

Effect of different level of B complex vitamins injection before mating on reproductive performance of Afshari ewes

Sh Khdayary¹, M Shamsollahi^{2*}, F Fatahnia³, J Jamali⁴, and Sh Yousefizadeh⁵

1-MSc graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

2-Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

3-Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

4-Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.

5-Assistant Professor, Department of Laboratory and Clinical Science, Faculty of Para Veterinary, Ilam University, Ilam, Iran.

*Corresponding author: Email: m.shamsollahi@ilam.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.92188.1237>

Introduction

Nutritional manipulation of reproduction is a practical management method to increase lambing rates in extensive sheep farming systems, especially in semi-arid regions such as Iran. Nutrition affects reproductive performance by providing essential nutrients for oocyte development, ovulation, embryo survival, and fertilization. Follicular development is highly sensitive to nutrients in ewe and folliculogenesis and ovulation rate can be increased by nutritional manipulation. Improved nutrient supply can affect the pituitary-hypothalamic axis and consequently changes gonadotropins, progesterone, estrogen, insulin and growth hormone secretion leading to increased ovulation rate and oocyte quality. The most important nutritional factors affecting ruminant reproduction are energy, protein, minerals and vitamins. Minerals and vitamins deficiencies in the diet impair health status and reduce ovulation rate. Vitamins are required for reproduction due to their cellular roles in metabolism, maintenance, and growth. The B-complex vitamins are water-soluble vitamins including thiamine (B1), riboflavin (B2), niacin (B3), pyridoxine (B6), pantothenic acid (B5), biotin (B7), folic acid (B9), and cobalamin (B12). B vitamins, as biochemical cofactors, are essential for various biological processes including maintaining cellular homeostasis, e.g., genomic stability, mitochondrial function, energy metabolism (e.g., in the Krebs cycle in mitochondria and the folate, glutathione, and methionine cycles in the cytosol), and redox homeostasis. All B vitamins required for growth are also required for reproduction and fetal development. Deficiencies of folic acid, riboflavin, pantothenic acid, choline, and cobalamin (vitamin B12) impair reproduction. The objective of the present study was to investigate the effect of different levels of B complex vitamins (BCV) injection before mating on body condition score (BCS), plasma metabolite concentration and reproductive performance of Afshari ewes.

Materials and Methods

A total of 75 mature Afshari ewes were divided into three equal groups based on age (2-3 years) and BCS (average of 3.25) and randomly allocated to experimental treatments (n = 25 ewes/group). Experimental treatments consisted of 1- control group (C; no BCV injection), 2- ewes received subcutaneous 5 mL injection of BCV (BCV-5) and 3- ewes received subcutaneous 10 mL injection of BCV (BCV-10). The BCV solution injected subcutaneously at the beginning

of estrous synchronization, 7 days later and at the day of sponge removal. Estrous of all ewes was synchronized by 12-d intravaginal sponge and intramuscular injection of 2.5 mL of vetaroline at the day of sponge removal. Animals also received an intramuscular injection of 5 mL of a solution contained vitamin A (50000 IU/mL), vitamin D3 (10000 IU/mL) and vitamin E (20 mg/mL; 3VitADE, Nasr Fariman Co, Fariman, Iran) and 5 mL of a solution contained vitamin E (50 mg/mL) and Se (0.5 mg/mL; SelojectE, Razak Co, Tehran, Iran) at the day of sponge insertion and removal, respectively. All ewes were mated with Afshari rams for 3 consecutive days (1 ram per 5 ewes). Pregnancy diagnosis was performed 30 days post-mating using plasma progesterone assay by an ELISA reader (STAT-FAX 3200, USA) and a commercial kit (Monobind Inc. USA, ELISA kit). Blood samples were collected at the beginning of experiment, at the day of sponge withdrawal and at the day of estrous.

Results and Discussion

Results showed that plasma concentration of glucose at the day of sponge removal tended to be higher for BCV-10 group than other groups ($P=0.09$). Whereas, plasma concentration of glucose at the day of estrous did not influence by level of BCV injection before mating. Injection of different levels of BCV before mating had no effect on plasma concentrations of total cholesterol and total protein at the day of sponge removal and at the day of estrous ($P>0.05$). Ewes received BCV solution had lower plasma concentration of urea nitrogen at the day of sponge removal ($P<0.05$). Although, experimental treatments had no effect on plasma concentration of urea nitrogen at the day of estrus ($P>0.05$). The Body Condition Score (BCS) of ewes was similar for all groups ($P>0.05$). The highest plasma B₁₂ concentration at the day of estrous and at the day of sponge removal was observed in BCV-10 group compared to other groups ($P<0.05$). Higher lambing rate and fertility rate were observed in BCV-10 group than other groups ($P<0.05$). Whereas, twinning rate did not influence by experimental treatments ($P>0.05$).

Conclusion

The results of this experiment showed that injecting a solution containing BCV (especially 10 ml) before mating by increasing plasma glucose and vitamin B₁₂ concentrations and decreasing urea nitrogen concentration improved the fertility rate and lambing rate of Afshari ewes. Therefore, it can be used as a strategy to improve the reproductive performance of ewes. However, this effect should be confirmed in future researches.

Keywords: Afshari ewe, B complex vitamin, Plasma metabolites, Reproductive performance.

اثر تزریق سطوح مختلف ویتامین B کمپلکس پیش از جفتگیری بر عملکرد تولید مثلی میش‌های افشاری

شهلا خدایاری^۱، محمد شمس الهی^{۲*}، فرشید فلاح‌نیا^۳، جبار جمالی^۴، شهناز یوسفی زاده^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۲/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۰۲

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۴- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۵- گروه علوم آزمایشگاهی و بالینی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

* ایمیل نویسنده مسؤل: m.shamsolahy@ilam.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2026.92188.1237>

