مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۴ شماره ۱/ سال۱۴۰۳/ صفحات ۴۵ تا ۶۱
DOI: 10.22034/as.2023.55421.1697

اثر تزریق اسید آسکوربیک و مس بر غلظت فراسنجه‌های سرم و بروز ناهنجاری‌های متابولیکی در گاوهای دوره انتقال تحت تنش گرمایی

هوشنگ جعفری[1*]، فرشید فتاح‌نیا[2]، شریف خدامرادی[3] و گلناز تأسلی[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۸

[1] استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
[2] دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه ایلام
[3] دانش‌آموخته دکتری علوم دامی، دانشگاه ایلام
[4] استادیار بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد
[*] مسئول مکاتبه: Hoshang_Jafari@Yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: دوره انتقال پرتنش‌ترین دوره فیزیولوژیکی برای گاوهای شیری بوده و به‌دلیل تضعیف سیستم ایمنی اکثر بیماری‌های متابولیکی و عفونی در این دوره اتفاق می‌افتد. یکی از راهکارهای بهبود عملکرد سیستم ایمنی در طی دوره انتقال استفاده از مکمل‌های ویتامینی و معدنی است. **هدف:** این آزمایش به‌منظور مطالعه تأثیر تزریق ویتامین C و مس در گاوهای دوره انتقال انجام شد. **روش کار:** تیمارهای آزمایشی شامل شاهد (تزریق ۷ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد)، مس (تزریق ۷۵ میلی‌گرم مس به هر رأس گاو)، ویتامین C (تزریق ۲۵ میلی‌گرم ویتامین C به ازای هرکیلوگرم وزن زنده)، و مس–ویتامین C (تزریق همزمان ۲۵ میلی‌گرم ویتامین C به ازای هر کیلوگرم وزن زنده و ۷۵ میلی‌گرم مس به هر رأس) بودند. آزمایش در فصل تابستان بر روی ۴۰ رأس گاو هلشتاین (۲۰ رأس زایش دوم و ۲۰ رأس زایش سوم و چهارم) انجام شد. تزریق‌ها در روزهای ۴۰ و ۲۰ قبل از زایش مورد انتظار ، روز زایش و ۲۰ روز پس از زایش انجام گردید. **نتایج:** تیمارهای آزمایشی اثری بر غلظت ویتامین C، سوپراکسید دیسموتاز، فسفر، منیزیم، گلوکز، تری‌گلیسرید، HDL–کلسترول، اسیدهای چرب غیراستریفیه و بتاهیدروکسی بوتیرات سرم نداشتند. تزریق همزمان ویتامین C و مس باعث افزایش غلظت مس در روزهای ۱۰ و ۲۰ پس از زایش و تمایل به افزایش غلظت کلسترول سرم در روز ۱۰ و ۳۰ پس از زایش شد. غلظت کلسیم سرم در روز زایش در گاوهای دریافت کننده همزمان ویتامین C و مس در مقایسه با سایر تیمارها تمایل به افزایش داشت. بیشترین موارد بروز جفت‌ماندگی و ورم پستان بالینی در گاوهای گروه شاهد مشاهده شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** به‌طور کلی تزریق ویتامین C و مس به دلیل بهبود عملکرد سیستم ایمنی مانع از بروز جفت‌ماندگی و کاهش وقوع ورم پستان در گاوهای دوره انتقال در فصل تابستان شد.

واژه‌های کلیدی: تنش حرارتی، جفت‌ماندگی، مس، ورم پستان، ویتامین C

مقدمه

دوره انتقال از نظر متابولیکی یک دوره چالش برانگیز و تنش‌زا برای گاوهای شیری است . یکی از عوامل مؤثر در افزایش حساسیت به بیماریهای دوره انتقال، چالش‌های دوره قبل از زایش است که منجر به تنش فیزیولوژیکی می‌شود (دراکلی ۱۹۹۹) و نیز به‌طور چشمگیری متابولیسم حیوان را به سمت تأمین مواد مغذی برای سنتز شیر توسط غدد پستانی سوق می‌دهد (گوف و همکاران ۲۰۰۲). در طول دوره انتقال، گاوهای پرتولید که تحت شرایط تنش حرارتی نگهداری می‌شوند، با کاهش مصرف خوراک، تعادل منفی انرژی (دراکلی ۱۹۹۹)، تنش اکسیداتیو (سوردیلو و ایتکن ۲۰۰۹) و سرکوب سیستم ایمنی (نوردهویزن و بونفوی ۲۰۱۵) مواجه می‌شوند که در مجموع باعث افزایش حساسیت گاوهای شیری به بیماری‌های دوره انتقال خواهد شد (سوردیلو و ایتکن ۲۰۰۹).

از جمله راهبردهایی که می‌توان برای کنترل تنش‌های دوره انتقال اتخاذ نمود، استفاده از ویتامین‌ها و مواد معدنی کاهنده‌ی تنش است. اسید ال-آسکوربیک یا ویتامینC یک آنتی‌اکسیدان مهم محلول در آب است که از اکسیداسیون پروتئین و DNA در سلول‌ها جلوگیری می‌کند و با تقویت دیواره سلولی سبب کاهش بروز عفونت می‌گردد (انجمن تحقیقات ملی، ۲۰۲۱). ویتامین C از نوتروفیل‌ها در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد مرتبط با شیوع اکسیداتیو محافظت می‌کند (ولف ۱۹۹۳). و ظرفیت فاگوسیتوزی نوتروفیل‌ها به دنبال مصرف مکمل ویتامین C افزایش می‌یابد (روت و کائبرل ۱۹۸۵). همچنین باعث تحریک تولید اینترفرون (کیم و همکاران ۲۰۱۳) و پاسخ‌های شیمیایی گلبول‌های سفید (گوئتزل ۱۹۷٤) می‌شود و بنابراین از سلول‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کند. اسید آسکوربیک با کمک به حفظ فعالیت ویتامین E بافت‌ها در بهبود پاسخ ایمنی مؤثر است (عرب و همکاران ۲۰۰٤). چندین مطالعه کاهش سطح ویتامین C در خون را در طول تنش و بیماری در گاو و سایر نشخوارکنندگان گزارش کرده‌اند (رنجان و همکاران ۲۰۰۵؛ علی ۲۰۰۰). کاهش سطح ویتامین C در هنگام تنش و بیماری‌ها ممکن است به دلیل کاهش سنتز داخلی آن یا افزایش تقاضا یا ترکیبی از هر دو آنها باشد. هر شرایطی که در دسترس بودن پیش‌سازهای ویتامین C مانند گلوکز و گالاکتوز را کاهش دهد (به عنوان مثال در گاوهای شیری پرتولید)، ممکن است منجر به سنتز ناکافی ویتامینC در بدن شود (مکلئود و همکاران ۱۹۹۹). سطح ویتامین C پلاسما در گاو در طول تنش گرمایی کاهش می‌یابد (پاردیلا و همکاران ۲۰۰٦). مکمل اسید اسکوربیک در کاهش تنش گرمایی در گاومیش موثر بود (کومار و همکاران ۲۰۱۱). تجویز تزریقی ویتامین C به تنهایی یا همراه با آنتی بیوتیک داخل پستان، میزان بهبودی ورم پستان گاو را بهبود داده است (نارش و همکاران ۲۰۰۲). علاوه بر این، اسید اسکوربیک در محیط شکمبه بسیار ناپایدار است (مکلئود و همکاران ۱۹۹۹؛ تیلر و کامینز ۲۰۰۳)، بنابراین تجویز تزریقی بهترین راه برای مکمل ویتامین C در نشخوارکنندگان است (رنجان و همکاران ۲۰۱۲).

مس به عنوان کوفاکتور در چندین واکنش آنزیمی دخیل در تولید گلبول‌های قرمز خون، تولید انرژی، تشکیل هورمون‌های نوراپی‌نفرین، تیروکسین و گونادوتروپین‌ها، سنتز کلاژن و محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو مورد نیاز است (لوپز-آلونسو و میراندا ۲۰۲۰). مس یک جزء ضروری آنزیم سیتوکروم اکسیداز است، بنابراین این عنصر از طریق سیتوکروم اکسیداز در تولید انرژی و کاهش بالانس منفی انرژی مؤثر است (سپیرز ۱۹۹۹). کاهش قابل توجه سیتوکروم اکسیداز در بافت دستگاه گوارش در حیوانات با کمبود مس مشاهده شده است (سوردیلو ۲۰۱٦). مس به دلیل عملکرد شبه انسولین سبب افزایش ورود گلوکز به بافت‌ها می‌گردد (صیدیق و همکاران ۲۰۱٤) و در کاهش بروز کتوز و ناهنجاری‌های مربوط به کمبود انرژی اثر دارد. مس به عنوان اجزای آنتی‌اکسیدانی ضروری پروتئین‌ها و

