

دراسة دور حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ في الصفات الفسيولوجية وبعض المعايير الكيموحيوية للدم في النعاج العواسية أثناء الحمل والولادة وحملاتها الرضعية من الولادة الى الفطام .

سهاد جميل هادي الجبر

فرع الفسلجة والأدوية البيطرية

كلية الطب البيطري/جامعة القاسم الخضراء

الملخص

أجريت هذه الدراسة في إحدى المزارع الأهلية بمنطقة التاجية التابعة إلى مدينة الحلة. وأستخدم في هذه الدراسة 24 نعجة عواسية مع حملاتها وقد بلغ عمر الأمهات 3 سنوات ومعدل وزنها في بداية التجربة 43 - 44 كغم. وزعت هذه الحيوانات عشوائيا إلى أربع مجاميع متساوية بالعدد (6 نعجة في كل مجموعة). غذيت النعاج على عليقة مركزة موحدة إضافة إلى السماح لها بالرعي اليومي على الحشائش لمدة ستة ساعات يوميا. وقد استمرت التجربة من الأشهر الثلاثة الأخيرة من الحمل لغاية فطام الحملان. وقد جرعت النعاج أثناء الحمل والحملان أثناء الرضاعة بالفيتامينات (B₉ و B₁₂) وتضمنت المعاملات على المعاملة الأولى (مجموعة السيطرة) التي لم تقدم فيه الفيتامينات بينما جرعت حيوانات المجموعة الثانية بحامض الفوليك وفيتامين B₉ بتركيز 5 ملغم وجرعت حيوانات المجموعة الثالثة 225 وحدة دولية من فيتامين B₁₂ , جرعت حيوانات المجموعة الرابعة بخليط من الفيتامينين (B₉ و B₁₂) اما بالنسبة للحملان فقد جرعت خلال فترة الرضاعة عن طريق الفم بتركيز 1 ملغم من حامض الفوليك في المعاملة الثانية , وفي المعاملة الثالثة جرعت الحملان 125 وحدة دولية من فيتامين B₁₂ والمعاملة الرابعة جرعت بخليط من الفيتامينين بالإضافة إلى معاملة السيطرة (المجموعة الأولى) التي لم يقدم لها الفيتامينين. وأشارت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في درجة حرارة جسم النعاج والحملان الرضعية بين المعاملات وفروق عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) في معدلات ضربات القلب وسرعة التنفس في الدقيقة الواحدة بين المعاملات في النعاج والحملان الرضعية, كما لوحظ تحسن حسابي في نسبة حيوية النعاج والحملان الرضعية بين معاملات الفيتامينات مقارنة عن معاملة السيطرة. اما بالنسبة للصفات الدموية فقد أظهرت النتائج زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في متوسط هيموكلوبين الكرية MCH وعدد الخلايا اللمفاوية lymphocytes مع زيادة عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) في متوسط عدد كريات الدم الحمراء RBC وخلايا الدم البيض WBC ومستوى خضاب الدم Hb وحجم كريات الدم المرصوصة PCV ومعدل تركيز هيموكلوبين الكرية MCHC في عينات دم النعاج والحملان المعاملة بحامض الفوليك وفيتامين B₁₂ مقارنة مع معاملة السيطرة. يستنتج من الدراسة ان تقديم حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ أدى الى تحسن معنوي في المظاهر الحيوية الفسلجية والصفات الكيموحيوية للدم.

الكلمات الدالة : حامض الفوليك ، فيتامين B₁₂ ، المظاهر الحيوية ، المعايير الدموية .

Study of role of folic acid and vitamin B12 on physiological traits and some biochemical blood parameters of pregnant Awassi ewes and its lambs during the gestation and parturition and their lambs from lambing to weaning

Suhad J.H.AL-Jabor

Physiology and pharmlology Dept.,

College of Veterinary Medicine, Alqassim Green University.

Abstract

This study was conducted in a civil farm of Tagia area in Hilla city. 24 of pregnant Awassi ewes with sucking lambs were used . Ewes were about 3 years old with average live weight of 43-44 kg at the beginning of the experiment .The animals were randomly distributed into four equal groups (6 ewes per each group). Ewes were fed concentrate diet in addition 6 hours/day on grass pastures.

This study was lasted from the 3rd month of gestation until weaning of their lambs. Ewes and their lambs were dosed vitamins (B₉ and B₁₂) during gestation and lactation. Treatments include the first group (control group) vitamins were not offered to animals. In the second treatment animals were dosed with 5 mg of folic acid (vitamin B₉) , in the third treatment animals were dosed with 225 IU of B₁₂ vitamin ,and in the fourth treatment animals were dosed with mixture of both vitamins (B₉ and B₁₂). As for ewes lambs ,the first during suckling period were not dosed with any vitamins (control) . while in the second treatment were dosed with 1 mg of folic acid ,in third treatment lambs were dosed with 125 IU of vitamin B₁₂, and in fourth treatments lambs were dosed with mixture of two vitamins during the suckling period. The statistical analysis of results revealed significant differences ($P \leq 0.05$) in the average of body temperature of ewes and suckling lambs between among treatments and highly significant differences ($P \leq 0.01$) on respiratory rate and heart pulse per minute among different treatments of ewes and suckling lambs. Results also showed mathematical important in viability rate improved of ewes and suckling lambs among vitamins treatment as compared with control group. Blood parameters showed significant increase ($P \leq 0.05$) in the means corpuscular hemoglobin (MCH) and the accounts of lymphocytes and high significant increase ($P \leq 0.01$) in the means of the accounts of red blood cells (RBC) , white blood cells (WBC) , haemoglobin level (Hb), PCV , mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) in the blood samples of ewes and lambs that treated with folic acid and vitamin B₁₂ as compared with the control treatment . it was concluded that offering folic acid and vitamin B12 significantly improved the physiological viability traits and blood biochemical characteristics. .

Key words: folic acid, vitamin B₁₂, vital appearances, blood parameters .

