

## The effects of subcutaneous injection of diazepam on the behavioral changes of freshly hatched birds under stress transport

Kianoosh Zarrinkavyani<sup>1\*</sup>,  
Heshmatolah Khosravinia<sup>2</sup>,  
Gholamreza Shahsavari<sup>3</sup>

1. Instructor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Iran
2. Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran
3. Assistant Professor, Department of Biochemistry, Medical Faculty, Lorestan University, Iran

(Received: Jan. 9, 2019 - Accepted: Mar. 10, 2019)

## اثرات تزریق زیرجلدی ديازپام بر تغييرات رفتاری پرندگان تازه تفريخ شده تحت استرس حمل و نقل

کیانوش زرین کاویانی<sup>۱\*</sup>، حشمت اله خسروی نیا<sup>۲</sup>،  
غلامرضا شهبازی<sup>۳</sup>

۱. مربی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایران
۲. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، ایران
۳. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۹)

### Abstract

Four hundred forty 1-d- old male neonate broiler chicks were transported over 1200 km on road to investigate the effects of subcutaneous injection of diazepam on blood glucose level, proportional decrease in live weight, yolk sac weight, breast weight and certain behavioral attributes. For this purpose, 9 behavioral parameters of birds were measured in 4 sections of the trip. By killing and capturing 8 birds from each treatment at the end of each section of the journey, the physiological parameters were measured. Increased journey duration resulted in linear or nonlinear enhanced live weight and breast loss as well as yolk sac resorption in neonate chicks ( $P < 0.05$ ). Diazepam at both doses induced prompt sedation within few seconds post injection. Chicks received diazepam injection demonstrated muscle relaxation leading to reduced behaviors involving greater muscular activity. Frequency of moderate- and high-energy demanding behaviors were low to moderate in melatonin-injected chicks. No indication showed greater glucose levels in serum may lead to increased frequency of moderate- or high demanding behavioral attributes. In conclusion, diazepam exerted a range of effects in unpremeditated behavior in broiler chicks during transportation over 1200 km on road. Diazepam was able to reduce high-energy demanding or increase low- or moderate-energy demanding behavioral attributes.

**Keywords:** Behavior, Broiler chicks, Diazepam, Glucose, Stress, Transport.

### چکیده

در این پژوهش اثرات تزریق زیر جلدی دو سطح ديازپام (۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم) بر ویژگی‌های رفتاری و سطح گلوکز خون، کاهش نسبی وزن زنده، وزن عضله سینه و کیسه زرده ۹۴۰ جوجه گوشتی نر یکروزه، طی حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر بررسی شد. بدین منظور ۹ پارامتر رفتاری پرندگان در ۴ بخش سفر اندازه‌گیری شد. با کشتار و خونگیری ۸ پرنده از هر تیمار در پایان هر بخش از سفر پارامترهای فیزیولوژیکی سنجش شد. افزایش طول سفر موجب کاهش وزن زنده و کاهش وزن عضله سینه و همچنین افزایش جذب کیسه زرده در جوجه‌های تازه تفريخ شده گردید ( $P < 0.05$ ). ديازپام در هر دوز باعث آرام‌سازی سریع پرندگان در چند ثانیه پس از تزریق شد. ديازپام با آرامش عضلات باعث کاهش رفتارهایی شد که فعالیت عضلانی بیشتری نیاز داشتند. نتایج نشان داد که ديازپام می‌تواند بر رفتار پیش‌بینی نشده جوجه‌های گوشتی در طول سفر اثرگذار باشند. علاوه بر این ديازپام فراوانی رفتارهایی که نیاز به انرژی بالایی داشتند را کاهش و فراوانی رفتارهایی که نیازمند سطح متوسط و پایین انرژی بودند را افزایش داد ( $P < 0.05$ ).

**واژه‌های کلیدی:** استرس، رفتار، ديازپام، گلوکز، جوجه‌های گوشتی، حمل و نقل.

\* نویسنده مسئول: کیانوش زرین کاویانی

## مقدمه

در پرورش تجاری پرندگان زمانی که از تخم‌خارج می‌شوند از نظر انرژی و منابع کربوهیدراتی تخلیه شده و ممکن به دلیل عملیاتی هم‌چون درجه‌بندی، واکسیناسیون، حمل و نقل و ارسال به مزارع پرورش تا ۴۸ ساعت بعد هم به آب و خوراک دسترسی پیدا نکند و ناگزیر متحمل یک دوره محرومیت از خوراک می‌شوند. پرندگان در این مدت برای تأمین مواد مغذی به منابع درون بدن خود به‌خصوص ذخایر کیسه زرده وابسته هستند، بنابراین پس از تفریح بایستی هرچه سریعتر منابع انرژی و خوراک در دسترس پرندگان قرار گیرد، این موضوع برای فعال شدن سازوکارهای اشتها، توسعه دستگاه گوارش، رشد سیستم ایمنی و مصرف مؤثر محتویات کیسه زرده ضروری است (Gonzales et al., 2003). اگرچه کسر تنفسی نشان می‌دهد اکسیداسیون اسیدهای چرب باعث تولید انرژی می‌شود، اما دسترسی به گلوکز برای احیای اسیدهای چرب بدون تجمع مواد کتون هم‌چنان حیاتی است (Gonzales et al., 2003; Halevy et al., 2000). از لحاظ علمی، دسترسی سریع به آب و غذا و تأثیر قابل توجه آن بر رشد زودرس، پاسخ ایمنی و همچنین عملکرد بلند مدت پرندگان پذیرفته شده است. در گزارشات مختلف، راه‌کارهای متنوعی برای غلبه بر کمبود انرژی پرندگان تازه تفریح‌شده ارائه شده است. تزریق مستقیم مواد مغذی یا متابولیت‌های خاص به درون تخم مرغ در طی دوره جنینی از اولین راه‌کارهای ارائه شده می‌باشد (Cheled-Shoval et al., 2011; Bakyaraj et al., 2012). پس از آن استراتژی‌های تغذیه‌ای جدیدی مورد بررسی قرار گرفتند. Van de Ven (2009) یک روش ترکیبی (شامل تغذیه در زمان هج و پرورش) ایجاد کردند که جوجه‌ها را قادر می‌سازد تا پس از تولد دسترسی مستقیم به خوراک و آب داشته باشند. سومین روش از روش‌های تغذیه مربوط به ارائه مواد غذایی در هجری یا حین حمل و نقل و یا هر دوی آنها با هم است (Shivazad & Bejaei, 2007). در نهایت، چهارمین

