

SEBASTIAN PILICHOWSKI<sup>1</sup>, ZBIGNIEW ZAWADA<sup>2</sup>, RENATA  
GROCHOWALSKA<sup>2</sup>, KRZYSZTOF MARYCZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ogród Botaniczny, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Zielonogórski,  
Botaniczna 50a, 65-392 Zielona Góra, Poland  
s.pilichowski@wnb.uz.zgora.pl

<sup>2</sup> Muzeum Przyrodnicze, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Zielonogórski,  
Prof. Z. Szafrana 1, 65-516 Zielona Góra, Poland  
z.zawada@wnb.uz.zgora.pl  
r.grochowalska@wnb.uz.zgora.pl

<sup>3</sup> Pracownia Mikroskopii Elektronowej, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,  
Kozuchowska 5B, 50-631 Wrocław, Poland  
krzysztof.marycz@up.wroc.pl

WSTĘPNE BADANIA PIERWIASTKOWE ROGU NOSOROŻCA BIAŁEGO  
(*CERATOTHERIUM SIMUM* BURCHELL, 1817)

PRELIMINARY STUDIES ON THE ELEMENTS OF WHITE RHINOCEROS  
HORN (*CERATOTHERIUM SIMUM* BURCHELL, 1817)

**KEYWORDS:** rhinoceros, horn, *Ceratotherium*, *simum*, silicon, aluminum

---

**ABSTRACT**

The white rhinoceros (*Ceratotherium simum* Burchell, 1817) is one of the five extant rhino species. Along with the black rhino (*Diceros bicornis* Linnaeus, 1758) it inhabits Africa. *C. simum* is the only one species which is not classified within IUCN Threatened categories. Well known reason of declining populations number are spectacular horns, which are believed to be a remedium for many diseases and dysfunctions. Since the rhino horns are material of special concern, there are many unsolved problems on the structure and development of them. Here we present our preliminary studies concerning the basic chemistry of white rhinoceros horn. Our aim was to compare the mineralogical content of these two hard structures. We mapped the distribution of elements in the scanning electron microphotograph of horn-cortex sample and arm bone sample. We identified nine elements in the cortex-sample and seven in the bone-sample. Six elements were common. Two elements in horn-sample interested us mostly, those were aluminum and silicon.

---

## WSTĘP

Organizm do prawidłowego wzrostu, rozwoju i funkcjonowania potrzebuje całej palety pierwiastków, nie tylko tych odpowiedzialnych za budowę cząsteczek organicznych (Szefer i Nriagu 2007). Jak zauważają da Silva i Williams (2001) "Powinniśmy zbadać, jak biologiczne układy pobierają i w zróżnicowany sposób rozmieszczają pierwiastki, których potrzebują do różnych funkcji".

O roli pierwiastków w organizmie pisało i nadal pisze wielu autorów. Umownie dzielimy je m. in. na makroelementy i mikroelementy (Szefer i Nriagu 2007). Część z nich wchodzi w skład grup prostetycznych enzymów, np. żelazo w hemie (żelazoporfiryna) (Stryer 2003, Schmidt-Nielsen 2008), stanowi podstawę funkcjonowania układów pobudliwości (np. sód i potas w pompie sodowo-potasowej) (Janiszewski i in. 1993, Stryer 2003, Schmidt-Nielsen 2008) czy procesu krzepnięcia (jony wapnia) (Schmidt-Nielsen 2008). W przypadku wielu pierwiastków wysuwamy przypuszczenia co do ich funkcji w organizmie, dotyczy to np. krzemu, który być może wspomaga transport wapnia i magnezu do komórki (Brasser i in. 2008). Jeśli tak, to niewykluczone, że jest to bardzo ważny mechanizm prowadzący do mineralizacji, np. kości. Z drugiej strony znajdujemy pierwiastki nieprzydatne (lub o niepoznanej roli) oraz uznane za szkodliwe. Dobrym przykładem jest glin prowadzący do zaburzeń i uszkodzeń neurologicznych (Ochmański i Barabasz 2000, Shaw i Petrik 2009), ponadto może być związany z procesami starzenia (Joshi i in. 2013, Kijak i in. 2013), a zarazem odpowiedzialny za chemicznie wywołane ziarniniaki (Valtulini i in. 2005).