آنزیم‌ها بویژه سوپراکسید دیسموتاز در متابولیسم اکسیداتیو و عملکرد بهینه سیستم ایمنی گاوهای شیری نقش دارد و در محافظت سلول‌های ایمنی در مقابل تنش اکسیداتیو دخالت دارد (اورتون و یاسویی ۲۰۱٤). سرولوپلاسمین که یک پروتئین دارای مس است در بافت‌های فراوانی در بدن وجود دارد (پروهاسکا و گیبینا ۲۰۰٤) و از طریق حذف رادیکال‌های آزاد (سائنکو و همکاران ۱۹۹٤) بویژه در شرایط تنش حرارتی که میزان این رادیکال‌ها افزایش می‌یابد بر بهبود سیستم ایمنی مؤثر است. کمبود مس یکی از شایع‌ترین مشکلات گاوهای با علائم بالینی و تحت بالینی در دنیا است (تورع و همکاران ۱۹۹٦). هنگامی که میزان مس ناکافی است، غلظت آن در خون ممکن است به دلیل تأمین از ذخیره کبدی طبیعی به‌نظر برسد (ورمونت و وست ۱۹۹٤)، اما عملکرد متابولیکی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (عنگل ۲۰۰۱). افزایش آسیب DNA در گاوهای دارای کمبود مس گزارش شده است (پیکو و همکاران ۲۰۰٤) که ممکن است به عدم توانایی حیوان از طریق محافظت آنتی‌اکسیدانی مربوط باشد (میناتل و کارفاگنینی ۲۰۰۰). تضعیف سیستم ایمنی در حیوانات با کمبود مس گزارش شده است (هیل و همکاران ۲۰۱۹؛ تورع و همکاران ۱۹۹٦). حتی کمبود جزئی مس در جیره غذایی، عملکرد نوتروفیل‌های خون را در گاوهای شیری کاهش داده است (تورع و همکاران ۱۹۹٦). کمبود مس در نوتروفیل‌ها سبب افزایش فعالیت سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌گردد. همچنین کمبود مس باعث کاهش تولید آنتی‌بادی می‌شود (سوردیلو ۲۰۱۸). تزریق مس همراه با ویتامین C به سرپستانک یا داخل پستان در پیشگیری و درمان ورم پستان در گاوهای شیری مؤثر بوده است (رنجان و همکاران ۲۰۱۲). تزریق زیرجلدی دو میلی‌لیتر گلیسینات مس در روز سبب بهبود ورم پستان در گاوهای شیری شد (گاخار و همکاران ۲۰۱۰). تزریق درون وریدی ۷ گرم ویتامین C به‌مدت ۳ روز متوالی (بورس و همکاران ۲۰۱٦) و تزریق زیرجلدی ۲۵ میلی‌گرم ویتامین C به ازای هر کیلوگرم وزن زنده (نارش و همکاران ۲۰۰۲) سبب کاهش ورم پستان در گاوهای شیرده شد.

در این پژوهش فرض شد تزریق همزمان ویتامین C و مس در گاوهای شیری دوره انتقال تحت تنش حرارتی می‌تواند با بهبود سیستم ایمنی، احتمال بروز بیماری‌های عفونی و ناهنجاری‌های متابولیکی را کاهش دهد که بر سلامت گاوشیری و عملکرد تولیدی آن اثر مثبت دارد. بنابراین، این آزمایش با هدف مطالعه اثر تزریق محلول ویتامین C و مس بر فراسنجه‌های بیوشیمیایی، غلظت عناصر معدنی سرم، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و بروز ناهنجاری‌های متابولیکی گاوهای شیری دوره انتقال در شرایط تنش حرارتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مجتمع پرورش گاو شیری ۵۰۰ رأسی (شرکت کشت و صنعت بازوی کشاورز استان کرمانشاه) و در طول ماه‌های خرداد تا شهریور انجام شد. تعداد ٤۰ رأس گاو شیری هلشتاین شامل ۲۰ رأس زایش دوم (میانگین وزن ۵۱ ± ٦۰۳/۲ کیلوگرم) و ۲۰ رأس زایش سوم و چهارم (میانگین وزن ۵۳ ± ٦٦۹/۱ کیلوگرم) از ٤۰ روز قبل از زمان مورد انتظار زایش تا ۹۰ روز پس از زایش استفاده گردید. گاوهای زایش دوم یا زایش سوم و چهارم بر اساس وزن بدن دسته‌بندی و سپس به صورت تصادفی به تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شدند. به گونه‌ای که در هر تیمار ۵ راس گاو زایش دوم و ۵ راس گاو زایش سوم و چهارم وجود داشت. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) شاهد، ۲) تزریق محلول سولفات مس، ۳) تزریق محلول ویتامین C، و ٤) تزریق همزمان محلول ویتامین C و سولفات مس بودند. به گاوهای گروه شاهد محلول نمکی سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد به صورت زیرجلدی تزریق شد. محلول ویتامین C به میزان ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن زنده دام در روز به صورت زیرجلدی و محلول

سولفات مس به مقدار ۷۵ میلی‌گرم به ازاء هر رأس در روز به‌صورت داخل عضلانی تزریق شد. زمان‌های تزریق سرم فیزیولوژیک، محلول حاوی ویتامین C و محلول حاوی مس در روز ٤٠ و ٢٠ قبل از زمان مورد انتظار زایش، روز زایش و ۲۰ روز بعد از زایش بود. شاخص حرارت–رطوبت (THI) با توجه به مقدار دما و رطوبت محل اجرای آزمایش در ماه‌های خرداد، تیر و شهریور در دامنه ۷۲ تا ۷۸ بود و تحت این شرایط (دیو پریز و همکاران ۱۹۹۰) گاوها با تنش حرارتی مواجه بودند. گاوهای در انتظار زایش دو بار و گاوهای تازه‌زا و اوایل شیردهی سه بار در روز با جیره‌های کاملاً مخلوط شده تغذیه شدند. جیره‌ها مطابق با توصیه‌های مؤسسه تحقیقات ملی تنظیم شد (انجمن تحقیقات ملی ۲۰۰۱). مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌ها به ترتیب در جدول ۱ نشان داده شده است. گاوها در طول دوره آزمایش به آب به‌صورت آزاد دسترسی داشتند.

Table 1- Feed ingredient and chemical composition of close-up, fresh and early lacataion diets

	Diet		
	Close-up	**Fresh**	**Early lactation**
Feed ingredient (% of DM)			
Alfalfa hay	11.92	13.61	10.60
Corn silage	62.72	54.16	54.01
Barley straw	1.91	0.80	0.60
Barley grain	1.92	3.10	3.40
Corn grain	11.00	14.32	15.87
Wheat bran	3.00	0.90	1.00
Canola meal	2.00	2.21	2.40
Soybean meal	2.53	6.80	7.62
Meat meal	0	0.90	1.00
Fat supplement[1]	0	0.90	1.00
Calcium carbonate	0.40	0.90	1.00
Salt	0	0.20	0.20
Sodium bicarbonate	0.40	0.90	1.00
Minerals-vitamin premix[2]	2.20	0.30	0.30
Chemical composition (% of DM)			
DM	54.2	51.4	51.9
CP	14.6	17.7	17.8
EE	3.1	4.1	5.5
NFC	34.2	37.1	37.1
NDF	38.3	32.5	32.0
Ash	9.8	8.5	7.6
Ca	1.2	0.8	0.9
P	0.4	0.4	0.4
Mg	0.4	0.3	0.3
K	1.0	1.1	1.1
Se (mg/kg DM)	0.4	0.4	0.4
Fe (mg/kg DM)	185	155	159
Zn (mg/kg DM)	59	88	87
Cu (mg/kg DM)	15	18	19
Mn (mg/kg DM)	45	56	58
NEL (Mcal/kg DM)	1.6	1.7	1.7

[1]Calcium salt of fatty acids.

[2]The mineral and vitamin premix contained (1 kg premix): 140 g Ca, 20 g P, 35 g Mg, 40 g Cr, 40 g S, 1200 mg Mn, 1000 mg Zn, 800 mg Cu, 8 mg Co, 10 mg Iodine, 400 mg Fe, 15 mg Se, 20000 mg vitamin NA, 350000 IU vitamin A, 60000 IU vitamin D3, 4000 IU vitamin E, and 650 g anion salts and for fresh and early lactation cows contained: 160 g Ca, 20 g P, 40 g Mg, 30 g Na, 20 g S, 5000 mg Mn, 7000 mg Zn, 3000 mg Cu, 50 mg Co, 80 mg Iodine, 1000 mg Fe, 45 mg Se, 125 mg vitamin Biotin, 800000 IU vitamin A, 150000 IU vitamin D3, 3500 IU vitamin E.

CP = Crude protein; EE = Ether extract, NFC = None fiber carbohydrate = 100 – (%NDF + %CP + %EE + %ash), NDF = Neutral detergent fiber

نمونه‌گیری از جیره گاوهای انتظار زایش، تازه‌زا و اوایل شیردهی انجام شد. ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر با روش‌های استاندارد (AOAC ۲۰۰۰) و الیاف غیرقابل حل در شوینده خنثی و اسیدی بدون استفاده از آلفا آمیلاز مقاوم به حرارت و تصحیح برای خاکستر با دستگاه فایبرتک (مدل Hot Extractor 2010، شرکت Foss، هیلرود، دانمارک) اندازه‌گیری شدند (ون سوست و همکاران ۱۹۹۱). غلظت کلسیم، فسفر، منیزیم، پتاسیم، آهن، مس، سلنیوم، منگنز و روی جیره‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل nov AA 400P، شرکت Analytikjena، جنا، آلمان) اندازه‌گیری گردید.