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تزریق سطوح مختلف محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس (۱۰ میلی گرم تیامین، ۴ میلی گرم ریبوفلاوین، ۴ میلی گرم پیریدوکسین، ۱۰ میلی گرم کوبالامین، ۵۰ میلی گرم نیاسین آمید و ۵ میلی گرم دکسپانتنول) در پیش از جفتگیری بر نمره وضعیت بدنی، غلظت ویتامین B₁₂، فراسنجه‌های پلاسما (گلوکز، کلسترول کل، نیتروژن اورهای، پروتئین کل و ویتامین B₁₂) و عملکرد تولیدمثلی میش‌های افشاری انجام شد. یک ماه قبل از شروع فعالیت‌های تولیدمثلی، تعداد ۷۵ رأس میش بالغ افشاری بر اساس سن (۲ تا ۳ سال) و نمره وضعیت بدنی (میانگین ۳/۲۵) به ۳ گروه ۲۵ راسی تقسیم و به طور تصادفی به تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- میش‌های گروه شاهد (بدون تزریق ویتامین B کمپلکس)، ۲- میش‌های دریافت‌کننده ۵ میلی لیتر محلول ویتامین B کمپلکس ۳- میش‌های دریافت‌کننده ۱۰ میلی لیتر محلول ویتامین B کمپلکس بودند. محلول حاوی ویتامین B کمپلکس در زمان شروع آزمایش، ۷ روز بعد و روز خروج اسفنج به صورت زیرجلدی به میش‌ها تزریق شد. همزمان‌سازی فحلی میش‌ها با کارگزاری اسفنج‌های حاوی پروژسترون درون واژن به مدت ۱۲ روز و سپس ۲/۵ میلی لیتر وتارولین، با نام ژنریک آلارلین (لولیبرین-آ) در روز خروج اسفنج صورت گرفت. نمونه‌های خون در شروع آزمایش و در روزهای خروج اسفنج و فحلی از سیاهرگ و داج میش‌ها جمع‌آوری شد. نتایج نشان داد که غلظت ویتامین B₁₂ در روز فحلی در گروه ۱۰ میلی لیتری به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$). میش‌های دریافت‌کننده ۱۰ میلی لیتر محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس دارای نرخ باروری و نرخ بهره‌زایی بیشتری در مقایسه با دیگر گروه‌ها بودند. به طور کلی، تزریق ۱۰ میلی لیتر محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس در پیش از جفتگیری باعث بهبود عملکرد تولیدمثلی میش‌های افشاری شد.

واژه‌های کلیدی: فحلی، ویتامین B₁₂، فراسنجه‌های پلاسما، نرخ باروری.

مقدمه

دستکاری تولیدمثل از طریق تغذیه یک روش مدیریتی عملی برای افزایش نرخ بهره‌زایی در سیستم‌های گسترده پرورش گوسفند به ویژه در مناطق نیمه‌خشک مانند ایران است. تغذیه از دو طریق مستقیماً با تأمین مواد مغذی ضروری برای رشد تخمک، تخمک‌گذاری، بقای جنین، لقاح و به طور غیر مستقیم از طریق تأثیر آن بر برخی از هورمون‌ها و متابولیت‌ها بر آبستنی و باروری تأثیر می‌گذارد (Robinson et al., 2006). بهبود تأمین مواد مغذی می‌تواند بر محور هیپوفیز-هیپوتالاموس و در نتیجه بر گنادوتروپین‌ها، تغییر غلظت پروژسترون، استروژن، انسولین، هورمون رشد و برخی متابولیت‌ها (مانند گلوکز) تأثیر گذاشته که منجر به افزایش نرخ تخمک‌گذاری و کیفیت تخمک می‌شود (Scaramuzzi et al., 2006). کمبود مواد معدنی و ویتامین در جیره غذایی به ویژه در مورد گوسفندانی که از مرتع تغذیه می‌کنند، وضعیت سلامت را مختل کرده و سرعت تخمک‌گذاری را کاهش می‌دهد (Abdollahi et al., 2015). نژاد افشاری جزء نژادهای سنگین وزن کشور محسوب می‌شود که سرعت رشد بالا، تولید شیر مطلوب و توان دوقلو زائی بالایی دارد. از طرف دیگر در گوسفند، ۲۰ تا ۴۰ درصد از تخمک‌های بارور شده در طول بارداری، عمدتاً در ماه اول از بین می‌روند (Ashworth, 1995). ویتامین‌های B کمپلکس برای اطمینان از عملکرد صحیح تمام سلول‌های بدن مهم هستند و همچنین به عنوان عوامل کمکی برای آنزیم‌ها عمل می‌کنند. ویتامین‌ها به دلیل نقش سلولی آن‌ها در متابولیسم، نگهداری و رشد برای فعالیت تخمدان و رشد رویان، جفت و جنین مورد نیاز هستند. کمبود ویتامین B₁₂ نرخ تخمک‌گذاری در میش را کاهش داده و در صورت وجود غلظت بالای ویتامین B₁₂ تعداد جسم زردها در میش‌ها بیشتر می‌گردد (Mitchell et al., 2007). گزارش شده که مکمل ویتامین B₁₂ تعداد بلاستوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (Mitchell et al., 2005). ترکیبات تزریقی سلنیوم، ویتامین E و ویتامین B₁ پس از همزمان‌سازی فحلی باعث افزایش میزان باروری میش‌ها گردید (Yazlik et al., 2020). از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای خاصی در این خصوص صورت نگرفته و اطلاعات کمی در این مورد وجود دارد و از طرفی با توجه به توضیحات فوق هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر تزریق سطوح مختلف ویتامین B کمپلکس در پیش از جفتگیری بر عملکرد تولید مثلی میش‌های افشاری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک واحد پرورش گوسفند نیمه صنعتی واقع در استان ایلام، شهر شیباب انجام شد. مراحل اجرایی آزمایش از اوایل خرداد ۱۴۰۲ شروع شد که تقریباً همزمان با شروع فصل تولید مثل گوسفند در منطقه بود و در آذر ماه ۱۴۰۲ به اتمام رسید. برای انجام این آزمایش از ۷۵ راس میش بالغ افشاری با وزن بدن (میانگین ۴۰ کیلوگرم)، نمره وضعیت بدنی (میانگین ۳/۲۵) و سن (۲ تا ۳ سال) استفاده شد و سپس به سه گروه (۲۵ راس در هر گروه) تقسیم شدند. سپس به منظور مبارزه با انگل‌های خارجی و داخلی، ۲ میلی‌لیتر آیورجکت (آیورمکتین) به صورت زیر جلدی به همه میش‌ها تزریق شد. علاوه بر این برای مبارزه با انگل‌های کیدی و انگل‌های دستگاه گوارش، ۲ بار با فاصله ۱۴ روز از ۲ بولوس نیکلوزام (نیکلوزاماید ۱۲۵۰ میلی‌گرمی)، ساخت شرکت زاگرس فارمد پارس (تهران، ایران) به صورت دهانی برای همه میش‌ها استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- میش‌های گروه شاهد (بدون تزریق محلول ویتامین B کمپلکس)، ۲- میش‌های دریافت‌کننده ۵ میلی‌لیتر محلول ویتامین B کمپلکس (ب کو جکت رویان دارو) و ۳- میش‌های دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌لیتر محلول ویتامین B کمپلکس بودند. انتخاب دوز تزریق محلول ویتامین B کمپلکس بر اساس توصیه شرکت سازنده و ۲ برابر آن بوده است. محلول ویتامین‌های B کمپلکس (۱۰ میلی‌گرم تیامین، ۴ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۴ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۱۰ میلی‌گرم کوبالامین، ۵۰ میلی‌گرم نیاسین‌آمید و ۵ میلی‌گرم دکسپانتنول) به

