Animal Production Research

Vol. 13, No. 4, 2024 (83-94)
doi: 10.22124/ar.2024.27788.1840
eISSN: 2538-6107 pISSN: 2252-0872

University of Guilan

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Effect of intramuscular injection of vitamin B_{12} on lactation performance of Lori-Bakhtiari ewes and some blood parameters of their lambs

A. Dehestani[1], A. Azarfar[2], A. Fadayifar[3*]

1. Former MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2. Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3. Assistant Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

(Received: 26-06-2024 – Revised: 25-10-2024 – Accepted: 26-10-2024)

Introduction: In ruminants, vitamin B_{12} is a cofactor for two enzyme systems that are involved in many metabolic processes, such as the metabolism of carbohydrates, lipids, some amino acids, and DNA. Vitamin B_{12} in ruminants is synthesized by rumen bacteria or provided by dietary sources. Vitamin B_{12} deficiency may result in poor growth, anemia, and reduced milk production in lactating animals. In young ruminants such as newborn lambs and calves, the rumen is not fully developed for vitamin B_{12} synthesis until six to eight weeks of age. This means that during this period, a dietary source of vitamin B_{12} is necessary. Colostrum, milk, or milk replacers may be used as a source of vitamin B_{12} in these young ruminants. However, different factors, including nutritional deficiencies, may affect the vitamin B_{12} content in milk. This study aimed to investigate the effects of vitamin B_{12} intramuscular injection on the lactation performance of ewes and on certain blood parameters in their lambs.

Materials and methods: The current research was conducted at the animal husbandry station of Lorestan University. Twenty early lactating ewes (60±0.50 kg) were selected and allocated to one of the two groups (10 ewes per group). Treatments included 1. Ewes without vitamin B_{12} injection (control group) and 2. Ewes with a weekly injection of vitamin B_{12}. The first injection of vitamin B_{12} was given immediately after the ewes were lambed and three further injections were given per week (four injections in total). The amount of vitamin B_{12} injection was 1 mg intramuscularly in each injection. Milk production was recorded during the 10^{th}, $20^{th,}$ and 30^{th} days of lactation, and the lambs were separated from their mothers for 12 hours, at which time they were weighed using a digital scale for 10 minutes. The lambs were allowed to use their mother's milk. Immediately after separation from their mother, lambs were weighed again and the difference in weight before and after milk consumption was recorded. The milk composition (including milk protein, milk fat, fat-free solids, palmitic acid, stearic acid, oleic acid, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, and total unsaturated and unsaturated fatty acids) was measured with DA 7250 NIR Auto-analysis. To check the blood parameters of lambs, blood samples were taken from the jugular vein of newborn lambs at 10, 20 and 30 days of age, and from two separate tubes, one for the count of cells and one for the measurement of serum concentrations of vitamin B_{12} and other metabolites in the blood. Vitamin B_{12} concentrations were measured using the Pars Azmoun kit and the ELISA device. The data analysis was carried out with SAS statistical software (version 9.4). The comparison of the means was done using a t-test with a significance level of 0.05.

Results and discussion: Results showed that milk yield in the vitamin B_{12} group were significantly higher than that in the control group during the four weeks of the experimental period (P<0.05). This increase in milk production can be considered a response to the increased availability of plasma glucose for milk lactose production by increasing plasma vitamin B_{12} concentration and its vital role, such as participating in many metabolic pathways in the body and acting as an intermediary in the catabolism of some amino acids. However, the

* Corresponding author: Fadayifar.a@lu.ac.ir

percentage of milk compounds, including milk fat, protein, solids not fat, palmitic acid, stearic acid, oleic acid, mono- and polyunsaturated fats, and saturated fats, was unaffected by the administration of vitamin B_{12} (P>0.05). Blood vitamin B_{12} concentration was significantly higher in vitamin B_{12} injected ewes compared with the control group (P<0.05). There was no significant difference in growth performance, average wean weight, average birth weight, or daily weight gain of lambs born to vitamin B_{12}-treated ewes compared to control lambs (P>0.05). Injection of vitamin B_{12} into pregnant ewes had no significant effect on the blood glucose, white blood cells, hemoglobin concentration, red blood cells, or hematocrit percentage of the newborn lambs (P>0.05). Vitamin B_{12} status in suckling lambs can be related to the rate of transfer of this vitamin through milk during lactation and through the placenta during pregnancy.
Conclusions: Consequent intramuscular administration of vitamin B_{12} to ewes at the beginning of lactation may increase milk production and thereby increase the lambs' performance and vitamin B_{12} concentration in the blood.
Keywords: Lactation performance, Blood parameters, Lori-Bakhtiari sheep, Vitamin B_{12}
Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of Lorestan University, Iran.
Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.
Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.
Funding: The authors received no specific funding for this project.

How to cite this article:

Dehestani, A., Azarfar, A., & Fadayifar, A. (2024). Effect of intramuscular injection of vitamin B_{12} on lactation performance of Lori-Bakhtiari ewes and some blood parameters of their lambs. *Animal Production Research*, *13*(4), 83-94. doi: 10.22124/ar.2024.27788.1840

تحقیقات تولیدات دامی

سال سیزدهم/شماره چهارم/زمستان ۱۴۰۳ (۹۴-۸۳)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

بررسی اثر تزریق عضلانی ویتامین B_{12} بر عملکرد شیردهی میش‌های لری-بختیاری و برخی فراسنجه‌های خونی بره‌های آنها

اردلان دهستانی[1]، آرش آذرفر[2]، امیر فدایی‌فر[3*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

۲- استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۶ – تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۰۴ – تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۵)

چکیده

هدف این مطالعه، تعیین تأثیر تزریق ویتامین B_{12} به میش‌ها بر تولید، ترکیبات شیر، وزن بره‌ها در هنگام تولد و از شیرگیری، سطح ویتامین B_{12} و نیز برخی از فراسنجه‌های خونی در بره‌های آن‌ها بود. تعداد ۲۰ رأس میش زایش اول با میانگین وزن ۰/۵۰±۶۰ کیلوگرم به دو گروه شاهد و تزریق ویتامین B_{12} با ۱۰ تکرار تقسیم شدند. اولین تزریق بلافاصله پس از زایش و سه تزریق دیگر، به‌صورت هفتگی (یک تزریق تا چهار هفتگی) انجام شد. تولید شیر میش‌ها، میانگین وزن شیرگیری و افزایش وزن روزانه بره‌ها به‌طور معنی‌داری در گروه دریافت‌کننده ویتامین B_{12} نسبت به گروه شاهد بالاتر بود ($P<0/05$). درصد ترکیبات شیر تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. سطح ویتامینB_{12} در خون به‌طور معنی‌داری در گروه تزریقی نسبت به گروه شاهد بالاتر بود ($P<0/05$). با این حال، تفاوت معنی‌داری در میزان گلوکز، تعداد گلبول سفید خون، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت مشاهده نشد. به‌طور کلی، تزریق ویتامین B_{12} در میش‌ها باعث افزایش تولید شیر، افزایش وزن روزانه بره‌ها، وزن از شیرگیری بره‌ها و سطح این ویتامین در خون بره‌ها شد.

