

## RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL

privind implementarea proiectului TE 14/2022 „*Evaluarea nivelului de bunăstare la taurine și bubaline utilizând indicatori fiziologici, etologici și bioacustici*” cod PN-III-P1-1.1-TE-2021-0027

<b>Finanțare:</b>	<b>Bugetul de stat</b>
<b>Denumirea Programului din PNCDI III:</b>	<b>Programul 1 – Dezvoltarea sistemului național de cercetare-dezvoltare</b>
<b>Denumirea Subprogramului:</b>	<b>Subprogramul 1.1 – Resurse Umane</b>
<b>Tip proiect:</b>	<b>Proiecte de cercetare pentru stimularea tinerelor echipe independente</b>
<b>Titlul proiectului:</b>	<b>Evaluarea nivelului de bunăstare la taurine și bubaline utilizând indicatori fiziologici, etologici și bioacustici</b>
<b>Valoarea totală a contractului</b>	<b>449.704,00 lei</b>
<b>Durata contractului:</b>	<b>28 luni</b>
<b>Autoritatea Contractantă:</b>	<b>Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior, a Cercetării, Dezvoltării și Inovării (UEFISCDI)</b>
<b>Contractor:</b>	<b>Institutul de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor (ICDCB), Balotești</b>
<b>Perioada de implementare a etapei:</b>	<b>15.05.2022-30.09.2024</b>
<b>Acronim:</b>	<b><i>BovineTalk</i></b>
<b>Cod proiect:</b>	<b>PN-III-P1-1.1-TE-2021-0027</b>
<b>Număr contract:</b>	<b>TE 14/2022</b>
<b>Director de proiect:</b>	<b>Dr.ing. Dinu Gavojdian</b>

**SCOPUL PROIECTULUI** TE 14/2022 a fost de a investiga parametrii vocali la bovine, corelând rezultatele cu date de fiziologie și etologie, pentru a testa fezabilitatea utilizării bioacusticii ca element obiectiv în evaluarea bunăstării animale. Proiectul a vizat studiul parametrilor vocali la taurine și bubaline, în vederea elaborării unor noi criterii obiective non-invazive pentru evaluarea bunăstării.

**OBIECTIVELE PROIECTULUI** *BovineTalk* au fost următoarele:

- i) utilizarea parametrilor vocali și de termoviziune în vederea evaluării stresului și nivelului de bunăstare la taurine;
- ii) utilizarea biomarkerilor de stres și a datelor de accelerometrie în monitorizarea stării de sănătate la taurine;
- iii) utilizarea parametrilor vocali și de termoviziune în vederea evaluării stresului și nivelului de bunăstare la bubaline;
- iv) utilizarea biomarkerilor de stres și corelarea acestora cu parametrii vocali și cei de termoviziune la bubaline.

**ACTIVITĂȚI PREVĂZUTE ÎN CADRUL ETAPEI 1/2022 (finalizare etapă 31.12.2022):**

Activitatea 1.1 - Colectarea de emisii sonore la taurine și analiza parametrilor vocali (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 1.2 - Utilizarea investigației termografice în evaluarea stării de sănătate a taurinelor (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 1.3 - Validarea indicatorilor bioacustici și de termografie la taurine (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 1.4 - Specializarea resursei umane implicate în proiect prin efectuarea unui stagiu științific (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 1.5 - Diseminarea rezultatelor parțiale prin elaborarea unui articol științific și participarea la conferințe cu prezentări (*grad de realizare 100%*).

Rezultate verificabile ale activităților din Etapa I/Livrabile:

- Articol științific publicat într-o revistă indexată în Web of Science din zona roșie (Q1),  
Accession Number WOS:000887019100001;
- Stagiul științific în domeniul bioacusticii la National Research Institute for Agriculture,  
Food and the Environment (INRAE) Rennes – Saint Gilles, Franța, 19-30.07.2022;
- Bază de date cu emisii sonore și imagini de termografie IRT la taurine (conform planului de realizare a proiectului), o parte din date au fost publicate în repozitoriile publice:  
<https://gitlab.com/is-annazam/bovinetalk>  
<https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2023.1236668/full#supplementary-material>;
- Participarea la două conferințe internaționale cu prezentarea rezultatelor preliminare obținute în cadrul proiectului BovineTalk.

**ACTIVITĂȚI PREVĂZUTE ÎN CADRUL ETAPEI 2/2023 (finalizare etapă 31.12.2023):**

Activitatea 2.1 - Analiza biomarkerilor de stres la taurine (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 2.2 - Utilizarea accelerometrelor în monitorizarea stării de sănătate la taurine (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 2.3 - Corelarea parametrilor bioacustici cu cei de termografie, fiziologie și etologie, în vederea validării noilor indicatori de bunăstare la taurine (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 2.4 - Colectarea de emisii sonore și analiza parametrilor vocali la bubaline (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 2.5 - Utilizarea investigației termografice în evaluarea stării de sănătate a bubalinelor (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 2.6 - Specializarea resursei umane implicate în proiect prin efectuarea unui stagiu științific (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 2.7 - Diseminarea rezultatelor parțiale prin elaborarea a două articole științifice și participarea la conferințe cu prezentări (*grad de realizare 100%*).

Rezultate verificabile ale activităților din Etapa II/Livrabile:

- Articole științifice publicate în reviste indexate în Web of Science din zona roșie (Q1),  
Accession Number WOS: 001067218200001,  
Accession Number WOS: 001126469400001;
- Stagiul științific în domeniul bioacusticii la Wageningen University and Research – Țările de Jos, 05-09.03.2023;
- Bază de date de accelerometrie la taurine (conform planului de realizare a proiectului);
- Bază de date cu emisii sonore și imagini de termografie IRT la bubaline (conform planului de realizare a proiectului);
- Participarea la cinci conferințe internaționale cu prezentarea rezultatelor preliminare obținute în cadrul proiectului BovineTalk.

**ACTIVITĂȚI PREVĂZUTE ÎN CADRUL ETAPEI 3/2024 (finalizare etapă 30.09.2024):**

Activitatea 3.1 - Analiza biomarkerilor de stres la bovine (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 3.2 – Corelarea parametrilor bioacustici cu cei de termografie și fiziologie, în vederea validării noilor indicatori de bunăstare la bovine (*grad de realizare 100%*);

Activitatea 3.3 - Diseminarea rezultatelor finale prin elaborarea unui articol științific (*grad de realizare 100%*).

Rezultate verificabile ale activităților din Etapa III/Livrabile:

- Articol științific publicat într-o revistă indexată în Web of Science din zona roșie (Q1),  
Accession Number WOS: 001161452900001;
- Bază de date cu biomarkeri de stres la bovine (conform planului de realizare a proiectului);
- Participarea la două conferințe internaționale cu prezentarea rezultatelor preliminare obținute în cadrul proiectului BovineTalk.

**REZULTATE OBTINUTE ÎN ETAPA 1 DE IMPLEMENTARE: CERCETĂRI PRIVIND UTILIZAREA PARAMETRILOR VOCALI ȘI DE TERMOVIZIUNE ÎN VEDEREA EVALUĂRII STRESULUI ȘI NIVELULUI DE BUNĂSTARE LA TAURINE**

**REZULTATE ȘI ACTIVITĂȚI ÎN ETAPA 1 (conform planului de realizare al proiectului):**

- Bază de date cu emisii sonore la taurine;
- Bază de date cu imagini termografice și corelarea acestora cu starea de sănătate a taurinelor;
- Stagiul științific de specializare în analiza parametrilor vocali la speciile de fermă;
- Participarea la două conferințe internaționale, cu prezentarea datelor parțiale din proiect;
- Articol științific trimis spre publicare.

Implementarea activităților proiectului BovineTalk prevăzute în cadrul etapei 1 a avut loc preponderent în cadrul Laboratorului Experimental Zootehnic și Laboratorului Tehnologii

de Exploatare ale Institutului de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor Balotești, și într-o mai mică măsură în cadrul Fermei Experimentale a Stațiunii de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor Șercaia (exclusiv pentru validarea metodei termografice în vederea evaluării stresului la bivolițele aflate în lactație).

În vederea respectării legislației în vigoare și a bunelor practici internaționale privind cercetările care vizează animale, a fost obținut avizul Comisiei de Etică constituită la nivelul ICDCB Balotești pentru monitorizarea proiectului TE14/2022. Mai mult, toate activitățile proiectului au respectat Directiva 2010/63/UE privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice.

*Efectivul luat în studiu în Etapa 1/2022 a fost următorul:*

- vaci de lapte multipare din rasa Bălțată cu Negru Românească, lactațiile II-IV, 94 capete;
- viței categoria 0-3 luni din rasa Bălțată cu Negru Românească, 25 capete;
- bivolițe multipare din rasa Bivol Românesc, lactațiile II-IX, 68 capete.

*Înregistrarea emisiilor vocale la taurine a fost efectuată utilizând următoarele echipamente (Fig. 1):*

- microfon broadcast super-cardioid Sennheiser MKH 416-P 48 U3 (40-20.000 Hz);
- microfon Rode NTG2 phantom power (20-20.000 Hz);
- recorder audio Marantz PMD661MKIII cu 4 canale și criptare fișiere;
- recorder audio DIGITAL SLR DR-70 cu 4 canale și înregistrare audio lineară.

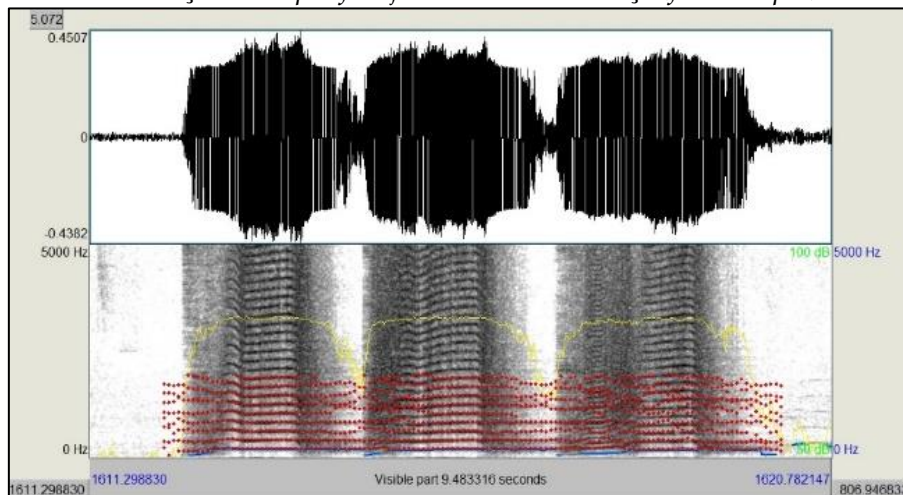
*Contextele studiate în cadrul Laboratorului Experimental Zootehnic al ICDCB Balotești:*

- izolarea vacilor și vițelilor (gradul I - izolare vizuală, gradul II - izolare vizuală și auditivă);
- habituarea la stres (monitorizarea vacilor și vițelilor în condiții de izolare pentru 4-6 ore);
- contexte pozitive la vaci (revenirea în grup, comunicarea cu congengerii, anticiparea furajării);
- contexte pozitive la viței (readucerea în cuști, anticiparea administrării tainului de lapte, administrarea tainului de lapte, revederea îngrijitorului, lotizarea în boxe de înfrățire);
- contexte pozitive la vițele 12-18 luni (anticiparea furajării, perioada de estru, interacțiuni sociale).