صورت زیرجلدی و در زمان شروع همزمان سازی فحلی، ۷ روز بعد و روز خروج اسفنج به میش‌ها تزریق شد. همه میش‌ها در زمان اجرای آزمایش روزانه ۵۰۰ گرم کنسانتره دریافت کردند. جیره فلاشینگ بر اساس جداول استاندارد (NRC, 2007) متعادل شد. پس از پایان تغذیه با جیره فلاشینگ (دو هفته قبل از اسفنج گذاری تا یک هفته بعد از خروج اسفنج)، (۲۰ کیلوگرم کاه گندم، ۳۰ کیلوگرم یونجه، ۲۰ کیلوگرم جو، ۱۰ کیلوگرم گندم، ۵ کیلوگرم ذرت، ۵ کیلوگرم سبوس، ۵ کیلوگرم سویا، ۳ کیلوگرم مکمل مواد معدنی، ۱ کیلوگرم جوش شیرین و ۱ کیلوگرم نمک) و تزریق محلول ویتامین‌های B کمپلکس همه میش‌ها تا زمان زایش در شرایط یکسان تغذیه‌ای و مدیریتی نگهداری شدند. دو هفته پس از شروع تغذیه جیره فلاشینگ، برنامه همزمان سازی فحلی با استفاده از کارگذاری اسفنج به مدت ۱۲ روز درون واژن شروع شد. سپس ۲/۵ میلی لیتر وتارولین آلارلین استات (لویبرین -آ) در زمان خروج اسفنج به صورت درون عضلانی تزریق شد. تشخیص آبستنی ۳۰ روز پس از جفتگیری (جفتگیری به روش طبیعی، یک راس قوچ به ازای ۵ راس میش) از طریق اندازه‌گیری سطح پروژسترون پلازما با استفاده از کیت آزمایشگاهی به روش الایزا انجام شد. لازم به ذکر است که تا قبل از شروع برنامه همزمان سازی فحلی از ارتباط میش‌ها با قوچ جلوگیری شد. نمره وضعیت بدنی همه میش‌ها در روز شروع آزمایش، روز خروج اسفنج و روز ۳۰ پس از جفتگیری اندازه‌گیری و ثبت شد.

در زمان زایش تعداد میش‌های زایش کرده و تعداد بره‌های متولد شده از هر میش یادداشت شد. سپس با توجه به این اطلاعات پارامترهای عملکرد تولیدمثل شامل نرخ باروری، نرخ بره‌زایی و نرخ دوقلو زایی با استفاده از روابط ۱، ۲ و ۳ محاسبه شد.

(رابطه ۱)

$100 \times (\text{تعداد کل میش‌های زایش کرده در هر گروه} / \text{تعداد کل میش‌های جفت گیری کرده در هر گروه}) = (\text{درصد}) \text{ نرخ باروری}$

(رابطه ۲)

$(\text{تعداد کل بره‌های متولد شده در هر گروه} / \text{تعداد کل میش‌های جفت گیری کرده در هر گروه}) = \text{نرخ بره‌زایی}$

(رابطه ۳)

$100 \times (\text{تعداد کل میش‌های دوقلوزا در هر گروه} / \text{تعداد کل میش‌های زایش کرده در هر گروه}) = (\text{درصد}) \text{ نرخ دوقلو زایی}$

در شروع آزمایش، روز خروج اسفنج و روز فحلی نمونه‌های خون از سیاهرگ و داج میش‌ها با استفاده از لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد (هپارین) جمع‌آوری، پلاسمای آن‌ها جداسازی و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت فراسنجه‌های پلازما با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (BT1500, Biotechnica, Italy) و بر اساس دستورالعمل‌های شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. داده‌های مربوط به نمره وضعیت بدنی با استفاده از رویه MIXED نرم افزار آماری SAS آنالیز شدند و از نمره وضعیت بدنی در ابتدای آزمایش و سن میش‌های به عنوان کوواریت در مدل استفاده شد. غلظت فراسنجه‌ها و ویتامین B₁₂ پلاسمای میش‌ها با استفاده از رویه MIXED نرم افزار آماری SAS آنالیز شدند و از غلظت آن‌ها در روز قبل از شروع آزمایش به عنوان کوواریت در مدل استفاده شد. آنالیز داده‌های مربوط به عملکرد تولیدمثل با استفاده از روش FREQ, LOGISTIC انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی و سطح معنی‌داری به صورت ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

اثر تزریق مقادیر مختلف محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس در پیش از جفتگیری بر غلظت فراسنجه‌های پلاسمای میش‌های افشاری در جدول ۱ گزارش شده است. بر اساس نتایج به دست آمده غلظت گلوکز، کلسترول کل، نیتروژن اوره‌ای و پروتئین کل پلاسمای میش‌ها در روز شروع آزمایش یکسان بود ($P>0.05$). غلظت گلوکز پلاسمای میش‌های دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌لیتر محلول ویتامین‌های B کمپلکس در روز خروج اسفنج در مقایسه با سایر گروه‌ها تمایل به افزایش داشت ($P=0.09$). میش‌های گروه شاهد در مقایسه با میش‌های دریافت‌کننده محلول ویتامین B کمپلکس غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسمای بیشتری داشتند ($P<0.05$). غلظت کلسترول کل و پروتئین کل پلاسمای میش‌ها در روز خروج اسفنج تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0.05$). غلظت گلوکز، کلسترول کل، نیتروژن اوره‌ای و پروتئین کل پلاسمای میش‌ها در روز فحلی تحت تاثیر مقدار تزریق محلول حاوی ویتامین B کمپلکس قرار نگرفت ($P>0.05$).

جدول ۱- اثر تزریق مقادیر مختلف محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس در حوالی جفتگیری بر غلظت فراسنجه‌های پلاسمای میش‌های افشاری

Table 1- Effect of injection of different amounts of solution containing B complex vitamins around mating on plasma parameter concentrations in Afshari ewes