استراتژی تغذیه‌ای برای پرندگان، تزریق مواد مغذی به داخل کیسه زرده است (Beiranvand et al., 2016; Tasharofi et al., 2018). پژوهش‌هایی در جهت فراهم‌کردن مواد مغذی مورد نیاز پرندگان در شرایط استرس صورت گرفته اما تاکنون تلاش مؤثر و تحقیق کارآمدی در راستای تعدیل یا کاهش تقاضای انرژی مورد نیاز جوجه‌های گوشتی یک‌روزه در زمان مواجهه با تنش و استرس گزارش نشده است. ما فرض کردیم که کاهش فعالیت بدنی و متابولیسم از طریق کاهش نیاز به انرژی می‌تواند پرندگان را حمایت کند و این استراتژی می‌تواند یک رویکرد مؤثر برای حمایت از پرندگان تازه تفریح‌شده باشد. دیازپام با نام تجاری والیوم داروی مسکن و خواب‌آوری است که جزء خانواده بنزودیازپین‌ها محسوب می‌شود و به‌طور گسترده‌ای برای تسکین اضطراب، درمان اختلالات بالینی، صرع، اختلالات خواب و تنش عضلانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. شواهد مختلفی از تأثیر بنزودیازپین‌ها بر پاسخ‌های استرس در حیوانات خانگی گزارش گردیده است (Ali & Al-Qarawi, 2002). بنابراین در این تحقیق با نگاهی متفاوت و رویکردی جدید، کاهش متابولیسم و فعالیت فیزیولوژیکی پرندگان به منظور نیل به استراتژی جدید یعنی تقلیل یا تعدیل انرژی در شرایط استرس مورد کنکاش قرار گرفت و به همین منظور تأثیرات تزریق زیرجلدی داروی دیازپام به عنوان یک ماده آرام‌بخش و خواب‌آور بر ویژگی‌های رفتاری و برخی پارامترهای فیزیولوژیکی جوجه‌های گوشتی یک‌روزه، تحت تنش حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### پرندگان مورد آزمایش

برای اجرای این آزمایش ۴۰۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک‌روزه (از سویه راس ۳۰۸) با میانگین وزن زنده  $43 \pm 1$  گرم از شرکت جوجه‌کشی مرغ‌پرور واقع در استان مرکزی (اراک) تهیه شد. پرندگان بلافاصله پس از

تصادفی توزین و سپس ذبح و خون‌گیری شد. وزن انفرادی پرندگان جهت محاسبه فاکتورهای ذکر شده مورد استفاده قرار گرفت. علاوه بر آن در پایان هر بخش از سفر وزن کیسه زرده با ترازوی الکترونیکی با دقت  $0/01$  گرم محاسبه شد تا از آن برای بیان درصد جذب زرده در طی مسیر انتقال و بررسی روند تغییرات آن استفاده شود. نمونه‌های خون دریافت شده برای مدت یک ساعت در دمای معمولی نگهداری شد و پس از آن جهت به‌دست‌آوردن سرم در دمای چهار درجه سلسیوس و با سرعت  $4000$  دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سرم پس از جدا شدن به لوله دیگری انتقال یافت و در یخچال با برودت  $-20$  درجه سانتیگراد منجمد گردید. سپس آنالیز نمونه‌ها برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز سرم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر ( Selects E Autoanalyzer, Sr. No. ) 8-7140, Vital Pharma BV, Maarheeze, The Netherlands) و کیت‌های آزمایشگاهی تجاری (شرکت پارس آزمون تهران) انجام شد.

#### پارامترهای رفتاری

از آنجایی که هیچ پروتکل مشخصی برای ارزیابی رفتار پرندگان تحت تنش حمل و نقل وجود نداشت، در این آزمایش شش پارامتر رفتاری جوجه‌ها را بر اساس ایده‌هایی دیگر محققین ( Weeks, 2000; Khosravinia, 2015) در پایان سفر ( $1200$  کیلومتر) در نظر گرفته شد. نام، نماد و توصیف ویژگی‌های رفتاری مربوط به آن در جدول ۱ ارائه شده است. بدین منظور در ابتدا رفتار مورد نظر برای پرسنل مسئول سنجش توصیف شد و برای ثبت رفتارهای مدنظر جدولی تهیه گردید و مطابق با آن عمل شد. پرسنل آموزش‌دیده با برداشتن درب هر جعبه رفتار پرنده را در هر بخش از سفر ( $600$  کیلومتر یا  $360$  دقیقه) به مدت یک تا دو دقیقه زیر نظر گرفته و تعداد پرندگانی که در هر تیمار یکی از رفتارهای توصیف‌شده را از خود نشان می‌دادند، به دقت ثبت کردند. این رویه پنج بار در طول هر بخش از سفر