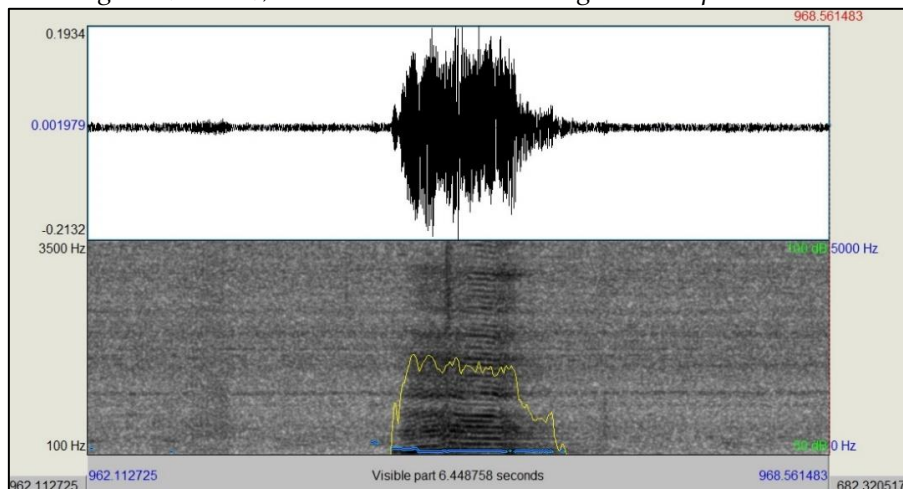
După captarea și înregistrarea sunetelor, fișierele au fost etichetate în funcție de context și animal, fiind ulterior analizate utilizând software-ul pentru analiză bioacustică Praat DSP®. După analiza cu software-ul specific, a fost constituită o bază de emisii sonore, pentru fiecare emisie sonoră au fost calculați un număr de 24 parametri.



**Figura 1.** Captarea emisiilor sonore la vițeii 0-3 luni la ICDCB Balotești (foto stânga) și la vaci aflate în lactație în timpul furajării la INRAE Franța (foto dreapta)



**Figura 2.** Oscilogramă și spectogramă emisie sonoră emisă de vacă adultă, vocalizare cu gura deschisă în context negativ (izolare), intensitatea sunetului în galben iar pulsul de sunet în roșu



**Figura 3.** Oscilogramă și spectogramă emisie sonoră vacă adultă, vocalizare cu frecvență joasă, sunet emis cu gura închisă

**Tabelul 1.** Mediile și indicii dispersiei pentru parametrii emisiilor sonore la vacile adulte (n=10, 10 sunete analizate per animal) supuse izolării timp de 4 ore, sunete emise cu gura deschisă (frecvență înaltă)

Parametru vocalizare	Sunete cu frecvență înaltă în prima oră de la izolare			Sunete cu frecvență înaltă în intervalul 3-4 ore după izolare		
	Media±SEM*	Min.	Max.	Media±SEM*	Min.	Max.
F0 (Hz)	183,86±7,24 <sup>a</sup>	165,42	205,31	196,0±11,0 <sup>b</sup>	170,8	234,3
Max. F0 (Hz)	259,86±7,96 <sup>a</sup>	240,88	284,89	250,4±17,1 <sup>a</sup>	208,8	293,1
Min. F0 (Hz)	93,5±11,4 <sup>a</sup>	71,4	136,2	80,20±7,42 <sup>b</sup>	66,45	108,30
Gama F0	166,39±9,79 <sup>a</sup>	144,99	199,78	170,2±21,7 <sup>a</sup>	100,5	212,1
Q25% (Hz)	310,4±49,2 <sup>a</sup>	212,4	431,9	211,0±10,7 <sup>b</sup>	185,4	247,0
Q50% (Hz)	439,1±59,9 <sup>a</sup>	275,9	608,1	360,9±23,5 <sup>b</sup>	297,5	430,1
Q75% (Hz)	1071,0±230 <sup>a</sup>	561,0	1740,0	824,0±103,0 <sup>b</sup>	522,0	1116,0
Vârful F (Hz)	122,7±11,7 <sup>a</sup>	95,2	162,4	119,0±14,0 <sup>a</sup>	98,9	173,8
Durață (s)	1,851±0,243 <sup>a</sup>	1,370	2,684	1,656±0,177 <sup>a</sup>	1,108	2,058
Variabilitate AM	42,15±7,79 <sup>a</sup>	21,98	65,82	35,18±8,70 <sup>a</sup>	14,16	56,60
Rata AM (s <sup>-1</sup> )	10,856±0,879 <sup>a</sup>	8,754	13,410	10,352±0,696 <sup>a</sup>	8,577	12,150
Grad AM (dB/s)	3,826±0,506 <sup>a</sup>	2,014	4,908	3,461±0,848 <sup>a</sup>	1,291	5,101
Armonicitate (dB)	9,59±1,13 <sup>a</sup>	5,39	11,69	8,22±1,48 <sup>a</sup>	3,57	11,72
Media F1 (Hz)	320,4±21,6 <sup>a</sup>	272,5	382,7	286,8±16,6 <sup>b</sup>	256,0	350,6
Media F2 (Hz)	603,2±15,4 <sup>a</sup>	550,6	638,1	626,8±22,4 <sup>a</sup>	551,8	685,6
Media F3 (Hz)	985,0±26,8 <sup>a</sup>	886,5	1042,1	966,8±25,6 <sup>a</sup>	882,3	1033,3
Media F4 (Hz)	1361,7±28,4 <sup>a</sup>	1274,3	1438,6	1345,2±20,9 <sup>a</sup>	1274,4	1389,0
Media F5 (Hz)	1724,2±29,2 <sup>a</sup>	1625,7	1791,9	1728,0±21,8 <sup>a</sup>	1655,4	1770,4
Media F6 (Hz)	2117,1±28,2 <sup>a</sup>	2022,4	2182,4	2119,6±11,5 <sup>a</sup>	2081,0	2148,2
Media F7 (Hz)	2535,6±22,0 <sup>a</sup>	2465,4	2583,7	2524,7±10,4 <sup>a</sup>	2501,4	2557,9
Media F8 (Hz)	2853,1±18,6 <sup>a</sup>	2807,1	2918,0	2862,1±27,3 <sup>a</sup>	2784,9	2935,4
Dispersare (Hz)	361,82±5,05 <sup>a</sup>	349,67	376,45	367,90±5,13 <sup>a</sup>	355,45	382,77
Entropie Wiener	-1,69±0,22 <sup>a</sup>	-2,22	-1,05	-1,48±0,07 <sup>b</sup>	-1,72	-1,27

\* Notă: La mediile cu superscript diferit valoarea p este ≤0,05

**Tabelul 2.** Mediile și indicii dispersiei pentru parametrii emisiilor sonore la vacile adulte (n=10, 10 sunete analizate per animal) supuse izolării timp de 4 ore, sunete emise cu gura închisă (frecvență joasă)

Parametru vocalizare	Sunete cu frecvență joasă în prima oră de la izolare			Sunete cu frecvență joasă în intervalul 3-4 ore după izolare		
	Media±SEM*	Min.	Max.	Media±SEM*	Min.	Max.
F0 (Hz)	83,80±2,05 <sup>a</sup>	77,71	89,25	81,10±3,03 <sup>a</sup>	72,35	89,62
Max. F0 (Hz)	95,59±4,41 <sup>a</sup>	85,75	106,61	91,71±5,56 <sup>a</sup>	75,33	104,34
Min. F0 (Hz)	69,91±1,98 <sup>a</sup>	65,63	75,37	66,33±1,39 <sup>a</sup>	61,65	69,01
Gama F0	25,67±5,99 <sup>a</sup>	11,83	40,00	25,38±5,24 <sup>a</sup>	12,82	39,66
Q25% (Hz)	139,1±34,0 <sup>a</sup>	84,0	254,4	136,3±14,1 <sup>a</sup>	110,8	183,5
Q50% (Hz)	307,0±95,0 <sup>a</sup>	102,7	640,9	334,9±69,2 <sup>a</sup>	187,1	567,9
Q75% (Hz)	<b>1201,0±481,0<sup>a</sup></b>	172,0	2462,0	<b>883,0±212,0<sup>b</sup></b>	358,0	1544,0
Vârful F (Hz)	99,2±13,7 <sup>a</sup>	78,8	153,4	110,5±23,9 <sup>a</sup>	75,2	203,8
Durață (s)	1,082±0,129 <sup>a</sup>	0,784	1,478	1,025±0,060 <sup>a</sup>	0,874	1,202
Variabilitate AM	35,94±8,39 <sup>a</sup>	15,66	66,68	38,50±18,58 <sup>a</sup>	8,86	65,76
Rata AM (s <sup>-1</sup> )	7,58±1,02 <sup>a</sup>	5,10	10,70	7,74±1,18 <sup>a</sup>	5,15	10,70
Grad AM (dB/s)	5,08±1,38 <sup>a</sup>	2,52	9,91	4,86±0,69 <sup>a</sup>	3,10	6,57
Armonicitate (dB)	10,82±2,35 <sup>a</sup>	4,17	16,84	8,01±2,21 <sup>a</sup>	1,20	14,43
Media F1 (Hz)	304,9±25,1 <sup>a</sup>	234,9	356,7	319,1±32,5 <sup>a</sup>	254,9	440,6
Media F2 (Hz)	749,5±30,0 <sup>a</sup>	667,4	840,6	730,6±48,6 <sup>a</sup>	578,9	884,4
Media F3 (Hz)	1211,7±13,6 <sup>a</sup>	1179,2	1241,8	1157,7±26,5 <sup>a</sup>	1073,4	1226,8
Media F4 (Hz)	1611,1±9,9 <sup>a</sup>	1586,4	1635,4	1575,7±22,3 <sup>a</sup>	1505,3	1636,2
Media F5 (Hz)	2076,6±39,9 <sup>a</sup>	1986,7	2225,3	2011,5±10,7 <sup>a</sup>	1974,0	2039,7
Media F6 (Hz)	<b>2580,5±18,6<sup>a</sup></b>	2512,4	2618,7	<b>2483,1±9,88<sup>b</sup></b>	2445,2	2503,3
Media F7 (Hz)	<b>3058,8±28,9<sup>a</sup></b>	2978,2	3141,1	<b>2930,0±35,3<sup>b</sup></b>	2856,1	3050,1
Media F8 (Hz)	3276,4±40,4 <sup>a</sup>	3156,9	3363,9	3252,3±99,7 <sup>a</sup>	2890,2	3476,1
Dispersare (Hz)	424,50±8,3 <sup>a</sup>	400,03	447,00	419,0±18,6 <sup>a</sup>	349,9	454,6
Entropie Wiener	-1,59±0,35 <sup>a</sup>	-2,44	-0,74	-1,11±0,13 <sup>a</sup>	-1,44	-0,66