واژه‌های کلیدی: عملکرد شیردهی، فراسنجه‌های خونی، گوسفند لری-بختیاری، ویتامین B_{12}

* نویسندهٔ مسئول: Fadayifar.a@lu.ac.ir

doi: 10.22124/ar.2024.27788.1840

مقدمه

مدت زمان انتقال دام از اواخر بارداری به اوایل شیردهی به‌دلیل تغییرات عمده متابولیکی، فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای، چالشی مهم در دام‌های شیری محسوب می‌شود، به‌طوری که ممکن است آثار مضر سلامتی با ایجاد تعادل انرژی منفی بیش از حد در این دوره بروز کند (Duplessis *et al.,* 2017a). در میان راهکارهای تغذیه‌ای برای افزایش کارآیی متابولیکی، استفاده از ویتامین $B_{۱۲}$ در اوایل شیردهی می‌تواند مؤثر واقع شود. ویتامین $B_{۱۲}$، یک ویتامین محلول در آب و متعلق به ویتامین‌های گروه B است که معمولاً با نام کوبالامین، سیانوکوبالامین یا عامل ضد کم‌خونی خطرناک نیز شناخته می‌شود. همچنین، بسیاری از آنالوگ‌ها و مشتقات مختلف آن بدون فعالیت-های زیستی و حتی ایزومرهای مختلف کوبالامین نیز وجود دارند (Hampel and Allen, 2016 ;González-Montaña *et al.,* 2020). در نشخوارکنندگان سالم، باکتری‌های شکمبه قادر به تولید ویتامین‌های گروه B به مقدار کافی هستند، به‌طوری که این حیوانات به منبع برون‌زای این ویتامین‌ها نیاز ندارند (Eckles *et al.,* 1925). با این حال، در برخی پژوهش‌ها، کمبود غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ سرم پس از زایمان گزارش شده است (Girard and Matte, 2005; Weiss and Ferreira, 2006). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که تولید این ویتامین به‌وسیله میکرواورگانیسم‌ها برای غلبه بر نوسانات غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ در اوایل شیردهی و نیز به-منظور رفع نیازهای دام و بهینه‌سازی تولید و ترکیبات شیر کافی نیست (Duplessis *et al.,* 2014). از طرف دیگر، در نشخوارکنندگان جوان (بره‌ها و گوساله‌های نشخوارکننده) تا سن شش تا هشت هفتگی، شکمبه کاملاً رشد نکرده و فعالیت چشم‌گیری برای تولید این ویتامین ندارد. بنابراین، در بره‌ها و گوساله‌های تازه متولد شده تا زمانی که شکمبه عملکردی نداشته باشد تنها منبع تأمین ویتامین $B_{۱۲}$ از آغوز و شیر مادر است (Stemme *et al.,* 2006; Stemme *et al.,* 2008). اگرچه، این ویتامین می‌تواند از جفت عبور کند، اما راه اصلی انتقال از مادر به بره از مسیر آغوز است. آغوزی که در ۲۴ ساعت پس از زایمان به‌دست می‌آید حاوی غلظت بالایی از ویتامین $B_{۱۲}$ است، اما سطح آن با ادامه شیردهی کاهش می‌یابد (Godden *et al.,* 2019). گزارش شده است که تزریق این ویتامین از سه هفته قبل از زایمان تا هشت الی ۱۶ هفته بعد از زایمان باعث افزایش تولید شیر بدون افزایش ماده خشک مصرفی و غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه پلاسما در گاو شد (Preynat *et al.,* 2009; Wang *et al.,* 2022). ویتامین $B_{۱۲}$ اساس سوخت و ساز در انواع حیوانات است و برای تقویت میش‌ها در دوران بارداری، شیردهی و همچنین، رشد بره‌ها و تحریک سیستم ایمنی، ضروری است. حیواناتی که کمبود ویتامین $B_{۱۲}$ دارند علایم بالینی غیراختصاصی مانند کاهش مصرف غذا، تأخیر در رشد، تحلیل رفتن عضلات، پوشش زبر و ضخیم شدن پوست و همچنین، اختلالات تولیدمثلی و کاهش تولید شیر را نشان می‌دهند (Almahdawi, 2018). ویتامین $B_{۱۲}$ بخشی ضروری از سیستم‌های آنزیمی است که در واکنش‌های متابولیکی متعدد مانند سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، برخی از اسیدهای آمینه و عمدتاً در تشکیل انرژی حاصل از تخمیر شکمبه نقش دارد. این ویتامین یک کوفاکتور برای آنزیم‌های متیونین سنتاز و متیل‌مالونیل-کوا موتاز است که در ساخت DNA و تبدیل پروپیونات شکمبه به گلوکز مؤثر است (Duplessis *et al.,* 2022). با توجه به این‌که نشخوارکنندگان برای برآوردن نیازهای گلوکز بافت خود به شدت به گلوکونئوژنز وابسته هستند، به‌نظر می‌رسد حساسیت بیشتری به کمبود ویتامین $B_{۱۲}$ نسبت به غیرنشخوارکنندگان نشان می‌دهند. عدم پیشروی در سوخت و ساز پروپیونات در نقطه‌ای که متیل مالونیل کوآنزیمآ کوا به سوکسینیل- کوا تبدیل می-شود ممکن است یک مشکل اولیه ناشی از کمبود ویتامین $B_{۱۲}$ باشد. این یک واکنش حیاتی برای هموستاز گلوکز در نشخوارکنندگان است، زیرا اسید پروپیونیک، مهم‌ترین منبع انرژی برای آن‌ها بوده و به‌عنوان یک پیش‌ساز گلوکونئوژنیک مورد استفاده قرار می‌گیرد (Girard and Graulet, 2016). ثابت شده است تجویز خوراکی ویتامین $B_{۱۲}$ برای نشخوارکنندگان ناکارآمد است زیرا این ویتامین به‌وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه تجزیه می‌شود. بنابراین، راه دیگر برای اطمینان از وضعیت کافی آن، تزریق مستقیم این ویتامین به‌صورت عضلانی یا زیرجلدی است. مقادیر مورد نیاز این ویتامین برای دام و مدت زمان ماندگاری ویتامین بسته به نوع دام، میزان درجه کمبود آن، وضعیت کبالت جیره و مرتع و نوع ویتامین $B_{۱۲}$ مورد استفاده متفاوت است (Williams *et al.,* 2017). وضعیت ویتامین $B_{۱۲}$ در بره‌های شیرخوار را می‌توان با میزان انتقال