تحويل جوجه‌ها و نصب شماره بال برای آنها، با ترازوی الکترونیکی (با دقت  $0/01$  گرم) وزن شدند و در جعبه‌های  $100$  تایی قرار گرفتند و در یک وسیله نقلیه، در وضعیت مشابهی با آنچه که در شیوه‌های تحويل جوجه‌های تجاری معمول است، بارگیری شدند. در طی حمل و نقل پرندگان، دمای داخل خودرو  $27 \pm 1$  و رطوبت نسبی در محدوده  $55$  تا  $65$  درصد حفظ شد. وسیله نقلیه با سرعت متوسط  $70$  کیلومتر در ساعت در طول سفر  $1200$  کیلومتری حرکت کرد. تمام روش‌های مورد استفاده در این آزمایش بر اساس دستورالعمل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه لرستان، بود.

#### تیمارهای آزمایشی

مجموع  $400$  قطعه جوجه به‌عنوان چهار تیمار (هر تیمار شامل  $100$  جوجه) در قالب آزمایش کاملاً تصادفی به منظور بررسی تزریق زیرجلدی دیازپام بر رفتار جوجه‌های گوشتی تحت تنش حمل و نقل جاده‌ای مورد بررسی قرار گرفت. تیمار کنترل تنها نیم میلی‌لیتر سالین ( $0/09$  درصد) دریافت کرد. حجم مشابه سالین حاوی دیازپام در دو غلظت  $100$  و  $200$  میکروگرم/پرنده، برای سایر تیمارها اعمال شد. تمام تزریق دارویی به صورت زیرجلدی در ناحیه خلفی گردن،  $60$  دقیقه بعد از هج انجام گردید.

#### پارامترهای فیزیولوژیکی

برای بررسی اثر تزریق زیرجلدی تیمارهای دارویی، غلظت گلوکز سرم، تغییرات وزن زنده، اتلاف وزن عضله سینه و کیسه زرده در مسافت  $1200$  کیلومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور ابتدا در محل کارخانه جوجه‌کشی یک نمونه تصادفی شامل  $40$  جوجه انتخاب و با قراردادن هر جوجه در داخل قیف‌های فلزی، رگ‌های گردن جوجه قطع و بین یک تا دو سانتی‌متر مکعب خون از هر جوجه جمع‌آوری شد. سپس در پایان هر بخش از سفر  $72$  قطعه جوجه (از هر تیمار هشت جوجه) به عنوان نمونه و به صورت

تکرار گردید. داده‌های جمع‌آوری شده برای هر پارامتر رفتاری به‌طور مستقیم در تجزیه و تحلیل فرکانس گنجانده شده است.

### آنالیز آماری

پارامترهای رفتاری با استفاده از رویه Proc Ferq در نرم‌افزار SAS (Institute 2009) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و فرکانس هر کدام از رفتارها در هر بخش از سفر (پایان مسافت صفر، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ کیلومتر) محاسبه و p-value مطابق رویه مرسوم برای متغیرهای ناپارامتریک گزارش شد. ضریب همبستگی اسپیرمن بین غلظت گلوکز خون، درصد کاهش وزن، درصد کاهش وزن زرده و درصد کاهش وزن سینه و پارامترهای رفتاری مرتبط، با استفاده از Proc Corr در نرم‌افزار SAS در هر بخش از سفر محاسبه و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### نتایج

هیچ‌یک از تیمارهای تزریقی بر میزان کاهش یا افزایش گلوکز سرم تأثیری معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ )، اما حمل و نقل جاده‌ای غلظت گلوکز خون را به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای تغییر داد ( $P < 0.05$ ). در این تحقیق سطح گلوکز سرم پس از ۱۲۰۰ کیلومتر نسبت به نقطه آغازین حرکت به‌طور خطی افزایش یافت (جدول ۲). وزن زنده، وزن کیسه زرده و وزن عضله سینه در طول سفر در جوجه‌های دریافت‌کننده تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در حالی که هر سه این متغیرها به طرز

معنی‌داری تحت مسافت حمل و نقل قرار گرفتند. (جدول ۲).

بین متغیرهای فیزیولوژیکی و گلوکز خون پرندگان با رفتارهای مختلف پرندگان در طول سفر به جز در مورد هم بستگی بالای گلوکز خون و ایستادن، مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) (جدول ۳). در این جدول مشاهده می‌شود که همبستگی مثبت معنی‌داری بین سطح گلوکز خون و رفتار ایستادن در پرندگان در طول مسافت حمل و نقل مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۳).

دiazepam در هر دو سطح تزریق شده به پرندگان موجب بروز بیشتر رفتار خوابیده به پهلو شد. میزان فراوانی رفتار خوابیده بر روی سینه به طرز معنی‌داری در پرندگان دریافت‌کننده Diazepam (هر دو دوز ۱۰۰ یا ۲۰۰ میکروگرم) بیشتر شد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۴). فراوانی رفتار نشستن در پرندگان تزریق شده با هر دو سطح Diazepam بیشتر بود ( $P < 0.05$ )، درحالی‌که فراوانی رفتار نوک زدن به بدن در میان تمام پرندگان در تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P > 0.05$ ) (جدول ۵).