المقدمة

البيورينات والبريميدينات والتي تعد مواد أولية ضرورية لتصنيع الحامض النووي (DNA) , كما ان نقصه يسبب حدوث خلل في تكوين الأنشوب العصبي الجنيني خاصة النساء اللواتي يعانين من أمراض في الكبد بسبب نفاذ خزين الكبد من حامض الفوليك (Benette و Brown ، 2003). كما لاحظ El-Barody (2002) أن أعطاء حامض الفوليك للحملان النامية أدى إلى زيادة نسبة حيوية الحملان وزيادة في عدد خلايا الدم البيض ومستوى الهيموكلوبين والكلوبولينات المناعية من نوع IgG في الدم، كما رافق ذلك انخفاض في درجة حرارة المستقيم وسرعة التنفس في الحملان المعالجة بحامض الفوليك. وفي العجول فقد وجد Levesque وآخرون (1993) زيادة معنوية في سرعة نمو العجول الرضيعة نتيجة تقديم حامض الفوليك بمعدل 16 و4 ملغم/كغم وزن حي يوميا في الغذاء وقد عزى ذلك إلى تحسين وتنشيط معدلات النمو في جسم العجول. كما أشارت نتائج Schwab وآخرون (2006) إلى إن حامض الفوليك يتأثر بنسبة العلف الخشن إلى العلف المركز في علائق تغذية أبقار الحليب ينعكس ذلك على دوره في تحسن نمو عجلات الحليب أثناء مرحلة الرضاعة .

وبالنسبة لتأثير فيتامين B₁₂ فقد أوضحت نتائج بعض الدراسات إن الحيوانات التي تعاني من نقص فيتامين B₁₂ في جسمها يمكن إن يسبب خفض مستوى الخصوبة وانخفاض في معدل عدد الولادات وانخفاض في أوزان المواليد و معدل النمو و معدل نمو الصوف وتدهور نوعيته

يعد حامض الفوليك folic acid (فيتامين B₉) من الفيتامينات الذائبة بالماء وهو ضروريا لتخليق الأحماض النووية DNA و RNA (Davis و Nicole ، 1988) لتخليق البروتينات (Change و kaiser ، 1972) فضلا عن زيادة فعالية ونشاط الكبد (Harper وآخرون ، 1996). وقد أشارت دراسات عديدة إلى ان تقديم حامض الفوليك للحيوانات الرضيعة في طور النمو يحسن معدلات الزيادة الوزنية اليومية (Dumoulin وآخرون ، 1991 ، Matte وآخرون 1990 ، Afify و Makled ، 1995 ، El-Barody 2002) , فيما وجد Kolb وآخرون (1999) تحسن في معدلات الزيادة الوزنية اليومية في الحيوانات المجترة النامية عند تجربتها بحامض الفوليك وأعزوا ذلك إلى مساهمة ونشاط حامض الفوليك في تجديد الخلايا وأنسجة جسم الحيوان نتيجة زيادة سرعة انقسام الخلايا وقد انعكس ذلك في سرعة النمو في جسم الحيوانات النامية. كما أشارت نتائج بعض الدراسات (Girard وآخرون ، 2009) إلى ضرورة تجهيز حامض الفوليك في علائق الحيوانات المزرعية في الشهور من الحمل وأثناء فترة الرضاعة وإنتاج الحليب .

اما في النساء الحوامل فقد وجد أن نقص حامض الفوليك يؤدي إلى الإصابة بمرض فقر الدم ذي الخلايا الكبيرة Megaloblastic anemia لأنه ضروري لتخليق

المصنع من قبل شركة فابكو الاردنية بجرعة بلغت 0.2 ملغم / كغم من الوزن الحي تحت الجلد للقضاء على الطفيليات الداخلية والخارجية وتم إجراء تزامن للشيق للنعاج باستخدام الاسفنجيات المهبلية الحاوية على هرمون البروجسترون . وشملت هذه التجربة على مرحلتين, أستخدم في المرحلة الأولى النعاج التي وزعت عشوائيا إلى أربعة مجاميع متساوية بالعدد (6 نعجة في كل مجموعة) عند تسفيدها من قبل الكباش. وخلال فترة العمل بالبحث اعتبرت المجموعة الأولى من النعاج مجموعة سيطرة الخالية من الفيتامينات (B₉ و B₁₂) وتم إعطاء النعاج حامض الفوليك (فيتامين B₉) بتركيز 5 ملغم / نعجة بشكل يومي بطريقة التجريب الفموي في المجموعة الثانية وفي المجموعة الثالثة أعطيت النعاج بمقدار 225 وحدة دولية من فيتامين B₁₂ / نعجة بمعدل مرتين في الأسبوع وفي حيوانات المجموعة الرابعة أعطيت خليط من الفيتامينين (B₉ و B₁₂) للفترة من بداية التسفيد وخلال فترات الحمل و الولادة والرضاعة لغاية بلوغ حملاتها عمر الفطام على التوالي وتم الحصول على حامض ألفوليك من شركة (Pvt. Ltd. G.T. Pharma.) الهندية وتم قياس الصفات التالية وهي قياس درجة حرارة الجسم وسرعة التنفس وعدد ضربات القلب والنبض للنعاج في الأشهر الثلاث الأخيرة من الحمل, كما تم سحب عينات الدم من النعاج من الوريد الوداجي مرتين في الأسبوع الأخير من فترة الحمل لاستخدامها للفحوصات الكيموحيوية للدم لدراسة الصفات التالية : عدد كريات الدم الحمر RBC, عدد خلايا الدم البيض WBC, مستوى خضاب الدم Hemoglobin level, وحجم كريات الدم المرصوصة PCV (Packed cell volume) , وتم إيجاد معدل حجم الكرية الحمراء (Mean corpuscular volume) MCV ومعدل هيموكلوبين الكرية (Mean corpuscular hemoglobin) MCH ومعدل تركيز هيموكلوبين الكرية (Mean corpuscular hemoglobin concentration) MCHC بموجب طريقة (Coles, 1986) وباستخدام جهاز عد الخلايا Haemocytometer لعد كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وطريقة ساهلي Sahli method لقياس مستوى خضاب الدم Hb level وكان العلف المركز المقدم للنعاج يتكون من (50% شعير اسود مجروش و 30% نخالة حنطة و 8% تبين الحنطة و 10% جت أخضر و 1% حجر الكلس و 1% ملح الطعام). وفي المرحلة الثانية من البحث اجريت التجربة على 27 حمل مولود حديثا من نفس النعاج التي استخدمت في المرحلة الأولى من البحث و قسمت هذه الحملان عشوائيا إلى أربعة مجاميع متساوية بمعدل 6 حمل في كل مجموعة, واعتبرت المجموعة الأولى من الحملان مجموعة سيطرة الخالية من الفيتامينات وأعطيت المجموعة الثانية بطريقة التجريب الفموي حامض الفوليك بتركيز 1 ملغم لكل حمل بمعدل مرتين في الاسبوع وفي المجموعة الثالثة اعطيت فيتامين B₁₂ بمقدار 125 وحدة دولية لكل حمل مرتين في الاسبوع