پارامتر	مقدار تزریق ویتامین B کمپلکس Vitamin B complex injection dosage			SEM	P-Value
	0	5 ml	10 ml		
گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر) Glucose (mg/dL)					
شروع آزمایش Beginning of experiment	67.23	67.07	65.87	2.48	0.91
روز خروج اسفنج Day of CIDR removal	63.18	67.72	69.13	1.85	0.09
روز فحلی Day of estrous and mating	62.53	66.30	67.50	1.82	0.17
کلسترول کل (میلی گرم در دسی لیتر) Total cholesterol (mg/dL)					
شروع آزمایش Beginning of experiment	71.52	70.59	69.30	2.42	0.81
روز خروج اسفنج Day of CIDR removal	64.40	63.22	61.93	2.81	0.83
روز فحلی Day of estrous and mating	58.05	63.27	66.53	2.72	0.12
نیتروژن اوردهای (میلی گرم در دسی لیتر) Blood urea nitrogen (mg/dL)					
شروع آزمایش Beginning of experiment	12.80	10.30	13.10	1.07	0.19
روز خروج اسفنج Day of CIDR removal	11.09 ^a	8.69 ^b	7.90 ^b	0.77	0.03
روز فحلی Day of estrous and mating	10.09	8.09	8.48	1.01	0.32
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر) Total protein (g/dL)					
شروع آزمایش Beginning of experiment	6.97	7.28	7.03	0.14	0.77
روز خروج اسفنج Day of CIDR removal	6.60	7.06	6.93	0.21	0.30
روز فحلی	6.34	6.55	6.55	0.16	0.59

نمره وضعیت بدنی و غلظت ویتامین B₁₂ پلاسما

اثر تزریق مقادیر مختلف محلول ویتامین B کمپلکس در پیش از جفتگیری بر نمره وضعیت بدنی و غلظت ویتامین B₁₂ پلاسما میش های افشاری در جدول ۲ آورده شده است. نمره وضعیت بدنی میش ها در روز خروج اسفنج و روز فحلی تحت تاثیر تزریق مقادیر مختلف محلول ویتامین B کمپلکس قرار نگرفت ($P > 0.05$). بالاترین غلظت ویتامین B₁₂ پلاسما در روز خروج اسفنج و روز فحلی در میش های دریافت کننده ۱۰ میلی لیتر محلول ویتامین های B کمپلکس مشاهده شد ($P < 0.05$).

جدول ۲- اثر تزریق مقادیر مختلف محلول حاوی ویتامین های B کمپلکس در حوالی جفتگیری بر غلظت ویتامین B₁₂ پلاسما و نمره وضعیت بدنی میش های افشاری

Table 2- Effect of injection of different amounts of B complex vitamin solution around mating on plasma B₁₂ concentration and body condition score of Afshari ewes

پارامتر	مقدار تزریق ویتامین B کمپلکس Vitamin B complex injection dosage			SEM	P-Value
	0	5 ml	10 ml		
نمره وضعیت بدنی Body Condition Score					
شروع آزمایش Beginning of experiment	3.30	3.15	3.20	0.07	0.31
روز خروج اسفنج Day of CIDR removal	3.03	3.04	3.19	0.08	0.41
روز فحلی Day of estrous and mating	3.25	3.20	3.18	0.07	0.75
ویتامین B ₁₂ (پیکوگرم در میلی لیتر) Vitamin B ₁₂ (pg/mL)					
شروع آزمایش Beginning of experiment	1244.71	1257.51	1232.14	48.96	0.93
روز خروج اسفنج Day of CIDR removal	1266.03 ^b	1472.28 ^a	1621.06 ^a	52.67	<0.01
روز فحلی Day of estrous and mating	926.64 ^c	1564.40 ^b	1879.05 ^a	49.38	<0.01

میانگین های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$)

Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

عملکرد تولیدمثلی

اثر تزریق مقادیر مختلف محلول ویتامین‌های B کمپلکس در پیش از جفتگیری بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های افشاری در جدول ۳ نشان داده شده است. نرخ بهره‌زایی و نرخ باروری در میش‌های دریافت‌کننده محلول ویتامین‌های B کمپلکس در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بود ($P < 0.05$). در صورتی که نرخ دوقلو زایی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P > 0.05$).

جدول ۳- اثر تزریق مقادیر مختلف محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس در حوالی جفتگیری بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های افشاری

Table 3- Effect of injection of different amounts of solution B complex vitamins around mating on reproductive performance of Afshari ewes

پارامتر	مقدار تزریق ویتامین B کمپلکس			SEM	P-Value
	Vitamin B complex injection dosage				
	0	5 ml	10 ml		
نرخ بهره‌زایی (درصد)	120.0 ^a	116.0 ^b	152.0 ^a	10.06	0.05
Lambing rate (%)					
نرخ باروری (درصد)	76.0 ^b	80.0 ^b	100.0 ^a	-	0.01
Fertility rate (%)					
نرخ دوقلو زایی (درصد)	57.89	47.62	52.0	-	0.81
Twining rate (%)					

میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$)

Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

مطالعه حاضر اثرات تزریق مقادیر مختلف محلول ویتامین‌های B کمپلکس در پیش از جفتگیری بر نمره وضعیت بدنی، غلظت فراسنجه‌ها و ویتامین B₁₂ پلاسما و عملکرد تولیدمثلی میش‌های افشاری را بررسی کرد. مهم‌ترین یافته‌ها تغییر در غلظت چند پارامتر از جمله غلظت گلوکز، نیتروژن اوره‌ای و B₁₂ پلاسما و نرخ بهره‌زایی و باروری بود. به گونه‌ای که تزریق محلول ویتامین B کمپلکس (مخصوصاً ۱۰ میلی‌لیتر) باعث تمایل به افزایش غلظت گلوکز و کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما و بهبود نرخ بهره‌زایی و باروری شد. این نتایج، یافته‌های قبلی در ارتباط با تاثیر مواد مغذی بر عملکرد تولید مثلی در حیوانات مزرعه‌ای را تأیید می‌کند (Smith and Akinbamijo, 2000). انرژی، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها از مهم‌ترین عوامل تغذیه‌ای موثر بر تولیدمثل در حیوانات نشخوارکننده هستند (Vázquez-Armijo et al., 2011). این مواد مغذی با تغییر غلظت پارامترهای پلاسمایی مانند گلوکز، کلسترول، اسیدآمینه، اسیدچرب، نیتروژن اوره‌ای، کلسیم، فسفر، منیزیم، سایر مواد معدنی، انسولین، لپتین، LH، FSH، IGF-1، استرادیول و پروژسترون بر تولیدمثل تأثیر می‌گذارند (Ferguson, 2005). همه این عوامل بر جنبه‌های مختلف فرایندهای تولیدمثلی در حیوانات نشخوارکننده از جمله تعداد فولیکول، تعداد جنین، مدت زمان آبستنی و بقای جنین تأثیر می‌گذارد (Fleming et al., 2012). انرژی جزء اصلی جیره غذایی است که بر تخمک‌گذاری و بهره‌زایی میش تأثیر دارد (Daghighkia et al., 2015). دریافت انرژی باعث افزایش گلوکز خون، انسولین و IGF-1 می‌شود که ممکن است باعث رشد گیرنده LH در سلول‌های گرانولوزا و تخمک‌گذاری فولیکول‌ها شود (Rassu et al., 2004). بارداری، بقای اولیه جنین و رشد جنین به کیفیت تخمک بستگی دارد (Krisher et al., 2004). گلیکولیز، مسیر پنتوز فسفات، مسیر بیوسنتز هگزامین، جایگاه گلوکز را به عنوان یک متابولیت حیاتی برای تخمک برجسته می‌کنند. مسیر گلیکولیتیک بیشتر گلوکز را در طول رشد تخمک متابولیزه می‌کند تا پیروات را به