Înregistrarea datelor de termografie cu infraroșu (IRT) la taurine și bubaline a fost efectuată utilizând două camere mobile FLIR®Pro Thermal cu o rezoluție de 19200 pixeli, interval de măsurare a temperaturii de la -20°C la +400°C. Datele de termoviziune au fost stocate și prelucrate utilizând software-ul specific VividIR™. Colectarea datelor de termoviziune la efectivul de vaci de lapte inclus în studiu și cel de bivolițe aflate în lactație au vizat următoarele contexte: pre- și post-muls; izolarea animalelor; boli metabolice; boli și afecțiuni ale glandei mamare (mastită clinică, sub-clinică, leziuni mecanice); șchiopături cu diverse etiologii; viței 0-3 luni la temperaturi neutre și stres de caniculă (>35°C); perioada de estru la vaci și vițele; vaci în ultimele 48 de ore înainte de fătare; înainte și după ecornarea vițelilor; înainte și după înțărarea vițelilor; la separarea vacii mame de vițel.

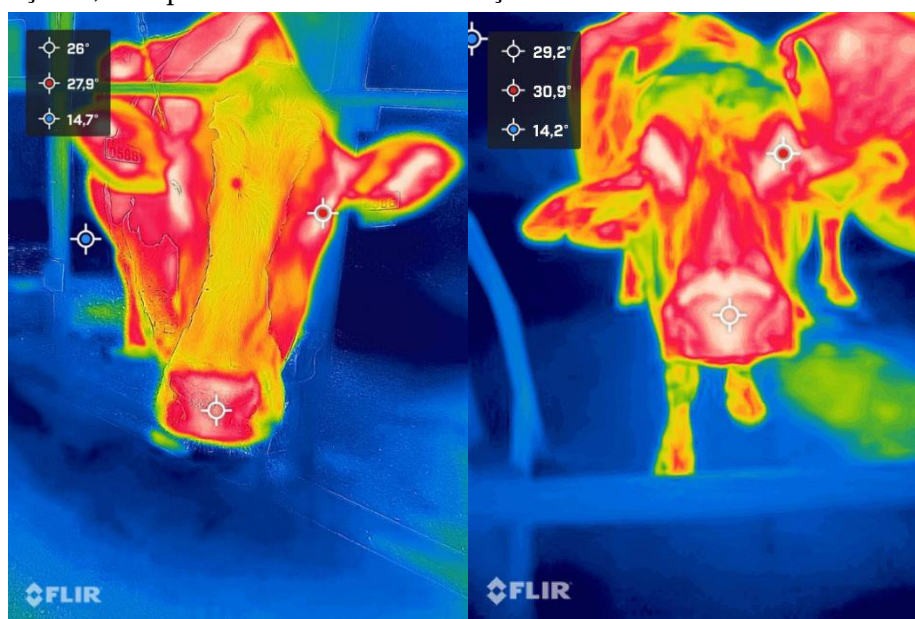


Figura 4. Aspecte privind utilizarea termometriei cu infraroșu (IRT) la taurine (foto stânga) și bubaline (foto dreapta)

**Tabelul 3.** Mediile și indicii dispersiei pentru datele de termoviziune (IRT) la vacile de lapte supuse izolării (n=20), pentru 4 ore post-muls, cu evaluarea temperaturii oculare și la nivelul oglinzii botului

Variabila	Media±SEM	DS	CV	Min.	Max.	Q1
IRT oglinda botului la 0 ore[°C]	27,86±0,546	2,44	8,76	21,60	31,10	26,17
IRT oglinda botului la 2 ore[°C]	29,87±0,329	1,47	4,93	26,70	32,30	29,07
IRT oglinda botului la 4 ore[°C]	29,13±0,533	2,38	8,19	22,40	31,90	27,45
Diferențe 0 vs. 2 ore		<i>p=0,0055, **</i>				
Diferențe 0 vs. 4 ore		<i>p=0,0698, NS</i>				
Diferențe 2 vs. 4 ore		<i>p=0,5884, NS</i>				
IRT ocular la 0 ore [°C]	31,51±0,459	2,05	6,51	26,10	34,90	30,80
IRT ocular la 2 ore [°C]	32,54±0,295	1,31	4,05	29,20	34,50	32,10
IRT ocular la 4 ore [°C]	31,74±0,449	2,00	6,33	27,20	34,30	30,40
Diferențe 0 vs. 2 ore		<i>p=0,0482, *</i>				
Diferențe 0 vs. 4 ore		<i>p=0,4902, NS</i>				
Diferențe 2 vs. 4 ore		<i>p=0,2180, NS</i>				

Notă: Diferențele statistice au fost testate cu Mann-Whitney U Test, NS  $p>0.05$ ; \*  $p\leq 0.05$ ; \*\*  $p\leq 0.01$



**Tabelul 4.** Mediile și indicii dispersiei pentru datele de termoviziune (IRT) la bivolițe în lactație (n=68), pre- și post-muls, cu evaluarea temperaturii oculare și la nivelul oglinzii botului

Temperament la muls	IRT oglinda botului [°C]		IRT ocular [°C]	
	pre-muls	post-muls	pre-muls	post-muls
Cohortă	29,33 ± 0,296	29,47 ± 0,392	31,75 ± 0,192	31,74 ± 0,422
Calme	29,46 ± 0,305	29,31 ± 0,532	31,76 ± 0,263	31,61 ± 0,591
Nervoase	29,02 ± 0,734	29,86 ± 0,420	31,74 ± 0,209	32,06 ± 0,289
<i>Diferențe calme vs. nervoase</i>	<i>p=0,916, NS</i>	<i>p=0,712, NS</i>	<i>p=0,958, NS</i>	<i>p=0,958, NS</i>

Drd. Med. Vet. Mădălina Mincu, Cercetător Științific în cadrul Laboratorului Tehnologii de Exploatare al ICDCB Balotești, membră în cadrul proiectului nr. TE 14/2022, a efectuat un **stagiu științific** în cadrul National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) UMR PEGASE Rennes – Saint Gilles, Franța, în vederea specializării în domeniul bioacusticii, coordonator stagiu din partea INRAE a fost dna Dr. Céline Tallet.

*Programul stagiului științific a fost următorul:*

- 19 – 26 iunie: introducere în studiul vocalizărilor la mamifere, studiul literaturii de specialitate și efectuarea de înregistrări în ferma experimentală de vaci de lapte La Rheu – INRAE;
- 27 – 30 iunie: analiza parametrilor vocali înregistrați în prima săptămână a studiului, utilizând software specific (Praat®);
- 27 iunie: participare întâlnire de lucru online (platforma Zoom) cu Prof.dr. Elodie Briefer de la Universitatea din Copenhaga – Danemarca, specialist în comunicarea vocală la taurine, în vederea însușirii elementelor de statistică aplicate în bioacustică;
- 28 - 29 iunie: participare (online) la conferința internațională UFAW2022: Advancing Animal Welfare Science, organizată de către International Society of Applied Ethology (ISAE).

*Principalele activități:*

- Însușirea principiilor comunicării vocale la mamifere: ce este comunicarea vocală? care este mecanismul de producere al sunetelor la animale? Teoria sursă – filtru de producere a sunetelor;
- Crearea unei baze de date cu repertoriul vocal al taurinelor din ferma experimentală La Rheu. Sunetele au fost înregistrate în 4 contexte diferite: ieșire la pășune, întoarcere de la pășune, în zona de așteptare a sălii de mulș și la anticiparea administrării hranei;
- Analiza sunetelor înregistrate cu software-ul Praat®.

**REZULTATE OBTINUTE ÎN ETAPA 2 DE IMPLEMENTARE:** *CERCETĂRI PRIVIND UTILIZAREA BIOMARKERILOR DE STRES ȘI A DATELOR DE ACCELEROMETRIE ÎN MONITORIZAREA STĂRII DE SĂNĂTATE LA TAURINE. STUDIU PRIVIND UTILIZAREA PARAMETRIILOR VOCALI ȘI DE TERMOVIZIUNE ÎN VEDEREA EVALUĂRII STRESULUI ȘI NIVELULUI DE BUNĂSTARE LA BUBALINE*

**REZULTATE ȘI ACTIVITĂȚI ÎN ETAPA 2 (cf planului de realizare al proiectului):**

- Bază de date cu biomarkerii de stres la taurine;
- Bază de date cu date de etologie, utilizând indicatori de accelerometrie;
- Bază de date cu emisii sonore la bubaline;
- Stagiu științific de specializare în analiza parametrilor vocali la speciile de fermă;
- Participarea la două conferințe internaționale, cu prezentarea datelor parțiale din proiect;
- Două articole științifice publicate în jurnale Web of Sci., Q1 și/sau Q2.

Implementarea activităților proiectului BovineTalk prevăzute în cadrul etapei 2/2023 a avut loc în următoarele unități de cercetare și ferme comerciale:

- în cadrul Laboratorului Experimental Zootehnic și Laboratorului Tehnologii de Exploatare ale Institutului de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor Balotești (pe următoarele categorii de animale: vaci adulte 82 capete, vițele și juninci 25 capete, viței 0-3 luni 23 capete);

- în cadrul Fermei Experimentale a Stațiunii de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor Șercaia – Brașov (pe următoarele categorii de animale: bivolițe adulte 48 capete, vițele și juninci de bivol 15 capete, tineret taurin mascul și femel bubalin 19 capete, viței de bivol 0-3 luni 23 capete);

- Washington State University Knott Dairy Center în Pullman, Washington State, SUA (vizând exclusiv categoria de vaci adulte, 180 capete);

- SC Agroindustrială Pantelimon SA, Pantelimon, jud. Ilfov, fermă de vaci de lapte din rasa Holstein (vizând exclusiv viței categoria 0-3 luni, 24 capete);

- SC Transylvanian Natural Products SRL, Rupea – Meșendorf, jud. Brașov, fermă de bivolițe exploatare pentru producția de lapte (vizând exclusiv bivolițe adulte, 110 capete).