در روزهای ٤٠ و ٢٠ قبل از زمان مورد انتظار زایش، روز زایش و روزهای ۱۰، ۲۰ و۳۰ بعد از زایش، خون‌گیری از سیاهرگ دم انجام شد. پس از جداسازی سرم، نمونه‌ها تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت پروتئین کل، گلوکز، کلسترول کل،HDL–کلسترول، تری‌گلیسرید، منیزیم، کلسیم و فسفر سرم با کیت‌های ایرانی شرکت پارس‌آزمون (شماره کیت: ٢١٣٧٦) و غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه و بتاهیدروکسی بوتیرات با کیت رندوکس (شرکت Randox، انگلستان) و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (مدل BT1500، شرکت Biotecnica Instruments ، رم، ایتالیا) و و غلظت مس سرم با استفاده از دستگاه جذب اتمی (مدل nov AA 400P، شرکت Analytikjena ، جنا، آلمان) در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه ایلام اندازه‌گیری شد. . غلظت ویتامین C سرم و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با روش الایزا و دستگاه الایزا ریدر (مدل ELX800، شرکت BioTek، وینوسکی، آمریکا) و کیت (شرکت ZellBio، آلمان) اندازه‌گیری شد.

وقوع بیماری‌های عفونی و ناهنجاری‌های متابولیکی شامل ورم‌پستان بالینی، جفت‌ماندگی و لنگش در تیمارهای مختلف با تأیید دامپزشک ثبت شد. درصد بروز هر ناهنجاری به صورت تعداد دام دارای ناهنجاری بر تعداد کل دام‌ها در هر تیمار بیان شد.

قبل از آنالیز آماری، با استفاده از رویه UNIVARIATE نرم افزار SAS داده‌ها از نظر نرمال بودن مورد بررسی قرار گرفتند. ساختار کوواریانس هتروژنوس اتورگرسیو نوع ۱ در مدل مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های مربوط به غلظت ویتامین‌ها، مواد معدنی، آنزیم های آنتی‌اکسیدان و فراسنجه های سرم با استفاده از رویه MIXED نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (۲۰۱٤) تجزیه واریانس شدند.

برای مواردی که اثر بلوک (شکم زایش) معنی‌دار بود از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijkl} = \mu + Vit\ C_i + Cu_j + (Vit\ C \times Cu)_{ij} + B_k + C_j\ (B_k) + e_{ijkl}$$

در این رابطه، μ: میانگین جمعیت؛ $Vit\ C_i$: اثر تزریق محلول ویتامین C؛ Cu_j: اثر تزریق محلول مس؛ $(Vit\ C \times Cu)_{ij}$: اثر متقابل تزریق ویتامین C و مس؛ B_k: اثر بلوک (شکم زایش)؛ $C_j \times (B_k)$: اثر تصادفی گاو درون بلوک و e_{ijkl}: اثر خطای آزمایشی می‌باشند.

برای مواردی که اثر بلوک (شکم زایش) معنی‌دار نبود از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijk} = \mu + Vit\ C_i + Cu_j + (Vit\ C \times Cu)_{ij} + C_j + e_{ijk}$$

در این رابطه، μ: میانگین جمعیت؛ $Vit\ C_i$: اثر تزریق محلول ویتامین C؛ Cu_j: اثر تزریق محلول مس؛ $(Vit\ C \times Cu)_{ij}$: اثر متقابل تزریق ویتامین C و مس؛ C_j: اثر تصادفی گاو درون تیمار و e_{ijk}: اثر خطای آزمایشی می‌باشند. به‌دلیل این‌که گاوهای مورد استفاده برای آزمایش ممکن است کاملاً با هم مشابه نباشند اثر تصادفی دام در مدل استفاده شد. مقایسه میانگین صفات مذکور بین تیمارها با استفاده از آزمون توکی انجام شد. اثرات عوامل مذکور در مدل در سطح احتمال کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند و تمایل به معنی‌داری در سطح احتمال بیشتر از ۰/۰۵ و کمتر از ۰/۱۰ در نظر گرفته شد. داده‌های مربوط به بروز ناهنجاری‌های متابولیکی به صورت درصد گزارش شد.

نتایج و بحث

غلظت مس، ویتامینC و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم: اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت مس، ویتامین C و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم گاوها در جدول ۲ گزارش شده است. غلظت ویتامینC سرم گاوها تحت تأثیر برهم‌کنش تزریق محلول ویتامین C و مس قرار نگرفت (P> ۰/۰۵). تزریق محلول مس در مقایسه با عدم تزریق آن بر غلظت ویتامین C سرم گاوها تاثیری نداشت (P> ۰/۰۵) در حالی که تزریق محلول ویتامین C در مقایسه با عدم تزریق آن سبب افزایش غلظت این ویتامین در روز ۲۰ قبل زایش، روز زایش، روز ۱۰ پس از زایش،روز ۲۰ پس از زایش و روز ۳۰ پس از زایش در سرم گاوها شد (P < ۰/۰۵). همسو با نتایج این آزمایش سطوح ۲۰، ٤۰ و ٦۰ میلی‌گرم مکمل ویتامین C به ازای هرکیلوگرم وزن زنده در گاوهای حاصل از تلاقی نژاد سیاه ژاپنی × هلشتاین (پاردیلا و همکاران ۲۰۰۷)، استفاده از سطح ۱۰ گرم در روز مکمل آسکوربیل ۲- فسفات در تلیسه‌های هلشتاین (تیلر و کامینز ۲۰۰۳)، سطوح ۳، ۱٦/۵ و ۳۰ گرم در روز مکمل ویتامین C در جیره گاوهای شیرده (ویس ۲۰۰۱)، باعث افزایش غلظت ویتامین C سرم شد. در حالی که استفاده از ۳/۷ گرم مکمل ویتامین C در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای پرواری (کیوساک ۲۰۰۵)،۱۰ گرم مکمل ویتامین C در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گوساله‌های جوان (ایچر- پرویت و همکاران ۱۹۹۲) و استفاده از ۱۰ میلی‌گرم مکمل ویتامین C به ازای هرکیلوگرم وزن زنده در جیره گاو (پاردیلا و همکاران ۲۰۰۷) تأثیری بر غلظت ویتامین C سرم نداشت. نحوه استفاده ویتامین (از طریق جیره در مقابل تزریق) بر غلظت آن در سرم اثر دارد، ویتامین C در شکمبه به شدت مورد تخریب قرار گرفته و بنابراین مصرف آن از طریق جیره ممکن است بر غلظت ویتامین در سرم اثر داشته باشد (تیلر و کامینز ۲۰۰۳)، اما در آزمایش حاضر به دلیل این که تجویز از طریق تزریق بود لذا می‌توان افزایش غلظت این ویتامین در سرم گاوها را به نحوه تجویز ویتامینC (تزریق) و در نتیجه عدم تخریب در شکمبه و عدم اثر متقابل با عوامل مختلف در جیره ارتباط داد.

غلظت مس سرم گاوها در روزهای ۲۰ قبل از زایش، زایش و ۳۰ پس از زایش تحت تأثیر برهم کنش تزریق ویتامین C و مس قرار نگرفت (P> ۰/۰۵) اما غلظت آن در روزهای ۱۰ و ۲۰ پس از زایش در گاوهای دریافت کننده هم‌زمان محلول مس و ویتامین C در مقایسه با سایر گاوها بالاتر بود (P< ۰/۰۵). تزریق محلول مس در مقایسه با عدم تزریق آن، غلظت عنصر مس سرم را در روزهای ۲۰ قبل زایش، زایش، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پس از زایش افزایش داد (P< ۰/۰۵). همسو با نتایج این آزمایش، استفاده از ۱۰ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوها و گوساله‌های پرواری (جنگلباچ و همکاران ۱۹۹٤)، استفاده از سطوح ۵ و ۱۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاو (سپیرز ۲۰۰٤)، سطوح ۲۰ و ٤۰ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیر گوساله‌های پرواری (عنگل و همکاران ۲۰۰۰)، سطوح ۳۱/۵ و ٤۱/۵ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای شیری (یانگ و همکاران ۲۰۰۷)، تزریق زیرجلدی ۲ میلی‌لیتر محلول گلیسینات مس در روز در گاوهای شیری (گاخار و همکاران ۲۰۱۰) و مصرف روزانه ۵۰ میلی‌گرم مکمل مس در گاو (وارد و همکاران ۱۹۹٦) باعث افزایش غلظت مس سرم شد. برخلاف نتایج آزمایش حاضر در برخی مطالعات دیگر، استفاده از مس در جیره بر غلظت مس سرم اثری نداشت. به عنوان مثال استفاده از سطوح ۱۰ و ٤۰ میلی‌گرم مکمل سولفات مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای هلشتاین (عنگل و همکاران ۲۰۰۱)، سطح ۳۰ میلی‌گرم مکمل سولفات مس در هرکیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای نر هلشتاین (فاگاری-نوبیجاری و همکاران ۲۰۱۳)، سطوح ۵ و ۸۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای هلشتاین و جرزی (دیو و همکاران ۱۹۹٦)، سطوح ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم مکمل

مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای شیرده هلشتاین (سپولدرز و همکاران ۲۰۱۰)، سطوح ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای شیری (چاس و همکاران ۲۰۰۰؛ یوست و همکاران ۲۰۰۲) و استفاده از مکمل معدنی حاوی ۷۵ میلی‌گرم مس در گاوهای شیرده (گاندا و همکاران ۲۰۱٦) اثری بر غلظت مس سرم نداشت.