Zagadnienie alokacji pierwiastków ma istotne znaczenie dla zrozumienia fizjologicznych mechanizmów związanych ze zdrowiem i stanami patologicznymi, jak również z mechanizmami depozycji pierwiastków w wybranych strukturach organizmu. Alokacja w obrębie twardych struktur służących jako rusztowanie ciała (szkielet) oraz o zróżnicowanym przeznaczeniu (wytwory naskórka) jest fundamentalna wobec pełnionych funkcji. Do tych ostatnich zaliczają się również rogi nosorożców, na temat których poziom wiedzy jest niedostateczny, zwłaszcza gdy chodzi o strukturę i skład mineralogiczny. Ponadto wartym uwagi zagadnieniem jest alokacja u różnych osobników, w zależności od wieku, środowisku bytowania i diecie.

Współcześnie nosorożce reprezentowane są przez pięć gatunków, dwa afrykańskie: nosorożec biały (*Ceratotherium simum*) z dwoma podgatunkami, czarny (*Diceros bicornis*) z trzema żyjącymi podgatunkami, oraz trzy azjatyckie: indyjski (*Rhinoceros unicornis*), jawański (*Rhinoceros sondaicus*) z dwoma żyjącymi podgatunkami i sumatrzeński

(*Dicerorhinus sumatrensis*). Spośród nich jedynie nosorożec biały nie znajduje się obecnie w obrębie kategorii zagrożonych (kategoria Near Threatened), natomiast pozostałym przypisano kategorie Vulnerable (nosorożec indyjski) i Critically Endangered (czarny, jawajski i sumatrzański) (IUCN 2014). Jednakże kategoria NT jest tylko pozorna, gdyż na nosorożca białego nadal czyhają niebezpieczeństwa głównie ze strony człowieka- kłusownictwo i nielegalne pozyskiwanie rogów, przede wszystkim dla celów medycyny ludowej w Azji, podobnie dla pozostałych gatunków (Emslie i Brooks 1999, Milledge 2002, Emslie 2012, Ammann 2013).

Róg, powód zagrożenia tych zwierząt, jest martwym wytworem naskórka. Dziś wiadomo, że składa się z nawarstwiających się komórek tworzących równoległe do siebie rurki (ang. *tubule*) (Ryder 1962, Hieronymus i in. 2006), nie zaś z włosów (de Beer 1928). Nosorożce indyjski i jawajski posiadają jeden róg, zaś trzy pozostałe gatunki po dwa- nosowy i czołowy. Są to niezwykle twory, które w wyniku różnych aktów behawioralnych, działania promieniowania UV (zawartego w promieniowaniu słonecznym) oraz innych czynników, przybierają charakterystyczny kształt (autorzy cytowani za Hieronymus i in. 2006). Podobnie do pozostałych wytworów rogowych, duży udział w budowie rogu nosorożców ma keratyna- białko. Aby zabezpieczyć przed jej degradacją, tkanka rogu wzbogacona jest w melaninę, która podobnie jak w skórze, chroni przed szkodliwym wpływem promieniowania UV (Hieronymus i in. 2006). Obok melaniny zaznacza się duży udział jonów wapnia, zdeponowanych prawdopodobnie jako hydroksyapatyt lub 5-hydrat diwodorosześćoortofosforanu (V) ośmiowapnia (OCP) (Hieronymus i in. 2006), z czego drugi związek został stwierdzony w rogach suhaków, współwystępując z keratyną (Hashiguchi i in. 2001). Ciekawe, że oba wymienione odgrywają istotną rolę w mineralizacji kości (Sobczak-Kupiec i Wzorek 2010, Suzuki 2010). Prawdopodobnie melanina i związki wapnia wspólnie wpływają na kształt rogu (Hieronymus i in. 2006). W obliczu ogromu wiedzy, jaką można uzyskać, istotne stają się badania na pograniczu biologii, chemii, fizyki i mechaniki w odniesieniu do zwierząt z natury, jak i niewoli i porównań między nimi.

Niniejsza praca przedstawia wstępne wyniki dotyczące omawianych zagadnień. A jej celem jest analiza pierwiastkowa rogu nosowego nosorożca białego, w porównaniu do kości, i znalezieniu ewentualnych różnic w alokacji pierwiastków.

