

## بررسی ارتباط برخی عناصر و متابولیت‌های خونی با بروز تکرر فحلی در گاوهای شیری شرکت دشت آذر نگین

ویدا آزادی کهنه شهری<sup>۱</sup>، غلامعلی مقدم<sup>۲\*</sup>، نصراله پیرانی<sup>۳</sup> و حسین دقیق‌کیا<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۲/۳/۱۹

<sup>۱</sup> دانشجوی سابق کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۳</sup> دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

<sup>۴</sup> دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

\*مسئول مکاتبه: Email: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

### چکیده

این مطالعه به منظور ارزیابی اثرات برخی از عناصر و متابولیت‌های خونی بر روی بروز تکرر فحلی در گاوهای شیری انجام گرفت. برای انجام این تحقیق از ۶۲ راس گاو سالم و مبتلا به تکرر فحلی نمونه خون تهیه شد و غلظت فسفر، کلسیم، اوره، پروتئین تام، کلسترول، تری گلیسرید و گلوکز سرم آنها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و غلظت هورمون‌های انسولین و پروژسترون سرم با استفاده از روش الایزا اندازه گیری شد. برای بررسی اثرات بین متابولیت‌های اندازه گیری شده با ایجاد تکرر فحلی از دو مدل استفاده شد: ۱- با استفاده از رویه GLM اثر فصل تلقیح، شکم زایش، رکورد شیر ماه نمونه برداری و وضعیت دام بر روی متابولیت‌های اندازه گیری شده برآورد شد. نتایج نشان داد که وضعیت دام فقط روی فسفر و هورمون انسولین کاملاً معنی‌دار شد ( $P < 0/01$ ) فصل تلقیح روی غلظت فسفر، پروتئین تام و انسولین اثر بسیار معنی‌دار ( $P < 0/01$ )، و روی غلظت کلسیم و پروژسترون اثر معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) دارد و شکم زایش فقط روی میزان اوره خون ( $P < 0/05$ ) اثر معنی‌داری داشت. رکورد تولید شیر ماه نمونه برداری تأثیری روی هیچکدام از فاکتورهای مورد بررسی نداشت. ۲- در مدل دوم با استفاده از رگرسیون لجستیک اثرات متغیرهای مربوط به حیوان و متابولیت‌های اندازه گیری شده بر روی ایجاد تکرر فحلی آنالیز گردید که از بین عوامل موثر بر تکرر فحلی تنها غلظت انسولین سرم خون معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ) بدین معنی که اگر انسولین یک واحد زیاد شود نسبت دام‌های مبتلا به تکرر فحلی به دام‌های سالم به اندازه ۴/۱۰۲۱ واحد کاهش خواهد یافت. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق می‌توان گفت که یکی از علل ایجاد تکرر فحلی در گاوهای شیری کمبود یا افزایش برخی از هورمون‌ها، متابولیت‌ها و عناصر خونی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: الایزا، تکرر فحلی، پروژسترون، متابولیت‌های خونی

## مقدمه

تکرر فعلی یکی از مهمترین مشکلاتی است که بازده تولید مثل و اقتصاد تولید شیر را در حیوانات شیری تحت تأثیر قرار می‌دهد. تاکنون آسیب شناسی این بیماری به طور کامل مشخص نشده است. گاوی که به عنوان گاو مبتلا به تکرر فعلی شناخته می‌شود با وجود وضعیت طبیعی کلینیکی در آبستنی شکست می‌خورد و با داشتن فاصله های طبیعی بین دو فعلی مجدداً به فعلی باز می‌گردد و بعد از سه تلقیح آبستن نمی‌شود (آیلان ۱۹۷۸).

در تمام گله‌هایی که نرخ آبستنی به طور معمول در آنها بالاست درصدی از گاوها برای آبستن شدن نیازمند تکرر تلقیح به تعداد سه یا بیشتر هستند چنین گاوهایی اغلب به طور منظم و با فواصل ۲۱ روزه به فعلی برمی‌گردند و به دلایل فوق‌الذکر تشخیص اینکه در این گاوها باروری با شکست مواجه شده و یا اینکه نطفه از بین رفته است ممکن نیست (شهیدی و گندمی ثانی ۱۳۷۸).

زمانی که تکرر فعلی در گله تشخیص داده شد قدم اول در رفع این مشکل شناخت علت یا علت‌های آن است، ولی از آنجایی که فاکتورهای متعددی در شکست و یا موفقیت آبستنی دخیل هستند شناخت علل دقیق مشکل می‌باشد. گذشته از این علت‌های بیماری ممکن است شامل مشکلات موجود در گله و یا مشکلات انفرادی متفاوت در گاوها باشد. مهمترین یافته‌ها برای تلیسه‌های مبتلا به تکرر فعلی شامل استمرار فعلی، تأخیر در پیک LH، طول عمر طولانی فولیکول پیش از تخمک‌گذاری و تأخیر در صعود غلظت پروژسترون پلازما بعد از تخمک‌گذاری است. علت‌های تکرر فعلی به فاکتورهایی نسبت داده شده که ممکن است فاکتورهای ژنتیکی (آیلان ۱۹۷۸)، تغذیه‌ای، ناهنجاری‌ها و درگیری‌های هورمونی (کاتاگیری و همکاران ۲۰۰۴)، ناهنجاری در گامت، تأخیر در تخمک‌گذاری، عملکرد نامناسب و ناکافی جسم زرد (مائور و

واچترن کمپ ۱۹۸۵) عفونتها، عیوب آناتومیکی در مجاری تناسلی و مرگ زودرس رویانی و یا دلایل مدیریتی باشند. تخمدان‌های کیستی بعد از اولین سرویس و ابستگی قابل قبولی با بروز تکرر فعلی دارد و علت مهم ضرر در آبستنی است (بارتلت و همکاران ۱۹۸۶). کوری کین و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که کیفیت اووسیت‌ها و تعداد اووسیت‌های بدست آمده از گاوهای شیری مبتلا به تکرر فعلی بطور معنی‌داری کمتر از گاوهای نرمالی که در اوایل مرحله شیردهی بودند می‌باشد و این نشان داد که رشد ناکافی فولیکول‌ها و یا کیفیت پایین اووسیت‌ها ممکن است از علت‌های مسبب تکرر فعلی باشد.