تأثیر مثبت تزریق همزمان مس و ویتامین C در افزایش غلظت مس سرم در روزهای ۱۰ و ۲۰ پس از زایش را ممکن است به نقش این ریزمغذی‌ها در ساختمان و فعالیت آنزیم لیزیل اکسیداز ارتباط داشته باشد. بر اساس برخی پژوهش‌ها، اسید آسکوربیک سبب کاهش فعالیت لیزیل اکسیداز می‌گردد از طرفی این آنزیم به‌عنوان یک آنزیم وابسته به مس شناخته می‌شود (کیورویاناگی و همکاران ۲۰۰۲). لذا می‌توان گفت کاهش احتمالی فعالیت لیزیل اکسیداز در اثر ویتامین C ممکن است منجر به کاهش مس مورد نیاز برای این آنزیم و در نتیجه افزایش غلظت مس سرم در اثر این کاهش مصرف شود.

برهم‌کنش تزریق مس و ویتامین C و یا تزریق ویتامین C به تنهایی بر غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم گاوهای مورد آزمایش اثری نداشت (P >۰/۰۵) اما تزریق محلول مس در مقابل عدم تزریق آن باعث افزایش غلظت این آنزیم در روزهای ۲۰ قبل زایش، زایش، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پس از زایش شد (P < ۰/۰۵). همسو با نتایج این آزمایش، تزریق محلول مواد معدنی حاوی ۷۵ میلی‌گرم مس در گاوهای شیری هلشتاین در دوره انتقال (ماچادو و همکاران ۲۰۱٤)، استفاده از سطوح ۳۱/۵ و ٤۱/۵ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای شیری (یانگ و همکاران ۲۰۰۷)، سطوح ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گوساله‌های نر پرواری (عنگل و همکاران ۲۰۰۰)، و مصرف روزانه ۵۰ میلی‌گرم مکمل مس در گاو (وارد و همکاران ۱۹۹٦) باعث افزایش غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم شد. با این‌حال، تزریق محلول مواد معدنی حاوی ۱۵ میلی‌گرم مس در گوساله‌های شیرخوار (تیکسیرا و همکاران ۲۰۱٤) بر غلظت سوپراکسید دیسموتاز سرم آنها اثری نداشت. نظر به این که مس جزعی از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است (سیوتل ۲۰۱۰)، لذا افزایش غلظت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سرم گاوها در آزمایش حاضر را می‌توان به افزایش غلظت مس سرم آنها ربط داد.

غلظت کلسیم، فسفر و منیزیم سرم گاوها: اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت کلسیم، فسفر و منیزیم سرم گاوهای مورد آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. برهم‌کنش تزریق مس و محلول ویتامین C یا تزریق مس یا محلول ویتامین C به تنهایی در مقابل عدم تزریق آن‌ها بر غلظت فسفر و منیزیم سرم گاوها اثری نداشت (P > ۰/۰۵). غلظت کلسیم سرم گاوهای دریافت کننده ویتامین C بدون تزریق مس در روز زایش در مقایسه با تیمارهای دیگر تمایل به افزایش داشت (P =۰/۰۷). همسو با نتایج این آزمایش، تزریق مواد معدنی آنتی‌اکسیدان (شامل ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم به ترتیب مکمل سلنیوم، منگنز، مس و روی) در روز زایش (گاندا و همکاران ۲۰۱٦) و روزهای ۲۳۰ و ۲٦۰ آبستنی (بیکالهو و همکاران ۲۰۱٤) اثری بر غلظت کلسیم، فسفر و منیزیم سرم گاوهای شیری نداشت.

Table 2- Effect of Cu and vitamin C injection on serum concentrations of Cu, vitamin C and superoxide dismutase of dairy cows in transition period

Item	+ Vitamin C		- Vitamin C		SEM	P- value			
	+Cu	-Cu	+Cu	-Cu		Parity	Vit C	Cu	Vit C× Cu
Vitamin C (µg/ml)									
d 20 Prepartum	5.48	6.55	4.08	4.30	0.343	0.55	0.01	0.08	0.23
Parturition day	5.72	5.62	3.64	3.83	0.254	0.07	<0.01	0.87	0.58
d 10 Postpartum	5.15	5.09	3.28	3.00	0.293	<0.01	0.01	0.57	0.71
d 20 Postpartum	5.04	4.85	3.30	2.85	0.198	<0.01	<0.01	0.12	0.53
d 30 Postpartum	4.93	4.88	3.34	3.30	0.206	<0.01	<0.01	0.81	0.95
Cu (ppm)									
d 20 Prepartum	1.73	1.12	1.84	1.18	0.088	0.32	0.34	0.01	0.80
Parturition day	2.09	1.04	1.92	1.00	0.104	0.62	0.30	<0.01	0.53
d 10 Postpartum	2.59[a]	1.33[c]	2.13[b]	1.30[c]	0.088	0.48	0.11	<0.01	<0.01
d 20 Postpartum	2.83[a]	1.25[c]	2.30[b]	1.41[c]	0.132	0.30	0.17	0.01	0.01
d 30 Postpartum	2.80	1.25	2.45	1.36	0.136	0.63	0.37	<0.01	0.10
Superoxide dismutase (IU/ml)									
d 20 Prepartum	11.30	10.23	12.06	10.34	0.207	0.53	0.11	<0.01	0.12
Parturition day	11.71	10.75	11.99	10.32	0.251	0.93	0.77	0.01	0.16
d 10 Postpartum	12.05	11.70	12.91	11.07	0.304	0.60	0.22	<0.01	0.12
d 20 Postpartum	12.07	10.75	11.69	10.87	0.453	0.03	0.77	0.04	0.58
d 30 Postpartum	12.29	10.99	12.03	10.88	0.542	0.20	0.73	0.04	0.88

[a-c] Values with differing letters within the same row are significantly different (P<0.05).
+Vitamin C= injection of 25 mg vitamin C solution/kg BW; -Vitamin C= without vitamin C injection; +Cu= injection of 75 mg copper solution/head/d; -Cu= without copper injection.

Table 3- Effect of Cu and vitamin C injection on serum concentrations of Ca, P and Mg of dairy cows in transition period

Serum minerals	+ Vitamin C		- Vitamin C		SEM	P- value		
	+Cu	-Cu	+Cu	-Cu		Vit C	Cu	Vit C× Cu
Ca (mg/dl)								
d 20 Prepartum	9.81	9.80	9.68	9.40	0.185	0.16	0.44	0.47
Parturition day	8.88	9.17	8.98	8.67	0.147	0.19	0.94	0.07
d 10 Postpartum	9.40	9.46	9.29	9.55	0.166	0.95	0.35	0.55
d 20 Postpartum	9.56	9.50	9.51	9.20	0.185	0.34	0.31	0.56
d 30 Postpartum	9.57	9.48	9.23	9.36	0.164	0.19	0.92	0.53
P (mg/dl)								
d 20 Prepartum	5.36	4.95	5.51	5.19	0.179	0.30	0.10	0.83
Parturition day	4.76	4.76	5.05	4.96	0.202	0.24	0.82	0.81
d 10 Postpartum	5.89	5.73	5.60	5.23	0.238	0.13	0.30	0.68
d 20 Postpartum	6.06	5.35	5.57	5.43	0.243	0.41	0.10	0.28
d 30 Postpartum	5.67	5.36	5.64	5.40	0.216	0.97	0.25	0.85
Mg (mg/dl)								
d 20 Prepartum	2.91	2.92	2.95	2.87	0.082	0.95	0.68	0.55
Parturition day	2.68	2.52	2.80	2.70	0.102	0.15	0.22	0.81
d 10 Postpartum	2.80	2.88	2.84	2.89	0.084	0.73	0.47	0.84
d 20 Postpartum	2.78	2.80	2.82	2.80	0.095	0.84	0.95	0.80
d 30 Postpartum	2.79	2.51	2.89	2.97	0.094	0.10	0.98	0.44

+Vitamin C= injection of 25 mg vitamin C solution/kg BW; -Vitamin C= without vitamin C injection; +Cu= injection of 75 mg copper solution/head/d; -Cu= without copper injection.