فراوانی رفتار ایستاده بدون حرکت به طرز معنی‌داری در پرندگان تزریق‌شده با Diazepam کمتر بود. تیمارهای Diazepam و سالیین همانند پرندگان گروه کنترل کاهش در رفتار ایستادن را سفر نشان دادند. بر اساس داده‌های جمع‌آوری شده، پرندگان تزریق شده با Diazepam کاهش در رفتار ایستادن را در بخش عمده‌ای از مسیر ۱۲۰۰ کیلومتری سفر را نشان دادند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۶). فراوانی رفتار پریدن از جعبه در تمام پرندگان در بخش‌های مختلف سفر یا در کل ۱۲۰۰ کیلومتر سفر تفاوتی نداشت ( $P > 0.05$ ) (جدول ۶).

جدول ۱. نام، نماد و توصیف پارامترهای رفتاری اندازه‌گیری شده در جوجه‌های گوشتی

رفتار	نماد	توضیحات
خوابیدن روی پهلو	SoS	خوابیدن با چشمان بسته به پهلو، گردن شل در تماس با کف کارتن
خوابیدن روی سینه	SoB	خوابیده روی سینه (سر بالا)، با چشمان بسته
نشستن	Sit	پرند در موقعیت نشسته، بی حرکت، بدن در تماس با کف جعبه
ایستادن	Stand	ایستادن روی دو پا در موقعیت ثابت
نوک زدن به خود	PaO	نوک زدن به خود
پریدن به بیرون	jump	تلاش برای بیرون پریدن از کارتن

**جدول ۲.** اثرات تزریق زیرجلدی دیازپام بر غلظت گلوکز، وزن زنده، وزن کیسه زرده و وزن عضله سینه جوجه‌های گوشتی تازه تفریح شده تحت استرس حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر

کاهش وزن سینه (درصد)	کاهش وزن کیسه زرده (درصد)	کاهش وزن زنده (درصد)	گلوکز (میلی گرم / دسی لیتر)	تیمار / سطح <sup>۱</sup>
۹/۶۹	۲۴/۳۳	۵/۲۵	۲۵۴/۳۳	کنترل
۷/۴۴	۲۱/۰۴	۴/۳۰	۲۵۶/۱۷	سالمین
۱۰/۶۵	۲۰/۴۲	۵/۱۸	۲۵۴/۶۷	دیازپام (۱۰۰ میکروگرم)
۱۱/۵۸	۲۰/۲۱	۴/۲۶	۲۵۹/۵۸	دیازپام (۲۰۰ میکروگرم)
۱۳/۳۷	۲/۶۸۶	۰/۶۶۹	۶/۴۴۹	SEM
				مسافت
۱۱/۱۳ <sup>a</sup>	۲۱/۷۰ <sup>b</sup>	۵/۲۷ <sup>a</sup>	۲۶۹/۲۵ <sup>b</sup>	۶۰۰
۱۰/۳۴ <sup>a</sup>	۲۱/۹۲ <sup>b</sup>	۶/۰۸ <sup>a</sup>	۳۰۵/۲۷ <sup>a</sup>	۱۲۰۰
۱/۰۱۵	۱/۹۸۵	۰/۰۲۹	۴/۷۶۳	SEM
				آنالیز واریانس
-۰/۲۱۳۳	-۰/۶۳۲۳	-۰/۴۵۴۲	-۰/۱۷۳۱	تیمار
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	مسافت
-۰/۸۰۸۷	-۰/۷۶۷۰	-۰/۳۴۳۳	-۰/۸۶۴۷	مسافت × تیمار
				آنالیز رگرسیون
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	Liner
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	-۰/۱۱۱۲	Quadratic

۱. دوز تزریق شده نیم میلی لیتر برای هر جوجه.

a-c: حروف مشترک بین تیمارها بیانگر آن است که اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ).

**جدول ۳.** ضرایب همبستگی بین غلظت گلوکز خون، درصد کاهش وزن زنده (PWL)، درصد کاهش وزن کیسه زرده (PYSR)، درصد کاهش وزن سینه (BWL) و صفات رفتاری جوجه‌های گوشتی تازه تفریح شده تحت استرس حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر

گلوکز خون	کاهش نسبی وزن زنده	کاهش نسبی وزن کیسه زرده (درصد)	کاهش نسبی وزن سینه (درصد)	خواهیدن به پهلوی	خواهیدن روی سینه	نوک زدن به خود	ایستادن پریدن
۶۰۰ کیلومتر							
گلوکز خون	۱	۰/۲۱	۰/۴۲	-۰/۲۰	-۰/۴۵	۰/۰۶	۰/۲۷
PWL	۰/۲۱	۰/۱	۰/۰۵	۰/۲۶	۰/۳۳	۰/۰۰	۰/۰۹
PYSR	۰/۴۲	۰/۰۵	۱	۰/۰۸	-۰/۴۳	-۰/۱۰	۰/۶۵
PBL <sup>3</sup>	-۰/۲۰	۰/۲۶	۰/۰۸	۱	۰/۲۴	۰/۰۴	۰/۰۲
۱۲۰۰ کیلومتر							
گلوکز خون	۱	۰/۳۲	-۰/۱۹	۰/۲۴	-۰/۲۳	-	۰/۲۹
PWL <sup>1</sup>	۰/۳۲	۱	۰/۰۸	۰/۳۹	۰/۲۳	-	۰/۰۷
PYSR <sup>2</sup>	-۰/۱۹	۰/۰۸	۱	-۰/۵۲	-۰/۶۰	-	۰/۶۷
PBL <sup>3</sup>	۰/۲۴	۰/۳۹	-۰/۵۲	۱	۰/۴۱	-	۰/۱۶

