

RAPORT ȘTIINȚIFIC SINTETIC INTERMEDIAR

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**

Finanțare:	Bugetul de stat
Denumirea Programului din PNCDI III:	Programul 1 – Dezvoltarea sistemului național de cercetare-dezvoltare
Denumirea Subprogramului:	Subprogramul 1.1 – Resurse Umane
Tip proiect:	Proiecte de cercetare pentru stimularea tinerelor echipe independente
Titlul proiectului:	Evaluarea nivelului de bunăstare la taurine și bubaline utilizând indicatori fiziologici, etologici și bioacustici
Valoarea totală a contractului	449.704,00 lei
Durata contractului:	24 luni
Autoritatea Contractantă:	Unitatea Executivă pentru Finanțarea Învățământului Superior, a Cercetării, Dezvoltării și Inovării (UEFISCDI)
Contractor:	Institutul de Cercetare – Dezvoltare pentru Creșterea Bovinelor (ICDCB)
Etapa 1:	Cercetări privind utilizarea parametrilor vocali și de termoviziune în vederea evaluării stresului și nivelului de bunăstare la taurine
Perioada de implementare a etapei:	15.05.2022-31.12.2022
Acronim:	BovineTalk
Cod proiect:	PN-III-P1-1.1-TE-2021-0027
Număr contract:	TE 14 / 2022

SCOPUL PROIECTULUI TE 14/2022 este 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 vizează studiul parametrilor vocali la taurine și bubaline, în vederea elaborării unor noi criterii obiective non-invazive pentru evaluarea bunăstării.

Ipoteza de lucru: comunicarea vocală și parametrii acustici codifică individualitatea și starea afectivă a taurinelor și bubalinelor, profilele vocale emise putând să fie utilizate ca indicatori obiectivi în studiul etologiei și bunăstării celor două specii în diverse contexte.

OBIECTIVELE PROIECTULUI *BovineTalk* sunt:

- 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 IMPLEMENTATE ÎN CADRUL ETAPEI 1:

Activitatea 1.1 - Colectarea de emisii sonore la taurine și analiza parametrilor vocali;

Activitatea 1.2 - Utilizarea investigației termografice în evaluarea stării de sănătate a taurinelor și bubalinelor;

Activitatea 1.3 - Validarea indicatorilor bioacustici și de termografie la taurine;

Activitatea 1.4 - Specializarea resursei umane implicate în proiect prin efectuarea unui stagiu științific;

Activitatea 1.5 - Diseminarea rezultatelor parțiale prin elaborarea unui articol științific și participarea la conferințe cu prezentări.

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

REZULTATE PRECONIZATE 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 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).

Dupa captarea și înregistrarea sunetelor, fișierele au fost etichetate în funcție de context și animal, fiind ulterior analizate utilizând software-ul pentru analiză bioacustică Praat®. 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, după cum urmează: call type (cu gura închisă sau de frecvență joasă și cu gura deschisă sau de frecvență înaltă); Mean F0; Max F0; Min F0; Range F0; Q25%; Q50%; Q75%; Fpeak; durata sunetului (s); AM var; AM rate; AM extent; harmonicity; F1 mean; F2 mean; F3 mean; F4 mean; F5 mean; F6 mean; F7 mean; F8 mean; formant dispersal și wiener entropy (conform recomandărilor Torre M.P. și colab., Appl. Anim. Behav. Sci. 163: 58-68, <https://doi.org/10.1016/j.applanim>).