*Înregistrarea emisiilor vocale la taurine și bubaline a fost efectuată utilizând următoarele echipamente:*

- microfon broadcast super-cardioid Sennheiser MKH 416-P 48 U3 (40-20.000 Hz);
- microfon Rode NTG2 phantom power (20-20.000 Hz);

- recorder audio Marantz PMD661MKIII cu 4 canale și criptare fișiere;
- recorder audio DIGITAL SLR DR-70 cu 4 canale și înregistrare audio lineară.

După captarea și înregistrarea sunetelor, fișierele au fost etichetate în funcție de context și animal, fiind ulterior analizate utilizând software-ul pentru analiză bioacustică Praat®.

*Datele de accelerometrie (senzori) la taurine au fost înregistrate cu ajutorul: sistemului CowManager® (CowManager B.V., Harmelen, Țările de Jos), cu senzori auriculari care înregistrează în permanență comportamentul animalelor și temperatura la nivelul urechii animalului 24 de ore pe zi. Tiparele comportamentale de interes au fost activitatea (non-activ, activ și foarte activ), furajarea, timpul de rumegare și temperatura la nivelul urechii. Senzorul CowManager® este un microcip înglobat care a fost adaptat într-o crotalie de identificare tip RFID, fiind prevăzut cu un accelerometru tridimensional în interiorul senzorului care înregistrează continuu activitățile animalului (validat și descris în Bikker și colab., *J. Dairy Sci.*, 97(5): 2974-2979. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7560>). Datele privind comportamentul au fost colectate cu ajutorul următoarelor echipamente: Set GoPro Hero 10 Black și Set GoPro Hero 10 Black Media Mod (fig. 5).*

*Datele de termografie în infraroșu (IRT) au fost obținute cu ajutorul următoarelor echipamente: Citirile IRT au fost efectuate cu ajutorul a două camere mobile FLIR ONE Pro LT (rezoluție de 19 200 de pixeli, interval de temperatură între -20° și 400°C) și a software-ului de procesare a imaginilor FLIR Systems INC©. Punctele de măsurare a temperaturii au fost în principal carunculul lacrimal al ochiului în regiunea orbitală (*regio orbitalis*) și la nivelul regiunii nazale (*regio nasalis*), care au fost validate anterior ca ferestre termice pentru bubaline, imaginile IRT fiind realizate (x2/animal/regiune) de la o distanță de 0,8-1,5 m și un unghi de aproximativ 90° (fig. 4).*

*Biomarkerii de stres au fost evaluați cu ajutorul următoarelor echipamente: analizatorul biochimic automatizat Spotchem EZ SP-4430 și sistemul ELISA enzimatico-imunologic cu 96 de godeuri (STAT FAX 2200-2600-3200), pentru detectarea hormonilor pe baza probelor biologice (sânge). Hormonii de interes ELISA au fost următorii: cortizol, haptoglobină, interferon gamma, factor alfa de necroză tumorală și receptorii Toll 4, iar indicatorii biochimici au fost: creatinină, proteine totale, glucoză, transaminază glutamicruvică, fosfatază alcalină, colesterol total, bilirubină totală, acid uric, acid ureic, fructozamină, gama glutamil transpeptidază.*

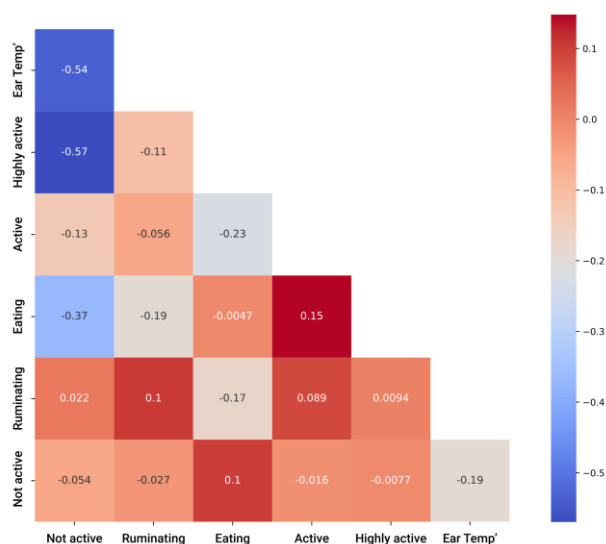


**Figura 5.** Aspecte privind colectarea datelor de etologie și bioacustică pe pășune (foto stânga) și la anticiparea furajării (foto dreapta) la Stațiunea de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor Șercaia, Brașov

### **Rezultate privind utilizarea datelor de accelerometrie (senzori comportamentali) pentru monitorizarea stării de sănătate a vacilor de lapte:**

Scopul acestui studiu a fost de a utiliza algoritmi de învățare automată pe baza datelor de accelerometrie pentru (1) detectarea precoce a dermatitei digitale bovine (DD) și (2) predicția DD. Scopul final a fost de a crea instrumente de avertizare timpurie pentru predicția DD, ceea ce ar permite fermierilor și medicilor veterinari să monitorizeze și să gestioneze mai bine DD în condiții comerciale, ceea ce ar duce la o scădere a prevalenței și a severității bolii, îmbunătățind în același timp bunăstarea animalelor.

Colectarea datelor a avut loc pe parcursul a 60 de zile consecutive la Washington State University Knott Dairy Center (KDC) din Pullman, Washington, SUA. Ferma experimentală de (KDC) deține 180 de vaci de rasă Holstein, animalele aflate în lactație fiind întreținute într-un grajd cu stabulație liberă, cu cușete individuale de odihnă, folosind gunoi de grajd compostat ca așternut. Vacile au fost mulse de două ori pe zi, folosind o sală de muls 'hering-bone'/side-by-side de tipul 6x6, având acces *ad libitum* la două adăpătoare și sunt hrănite cu amestec de fermă unic (AFU) de două ori pe zi. Ferma KDC nu practică pășunatul pentru vacile în lactație, iar aleile de circulație și padocul exterior au podele din beton continuu. În timpul perioadei de repaus mamar, vacile au fost cazate într-un adăpost cu așternut permanent adânc din paie, cu acces la zone de pășunat în jurul fermei. Fiecare vacă de la ferma experimentală KDC a avut prevăzută o crotalie CowManager® care înregistrează continuu comportamentul animalului și temperatura la nivelul urechii 24 de ore/zi.

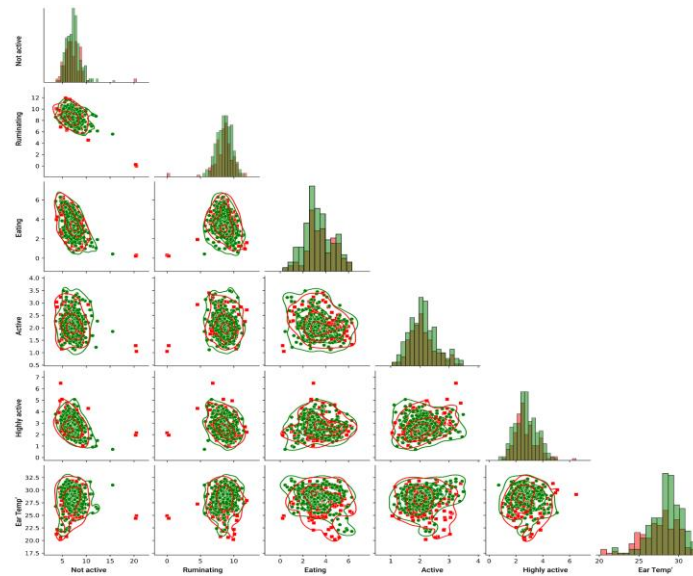


**Figura 6.** Matricea de colorare Pearson între tipare comportamentale pentru modelul de detectare a dermatitei digitale

Toate datele comportamentale au fost calculate ca proporția de timp pe care fiecare vacă a petrecut-o prezentând fiecare tipar comportamental și au fost calculate în ore dedicate aceluși tipar comportamental per 24 de ore. Vacile au fost înscrise în studiu dacă au îndeplinit două criterii: 1) nu au prezentat leziuni DD timp de cel puțin 7 zile înainte de prima observare a unei leziuni active și 2) au avut cel puțin 2 zile consecutive de observare a unei leziuni DD post-diagnostic. În timpul studiului, 21 de animale au dezvoltat DD, vaci care se aflau între prima și a cincea lactație. Fiecare vacă care a dezvoltat un episod de DD (lotul experimental) a fost apoi comparată cu o vacă sănătoasă care avea aceeași paritate, stare de reproducere (gestantă/negestantă) și perioadă de lactație (timpurie/medie/tardivă), considerate lotul de control. Perioadele de lactație au fost clasificate ca fiind timpurii (sub <100 zile de lactație), medii (între 101-199 zile de lactație) sau târzii (peste >199 zile de lactație). Prin urmare, setul final de date a inclus 21 de vaci cu DD și 21 de vaci clinic sănătoase.

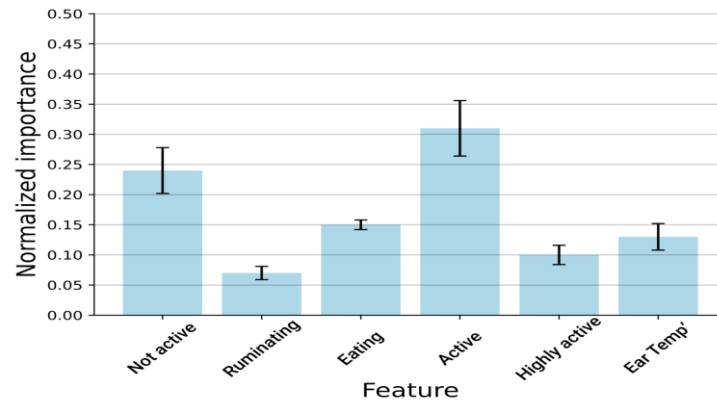
*Modelul de învățare automată pentru detecția dermatitei digitale:* Prima sarcină abordată a fost dezvoltarea unui clasificator de învățare automată pentru a determina dacă o anumită vacă are sau nu DD în ziua 0 (ziua diagnosticului). Urmată de descrierea procesului de antrenare a modelului de învățare automată, după împărțirea setului de date în cohorte „de antrenare” și „de testare”, astfel încât cohorta de antrenare să conțină 80% din setul inițial de date, în timp ce restul de 20% a aparținut cohortei de testare. Important de reținut că distribuția caracteristicii țintă, atât în cohortele de antrenare, cât și în cohortele de testare, s-a făcut utilizând metoda Monte-Carlo, luând cea mai bună împărțire aleatorie din n=100 de încercări.

Cohorta de antrenare a fost apoi utilizată pentru a forma modelul, iar cohorta de testare a fost utilizată pentru a evalua performanța acestuia. Eșantioanele de date de la aceeași vacă au fost incluse fie în cohorta de antrenare a modelului, fie în cea de testare, pentru a se evita eventualele scurgeri de date între cele două. În plus, pentru a ne asigura că rezultatele sunt solide, cohorta de antrenare a fost împărțită în continuare folosind metoda de validare încrucișată k-fold, cu  $k=5$ .