\*( $P < 0.05$ ) \*\*( $P < 0.01$ )

**جدول ۴.** اثرات تزریق زیرجلدی دیازپام بر رفتار خوابیدن به پهلو و خوابیدن روی سینه در جوجه‌های گوشتی تازه تفریخ شده تحت استرس حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر

تیمارها <sup>۱</sup> / سطح	مسافت (کیلومتر)			مسافت (کیلومتر)		
	کل	۱۲۰۰	۶۰۰	کل	۱۲۰۰	۶۰۰
	Sleeping on breast (%)			Sleeping on side (%)		
کنترل	.	.	.	.	.	.
سالمین	.	.	.	۳/۵۷	.	.
دیازپام (۱۰۰ میکروگرم)	۴۷/۰۶	.	۶۲/۰۷	۳۵/۷۱	.	.
دیازپام (۲۰۰ میکروگرم)	۳۹/۵۷	.	۱۳/۷۹	۳۲/۱۴	۵	.
Frequency analysis results						
	۲۴۹/۲	**	۱۱/۲۴	۱۶/۵۷	۰/۰۰	-
	۰/۰۰	-	۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۰۰	-

۱. دوز تزریق شده نیم میلی‌لیتر برای هر جوجه.

**جدول ۵.** اثرات تزریق زیرجلدی دیازپام بر رفتار نشستن و نوک زدن به خود در جوجه‌های گوشتی تازه تفریخ شده تحت استرس حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر

تیمارها <sup>۱</sup> / سطح	مسافت (کیلومتر)			مسافت (کیلومتر)		
	کل	۱۲۰۰	۶۰۰	کل	۱۲۰۰	۶۰۰
	Pecking own-body (%)			Sitting (%)		
کنترل	۱۴/۲۹	۱۵/۵۶	۸/۳۳	۲	.	.
سالمین	۱۳/۱۰	۱۳/۳۳	۱۶/۶۷	۵	.	.
دیازپام (۱۰۰ میکروگرم)	۱۱/۹۰	۸/۸۹	۲۵	۱۹	.	.
دیازپام (۲۰۰ میکروگرم)	۱۳/۱۰	۱۳/۳۳	۱۶/۶۷	۱۶	.	۵۰
Frequency analysis results						
	۲/۷۹	۲/۴۰	۲/۰۰	۷۴/۳۴	-	۰/۰۰
	۰/۶۵	۰/۹۸	۰/۹۸	۰/۰۰	-	۱/۰۰

۱. دوز تزریق شده نیم میلی‌لیتر برای هر جوجه.

**جدول ۶.** اثرات تزریق زیرجلدی دیازپام بر رفتار ایستادن و پریدن در جوجه‌های گوشتی تازه تفریخ شده تحت استرس حمل و نقل جاده‌ای به مسافت ۱۲۰۰ کیلومتر

تیمارها <sup>۱</sup> / سطح	مسافت (کیلومتر)			مسافت (کیلومتر)		
	کل	۱۲۰۰	۶۰۰	کل	۱۲۰۰	۶۰۰
	Jumping (%)			Standing (%)		
کنترل	۱۱/۵۸	۱۱/۶۰	۱۳/۰۹	۱۰/۳۸	۴/۷۲	۹/۸۱
سالمین	۱۱/۷۸	۱۱/۹۰	۱۱/۷۴	۱۰/۲۰	۳/۷۷	۱۰/۱۴
دیازپام (۱۰۰ میکروگرم)	۱۱/۶۲	۱۲/۰۰	۱۰/۸۴	۹/۱۰	۷/۵۵	۱۰/۳۳
دیازپام (۲۰۰ میکروگرم)	۱۱/۵۴	۱۱/۴۱	۱۱/۷۴	۹/۳۲	۷/۵۵	۱۰/۶۵
Frequency analysis						
	۶/۱۴	۵/۲۶	۴/۵۰	۶۸/۷۸	۶۸/۴۴	۹/۴۶
	۰/۶۳	۰/۷۳	۰/۸۱	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۳۱

۱. دوز تزریق شده نیم میلی‌لیتر برای هر جوجه.

## بحث و نتیجه گیری

رفتار، به عنوان پاسخ پرندگان به محرک‌های محیطی تعریف می‌شود. از آنجاکه رفتار یک پاسخ هماهنگ شده داخلی است، بنابراین به شدت با وضعیت انرژی بدن مرتبط است (Levitis *et al.*, 2009; Tickle *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر، شش خصوصیت رفتاری بالقوه در جوجه‌های تازه تفریخ شده در سه رده با انرژی خواهی پایین (خوابیدن به پهلو، خوابیدن روی سینه و نشستن)، با انرژی خواهی متوسط (ایستادن، نوک زدن به خود) و انرژی خواهی بالا (پريدن از جعبه) تقسیم بندی شد. فرض بر آن شد که تمام پارامترهای رفتاری جوجه‌های تازه تفریخ شده (یا حداقل آنهایی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته‌اند) به نحوی با انرژی قابل دسترس موجود در بدن و گلوکز سرم مرتبط است. بنابراین، اگر فراوانی برخی رفتارهای خاص را کاهش یابد، انرژی مصرف نشده برای آن رفتار می‌تواند مطابق و هماهنگ با نیازهای پرنده و در جهت سازگاری با شرایط تنش‌زای پس از تفریخ مورد استفاده قرار گیرد. اگر چه تغییر رفتار در ارتباط با منابع انرژی داخلی و خارجی به خوبی برای همه پارامترهای رفتاری در پرندگان مستند نشده است، اما در مطالعات انجام شده با شرایط خاص مانند استرس حرارتی مشخص شده است که کاهش فراوانی برخی رفتارها مانند راه رفتن و مبارزه با پرندگان هم‌گله‌ای ممکن است از طریق افزایش انرژی قابل دسترس برای رشد یا توسعه اندام‌ها، در قالب ATP یا گلوکز سرم، پرندگان را حمایت کند (Mujahid & Furuse, 2008; Mack *et al.*, 2009). از سوی دیگر، نشان داده شده است که افزایش یا کاهش فراوانی رفتارهای خاص توسط داروهای شیمیایی (آرام‌بخش، شل کننده یا تحریک کننده‌ها) که از راه‌های خوراکی یا تزریقی در انسان و سایر گونه‌های حیوانی تجویز می‌شوند، امکان پذیر می‌باشد (Matthews & Phillips, 2012; Shelukhina *et al.*, 2018). در مطالعه حاضر دیازپام در هر دو دوز باعث آرامش سریع جوجه‌ها شد، همان‌طور که توسط Miller & Buttrick

