

Spettroscopia dell'area dorsale e del pelo del coniglio: risultati preliminari

G. Masoero¹, G. Bergoglio¹, S. Giraud², G. Sala¹, P. Barge³, L. Bardi⁴, R. Chicco¹

¹CRA - Istituto Sperimentale per la Zootecnia, Via Pianezza 115 – 10151 Torino; ²ASL 17, Corso Trento 12 – 12037 Saluzzo (CN); ³DISCIZO, Fac. Agraria, Università degli Studi di Torino, Via Leonardo da Vinci 20 - 10095 Grugliasco (TO); ⁴CRA - Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante, Via Pianezza 115 – 10151 Torino

Corresponding Author: Dr. Giorgio Masoero, CRA - Istituto Sperimentale per la Zootecnia, Via Pianezza 115 – 10151 Torino, Italy. Tel. & Fax +39 011731689
Email: giorgio.masoero@isz.it

ABSTRACT: Spectroscopy of rabbit dorsal region and hair: preliminary results. *A first original study carried on in-vitro dorsal hair from 151 healthy or died rabbits showed innovative results by coupling the FT-NIR spectra (1000-2500 nm) of the hair to the condition of supposed healthy status coded by extremes 1 (died) and 2 (live) ($R^2_{validation}=0.67$) as well as about the originality of six involved herds ($R^2_{val}=0.64$). A second study carried on in-vivo with 127 white rabbits, by a portable spectrometer UV-Vis-NIR LabSpec©PRO (ASD) in two herds showed strong relationships between light spectra and the live body weight ($R^2_{val\ global} = 0.83$, SEV 0.34 kg, interval 0.65-4.04 kg). The relationship confirmed in both the herds was surprising strong in the NIR part as well as in the UV-Visible band of the spectrum, with evidences in the red (647 – 747 nm), accounting for 69% (E) and 48% (F) of the body live weight variation, and in the NIR band 2271-2275 nm. It was hypothesised that the relationship with the red in the visible range may contains a kind of “environmental mark” due to the progressive contamination in the cages not remedied by the care of the animals, as well as a possible browning of the white hair according the natural ageing. These ontogenic relationships operate by age factors and they will deserve additional researches oriented to differential body composition and to welfare area.*

Keywords: Rabbit, Spectroscopy UV-Vis-NIR, hair, in-vivo, welfare, ontogeny.

INTRODUZIONE – E' opinione comune che l'aspetto del pelo rappresenti lo stato di salute degli animali. In assenza di misurazioni puntuali tale concetto finora non è stato sfiorato da sufficienti indagini. L'avvento della spettroscopia scientifica portatile e di una imminente spettroscopia miniaturizzata e diffusa potrà consentire nuove, insperate, applicazioni anche nel campo animale. La spettroscopia NIR *in-vitro* è stata correlata alla qualità del pelo o della lana (Coleman *et al.*, 1999) ed alla eumelanina del capello (Zoccola *et al.*, 2004). Il metodo NIR *in-vivo* applicato all'uomo presenta due punti di interesse: il primo, ormai quasi sul mercato (<http://www.nirdiagnostics.com>) è un sistema di dosaggio incruento del glucosio; il secondo, molto meno avanzato del primo, è collegato alla stima della glicazione del collagene della pelle (Brown *et al.*, 2005) ed alla possibilità di diagnosi precoce del diabete di tipo 2.

Abbiamo pertanto impostato prove di valutazione spettroscopica di un campione di pelo (prova 1) e del dorso di conigli vivi (prova 2), motivati sia da obiettivi zootecnici

(per ricercare una ipotetica stima oggettiva dello stato di salute) che per confermare precedenti positive indicazioni (Masoero *et al.*, 1994).