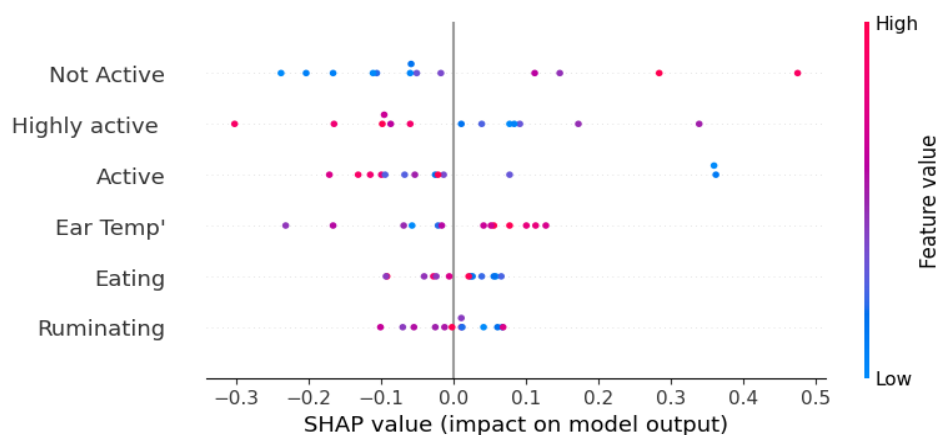
**Figura 7.** Diagramă cu caracteristicile modelului, împărțite de caracteristicile țintă, astfel încât marcajele roșii indică vacile bolnave, în timp ce marcajele verzi indică vacile clinic sănătoase

Cu ajutorul cohortei de antrenare, a fost utilizată biblioteca de învățare automată *Tree-Based Pipeline Optimization Tool* (TPOT), fiind un set de date  $D \in R^{r,c}$  cu  $c \in \mathbb{N}$  caracteristici și  $r \in \mathbb{N}$  eșantioane, care utilizează o abordare bazată pe GA, pentru a genera și testa conductele ML bazate pe biblioteca *scikit-learn*. Metoda de căutare a clasificatorului TPOT a fost utilizată pentru a obține o conductă ML care urmărește să optimizeze acuratețea medie a clasificatorului. Odată obținută conducta ML, s-a urmărit în continuare îmbunătățirea performanței modelului pe cohorta de instruire utilizând metoda de căutare a hiperparametrilor prin grilă, astfel încât intervalele de valori ale hiperparametrilor au fost alese manual. În cele din urmă, modelul obținut a fost evaluat folosind cohorta de testare. Acest proces de dezvoltare a modelului a fost similar în natură cu alte studii recente privind datele de accelerometrie la vacile de lapte; cu toate acestea, a fost utilizată abordarea învățării automate, care a realizat această sarcină mai eficient din punct de vedere al timpului.

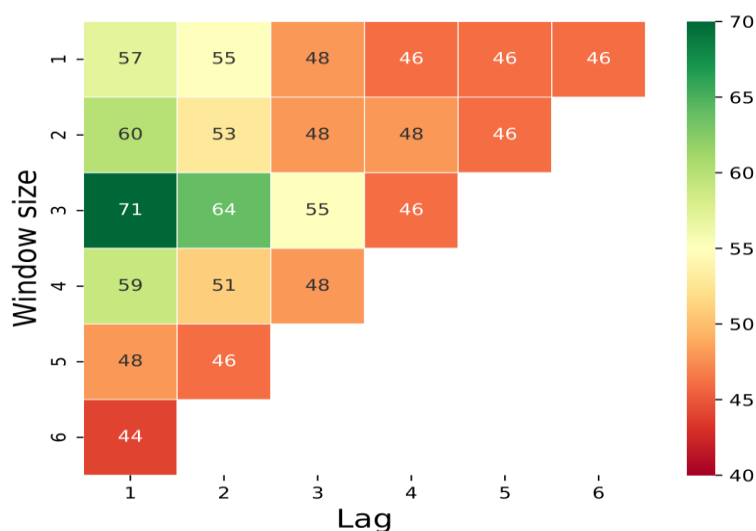


**Figura 8.** Importanța caracteristicilor modelului de detectare a dermatitei digitale (tipare comportamentale), care măsoară câștigul relativ de informații din fiecare caracteristică

*Model de învățare automată pentru predicția dermatitei digitale:* Un decalaj în predicția seriilor de timp a reprezentat un mod de a face referire la punctele de date anterioare: de exemplu, un decalaj de 1 însemnând punctul de date anterior, un decalaj de 2 însemnând punctul de date cu două perioade în urmă și așa mai departe. O fereastră se referă la un subansamblul de dimensiuni fixe dintr-un set de date din seriile de timp. Scopul a fost de a analiza o porțiune de date de o anumită lungime (dimensiunea ferestrei) și de a muta datele respective în seria de timp. Existența unei ferestre a permis crearea unor caracteristici agregate, cum ar fi mediile mobile, sumele, abaterile standard etc. Rezultând astfel o sarcină de serii de timp cu un anumit decalaj  $l \in \mathbb{N}$  și o dimensiune a ferestrei  $w \in \mathbb{N}$ . În această reprezentare, predicția apariției bolii a luat forma unei clasificări binare. Cu toate acestea, în mod natural, numărul de eșantioane negative a fost mult mai mare, decât numărul de eșantioane pozitive, deoarece acestea apar o singură dată pentru fiecare animal. Prin urmare, pentru a echilibra datele, au fost subeșantionate eșantioanele etichetate negativ folosind metoda K-means, astfel încât numărul de clustere să fie egal cu numărul de eșantioane pozitive. Pornind de la aceste motive, s-a repetat același proces de calcul ca și cel utilizat pentru a obține clasificatorul de detectare a bolii. În plus, pentru a investiga influența parametrilor de decalaj și de dimensiune a ferestrei de timp, s-a obținut predictorul de apariție a bolii pentru toate combinațiile posibile ale acestor parametri. Pentru a controla metoda de echilibrare, s-a utilizat fixarea ponderilor claselor, în care numărul de eșantioane este păstrat la fel, dar ponderea fiecărei etichete este diferită pentru a ține cont de diferențele dintre dimensiunile grupurilor de etichete. Ambele modele au fost implementate utilizând limbajul de programare Python (versiunea 3.8.1) și s-a stabilit  $p \leq 0,05$  pentru a fi semnificative din punct de vedere statistic.



**Figura 9.** Importanța caracteristicilor modelului de detectare a dermatitei digitale, măsurând valoarea SHapley Additive exPlanations (SHAP) a fiecărui tipar comportamental



**Figura 10.** Harta termică a acurateții modelelor pe setul de testare (în procente) în funcție de decalajul și dimensiunea ferestrei de timp. O precizie de 50% a unei predicții binare indică o alegere aleatorie, astfel încât toate rezultatele sub acest nivel arată că modelul nu a reușit să învețe

În concluzie, în acest studiu exploratoriu a fost elaborat și testat un model de învățare automată capabil să anticipeze și să detecteze dermatita digitală bovină la vacile întreținute în sistem liber, pe baza datelor accelerometrie. Modelul pentru detectarea DD în ziua 0 de la apariția semnelor clinice a atins o acuratețe de 79%, în timp ce modelul de predicție a DD cu 2 zile înainte de apariția primelor semne clinice a atins o acuratețe de 64%. Modelele de învățare automată propuse ar putea contribui la realizarea unui instrument automatizat în timp real pentru monitorizarea și diagnosticarea afecțiunilor podale la vacile de lapte, pe baza datelor de senzori care monitorizează comportamentul.



**Rezultate privind structura și parametrii vocalizărilor la bivoli:****Tabelul 5.** Mediile și indicii dispersiei pentru parametrii emisiilor sonore la bivolițele adulte (n=10), sunete emise cu gura deschisă (frecvență înaltă) și gura închisă (frecvență joasă)

Parametru vocalizare	Sunete cu frecvență înaltă			Sunete cu frecvență joasă		
	Media±SEM	Min.	Max.	Media±SEM	Min.	Max.
F0 (Hz)	<b>180,6±12,3<sup>a</sup></b>	117,0	227,4	<b>88,44±4,14<sup>b</sup></b>	71,64	104,07
Max, F0 (Hz)	<b>255,13±5,85<sup>a</sup></b>	218,94	273,83	<b>100,21±4,57<sup>b</sup></b>	75,78	111,57
Min, F0 (Hz)	<b>125,4±13,6<sup>a</sup></b>	67,3	187,7	<b>73,16±2,73<sup>b</sup></b>	64,42	87,08
Gama F0	<b>129,7±16,1<sup>a</sup></b>	58,2	201,5	<b>27,05±3,81<sup>b</sup></b>	7,98	43,60
Q25% (Hz)	503,0±24,9	330,8	602,6	493,0±29,9	304,9	589,8
Q50% (Hz)	738,1±16,7	636,1	795,8	762,4±40,9	503,6	912,8
Q75% (Hz)	1039,7±39,5	870,9	1305,4	1263,9±63,0	783,0	1519,1
Vârful F (Hz)	197,7±13,3	101,1	244,7	162,0±24,2	77,8	284,6
Durață (s)	<b>1,762±0,248<sup>a</sup></b>	0,857	3,249	<b>0,7317±0,035<sup>b</sup></b>	0,581	0,903
Variabilitate AM	48,27±2,90	35,43	59,75	61,95±2,61	47,88	72,34
Rata AM (s <sup>-1</sup> )	9,485±0,795	4,658	13,103	5,997±0,878	1,993	10,515
Grad AM (dB/s)	5,699±0,985	2,969	12,729	5,699±0,985	2,969	12,729
Armonicitate (dB)	<b>2,259±0,675<sup>a</sup></b>	-0,260	4,920	<b>-0,275±0,435<sup>b</sup></b>	-1,410	3,390
Media F1 (Hz)	409,9±12,8	368,0	487,2	414,24±4,71	388,60	435,97
Media F2 (Hz)	701,68±7,12	669,94	736,35	743,6±11,1	683,9	787,1
Media F3 (Hz)	1004,7±10,4	940,2	1037,8	1149,2±15,7	1040,2	1218,8
Media F4 (Hz)	1291,9±28,6	1146,8	1437,5	1514,7±17,8	1430,1	1641,3
Media F5 (Hz)	1719,6±20,0	1593,0	1792,1	1910,0±20,8	1797,8	2016,9
Media F6 (Hz)	2134,0±13,4	2103,5	2206,3	2342,9±20,8	2212,1	2419,3
Media F7 (Hz)	<b>2543,0±16,9<sup>a</sup></b>	2442,9	2624,6	<b>2881,4±15,2<sup>b</sup></b>	2777,3	2929,0
Media F8 (Hz)	<b>2909,8±17,2<sup>a</sup></b>	2831,8	2995,3	<b>3351,3±9,77<sup>b</sup></b>	3295,4	3389,1
Dispersare (Hz)	357,13±2,04	346,49	364,79	419,58±1,40	411,33	427,18
Entropie Wiener	-0,761±0,070	-1,261	-0,517	-0,647±0,0396	-0,870	-0,448