میزان شیوع این بیماری از منطقه‌ای به منطقه دیگر متفاوت بوده و از ۸/۹ (بولمان و لامینگ ۱۹۸۷) تا ۲۵ درصد (بارتلت و همکاران ۱۹۸۶) گزارش شده است.

به طور کلی تولید یک گوساله در یک سال برای هر گاو در عمل حاصل نمی‌شود زیرا بسیاری از گاوها در زمان جفت‌گیری آبستن نمی‌شوند و مهمترین دلیل شاید کمبود مواد مغذی باشد. تغذیه اثر مهمی بر بهره‌وری تولید مثل در گاوهای شیری دارد، در این رابطه انرژی یک ماده مغذی مهم و مورد نیاز برای گاوها بوده و مصرف انرژی ناکافی اثر زیان‌آوری بر روی فعالیت‌های تولید مثلی در گاوهای ماده دارد.

گاوهای تغذیه شده با جیره حاوی پروتئین مازاد بر نیاز دام علایمی از قبیل افزایش در اوره خون، تغییر در ترکیبات مایع رحمی، کاهش در pH رحمی و کاهش نرخ آبستنی را نشان می‌دهند (باتلر و همکاران ۱۹۹۶). جردن و همکاران (۱۹۸۳) پیشنهاد کردند که افزایش غلظت اوره با اثر بر فعالیت جسم زرد و کاهش ترشح پروژسترون باعث کاهش باروری می‌گردد. مکانیسم‌های پیشنهادی که

کلاسترول پیش ساز متابولیکی پروژسترون است و غلظت آن در پلاسما بطور منفی و همچنین بطور معنی داری به تعداد روزهای باز وابسته است (گودن و همکاران ۱۹۹۹) ال بللی (۱۹۹۳) پیشنهاد کرد که تغییر سطح گلوکز خون ممکن است دلیلی برای کاهش عمل جسم زرد در گاوهای مبتلا به تکرر فحلی باشد. انسولین ممکن است برای تحریک آزاد سازی GnRH بر روی مغز اثر کند و یا ممکن است به طور مستقیم بر تخمدان های گاوی و تکثیر سلول های گرانولوزایی و تکا اثر کرده و همچنین استروئید سازی این سلول ها را تحریک کند (وتمن و باسیس ۲۰۰۰).

هدف از این تحقیق ارزیابی اثرات برخی از عناصر و متابولیت‌های خونی بر روی بروز تکرر فحلی در گاوهای شیری بود.

### مواد و روش ها

#### محل نمونه برداری

این تحقیق در واحد گاوداری شیری مجتمع کشت و صنعت دشت آذرنگین تبریز اجرا گردید. این گاوداری با ۱۵۰۰ راس دام یکی از بزرگترین گله های شیری شمال غرب کشور به شمار می‌رود. گاوهای این مجتمع در جایگاه نیمه باز نگهداری می شوند. خوراک دهی گاوها به صورت جیره کامل مخلوط (با مقدار مشخص کنسانتره، سیلاژ ذرت و یونجه) وبا استفاده از دستگاه فیدر انجام می‌شود. شیردوشی در این مجتمع در سه نوبت ۸ ساعته انجام می‌گیرد. دو نفر به صورت تمام وقت به عنوان فحل یاب در گاوداری مشغول به کار بودند.

#### نمونه برداری

از اواخر مهر ماه ۸۸ تا اواخر اردیبهشت ماه ۸۹ از ۳۴ راس گاو شیری مبتلا به تکرر فحلی و ۱۸ راس گاو سالم نمونه گیری خون به عمل آمد. در این تحقیق از روی

به وسیله آنها پروتئین خام جیره بر روی باروری گاو- های شیری اثر می‌کند عبارتند بودند از:

(۱) ترکیبات سمی که از متابولیسم نیتروژن (آمونیاک و اوره) بوجود می‌آیند ممکن است محیط رحمی را تحت تأثیر قرار دهند و اسپرم و تخمک و بقاء اولیه رویان را معیوب سازند،

(۲) تشدید اثرات توازن منفی انرژی در اوایل بعد از زایش،

(۳) کاهش غلظت پروژسترون پلاسما و

(۴) تشدید ترشح PGF<sub>2α</sub> (سانتس ۲۰۰۱).

مقدم و همکاران (۱۳۸۲) نیز اختلاف معنی داری در مقدار اوره خون گاوهای مبتلا به تکرر فحلی نسبت به گاوهای گروه کنترل (سالم) گزارش کرده اند.

فعالیت تخمدان ها نیز در نشخوارکنندگان تحت تأثیر کمبود مواد معدنی قرار می‌گیرد. عناصری از قبیل کلسیم و فسفر برای رشد و تولید مثل ضروری اند. مکانیسم های وابسته به کلسیم شامل بیوسنتز استروئید در غدد آدرنال و تخمدان هاست. کلسیم همچنین ممکن است به واسطه تأثیر گذاری بر تحویل کلاسترول یا بکار بردن کلاسترول در میتوکندری و یا به وسیله تحریک تبدیل پری گنولون به پروژسترون در استروئیدوژنز نقش داشته باشد. تحریک آزادسازی LH از سلولهای هیپوفیزی توسط GnRH نیز مستلزم مکانیسم های وابسته به کلسیم است. همچنین یون کلسیم برای ترشح انسولین مورد نیاز است (هارلی و دوآن ۱۹۸۹). مک کلیور (۱۹۹۴) بیان کرد که احتمالاً فسفر مهمترین عنصر خونی موثر بر باروری و عملکرد تولید مثلی دام است.