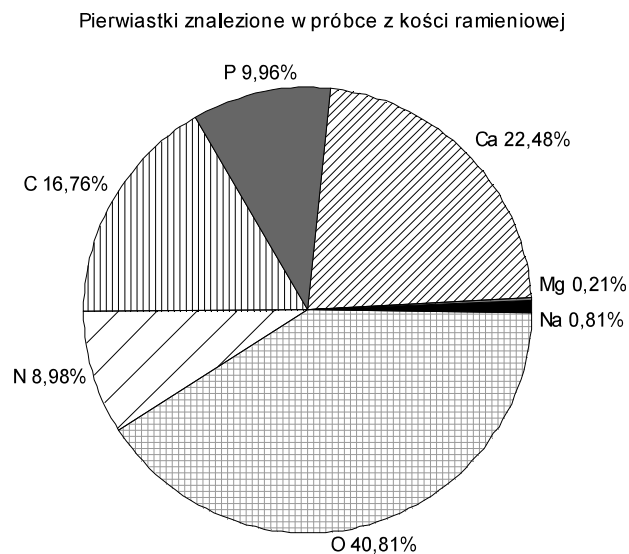
## MATERIAŁ I METODY

Materiał pochodził od urodzonego w naturze samca nosorożca białego *Ceratotherium simum* o imieniu Boś. Wiek badanego zwierzęcia wynosi 40-41 lat, gdyż do Chorzowskiego Ogrodu Zoologicznego trafił jako roczny cielak w 1971 roku (księgi hodowlane). Padł w 2011 roku ze starości.

Do badań wstępnych pobrano próbkę z kory rogu i z kości ramieniowej. Następnie próbki napyłono złotem, wykonano zdjęcia mikroskopem skaningowym LEO ZISE 435 VP, sprzężonym z Rontec GmbH, służącym do mikroanaliz w oparciu o promieniowanie rentgenowskie. Tak wykonano mapping - mapy rozmieszczenia zidentyfikowanych pierwiastków w obrębie zdjęć próbek. W wyniku mappingu uzyskano zdjęcia indywidualnych rozmieszczeń danych pierwiastków w badanej próbce, widzianych jako kolorowe piksele, jak również mapę zbiorczą, gdzie właściwymi kolorami zostały wspólnie zaznaczone wykazane pierwiastki.

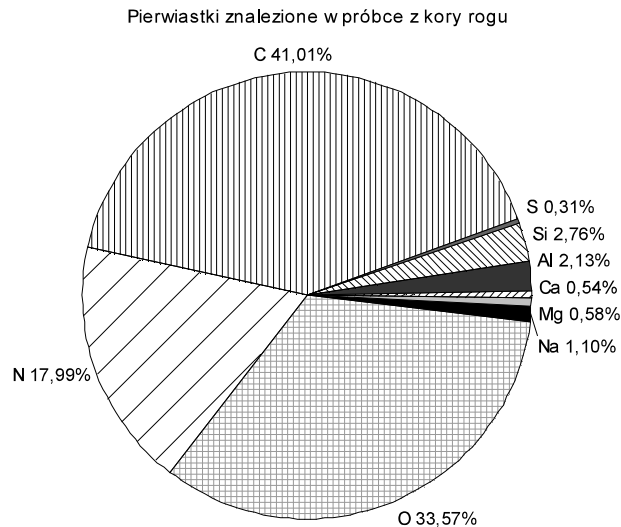
## WYNIKI

Analizy rentgenowskie w wyniku mappingu zobrazowały rozmieszczenie dziewięciu pierwiastków w korze rogu oraz siedmiu pierwiastków w kości. Procentowe udziały