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

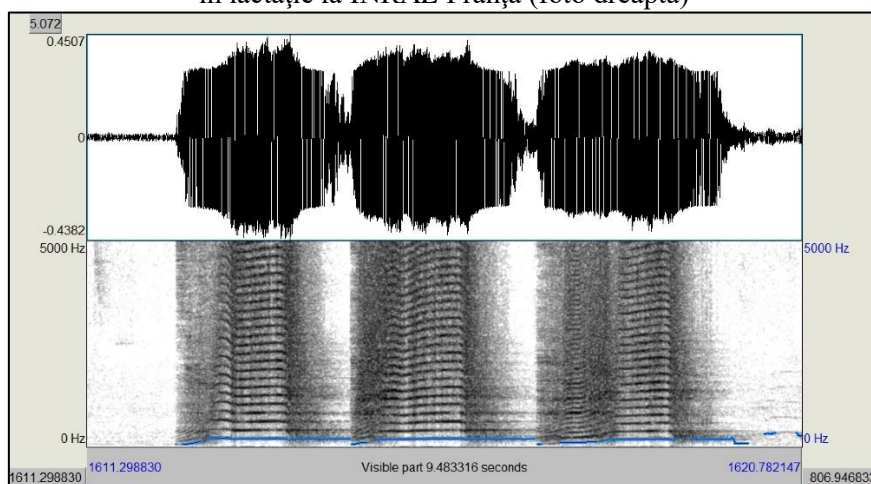


Figura 2. Oscilogramă și spectogramă emisie sonoră emisă de vacă adultă, vocalizare cu gura deschisă în context negativ (izolare)

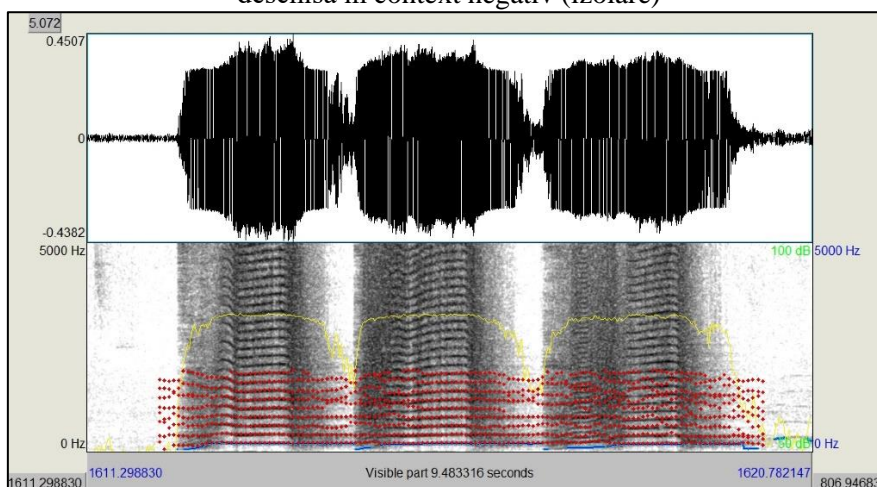


Figura 3. Oscilogramă și spectogramă emisie sonoră emisă de vacă adultă (idem Fig. 2), intensitatea sunetului prezentată în galben iar pulsul de sunet în culoare roșie

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), *rezultate preliminare*

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

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

Tablelul 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), *rezultate preliminare*

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

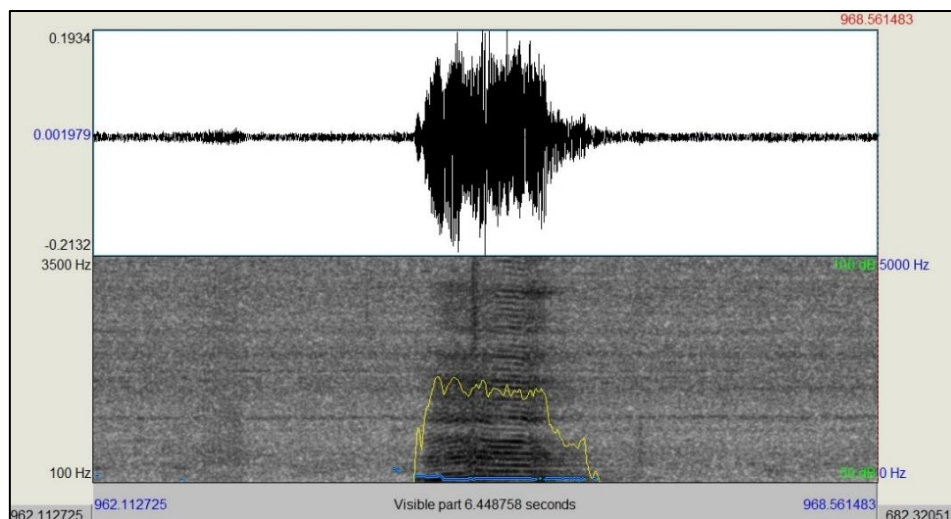


Figura 4. Oscilogramă și spectrogramă emisie sonoră vacă adultă, vocalizare cu frecvență joasă, sunet emis cu gura închisă

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.