(1999) گزارش شده است. دیازپام فرکانس رفتار خوابیدن به پهلو و روی سینه را بیشتر و فراوانی رفتارهای نوک زدن، ایستادن و پريدن را در مقایسه با جوجه‌های گروه کنترل کاهش داد. بنابراین به نظر می‌رسد که در پرندگان دریافت کننده تزریق دیازپام (با اثرات شل‌کنندگی عضله) رفتارهای نیازمند به صرف انرژی بالا کاهش می‌یابد. یافته‌های این تحقیق موافق با گزارش‌هایی است که آرام‌بخشی دیازپام در پرندگان یا دیگر مدل‌های حیوانی را به تهنایی یا در ترکیب با سایر داروها، نشان داده‌اند (Paula *et al.*, 2004; Paula *et al.*, 2014; Mahmud *et al.*, 2013). اثرات دیازپام روی برخی جنبه‌های خاص متابولیسم مرغ (Martin *et al.*, 2004) از جمله رفتار تغذیه‌ای (Gaskins *et al.*, 2008) مورد بررسی قرار گرفته است. دیازپام به طور معمول باعث ایجاد آرامش و درمان طیف وسیعی از شرایط از جمله اضطراب، اسپاسم عضلانی، تشنج، کمبود خواب و سندرم پاهای ناآرام می‌شود (Calcaterra & Barrow, 2014). بنزودیازپین‌ها هنگامی که در ترکیب با کتامین استفاده می‌شوند، آرامش عضلانی را فراهم می‌کنند (Smith *et al.*, 1993).

شکی نیست که گلوکز نقش کلیدی در پاسخ استرس در جوجه‌های تازه تفریخ شده دارد. با این حال، ارتباط بین سطح قند خون و فراوانی صفات رفتاری مختلف به طور دقیق مشخص نیست. تزریق گلوکز به جوجه‌هایی که در معرض شرایط استرس‌زای حاد بودند باعث کاهش پاسخ استرس شد (Asechi *et al.*, 2008). با این حال، مکانیزم این اثر گلوکز نامشخص است. Shivazad *et al.* (2007) در پژوهشی گزارش دادند که تزریق گلوکز (۰/۳ میلی لیتر زیر جلدی) هیچ تأثیر مثبتی بر سلامتی و عملکرد جوجه‌های گوشتی تازه تفریخ شده نداشته است. علاوه بر این، Moran (1990) نیز بهبود قابل توجهی در عملکرد جوجه‌های دریافت کننده گلوکز در روز بعد از هیچ مشاهده نکرد.

نتایج در مورد دیازپام نشان داد که این دارو در هر دو

ما قادر به پیدا کردن یک ارتباط روشن بین قند خون بالاتر و رفتارهای خاص در جوجه‌ها نبودیم. از این‌رو، ما با گزارش‌هایی که غلظت گلوکز خون را متغیر و غیرقابل اعتماد برای درک رفتارهای گاه به گاه پرندگان معرفی می‌کنند ( Moran, 1990; Asechi *et al.*, 2008)، موافق هستیم. این تغییرات ممکن است به علت کنترل شدید متابولیسم بر غلظت گلوکز خون بصورت کوتاه‌مدت و بلندمدت باشد. در مجموع دیازپام می‌تواند بر رفتار پیش‌بینی نشده جوجه‌های گوشتی در طول سفر اثرگذار باشد. این دارو توانست فراوانی رفتارهایی که نیاز به انرژی بالایی داشتند را کاهش و فراوانی رفتارهایی که نیازمند سطح متوسط و پایین انرژی بودند را افزایش دهند.

دوز باعث آرامش سریع جوجه‌ها طی چند دقیقه شد، پدیده‌ای که برای حمل و نقل تجاری جوجه‌ها ترجیح داده نمی‌شود. ما در طول بقیه سفر اثرات آرام‌بخش دیازپام را انتظار داشتیم، اما این انتظار فقط به‌طور جزئی در بخش‌هایی از سفر تحقق یافت که نشان‌دهنده تأثیر دیازپام در کاهش تقاضای انرژی برای متابولیسم پرندگان است. بنابراین، به‌نظر می‌رسد جوجه‌هایی که دیازپام دریافت کرده‌اند، آرامش ماهیچه‌ای و به‌دنبال آن کاهش رفتارهایی که فعالیت‌های عضلانی بیشتری نیاز داشتند، نشان دادند. در هر صورت تحقیقات بیشتری برای ارزیابی اثر دیازپام در ترکیب با داروهای دیگر مانند کتامین در جوجه ضروری است تا درمان دارویی مؤثر در القای اثرات آرام‌بخش، اما بلند مدت داشته باشد.