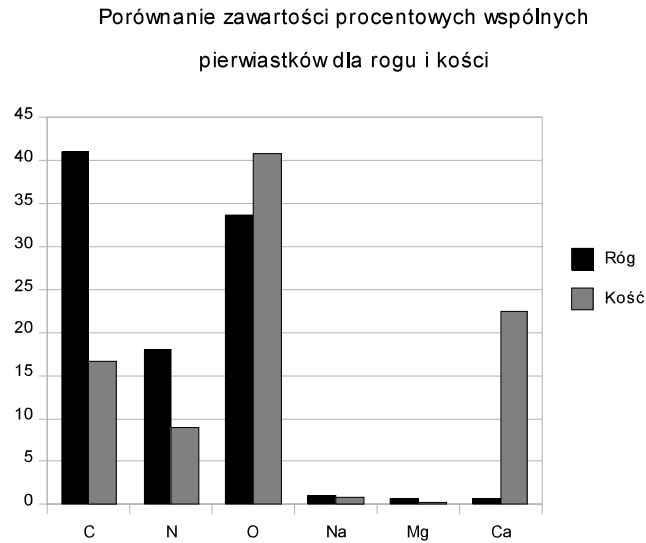
Rys. 1. Udział procentowy wykrytych pierwiastków w próbce z kości ramieniowej. Wśród nich fosfor, mający relatywnie duży udział (ok. 10%), nie został zidentyfikowany w rogu. Nie jest to dziwne z uwagi na tworzenie soli fosforanowych odpowiedzialnych za mineralizację kości

wykrytych pierwiastków zilustrowane są na osobnych wykresach dla kości (Rys. 1) i dla rogu (Rys. 2). Ogólne mapy dystrybucji pierwiastków przedstawione są jako rys. 4 i rys. 5, odpowiednio dla kości i rogu.

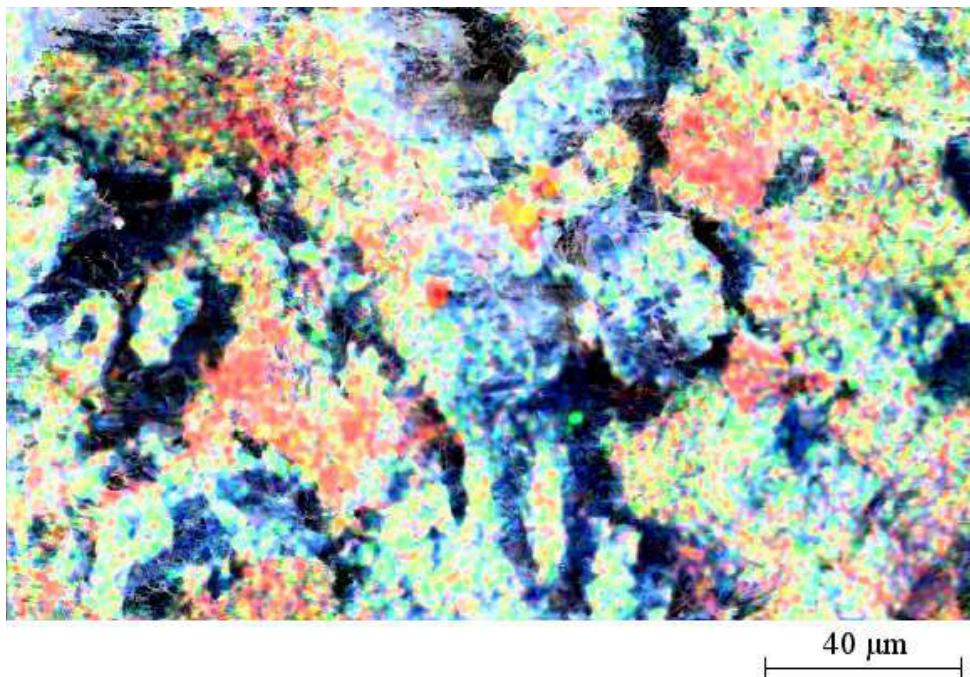


Rys. 2. Udział procentowy wykrytych pierwiastków w korze rogu. Wśród nich trzy nie zostały wykryte w kości: Al, Si oraz S. Udział siarki tłumaczymy obecnością w aminokwasach budujących białka (keratyny). Z kolei glin i krzem zwracają szczególną uwagę. Glin wykazuje szereg negatywnych i szkodliwych oddziaływań na organizm zwierzęcy. Natomiast krzem może przysługiwać się pozytywnie lub negatywnie alokacji wybranych pierwiastków