عنوان یک سوبسترای حاوی انرژی تولید کند. گلوکز بلوغ هسته‌ای و حالت اکسیداسیون-احیا را از طریق مسیر پنتوز فسفات تنظیم می‌کند. گلوکز ترکیبات خارج سلولی و گلیکوزیلاسیون متصل به انتقال سیگنال را از طریق مسیر بیوستنز هگزوزامین در طول بلوغ تخمک تحریک می‌کند (Sutton-McDowall *et al.*, 2010). گلوکز همچنین بر سطح انسولین گردش خون و IGF-1 تأثیر می‌گذارد. انسولین حرکت گلوکز را به اندام‌های خارج کبدی مانند تخمدان‌ها افزایش می‌دهد (Kawashima *et al.*, 2012). غلظت بالای گلوکز، انسولین و IGF-1 پلازما تنظیم کننده‌های کلیدی محور تولیدمثل هستند (Kawashima *et al.*, 2012). دانه‌های ذرت، جو و گندم بیشترین سهم از جیره‌های فلاشینگ گوسفند و بز را تشکیل می‌دهند (Scaramuzzi *et al.*, 2006). به طور کلی، نشاسته غلات تولید اسیدهای آلی شکمبه به ویژه پروپیونات را افزایش می‌دهد (Huntington *et al.*, 2006). در نشخوارکنندگان، ۲۰ درصد از گلوکز گردش خون از طریق جذب گلوکز به داخل ورید باب کبدی پس از هضم نشاسته در دستگاه گوارش وارد می‌شود، در حالی که بقیه از گلوکونئوزنر کبد منشا می‌گیرد (Galindo *et al.*, 2011). پروپیونات پیش‌ساز اولیه گلوکز در نشخوارکنندگان تغذیه شده است و کبد حدود ۶۰ درصد از گلوکز پلازما را تأمین می‌کند (Larsen and Kristensen, 2013). پروپیونات قبل از ورود به چرخه کربس ابتدا باید به پروپیونیل-CoA، سپس متیل‌مالونیل-CoA و در نهایت سوکسینیل-CoA تبدیل شود. تبدیل متیل‌مالونیل کوآ به سوکسینیل کوآ توسط متیل‌مالونیل کوآ موتاز به ویتامین B₁₂ به عنوان کوفاکتور نیاز دارد (Mann *et al.*, 2001). علاوه بر متابولیسم انرژی و تولید گلوکز، گاوهای شیری که B₁₂ دریافت کرده بود، پاسخ بافتی بهتری به انسولین داشتند (Girard *et al.*, 2019)، که ممکن است عملکرد تولیدمثلی را بهبود بخشد. تشکیل فولیکول‌های تخمدان و عملکرد تولیدمثلی در نشخوارکنندگان به طور مثبت تحت تأثیر غلظت گلوکز در گردش خون است. گلوکز یکی از مهم‌ترین تنظیم کننده‌های رویدادهای تولیدمثلی در نشخوارکنندگان است که هم به طور مستقیم از طریق تأمین انرژی و هم به طور غیرمستقیم با افزایش ترشح انسولین (Lucy, 2016) این کار را انجام می‌دهد. مطالعات قبلی در شرایط آزمایشگاهی (Zacchini *et al.*, 2017) و مزرعه‌ای (Mitchell *et al.*, 2007) نشان داد که مکمل B₁₂ به عنوان یک دهنده گروه متیل باعث بهبود رشد و نمو تخمک در میش‌ها می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها، مواد معدنی و ویتامین‌ها بر بسیاری از جنبه‌های تولیدمثل در نشخوارکنندگان تأثیر می‌گذارند (Awawdeh *et al.*, 2019). اثر تزریق ویتامین‌های B کمپلکس در حوالی جفت‌گیری بر تغییرات نمره وضعیت بدنی حیوانات نشخوارکننده به خوبی مشخص نیست. با توجه به گزارشات قبلی، تزریق ویتامین B₁₂ با افزایش وزن بز همراه بوده است (Kadim *et al.*, 2006). نمره وضعیت بدنی نشانگر وضعیت تغذیه و ذخایر چربی بدن با اثرات برجسته بر عملکرد تولیدمثلی در حیوانات نشخوارکننده است. نمره وضعیت بدنی توصیه شده در اطراف جفت‌گیری برای میش حدود ۲/۵ تا ۳/۵ است (Kenyon *et al.*, 2014). نرخ باروری، آبستنی و بهره‌زایی با نمره وضعیت بدنی همبستگی مثبت دارد (Atti *et al.*, 2001). ویتامین B₁₂ یک کوآنزیم ضروری برای متیل‌مالونیل کوآنزیم A موتاز در طی تبدیل پروپیونات به گلوکز از طریق گلوکونئوزنر و مسیرهای چرخه کربس در نشخوارکنندگان است (McDowell, 2000). بنابراین، تغییر در نمره وضعیت بدنی میش‌ها ممکن است به دلیل تغییر در متابولیسم انرژی باشد (McDowell, 2000). اگرچه، در مطالعه حاضر نمره وضعیت بدنی میش‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. یکی از دلایل افزایش نرخ باروری و بهره‌زایی با تزریق ۱۰ میلی‌لیتر محلول حاوی ویتامین‌های B کمپلکس احتمالاً مربوط به تأثیر ویتامین B کمپلکس بر سنتز هورمون‌های استروئیدی است (Kim *et al.*, 2020). افزایش دریافت انرژی باعث افزایش گلوکز خون، انسولین و IGF-1 می‌شود، که ممکن است با گیرنده‌های FSH و LH در سلول‌های گرانولوزا کار کند و باعث بلوغ فولیکول و تخمک‌گذاری شود (Rassu *et al.*, 2004). سطوح بالای B₁₂ و IGF-1 محور تولیدمثل را تنظیم می‌کند