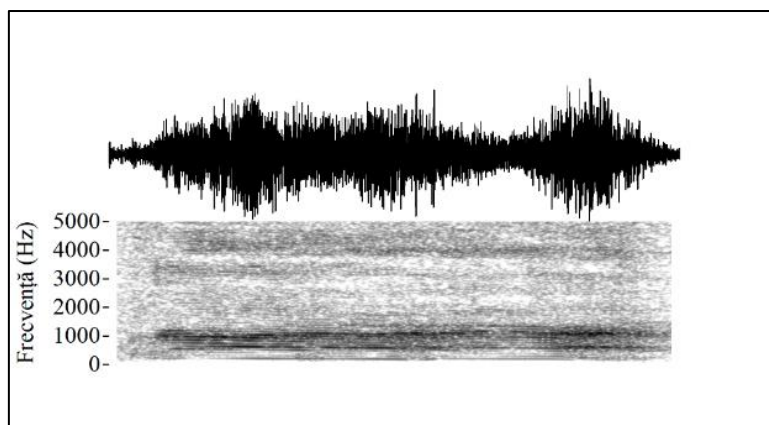
\* Notă: La mediile cu superscript diferit și **în bold** valoarea p este ≤0,05

**Tabelul 6.** Mediile și indicii dispersiei pentru parametrii emisiilor sonore la tineret femel bubalin prepuber de 6-8 luni (n=10), sunete emise cu gura deschisă (frecvență înaltă) și gura închisă (frecvență joasă)

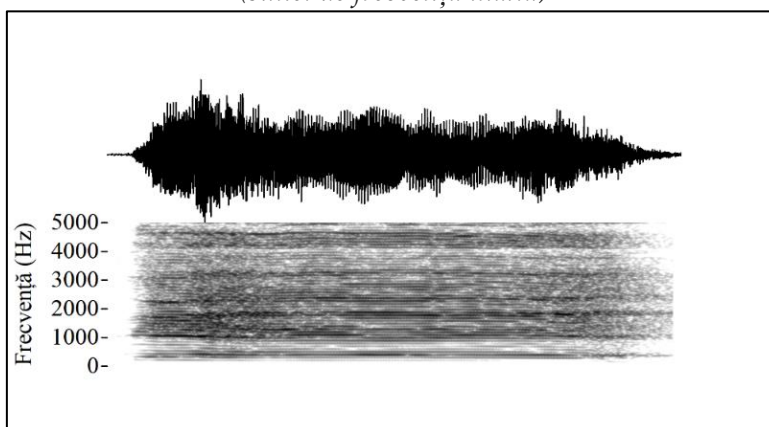
Parametru vocalizare	Sunete cu frecvență înaltă			Sunete cu frecvență joasă		
	Media±SEM	Min.	Max.	Media±SEM	Min.	Max.
F0 (Hz)	<b>129,5±25,1<sup>a</sup></b>	85,2	172,0	<b>84,31±5,70<sup>b</sup></b>	67,44	91,70
Max, F0 (Hz)	<b>235,2±41,9<sup>a</sup></b>	152,6	289,0	<b>95,62±8,44<sup>b</sup></b>	70,73	106,23
Min, F0 (Hz)	69,82±2,98	65,64	75,58	62,609±0,868	60,985	64,544
Gama F0	<b>165,3±41,7<sup>a</sup></b>	84,4	223,4	<b>33,01±8,95<sup>b</sup></b>	7,13	45,05
Q25% (Hz)	<b>339,8±77,0<sup>a</sup></b>	244,7	492,2	<b>264,7±90,2<sup>b</sup></b>	138,9	527,7
Q50% (Hz)	729±134	556	993	724±155	404	1146
Q75% (Hz)	<b>1298±288<sup>a</sup></b>	986	1873	<b>1748±103<sup>b</sup></b>	1497	2001
Vârful F (Hz)	73,29±3,01	68,27	78,68	64,39±4,16	57,95	76,54
Durată (s)	<b>1,982±0,360<sup>a</sup></b>	1,509	2,689	<b>0,998±0,099<sup>b</sup></b>	0,787	1,228
Variabilitate AM	36,03±3,25	32,29	42,51	42,11±6,56	32,31	60,97
Rata AM (s <sup>-1</sup> )	9,526±0,927	8,290	11,341	9,73±1,38	6,99	12,35
Grad AM (dB/s)	<b>3,899±0,664<sup>a</sup></b>	2,847	5,128	<b>4,88±1,42<sup>b</sup></b>	2,73	8,73
Armonicitate (dB)	<b>6,20±2,27<sup>a</sup></b>	1,69	8,89	<b>3,170±0,670<sup>b</sup></b>	2,340	5,170
Media F1 (Hz)	322,77±6,07	311,60	332,47	341,1±11,1	323,4	370,4
Media F2 (Hz)	<b>762,76±8,65<sup>a</sup></b>	748,09	778,05	<b>860,3±17,3<sup>b</sup></b>	823,5	897,5
Media F3 (Hz)	1058,8±20,1	1030,7	1097,8	1194,6±3,82	1189,2	1205,6
Media F4 (Hz)	<b>1396,3±41,9<sup>a</sup></b>	1336,1	1476,9	<b>1628,2±22,9<sup>b</sup></b>	1572,7	1667,7
Media F5 (Hz)	<b>1758,3±24,4<sup>a</sup></b>	1717,1	1801,4	<b>2039,8±22,0<sup>b</sup></b>	1986,9	2085,0
Media F6 (Hz)	<b>2104,8±16,7<sup>a</sup></b>	2077,3	2135,1	<b>2522,1±28,3<sup>b</sup></b>	2438,1	2557,3
Media F7 (Hz)	<b>2553,5±16,7<sup>a</sup></b>	2530,7	2585,9	<b>2977,1±41,1<sup>b</sup></b>	2857,3	3037,8
Media F8 (Hz)	<b>2900,0±4,19<sup>a</sup></b>	2891,8	2905,8	<b>3390,7±33,6<sup>b</sup></b>	3304,8	3458,8
Dispersare (Hz)	<b>368,17±0,530<sup>a</sup></b>	367,12	368,79	<b>435,65±6,03<sup>b</sup></b>	419,20	447,79
Entropie Wiener	<b>-0,55±0,178<sup>a</sup></b>	-0,843	-0,229	<b>-0,87±0,037<sup>b</sup></b>	-0,972	-0,789

**Tabelul 7.** Mediile și indicii dispersiei pentru parametrii emisiilor sonore la vițeei de bivoli 0-3 luni luni (n=10), sunete emise cu gura deschisă (frecvență înaltă) și gura închisă (frecvență joasă)

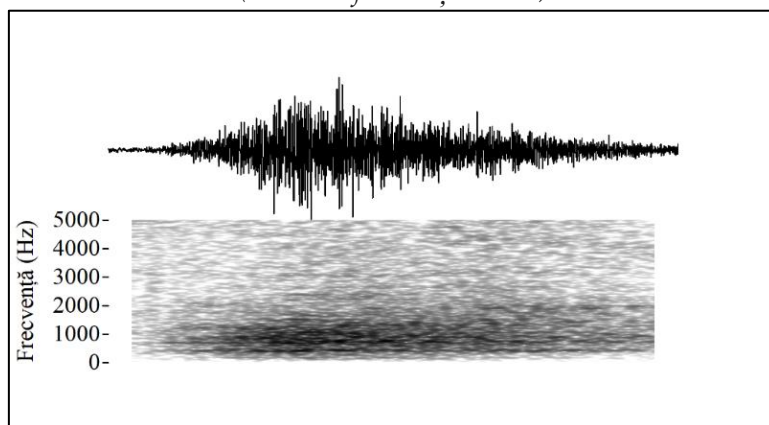
Parametru vocalizare	Sunete cu frecvență înaltă			Sunete cu frecvență joasă		
	Media±SEM	Min.	Max.	Media±SEM	Min.	Max.
F0 (Hz)	<b>124,72±9,66<sup>a</sup></b>	90,39	212,31	<b>95,14±1,84<sup>b</sup></b>	93,30	96,97
Max, F0 (Hz)	<b>176,9±14,2<sup>a</sup></b>	101,3	265,1	<b>103,54±0,172<sup>b</sup></b>	103,37	103,71
Min, F0 (Hz)	98,38±6,48	66,36	167,97	83,08±9,61	73,48	92,69
Gama F0	<b>78,6±12,3<sup>a</sup></b>	12,1	165,6	<b>20,46±9,78<sup>b</sup></b>	10,68	30,24
Q25% (Hz)	591,2±64,0	360,9	1274,2	611,2±56,2	555,0	667,4
Q50% (Hz)	987,9±87,8	534,6	1919,4	1092,5±24,5	1068,0	1117,0
Q75% (Hz)	1591±142	1121	3085	1655,0±7,09	1647,9	1662,1
Vârful F (Hz)	<b>124,8±19,7<sup>a</sup></b>	10,4	221,4	<b>99,73±3,72<sup>b</sup></b>	96,01	103,46
Durată (s)	<b>1,1586±0,0910<sup>a</sup></b>	0,8030	1,9520	<b>0,8505±0,0275<sup>b</sup></b>	0,8230	0,8780
Variabilitate AM	55,62±3,10	41,93	74,75	53,26±4,64	48,62	57,90
Rata AM (s <sup>-1</sup> )	7,610±0,330	4,546	9,341	6,51±1,39	5,12	7,90
Grad AM (dB/s)	7,649±0,763	5,433	15,477	8,73±2,57	6,15	11,30
Armonicitate (dB)	<b>7,92±1,15<sup>a</sup></b>	0,76	15,12	<b>4,52±1,39<sup>b</sup></b>	3,13	5,91
Media F1 (Hz)	400,2±16,0	345,7	541,4	377,3±26,1	351,2	403,4
Media F2 (Hz)	752,2±22,9	578,1	879,9	864,9±22,9	842,0	887,8
Media F3 (Hz)	1082,9±14,8	1001,5	1208,1	1206,7±27,5	1179,2	1234,1
Media F4 (Hz)	1406,3±16,6	1296,2	1574,8	1573,8±21,6	1552,2	1595,4
Media F5 (Hz)	1778,1±12,9	1727,4	1875,8	1928,5±16,2	1912,3	1944,7
Media F6 (Hz)	<b>2155,1±17,7<sup>a</sup></b>	2082,7	2314,6	<b>2426,4±26,9<sup>b</sup></b>	2399,5	2453,3
Media F7 (Hz)	<b>2546,7±11,8<sup>a</sup></b>	2478,3	2622,8	<b>2860,5±34,1<sup>b</sup></b>	2826,4	2894,6
Media F8 (Hz)	<b>2922,3±12,6<sup>a</sup></b>	2810,9	2997,5	<b>3240,7±25,2<sup>b</sup></b>	3215,5	3265,9
Dispersare (Hz)	360,29±2,99	341,54	376,68	409,06±0,131	408,93	409,19
Entropie Wiener	-1,273±0,071	-1,7580	-0,8400	-1,035±0,171	-1,205	-0,864