كما وجد إن نقص فيتامين B₁₂ يضعف وظائف الجهاز المناعي للحيوان و يؤدي ذلك إلى الإصابة بالأمراض المعدية التي تحدث نتيجة الإصابة بالطفيليات المعدية المسببة للإصابات الحادة بالأمراض (Papadopoulou وآخرون , 2013). كما أشارت دراسات عديدة إلى أن استخدام فيتامين B₁₂ في تغذية أبقار الحليب قد أدى تحسين الجهاز المناعي للجسم وزيادة نشاط أداء الحيوان وإنتاجه (Simon, 1990 و Lardinoise, 1994). وفي هذا الصدد فقد لاحظ Papadopoulou وآخرون (2013) وجود فروقات عالية المعنوية في مستوى كوكوز الدم بين معاملة السيطرة الخالية من فيتامين B₁₂ والمعاملة التجريبية الحاوية على فيتامين B₁₂. كما أوضحت نتائج بعض الدراسات (Mills, 2000) انه يمكن تلافي الإصابة بمرض الأنيميا الخبيثة وذلك عن طريقة إعطاء الأفراد بصورة منتظمة من جرعات من فيتامين B₁₂ مع فيتامين حامض الفوليك وباتباع هذه الطريقة ينعكس تأثيرها في المدى البعيد في تحصين الجسم من حدوث حالات نقص فيتامين B₁₂. بينما ذكر Morris وآخرون (2007) أن إعطاء الأفراد المسنين جرعات واطئة من من فيتامين B₁₂ مع مستويات عالية من حامض الفوليك في سيرم الدم تؤدي إلى الإصابة بمرض ضعف الإدراك العصبي والأنيميا الخبيثة لدى المسنين بينما بالمقابل وجد أن إعطاء جرعات منتظمة ومتوازنة من فيتامين B₁₂ مع مستويات عالية من حامض الفوليك في مصل الدم الأفراد تؤدي إلى حماية وتحصين الأفراد ضد مرض ضعف الإدراك العصبي ومنع حدوث حالات النقص بفيتامين B₁₂ في الأفراد .

الهدف من الدراسة الحالية:

1. دراسة تأثير نوع الفيتامين المستخدم في بعض المعايير الدموية في النعاج الحوامل المصابة بفقر الدم والضعف العام ومواليدها الرضيعة النامية .
2. دراسة تأثير نوع الفيتامين المستخدم في المظاهر الحيوية في جسم النعاج الحوامل ومواليدها النامية .
3. معرفة المعاملة الأفضل التي تحتوي على الفيتامينات التي تعطي أفضل النتائج في كافة الصفات المدروسة في النعاج ومواليدها النامية.

طرائق ومواد البحث

اجري البحث في إحدى المزارع الأهلية في قرية التاجية الواقعة في جنوب مدينة الحلة بمحافظة بابل. واستخدم في هذه التجربة 24 نعجة عواسية تعاني من الهزال والضعف العام وسقوط الصوف وشحوب الأغشية المخاطية للحيوانات. حققت النعاج في بداية التجربة بعقار (Ivermectin)

أشارت نتائج المظاهر الفسيولوجية للنجاح الحوامل الموضحة في جدول (1) وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) في متوسط درجة حرارة الجسم بين المعاملة الأولى (مجموعة السيطرة) عن المعاملتين الثانية والرابعة (فيتامين B_{12} ، حامض الفوليك + فيتامين B_{12}). بينما لم تظهر فروقات معنوية في متوسط درجة الحرارة بين المعاملات الثانية والثالثة والرابعة هذا من ناحية ومن ناحية أخرى ما بين المعاملة الأولى عن المعاملة الثالثة. هذا وقد بلغت متوسط درجة حرارة الجسم في النعاج العواسية الحوامل 39.65 ، 38.15 ، 38.55 ، 37.80 م° للمعاملات الأربعة على التوالي. وكذلك أوضحت النتائج وجود فروقات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) في متوسط ضربات القلب في النعاج الحوامل ما بين المعاملة الأولى عن المعاملات الثانية والرابعة وكذلك ما بين المعاملتين الثانية والرابعة. بينما لم تظهر أية فروقات معنوية في متوسطات ضربات القلب بالدقيقة ما بين المعاملتين الأولى والثالثة. هذا وقد بلغت متوسطات ضربات القلب بالدقيقة الواحدة 90.50 ، 78.00 ، 87.00 ، 71.00 نبضة/دقيقة للمعاملات (السيطرة ، فيتامين B_{12} ، حامض الفوليك ، حامض الفوليك + فيتامين B_{12} على التوالي). أما سرعة التنفس في النعاج الحوامل فقد أظهرت النتائج وجود فروقات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) في متوسطات هذه الصفة ما بين المعاملة الأولى (السيطرة) عن المعاملات الثالثة (حامض الفوليك) والرابعة (حامض الفوليك + فيتامين B_{12}) في حين لم تظهر النتائج وجود فروقات معنوية ما بين المعاملتين الثانية والثالثة من جهة ومن جهة أخرى ما بين المعاملتين الثانية والرابعة. هذا وقد بلغت متوسطات سرعة التنفس بالدقيقة 76.50 ، 63.50 ، 68.50 ، 57.50 مرة/دقيقة للمعاملات الأربعة على التوالي. أما نسبة الحيوية في النعاج خلال فترة الحمل والولادة والرضاعة فقد نفقت نعجة واحدة في المجموعة الأولى (مجموعة السيطرة) بسبب الهزال والضعف العام وقر الدم وبذلك أظهرت النتائج في الجدول (1) أن نسبة الحيوية للنعاج قد بلغت 84 ، 100 ، 100 ، 100% في المعاملات الأربعة على التوالي. أما في المواليد الرضيعة فقد بينت النتائج في الجدول (2) وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) في معدلات درجات حرارة المستقيم ما بين المعاملة الأولى (السيطرة) عن المعاملات الثلاثة التجريبية الأخيرة بينما لم تظهر أية فروقات معنوية بين المعاملات الثلاث الأخيرة في متوسطات هذه الصفة. وقد بلغت معدلات درجة حرارة الجسم في المواليد الرضيعة 39.65 ، 38.15 ، 38.55 ، 37.80 م° للمعاملات الأربعة على التوالي. في حين أظهرت النتائج (جدول 2) وجود فروقات عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) في متوسطات عدد ضربات القلب وسرعة التنفس بالدقيقة في مجاميع الحملان الرضيعة ما بين المعاملة الأولى (السيطرة) عن كلا المعاملتين الثانية (فيتامين B_{12}) والرابعة (خليط من حامض الفوليك وفيتامين B_{12}). وقد بلغت متوسطات عدد ضربات القلب 79.50 ، 71.00 ، 74.50 ، 68.50 نبضة/دقيقة وسرعة