ویتامین C بر فعالیت آنزیم‌های هیدروکسیلاز در کلیه و کبد برای تولید شکل فعال ویتامین D_3 (۱ و ۲۵ دی‌هیدروکسی‌کوله‌کلسی‌فرول) اثر مثبت دارد. ۱ و ۲۵ دی‌هیدروکسی‌کوله‌کلسی‌فرول سبب افزایش جذب کلسیم از روده می‌شود (لوهاکارع و همکاران ۲۰۰۵). از طرفی ثابت شده که ویتامین C حساسیت گیرنده‌های سطح سلول به هورمون پارتورمون را افزایش می‌دهد (مک کایولی و همکاران ۱۹۹۶)، بنابراین ممکن است دلیل تمایل

به افزایش غلظت کلسیم سرم در روز زایش در گاوهای
دریافت کننده ویتامین C باشد.

Table 4- Effect of Cu and vitamin C injection on serum concentrations of glucose, BHB, NEFA, total protein, TG, total cholesterol and HDL-cholesterol of dairy cows in transition period

Serum parameters	+ Vitamin C		- Vitamin C		SEM	P- value		
	+Cu	-Cu	+Cu	-Cu		Vit C	Cu	Vit C×Cu
Glucose (mg/dl)								
d 20 Prepartum	74.24	78.71	76.09	77.78	2.384	0.85	0.21	0.57
Parturition day	91.37	85.33	84.86	86.09	3.642	0.44	0.52	0.33
d 10 Postpartum	82.67	84.36	81.39	80.41	1.910	0.19	0.85	0.49
d 20 Postpartum	81.64	79.56	83.07	82.72	2.924	0.44	0.68	0.77
d 30 Postpartum	78.18	75.81	78.59	75.58	2.725	0.98	0.34	0.91
Beta hydroxybutyrate (µmol/l)								
d 20 Prepartum	481.98	482.05	481.40	483.23	10.993	0.98	0.93	0.94
Parturition day	859.76	832.03	836.45	848.09	15.462	0.82	0.61	0.21
d 10 Postpartum	850.25	833.15	846.34	842.92	17.345	0.87	0.57	0.70
d 20 Postpartum	768.80	731.75	743.82	757.97	20.301	0.98	0.59	0.22
d 30 Postpartum	713.00	699.38	705.27	716.35	18.273	0.80	0.94	0.50
NEFA (µmol/l)								
d 20 Prepartum	235.72	242.43	236.48	243.55	10.782	0.93	0.54	0.99
Parturition day	540.70	531.52	513.70	536.75	21.340	0.61	0.75	0.45
d 10 Postpartum	541.59	527.00	524.31	534.60	25.184	0.85	0.93	0.62
d 20 Postpartum	396.16	406.78	366.94	390.45	19.025	0.25	0.39	0.74
d 30 Postpartum	403.74	396.47	377.42	381.70	14.093	0.16	0.92	0.68
Total protein (mg/dl)								
d 20 Prepartum	7.53	8.02	8.36	7.20	0.345	0.99	0.35	0.07
Parturition day	7.53	7.46	8.11	7.72	0.232	0.07	0.33	0.55
d 10 Postpartum	7.71	7.82	8.29	7.60	0.233	0.44	0.23	0.13
d 20 Postpartum	7.60	7.53	7.90	7.90	0.210	0.13	0.88	0.90
d 30 Postpartum	8.05	7.51	7.80	8.00	0.191	0.57	0.42	0.99
Triglyceride (mg/dl)								
d 20 Prepartum	36.33	33.50	38.83	33.33	2.465	0.64	0.11	0.60
Parturition day	36.80	33.72	40.62	41.02	2.304	0.06	0.58	0.46
d 10 Postpartum	34.75	34.14	38.75	38.68	2.644	0.12	0.90	0.92
d 20 Postpartum	40.48	33.38	36.80	34.34	2.545	0.60	0.07	0.38
d 30 Postpartum	35.90	31.71	36.55	31.17	2.570	0.87	0.12	0.67
Total cholesterol (mg/dl)								
d 20 Prepartum	136.8	134.7	143.9	134.3	2.871	0.28	0.06	0.21
Parturition day	142.5	136.4	149.6	141.6	3.228	0.07	0.06	0.78
d 10 Postpartum	187.2	167.7	174.6	175.8	4.694	0.64	0.06	0.06
d 20 Postpartum	200.8	184.5	186.9	190.4	5.679	0.50	0.27	0.10
d 30 Postpartum	198.7	187.37	187.7	194.8	4.904	0.72	0.67	0.06
HDL- cholesterol (mg/dl)								
d 20 Prepartum	79.03	74.84	77.19	77.93	2.670	0.82	0.53	0.37
Parturition day	80.72	75.84	81.41	79.68	2.725	0.41	0.25	0.57
d 10 Postpartum	84.87	80.11	83.15	83.69	2.274	0.69	0.37	0.26
d 20 Postpartum	83.80	84.21	82.18	82.30	2.455	0.48	0.91	0.95
d 30 Postpartum	83.49	84.27	80.27	84.96	2.714	0.64	0.33	0.48

+Vitamin C= injection of 25 mg vitamin C solution/kg BW; -Vitamin C= without vitamin C injection; +Cu= injection of 75 mg copper solution/head/d; -Cu= without copper injection.

فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم گاوها: اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم گاوهای مورد آزمایش در جدول ٤ ارائه شده است. برهم‌کنش تزریق محلول مس و ویتامین C و نیز تزریق

محلول مس یا ویتامین C به تنهایی در مقایسه با عدم تزریق آن‌ها بر غلظت گلوکز، بتاهیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب غیراستریفیه و HDL–کلسترول سرم گاوها اثری نداشت (P > ۰/۰۵). همچنین غلظت پروتئین کل سرم گاوهای آزمایشی دریافت کننده ویتامین C در مقایسه با عدم دریافت آن در روز زایش تمایل به کاهش داشت (P =۰/۰۷). غلظت تری‌گلیسرید سرم گاوها در روز زایش در تیمارهای دریافت کننده ویتامین C تمایل به کاهش (P =۰/۰۶) و در ۲۰ روز پس از زایش در تیمارهای دریافت کننده محلول مس تمایل به افزایش (P =۰/۰۷) داشت. غلظت کلسترول کل سرم در روز ۲۰ قبل از زایش، روز زایش و روز ۱۰ پس از زایش در تیمارهای دریافت کننده مس در مقایسه با عدم دریافت آن تمایل به افزایش داشت (P =۰/۰۶). غلظت کلسترول کل سرم در روزهای ۱۰ و ۳۰ پس از زایش در تیمارهای دریافت کننده همزمان ویتامین C و مس در مقایسه با سایر تیمارها تمایل به افزایش داشت (P=۰/۰۶).

در مطالعات محققین دیگر مصرف سطوح ۱۰ و ٤۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای شیری هلشتاین بر غلظت کلسترول (عنگل و همکاران ۲۰۰۱) و مصرف ۲۰ و ٤۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گوساله‌های نر پرواری بر غلظت تری‌گلیسرید و اسیدهای چرب غیراستریفیه سرم (عنگل و همکاران ۲۰۰۰) اثری نداشت. در حالی‌که مصرف ۳۰ میلی‌گرم مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره گاوهای نر هلشتاین در مقایسه با عدم مصرف آن باعث کاهش کلسترول و افزایش پروتئین کل سرم شد (فاگاری- نوبیجاری و همکاران ۲۰۱۳) و استفاده از ۱۵ میلی‌گرم مکمل مس در هرکیلوگرم ماده خشک جیره گوساله‌های پرواری سبب کاهش گلوکز و افزایش اسیدهای چرب غیراستریفیه خون شد (کاستیلو و همکاران ۲۰۱۲). مصرف سطوح ۵، ۱۰ و ۲۰ گرم در روز مکمل ویتامین C در گوساله‌های در حال رشد اثری بر غلظت غلظت اسیدهای چرب آزاد و گلوکز سرم نداشت (پوگ و هانسن ۲۰۱۳). تزریق مواد معدنی شامل مس، روی، منگنز و سلنیوم در روزهای ۲۳۰ و ۲٦۰ آبستنی (بیکالهو و همکاران ۲۰۱٤) و مصرف جیره دارای مواد معدنی شامل مس، منگنز، ید، کبالت، سلنیوم، روی و ویتامین از ۲۱ روز قبل تا روز ٦۰ بعد از زایش در گاوهای شیری (خرسندی و همکاران ۲۰۱٦) بر غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات و اسیدهای چرب غیراستریفیه سرم اثری نداشت. تمایل به افزایش غلظت تری‌گلیسرید و کلسترول در پیرامون زایش در گاوهای دریافت کننده مس را می‌توان تا حدودی به بالانس منفی انرژی و افزایش جزعی تجزیه بافت چربی ارتباط داد. در مطالعه‌ای نتایج متفاوت استفاده از مکمل مس بر غلظت کلسترول پلاسما به تفاوت‌های نژادی ارتباط داده شده است (عنگل و همکاران ۲۰۰۱). تمایل به کاهش پروتئین کل در روز زایش ممکن است ناشی از این حقیقت باشد که جنین برای سنتز پروتئین مورد نیاز خود تمام اسیدهای آمینه را از دام مادر دریافت می‌کند. به‌گونه‌ای که در اواخر آبستنی رشد عضلات جنین به حداکثر میزان خود می‌رسد و بنابراین بخش عمده‌ای از پروتئین مادر صرف سنتز بافت‌های جنین آن می‌شود. از طرفی افزایش استفاده از گلوبولین برای سنتز آغوز در اواخر آبستنی ممکن است دلیل دیگری برای کاهش غلظت پروتئین کل بویژه در روز زایش باشد (چراغی مشعوف و همکاران ۲۰۱۸).