*Figura 11. Oscilogramă și spectrogramă emisie sonoră de bivoliță adultă, vocalizare cu gura deschisă (sunet de frecvență înaltă)*



*Figura 12. Oscilogramă și spectrogramă emisie sonoră de vițel de bivol, vocalizare cu gura deschisă (sunet de frecvență înaltă)*



*Figura 13. Oscilogramă și spectrogramă emisie sonoră de bivoliță adultă, vocalizare cu gura închisă (sunet de frecvență joasă)*

**REZULTATE OBTINUTE ÎN ETAPA 3 DE IMPLEMENTARE:** *STUDIUL PRIVIND UTILIZAREA BIOMARKERILOR DE STRES ȘI CORELAREA ACESTORA CU PARAMETRII VOCALI ȘI CEI DE TERMOVIZIUNE LA BOVINE*

**REZULTATE ȘI ACTIVITĂȚI ÎN ETAPA 3 (conform planului de realizare al proiectului):**

- Bază de date cu biomarkerii de stres la bovine;
- Bază de date cu imagini termografice și corelarea acestora cu starea de sănătate a bovinelor;
- Articole științifice publicate.

Implementarea activităților proiectului BovineTalk prevăzute în cadrul etapei 3/2024 a avut loc în următoarele unități de cercetare:

- în cadrul Laboratorului Experimental Zootehnic și Laboratorului Tehnologii de Exploatare ale Institutului de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor Balotești (pe următoarele categorii de animale: vaci adulte 92 capete și viței 0-3 luni 24 capete);

- în cadrul Fermei Experimentale a Stațiunii de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bubalinelor Șercaia – Brașov (pe următoarele categorii de animale: bivolițe adulte 42 capete, tineret taurin mascul și femel bubalin 14 capete);

- Washington State University Knott Dairy Center în Pullman, Washington State, SUA (vizând exclusiv categoria de vaci adulte, 42 capete);

- Laboratorul Tech4Animals al Universității din Haifa, Israel (colaborare exclusiv online, constând în accesul la infrastructura informatică a laboratorului, precum și instruire în aplicarea proceselor de învățare automată în studiul comportamentului animal).

*Biomarkerii de stres au fost evaluați cu ajutorul următoarelor echipamente: analizatorul biochimic automatizat Spotchem EZ SP-4430 și sistemul ELISA enzimatico-imunologic cu 96 de godeuri (STAT FAX 2200-2600-3200), pentru detectarea hormonilor pe baza probelor biologice de sânge. Hormonii de interes ELISA au fost următorii: cortizol, haptoglobină, interferon gamma, factor alfa de necroză tumorală și receptorii Toll 4, iar indicatorii biochimici au fost: creatinină, proteine totale, glucoză, transaminază glutamicruvică, fosfatază alcalină, colesterol total, bilirubină totală, acid uric, acid ureic, fructozamină, gama glutamil transpeptidază. Fiind prelevate și analizate probe biologice de la viței și vaci în perioade de stres tehnologic (ex. înțărirea vițelilor, relotizare vițelilor, manipularea vacilor).*

*Datele de termografie în infraroșu (IRT) au fost obținute cu ajutorul următoarelor echipamente: două camere mobile FLIR ONE Pro LT (rezoluție de 19 200 pixeli, interval de temperatură între -20° și 400°C) și a software-ului de procesare a imaginilor FLIR Systems INC®, precum și a unei camere model HTI HT-19, XT (rezoluție de 49152 pixeli), imaginile IRT fiind realizate (x2/animal/regiune de interes) de la o distanță de 0,8-1,5 m și un unghi de aproximativ 90° (fig. 14).*

Redăm rezultatele obținute în experimentul de monitorizare a detecției și predicției afecțiunilor podale (dermatită digitală) la un efectiv monitorizat de 180 capete vaci de lapte, aflate în lactație (21 de animale au dezvoltat această afecțiune). În acest studiu au fost aplicate

tehnici de inteligență artificială (machine vision, MV) bazate pe învățarea profundă pentru detectarea precoce și predicția dermatitei digitale folosind date de IRT. Modelele MV au înregistrat performanțe de peste 81% în ceea ce privește acuratețea detectării dermatitei digitale în „ziua 0” (prima apariție a semnelor clinice) și de peste 70% în ceea ce privește predicția dermatitei digitale cu două zile (48 ore) înainte de prima apariție a semnelor clinice (tabelul 8). Rezultatele obținute indică faptul că utilizarea imaginilor IRT împreună cu predictorii bazați pe procesele de învățare automată și MV prezintă un potențial real pentru dezvoltarea viitoarelor instrumente automate în timp real pentru monitorizarea afecțiunilor podale la bovine.

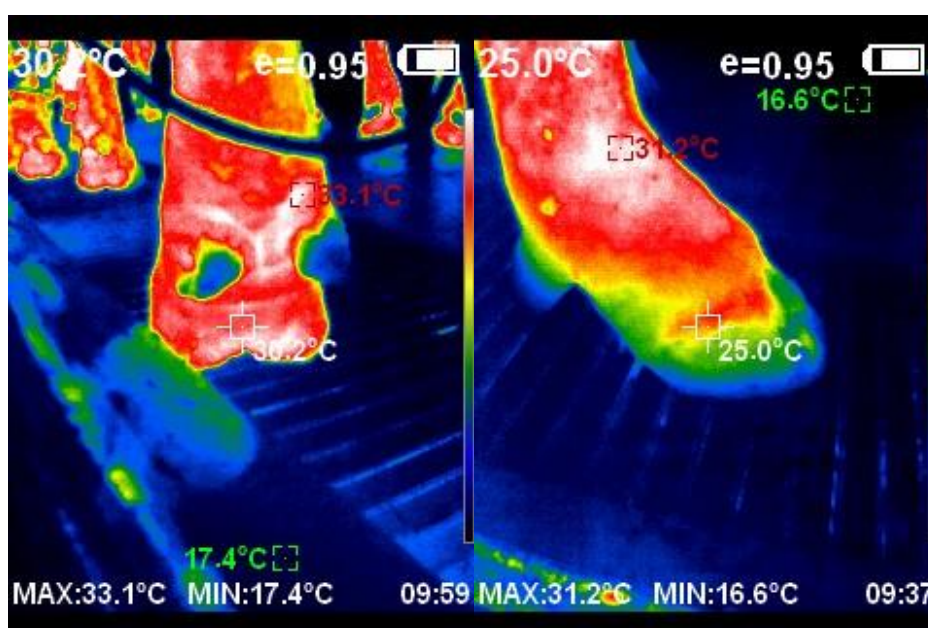


Figura 14. Utilizarea termografiei în infraroșu pentru monitorizarea șchiopăturilor la vacile de lapte

**Tabelul 8.** Detectarea și predicția debutului episoadelor de dermatită digitală la taurine, rezultatele clasificării automate pe baza datelor IRT

Clasificare	Unghiul	Caracteristici	Acuratețe	Precizie	F1	Sensibilitate	Specificitate
Detectia	Banda coronariană	Toate	0,8115	0,7969	0,8160	0,8361	0,7869
		Doar încorporate	<b>0,8196</b>	<b>0,8095</b>	<b>0,8226</b>	<b>0,8361</b>	<b>0,8033</b>
		Doar suplimentare	0,4754	0,4727	0,4483	0,4262	0,5246
	Călcâi	Toate	0,6667	0,6129	0,7308	0,9048	0,4286
		Doar încorporate	<b>0,6786</b>	<b>0,6230</b>	<b>0,7379</b>	<b>0,9048</b>	<b>0,4524</b>
		Doar suplimentare	0,6190	0,5926	0,6666	0,7619	0,4762
Predicția	Banda coronariană	Toate	0,6000	0,5882	0,6250	0,6667	0,5333
		Doar încorporate	0,6333	0,6429	0,6207	0,6000	0,6667
		Doar suplimentare	<b>0,7000</b>	<b>0,6875</b>	<b>0,7097</b>	<b>0,7333</b>	<b>0,6667</b>
	Călcâi	Toate	<b>0,6500</b>	<b>0,6364</b>	<b>0,6667</b>	<b>0,7000</b>	<b>0,6000</b>
		Doar încorporate	0,6500	0,7143	0,5882	0,5000	0,8000
		Doar suplimentare	0,6500	0,6667	0,6316	0,6000	0,7000

**PUBLICAREA, DISEMINAREA ȘI COMUNICAREA REZULTATELOR PROIECTULUI:**

• **Articole științifice publicate [4 articole publicate]:**

**Gavojdian D., Mincu M., Lazebnik T., Oren A., Nicolae I., Zamansky A., 2024, BovineTalk: machine learning for vocalization analysis of dairy cattle under the negative affective state of isolation, *Frontiers in Veterinary Science*, **11:1357109**, DOI: [10.3389/fvets.2024.1357109](https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1357109) (eISSN 2297-1769, factor de impact jurnal 3,20, Q1 în categoria 'Veterinary Sciences' WoS);**

**Mincu M., Nicolae I., Gavojdian D., 2023, Infrared thermography as a non-invasive method for evaluating stress in lactating dairy cows during isolation challenges, *Frontiers in Veterinary Science*, **6;10:1236668**, DOI: [10.3389/fvets.2023.1236668](https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1236668) (eISSN 2297-1769, factor de impact jurnal 3,20, Q1 în categoria 'Veterinary Sciences' WoS);**

**Magana J., Gavojdian D., Menachem Y., Lazebnik T., Zamansky A., Adams Progar A., 2023, Machine Learning Approaches to Predict and Detect Early-Onset of Digital Dermatitis in Dairy Cows using Sensor Data, *Frontiers in Veterinary Science*, **10:1295430**, DOI: [10.3389/fvets.2023.1295430](https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1295430), (eISSN 2297-1769, factor de impact jurnal 3,20, Q1 în categoria 'Veterinary Sciences' WoS);**

**Mincu M., Gavojdian D., Nicolae I., Olteanu A.C., Bota A., Vlagioiu C., 2022, Water Buffalo Responsiveness during Milking: Implications for Production Outputs, Reproduction Fitness and Animal Welfare, *Animals*, **12(22), 3115**; DOI: [10.3390/ani12223115](https://doi.org/10.3390/ani12223115) (ISSN 2076-2615, factor de impact jurnal: 3,231, Q1 în categoriile WoS 'Agriculture, Dairy & Animal Science' și 'Veterinary Sciences').**

