na stres cieplny i poszukiwania właściwych markerów stresu termicznego było duże. W przypadku wyszukiwania w tej samej bazie danych prac o podobnej tematyce, dotyczących innych gatunków zwierząt gospodarskich, wyświetlono mniej rekordów, np. trzoda chlewna – słowa kluczowe: swine/pig, heat stress, cortisol – 24 artykuły; owce – słowa kluczowe: sheep, heat stress, cortisol – 19 artykułów; drób – słowa kluczowe: poultry, heat stress, cortisol – 7 artykułów, a przy zawężeniu zapytania do, na przykład, samych kurcząt brojlerów, słowa kluczowe: broiler chicken, heat stress, cortisol – 3 prace (należy jednak zaznaczyć, że u ptaków ze względu na odmienność endokrynną bardziej

wiarygodnym wskaźnikiem jest stężenie kortykosteronu i artykułów uwzględniających ten parametr było więcej: poultry, heat stress, corticosterone – 99 pozycji, broiler chicken, heat stress, corticosterone – 50 publikacji); konie – słowa kluczowe: horse, heat stress, cortisol – 4 prace.

Liczba artykułów uwzględniających stężenie kortyzolu w badaniach nad hormonalną odpowiedzią na stres cieplny u bydła mlecznego świadczy o tym, że naukowcy chętnie stosują ów parametr jako wskaźnik stresu termicznego. Innymi markerami stresu cieplnego u krów mogą być hormony tarczycy: tyroksyna (T4) oraz trójjodotyronina (T3) oraz leukocyty, a właściwie stosunek ich populacji: neutrofilii do limfocytów. Hormony tarczycy biorą bowiem udział w procesie termoregulacji. Wzrost temperatury może wiązać się ze zmniejszeniem wydzielania T3 i T4 [21]. Podczas stresu u zwierząt następuje wzrost liczby neutrofilii i spadek liczby limfocytów, a zatem wzrost stosunku neutrofilii do limfocytów. Podczas analizowania wybranej bazy danych i porównywania liczby prac, w których wykorzystano te wskaźniki, stwierdzono, że stężenie kortyzolu zajęło pierwsze miejsce. Wyszukano po 10 publikacji uwzględniających wolną tyroksynę i trójjodotyroninę (słowa kluczowe: dairy cattle, heat stress, thyroxine oraz dairy cattle, heat stress, triiodothyronine) oraz 32 artykuły dotyczące leukocytów (słowa kluczowe: dairy cattle, heat stress, leukocytes; przy doprecyzowaniu wyszukiwania z pomocą słów kluczowych: dairy cattle, heat stress, lymphocytes, neutrophils odnaleziono 16 prac).

Należy także zauważyć, że w ostatnich latach rośnie zainteresowanie tematyką wykorzystania kortyzolu w badaniach nad stresem cieplnym u krów. Spośród wszystkich 34 publikacji, 21 (ok. 62%) zostało opublikowanych podczas ostatniej dekady, 4 (ok. 12%) – w ciągu poprzedniego dziesięciolecia (2009-2000), 4 (ok. 12%) – w latach 1999-1990, 2 (ok. 6%) – w latach 1989-1980 oraz 3 (ok. 9%) – w latach 1979-1970.

Podsumowanie

Globalne ocieplenie stawia wyzwania również hodowcom bydła. Rosnąca temperatura otoczenia powoduje wzrost stężenia kortyzolu u krów, a to wpływa na funkcjonowanie całego organizmu. Wydaje się, że kortyzol może być dobrym wskaźnikiem oceny stresu cieplnego u bydła, należy jednak jednoznacznie rozstrzygnąć kwestię czasu, w jakim może dojść do adaptacji organizmu krowy do wysokiej temperatury otoczenia. Rosnące zainteresowanie naukowców poruszaną tematyką daje nadzieję na rozwikłanie tego problemu.

Literatura: 1. **Bertoni G., Trevisi E., Lombardelli R., Bionaz M.**, 2005 – Plasma cortisol variations in dairy cows after some usual or unusual manipulations. *Italian Journal of Animal Science* 4 (2), 200-212. 2. **Brouček J., Novák P., Vokřálová J., Šoch M., Kišac P., Uhrinčat' M.**, 2009 – Effect of high temperature on milk production of cows from free-stall housing with natural ventilation. *Slovak Journal of Animal Science* 42 (4), 167-173. 3. **Christison G.L., Johnson H.D.**, 1972 – Cortisol turnover in heat-stressed cows. *Journal of Animal Science* 35, 1005-1010. 4. **Du Preez J.H.**, 2000 – Parameters for the determination and evaluation of heat stress in dairy cattle in South Africa. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 67 (4), 263-271. 5. **Fulford, A.J., Harbuz M.S.**, 2005 – An introduction to the HPA. [W:] *Handbook of Stress and the Brain* (red. Steckler T., Kalin N.H., Reul J.M.). Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, 43-66. 6. **Ginneken Van R.**, 2010 – Hittestress te lijf. *Melkveebedrijf* 6, 12-24. 7. **Hall L.W., Villar F., Chapman J.D., McLean D.J., Long N.M., Xiao Y., Collier J.L., Collier R.J.**,