این ویتامین از مسیر جفت در طول دوره آبستنی و از راه شیر در طول دوره شیردهی مرتبط دانست. با توجه به این‌که شیر مهم‌ترین منبع تأمین مواد مغذی برای رشد برهها در چند هفته اول تولد است و از طرفی تولید ویتامین B_{12} به‌دلیل عدم توسعه شکمبه در برههای شیرخوار به‌مقدار کافی صورت نمی‌گیرد، هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر تزریق عضلانی ویتامین B_{12} به میش‌های لری بختیاری در اوایل دوره شیردهی و تأثیر آن بر تولید و ترکیب شیر، وزن برهها در هنگام از شیرگیری، افزایش وزن روزانه و همچنین، برخی فراسنجه‌های خونی در برهها بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد مطالعه و نمونه‌گیری: پژوهش حاضر در فصل زمستان و بهار در ایستگاه دامپروری دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام شد. به منظور انجام این آزمایش، ۲۰ رأس میش شکم اول زایش (همزمان شده برای زایش) با میانگین وزنی مشابه (۰/۵۰±۶۰ کیلوگرم) انتخاب و به دو گروه با ۱۰ تکرار اختصاص داده شدند. تیمارها شامل: ۱) میش‌های اوایل شیردهی بدون تزریق ویتامینB_{12} (گروه شاهد) و ۲) میش‌های اوایل شیردهی با تزریق هفتگی ویتامین B_{12} بودند. اولین تزریق ویتامینB_{12} بلافاصله پس از زایش میش‌ها و سه تزریق دیگر، به‌صورت هفتگی (در مجموع، چهار تزریق) انجام شد. میزان تزریق ویتامین B_{12} در هر بار تزریق، یک میلی‌گرم به‌صورت داخل عضلانی بود. جیره غذایی میش‌ها قبل و بعد از زایمان و همچنین، جیره برههای آنها بر اساس جداول NRC (2007) تنظیم شد (جدول ۱). برای تعیین میزان تولید شیر طی روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ اوایل شیردهی، برهها به‌مدت ۱۲ ساعت به‌طور جداگانه از مادرانشان نگه‌داری شدند. سپس، برهها با ترازوی دیجیتال (با دقت بالا) توزین شدند و در همان لحظه به‌مدت ۱۰ دقیقه به برهها اجازه داده شد که از شیر مادر استفاده نمایند. بلافاصله بعد از جداکردن برهها از مادر، دوباره وزن‌کشی برهها انجام گرفت و اختلاف وزن قبل و بعد از مصرف شیر در برهها ثبت شد. همچنین، پس از جدا شدن برهها از مادر، با تزریق عضلانی سه سی‌سی اکسی‌توسین به میش‌ها، مابقی شیر به‌صورت دستی دوشیده شده و با ترازوی دیجیتال وزن شد که در نهایت، میزان کل شیر تولیدی بر اساس اختلاف وزن قبل و بعد برهها به‌علاوه شیر دوشیده شده دستی میش‌ها، محاسبه شد. قابل ذکر است در روز ۲۰ رکوردگیری نیز قبل از شیرخوردن برهها، مقدار ۱۰ درصد از شیر میش‌ها به‌صورت دستی دوشیده شده و جهت آزمایش (ترکیبات شیر شامل: پروتئین شیر، چربی شیر، مواد جامد بدون چربی، اسید پالمیتیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک، اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه، اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه و مجموع اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع) به آزمایشگاه ارسال شد. شیر ارسال شده به آزمایشگاه با دستگاه اتوآنالیزور NIR (مدل DA 7250، ساخت کشور سوئد) آزمایش و تجزیه شده و نتایج ثبت شد.

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی (درصد ماده خشک)

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (% DM)

Feed ingredient	Experimental diets	
	Ewes in late pregnancy period and early lactation	Lambs
Wheat straw	25	5
Alfalfa hay	20	15
Barley grain	22	10
Corn grain	20	31
Soybean meal	4	30
Wheat bran	5	5
Premix[1]	4	4
Chemical composition		
Dry matter	90.08	90.34
Crude protein	11.40	21.29
Neutral detergent fiber (NDF)	41.07	23.04
Ca	1.03	1.01
P	0.33	0.47
ME (Mcal/kg DM)	2.37	2.74

[1] The mineral and vitamin premix contained (1 kg premix): 25000 IU vitamin A, 5000 IU vitamin D_3, 1000 IU vitamin E, 1250 mg Mn, 375 mg Cu, 25 mg Se, 140000 mg Ca, 2500 mg P, 20 mg Co, 25 mg Iodine, 25000 mg Mg, 25000 mg Na (NaCl), 1000 mg Antioxidant (Mehreganroshd, Iran).

جهت بررسی فراسنجه‌های خونی بره‌ها از بره‌های تازه به دنیا آمده در سن ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روزگی و قبل از مصرف خوراک، خون‌گیری از ورید وداج انجام شد. نمونه‌های خون مربوط به هر دام در هر روز در دو لوله مجزا جمع‌آوری شدند. یک لوله حاوی هپارین برای تهیه نمونه خون کامل و یک لوله بدون ماده ضد انعقاد برای استخراج سرم جهت تخمین غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ بود. نمونه‌های خون جمع‌آوری شده بدون ماده ضد انعقاد به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و سرم آن‌ها جدا شد. سپس، نمونه‌های سرم و نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده به‌منظور تعیین غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ سرم و سایر فراسنجه‌های خونی به آزمایشگاه فرستاده شدند. غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ با کیت پارس آزمون و دستگاه الیزا مورد بررسی قرار گرفت. فراسنجه‌های خون‌شناسی نیز با دستگاه Mindry BC-2800 و روش سل کانتر در آزمایشگاه تعیین شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ صورت گرفت. برای داده‌های وزن از شیرگیری و میانگین افزایش وزن بره‌ها و ترکیبات شیر، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون t با سطح احتمال معنی‌داری برابر با ۰/۰۵ انجام شد. تجزیه آماری داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی و تولید شیر که بیش از یک‌بار در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری شدند در قالب طرح کاملاً تصادفی با اندازه‌گیری‌های تکرار شده در زمان انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار تولید شیر و درصد ترکیبات شیر: نتایج مربوط به اثر تزریق ویتامین $B_{۱۲}$ بر تولید و ترکیبات شیر میش‌های لری-بختیاری در جدول ۲ نشان داده شده است. تولید شیر به‌طور معنی‌داری در گروه دریافت‌کننده تزریق ویتامین $B_{۱۲}$ نسبت به میش‌های گروه شاهد بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). تولید شیر به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر روزهای آزمایش قرار گرفت، به‌طوری که کمترین تولید شیر مربوط به روز ۱۰ آزمایش و بیشترین مقدار تولید شیر مربوط به روز ۳۰ آزمایش بود ($P<۰/۰۵$). درصد ترکیبات شیر شامل چربی و پروتئین، مواد جامد بدون چربی، اسید پالمتیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک و اسیدهای چرب با یک و چند پیوند دوگانه در گروه دریافت‌کننده تزریق ویتامین $B_{۱۲}$ نسبت به میش‌های گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری نداشتند. در آزمایش حاضر، تولید شیر در گروه دریافت-کننده تزریق ویتامین $B_{۱۲}$ نسبت به میش‌های گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (جدول ۲). این افزایش در تولید شیر را می‌توان پاسخی به افزایش فراهمی گلوکز پلاسما جهت تولید لاکتوز شیر با افزایش غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ پلاسما و نقش حیاتی آن، نظیر شرکت در بسیاری از مسیرهای متابولیکی بدن و نقش واسطه در کاتابولیسم برخی آمینواسیدها، دانست و آن‌گونه که اثبات شده است در صورتی که در گاوهای انتقالی استفاده شود، موجب افزایش معنی‌دار تولید شیر خواهد شد (Brito *et al.,* 2015).