(Kawashima et al., 2012). در آخرین مرحله از چرخه فحلی، کاهش پروژسترون و افزایش استرادیول باعث افزایش ترشح گنادوتروپین می‌شود. پروژسترون و استرادیول بر فرکانس و دامنه پالس LH تأثیر می‌گذارند و ترشح ضربان‌دار LH رابطه معکوس با ترشح پروژسترون توسط جسم زرد دارد (Barett et al., 2007). در میش‌هایی با چرخه فحلی فعال، پروژسترون یک سیگنال غدد درون‌ریز است که هم فرکانس امواج فولیکولی و هم افزایش دوره‌ای غلظت FSH را تنظیم می‌کند (Bartlewski et al., 2011). پروژسترون نقش موثری در افزایش حساسیت سلول‌های گنادوتروپ به GnRH برای تولید FSH ایفا می‌کند. با بهبود وضعیت انرژی، B₁₂ ممکن است بر بیان ژن‌های مرتبط با رشد فولیکول در تخمدان تأثیر بگذارد (Gagnon et al., 2015). متیونین سنتاز که هموسیستین را به متیونین تبدیل می‌کند از B₁₂ به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کند (McFadden et al., 2020). با توجه به نتایج مطالعه حاضر، تزریق ۱۰ میلی‌لیتر محلول ویتامین B کمپلکس کاهش قابل توجهی در غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما ایجاد کرد. مشابه نتایج مطالعه حاضر، تزریق محلول حاوی ویتامین B₁₂ باعث افزایش غلظت B₁₂ پلاسما در گاوهای شیری در اوایل دوره شیردهی (Duplessis et al., 2017) و دوره انتقال (Wang et al., 2018)، خوک‌ها (Matte et al., 2006) و بزها (Kadim et al., 2006) شد. مشابه نتایج مطالعه حاضر، محققین دریافتند که تزریق ویتامین B₁₂ هیچ تأثیری بر غلظت کلسترول کل پلاسما یا گاوهای شیری در طول دوره انتقال نداشت (Wang et al., 2018). در حیوانات نشخوارکننده، عمده گلوکز خون از منابع پیش سازهای گلوکوکورتیک مانند پروپیونات، لاکتات، گلیسرول و اسیدهای آمینه گلوکوکورتیک منشاء می‌گیرد (Lucy, 2016). طبق گفته محققین تخمیر کربوهیدرات‌های سریع تخمیر مانند نشاسته در شکمبه منبع اصلی تولید پروپیونات است (De Koster and Opsomer, 2013). نیتروژن اوره‌ای پلاسما از آمونیاک جذب شده از طریق دیواره شکمبه و دامیناسیون اسیدهای آمینه بافتی تولید می‌شود (Lapierre and Lobley, 2001). اگرچه، غلظت آمونیاک مایع شکمبه در آزمایش حاضر اندازه‌گیری نشد، عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت پروتئین کل پلاسما ممکن است به غلظت مشابه آمونیاک در مایع شکمبه و دامیناسیون یکسان اسیدهای آمینه در بافت ماهیچه‌ای آن‌ها مرتبط باشد. زیرا میش‌های همه تیمارهای آزمایشی با جیره یکسان در زمان فلاشینگ تغذیه شدند. موافق با نتایج ما گزارش شده است که عملکرد تولیدمثلی نشخوارکنندگان با کاهش سطح نیتروژن اوره‌ای پلاسما افزایش می‌یابد (Rhoads et al., 2004). مشخص شده که میش‌هایی که طی ۳ هفته قبل تا ۲ هفته پس از جفت‌گیری با جیره حاوی پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه بالاتر تغذیه شدند میزان دوقلو زایی، باروری و بهره‌زایی بالاتری داشتند که با کاهش سطح نیتروژن اوره‌ای پلاسما همراه بود (Daghighkia et al., 2015). از سوی دیگر، افزایش دریافت پروتئین خام یا پروتئین قابل تجزیه در شکمبه و در نتیجه سطوح بالاتر نیتروژن اوره‌ای پلاسما با نرخ باروری کمتر مرتبط است (Butler, 2001). بافت‌های تولیدمثلی برای تولید هورمون‌های استروئیدی مانند استرادیول، پروژسترون و تستوسترون به کلسترول نیاز دارند (Sèdes et al., 2018). موافق با نتایج حاضر، تزریق ویتامین B₂ باعث افزایش میزان بهره‌زایی شد (Waheed et al., 2020). تخمک‌ریزی در میش پدیده‌ای بیولوژیک بوده و با آزاد شدن تخمک از فولیکول‌های سطح تخمدان همراه است. در حقیقت این واقعه تحت تأثیر مسیرهای تنظیمی مختلفی قرار می‌گیرد. به علت تلفات جنینی در روزهای اول آبستنی و همچنین وجود میش‌های نابارور در گله، درصد زایش در گله کاهش می‌یابد ولی دو یا چندقلو زایی این کاهش را جبران می‌کند. در آزمایشی تأثیر بلوس شکمبه‌ای حاوی برخی ویتامین‌ها و مواد معدنی بر عملکرد تولیدمثلی میش را بررسی شد و گزارش کردند که نرخ بهره‌زایی از ۱۲۴ درصد به ۱۵۲ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (Heming et al., 2001). گزارش شده که مکمل ویتامین B₁₂ تعداد بلاستوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (Mitchell et al., 2005). ویتامین B₁₂ به طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق تأثیر بر متابولیسم انرژی و ترشح

هورمون‌های تولیدمثلی و اثرات متقابل با این هورمون‌ها بر فیزیولوژی طبیعی تولیدمثل در میش تأثیر دارد و باعث افزایش نرخ باروری و نرخ آبستنی و بهبود عملکرد تخمدان می‌شود (Abdelrahman, 2006). بنابراین، بهبود نرخ باروری و بره زایی در میش‌های دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌لیتر محلول ویتامین B کمپلکس در آزمایش حاضر را می‌توان به بهبود وضعیت انرژی (افزایش گلوکز پلاسما)، افزایش غلظت ویتامین B₁₂ پلاسما و متابولیسم بهتر تخمدان در این میش‌ها ارتباط داد. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر احتمالاً عدم تزریق ویتامین‌های B کمپلکس تأثیر منفی بر فعالیت تخمدان داشته است که با کاهش عملکرد تولیدمثلی میش‌ها همراه بوده است. محققین طی مطالعه‌ای اثر بلوس‌های شکمبه‌ای حاوی برخی ویتامین‌ها بر میش را بررسی کردند و افزایش درصد بره‌زایی را گزارش کردند (Heming et al., 2001). در مطالعه حاضر، درصد بره‌زایی در میش‌های گروه شاهد کاهش یافت. این نتایج بیانگر این است که کمبود مواد مغذی از جمله ویتامین‌های B کمپلکس باعث کاهش انرژی مورد نیاز برای فعالیت تخمدان شده و در صورت جبران کمبود ویتامین می‌توان درصد بره‌زایی را افزایش داد. گزارش شده که تزریق ویتامین B₁₂ قبل از فصل تولیدمثل و بعد از جفت‌گیری فحلی و نرخ‌گیری را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد (Moss et al., 2007). همچنین گزارش شده که مکمل جیره‌ای B₁₂ بر درصد آبستنی میش تأثیری نداشت (Mitchell et al., 2007). در تحقیق حاضر نتایج نشان داد که تزریق ویتامین B کمپلکس احتمالاً با بهبود متابولیسم انرژی بر باروری میش‌ها در فصل تولیدمثلی مؤثر بوده است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این آزمایش نشان داد که تزریق محلول ویتامین B کمپلکس (مخصوصاً ۱۰ میلی‌لیتر) در پیش از جفت‌گیری با بهبود غلظت گلوکز و افزایش ویتامین B₁₂ و کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما باعث بهبود نرخ باروری و نرخ بره‌زایی میش‌های افشاری شد و می‌توان از آن به عنوان یک راه‌کار برای بهبود عملکرد تولیدمثلی میش استفاده کرد.