MATERIALI E METODI – Prova 1- Nell'ambito di una ricerca interdisciplinare della Regione Piemonte, sono stati esaminati campioni di pelo prelevati da 93 giovani soggetti viventi e da 38 soggetti morti da poche ore, prodotti in 5 allevamenti cunicoli a ciclo completo (#1-5) e nell'allevamento del CRA - Istituto Sperimentale per la Zootecnia (#6). I campioni di pelo sono stati prelevati con una forbice dalla parte dorsale riposti in sacchetti di polietilene numerati e conservati a temperatura ambiente al buio. L'analisi spettrometrica è stata effettuata con apparecchio FT-NIR della PerkinElmer. Gli spettri consistenti di 3001 punti fra 1000 e 2500 nm sono stati esportati ed elaborati con il programma chemometrico NIRS-2 (ISI), previa elaborazione matematica seguita da calibrazione *Modified Partial Least Squares* con validazione incrociata. Nell'analisi sono stati esaminati singolarmente i seguenti fattori: a) Colore del pelo: albino=1 vs. colorato=2 b) Mortalità: Coniglio vivo=2 vs. Coniglio morto=1; c) Allevamento: valore da 1 a 6; compresi tutti i conigli (N=131) o solo i vivi (N=93). Prova 2 - La disponibilità di una strumentazione mobile UV-Vis-NIR innovativa LabSpec©PRO (ASD, Analytical Spectral Devices, Boulder, CO 80301), con sonda a fibra ottica operante da 350 a 2500 nm ha permesso una successiva applicazione *in-vivo*. Pertanto, sono stati pesati e misurati direttamente sul dorso intorno alla V vertebra 127 conigli in 2 allevamenti, uno con base Californiana (#6, n=68) e uno a base ibrida Hyla (#7: soggetti non colorati n=59). Le elaborazioni chemometriche erano analoghe a quelle sopradescritte, ma in questo caso relative sia allo spettro intero che alle sue frazioni UV-Visibile (350-800 nm) e NIR (801-2500 nm), con accertamento della lunghezza d'onda dominante (nm) identificata con regressione semplice stepwise (r^2_{nm}).

RISULTATI E CONCLUSIONI – Prova 1 - Lo studio sul pelo dei 131 conigli vivi e morti ha evidenziato risultati innovativi. Sono emerse infatti (Tabella 1) significative differenze fra il pelo di conigli vivi o morti in grado di sostenere un elevato coefficiente di determinazione in validazione ($R^2_{val}=0,67$). Consistenti e costanti differenze di spettro NIR sono state notate anche fra gli allevamenti le quali appaiono maggiori in toto (vivi+morti: $R^2_{val}=0,84$) che solo fra vivi ($R^2_{val}=0,64$).

Da notare la differenza albino/colorato ($R^2 = 1$) che, ricordiamo, qui risalta solo da lunghezze d'onda NIR (753/1981) con in funzione di pigmenti presenti nel pelo; lo spettro Raman della melanina ha due intensi picchi a circa 1580 e 1380 nm (Huang *et al.*, 2004). Di maggiore interesse invece la correlazione fra NIR del pelo e condizione vivo/morto che parrebbe spiegata particolarmente dalla banda intorno a 2105 nm (combinazioni dei gruppi chimici N-H e C-H) anche se ripetute esperienze negative ci hanno portato a diffidare della reale ripetibilità, fra esperimenti replicati, di lunghezze d'onda NIR prevalenti.

Egawa *et al.* (2003) hanno correlato positivamente nell'uomo lo stato di idratazione dell'unghia, dosata con NMR, rispetto a un NIR portatile. Tali indicazioni potrebbero essere utili per verificare se sia plausibile una ipotesi di correlazione fra NIR - via stato del pelo - con l'integrità del piede, per prevederne una sua applicazione selettiva a contrasto delle malattie podaliche e della decadenza di *fitness* nei riproduttori. Le differenze riscontrate fra allevamenti sono indubbiamente da collegare a fattori etnici, ma altri fattori (alimentari, igienici, età, stagione ecc.) non possono essere esclusi.

Prova 2 - Lo studio *in-vivo* ha evidenziato una stretta correlazione fra lo spettro UV-Vis-NIR ed il peso vivo ($R^2_{\text{val}} \text{ globale} = 0.83$, $SE_{\text{val}} 0.34 \text{ kg}$, intervallo 0.65-4.04 kg). La relazione riscontrata nei due allevamenti è porsa sorprendentemente forte sia nella parte visibile dello spettro che nella parte NIR, con evidenza del rosso (647-747 nm), responsabile per un 69% (allevamento #1) ed un 48% (allevamento #2) della variazione di peso vivo, e nella banda NIR 2271-2275 nm. Oltre ad una possibile deriva del colore bianco nel tempo (imbrunimento) è ipotizzabile che la correlazione del peso vivo con la parte visibile racchiuda anche un'“impronta ambientale” riconducibile a polverosità accumulata progressivamente sul dorso e non rimediabile con le operazioni di toelettatura. Lo stesso ragionamento può valere anche per lo spettro NIR (imbrunimento, polvere); nella capra d'Angora (Coleman *et al.*, 1999) hanno dimostrato che lo sviluppo allometrico del Mohair è fattore ontogenetico sensibile alla spettroscopia NIR.