استفاده از مکمل ویتامین $B_{۱۲}$ بر تولید و ترکیبات شیر نشخوارکنندگان نتایج مثبت و منفی را به‌همراه داشته است. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، برخی مطالعات انجام شده، افزایش در تولید شیر را در گاوهای دریافت‌کننده مکمل ویتامین $B_{۱۲}$ مشاهده کردند (Majee *et al.,* 2003; Sacadura *et al.,* 2008).

نتایج برخی مطالعات، تفاوت معنی‌داری را بر درصد چربی، پروتئین و لاکتوز شیر در گاوهای شیری مشاهده نکردند که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Graulet *et al.,* 2007; Akins *et al.,* 2013; Duplessis *et al.,* 2014). در مطالعه‌ای دیگر، ترکیبات شیر گاوهای شیری تحت تأثیر مکمل ویتامین $B_{۱۲}$ قرار نگرفت که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Mousavi *et al.,* 2018). در آزمایشی مشابه که در خصوص تأثیر وضعیت ویتامین $B_{۱۲}$ بر عملکرد میش‌های شیرده انجام گرفت نشان داده شد که تولید روزانه کل مواد جامد، چربی و مواد جامد بدون چربی در بین تیمارها، تفاوت معنی‌داری نداشت (Weerathilake *et al.,* 2019). در تناقض با نتایج آزمایش حاضر، افزایش معنی‌داری در تولید چربی و لاکتوز شیر (Girard and Matte, 2005) و پروتئین شیر (Sacadura *et al.,* 2008) در گاوهای شیری دریافت‌کننده مکمل ویتامین $B_{۱۲}$ مشاهده شد. ویتامین‌های گروه B با شرکت در مسیرهای بیوشیمیایی مختلف در تولید ترکیبات شیر، نقش کلیدی را ایفا می‌کنند (Yang *et al.,* 2011). در آزمایش‌های مختلف بسته به شکل استفاده، مدت زمان استفاده از مکمل ویتامین $B_{۱۲}$، زمان تزریق یا مصرف در میش‌ها و گاوهای شیری، تأثیر مشاهده شده بر ترکیبات شیر متغیر بود.

جدول ۲- اثر تزریق ویتامین B_{12} بر تولید و ترکیب شیر میش‌های لری-بختیاری

Table 2. Effect of vitamin B_{12} injection on milk production and composition of Lori-Bakhtiari ewes

Item	Treatments		SEM	Day			SEM	*P*-value		
	Control	Vitamin B_{12}		10	20	30		Treatment	Day	Treatment × Day
Milk production (kg/d)	1.167[b]	1.412[a]	0.045	1.288[c]	1.427[b]	1.550[a]	0.026	<.0001	<.0001	0.8773
Fat (%)	4.244	4.618	0.552	-	-	-	0.552	0.6405	-	-
Protein (%)	4.520	4.537	0.265	-	-	-	0.265	0.9646	-	-
NFS[1] (%)	13.709	13.333	0.321	-	-	-	0.321	0.4197	-	-
C16:0[2] (%)	0.871	0.948	0.116	-	-	-	0.116	0.6447	-	-
C18:0[3] (%)	0.584	0.601	0.052	-	-	-	0.057	0.8394	-	-
C18:1 cis-9[4] (%)	1.591	1.702	0.154	-	-	-	0.154	0.6181	-	-
PUFA[5] (%)	1.630	1.743	0.018	-	-	-	0.155	0.613	-	-
MUFA[6] (%)	0.381	0.384	0.154	-	-	-	0.018	0.9122	-	-
SFA[7] (%)	2.347	2.416	0.311	-	-	-	0.311	0.8773	-	-
UFA[8] (%)	1.987	2.156	0.211	-	-	-	0.211	0.5782	-	-

[1] NFS: non-fat solids, [2] Palmitic acid, [3] Stearic acid, [4] Oleic acid, [5] Polyunsaturated fatty acid (PUFA), [6] Monounsaturated fatty acids (MUFA), [7] Saturated Fatty Acid, [8] Unsaturated fatty acids (UFA). SEM: Standard error of the means

[a-c] Means within the same row with different superscript letters had a significant difference (P<0.05).

عدم تأثیر تزریق ویتامین B_{12} بر درصد چربی شیر در مطالعه حاضر را می‌توان به افزایش عددی تولید شیر ارتباط داد زیرا تولید شیر و درصد چربی شیر با هم رابطه معکوس دارند. از سوی دیگر، ویتامین B_{12} به‌عنوان یک کوانزیم در سوخت و ساز پروپیونات و تولید انرژی نقش دارد (Scott, 1999). مطالعات اندکی در خصوص استفاده از مکمل تزریقی ویتامین B_{12} بر الگوی اسیدهای چرب شیر در میش‌های شیرده صورت گرفته است. در یک مطالعه، تفاوت معنی‌داری در غلظت اسیدهای چرب اشباع شیر در گاوهای دریافت‌کننده ویتامین B_{12} در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد، اما نتایج برای غلظت اسیدهای چرب غیراشباع شیر، معنی‌دار نبود که ناهمسو با نتایج مطالعه حاضر بود (Gohardust *et al.,* 2018). یکی از آنزیم‌هایی که باعث ساخت اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه از اسیدهای چرب اشباع می‌شود، آنزیم دلتا ۹ دساچوراز است (Nakamura and Nara, 2004; Paton *et al.,* 2009). بر اساس یک گزارش، عوامل جیره‌ای مانند فروکتوز، گلوکز، کلسترول، ویتامین A، اسیدهای چرب با پیوند مزدوج و اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه می‌توانند بیان ژن این آنزیم را تحت تأثیر قرار دهند (Nakamura and Nara, 2004). در این مطالعه نشان داده شد که تزریق ویتامینB_{12} تأثیری بر نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه نداشت.