• **Articole științifice în curs de publicare [1 articol aflat în recenzie]:**

**Feighelstein M., Mishael A., Malka T., Magana J., Zamansky A., Adams- Progar A., Gavojdian D., AI-Based Prediction and Detection of Early- onset of Digital Dermatitis in Dairy Cows using Infrared Thermography, Submission ID 646a4af5-ddf2-418c-8679-4ab4bedc94ee, Scientific Reports (ISSN 2045-2322, factor de impact jurnal: 3,800, Q1 în categoria WoS 'Multidisciplinary Sciences').**

• **Participarea la conferințe [9 lucrări tip abstract publicate și prezentate]:**

**Gavojdian D., Mincu M., Nicolae I., Lazebnik T., Zamansky A., A Deep-Learning Model to Identify Call-type and Individuality of Dairy Cattle, publicat în *Book of Abstracts of the 74<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP 2024)*, 1 – 5 septembrie 2024, Florența - Italia, vol. 29, ISBN 978-90-8686-936-7, pag. 675 (prezentare tip poster);**

**Gavojdian D., Mincu M., Nicolae I., Artificial intelligence approaches to evaluate individuality in cattle based on vocal emissions, publicat în *Book of Abstracts International Conference 'Agriculture for Life, Life for Agriculture'* - Section 4 Veterinary Medicine, 6-8 iunie 2024, București – România, ISSN 2457-323X, pag. 47 (prezentare orală invitată);**

**Gavojdian D., Mincu M., Ber V., Nicolae I., Could low frequency calls be indicative of stress and negative arousal states in cattle? publicat în *Book of Abstracts Animal Resources Bioengineering - Multidisciplinary Conference on Sustainable Development*, 25 – 26 mai 2023, Timișoara - România, ISSN 2821-4293, pag. 36 (prezentare tip poster);**

- Gavojdian D., Mincu M., Nicolae I., Constantin T.,** Effects of isolation on high frequency calls parameters in dairy cows – partial results, publicat în *Book of Abstracts International Conference 'Agriculture for Life, Life for Agriculture'* - Section 4 Veterinary Medicine, 8-10 iunie 2023, București – România, ISSN 2457-323X, pag. 80 (prezentare tip poster);
- Mincu M., Gavojdian D., Nicolae I., Grigore D.M., Enculescu M., Vlagioiu C.,** Chute score influence on production and reproduction outputs in dairy cattle, publicat în *Book of Abstracts International Conference 'Agriculture for Life, Life for Agriculture'* - Section 4 Veterinary Medicine, 8-10 iunie 2023, București – România, ISSN 2457-323X, pag. 98 (prezentare tip poster);
- Mincu M., Nicolae I., Gavojdian D.,** Is milking reactivity of water buffalo cows influenced by the production system? publicat în *Book of Abstracts 56<sup>th</sup> Congress of the International Society for Applied Ethology - ISAE 2023*, 1-5 august 2023, Tallinn - Estonia, pag. 175 (prezentare orală);
- Gavojdian D., Mincu M., Nicolae I.,** Evaluation of infrared thermography as a non-invasive method for measuring stress in dairy cows during isolation, publicat în *Book of Abstracts 56<sup>th</sup> Congress of the International Society for Applied Ethology - ISAE 2023*, 1-5 august 2023, Tallinn - Estonia, pag. 190 (prezentare orală);
- Gavojdian D., Mincu M.,** Evaluating Cattle Welfare Throughout the use of Behavioural and Vocal Indicators: A Review, *Animal Resources Bioengineering - Multidisciplinary Conference on Sustainable Development* (pag. 46), 26-27.05.2022, Timișoara (prezentare orală);
- Mincu M., Gavojdian D.,** Cattle Vocal Parameters as Non-Invasive Animal Welfare Indicators: Potential Uses and Current Developments, *Book of Abstracts Anthrozoology Symposium 5<sup>th</sup> Edition – Non-human Animals in Open Societies* (pag. 22), 4-5.11.2022, Iași (prezentare orală).

• Stagii de specializare efectuate [două stagii științifice]:

**Stagiu științific INRAE – Franța, 19-30.06.2022:** Drd. Med. Vet. Mincu M., Cercetător Științific în cadrul Laboratorului Tehnologii de Exploatare al ICDCB Balotești, membră în cadrul proiectului nr. TE 14/2022, a efectuat un stagiu științific în cadrul *National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAE) UMR PEGASE Rennes – Saint Gilles, Franța*, în vederea specializării în domeniul bioacusticii, coordonator stagiu dna Dr. Céline Tallet;

**Stagiu științific Wageningen University and Research – Țările de Jos, 05-09.03.2023:** Drd. Med. Vet. Mincu M., Cercetător Științific în cadrul Laboratorului Tehnologii de Exploatare al ICDCB Balotești, membră în cadrul proiectului nr. TE 14/2022, a efectuat un stagiu științific *'The fundamentals of animal emotions'*, în vederea specializării în domeniul bioacusticii și etologiei animale.

• Premii obținute:

Premiul *Nicolae Teodoreanu* acordat de către Academia de Științe Agricole și Silvicultură (ASAS) pentru lucrarea „*Water Buffalo Responsiveness during Milking: Implications for Production Outputs, Reproduction Fitness, and Animal Welfare*” publicată în jurnalul *Animals*, autori: **Mincu M., Gavojdian D., Nicolae I., Olteanu A.C., Bota A., Vlagioiu C.**;



Premiul UEFISCDI cod **PN-IV-P2-2.3-PRECISI-2023-70608**, acordat pentru lucrarea „*Water Buffalo Responsiveness during Milking: Implications for Production Outputs, Reproduction Fitness, and Animal Welfare*” publicată în jurnalul *Animals*, autori: **Mincu M., Gavojdian D.**, Nicolae I., Olteanu A.C., Bota A., Vlagioiu C.

• **Comunicări științifice realizate în cadrul proiectului (prezentări):**

Prezentare rezultate proiect *BovineTalk* Gavojdian D. în cadrul workshopului „*The Study of Farmed Animals Bioacoustics*”, organizat de către INRAE, Paris- Franța, 28-30.08.2024 (prezentare orală);

Prezentare rezultate proiect *BovineTalk* Gavojdian D. în cadrul conferinței „*1<sup>st</sup> Meeting of the European Network on Livestock Phenomics*”, organizată de către Universitatea din Bologna în cadrul proiectului COST EU-LI-PHE, Bologna - Italia, 28-30.08.2024 (prezentare tip poster);

Prezentare rezultate proiect *BovineTalk* Gavojdian D. în cadrul Sesiunii Anuale de Comunicări Științifice a Institutului de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor Balotești, 08.12.2023 (prezentare orală);

Prezentare rezultate proiect *BovineTalk* Gavojdian D. în cadrul Departamentului de Zootehnie a Universității Washington State, Pullman – S.U.A, 23.02.2023 (prezentare orală, invitată);

Prezentare proiect *BovineTalk* Gavojdian D. în cadrul workshopului organizat de către Școala Doctorală de Medicină Veterinară a USAMV București, 03.06.2022 (prezentare orală, invitată).

**Tabel 9.** Centralizator privind atingerea indicatorilor în cadrul proiectului TE14/2022

Nr.crt.	Indicator proiect	Planificat	Realizat
1	Număr de articole în jurnale indexate Web of Science (Q1 și Q2)	4 (Q1 sau Q2)	4 (Q1) + 1 articol aflat în recenzie
2	Număr de participări la conferințe internaționale	4	9
3	Număr de stagii pentru specializarea resursei umane	2	2
4	Număr de comunicări ale rezultatelor proiectului	2	5
5	Baze de date (vocalizări, accelerometrie și termometrie în infraroșu)	5	5

**IMPACTUL ESTIMAT AL PROIECTULUI:**

*BovineTalk* reprezintă primul proiect de cercetare la nivel național, și printre puținele eforturi existente la nivel internațional, care să vizeze studiul parametrilor de bioacustică la speciile taurine și bubaline. În urma implementării proiectului, au fost obținute următoarele seturi de rezultate (selecție):

- au fost **caracterizați parametri de bioacustică (comunicare vocală) la speciile taurine și bubaline** prin utilizarea unor echipamente hardware (microfoane cu infra- și ultra sunete) și software (Praat DSP și scripturi) specifice. Modelele de învățare automată (*machine learning*) dezvoltate și testate au atins o acuratețe cuprinsă între 87,2 și 89,4% pentru clasificarea tipurilor de vocalizări emise în diferite contexte, precum și o rată de acuratețe de 72,5% pentru identificarea individuală a amprentei vocale la bovine;
- a fost validată **utilizarea termografiei în infraroșu (IRT) ca metodă neinvazivă de evaluare a semnelor de stres social** la taurine, reprezentând primul studiu de acest tip, rezultatele demonstrând că metoda reprezintă un instrument adecvat pentru evaluarea și gradarea stresului la animalele de rentă, fiind validate două 'ferestre termice', și anume *regio orbitalis* (carnunculul lacrimar ocular) și *regio nasalis* (oglanda botului). Aceste rezultate pot permite în viitor evaluarea obiectivă a stărilor afective;
- tehnicile de **monitorizare IRT la taurine, în asociere cu utilizarea proceselor de învățare automată, permit detecția anumitor stări de boală** cu o acuratețe ridicată (>80%), precum și predicția instalării bolii (>70%) cu 2-4 zile înainte de apariția primelor semne clinice. Aceste rezultate pot permite o mai bună monitorizare a sănătății animale, precum și diagnosticarea precoce a unor boli (ex. laminită, mastită, boli metabolice);
- **diagnosticul bolilor pe baza datelor înregistrate de senzori (accelerometre)** la taurine este posibil prin utilizarea proceselor de învățare automată, pe baza analizei schimbărilor tiparelor comportamentale, putând să fie utilizat în special în detecția (acuratețe 79%) și predicția (acuratețe 64%) afecțiunilor podale. Aceste rezultate sunt importante deoarece afecțiunile podale prezintă o prevalență de peste 20%, având efecte negative majore asupra sănătății, productivității și bunăstării animalelor.

**În concluzie**, rezultatele proiectului *BovineTalk* au demonstrat fezabilitatea utilizării parametrilor de bioacustică (comunicare vocală) la taurine și bubaline în vederea evaluării bunăstării și a stărilor afective la cele două specii. Complementar tehnicilor de bioacustică, au fost testate și validate tehnici de termografiere în infraroșu (IRT), accelerometrie (senzori) și de inteligență artificială (*machine learning*), în vederea elaborării unor noi criterii obiective neinvazive pentru evaluarea bunăstării și sănătății bovinelor.

Director proiect BovineTalk,

Dr.ing. **Dinu GAVOJDIAN**