الواحد وأعطيت حملان المجموعة الرابعة خليط من الفيتامينين (B_{12} و B_9) بنفس التراكيز المذكورة اعلاه اعتباراً من موعد الولادة لغاية بلوغها عمر الفطام. وتم تجريب الحملان بالفيتامينات عن طريق الفم باستخدام المجرة البيطرية المدرجة وتم الابتداء بالتجريب بهذا الفيتامينات بعد ولادة الحملان بأربع ساعات وبمعدل مرتين أسبوعياً ولحين موعد الفطام البالغة 3 أشهر. وتم قياس درجة حرارة جسم الحملان وسرعة التنفس/دقيقة وعدد ضربات القلب/دقيقة للحملان في الأسبوع 12 من العمر، كما تم سحب عينات الدم من الحملان بعمر 12 أسبوعاً وبعد جمع عينات الدم مباشرة من الحملان أعيد إجراء نفس الفحوصات الدموية أنفة الذكر كما جرى في الأمهات. وتم حساب نسبة الحيوية للنعاج ومواليدها النامية باستخدام المعادلة التالية :-

$$\text{نسبة الحيوية في النعاج} = \frac{\text{عدد النعاج الباقية على قيد الحياة}}{100 \times (\text{القس والصائغ, 2000})}$$

عدد النعاج الكلي

$$\text{نسبة الحيوية في الحملان الرضيعة} = \frac{\text{عدد الحملان الباقية على قيد الحياة}}{100 \times (\text{القس والصائغ, 2000})}$$

عدد الحملان الكلي

التحليل الإحصائي: اجري التحليل الإحصائي للبيانات الخاصة بالنعاج والحملان باستخدام التصميم العشوائي الكامل CRD بالاتجاه الواحد One way analysis of variance (الراوي وخلف الله ، 2000). وتم اختبار معنوية الفروقات بين متوسطات الصفات المدروسة في المعاملات باستخدام اختبار دنكن (Duncan ، 1955) عند مستوى المعنوية 0.01 أو 0.05 .

واستخدم النموذج الرياضي للتجربة على النحو التالي :

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

حيث أن :

$$Y_{ij} = \text{قيمة المشاهددة } j \text{ التي تؤثر عليها المعاملة } i .$$

$$\mu = \text{المتوسط العام للصفات.}$$

$$t_i = \text{تأثير المعاملة } i \text{ والتي تعني نوع الفيتامين المستخدم. .}$$

$$e_{ij} = \text{الخطا العشوائي المرافق لكل مشاهدة والذي افترض انه يتوزع عشوائياً وطبيعياً ومستقلاً (NID).}$$

النتائج والمناقشة

كمضادات للإجهاد الحراري في النعاج والحملان (Harper وآخرون 1996 و Takahashi وآخرون 1991 و El-Barody 2002).. والنسبة لحيوية الحملان الرضيعة حيث حدثت أثناء التجربة هلاك 3 حملان في مجموعة السيطرة وهلاك حالة واحدة في المجموعة الثانية من الحملان وبذلك بلغت نسبة حيوية الحملان 60% في مجموعة السيطرة و80% في المجموعة الثانية، و100% في المجموعتين الثالثة والرابعة. وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ما توصل اليه المهداوي وآخرون (2009) الذين وجدوا انخفاض عالي المعنوية في معدلات درجة حرارة الجسم وسرعة التنفس وعدد ضربات القلب في الدقيقة الواحدة في الحملان الرضيعة المعاملة بحامض الفوليك بمستويات 0.60 ، 0.80 ، 1 ملغم/حمل مقارنة بمجموعة السيطرة الغير المعاملة بحامض الفوليك خلال فترة الرضاعة. كما تتفق هذه النتائج مع نتائج التي حصل عليها المهداوي (2010) الذي لاحظ حصول انخفاض عالي المعنوية ($P \leq 0.01$) في معدل الصفات المذكورة في مجاميع النعاج الحوامل العواسية المعاملة بحامض الفوليك بمستويات (4 ، 8 ، 12 ملغم/يوم) ومجاميع الحملان المعاملة بحامض الفوليك (0.25 ، 0.50 ، 0.75 ملغم) عن مجموعة المقارنة الخالية من حامض الفوليك. وكذلك تتفق هذه النتائج مع ما ذكره El-Barody (2002) الذي لاحظ تحسن عالي المعنوية في معدلات نسبة حيوية الحملان في حملان الأوسيمي المعاملة بحامض الفوليك بمستويات 0.30 ، 0.60 ملغم/كغم وزن حي في الحملان عن مجموعة السيطرة الخالية من حامض الفوليك وقد بلغ معدل نسبة حيوية الحملان 60 ، 80 ، 100% على التوالي.

التنفس 67 ، 57 ، 62.50 ، 50.53 مرة/دقيقة للمعاملات الأربعة على التوالي .

وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض معنوي ملحوظ في معدلات درجات حرارة المستقيم في كل من النعاج والحملان ويعزى ذلك لربما الى أن حامض الفوليك وفيتامين B_{12} أذ يعملان بصورة متأزرة مع حامض الاسكوربيك كمواد مضادة للإجهاد الحراري والذي يساهم في تنظيم درجة حرارة الجسم من خلال تأثيرها على فعالية الغدة الدرقية (Thyroid gland) ومعدلات الايض (Takahashi وآخرون ، 1991) مما يؤدي إلى انخفاض السرعة الايضية الأساسية وهذه بدورها تؤدي الى تقليل الطاقة الناتجة من تمثيل الغذاء وكنتيجة لذلك يظهر انخفاض في درجة حرارة المستقيم وسرعة التنفس ، ويتفق ذلك مع نتائج دراسات اخرى (Takahashi وآخرون 1991 ، El-Barody 2002) لوحظ فيها حصول انخفاض معنوي في درجة حرارة الجسم في مجاميع الحملان المعاملة بحامض الفوليك مقارنة مع مجموعة السيطرة . وكذلك تشير النتائج في الجدولين (2،3) في النعاج ومواليدها الرضيعة بوجود انخفاض عالي المعنوية في معدلات سرعة التنفس وعدد ضربات القلب في الدقيقة الواحدة في النعاج والحملان الرضيعة المعاملة بحامض الفوليك عن معاملة المقارنة ويعزى ذلك إلى نشاط هذا الفيتامين ودورهم في تخليق فيتامين C (Ascorbic acid) والتأثير في فعاليات الغدة الدرقية إذ يؤدي إلى تقليل نشاط الغدة الدرقية مما يؤدي إلى انخفاض السرعة الايضية وهذه بدورها تؤدي إلى تقليل الطاقة الناتجة من تمثيل الغذاء في أنسجة الجسم بسبب استخدام حامض الفوليك وفيتامين B_{12}

جدول (1): تأثير أعطاء حامض الفوليك وفيتامين B_{12} بطريقة التجريع الفموي في المظاهر الحيوية للنعاج العواسية .

الصفات المدروسة	المعاملة الأولى (السيطرة)	المعاملة الثانية (فيتامين B_{12})	المعاملة الثالثة (حامض الفوليك)	المعاملة الرابعة (حامض الفوليك + فيتامين B_{12})
1- درجة حرارة الجسم (م°):*	A 0.25 ± 39.75	B 0.15 ± 38.35	AB 0.50 ± 39.00	B 0.10 ± 37.90
2- معدل ضربات القلب **: (نبضة/ دقيقة)	A 0.50 ± 90.50	B 0.94 ± 78.00	A 1.00 ± 87.00	C 2.00 ± 71.00
3- معدل سرعة التنفس **: (مرة/دقيقة)	A 1.50 ± 76.50	BC 0.50 ± 63.50	B 1.50 ± 68.50	C 2.50 ± 57.50
4- نسبة حيوية النعاج (%):	80	100	100	100

الصفة التي تحمل متوسطاتها حروف مختلفة أفقياً تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05 أو 0.01 .

.0.01

العواسية.

درجة حرار
(^oم):*

الصفة التي تحمل متوسطاتها حروف مختلفة أفقياً تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05 أو 0.01.

. 0.01

6.645 ، 8.500 مليون كرية وعدد خلايا الدم البيض
6.845 ، 8.690 ، 8.834 ، 9.948 ألف خلية ومستوى
الهيموكلوبين 7.45 ، 9.90 ، 11.44 ، 13.29 غم وحجم
كريا الدم المرصوفة 25.70 ، 32.20 ، 35.60 ،
37.10% ومتوسط حجم الكرية 37.45 ، 32.25 ، 29.75
28.95 ، FI ومتوسط هيموكلوبين الكرية 10.20 ، 10.35
10.55 ، 11.00 بيكو غرام ومتوسط تركيز هيموكلوبين
الكرية 25.05 ، 29.35 ، 32.30 ، 38.90 غم/ديسيلتر
والخلايا اللمفاوية lymphocytes بلغ عددها 49.62 ،
52.78 ، 54.49 ، 57.10 و عدد الخلايا المتعادلة
Neutrophils بلغ 35.28 ، 37.93 ، 37.05 ، 37.48 و
عدد الخلايا الحامضية Eosinophils كانت قد بلغ 12.59 ،
13.22 ، 12.94 ، 13.93 وعدد الخلايا
الاحادية Monocyte بلغ 5.50 ، 5.28 ، 4.90 ، 4.51
وعدد الخلايا القاعدية Basophils كانت قد بلغ 0.85 ،
0.88 ، 0.93 ، 0.94 في العينات الدموية للمعاملات الأربع
في النعاج الحوامل على التوالي. أما في الحملان النامية فقد
بلغت متوسطات صفات المعايير الدموية (جدول 4) أن عدد

بالرجوع إلى النتائج في الجدولين (3 ، 4) تشير إلى حصول زيادة معنوية ($P \leq 0.05$) في متوسط عدد الخلايا اللمفاوية (Lymphocytes) و معدل حجم الكرية (MCV) وزيادة عالية المعنوية ($P \leq 0.01$) في متوسط عدد كريات الدم الحمر (RBC) وعدد خلايا الدم البيض (WBC) ونسبة الهيموكلوبين (Hb) وحجم كريات الدم المرصوصة (PCV) ومعدل هيموكلوبين الكرية (MCH) ومعدل تركيز هيموكلوبين الكرية (MCHC) بين المعاملات التجريبية الثلاث الاخيرة مقارنة بمعاملة المقارنة في عينات دم النعاج والحملان في الشهر الخامس من الحمل بالنسبة للنعاج وفي نهاية الشهر الثالث من عمر الحملان. بينما لم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقات معنوية بين المعاملات الأربعة في معدلات تراكيز الخلايا المتعادلة والحامضية والاحادية والقاعدية في عينات الدم المأخوذة من النعاج الحوامل في الشهر الأخير من فترة الحمل والحملان عند بلوغها عمر الفطام. هذا وقد متوسطات صفات المعايير الدموية في النعاج (جدول 3) أن عدد كريات الدم الحمر بلغ 4.472 ، 6.054 ،

والخلايا اللمفاوية lymphocytes بلغ عددها 51.50 ، 54.25 ، 54.70 ، 56.55 وعدد الخلايا المتعادلة بلغ 33.10 ، 32.55 ، 32.60 ، 30.75 وعدد الخلايا الحامضية بلغ 8.15 ، 8.50 ، 8.30 ، 8.25 والخلايا الاحادية بلغ 4.40 ، 4.50 ، 4.60 ، 4.55 والقاعدية كانت قد بلغت 1.65 ، 1.35 ، 1.25 ، 1.35 في العينات الدموية للمعاملات الأربع في مجاميع الحملان النامية على التوالي .