بروز ناهنجاری‌های متابولیکی: اثر تیمارهای آزمایشی بر درصد گاوهای مبتلا به جفت‌ماندگی، ورم پستان و لنگش در جدول ۵ ارائه شده است. در گاوهای دریافت‌کننده محلول مس یا ویتامین C به تنهایی جفت‌ماندگی مشاهده نگردید. درصد گاو مبتلا به ورم پستان بالینی در تیمارهای دریافت کننده محلول ویتامین C یا محلول مس به تنهایی و محلول حاوی ویتامین C و مس به ترتیب ۲۰، ۱۰ و ۱۰ درصد در مقابل ۳۰ درصد عدم تزریق این محلول‌ها بود. ابتلا به لنگش در گاوهای دریافت کننده محلول ویتامین C یا محلول مس به تنهایی

مشاهده نشد. همسو با نتایج این آزمایش استفاده از سطح ۳۰ میلی‌گرم مکمل مس در هر کیلوگرم ماده خشک جیره باعث کاهش لنگش در گاوهای نر هلشتاین شد (فاگاری- نوبیجاری و همکاران ۲۰۱۳). در مطالعه‌ای غلظت ویتامین C و مس سرم در گاوهای‌های مبتلا به جفت ماندگی از گروه شاهد کمتر بود (احمد و همکاران ۲۰۰۹). در حالی‌که در پژوهشی دیگر غلظت مس سرم گاوهای مبتلا به جفت‌ماندگی تفاوتی با گروه شاهد نداشت (شیتال و همکاران ۲۰۱٤). همسو با نتایج آزمایش حاضر در مطالعه‌ای تزریق زیرجلدی دو میلی‌لیتر گلیسینات مس در روز سبب کاهش ورم پستان در گاوهای شیری گردید (گاخار و همکاران ۲۰۱۰). این اثر مثبت مس در بهبود ورم پستان توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است (نوکلز و بلیر ۱۹۹٦). تزریق درون وریدی ۷ گرم ویتامین C به‌مدت ۳ روز متوالی (بورس و همکاران ۲۰۱٦) و تزریق زیرجلدی ۲۵ میلی‌گرم ویتامین C به ازای هر کیلوگرم وزن زنده (نارش و همکاران ۲۰۰۲) سبب بهبود ورم پستان در گاوهای شیرده گردید.

Table 5- Effect of vitamin C and Cu injection on incidence rate of retained placenta, clinical mastitis and lameness of dairy cows in transition period

Metabolic disorder	+ Vitamin C		- Vitamin C	
	+Cu	-Cu	+Cu	-Cu
Retained placenta (%)	10	0	0	20
Clinical mastitis (%)	10	20	10	30
Lameness (%)	10	0	0	10

دفاع از پستان و حذف عوامل عفونی وظیفه اصلی نوتروفیل‌ها است (رادوستیتس و همکاران ۱۹۹٤). نوتروفیل‌ها به‌منظور دفاع از دام میزبان باید توانایی مهاجرت و چسبیدن به عوامل بیماری‌زا را داشته باشند. برای انجام این وظایف، این سلول‌ها به ویتامین C بیش از هر ویتامین دیگری نیاز دارند (باسو و شوراه ۱۹۸۲). اسید آسکوربیک علاوه بر اثر بر سیستم ایمنی، در هیدروکسیلاسیون پرولین و لیزین برای سنتز کلاژن (زوبای ۱۹۹۳) نقش دارد. افزایش سنتز کلاژن کمک فراوانی به بهبود ورم پستان می‌کند (نارش و همکاران ۲۰۰۲). مس نیز در حفظ و بهبود سیستم ایمنی نقش دارد و بر فعالیت مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و سلول‌های دفاعی تأثیر مثبت دارد (ون کنگسل و همکاران ۲۰۰۸). جفت‌ماندگی با کاهش فعالیت نوتروفیل‌ها ارتباط دارد. کاهش فعالیت نوتروفیل‌ها و به‌دنبال آن تضعیف سیستم ایمنی باعث بروز جفت‌ماندگی می‌گردد (کیمورا و همکاران ۲۰۰۲). تنش و کمبود ویتامین E از مهم‌ترین عوامل مؤثر در بروز جفت‌ماندگی محسوب می‌شوند. ویتامین C به حفظ سطوح ویتامین E بافت‌ها کمک می‌کند (عرب و همکاران ۲۰۰٤) و بنابراین به‌طور غیرمستقیم در کاهش جفت‌ماندگی مؤثر است.

نتیجه‌گیری کلی

گاوهای دوره انتقال به‌دلیل روبرو شدن با چالش‌هایی مانند زایش، افزایش تقاضا به مواد مغذی برای تکمیل رشد جنین و تولید آغوز و شیر و آلودگی‌های عفونی بالا، بیشترین تولید رادیکال‌های آزاد را در مقایسه با زمان‌های دیگر دارند. دمای محیط و بروز تنش حرارتی باعث تشدید این مشکلات می‌شود. با توجه به نتایج آزمایش حاضر، به‌نظر می‌رسد تزریق محلول مس و ویتامین C در گاوهای دوره انتقال در فصل تابستان به دلیل افزایش مس و ویتامین C سرم و اثرات مثبت آنها بر سیستم ایمنی می‌تواند باعث کاهش بروز ورم پستان و جفت‌ماندگی در گاوها شود.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله نویسندگان از کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های تغذیه و مرکزی دانشگاه ایلام و همچنین پرسنل محترم مجتمع پرورش گاو شیری شرکت کشت و صنعت بازوی کشاورز سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

Ahmed WM, Abd El Hameed AR, El Khadrawy HH and Hanafi EM, 2009. Investigations on retained placenta in Egyptian buffaloes. Global Veterinaria 3: 120-124.

Ali AA, 2000. Influence of some diseases conditions on blood serum levels of antioxidant vitamins and some trace elements of Egyptian Balady sheep in Assuit Governorate. Assiut Veterinary Medical Journal 42: 120–133.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis (17th Ed.) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.

Basu TK and Schorah CJ, 1982. Vitamin C in health and disease. Croom Helm Ltd publisher. London, UK.

Bicalho MLS, Lima FS, Ganda EK, Foditsch C, Meira EBS, Machado VS, Teixeira AGV, Oikonomou G, Gilbert RO and Bicalho RC, 2014. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. Jounal of Dairy Science 97: 1-15.

Bors S I, Creanga ST, Dascalu DL, Ariton AM and Bors A, 2016. The effect of intravenous butaphosphan, B_{12} and C vitamins on metritis, mastitis prevalence and reproductive performance of dairy cattle. Jounal of Dairy Science 165: 111-118.

Castillo C, Hernandez J, Garcia Vaquero M, Lopez Alonso M, Pereira V, Miranda M, Blanco I and Benedito JL, 2012. Effect of moderate Cu supplementation on serum metabolites, enzymes and redox state in feedlot calves. Research in Veterinary Science 93: 269-274.

Chase CR, Beede DK, Van Horn HH, Shearer JK, Wilcox CJ and Donovan GA, 2000. Responses of lactating dairy cows to copper source, supplementation rate, and dietary antagonist (Iron). Jounal of Dairy Science 83: 1845-1852.

Cheraghi Mashoof L, Aliarab H, Farahavar A, Zamani P and Alimohamady R, 2018. The effect of adding zinc and copper to diet of late-pregnant ewes on blood and milk minerals profile, lambs growth performance and some blood parameters. Iranian Journal of Animal Science 49: 267-284. (In Persian).

Collet SG, Demeda MA, Taffarel GV, Taffarel L, Girardini, LK, Nesi CN, do RegoLeal ML, 2017. Effect of injectable trace mineral supplement and vitamins A and E on production and milk composition of Holstein cows. Journal of Agroveterinary Sciences 16: 463–472.

Cusack PMV, Mc Meniman NP and Lean J, 2005. The physiological and production effects of increased dietary intake of vitamins E and C in feedlot cattle challenged with bovine herpesvirus. Journal of Animal Science 83: 2423-2433.

Drackley JK, 1999. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? J. Journal of Dairy Science 82: 2259–2273.

Du Z, Hemken RW and Harmon RJ, 1996. Copper metabolism of Holstein and Jersey cows and heifers fed diets high in cupric sulfate or copper proteinate. Jounal of Dairy Science 79: 1873– 1880.