References

1. Abdelrahman, M., Abo-Shehada, M., & Mukbel, R. (2006). Effect of Stage of Gestation on the Accumulation of Copper, Manganese, Zinc, Iron and Calcium in Fetal Tissue of Awassi Ewes in Northern Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 2(2).
2. Abdollahi, E., Kohram, H., Shahr, M. H., & Nemati, M. H. (2015). Effects of a sustained-release multi-trace element ruminal bolus on sex ratio, reproductive traits and lambs growth in synchronized Afshari ewes. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 7(1), 1-11. Doi.org/10.22067/VETERINARY.V7I1.33598 .
3. Ashworth, C. J. (1995). Maternal and conceptus factors affecting histotrophic nutrition and survival of embryos. *Livestock Production Science*, 44(2), 99-105. Doi.org/10.1016/0301-6226(95)00045-5
4. Awawdeh, M. S., Eljarah, A. H., & Ababneh, M. M. (2019). Multiple injections of vitamin E and selenium improved the reproductive performance of estrus-synchronized Awassi ewes. *Tropical animal health and production*, 51, 1421-1426. Doi: 10.1007/s11250-019-01826-0.
5. Barrett, D. M., Duggavathi, R., Davies, K. L., Bartlewski, P. M., Bagu, E. T., & Rawlings, N. C. (2007). Differential effects of various estradiol-17beta treatments on follicle-stimulating hormone peaks, luteinizing hormone pulses, basal gonadotropin

concentrations, and antral follicle and luteal development in cyclic ewes. *Biology of reproduction*, 77(2), 252-262. Doi: 10.1095/biolreprod.106.058842.

6. Bartlewski, P. M., Baby, T. E., & Giffin, J. L. (2011). Reproductive cycles in sheep. *Animal reproduction science*, 124(3-4), 259-268. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.02.024.
7. Butler, W. R. (2001). Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. *BSAP Occasional Publication*, 26(1), 133-145. Doi.org/10.1017/S0263967X00033644.
8. De Koster, J. D., & Opsomer, G. (2013). Insulin resistance in dairy cows. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 29(2), 299-322. Doi: 10.1016/j.cvfa.2013.04.002.
9. Duplessis, M., Lapierre, H., Pellerin, D., Laforest, J. P., & Girard, C. L. (2017). Effects of intramuscular injections of folic acid, vitamin B12, or both, on lactational performance and energy status of multiparous dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 4051-4064. Doi.org/10.3168/jds.2016-12381.
10. Ferguson, J. D. (2005). Nutrition and reproduction in dairy herds. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21(2), 325-347. Doi: 10.1016/j.cvfa.2005.03.001.
11. Fleming, T. P., Velazquez, M. A., Eckert, J. J., Lucas, E. S., & Watkins, A. J. (2012). Nutrition of females during the peri-conceptual period and effects on foetal programming and health of offspring. *Animal reproduction science*, 130(3-4), 193-197. Doi: 10.1016/j.anireprosci.2012.01.015.
12. Gagnon, A., Khan, D. R., Sirard, M. A., Girard, C. L., Laforest, J. P., & Richard, F. J. (2015). Effects of intramuscular administration of folic acid and vitamin B12 on granulosa cells gene expression in postpartum dairy cows. *Journal of dairy science*, 98(11), 7797-7809. Doi: 10.3168/jds.2015-9623.
13. Galindo, C. E., Ouellet, D. R., Pellerin, D., Lemosquet, S., Ortigues-Marty, I., & Lapierre, H. (2011). Effect of amino acid or casein supply on whole-body, splanchnic, and mammary glucose kinetics in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 94(11), 5558-5568. Doi.org/10.3168/jds.2010-3978
14. Girard, C. L., Vanacker, N., Beaudet, V., Duplessis, M., & Lacasse, P. (2019). Glucose and insulin responses to an intravenous glucose tolerance test administered to feed-restricted dairy cows receiving folic acid and vitamin B12 supplements. *Journal of dairy science*, 102(7), 6226-6234. Doi.org/10.3168/jds.2019-16298.
15. Hemingway, R. G., Parkins, J. J., & Ritchie, N. S. (2001). Enhanced reproductive performance of ewes given a sustained-release multi-trace element/vitamin ruminal bolus. *Small Ruminant Research*, 39(1), 25-30. Doi.org/10.1016/S0921-4488 (00)00175-9.
16. Huntington, G. B., Harmon, D. L., & Richards, C. J. (2006). Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. *Journal of animal science*, 84(suppl_13), E14-E24. Doi: 10.2527/2006.8413_supple14x.
17. Kadim, I. T., Mahgoub, O., Al-Ajmi, D., Al-Habsi, K. R., & Johnson, E. H. (2006). Comparative effects of low levels of dietary cobalt and parenteral injections of Vitamin