كريات الدم الحمر قد بلغ 7.126 ، 8.547 ، 11.214 ، 12.543 مليون كرية وعدد خلايا الدم البيض 7.339 ، 9.165 ، 10.254 ، 12.060 الف خلية ومستوى الهيموكلوبين 7.65 ، 9.87 ، 10.97 ، 12.21 غم وحجم كريا الدم المرصوفة 26.25 ، 32.80 ، 34.90 ، 37.60% ومتوسط حجم الكرية 32.30 ، 29.20 ، 28.70 ، 10.40 ، 10.05 ، 10.45 ، 11.23 بيكو غرام ومتوسط تركيز هيموكلوبين الكرية 26.90 ، 29.15 ، 32.65 ، 38.60 غم/ديسليتر

جدول (3): تأثير إعطاء حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ بطريقة التجريع الفموي في الصفات الكيموحيوية للدم في النعاج العواسية .

الصفات المدروسة	المعاملة الأولى (السيطرة)	المعاملة الثانية (حامض الفوليك)	المعاملة الثالثة (فيتامين B ₁₂)	المعاملة الرابعة (حامض الفوليك + فيتامين B ₁₂)
1. RBC (كرية × 10 ⁶): **	C 0.04 ± 4.472	B 0.01 ± 6.054	B 0.31 ± 6.465	A 0.17 ± 8.500
2. WBC (خلية × 10 ³): **	B 0.59 ± 6.845	A 0.08 ± 8.690	A 0.28 ± 8.834	A 0.18 ± 9.948
3. Hb (غم): **	C 1.00 ± 7.45	BC 0.49 ± 9.90	AB 0.67 ± 11.44	A 0.14 ± 13.29
4. PCV (%): **	C 1.10 ± 25.70	B 1.10 ± 32.20	AB 0.90 ± 35.60	A 0.20 ± 37.10
5. MCV (Fl): **	A 0.05 ± 37.45	B 1.05 ± 32.25	C 0.45 ± 29.75	C 0.55 ± 28.95
6. MCH (Pico gram): *	B 0.10 ± 10.20	AB 0.15 ± 10.35	AB 0.25 ± 10.55	A 0.10 ± 11.00
7. MCHC (gm/Dl): **	D 0.55 ± 25.05	C 0.25 ± 29.35	B 0.90 ± 32.30	A 0.50 ± 38.90
8. Lymphocytes *	B 2.25 ± 49.62	AB 2.02 ± 52.78	AB 0.62 ± 54.49	A 0.34 ± 57.10
9. Neutrophils NS	A 2.52 ± 35.28	A 0.05 ± 37.93	A 0.16 ± 37.05	A 0.50 ± 37.48
10. Eosinophils NS	A 1.27 ± 12.59	A 0.53 ± 13.22	A 0.40 ± 12.94	A 0.90 ± 13.93
11. Monocytes NS	A 0.37 ± 5.50	A 0.06 ± 5.28	A 0.21 ± 4.90	A 0.38 ± 4.51
12. Basophils NS	A 0.07 ± 0.85	A 0.01 ± 0.88	A 0.02 ± 0.93	A 0.05 ± 0.94

الصفة التي تحمل متوسطاتها حروف مختلفة أفقياً تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05 أو 0.01 .

NS الفروق غير معنوية . * الفروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 . ** الفروق عالية المعنوية عند مستوى احتمال 0.01

الخالية من الفيتامينات ويعزى سبب ذلك إلى أهمية حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ ودورهما في تخليق كريات الدم الحمر في كافة أنواع الحيوانات (Stokstad ، 1968 Doumolin ، وآخرون 1991 ، Girard و Matte 1999). وجاءت هذه النتائج مطابقة مع نتائج El-Barody (2002) الذي لاحظ زيادة معنوية في عدد خلايا الدم البيض وتركيز خضاب الدم في مجاميع حملان الاوسيمي المصرية المعاملة بتراكيز مختلفة من حامض الفوليك (0.30 ، 0.60 ملغم) مقارنة

وتشير النتائج أن ضرورة تدعيم الحيوانات بحامض الفوليك وفيتامين B₁₂ أحدهما أو كلاهما أثناء فترة التغذية للنعاج خلال مرحلتي الحمل والرضاعة ومواليدها النامية وذلك لتحفيز وتنشيط الجهاز المناعي (Girard وآخرون ، 1996). وقد أظهرت نتائج دراسة المعايير الدموية بوجود ارتفاع معنوي في عدد كريات الدم الحمر وتركيز خضاب الدم وحجم كريات الدم المرصوفة في النعاج والحملان في المعاملات الثلاث الأخيرة مقارنة مع مجموعة السيطرة

معنوي في عدد خلايا الدم البيض في النعاج والحملان في المجاميع الثلاث الاخيرة مقارنة مع مجموعة السيطرة و يعزى ذلك إلى تأثير حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ والذي يسبب زيادة في تركيز حامض الاسكوريك Ascorbic acid في البلازما, وأن هذه الزيادة قد سببت زيادة في وقاية الأغشية الخلوية من الأكسدة الذاتية (Auto-oxidation) وهذا يؤدي إلى أطالة عمر الخلايا البيضاء (Afify و Mackled , 1995) وتتفق هذه النتيجة مع ماتوصل اليه Reece (1992) الذي أوضح الزيادة في تركيز حامض الاسكوريك نتيجة معاملة الحيوانات بحامض الفوليك وفيتامين B₁₂ قد سببت زيادة في حركة خلايا الدم البيض وبالتالي يعمل على مضاعفة وظيفتها البلعمية Phagocytic process في ابتلاع الجراثيم الغريبة الداخلة في الجسم الحي في الحيوانات المعاملة بحامض الفوليك .