تأخیر در صعود طبیعی غلظت پروژسترون و غلظت کلی کمتر پروژسترون در گاوهای دارای باروری پایین و همچنین در تلیسه های دارای تکرر فحلی در روز ششم بعد از فحلی مشاهده شده است (لوسی ۲۰۰۱).

فصل گرم) و رکورد شیر ماه نمونه برداری) بر روی هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی و بر اساس مدل آماری زیر به کمک رویه GLM نرم افزار SAS 9.1 انجام گرفت.

$$Y_{ijkl} = \mu + \text{stat}_i + \text{sea}_j + \text{par}_k + \text{milk}_l + e_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$  = اثر هر مشاهده از هورمون و متابولیت‌های خونی

اندازه گیری شده

$\mu$  = میانگین کل

$\text{stat}_i$  = اثر وضعیت دام (دارای تکرر فعلی و یا سالم)

$\text{sea}_j$  = اثر فصل تلقیح (سرد و گرم)

$\text{par}_k$  = اثر شکم زایش (۱ و ۲ و ۳ و ۴ و ۵ و ۶ و ۷ و ۸)

$\text{milk}_l$  = اثر میزان تولید شیر ماه نمونه برداری به عنوان

عامل کواریت

$e_{ijkl}$  = اثر خطای تصادفی

### آنالیز آماری عوامل موثر بر روی وضعیت دام

در این مرحله از رویه Logistic نرم افزار SAS 9.1 جهت تجزیه داده‌ها استفاده شد. متغیرهای مربوط به حیوان و متابولیت‌های اندازه گیری شده به عنوان متغیرهای مستقل و وضعیت دام از نظر بروز فعلی نیز به عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد.

### نتایج و بحث

بررسی عوامل موثر بر روی غلظت هورمونی و متابولیت‌های خونی: اثر معنی داری عوامل مؤثر بر غلظت هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی در جدول ۱ آورده شده است. با بررسی جدول ۱ مشاهده شد که وضعیت دام فقط روی غلظت فسفر و انسولین تأثیر بسیار معنی دار ( $P < 0.01$ )، فصل تلقیح روی غلظت فسفر، پروتئین تام و انسولین اثر بسیار معنی دار ( $P < 0.01$ )، و روی غلظت کلسیم و پروژسترون اثر معنی داری ( $P < 0.05$ ) دارد در صورتی که شکم زایش فقط روی میزان اوره خون

کارت مشخصات، گاوهای غیر ابستن چند بار تلقیح شده با فاصله فعلی ۱۸ تا ۲۴ روز جدا شده و انهاییکه بعد از سه بار تلقیح به بعد ابستن نشده به عنوان گاو مبتلا به تکرر فعلی تلقی شد. گاوهای سالم در حقیقت گاو هایی بودند که برای بار اول بعد از زایمان علایم فعلی را نشان داده و تلقیح شدند، که از ۴۰ راس گاو یکبار تلقیح، فقط از ۱۸ راس بعلت عدم برگشتی به فعلی مجدد و ابستن شدن در اثر تلقیح اول نمونه گیری شد. نمونه برداری از خون به میزان ۵ میلی لیتر از طریق سیاهرگ دمی و بوسيله لوله‌های ونوجکت بدون ماده ضدانعقاد انجام گرفت. سپس نمونه های خونی در سریعترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و سرم های خونی با دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰ دور در ۱۵ دقیقه جدا شده و درون میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد و به فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد منتقل شدند. عناصر و متابولیت های خونی که اندازه گیری شدند شامل فسفر، کلسیم، گلوکز، پروتئین تام، اوره، کلسترول، تری گلیسرید و هورمون‌های پروژسترون و انسولین بودند. اندازه گیری هورمون‌های پروژسترون و انسولین با استفاده از روش الایزا و اندازه گیری متابولیت‌ها و عناصر خونی به وسیله کیت و اسپکتروفتومتر انجام شد. مقادیر صفات اندازه گیری شده، پروتئین بر حسب gr/dl، اوره mg/dl، کلسیم mg/dl، فسفر mg/dl، تری گلیسرید و کلسترول mg/dl، گلوکز mg/dl و پروژسترون ng/ml و انسولین  $\mu\text{IU/ml}$  گزارش شده است.

### آنالیز آماری عوامل موثر بر روی غلظت هورمون و

### متابولیت‌های خونی

در مرحله اول تأثیر متغیرهای مربوط به حیوان وضعیت تولیدمثلی دام، شکم زایش، فصل تلقیح (نمونه برداری از تاریخ ۸۸/۱۰/۱۱ تا ۸۹/۱/۲۰ به عنوان فصل سرد و از تاریخ ۸۸/۶/۲۲ تا ۸۸/۸/۱۰ و ۸۹/۱/۲۱ - ۸۹/۲/۳۱ به عنوان

( $P < 0/05$ ) اثر معنی داری داشت. رکورد تولید شیر ماه نمونه برداری تأثیری روی هیچکدام از فاکتورهای مورد بررسی نداشت.

جدول ۱- تأثیر معنی داری عوامل مؤثر بر هورمون‌ها و متابولیت‌های خونی

منبع تغییرات	درجه آزادی	P	Ca	Cp	Urea	Chol	Trig	Gluc	Prog	Insul
وضعیت دام	۱	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
فصل تلقیح	۱	**	*	**	ns	*	ns	ns	**	ns
شکم زایش	۶	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
رکورد شیر	۱	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

P (فسفر)، Ca (کلسیم)، Cp (پروتئین تام)، Urea (اوره)، Chol (کلسترول)، Trig (تری گلسیرید)، Gluc (گلوکز)، Prog (پروژسترون) و Insul (انسولین). ns غیر معنی دار، \*\* معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و \* معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵

فسفر سرم خون در گاوهایی که در فصل گرم تلقیح شدند بالاتر بود.

کاهش معنی دار در غلظت فسفر سرمی در ماه های سرد ممکن است وابسته با اثر آن در تحریک تولید گرما باشد. در علوفه های لگومی غلظت فسفر در مراحل اولیه رشد بالا می باشد بنابر این میزان فسفر خون زمانی که گاوها از علوفه تازه تغذیه می کنند بیشتر خواهد بود. این یافته ها با مشاهدات سیفی (۱۹۹۷) و پیترسون و والدن (۱۹۸۱) مغایرت داشت.