- B12 on body dimensions in different breeds of Omani goats. *Small Ruminant Research*, 66(1-3), 244-252. Doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.09.018.
18. Kawashima, C., Matsui, M., Shimizu, T., Kida, K., & Miyamoto, A. (2012). Nutritional factors that regulate ovulation of the dominant follicle during the first follicular wave postpartum in high-producing dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 58(1), 10-16. Doi: 10.1262/jrd.11-139n.
 19. Kenyon, P. R., Maloney, S. K., & Blache, D. (2014). Review of sheep body condition score in relation to production characteristics. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 57(1), 38-64. Doi.org/10.1080/00288233.2013.857698.
 20. DaghighKia, H., & Safdar, A. H. A. (2015). Effects of calcium salts of fatty acids (CSFA) with different profiles ($\omega 3$ and $\omega 6$) during the flushing period on reproductive performance of 'Afshari'ewes. *Small Ruminant Research*, 126, 1-8. Doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.02.020.
 21. Kim, K., Mills, J. L., Michels, K. A., Chaljub, E. N., Wactawski-Wende, J., Plowden, T. C., & Mumford, S. L. (2020). Dietary intakes of vitamin B-2 (riboflavin), vitamin B-6, and vitamin B-12 and ovarian cycle function among premenopausal women. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 120(5), 885-892. Doi: 10.1016/j.jand.2019.10.013.
 22. Krisher, R. L. (2004). The effect of oocyte quality on development. *Journal of animal science*, 82(suppl_13), E14-E23. Doi: 10.2527/2004.8213_supplE14x.
 23. Lapierre, H., & Lobley, G. E. (2001). Nitrogen recycling in the ruminant: A review. *Journal of Dairy Science*, 84, E223-E236. Doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)70222-6.
 24. Larsen, M., & Kristensen, N. B. (2013). Precursors for liver gluconeogenesis in periparturient dairy cows. *Animal*, 7(10), 1640-1650. Doi.org/10.1017/S1751731113001171.
 25. Lucy, M. C. (2016). The role of glucose in dairy cattle reproduction. *Adv. Dairy Technol*, 28, 161-173.
 26. Mann, G. E., Payne, J. H., & Lamming, G. E. (2001). Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F₂ α secretion by the bovine and ovine uterus in vivo. *Domestic Animal Endocrinology*, 21(2), 127-141. Doi: 10.1016/s0739-7240(01)00105-9.
 27. Matte, J. J., Guay, F., & Girard, C. L. (2006). Folic acid and vitamin B12 in reproducing sows: new concepts. *Canadian journal of animal science*, 86(2), 197-205. Doi.org/10.4141/A05-059.
 28. McDowell, L. R. (2000). Vitamins in animal and human nutrition.
 29. McFadden, J. W., Girard, C. L., Tao, S., Zhou, Z., Bernard, J. K., Duplessis, M., & White, H. M. (2020). Symposium review: One-carbon metabolism and methyl donor nutrition in the dairy cow. *Journal of dairy science*, 103(6), 5668-5683. Doi: 10.3168/jds.2019-17319.
 30. Mitchell, L. M., Mccallum, G., Mackie, K., Ewell, M., Ainslie, A., & McEroy T. G. (2005). Invitro Development of ovine oocytes from ewes of contrasting vitamin B12

- status. *Journal of Reproduction and Fertility Development*, 17(2), 222- 228. Doi.org/10.1071/RDv17n2Ab143.
31. Mitchell, L. M., Robinson, J. J., Watt, R. G., McEvoy, T. G., Ashworth, C. J., Rooke, J. A., & Dwyer, C. M. (2007). Effects of cobalt/vitamin B12 status in ewes on ovum development and lamb viability at birth. *Reproduction, Fertility and Development*, 19(4), 553-562. Doi: 10.1071/rd07012.
 32. Atti, N., Theriez, M., & Abdennebi, L. (2001). Relationship between ewe body condition at mating and reproductive performance in the fat-tailed Barbarine breed. *Animal Science Reserch*. 50: 135-144.
 33. Moss, G. E., Cammack, K. M., Larson, B. A., Alexander, B. M., Stobart, R. H., Hill, W. J., & Hess, B. W. (2007). Effect of Cobalt Supplementation and Estrous Synchronzation on Body Weight Gain and Conception Rates in Yearling Ewes and Peripubertal Ewe Lambs. In *PROCEEDINGS-AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE WESTERN SECTION* (Vol. 58, p. 153).
 34. National Research Council (NRC). 2007. *Nutrient Requirements of Small Ruminats: Sheep, Goats, Cervids and new world Camelids*. Washington, D.C., USA.
 35. Rassu, S., Enne, G., Ligios, S., & Molle, G. (2004). Nutrition and reproduction. Dairy Sheep Nutrition. Eds: Pulina G, Bencini R, 1st ed. Wallingford: CABI Publishing, 109-128. Doi.org/10.1079/9780851996813.0109.
 36. Rhoads, M. L., Gilbert, R. O., Lucy, M. C., & Butler, W. R. (2004). Effects of urea infusion on the uterine luminal environment of dairy cows. *Journal of dairy science*, 87(9), 2896-2901. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302 (04)73420-7.
 37. Robinson, J. J., Ashworth, C. J., Rooke, J. A., Mitchell, L. M., & McEvoy, T. G. (2006). Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4), 259-276. Doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.006.
 38. Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., & Somchit, A. (2006). A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reproduction Nutrition Development*, 46(4), 339-354. Doi: 10.1051/rnd: 2006016.
 39. Sèdes, L., Thirouard, L., Maqdasy, S., Garcia, M., Caira, F., Lobaccaro, J. M. A., & Volle, D. H. (2018). Cholesterol: a gatekeeper of male fertility? *Frontiers in endocrinology*, 9, 369. Doi.org/10.3389/fendo.2018.00369.
 40. Smith, O. B., & Akinbamijo, O. O. (2000). Micronutrients and reproduction in farm animals. *Animal reproduction science*, 60, 549-560. Doi: 10.1016/s0378-4320(00)00114-7.
 41. Sutton-McDowall, M. L., Gilchrist, R. B., & Thompson, J. G. (2010). The pivotal role of glucose metabolism in determining oocyte developmental competence. *Reproduction*, 139(4), 685. Doi: 10.1530/REP-09-0345. Epub 2010 Jan 20.
 42. Waheed, M. M., El-Shahat, K. H., Sallam, A. A., El-Saidy, B. E., & Khalifa, T. A. A. (2020). Influence of vitamin B2, ascorbic acid and melatonin on reproduction of Ewes

during summer season under temperate climate. *Indian Journal of Small Ruminants (The)*, 26(1), 38-42. Doi: 10.23880/izab-16000191.

43. Wang, D. M., Zhang, B. X., Wang, J. K., Liu, H. Y., & Liu, J. X. (2018). Effect of dietary supplements of biotin, intramuscular injections of vitamin B12, or both on postpartum lactation performance in multiparous dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(9), 7851-7856. Doi: 10.3168/jds.2018-14524.
44. Yazlik, M. O., Olgac, K. T., Colakoglu, H. E., Kaya, U., Yildirim, M. M., & Bas, B. (2020). Effects of vitamin B1, vitamin E and selenium on pregnancy and blood metabolites profile during non-breeding season and early prediction of pregnancy by thermographic monitoring in Merino ewes. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 90(10), 1368-1372. Doi.org/10.56093/ijans.v90i10.111306.
45. Zacchini, F., Toschi, P., & Ptak, G. E. (2017). Cobalamin supplementation during in vitro maturation improves developmental competence of sheep oocytes. *Theriogenology*, 93, 55-61. Doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.01.035.
46. Vázquez-Armijo, J. F., Rojo, R., López, D., Tinoco, J. L., González, A., Pescador, N., & Domínguez-Vara, I. A. (2011). Trace elements in sheep and goats reproduction: a review. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14(1), 1-13.