## REFERENCES

- Ali, B.H.; Al-Qarawi, A. (2002). Evaluation of drugs used in the control of stressful stimuli in domestic animals: a review. *Acta Veterinaria Brno*; 71(2): 205-216.
- Asechi, M.; Kurauchi, I.; Tomonaga, S.; Yamane, H.; Suenaga, R.; Tsuneyoshi, Y.; Denbow, D.; Furuse, M. (2008). Relationships between the sedative and hypnotic effects of intracerebroventricular administration of L-serine and its metabolites, pyruvate and the derivative amino acids contents in the neonatal chicks under acute stressful conditions. *Amino Acid*; 34(1): 5-60.
- Bakayaraj, S.; Bhanja, S.K.; Majumdar, S.; Dash, B. (2012). Modulation of post-hatch growth and immunity through in ovo supplemented nutrients in broiler chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 92(2): 313-320.
- Beiranvand, M.H.; Khosravinia, H.; Azarfar, A.; Rafiei Alavai, E. (2016). Effects of in-yolk-sac administration of carvacrol on cholesterol resorption from yolk residuals and physiological adaptive indicators in broiler chicks exposed to neonatal fasting. *Archives Animal Breeding*; 59(2): 249-257.
- Brennan, C.; Hendricks III, G.; El-Sheikh, T.; Mashaly, M. (2002). Melatonin and the enhancement of immune responses in immature male chickens. *Poultry science*; 81(3): 371-375.
- Calcaterra, N.E.; Barrow, J.C. (2014). Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium). *ACS chemical neuroscience*; 5(4): 253-260.
- Cheled-Shoval, S.; Amit-Romach, E.; Barbakov, M.; Uni, Z. (2011). The effect of in ovo administration of mannan oligosaccharide on small intestine development during the pre- and posthatch periods in chickens. *Poultry science*; 90(10): 2301-2310.
- Chowdhury, V.S.; Yamamoto, K.; Ubuka, T.; Bentley, G.E.; Hattori, A.; Tsutsui, K. (2010). Melatonin stimulates the release of gonadotropin-inhibitory hormone by the avian hypothalamus. *Endocrinology*; 151(1): 271-280.
- Clark, W.; Classen, H. (1995). The effects of continuously or diurnally fed melatonin on broiler performance and health. *Poultry Science*; 74(11): 1900-1904.



- Gaskins, L.A.; Massey, J.G.; Ziccardi, M.H. (2008). Effect of oral diazepam on feeding behavior and activity of Hawai'i'amakihi (*Hemignathus virens*). *Applied animal behaviour science*; 112(4): 384-394.
- George, J. (1999). Muscle, metabolism and melatonin. Melatonin in the promotion of health (RR Watson, Ed.) CRC Press, Boca Raton. 69-97.
- George, J.C. (1982). Thermogenesis in the avian body and the role of the pineal in thermoregulation. *Progress in clinical and biological research*; 92: 217-231.
- Gonzales, E.; Kondo, N.; Saldanha, E.; Loddy, M.; Careghi, C.; Decuypere, E. (2003). Performance and physiological parameters of broiler chickens subjected to fasting on the neonatal period. *Poultry Science*; 82(8): 1250-1256.
- Gwaltney-Brant, S.M.; Rumbleha, W.K. (2002). Newer antidotal therapies. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*; 32(2): 323-339.
- Halevy, O.; Geyra, A.; Barak, M.; Uni, Z.; Sklan, D. (2000). Early posthatch starvation decreases satellite cell proliferation and skeletal muscle growth in chicks. *The Journal of Nutrition*; 130(4): 858-864.
- Kannan, G.; Terrill, T.; Kouakou, B.; Gelaye, S.; Amoah, E. (2002). Simulated preslaughter holding and isolation effects on stress responses and live weight shrinkage in meat goats. *Journal of Animal Science*; 80(7): 1771-1780.
- Khosravinia, H. (2015). Effects of Intra-yolk Sac Inoculation of olive oil on physiological adaptive responses in newly hatched broiler chicks subjected to neonatal fasting. *The Journal of Poultry Science*; 52(4): 304-311.
- Kilic, U.K. (2004). Pharmacological utility of melatonin in reducing oxidative cellular and molecular damage. *Journal of Pharmacology*; 56: 159-170.
- Levitis, D.A.; Lidicker, Jr. W.Z.; Freund, G. (2009). Behavioural biologists do not agree on what constitutes behaviour. *Animal behaviour*; 78(1): 103-110.
- Mack, L.; Felver-Gant, J.; Dennis, R.; Cheng, H.W. (2013). Genetic variations alter production and behavioral responses following heat stress in 2 strains of laying hens. *Poultry science*; 92(2): 285-294.
- Mahmud, M.A.; Shaba, P.; Yisa, H.Y.; Gana, J.; Ndagimba, R.; Ndagi, S. (2014). Comparative efficacy of Diazepam, Ketamine, and Diazepam-Ketamine combination for sedation or anesthesia in cockerel chickens. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*; 1(3): 107-113.
- Martin, L.; Kidd, B.L.; Liebl, A.L.; Coon, C. (2011). Captivity induces hyperinflammation in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Journal of Experimental Biology*; 214(15): 2579-2585.
- Matthews, S.G.; Phillips, D.I. (2012). Transgenerational inheritance of stress pathology. *Experimental neurology*; 233(1): 95-101.
- Miller, W.; Buttrick, M. (1999). Current anesthesia recommendations for companion birds. *Iowa State University Veterinarian*; 61(2): 311-317.
- Moran, Jr. E. (1990). Effects of egg weight, glucose administration at hatch, and delayed access to feed and water on the poult at 2 weeks of age. *Poultry Science*; 69(10): 1718-1723.
- Mujahid, A.; Furuse, M. (2008). Central administration of corticotropin-releasing factor induces thermogenesis by changes in mitochondrial bioenergetics in neonatal chicks. *Neuroscience*; 155(3): 845-851.
- Mujahid, A.; Furuse, M. (2009). Behavioral responses of neonatal chicks exposed to low environmental temperature. *Poultry science*; 88(5): 917-922.
- Osei, P.; Robbins, K.; Shirley, H. (1989).