غیر معنی دار بودن اثر وضعیت دام بر روی غلظت کلسیم با مشاهدات مقدم و همکاران (۱۳۸۲) همخوانی و باننایج سیلان و همکاران (۲۰۰۸) و سیفی و همکاران (۲۰۰۵) مغایر بود. غیر معنی دار بودن اثر شکم زایش بر روی غلظت کلسیم با نتایج کومه و همکاران (۲۰۰۳) مغایر بود. بین غلظت های کلسیم سرم خون از نظر فصلی که در آن تلقیح انجام گرفته اختلاف معنی داری ( $P < 0/05$ ) وجود داشت و غلظت کلسیم سرم خون در گاوهایی که در فصل گرم تلقیح شدند بالاتر بود معنی دار بودن اثر فصل تلقیح بر روی غلظت کلسیم با نتایج شافر و همکاران (۱۹۸۱) مغایرت داشته و با نتایج رسولی و همکاران (۲۰۰۴) مطابق بود.

با بررسی جدول ۲ مشاهده می شود که غلظت فسفر و انسولین در گاوهای مبتلا به تکرر فحلی نسبت به گروه گاوهای کنترل به طور معنی داری پایین تر می باشد. کمبود فسفر باعث ایجاد اختلال در محور هیپوفیز - تخمدان و همچنین اختلال در تخمک گذاری می شود. فسفر برای انتقال و مصرف انرژی و برای متابولیسم طبیعی فسفولیپیدها مورد نیاز است. کمبود فسفر باعث توقف سیکل های فحلی بعد از زایمان و غیر فعال شدن تخمدان ها و افزایش تعداد تلقیحات به ازای هر آبستنی می شود.

جدول ۲- مقایسه میانگین حداقل مربعات وضعیت دام بر روی غلظت فسفر و انسولین سرم خون

وضعیت دام	فسفر mg/dl	انسولین $\mu$ IU/ml
دارای تکرر فحلی	۵/۷۶ <sup>b</sup>	۱۸/۰۸ <sup>b</sup>
سالم	۷/۰۴ <sup>a</sup>	۵۱/۳۵ <sup>a</sup>

با بررسی جدول ۳ مشاهده می شود که بین غلظت های فسفر سرم خون از نظر فصلی که در آن تلقیح انجام گرفته اختلاف کاملاً معنی داری ( $P < 0/01$ ) وجود دارد و غلظت

کلسیم از روده به واسطه نقش مهمی که ویتامین D دارد مختل می‌شود (چراغی ۱۳۷۶).

زمانی که بارندگی زیاد و تابش نور خورشید کم بوده و بیشتر حیوانات در اصطبل نگهداری می‌شوند میزان کمی از ویتامین D در بدن دام ساخته می‌شود در نتیجه جذب

جدول ۳- مقایسه میانگین حداقل مربعات فصل تلقیح بر روی غلظت هورمون و متابولیت‌های خونی

نوع فصل تلقیح	فسفر mg/dl	کلسیم mg/dl	پروتئین تام gr/dl	کلسترول mg/dl	پروژسترون ng/ml
سرد	۵/۷۲ <sup>a</sup>	۱۱/۲۷ <sup>a</sup>	۷/۹۲ <sup>a</sup>	۱۹۵/۴۵ <sup>a</sup>	۰/۸۶ <sup>b</sup>
گرم	۷/۰۸ <sup>b</sup>	۱۳/۰۸ <sup>b</sup>	۶/۸۴ <sup>b</sup>	۱۵۷/۴۷ <sup>b</sup>	۲/۶۳ <sup>a</sup>

حروف لاتین غیر مشابه در هر ستون بیانگر وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک در صد است.

مصرف پروتئین باشد. میزان گلوکز در فصل سرد و گرم به ترتیب ۶۷/۲۴ mg/dl و ۵۴/۷۰ mg/dl بود و میزان گلوکز در این تحقیق در فصل سرد بیشتر بود اگرچه اختلافها از نظر آماری معنی دار نبود

غیر معنی دار بودن اثر رکورد شیر ماه نمونه برداری بر روی اویره با نتایج زورک و همکاران (۱۹۹۹) و شرستا و همکاران (۲۰۰۵) مطابق و با نتایج رادس و همکاران (۲۰۰۳) و لوسی (۲۰۰۱) مغایر بود. غیر معنی دار بودن وضعیت دام بر روی اویره با نتایج باتلر و همکاران (۱۹۹۶) و شرستا و همکاران (۲۰۰۵) موافق ولی با نتایج باتلر و همکاران (۱۹۹۸)، باتلر (۲۰۰۵)، فرگوسن (۲۰۰۵) و مقدم و همکاران (۱۳۸۲) مغایرت داشته است. در صورت تغذیه گاوها با جیره حاوی پروتئین بالا و کربوهیدرات پایین ممکن است مقدار اویره خون گاو افزایش یابد، که این افزایش علاوه بر ایجاد استرس در دام باعث کاهش باروری می‌گردد. افزایش غلظت اویره خون ناشی از تغذیه با جیره‌های پر پروتئین و با RDP بالا اثرات مخربی بر روی غلظت هورمون‌های خون به خصوص پروژسترون دارد

غیر معنی دار بودن رکورد شیر ماه نمونه برداری بر روی کلسترول سرم با نتایج کئن و همکاران (۱۹۸۶) مغایر بود. غیر معنی دار بودن شکم زایش بر روی کلسترول سرم نیز با نتایج کئن و همکاران (۱۹۸۶) مغایر بود. غیر