2018 – An evaluation of an immunomodulatory feed ingredient in heat-stressed lactating Holstein cows: Effects on hormonal, physiological, and production responses. *Journal of Dairy Science* 101 (8), 7095-7105. 8. **Hammond A.C., Olson T.A., Chase C.C., Bowers E.J., Randel R.D., Murphy C.N., Vogt D.W., Tewolde A.**, 1996 – Heat tolerance in two tropically adapted *Bos taurus* breeds, Senepol and Romosinuano, compared with Brahman, Angus and Hereford cattle in Florida. *Journal of Animal Science* 74 (1), 295-303. 9. **Horowitz M.**, 2002 – From molecular and cellular to integrative heat defense during exposure to chronic heat. *Comparative Biochemistry and Physiology* 131 (3), 475-483. 10. **Ihsanullah, Qureshi M.S., Suhail S.M., Akhtar S., Khan R.U.**, 2017 – Postpartum endocrine activities, metabolic attributes and milk yield are influenced by thermal stress in crossbred dairy cows. *Intational Journal of Biometeorology* 61 (9), 1561-1569. 11. **Kaczor A., Kaczor U., Wieczorek-Dąbrowska M.**, 2015 – Wpływ wysokiej temperatury powietrza na kształtowanie się poziomu kortyzolu i tyroksyny we krwi krów z uwzględnieniem wydajności mlecznej. *Roczniki Naukowe Zootechniki* 42 (2), 193-204. 12. **Kaufmann C., Thun R.**, 1998 – Einfluss von akutem Stress auf die Sekretion von Cortisol und Progesteron beim Rind. *Tierärztliche Umschau* 53, 403-409. 13. **Kovács L., Kézér F.L., Ruff F., Szenci O., Bakony M., Jurkovich V.**, 2019 – Effect of artificial shade on saliva cortisol concentrations of heat-stressed dairy calves. *Domestic Animal Endocrinology* 66, 43-47. 14. **Maibam U., Singh S.V., Singh A.K., Kumar S., Upadhyay R.C.**, 2014 – Expression of skin color genes in lymphocytes of Karan Fries cattle and seasonal relationship with tyrosinase and cortisol. *Tropical Animal Health and Production* 46 (7), 1155-1160. 15. **Overton M.W., Sischo W.M., Temple G.D., Moore D.A.**, 2002 – Using time-lapse video photography to assess dairy cattle lying behavior in a free-stall barn. *Journal of Dairy Science* 85 (9), 2407-2413. 16. **Rees A., Fischer-Tenhagen C., Heuwieser W.**, 2016 – Effect of Heat Stress on Concentrations of Faecal Cortisol Metabolites in Dairy Cows. *Reproduction in Domestic Animals* 51 (3), 392-399. 17. **Romaniuk W., Overby T.**, 2005 – Systems of maintenance of cattle. Reference book. *Duńskie Stuzby Doradztwa Rolniczego*, Warszawa. 18. **Ronchi B., Stradaoli G., Verini Supplizi A., Bernabucci U., Lacetera N., Accorsi P.A., Nardone A., Seren E.**, 2001 – Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livestock Production Science* 68 (2-3), 231-241. 19. **Ryan D.P., Prichard J.F., Kopel E., Godke R.A.**, 1993 – Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. *Theriogenology* 39, 719-737. 20. **Solan M., Jóźwik M.**, 2009 – Wpływ mikroklimatu oraz systemu utrzymania na dobrostan krów mlecznych. *Wiadomości Zootechniczne XLVII* (1), 25-29. 21. **Ślebodziński A.**, 1983 – *Zarys endokrynologii zwierząt użytkowych*. PWN, Warszawa. 22. **Titto C.G., Nagrao J.A., de Souza Canaes T., Titto R.M., da Cunha Leme-dos Santos T.M., Henrique F.L., Calviello R.F., Pereira A.M.F., Titto E.A.L.**, 2017 – Heat stress and ACTH administration on cortisol and insulin-like growth factor I (IGF-I) levels in lactating Holstein cows. *Journal of Applied Animal Research* 45 (1), 1-7. 23. **Veissier I., Van Laer E., Palme R., Moons C.P.H., Ampe B., Sonck B., Andanson S., Tuytens F.A.M.**, 2018 – Heat stress in cows at pasture and benefit of shade in a temperate climate region. *International Journal of Biometeorology* 62 (4), 585-595. 24. **West J.**, 2003 – Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 86 (6), 2131-2144. 25. **Wilson S.J., Kirby C.J., Keisler D.H., Lucy M.C.**, 1998 – Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Heifers. *Journal of Dairy Science* 81, 2132-2138. 26. **Wise M.E., Rodriguez R.E., Armstrong D.V., Huber J.T., Wiersma F., Hunter R.**, 1988 – Fertility and hormonal responses to temporary relief of heat stress in lactating dairy cows. *Theriogenology* 29, 1027-1035. 27. **Yousef M.K., Johnson H.D.**, 1967 – Calorigenesis of cattle as influenced by hydrocortisone and environmental temperature. *Journal of Animal Science* 26, 1087-1093. 28. **Zachut M., Kra G., Livshitz L., Portnick Y., Yakoby S., Friedlander G., Levin Y.**, 2017 – Seasonal heat stress affects adipose tissue proteome toward enrichment of the Nrf2-mediated oxidative stress response in late-pregnant dairy cows. *Journal of Proteomics* 158, 52-61.