تأمین کافی گلوکز برای ساخت لاکتوز به‌وسیله غده پستانی برای حمایت از وضعیت فیزیولوژیکی بسیار مهم است. سوبسترای اولیه گلوکونئوژنیک در نشخوارکنندگان، اسید پروپیونیک است و تنها از مسیر متیل مالونات در کبد گوسفند متابولیزه می‌شود (Yang *et al.,* 2021). این مسیر شامل یک واکنش وابسته به ویتامین B_{12} است. کمبود ویتامین B_{12}، سوخت و ساز اسید پروپیونیک را مختل می‌کند و مصرف خوراک را به‌شدت کاهش می‌دهد (Gille and Schmid, 2015 ;Allen *et al.,* 2018). گزارش شده است که مکمل ترکیبی اسید فولیک و ویتامین B_{12} باعث تغییر تقسیم انرژی در اوایل شیردهی می‌شود. ویتامین B_{12} یک کوآنزیم است که در دو مسیر متابولیک ضروری دخیل است. مسیر اول اجازه می‌دهد تا ایزومریزاسیون به‌وسیله متیل مالونیل-کوا موتاز انجام شده، سوکسینیل-کوا تولید و وارد چرخه کربس شود. در مسیر دوم، ویتامین B_{12} امکان انتقال یک گروه متیل را به ۵-متیل تتراهیدروفولات که شکل متیله اسید فولیک است فراهم می‌کند. این عمل منجر به تشکیل هموسیستئین و پس از آن، متیونین می‌شود که می‌تواند برای حمایت از تولید پروتئین استفاده شود. همچنین، متیونین یکی از اسیدهای آمینه محدودکننده تولید شیر است (Duplessis *et al.,* 2022). در نتیجه، مکمل ویتامین، تولید شیر و گلوکز پلاسما را افزایش داده و لیپیدهای کبدی را کاهش می‌دهد (Graulet *et al.,* 2007). مکمل ویتامین B_{12} باعث

افزایش میزان ظاهر شدن گلوکز در کل بدن می‌شود (Preynat *et al.,* 2009). همچنین، محققین کاهش تلفات وزن بدن را بدون کاهش تولید شیر گزارش نمودند (Duplessis *et al.,* 2014). این نتایج با هم نشان‌دهنده تعادل انرژی بهتر در اوایل شیردهی با مصرف ویتامین $B_{۱۲}$ است. همچنین، مطالعه دیگری گزارش داد که این مکمل، در حالی که تولید شیر و ماده خشک مصرفی را در بین تیمارها حفظ می‌کند، غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه پلاسما را کاهش داده و غلظت انسولین و گلوکز پلاسما را در مقایسه با گاوهایی که مکمل دریافت نکردند، افزایش می‌دهد (Duplessis *et al.,* 2022).

عملکرد بره‌ها: نتایج مربوط به عملکرد بره‌ها در میش‌های دریافت‌کننده تزریق ویتامین $B_{۱۲}$ در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین وزن از شیرگیری و افزایش وزن روزانه بره‌ها در گروه دریافت‌کننده تزریق ویتامین$B_{۱۲}$ نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بالاتر بود ($P<۰/۰۵$).

مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در یک مطالعه، افزایش عملکرد وزنی در بره‌های پرواری مکمل سازی شده با کبالت مشاهده شد (Bishehsari *et al.,* 2010). ناهمسو با نتایج مطالعه حاضر، تفاوت معنی‌داری در وزن هفته اول تا چهارم بره‌های متولد شده از میش‌های دریافت‌کننده ویتامین $B_{۱۲}$ تزریقی مشاهده نشد (Aliarabi *et al.,* 2015). نکته قابل توجه، افزایش وزن روزانه و به‌ویژه افزایش بازده خوراک بره‌ها در هنگام استفاده از مکمل گلوکوژنیک است. همچنین، استفاده از مکمل گلوکوژنیک باعث کاهش میزان افت افزایش وزن روزانه در بره‌ها شده است. در دام‌هایی که نیاز به گلوکز بالایی دارند (مثل دام‌های تازه‌زا)، فراهم کردن پروپیونات برای کبد منجر به افزایش گلوکونئوژنز و افزایش مصرف انرژی و به‌دنبال آن، افزایش خوراک مصرفی و افزایش وزن می‌شود (Allen *et al.*, 2005). بنابراین، باید خاطر نشان کرد که ویتامین $B_{۱۲}$ برای سوخت و ساز طبیعی، از جمله تبدیل سوکسینات به پروپیونات و افزایش گلوکونئوژنز مورد نیاز فلور شکمبه، ضروری است و به‌عنوان بخشی از این مسیر گلوکونئوژنیک، متیل مالونیل کوآنزیم آ را به سوکسینیل کوآنزیم آ تبدیل می‌کند (Wang *et al.,* 2020; Mahoney-Kurpe, 2022).

گوسفندان به‌دلیل وابستگی زیاد به گلوکونئوژنز و نیاز زیاد به اسیدهای آمینه حاوی گوگرد مانند متیونین برای رشد بدن و رشد پشم، به‌طور ویژه‌ای در معرض کمبود کبالت/ ویتامین $B_{۱۲}$ هستند. بنابراین، علائم بالینی کمبود ویتامین $B_{۱۲}$ از جمله کاهش رشد در بره‌های جوان آشکارتر است (Gruner *et al.,* 2004). مصرف خوراک متعاقباً با کمبود ویتامین $B_{۱۲}$ کاهش می‌یابد و حیوان به‌طور پیوسته، وزن خود را از دست می‌دهد و عملاً در حالت بی‌حرکتی مانده تا زمانی‌که تلف شود. در این جنبه از کمبود ویتامین $B_{۱۲}$ در خلال کاهش اشتها، حیوان اغلب هیچ علائم بالینی مشخصی جز کم‌خونی، نشان نمی‌دهد (Wolffenbuttel *et al.,* 2019).

مانند انسان و سایر یوکاریوت‌ها، بیشتر باکتری‌ها به ویتامین $B_{۱۲}$ به‌عنوان کوفاکتور برای آنزیم‌های متیل مالونیل کوآنزیم آ موتاز و متیونین‌سنتاز نیاز دارند. آنزیم اول، تبدیل آر-متیل مالونیل کوا و سوکسینیل کوا را کاتالیز می‌کند، که یک مرحله مهم در سوخت و ساز اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، کلسترول و قند به پروپیونات است (Sokolovskaya *et al.,* 2019)، در حالی که، آنزیم دوم، مرحله نهایی را در بیوسنتز متیونین، کاتالیز می‌کند (Degnan *et al.,* 2014). همچنین، این ویتامین به‌عنوان یک کوفاکتور برای اتانول آمین آمونیاک لیاز مورد نیاز است که به باکتری‌ها اجازه می‌دهد از اتانول آمین که معمولاً در روده یافت می‌شود به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن استفاده کنند (Garsin, 2010).