با بررسی جدول ۱ مشاهده شد اثر وضعیت تولید مثلی دام، شکم زایش و رکورد شیر ماه نمونه برداری بر روی غلظت پروتئین تام سرم غیر معنی دار و اثر فصل تلقیح بر روی غلظت پروتئین سرم خون کاملاً معنی دار است ( $P < 0.01$ ). غیر معنی دار بودن اثر شکم زایش بر روی غلظت پروتئین تام سرم با نتایج رادس و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت داشته و با نتایج استاپلز و همکاران (۱۹۹۹)، راجا (۲۰۰۶) و لوسی (۲۰۰۱) مغایر بود. غیر معنی دار بودن اثر رکورد شیر ماه نمونه برداری بر روی غلظت پروتئین تام سرم با نتایج شرستا و همکاران (۲۰۰۵) مطابق ولی با نتایج رادس و همکاران (۲۰۰۳)، فرگوسن (۲۰۰۵) و وب و همکاران (۱۹۹۹) مغایر بود. غیر معنی دار بودن اثر وضعیت تولید مثلی دام بر روی غلظت پروتئین تام با نتایج مقدم و همکاران (۱۳۸۲) و شیراز خان و همکاران (۲۰۱۰) مغایر بود.

با بررسی جدول ۳ مشاهده می‌شود که بین میانگین غلظت پروتئین تام سرم خون از نظر فصلی که در آن تلقیح انجام گرفته اختلاف معنی داری ( $P < 0.01$ ) وجود دارد و غلظت پروتئین تام سرم خون در گاوهایی که در فصل گرم تلقیح شدند پایین تر بود که این با نتایج با مشاهدات پایین و همکاران (۱۹۷۴) و رسولی و همکاران (۲۰۰۴) مغایر بود. پایین بودن غلظت پروتئین در فصل گرم نسبت به فصل سرد شاید به دلیل کاهش غلظت گلوکز در فصل گرم و افزایش

سرم خون با نتایج فرگوسن (۲۰۰۵)، مانتیل و آهوجا (۲۰۰۵)، رسولی و همکاران (۲۰۰۴) والدن و همکاران (۱۹۸۸) مغایرت داشت ولی با نتایج رادس و همکاران (۲۰۰۳) مطابق بود. غیر معنی دار بودن اثر رکورد شیر ماه نمونه برداری روی غلظت گلوکز سرم خون با نتایج زورک و همکاران (۱۹۹۵) و شرستاو همکاران (۲۰۰۵) موافق ولی با نتایج باکلی و همکاران (۲۰۰۳)، رادس و همکاران (۲۰۰۳) و لوسی (۲۰۰۱) و هربین و همکاران (۱۹۸۵) مغایر بود. غیر معنی دار بودن اثر وضعیت دام روی غلظت گلوکز سرم خون با نتایج شیراز خان و همکاران (۲۰۱۰) و گورانی و چراغی (۲۰۰۳) مغایر بود.

غیر معنی دار بودن اثر وضعیت دام بر روی غلظت پروژسترون سرمی با نتایج فلسیانو و همکاران (۲۰۰۳) و والدمن و همکاران (۲۰۰۰) و کیمورا و همکاران (۱۹۸۷) مغایرت داشته و با نتایج راسل و همکاران (۱۹۷۷) مطابقت داشت. غیر معنی دار بودن اثر شکم زایش روی غلظت پروژسترون سرمی با نتایج فلسیانو و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت داشته و با نتایج سیلوا و همکاران (۲۰۰۲) و راسل و همکاران (۱۹۷۷) مغایرت داشت. معنی دار بودن اثر فصل روی غلظت پروژسترون سرمی با نتایج راسل و همکاران (۱۹۷۷) و استاهرینگرو همکاران (۱۹۹۰) مطابق بود.

استاهرینگر و همکاران (۱۹۹۰) غلظت پایین تر پروژسترون سرمی و چرخه های فحلی با طول مدت‌های غیر طبیعی را در تلیسه های برهنه و در طول ماه‌های زمستان مشاهده کرد. افزایش غلظت پروژسترون در فصل گرم نسبت به فصل سرد ممکن است به دلیل آزاد سازی پروژسترون از بافت چربی بدنی در هنگام استرس گرمایی باشد.

غیر معنی دار بودن اثر شکم زایش با نتایج میک و همکاران (۲۰۰۴) و کومه و همکاران (۲۰۰۳) و چاپا و همکاران (۲۰۰۱) همخوانی داشت. معنی دار بودن اثر وضعیت دام با

معنی دار بودن اثر وضعیت تولید مثلی دام بر روی کلاسترول سرم با نتایج کاپل و همکاران (۱۹۸۴) مغایر بود. معنی دار بودن اثر فصل با نتایج کزن و همکاران (۱۹۸۶) و ادفورد لیلجا و همکاران (۱۹۷۸) مغایر بوده و با نتایج رسولی و همکاران (۲۰۰۴)، اکلی و همکاران (۱۹۷۳) و سینها و همکاران (۱۹۸۱) مطابقت داشت.

میزان کلاسترول خون تحت تأثیر فعالیت تیروئید نیز قرار می گیرد و با تغییر فعالیت این غده، میزان کلاسترول سرم هم ممکن است تغییر کند. استرس گرمایی فعالیت غده تیروئید را می‌کاهد و بعضی پارامترهای بیوشیمیایی خون را تغییر می‌دهد. T3 سرمی همبستگی مثبت و معنی دار با غلظت سرمی کلاسترول دارد (رسولی و همکاران ۲۰۰۴). در این مطالعه کاهش کلاسترول در فصل گرم نسبت به فصل سرد شاید به دلیل کاهش T3 سرمی در فصل گرم و تأثیر آن بر غلظت کلاسترول باشد.

با بررسی جدول ۱ مشاهده می شود که اثر وضعیت تولید مثلی دام، فصل تلقیح، شکم زایش، و رکورد شیر ماه نمونه برداری بر روی غلظت تری گلیسرید غیر معنی دار است. غیر معنی دار بودن اثر وضعیت تولید مثلی دام بر غلظت تری گلیسرید با نتایج گورانی و چراغی (۲۰۰۳) مغایر بوده و غیر معنی دار بودن رکورد شیر ماه نمونه برداری بر روی تری گلیسرید با نتایج پوپپونه و همکاران (۱۹۸۰) همخوانی داشت.