In conclusione, le relazioni ontogenetiche emerse in questi studi meritano di essere approfondite attraverso ulteriori studi sia per la composizione corporea sia per possibili collegamenti alla valutazione dello stato di salute e del benessere.

Tabella 1: Calibrazione e validazione di mortalità, colore e allevamento sugli spettri FT-NIR del pelo, con indicazione della regressione sulla migliore lunghezza d'onda.

Fattore	N	$R^2_{\text{calibrazione}}$	$R^2_{\text{validazione}}$	r^2_{nm1}	nm1
Bianco vs. Colorato	124	1,00	0,98	0,61	1389
Morto vs. Vivo	127	0,93	0,67	0,43	1862
Allevamento (#1 - #6)	131	0,96	0,84	0,54	1337
Allevamento (solo vivi)	88	0,87	0,64	0,35	1676

Tabella 2: Calibrazione e validazione del peso vivo sugli spettri UV-Vis-NIR *in-vivo*, con indicazione della regressione sulla migliore lunghezza d'onda

Allevamento	Spettro	N	Media	DS	R^2_{cal}	R^2_{val}	SECV	R^2_{nm1}	nm1	Colore
#6	Tot	53	1,50	0,65	0,99	0,92	0,19			
	UV-Vis	51	1,50	0,66	0,96	0,83	0,27	0,69	647	Rosso
	NIR	54	1,48	0,65	0,99	0,91	0,20	0,68	2275	
#7	Tot	65	2,42	0,71	0,97	0,83	0,29			
	UV-Vis	62	2,40	0,71	0,92	0,81	0,31	0,48	747	Rosso
	NIR	66	2,44	0,73	0,96	0,78	0,34	0,59	2271	
#6 + #7	Tot	116	2,03	0,82	0,93	0,83	0,34			
	UV-Vis	117	2,03	0,83	0,89	0,81	0,36	0,57	535	Verde
	NIR	115	2,02	0,82	0,92	0,78	0,38	0,43	1283	
#6 vs. #7	UV-Vis	127						0,63	627	Rosso
	NIR	124						0,58	1567	

N= numero depurato dagli *outliers* ($t > 2,3$, $H > 10$), 2 passaggi; DS= Deviazione Standard totale; $R^2_{\text{cal}} = R^2$ di calibrazione; $R^2_{\text{val}} = R^2$ di validazione; SECV=Errore standard in validazione incrociata; nm1= lunghezza d'onda prevalente nella *stepwise regression* (SW); $r^2_{\text{nm1}} = r^2$ di pseudo-validazione della SW.

BIBLIOGRAFIA – **Brown C.D.**, Davis HT, Ediger MN, Fleming CM, Hull EL, Rohrscheib M., 2005. Clinical assessment of near-infrared spectroscopy for noninvasive diabetes screening. *Diabetes Technol Ther.* 7:456-66. **Coleman S.W.**, Lupton CJ, Pfeiffer FA, Minikhiem DL, Hart SP. (1999). Prediction of clean mohair, fiber diameter, vegetable matter, and medullated fiber with near-infrared spectroscopy. *J Anim Sci.* 77:2594-602. **Egawa M.**, Fukuhara T, Takahashi M, Ozaki Y. 2003. Determining water content in human nails with a portable near-infrared spectrometer. *Appl Spectrosc.* 57:473-8. **Huang Z.**, Lui H, Chen XK, Alajlan A, McLean DI, Zeng H. 2004. Raman spectroscopy of in vivo cutaneous melanin. *J Biomed Opt.* 9:1198-205. **Masoero G.**, Bergoglio G., Parigi-Bini R., Xiccato G., Dalle Zotte A., Brugiapaglia A., Plà M., Hernandez P., Castellini C., 1994. Il coniglio ai raggi NIR. *Conigliicoltura*, 32 (4): 21-25. **Zoccola M.**, Mossotti R, Innocenti R, Loria DI, Rosso S, Zanetti R. (2004). Near infrared spectroscopy as a tool for the determination of eumelanin in human hair. *Pigment Cell Res.* 17: 379-385.