Eicher-Pruiett SD, Morrill JL, Blecha F, Higgins JJ, Anderson V and Reddy PG, 1992. Neutrophil and lymphocyte response to supplementation with vitamins C and E in young calves**.** Jounal of Dairy Science 75: 1635-1642.

Engle TE, 2001. Effects of mineral nutrition on immune function and factors that affect trace mineral requirements of beef cattle. Proceedings of the Range Beef Cow Symposium XVII December 11-12, Casper, Wyoming.

Engle TE, Spears JW, Xi L and Edents FW, 2000. Dietary copper effects on lipid metabolism and circulating catecholamine concenteration in finishing steers. Journal of Animal Science 78: 2737-2744.

Engle TE, Fellner V and Spears JW, 2001. Copper status, serum cholesterol and milk fatty acide profile in Holestein cows fed varying concenteration of copper. Jounal of Dairy Science 84: 2308-2313.

Erb C, Staudt N, Flammer J and Nau W, 2004. Ascorbic acid as a free radical scavenger in porcine and bovine aqueous humour. Ophthalmic Research 36: 38-42.

Fagari- Nobijari H, Amanlou H and Dehghan Bandary M, 2013. The use of copper supplementation to improve growth performance and claw health in young holestein bulls. Journal of Agricultural Science and Technology 15: 77-86.

Filappi A, Prestes D and Cecim M, 2005. Suplementação mineral para bovinos de corte sob pastejo. Revisão. Veterinária Notícias Veterinary News 11: 91–98.

Gakhar G, Randhawa SS, Randhawa CS, Bansa BK and Singh RS, 2010. Effect of copper on the milk quality and prevention of mastitis in dairy cows. The Indian Journal of Animal Sciences 80: 727-728.

Ganda EK, Bisinotto RS, Vasquez AK, Teixeira AGV, Machado VS, Foditsch C, Bicalho M, Lima FS, Stephens L, Gomes MS, Dias JM and Bicalho RC, 2016. Effects of injectable trace mineral supplementation in lactating dairy cows with elevated somatic cell counts. Jounal of Dairy Science 99: 1-11.

Gengelbach GP, Ward JD and Spears JW, 1994. Effect of dietary copper, iron and molybdenum on growth and copper status of beef cows and calves. Journal of Animal Science 72: 2722-2727.

Goetzl EJ, Wasserman SI, Gigli I and Austen KF, 1974. Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid. Journal of Clinical Investigation 53: 813-818.

Goff JP, Kimura K and Horst RL, 2002. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and beta-carotene status at parturition. Journal of Dairy Science 85: 1427–1436.

Hill GM and Shannon MC, 2019. Copper and Zinc Nutritional Issues for Agricultural Animal Production. Biological Trace Element Research 188: 148–159.

Khorsandi S, Riasi A, Khorvash M, Mahyari SA, Mohammadpanah F and Ahmadi F, 2016. Lactation and reproductive performance of high producing dairy cows given sustained-release multi-trace element/vitamin ruminal bolus under heat stress condition. Livestock Science 187: 146-150.

Kimura K, Goff JP, Kehrli ME and Reinhardt TA, 2002. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. Jounal of Dairy Science 85: 544-550.

Kumar A, Singh G, Kumar BVS. and Meur SK, 2011. Modulation of antioxidant status and lipid peroxidation in erythrocyte by dietary supplementation during heat stress in buffaloes. Livestock Science 138: 299–303.

Kim Y, Kim H, Bae S, Choi J, Lim SY, Lee N, Kong JM, Hwang Y, Kang JS, and Lee WJ, 2013. Vitamin C is an essential factor on the anti-viral immune responses through the production of interferon-α/β at the initial stage of influenza A virus (H_3N_2) infection. Immune Network 3: 70-74.

Kuroyanagi M, eriko S, Mihyan K, Nobuhiko A, Yoko F and Megumi O, 2002. Efects of L-ascorbic acid on lysyl oxidase in the formation of collagen cross-links. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 66: 2077– 2082.

Lohakare JD, Ryu MH, Hahn TW, Lee JK and Chae BJ, 2005. Effects of supplemental ascorbic acid on the performance and immunity of commercial broilers. Journal of Applied Poultry Research 14: 10–19.

López-Alonso M and Miranda M, 2020. Copper Supplementation, A Challenge in Cattle. Animals 10:1-21.

Machado VS, Oikonomou G, Lima SF, Bicalhoa MLS, Kacar C, Foditsch C, Felippeb MJ, Gilbert RO and Bicalho RC, 2014. The effect of injectable trace minerals (selenium, copper, zinc, and manganese) on peripheral blood leukocyte activity and serum superoxide dismutase activity of lactating Holstein cows. The Veterinary Journal 200: 299–304.

Macleod DD, Zhang X, Ozimeck L and Kennelly JJ, 1999. Ascorby L-2-polyphosphate as a source of ascorbic acid for dairy cattle. Milchwissenschaft 54: 123–126.

McCauley LK, Koh AJ, Beecher CA, Cui Y, Rosol TJ, and Franceschi RT, 1996. PTH/PTHrP receptor is temporally regulated during osteoblast differentiation and is associated with collagen synthesis. Journal of Cellular Biochemistry 61: 638–647.

Minatel L, and Carfagnini JC, 2000. Copper deficiency and immune response in ruminants.utrition Research 20: 1519-1529.

Naresh R, Dwivedi SK, Swarup D and Patra RC, 2002. Evaluation of ascorbic acid treatment in clinical and subclinical mastitis of Indian dairy cows. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 15: 905-911.

National Research Council (NRC), 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition, National Academy Press, Washington, DC.

National Research Council (NRC), 2021. Nutrient requirements of dairy cattle, 8th revised edition, National Academies, Washington, DC.

Nockels CF and Blair R, 1996. Antioxidants improve cattle immunity following stress. Animal Feed Science and Technology 62: 59–68.

Noordhuizen J and Bonnefoy JM, 2015. Heat stress in dairy cattle: Major effects and practical management measures for prevention and control. Symbiosis Journal of Veterinary Science 1: 103-109.

Overton T and Yasui T, 2014. Practical applications of trace minerals for dairy cattle. Journal of Animal Science 92: 416–426.

Padilla L, Matsui T, Kamiya Y, Kamiya M, Tanaka M and Yano H, 2006. Heat stress decreases plasma vitamin C concentration in lactating cows. Livestock Science 101: 300–304.

Padilla l, Matsui T, Ikeda S, Kitagawa M and Yano H, 2007. The effect of vitamin C suppplementation on plasma concenteration and uriinary excretion of vitamin C in cattle. Journal of Animal Science 85: 3367-3370.

Picco SJ, Abba MC, Mattioli GA, Fazzio LE, Rosa D, De Luca JC and Dulout FN, 2004. Association between copper deficiency and DNA damage in cattle. Mutagenesis, 19: 453—456.

Pogge DJ and Hansen SL, 2013. Effect of varying concenteration of vitamin C on performance, blood metabolites and carcass characteristics of steers consuming a common high sulfur (0.055% S) diet. Journal of Animal Science 91: 5754-5761.

Prohaska JR and Gybina AA, 2004. Intracellular copper transport in mammals. The Journal of Nutrition 134: 1003-1006**.**

Radostits OM, Blood DC and Gay CC, 1994. Veterinary Medicine. Bailliere Tindall, London, UK.

Ranjan R, Swarup D, Naresh R and Patra RC, 2005. Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis. Veterinary Research Communications 29: 27–34.

Ranjan R, Ranjan A, Dhaliwal GS and Patra RC, 2012. L-Ascorbic acid (vitamin C) supplementation to optimize health and reproduction in cattle. Veterinary Quarterly 32: 145–150.

Roth JA and Kaeberle ML, 1985. In vivo effect of ascorbic acid on neutrophil function in healthy and dexamethasone treated cattle. American Journal of Veterinary Research 46: 2434–2436.

Rowland JL and Niederweis M, 2013. A multicopper oxidase is required for copper resistance in Mycobacterium tuberculosis. Journal of Bacteriology 195: 3724-3733.

Saenko EL, Yaropolove Al and Harris ED, 1994. The biological function expressed through Copper- binding sites and a cellular receptor. The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine 7: 69-88.

SAS, 2014. Statistical Analysis System. SAS Inc., Cary, NC.

Sheetal SK, Choudhary SK and Sengupta D, 2014. Mineral deficiency predisposes occurrence of retention of placenta in crossbred. Veterinary World 7: 1140-1143.

Siddique K, Bawazeer N and Joy SS, 2014. Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes. Scientific World Journal 2014: 1-9.

Sordillo LM, 2016. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. Journal of Dairy Science 99: 4967–4982.

Sordillo LM, 2018. Symposium review: Oxylipids and the regulation of bovine mammary inflammatory responses. Journal of Dairy Science 101: 5 629–5641.

Sordillo LM and Aitken SL, 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Veterinary Immunology and Immunopathology 128: 104–109.

Spears JW, 1999. Reevaluation of the metabolic essentiality of the minerals-review. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 12: 1002-1008.

Spears JW, Kegley EB, and Mullis LA, 2004. Bioavailability of copper from tribasic copper and copper sulfate in growing cattle. Animal Feed Science and Technology 116: 1-13.