با بررسی جدول ۱ مشاهده شد که اثر شکم زایش، وضعیت تولید مثلی دام، رکورد شیر ماه نمونه برداری و فصل تلقیح روی غلظت گلوکز سرم خون غیر معنی دار بود. غیر معنی دار بودن اثر شکم زایش روی غلظت گلوکز سرم خون با نتایج رادس و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت داشته ولی با نتایج استاپلز و همکاران (۱۹۹۰)، راجا (۲۰۰۶) و مانتیل و آهوجا (۲۰۰۵) و کومه و همکاران (۲۰۰۳) مغایر بود. غیر معنی دار بودن اثر فصل روی غلظت گلوکز

$$Y = 6.9471 - 4.1021 \text{ insulin}$$

Y = احتمال نسبت بیمار به سالم

با توجه به معادله فوق اگر انسولین یک واحد زیاد شود احتمال نسبت دامهای مبتلا به تکرر فعلی به دامهای سالم به اندازه  $4/1021$  واحد کاهش خواهد یافت.

افزایش قابلیت تولید شیر در گاوهای شیری در چندین دهه گذشته با کاهش باروری در این گاوها همراه بوده است که این کاهش به واسطه بروز تغییرات در فیزیولوژی تولیدمثل و افزایش تعداد سرویس‌ها به ازای هر آبستنی بوجود آمده و متعاقباً شیوع تکرر فعلی نیز در این میان افزایش یافته است. همچنین عدم تعادل در ترشح هورمونهای هیپوفیز - هیپوتالاموس و نیز عدم ترشح هورمون‌ها در زمان مناسب عامل دیگری در بروز تکرر فعلی می‌باشد. کمبود هورمون‌ها از جمله انسولین و عناصری از قبیل فسفر، کلسیم و افزایش متابولیت‌هایی از قبیل اوره ممکن است در ایجاد تکرر فعلی دخیل باشد.

سبب شناسی سندرم تکرر فعلی به دلیل تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی بسیاری بر آن عموماً بسیار دشوار می‌باشد. فاکتورهای داخلی و خارجی بوجود آورنده آن معمولاً با هم هم‌پوشانی داشته و از اینرو تشخیص علت اولیه این سندرم مشکل می‌باشد ولی از آنجا که عدم تعادل تغذیه‌ای از علت‌های معمول در تکرر فعلی شناخته شده بنابر این با موازنه دقیق جیره غذایی می‌توان از شدت تکرر فعلی کاست. وضعیت باروری گله گاوشیری باید به طور منظم و تقویم دار توسط آزمایشات خونی بررسی گردد تا به موقع به وجود کمبود مواد مغذی پی‌برده و با تدبیر و مدیریت صحیح از پیشرفت و عوارض آنها جلوگیری گردد. بنابراین توصیه می‌شود که آزمایشات بیوشیمیایی خون در سطح وسیع تری در گله‌های درگیر با تکرر فعلی انجام گیرد و با توجه به تأثیر استرس بر بروز تکرر فعلی باید تلاش بیشتری برای

نتایج سلواراجو و همکاران (۲۰۰۲) همخوانی داشت. غیر معنی‌دار بودن اثر رکورد شیر ماه نمونه برداری با نتایج میک و همکاران (۲۰۰۴) مطابق ولی با نتایج هربین و همکاران (۱۹۸۵) و گنگ و همکاران (۲۰۰۲) مغایر بود. غیر معنی‌دار بودن اثر فصل با نتایج چاپا و همکاران (۲۰۰۱) همخوانی داشت و با نتایج ریست و همکاران (۲۰۰۳) مغایر بود.

مشاهده می‌شود که گاوهای مبتلا به تکرر فعلی بطور معنی‌داری غلظت پایین تری از انسولین را نسبت به گاوهای گروه کنترل در زمان تلقیح دارند. زمانی که در گاوها بالانس منفی انرژی رخ می‌دهد غلظت خونی NEFA افزایش می‌یابد و در همین زمان غلظت IGF-I، گلوکز و انسولین پایین است این تغییرات در متابولیت‌ها و هورمون‌های خونی ممکن است فعالیت تخمدان‌ها را به خطر اندازد. از آنجا که انسولین و IGF-I میانجی‌های مهم در توسعه فولیکولی، تولید استروئید (استروئید سازی) و بلوغ اووسیت و توسعه و رشد جنین هستند، بنابراین کمبود انسولین در زمان تلقیح بر تولیدمثل اثر منفی می‌گذارد. همچنین افزایش آمونیاک پلاسما هم می‌تواند دلیلی بر کاهش انسولین باشد.

نتایج رگرسیون لجستیک روی عوامل موثر بر بروز تکرر فعلی

جدول ۴- تجزیه رگرسیون لجستیک عوامل موثر بر روی

وضعیت دام

منبع تغییرات	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
انسولین	۱	۱۰/۵۷۹۵	۰/۰۰۱۱

نتایج رگرسیون لجستیک نشان می‌دهد که اثرات میزان غلظت انسولین بر روی وضعیت دام (دارای تکرر فعلی یا بیمار - سالم) معنی‌دار و سایر اثرات معنی‌دار نبودند که از مدل اولیه حذف شدند براین اساس مدل لجستیک به صورت زیر اجرا گردید:



کاهش تنش و استرس های حاصله و مقابله با آنها انجام داد. از بذل توجه و زحمات جناب آقای مهندس ناصر قاسمی مدیرعامل و کادر فنی شرکت کشت و صنعت و دامپروری دشت آذرنگین تشکر و قدردانی می‌گردد.