- Effects of exogenous melatonin on growth and energy metabolism of chickens. *Nutrition Research*; 9(1): 69-81.
- Paula, V.; Fantoni, D.; Otsuki, D.; Oliveira, M.; Júnior, R.B. (2004). A avaliação da associação Cetamina/Diazepam/Propofol na anestesia de emas (*Rhea americana americana*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*; 41(1): 4-5.
- Paula, V.V.; Otsuki, D.A.; Auler, J.O.C.; Nunes, T.L.; Ambrósio, A.M.; Fantoni, D.T. (2013). The effect of premedication with ketamine, alone or with diazepam, on anaesthesia with sevoflurane in parrots (*Amazona aestiva*). *BMC veterinary research*; 9(1): 142-148.
- Plumb, D.C. (2005). *Plumb's veterinary drug handbook*. (7rd ed), PharmaVet. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA. 1567 pp.
- Preston, K.L.; Wolf, B.; Guarino, J.J.; Griffiths, R.R. (1992). Subjective and behavioral effects of diphenhydramine, lorazepam and methocarbamol: evaluation of abuse liability. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 262(2): 707-720.
- Richardson, J.A. (2000). Permethrin spot-on toxicoses in cats. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*; 10(2): 103-106.
- Richardson, R.M.; Broaddus, W.C.; Holloway, K.L.; Fillmore, H.L. (2005). Grafts of adult subependymal zone neuronal progenitor cells rescue hemiparkinsonian behavioral decline. *Brain Research*; 1032(1): 11-22.
- Rozenboim, I.; Miara, L.; Wolfenson, D. (1998). The thermoregulatory mechanism of melatonin-induced hypothermia in chicken. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*; 274(1): R232-R236.
- Schell, M.M. (2000). Tremorgenic mycotoxin intoxication. *Brain*. 1(6): 8-13.
- Shelukhina, I.V.; Zhmak, M.N. (2018). Azemiopsin, a Selective Peptide Antagonist of Muscle Nicotinic Acetylcholine Receptor: Preclinical Evaluation as a Local Muscle Relaxant. *Toxins*; 10(1): 34-39.
- Shivazad, M.; Bejaei, M.; Taherkhani, R.; Zaghari, M.; Kiaei, M. (2007). Effects of glucose injection and feeding oasis on broiler chick's subsequent performance. *Pakistan Journal of Biological Sciences*; 10(11): 1860-1864.
- Sinkalu, V.O.; Ayo, J.O.; Adelaiye, A.B.; Hambolu, J.O. (2016). Melatonin modulates tonic immobility and vigilance behavioural responses of broiler chickens to lighting regimens during the hot-dry season. *Physiology and behavior*; 165: 195-201.
- Smith, J.; Mason, D.; Muir, W. (1993). The influence of midazolam on the minimum anesthetic concentration of isoflurane in racing pigeons. *Vet Surg*; 22(6): 546-547.
- Tan, D.X.; Hardeland, R.; Manchester, L.C.; Poeggeler, B.; Lopez-Burillo, S.; Mayo, J.C.; Sainz, R.M.; Reiter, R.J. (2003). Mechanistic and comparative studies of melatonin and classic antioxidants in terms of their interactions with the ABTS cation radical. *Journal of pineal research*; 34(4): 249-259.
- Tasharofi, S.; Mohammadi, F.; Amiri, N.; Nazem, M. (2018). Effects of intra-yolk-sac injection of dextrose and albumin on performance, jejunum morphology, liver and pectoral muscle glycogen and some serum metabolites of broilers. *Journal of animal physiology and animal nutrition*; 102(4): 225-232.
- Tickle, P.G.; Hutchinson, J.R.; Codd, J.R. (2018). Energy allocation and behaviour in the growing broiler chicken. *Scientific reports*; 8(1):4562-4569.
- Van de Ven, L.; Van Wagenberg, A.; Groot Koerkamp, P.; Kemp, B.; Van den Brand, H. (2009). Effects of a combined hatching and brooding

- system on hatchability, chick weight, and mortality in broilers. *Poultry science*; 88(11): 2273-2279.
- Weeks, C.; Danbury, T.; Davies, H.; Hunt, P.; Kestin, S. (2000). The behaviour of broiler chickens and its modification by lameness. *Applied animal behaviour science*; 67(1): 111-125.
- Weeks, C.; Nicol, C.; Sherwin, C.; Kestin, S. (1994). Comparison of the behaviour of broiler chickens in indoor and free-range environments. *Animal Welfare*; 3(3): 179-192.
- Zeman, M.; Buyse, J.; Herichova, I.; Decuypere, E. (2001). Melatonin decreases heat production in female broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*; 70(1): 15-18.