Spolders M, Holtershinken M, Ulrich M, Rehage J and Flachowsky G, 2010. Assessment of reference values for copper and zinc in blood serum of first and second lactating dairy cows. Veterinary Medicine International 1: 1- 8.

Suttle NF, 2010. Mineral Nutrition of Livestock. (4th Ed.). CABI, Cambridge. UK.

Teixeira AGV, Lima FS, Bicalho MLS, Kussler A, Lima SF, Felippe MJ and Bicalho RC, 2014. Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on immunity, health, and growth of dairy calves. Jounal of Dairy Science 97: 1-11.

Torre PM, Harmon RJ, Hemken RW, Clark TW, Trammell DS and Smith BA, 1996. Mild dietary copper insufficiency depresses blood neutrophil function in dairy cattle. Journal of Nutritional Immunology 4: 3–24.

Tyler PJ and Cummins KA, 2003. Effect of dietary ascorbyl-2- phosphate on immune function after transport to a feeding facility. Jounal of Dairy Science 86: 622-629.

Van Knegsel A, Van der Meulen J and Lammers A, 2008. Nutritional effects on development and function of the mucosal immune system with a focus on pigs and poultry. Report ASG for Product Board Animal Feed, The Netherlands pp 120.

Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Jounal of Dairy Science 74: 3593-3597.

Vermunt JJ and West DM, 1994. Predicting Cu status in beef cattle using serum Cu concentrations. New Zealand Veterinary Journal 42: 194–195.

Wankhade PR, Manimaran1 A, Kumaresan A, Jeyakumar S, Ramesha KP, Sejian V, Rajendran D. and Varghese MR, 2017. Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. Veterinary World 10: 1367-1377.

Ward JD, Spears JW and Kegley EB, 1996. Bioavailability of copper proteinate and copper carbonate relative to copper sulfate in cattle. Jounal of Dairy Science 79: 127-132.

Weiss WP, 2001. Effeect of dietary vitamin C on concenteration of ascorbic acid in plasma and milk. Jounal of Dairy Science 84: 2302- 2307.

Wolf G, 1993. Uptake of ascorbic acid by human neutrophils. Nutrition Reviews 51: 337-338.

Yang ZB, Yang WR, Zhang SZ, Li ZY and Zhao H, 2007. Effect of copper and zinc on blood and milk parameters and performance of dairy cows. Journal of Animal and Feed Sciences 16: 571-575.

Yatoo MI, Saxena A, Deepa PM, Habeab BP and Devi S, 2013. Role of trace elements in animals: a review. Veterinary World 6: 963-967.

Yost GP, Arthington JD, Mc dowell LR, Martin FG, Wilkinson NS and Swensen CK, 2002. Effect of copper source and level on the rate and extent of copper repletion in Holestein Heifers. Jounal of Dairy Science 85: 3297- 3303.

Zubay G, 1993. Biochemistry. (3rd Ed.). Brown Publisher, Oxford, UK.

Effect of ascorbic acid and copper injection on serum parameters concentration and the incidence of metabolic disorders in transition dairy cows under heat stress

H Jafari[1*], F Fatahnia[2], S Khodamoradi[3], G Taasoli[4]

Received: March 3, 2023 Accepted: September 9, 2023

[1]Assistant professor, Department of Animal Science Research, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, Ilam University, Iran
[3]Ph.D. Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Science, Ilam University, Iran
[4]Assistant professor, Department of Animal Science Research, Chaharmahal and Bakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shahrekord, Iran
[*]Corresponding author: Hoshang_Jafari@Yahoo.com

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research
Journal of Animal Science/vol.34 No.1/ 2024/pp 45-61
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/as.2023.55421.1697

Introduction: The transition period between late pregnancy and early lactation (also called the periparturient period) certainly is the most interesting stage of the lactation cycle and is the last 3 weeks before parturition to 3 weeks after parturition. Most infectious diseases and metabolic disorders occur during this period. Milk fever, ketosis, retained fetal membranes, metritis, and displaced abomasum primarily impact cows during the periparturient period (Drackley 1999). Any nutritional limitation during this period has an important impact on cow efficiency and consequently, milk production decreases. Dairy cows encounter substantial metabolic and physiological adaptations during the transition period. The immune system during the periparturient period is impaired. At this time, the most important factor causing immune-suppression in highly productive cows is metabolic stress resulting from hormonal and metabolic fluctuations, a negative energy balance, shortage of proteins, minerals and vitamins which are required to meet the demands of the fetus as well as the onset of lactation (Sordillo 2016). In the world, Cu deficiency is one of the most common problems in cattle with clinical and subclinical signs (Hill and Shannon 2019). Even marginal Cu deficiency (6 to 7 ppm dietary Cu) depresses blood neutrophil function in dairy cattle (Torre *et al*. 1996). One strategy for improving immune system of transition dairy cows is mineral and vitamin supplementation. It has been reported that many minerals are enzymatic cofactors (Filappi *et al*. 2005). Studies showed that minerals injection would be a suitable method to improve mineral utilization, and this may be a promising alternative to improve animal performance (Collet *et al*. 2017). Furthermore, during this period, dairy cows need antioxidants to combat reactive oxygen species (ROS) which produce during oxidative stress. Vitamin C was identified as antioxidant and could help immune system to overcome ROS production. Hence, this experiment was aimed to study the effect of vitamin C and copper injection on the health status of transition dairy cows.
Materials and Methods: The study was carried out in a commercial farm located in Kermanshah province of Iran. Cows were enrolled from June 22, until September 22. Temperature and humidity index (THI) was calculated. It was between 72-78. The experiment was performed with 40

multiparous (twenty; second parity and twenty; third and fourth parity) Holstein lactating dairy cows which divided into four groups (10 animals/ group) in a 2×2 factorial arrangement. All cows were offered a TMR diet. Experimental treatments consisted of control (injection of 7 ml of NaCl % 0.9), Cu (injection of 75 mg Cu per cow) Vitamin C (injection of 25 mg vitamin C solution/kg BW), and Vitamin C-Cu (simultaneous injection of 25 mg vitamin C solution/kg BW and 75 mg Cu/ cow). Solutions were injected on d 20 and 40 days before expected parturition, parturition day and day 20 of postpartum. Serum concentrations of total protein, glucose, triglycerides, cholesterol, HDL-cholesterol, Ca, P and Mg were determined using autoanalyzer by Pars Azmoon Kits. Serum concentrations of Beta hydroxybutyrate (BHBA) and non-esterified fatty acids (NEFA) were measured using autoanalyzer by Randow Kits. Serum concentration of Cu was determined by atomic absorbtion. Serum concentrations of vitamin C and superoxide dismutase was measured by Elisa reader. Incidence of metabolic disorders and infection disease were recorded. Data of serum variables were analyzed based on a randomized block design with a 2×2 (Vitamin C and Cu, with or without injection) factorial arrangement using Proc Mix of SAS software. The differences among treatments were evaluated using Tukey adjustment when the overall F-test was $P \leq 0.05$. Trends were declared when $0.05 < P < 0.10$. In addition, percentages of metabolic disorders were reported.

Results and Discussion: Results showed that the interaction effect of vitamin C and Cu had no significant effect on serum concentration of vitamin C and superoxide dismutase activity. Cows received vitamin C had the greatest serum vitamin C concentration on d 20 prepartum, parturition day, d 10, 20 and 30 postpartum ($P<0.05$). Content of serum Cu were affected by the interaction of vitamin C and Cu on d 10 and d 20 postpartum ($P<0.05$). Copper injection increased serum Cu concentration and superoxide dismutase activity on d 20 prepartum, parturition day, d 10, 20 and 30 postpartum ($P<0.05$) in cows received Cu without vitamin C. Serum concentrations of P, Mg, glucose, BHBA, NEFA, triglycerides and HDL-cholesterol were not influenced by the interaction effect of vitamin C and Cu. Serum triglyceride concentration tended to decrease ($P=0.06$) in cows received vitamin C and on parturition day. Copper injection tended to increase ($P=0.06$) serum triglyceride concentration on d 20 postpartum. Serum protein concentration tended to decrease ($P=0.07$) in cows received vitamin C and in compared to other treatments on parturition day. Copper or vitamin C injections had no effect on serum concentrations of Ca, P, Mg, glucose, BHB and NEFA of experimental cows. Serum calcium concentration tended to increase ($P=0.07$) in cows received simultaneous injection of vitamin C and Cu in compared to the others on parturition day. Simultaneous injection of vitamin C and Cu tended to increase total cholesterol concentration ($P=0.06$) on d 10 and 30 of postpartum. Copper injection tended to increase total cholesterol concentration on d 20 prepartum, parturition day and d 10 postpartum ($P=0.06$). Control groups had the highest incidence rate of retained placenta and clinical mastitis.

Conclusion: It is concluded that vitamin C and Cu injection reduced incidence rate of retained placenta and clinical mastitis due to improving immunity system performance of transition dairy cows.

Keywords: Cu, Heat Stress, Mastitis, Retained placenta, Vitamin C