نستنتج من نتائج هذه الدراسة أنه يمكن استخدام حامض الفوليك بجانب فيتامين B₁₂ في علاج حالات فقر الدم megaloblastic والأضعف العام في النعاج الحوامل وكمُنشَط للنمو وتعزيز المناعة في جسم الحملان النامية الرضيعة ومقاومة للأمراض خلال فترة الرضاعة من الولادة لغاية بلوغ عمر الفطام كما يشترك الفيتامينين (حامض الفوليك وفيتامين B₁₂) بتنظيم درجة حرارة الجسم وسرعة التنفس ونبضات القلب في الحيوانات المعاملة بحامض الفوليك وفيتامين B₁₂ مقارنة بمجموعة السيطرة .

بمجموعة حملان السيطرة الخالية من حامض الفوليك..كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل اليه المهداوي وآخرون (2009) الذين وجدوا زيادة عالية المعنوية في أعداد كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض ومستوى خضاب الدم وحجم كريات الدم المرصوصة في دم مجاميع الحملان العواسية المعاملة بحامض الفوليك بتركيز (0.60 ، 0.80 ، 1.00 ملغم) مقارنة بمجموعة حملان السيطرة الغير معاملة بحامض الفوليك. وكذلك تتفق هذه النتائج مع نتائج البياتي (2009) الذين وجدوا زيادة عالية المعنوية في معدلات أعداد كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض وتركيز خضاب الدم وحجم كريات الدم المرصوصة عند إعطائهم حامض الفوليك عن طرق التجريع الفموي بنسب (0، 4 ، 8 ، 12 ملغم) في النعاج الحوامل و (0 ، 0.25 ، 0.50 ، 0.75 ملغم) في حملانها الرضيعة مقارنة بمجموعة السيطرة للنعاج والحملان النامية . وان الإلية التي يؤثر بها حامض الفوليك في تخليق كريات الدم الحمر غير واضحة بصورة كاملة ولكن تم ملاحظة ان نقص حامض الفوليك يعرقل تخليق الحامض النووي DNA خلال فترة تخليق كريات الدم الحمر Erythropoiesis ويؤخر من نضوج كريات الدم الحمر (Tefferi و Pruthi ، 1994) , ولقد لوحظ بان إعطاء حامض الفوليك للحيوانات يزيل جزئيا تأثير نقص فيتامين B₁₂ أثناء تخليق كريات الدم الحمر (Hoffbrand و Jackson ، 1993). كما أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع

جدول (4): تأثير إعطاء حامض الفوليك وفيتامين B₁₂ بطريقة التجريع الفموي في الصفات الكيموحيوية للدم في الحملان الرضيعة العواسية .

الصفات المدروسة	المعاملة الأولى (السيطرة)	المعاملة الثانية (حامض الفوليك)	المعاملة الثالثة (فيتامين B ₁₂)	المعاملة الرابعة (حامض الفوليك + فيتامين B ₁₂)
1. RBC (كرية × 10 ⁶): **	B0.40 ± 7.126	B 0.35 ± 8.547	A 0.51 ± 11.214	A 0.43 ± 12.543
2. WBC (خلية × 10 ⁶): **	D0.12 ± 7.339	C 0.44 ± 9.165	B 0.26 ± 10.254	A 0.05 ± 12.060
3. Hb (غم): **	C 0.84 ± 7.65	B 0.46 ± 9.87	AB 0.21 ± 10.97	A 0.21 ± 12.21
4. PCV (%): **	D 0.45 ± 26.25	C 0.70 ± 32.80	B 0.60 ± 34.90	A 0.30 ± 37.60
5. MCV (fL): **	A0.10 ± 37.40	B 1.30 ± 32.30	BC 0.90 ± 29.20	C 0.20 ± 28.70
6. MCH (Pico gram): NS	A 0.10 ± 10.40	A 0.35 ± 10.05	A 0.45 ± 10.45	A 0.20 ± 11.23
7. MCHC (gm/Dl): **	D 0.30 ± 26.90	C 0.15 ± 29.15	B 0.35 ± 32.65	A 0.60 ± 38.60
8. Lymphocytes: *	B0.90 ± 51.50	A 0.35 ± 54.25	A 0.90 ± 54.70	A 0.25 ± 56.55
9. Neutrophils: NS	A 0.60 ± 33.10	A 1.05 ± 32.55	A 0.20 ± 32.60	A 0.35 ± 30.75
10. Eosinophils: NS	A 0.25 ± 8.15	A 0.10 ± 8.50	A 0.20 ± 8.30	A 0.05 ± 8.25

A 0.05 ± 4.55	A 0.10 ± 4.60	A 0.20 ± 4.50	A 0.30 ± 4.40	NS Monocytes .11
A 0.05 ± 1.35	A 0.15 ± 1.25	A 0.05 ± 1.35	A 0.15 ± 1.65	NS Basophils .12

الصفة التي تحمل متوسطاتها حروف مختلفة أفقياً تدل على وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمال 0.05 أو 0.01 .

NS الفروق غير معنوية . * الفروق معنوية عند مستوى احتمال 0.05 ** الفروق عالية المعنوية عند مستوى احتمال 0.01

المصادر

Change ,Y. O. and I.I. Kaiser. 1972. Free and membrane bound ribosomes in experimental animals during B₁₂ and folic acid efficiency. Intern .J. Vet. Nutr .Res; 42:482-486.

Coles, E. H.,. 1986. Veterinary Clinical pathology, 4th ed. W. B. Saunders. Co Philadelphia. London, Tornto. PP: 15-90.

Davis, R. E. and D. J. Nicole,. 1988. Folic acid. Int. J. Biochem. 20: 133-139.

Dumoulin, P. D., C. L. Girard, J. J. Matte and G. J. St-Laurent. 1991. Effect of aparenteral supplement of folic acid and its interaction with level of feed intake on hepatic tissues and growth performance of young dairy heifers.J.Anim.Sci, 69:1657-1666.

Duncan, C. B.,.1955. Multiple range and multiple "F" tests. *Biometrics*. 11: 1-12.

El-Barody, M.A.A. ,2002.Effect of folic acid supplementation on some physiological parameters of heat-stressed lambs. , Egypt, Alex. J. Agric. Res, 47 (1): 43-49.