فراسنجه‌های خونی بره‌ها: در این مطالعه، سطح ویتامین $B_{۱۲}$ به‌طور معنی‌داری در گروه دریافت‌کننده تزریق ویتامین $B_{۱۲}$ نسبت به میش‌های گروه شاهد بالاتر بود ($P<۰/۰۵$)، اما میزان گلوکز، تعداد گلبول سفید خون، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت

جدول ۳- عملکرد بره‌های نژاد لری-بختیاری در تیمارهای آزمایشی

Table 3. Performance of Lori-Bakhtiari lambs in experimental treatments

Item	Treatments		SEM	*P*-value
	Control	Vitamin B_{12}		
Birth weight (kg)	5.014	5.275	0.239	0.4469
Weaning weight (kg)	33.142	38.125	0.728	0.0003
Average daily gain (g/day)	0.252	0.303	0.007	0.0002

SEM: Standard error of the means

تفاوت معنی‌داری نداشت. غلظت ویتامین B_{12} به‌طور معنی‌داری در روز ۳۰ آزمایش نسبت به روز ۱۰ آزمایش بیشتر بود ($P<۰/۰۵$)، اما میزان گلوکز، تعداد گلبول سفید خون، غلظت هموگلوبین، تعداد گلبول قرمز و درصد هماتوکریت تحت تأثیر روزهای نمونه‌برداری قرار نگرفتند. نتایج ارزیابی این فراسنجه‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است.

وضعیت ویتامینB_{12} در بره‌های شیرخوار را می‌توان با میزان انتقال این ویتامین از راه شیر در طول دوره شیردهی و از مسیر جفت در طول دوره آبستنی مرتبط دانست (Asadi *et al.,* 2024). محققین گزارش کردند غلظت ویتامین B_{12} در بره‌های ۱۰ روزه در گروه شاهد و متولد شده از میش‌های دریافت‌کننده ویتامین B_{12} تزریقی به‌ترتیب ۱۷۵ و ۱۸۳ پیکومول بر لیتر و در سن ۴۵ روزگی به‌ترتیب ۲۰۹ و ۳۴۹ و در سن ۹۰ روزگی به‌ترتیب ۳۰۳ و ۳۱۰ پیکومول بر لیتر بود. بر اساس نتایج آن مطالعه می‌توان استنباط کرد که در سنین اولیه بره‌ها، غلظت ویتامین B_{12} در مقایسه با مقدار آن در سن پروار، بسیار کمتر است (Aliarabi *et al.,* 2015). محققین دیگر در مطالعات خود، غلظت ویتامین B_{12} پلاسما را در بره‌ها بین ۲۰۲ تا ۲۳۸۶ پیکومول بر لیتر گزارش کردند (Wang *et al.,* 2007). در یک مطالعه، افزایش معنی‌داری در غلظت ویتامین B_{12} خون در بره‌های دریافت‌کننده قرص‌های آهسته‌رهش حاوی روی، سلنیوم و کبالت مشاهده شد (Aliarabi *et al.,* 2015).

وضعیت ویتامین B_{12} بره‌ها با سه عامل شامل ذخایر کبدی (در زمان جنینی و داخل رحم)، مصرف آغوز پس از تولد و مصرف شیر در زمان شیرخوارگی تعیین می‌شود. بیشتر مطالعات روی بره‌هایی که در آن‌ها، یک تا دو میلی‌گرم ویتامین B_{12} تزریق شده بود نشان داده‌اند که ماندگاری ویتامین بین دو هفته تا دو ماه مشاهده شده است. ذخیره‌سازی سیانوکوبالامین خوراکی در گوسفند حدود سه درصد سیانوکوبالامین تزریقی است، اما با این حال، دوزهای بالایی از سیانوکوبالامین تزریقی ممکن است به‌خوبی حفظ نشود. بنابراین، در گوسفندانی که از جیره غذایی با غلظت کافی کبالت استفاده کردند، ذخیره‌سازی ویتامین B_{12} در کبد افزایش خواهد یافت. تا زمانی‌که سطح کبدی ویتامین B_{12} و یا سطح کبالت جیره و مرتع برای گوسفند بالا باشد بعید به‌نظر می‌رسد که دام پاسخ مثبتی به تزریق ویتامین دهد زیرا هرگونه ویتامین اضافی یا در بافت‌ها ذخیره شده (عمدتاً در کبد) یا از راه مدفوع و ادرار دفع می‌شود (Jones and Anthony, 1970). در گاوهای شیری، جذب ویتامین B_{12} به‌وسیله غده پستانی، اگرچه ارتباط نزدیکی با غلظت ویتامین پلاسما در شریان پستانی دارد، اما تنها ۵/۵ درصد از غلظت ویتامین در پلاسما را نشان می‌دهد. به‌علاوه، جذب ویتامین در غده پستانی، ۱۷ درصد بیشتر از مقدار ترشح شده در شیر است (Franco-Lopez *et al.,* 2020).

جدول ۴- فراسنجه‌های خونی در بره‌های نژاد لری بختیاری در تیمارهای آزمایشی

Table 4. Blood parameters in Lori Bakhtiari lambs in experimental treatments

	Vitamin B_{12} (pg/mL)	Glucose (mg/dL)	WBC[1] (%)	RBC[2] (10^6/µL)	Hemoglobin (g/dL)	Hematocrit (%)
Treatment						
Control	592.30	122.70	33.64	7.41	10.03	25.67
Vitamin B_{12}	675.80	127.43	39.89	7.47	10.53	27.29
SEM	12.256	3.67	4.03	0.34	0.47	1.01
Day						
10	618.75^{b}	121.50	40.13	7.31	10.13	26.03
20	626.48^{ab}	127.03	35.94	7.33	10.26	27.51
30	656.90^{a}	126.67	34.21	7.68	10.46	25.91
SEM	9.02	2.12	2.32	0.20	0.27	0.58
P-value						
Treatment	<0.0001	0.0772	0.0898	0.8401	0.2000	0.1000
Day	0.0083	0.2998	0.3052	0.4528	0.7829	0.1744
Treatment × Day	0.3741	0.0864	0.0586	0.0587	0.1666	0.1912

[1] White blood cell

[2] Red blood cell

در یک مطالعه، رابطه مستقیم بین ویتامین $B_{۱۲}$ شیر و غلظت آن در پلاسمای بز گزارش شده است. تزریق زیر جلدی ۲۰۰۰ میکروگرم هیدروکسی کوبالامین، هر دو ماه یک‌بار، باعث افزایش سطح ویتامین $B_{۱۲}$ سرم در آنها شد. این در حالی است که در این مطالعه، در گروه شاهد که هیدروکسی کوبالامین را دریافت نکرده بودند کاهش شدیدی در سطح ویتامین $B_{۱۲}$ سرم مشاهده شده است که با غشاهای مخاطی رنگ پریده، چروک در این بزها همراه بود (Al-Habsi *et al.,* 2007).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تزریق متوالی ویتامین $B_{۱۲}$ به‌صورت عضلانی در میش‌ها در اوایل شیردهی می‌تواند سبب افزایش تولید شیر شود و از همین راه باعث بهبود عملکرد بره‌های شیرخوار و وضعیت غلظت ویتامین $B_{۱۲}$ در پلاسمای خون بره‌ها شود.