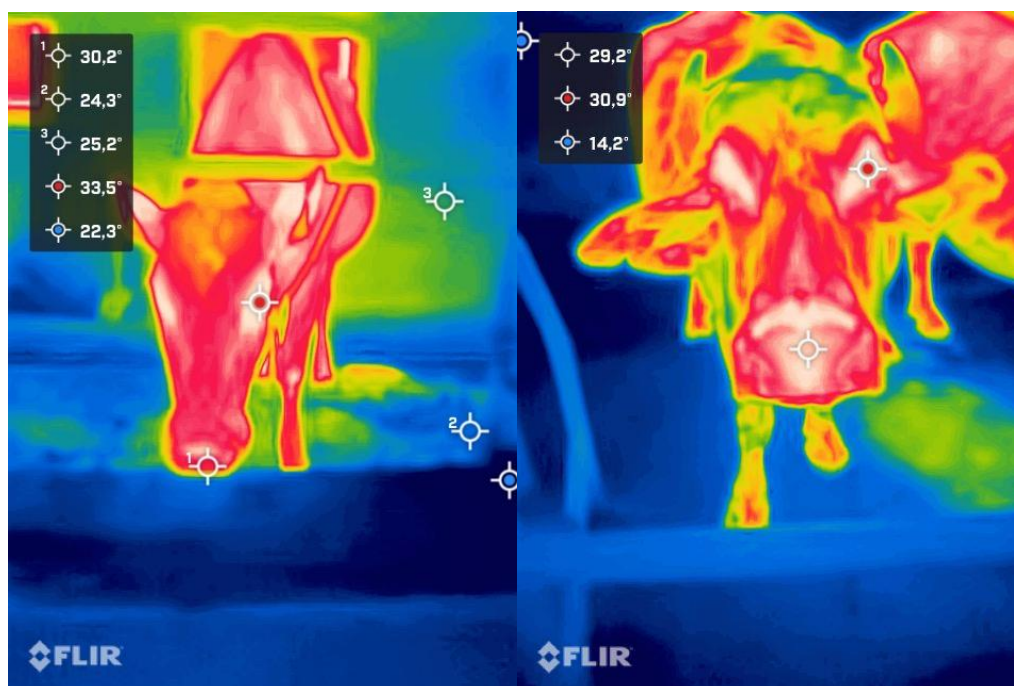


Figura 5. Aspecte privind utilizarea termometriei cu infraroșu (IRT) la taurine (foto stânga) și bubaline (foto dreapta)

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
<i>Diferențe 0 vs. 2 ore</i>		<i>p=0,0055, **</i>				
<i>Diferențe 0 vs. 4 ore</i>		<i>p=0,0698, NS</i>				
<i>Diferențe 2 vs. 4 ore</i>		<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
<i>Diferențe 0 vs. 2 ore</i>		<i>p=0,0482, *</i>				
<i>Diferențe 0 vs. 4 ore</i>		<i>p=0,4902, NS</i>				
<i>Diferențe 2 vs. 4 ore</i>		<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 **stagiul 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 stagiul 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 muls și la anticiparea administrării hranei;

- Analiza sunetelor înregistrate cu software-ul Praat®.

DISEMINAREA REZULTATELOR:

Articol științific:

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; <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’)

Participarea la conferințe:

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 și poster)

Mincu M., Gavojdian D., Cattle Vocal Parameters as Non-Invasive Animal Welfare Indicators: Potential Uses and Current Developments, *Book of Abstracts Anthrozoology Symposium 5th Edition – Non-human Animals in Open Societies* (pag. 22), 4-5.11.2022, Iași (prezentare orală).

Echipa de proiect:

Dr.Ing. **GAVOJDIAN Dinu**, Director de proiect

Dr.Med.Vet. **CONSTANTIN Tiberiu**, Cercetător postdoctoral

Drd.Med.Vet. **MINCU Mădălina**, Cercetător doctorand

Drd.Med.Vet. **IRIMIA Elena**, Cercetător doctorand

Drd.Med.Vet. **ȘIPOȘ Andra**, Cercetător doctorand

ICDCB Balotești

Director proiect BovineTalk,

Dr.Ing. **Dinu GAVOJDIAN**