Girard, C.L, C.L., and J.J Matte,.1999.Changes in serum concentrations of folates,pyridoxal, pyridoxal-5-phosphate and vitamin B₁₂ during lactation of dairy cows fed dietary . supplements of folic acid. Cand. J. Anim. Sci; 79: 107-113.

Girard, C. L., F. Castonguay, F. Fahmy and J. J. Matte,. 1996. Serum and milk folate during the first two gestations and lactations in Rumanov, Finn sheep, and Suffolk ewes. J. Anim. Sci.; 74:1711-1715.

Girard, C.L.,C. Benchaar, J.Chiquette, and A. Desrochers, . 2009. Net flux of nutrients across the rumen wall of lactating dairy Cows as influenced by dietary supplements of folic acid.", Journal of Dairy Science

الراوي، خاشع محمود وعبدالعزبز خلف الله. 2000. تصميم وتحليل التجارب الزراعية، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل/ العراق.30-32.

القس، جلال ايليا ومظفر نافع الصائغ, 2000.انتاج الاغنام. مطبعة جامعة بغداد. كلية الزراعة /جامعة بغداد.

المهداوي ، مزهر كاظم كعبير؛ ممتاز متي منصور قاشا ومحمد خليل الشرايبي (2009). تأثير مستوى حامض الفوليك والبروتين في العليقة قبل وبعد الفطام على بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية في الحملان العراقية. مجلة الفرات للعلوم الزراعية: 1 (4): 132-158.

المهداوي ، مزهر كاظم كعبير(2010).أستخدام نسب من حامض ألفولك في الأداء الإنتاجي للنعاج الحوامل العواسية وموالدها.المجلة العراقية للعلوم الزراعية : 41 (2): 25-41 . العراق.

البياتي ، عبد الستار سالم سعدون وهديل عاصم محمد وخالد حساني سلطان ، (2009). تأثير حامض الفوليك في بعض المعايير الدموية والكيموحيوية في النعاج الحوامل والحملان. المجلة العراقية للعلوم البيطرية : مجلد (23) : عدد (2 أضافي) : ص (299-306). وقائع المؤتمر العلمي الخامس المنعقد في الفترة من 11-12 تشرين الثاني لسنة 2009 في كلية الطب البيطري،جامعة الموصل/العراق.

Afify, O. S., and M.N.Makled,. 1995. Effect of productive and reproductive performance of Bouscat rabbits exposed to heat stress. First Egyptianian - Hungarian Conference of Poultry Production,Alex. Egypt.; 313:17-19.

Benette, P.N., M.J. Brown,. 2003. Clinical pharmacology 9th edition.U.K. Churchill Livingstone.; P:595-597.

- Papadopoulou E., N. Stratakis, T. Roumeliotaki, K. Sarri, D. F. Merlo, M. Kogevinas, L. Chatzi, 2013. The effect of high doses of folic acid and iron supplementation in early-to-mid pregnancy on prematurity and fetal growth retardation: the mother-child cohort study in Crete, Greece (Rhea study). *Eur. J. Nutr.*; 52:327–336.
- Reece, W.O., 1992. Blood and its function in physiology of domestic animals Lee and Febigar, p.91, U.S.A.
- Schwab, E.C., C.G. Schwab, R.D. Shaver, C.L. Girard, D.E. Putnam, N.L. Whitehouse, 2006. Dietary forage and nonfiber carbohydrate contents influence B-vitamin intake, duodenal flow and appeared ruminal synthesis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*:89:174-187.
- Simon, J.R., 1990. The effect of an irrelevant directional cue on human information processing. In R.W. Proctor & T.G. Reeve (Eds), *stimulus-response compatibility*. pp.31-86. Amsterdam, North Holland.
- Stocks, E. L., R., 1968. Experimental anemia in animals resulting from folic acid and vitamin B₁₂ deficiencies. *Vitam. Horm.* 26: 443-448.
- Takahashi, K., Y. Akiba and M. Horiguchi, 1991. Effect of supplemental ascorbic acid on performance organ weight and plasma cholesterol concentration in broilers treated with propylthioracil. *Bri. Poult. Sci.*, 32: 545-554.
- Tefferi A.V., R.K. Pruthi, 1994. The biochemical basis of cobalamin deficiency. *Mayo Clin. Proc.*, 69:181-186.
- (JDS), 92(12), pp. 6116-6122. doi : 10.3168/jds.2009-2351.
- Harper, A.F., M.D. Lindemann and E.T. Kornegay, 1996. Fetal survival and conceptus development after 42 days of gestation in gilts and sows in response to folic acid supplementation. *Can. J. Anim.*, 76:157-160.
- Hoffbrand, A. V. and B. F. A. Jackson. 1993. Correction of the DNA synthesis defect in vitamin B₁₂ deficiency by tetrahydrofolate evidence in favor of the methyl-trap hypothesis as the cause of megaloblastic anemia in vitamin B₁₂ deficiency. *Br. J. Haematol.*, 83: 643-647.
- Kolb, E., J. Seehawer, and W. Steinberg (1999). Significance, utilization and application of Vitamins in ruminants. 2-Niacin, pantothenic acid, biotin, folic acid and vitamin B₁₂. *Praktische-Tierarzt*, 80:207-220.
- Lardinois, C.C., R.C. Milis, C.A. Elvehjem, E.B. Hart, 1994. Rumen synthesis of the vitamin B complex as influenced by ration composition. *J. Dairy Sci.*, 27: 579-583.
- Lévesque, C.L., J.J. Matte, and G. J. Brisson, 1993. Dietary supplements of folic acid: blood and growth responses of white veal calves. *Livestock Production Science*; 34: 71-82.
- Matte, J.J., C. Girard, R. Bilodeau, S. Robert, 1990. Effects of intramuscular injections of folic acid on serum folates, hematological status and growth performance of growing finishing pigs. *Report Nutr. Dev.* ; 30:103-109.
- Mills, J.L., 2000. Fortification of foods with folic acid: How much is enough? *N. Engl. J. Med.*, 342, 1442-1445.
- Morris, M.S., P.F. Jacques, I.H. Rosenberg, J. Selhub, 2007. Folate and vitamin B₁₂ status in relation to anemia, macrocytosis and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am. J. Clin. Nutr.*, 85, 193-200.