سپاسگزاری

### منابع مورد استفاده

- چراغی ج. ۱۳۷۶. بررسی میزان گلوکز- کلسترول- تری گلیسرید- آلبومین و پروتئین تام سرم در گاوهای واکل ( repeat breeder cow)، پایان نامه دکتری دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز.
- شهیدی ر، گند می ثانی ح ر. ۱۳۷۸. تولید مثل در گاو (ترجمه). چاپ اول. انتشارات نور بخش.
- مقدم غ، دقیق کیا ح، تاجیک پ، یاسان پ، ۱۳۸۲، بررسی نارسایی تولید مثلی فارمهای شیری با استفاده از متابولیک پروفایل تست. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره ۵۸. شماره ۲. صفحات ۱۸۱-۱۸۶
- Ayalon N, 1978. A review of embryonic mortality in cattle. *J Reprod Fert* 54:483-493.
- Bartlett PC, Kirk JH, Mther EC, 1986. Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology* 26:309-322.
- Butler WR, 1998. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J Dairy Sci* 81:2533-2539.
- Butler WR, 2005. Relationships of dietary protein and fertility. *J Advance in Dairy Technology*. 17:159-168.
- Bulman DC, lamming GE, 1987. Milk progesterone levels in relation to conception repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J Reprod Fert* 54:447-458.
- Buckley F, Sullivant KO, Mee JF, Evans RD, Dillon P, 2003. Relationships among milk yield, body condition, cow weight, reproduction in spring calved Holstein Friesians. *J Dairy Sci* 86:2308-2319.
- Butler WR, Calaman JJ, Beam SW, 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J Anim Sci*. 74:858-865.
- Ceylan A, Serin I, Aksit H, Seyrek k, 2008. Concentration of some element in dairy cows with reproductive disorders. *Bull vet inst pulawy*. 52:109-112.
- Chagas e silva J, Dacosta L, Silvaj R, 2002. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology* .58:51-59.
- Chapa AM, McCormick ME, Fernandez JM, French DD, Ward JD, Beatty JF, 2001. Supplemental dietary protein for grazing dairy cows: reproduction, condition loss, plasma metabolites, and insulin. *J Diry Sci* 84:908-916.
- Edfords-lilja I, Ganhe B, Lundstrom K, Derelius k and Edqurist LE, 1978. Repeatability and genetic variation of cholesterol concentration in bovine blood plasma .correlation with growth rate, carcase quality and milk production. *Swedish J Agric Res* 8:113-122.
- EL-Belely MS, 1993. progestrone, estrogen and selected biochemical constituents in plasma and uterine flushings of normal and repeat breeder buffalo cows. *J Agri Sci* 120:241-250.
- Eldon J, Thorsteinsson TH and Olafsson TH, 1988. The concentration of blood glucose, urea, calcium and magnesium in milking dairy cows. *J Vet Med seri A* 35:44-53.
- Feliciano MDC, Mateus L and Dacosta LL, 2003. Luteal function and, etabolic parameters in relation to conception in inseminated dairy cattle. *RPCV*.98 (545):25-31.
- Ferguson J D, 2005. Nutrition and reproduction in dairy herds. *J Vet Clin Food Anim* 21:325-347.

- Gong JG, Lee WJ, Garnsworthy PC, Webb R, 2002. Effect of dietary –induced increases in circulating insulin concentration during the early post partum period on reproductive function in dairy cows. *Reprod* 123:419-427.
- Goorani Nejad S, Cheraghi J, 2003. The study of serum level of glucose, cholesterol, triglyceride, albumin and total protein in repeat breeder native cows. *Acta vet Scand Suppl*.98.
- Guedon L, Saumande J, Dupron F, Couquet C, Desbals B, 1999. Serum cholesterol and triglycerides in postpartum beef cows and their relationship to the resumption of ovulation. *Theriogenology*.51:1405-1415.
- Herbein JH, Aiello RJ, Eckler LI, Pearson RE, Akers, RM, 1985. Glucagon, insulin, growth hormone, and glucose concentrations in blood plasma of lactating dairy cows. *J of Dairy Sci* 68:320-325.
- Hurley WL, Doane RM, 1989. Recent development in the roles of vitamins and minerals in reproduction. *J Dairy Sci* 72:784-804.
- Jordan ER, Chapman TE, Holtan DW, Swanson LV, 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 66:1854.
- Kappel LC, Ingraham RH, Morgan EB, Zeringue L, Wilson D and Babcock DK, 1984. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Am J Vet Res* 45(12):2607-12.
- Katagiri S and Takahashi Y, 2004. Changes in EGF concentration during estrous cycle in bovine endometrium and their alterations in repeat breeder cows. *Theriogenology*.62:103-112.
- Kimura M, Nakao T, Moriyoshi M and Kawata K, 1987. Luteal phase deficiency as a possible cause of repeat breeding in dairy cows. *Br Vet J* 143:560-6.
- Kume SI, Nonaka K and Oshita T, 2003. Relationship between parity and mineral status in dairy cows during the periparturient period. *Anim Sci J* 74:211-215.
- Kurykin J, Waldman A, Tiirats T, Kaart T and Jaakma U, 2010. Morphological quality of oocytes and blood plasma metabolites in repeat breeding and early lactation dairy cows. *Reprod Dom Anim*.
- Kweon OK, Ono H, Osasa K, Onda M, Oboshi K, Uchisugi H, Kurosawa S, Yamashina H and Kanagawa H, 1986. Factors affecting serum total cholesterol level of lactating holstein cow. *J Vet Sci* 48(3)481-486.
- Lucy M C, 2001. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end. *J Dairy Sci* 84:1277-1293.
- Maurer RR, Echternkamp SE, 1985. Repeat breeder females in beef cattle: influences and causes. *J Anim Sci* 61:624-636.
- McClure TJ, 1994. Nutritional and metabolic infertility in the cows. CAB international. pp: 6-45.
- Meikle A, Kulsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D and Chilibruste P, 2004. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*.127: 727-737.
- Montiel F and Ahuja C, 2005. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Anim Reprod Sci*, 85(1-2):1-26.
- O'Kellya J C, 1973. Plasma lipid changes in genetically different types of cattle during hyperthermia. *Br J Nurt*, 30: 211-220.
- Peterson R, Waldern DE, 1981. Repeatability of serum constituents in holstein Friesian affected by feeding, age, lactation and pregnancy. *J Dairy Sci*.64:822-831.
- Puppione DL, Smith NE, Clifford CK and Clifford AJ, 1980. Relationships among serum lipids, milk production and physiological status in dairy cows. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*.65: 319-323.
- Rasooli A, Nouri M, KadjeH G H and Rasekh A, 2004. The influences of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle. *Iranian J Vet Research* 5:2.