فهرست منابع

Akins, M. S., Bertics, S. J., Socha, M. T., & Shaver, R. D. (2013). Effects of cobalt supplementation and vitamin B12 injections on lactation performance and metabolism of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *96*(3), 1755-1768. doi: 10.3168/jds.2012-5979

Al-Habsi, K., Johnson, E. H., Kadim, I. T., Srikandakumar, A., Annamalai, K., Al-Busaidy, R., & Mahgoub, O. (2007). Effects of low concentrations of dietary cobalt on liveweight gains, haematology, serum vitamin B12 and biochemistry of Omani goats. *The Veterinary Journal*, *173*(1), 131-137. doi: 10.1016/j.tvjl.2005.10.002

Aliarabi, H., & Fadayifar, A. (2014). Effect of slow- release bolus of Zn, Se and Co on performance and some blood metabolites of pregnant ewes and their lambs. *Veterinary Journal (Sazandegi & Pajouhesh)*, *29*, 45-56, doi:10.22034/vj.2016.106780. [In Persian]

Aliarabi, H., & Yazdani, H. (2015). The effect of vitamin E + selenium and vitamin B_{12} injection on performance and some blood parameters of pregnant ewes and their lambs. MSc Disseratation. Faculty of Agricultural Sciences, Bu Ali Sina University, Iran. [In Persian]

Allen, L. H., Miller, J. W., De Groot, L., Rosenberg, I. H., Smith, A. D., Refsum, H., & Raiten, D. J. (2018). Biomarkers of Nutrition for Development (BOND): vitamin B-12 review. *The Journal of Nutrition*, *148*, 1995S-2027S. doi: 10.1093/jn/nxy201

Allen, M. S., Bradford, B. J., & Harvatine, K. J. (2005). The cow as a model to study food intake regulation. *Annual Review of Nutrition*, *25*(1), 523-547. doi: 10.1146/annurev.nutr.25.050304.092704

Almahdawi, M. K. (2018). Impact of folic acid and cyanocobalamin on growth, milk yield and its components of Awassi ewes and their lambs. *Journal of Global Pharma Technology*, *10*(1), 65-77.

Asadi, M., Fard, H. M., Araee, K. A., & Hatami, M. (2024). Studying the impacts of maternal B complex vitamin injection on performance, metabolic diseases, hematological parameters, and antioxidant status in pregnant Sannen goats and their newborn kids during the transition period. *Science of the Total Environment*, *907*, 167860. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.167860

Bishehsari, S., Tabatabaei, M. M., Aliarabi, H., Alipour, D., Zamani, P., & Ahmadi, A. (2010). Effect of dietary cobalt supplementation on plasma and rumen metabolites in Mehraban lambs. *Small Ruminant Research*, *90*(1-3), 170-173. doi:10.1016/j.smallrumres.2010.02.010

Brass, E. P., & Stabler, S. P. (1988). Carnitine metabolism in the vitamin B-12-deficient rat. *Biochemical Journal*, *255*(1), 153-159. doi: 10.1042/bj2550153

Brito, A., Chiquette, J., Stabler, S. P., Allen, R. H., & Girard, C. L. (2015). Supplementing lactating dairy cows with a vitamin B12 precursor, 5, 6-dimethylbenzimidazole, increases the apparent ruminal synthesis of vitamin B12. *Animal*, *9*(1), 67-75. doi: 10.1017/S1751731114002201

Degnan, P. H., Taga, M. E., & Goodman, A. L. (2014). Vitamin B12 as a modulator of gut microbial ecology. *Cell metabolism*, *20*(5), 769-778. doi: 10.1016/j.cmet.2014.10.002

Duplessis, M., Girard, C. L., Santschi, D. E., Lefebvre, D. M., & Pellerin, D. (2014). Milk production and composition, and body measurements of dairy cows receiving intramuscular injections of folic acid and vitamin B-12 in commercial dairy herds. *Livestock Science*, *167*, 186-194. doi: 10.1016/j.livsci.2014.06.022

Duplessis, M., Lapierre, H., Ouattara, B., Bissonnette, N., Pellerin, D., Laforest, J. P., & Girard, C. L. (2017). Whole-body propionate and glucose metabolism of multiparous dairy cows receiving folic acid and vitamin B_{12} supplements. *Journal of Dairy Science*, *100*(10), 8578-8589. doi: 10.3168/jds.2017-13056

Duplessis, M., Lapierre, H., Pellerin, D., Laforest, J. P., & Girard, C. L. (2017). Effects of intramuscular injections of folic acid, vitamin B_{12}, or both, on lactational performance and energy status of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *100*(5), 4051-4064. doi: 10.3168/jds.2016-12381

Duplessis, M., Lapierre, H., Sauerwein, H., & Girard, C. L. (2022). Combined biotin, folic acid, and vitamin B12 supplementation given during the transition period to dairy cows: Part I. Effects on lactation performance, energy and protein metabolism, and hormones. *Journal of Dairy Science*, *105*(8), 7079-7096. doi: 10.3168/jds.2021-21677

Eckles, C. H., & Williams, V. M. (1925). Yeast as a supplementary feed for lactating cows. *Journal of Dairy Science*, *8*, 89. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(25)93944-6

Franco-Lopez, J., Duplessis, M., Bui, A., Reymond, C., Poisson, W., Blais, L., Chong, J., Gervais, R., Rico, D. E., Cue, R. I., Girard, C. L., & Ronholm, J. (2020). Correlations between the Composition of the Bovine Microbiota and Vitamin B_{12} Abundance. *mSystems*, *5*(2), e00107-20. doi: 10.1128/mSystems.00107-20

Garsin, D. A. (2010). Ethanolamine utilization in bacterial pathogens: roles and regulation. *Nature Reviews Microbiology, 8*(4), 290-295. doi: 10.1038/nrmicro2334

Gille, D., & Schmid, A. (2015). Vitamin B_{12} in meat and dairy products. *Nutrition Reviews*, *73*(2), 106-115. doi: 10.1093/nutrit/nuu011

Girard, C. L., & Graulet, B. (2021). Methods and approaches to estimate B vitamin status in dairy cows: Knowledge, gaps and advances. *Methods*, *186*, 52-58.

Girard, C. L., & Matte, J. J. (2005). Effects of intramuscular injections of vitamin B12 on lactation performance of dairy cows fed dietary supplements of folic acid and rumen-protected methionine. *Journal of Dairy Science*, *88*(2), 671-676. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72731-4

Godden, S. M., Lombard, J. E., & Woolums, A. R. (2019). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice, 35*(3), 535-556. doi: 10.1016/j.cvfa.2019.07.005

Gohardust, A., Azarfar, A., Kiani, A., & Fadayifar, A. (2018). Effect of dietary betaine supplementation and vitamin B12 injection during the transition period on fatty acids profile of milk in Holstein dairy cows. *Iranian Journal of Animal Science*, *48*(4), 493-503, doi:10.22059/ijas.2017.243378.653567 [In Persian]

González-Montaña, J. R., Escalera-Valente, F., Alonso, A. J., Lomillos, J. M., Robles, R., & Alonso, M. E. (2020). Relationship between vitamin B12 and cobalt metabolism in domestic ruminant: an update. *Animals*, *10*(10), 1855. doi: 10.3390/ani10101855

Graulet, B., Matte, J. J., Desrochers, A., Doepel, L., Palin, M. F., & Girard, C. L. (2007). Effects of dietary supplements of folic acid and vitamin B12 on metabolism of dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, *90*(7), 3442-3455. doi: 10.3168/jds.2006-718

Gruner, T. M., Sedcole, J. R., Furlong, J. M., Grace, N. D., Williams, S. D., Sinclair, G., Hicks, J. D., & Sykes, A. R. (2004). Concurrent changes in serum vitamin B12 and methylmalonic acid during cobalt or vitamin B12 supplementation of lambs while suckling and after weaning on properties in the South Island of New Zealand considered to be cobalt-deficient. *New Zealand Veterinary Journal*, *52*(3), 129-136. doi: 10.1080/00480169.2004.36417

Hampel, D., & Allen, L. H. (2016). Analyzing B-vitamins in human milk: methodological approaches. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(3), 494-511. doi: 10.1080/10408398.2013.783550

Jones Jr, O. H., & Anthony, W. B. (1970). Influence of dietary cobalt on fecal vitamin B12 and blood composition in lambs. *Journal of Animal Science*, *31*(2), 440-443. doi: 10.2527/jas1970.312440x

Mahoney-Kurpe, S. (2022). Identification and characterisation of rumen bacteria with prominent roles in the ruminal metabolism of forages: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy (Microbiology and Genetics) at Massey University, Palmerston North, New Zealand.

Majee, D. N., Schwab, E. C., Bertics, S. J., Seymour, W. M., & Shaver, R. D. (2003). Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and a B-vitamin blend. *Journal of Dairy Science*, *86*(6), 2106-2112. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73800-4

Mousavi, S. R., Fattah Nia, F., Tasli, G. M., & Yahya, M. (2018). Effect of some injectable trace minerals and vitamins on blood antioxidant status and metabolic disorders in transition dairy cows. *Animal Science Journal*, *31*, 173-192, doi: 10.22092/asj.2018.120081.1604 [In Persian]

Nakamura, M. T., & Nara, T. Y. (2004). Structure, function, and dietary regulation of Δ6, Δ5, and Δ9 desaturases. *Annual Review of Nutrition*, *24*(1), 345-376. doi: 10.1146/annurev.nutr.24.121803.063211

Paton, C. M., & Ntambi, J. M. (2009). Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, *297*(1), E28-E37. doi: 10.1152/ajpendo.90897.2008

Preynat, A., Lapierre, H., Thivierge, M. C., Palin, M. F., Matte, J. J., Desrochers, A., & Girard, C. L. (2009). Influence of methionine supply on the response of lactational performance of dairy cows to supplementary folic acid and vitamin B_{12}. *Journal of Dairy Science*, *92*(4), 1685-1695. doi: 10.3168/jds.2008-1572

Sacadura, F. C., Robinson, P. H., Evans, E., & Lordelo, M. (2008). Effects of a ruminally protected B-vitamin supplement on milk yield and composition of lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, *144*(1-2), 111-124. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.10.005

Scott, J. M. (1999). Folate and vitamin B_{12}. *Proceedings of the Nutrition Society*, *58*(2), 441-448. doi: 10.1017/s0029665199000580

Sokolovskaya, O. M., Mok, K. C., Park, J. D., Tran, J. L. A., Quanstrom, K. A., Taga, M. E., & Ribbe, M. W. (2019). Cofactor selectivity in methylmalonyl coenzyme A mutase, a model cobamide-dependent enzyme. *mBio*, *10*, e01303-19. doi: 10.1128/mBio.01303-19

Stemme, K., Lebzien, P., Flachowsky, G., & Scholz, H. (2008). The influence of an increased cobalt supply on ruminal parameters and microbial vitamin B12 synthesis in the rumen of dairy cows. *Archives of Animal Nutrition*, *62*(3), 207-218. doi: 10.1080/17450390802027460

Stemme, K., Meyer, U., Flachowsky, G., & Scholz, H. (2006). The influence of an increased cobalt supply to dairy cows on the vitamin B12 status of their calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, *90*(3-4), 173-176. doi: 10.1111/j.1439-0396.2005.00584.x

Wang, K., Liu, Z., Du, C., Xiong, B., & Yang, L. (2022). Responses of fermentation characteristics and microbial communities to vitamin B_{12} supplementation in in vitro ruminal cultures. *Fermentation*, *8*(8), 406. doi: 10.3390/fermentation8080406

Wang, R. L., Kong, X. H., Zhang, Y. Z., Zhu, X. P., & Jia, Z. H. (2007). Influence of dietary cobalt on performance, nutrient digestibility and plasma metabolites in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, *135*(3-4), 346-352. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.08.011

Weerathilake, W. A. D. V., Brassington, A. H., Williams, S. J., Kwong, W. Y., Sinclair, L. A., & Sinclair, K. D. (2019). Added dietary cobalt or vitamin B_{12}, or injecting vitamin B_{12} does not improve performance or indicators of ketosis in pre-and post-partum Holstein-Friesian dairy cows. *Animal*, *13*(4), 750-759. doi: 10.1017/S175173111800232X

Weiss, W. P., & Ferreira, G. (2006). Water soluble vitamins for dairy cattle. In: *Proceedings of the Tri-State Dairy Nutrition Conference*. Fort Wayne, Indiana, USA. Pp. 25-26.

Williams, J. R., Williams, N. E., & Kendall, N. R. (2017). The efficacy of supplying supplemental cobalt, selenium and vitamin B_{12} via the oral drench route in sheep. *Livestock Science*, *200*, 80-84. doi: 10.1016/j.livsci.2017.04.010

Wolffenbuttel, B. H., Wouters, H. J., Heiner-Fokkema, M. R., & van der Klauw, M. M. (2019). The many faces of cobalamin (vitamin B_{12}) deficiency. *Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes*, *3*(2), 200-214. doi: 10.1016/j.mayocpiqo.2019.03.002

Yang, F. L., Li, X. S., & He, B. X. (2011). Effects of vitamins and trace-elements supplementation on milk production in dairy cows: A review. *African Journal of Biotechnology*, *10*(14), 2574-2578. doi: 10.5897/AJB10.2025

Yang, S., Guo, Y., Liu, G., Liu, Y., & Zhang, Y. (2021). Use of a short-term nutritional supplementation for transcriptional profiling of liver tissues in sheep. *Small Ruminant Research*, *203*, 106464. doi: 10.1016/j.smallrumres.2021.106464