- Reist M, Erdin DK, Euw DV, Tschumperlin KM, Leuenberger H, Hammon HM, Morel C, philipona C, Zbinden Y, Kunzi N and Blum JW, 2003. Postpartum reproductive function: association with energy metabolic and endocrine status in high yielding dairy cows. *J Theriogenology*. 59:1707-1723.
- Rhodes FM, Mcdougall S, Burke CR, Verkerk GA and Macmillan KL, 2003. Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *J Dairy Sci* 86:1876-1894.
- Roche JF, 2006. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *J Anim Rep* 96:282-296.
- Roussel JD, Beatty JF and Lee JA, 1977. Influence of season and reproductive status on peripheral plasma progesterone levels in the lactation bovine. *Int J Biometeor*.pp:85-91.
- Santos JEP, 2001. Dietary ingredients and nutritional management impact fertility in dairy cattle. boise. ID pp 189-219.
- Seifi H, 1997. Evaluation of metabolic profile condition in some dairy farms in Tehran province for the degree of phd in large animal internal medicine. *Fac of Vet Med* 47:206-241.
- Seifi H A, Farzaneh Nand Mohri M, 2005. Relationship between fertility, serum calcium and inorganic phosphorus in dairy cows. *Iranian J Vet Res* 6:12.
- Selvaraju S, Agarmal SK, Karche SD, Srivastava SK, Majumdar AC and Shankar U, 2002. Fertility responses and hormonal profile in repeat breeding cows treated with insulin. *Anim Reprod Sci*. 73:141-149.
- Shaffer L, Roussel JD, Koonce KL, 1981. Effect of age, temperature, season and breed on blood characteristic of dairy cattle. *J Dairy Sci* 64:62-70.
- Shrestha H K, Nakao T, Suzuki T, Akita M and Higaki T, 2005. Relationships between body condition score , body weight, and some nutritional parameters in plasma and resumption of ovarian cyclicity postpartum during pre service period in high –producing dairy cows in a subtropical region in japan.*J Theriogenology*.64:855-866.
- Shiraz khan A T and Selvasubramaniyan S, 2010. Blood biochemical profile in repeat breeding cows. *Tamilnadu J Vet and Anim Sci* 6(27):75-80.
- Sinha RK, Thakuria BN, Baruah RN, Sarma BC, 1981.Effect of breed, age, sex and season on total serum cholesterol level in cattle. *Ind Vet J* .58:529-533.
- Stahring R C, Neuendroff D A and Randal R D, 1990.Seasonal variation in characteristics of estrous cycles in pubertal Brahman heifers .*Theriogenology* .34:407. Staples, C.R, Tatcher, W.W., and Cloork, J.H. 1990.Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci*.73:938-947
- Staples CR, Tatcher WW and Cloork JH, 1990. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 73:938-947
- Villa-Godoy A, Hughes TL, Emery RS, Chapin LT and Fogwell RL, 1988. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows, *J Dairy Sci* 71: 1063-1072.
- Waldman A, Reksen O, Landsverk K, Kommisrud E, Dahl E, Refsdal AO and Ropstad E, 2001. Progesteron concentration in milk fat at first insemination – effects on non – return and repeat breeding. *Anim Reprod Sci* 65:33-41.
- Webb R, Gransworthy PC, Gong JG, Robinson RS and Wathes DC, 1999. Consequences for reproductive function of metabolic adaption to load metabolic stress in dairy cows. *British Society of Anim Sci* NO.24.
- Wetteman RP and Bossis I, 2000. Energy intake regulates ovarian function in beef cattle. *Proceeding of American Society of Animal Science*. E 27.
- Zurek E, Foxcroft GR and Kennelly J, 1995. Metabolic status and interval to first ovulation in post partum dairy cows. *J Dairy Sci* 78:1909-1920.

## The relationship between some blood elements and metabolites with repeat breeding in dairy cows at Azarnegin dairy farm

V Azadi Kohnehshahri<sup>1</sup>, Gh Moghaddam<sup>2</sup>, N Pirany<sup>3</sup> and H Daghigh Kia<sup>4</sup>

Received: March 13, 2012 Accepted: June 9, 2013

<sup>1</sup>Former MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Shahr e Kord, Iran

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\*Corresponding Author: Email: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir

### Abstract

This study was carried out to evaluate effect of some blood elements and metabolites on repeated breeding in dairy cows. Blood samples (n=62) were taken from both healthy and repeated breeding cows. Then, the concentrations of glucose, urea, total protein, calcium, phosphorus, cholesterol and triglyceride were measured with spectrophotometer and of insulin and progesterone hormones with ELISA. Two statistical models were used in this study: in the first model, using GLM procedure, the effects of status, parity, breeding season and milk records in sampling month (as covariate) on measured blood metabolites and hormones. The results indicated that breeding status of animal had significant effect ( $P<0.01$ ) on blood phosphorus and insulin and breeding season had highly significant effect ( $P<0.01$ ) on blood's phosphorus, total protein and insulin while had significant effect ( $P<0.05$ ) on calcium and progesterone. Parity had significant effect ( $P<0.05$ ) on blood's urea only. Milk records in sampling month had no any significant effects on any of the metabolites and hormones. In the second model, the logistic regression was used to find any relationship between animal's status with measured variables. The results showed that blood insulin concentration had significant effect ( $P<0.01$ ) only. It can be conclude that with one unit increase in insulin concentration, probability ratio of healthy to diseased animals increased by 4.1021 units.

**Keywords:** Blood metabolites, ELISA, Progesterone, Repeat Breeder