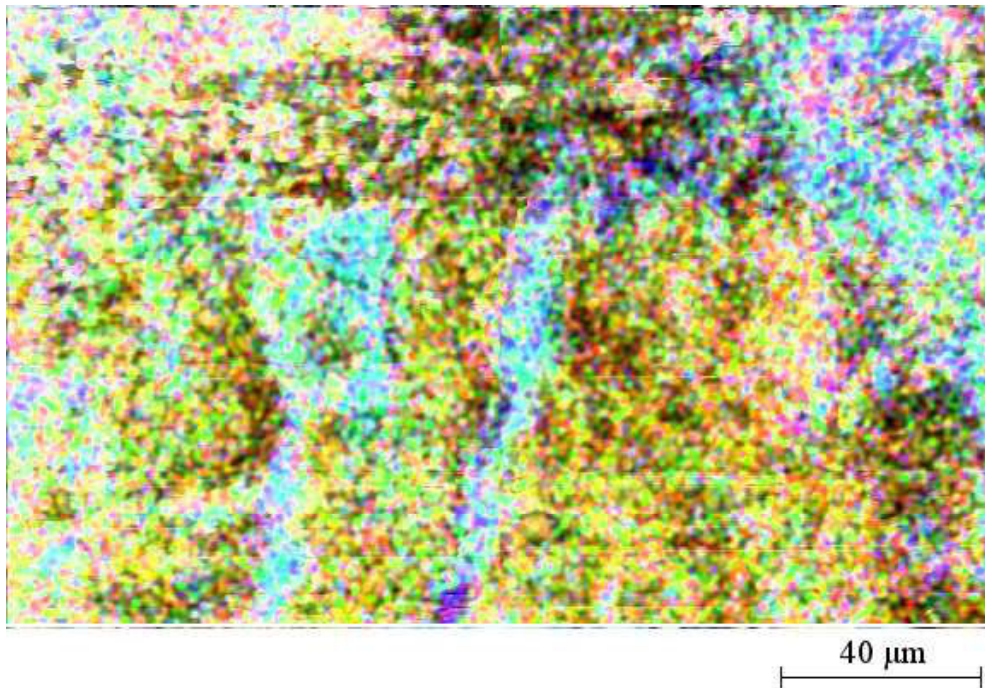
Sześć pierwiastków okazało się być wspólnymi dla kości i rogu (C, O, N, Na, Mg, Ca). W kości ponadto wykryliśmy fosfor (P), zaś w rogu: glin (Al), krzem (Si) i siarkę (S). Porównanie zawartości procentowych wspólnych pierwiastków zawiera rys. 3, obrazująca zróżnicowanie pomiędzy obiema strukturami. Obecność fosforu (9,96%) związana jest z solami fosforanowymi wchodzącymi w skład kości, szczególnie zmineralizowanej, podobnie jak wyższe wartości wapnia w kości względem rogu (22,48% kontra 0,54%). Z kolei wyższy udział procentowy węgla i azotu (odpowiednio 41,01% i 17,99%) w rogu w stosunku do kości (odpowiednio 16,76% i 8,98%) oraz wykazanie siarki (0,31%) wiąże się z występowaniem budulca, jakim jest białko keratyna. W próbce z rogu znaleziono nieco wyższy udział magnezu (0,58% i 0,21% dla kości) oraz sodu (1,10% i 0,81%). Z kolei intrygująca jest obecność takich pierwiastków jak glin i krzem (2,13% i 2,76% odpowiednio), co staramy się wyjaśnić w dalszej części pracy.



Rys. 3. Porównanie zawartości procentowych pierwiastków, wykrytych w obu badanych próbkach. Zdecydowanie wyższa zawartość węgla i azotu w rogu związana jest z keratyną, białkiem budulcowym. Natomiast wysoki poziom wapnia w kości świadczy o mineralizacji



Rys. 4. Graficzne przedstawienie mappingu pierwiastków w próbce z kości ramieniowej. Poszczególne kolory odnoszą się do zidentyfikowanych pierwiastków: sód (czerwony), magnez (zielony), wapń (niebieski), fosfor (błękitny), węgiel (różowy), tlen (żółty), azot (pomarańczowy). Zdjęcie w kolorze dostępne w wersji online. Wykonał K. Marycz



Rys. 5. Graficzne przedstawienie mappingu pierwiastków w próbce z kory rogu. Poszczególne kolory odnoszą się do zidentyfikowanych pierwiastków: sód (czerwony), magnez (zielony), wapń (niebieski), glin (błękitny), krzem (różowy), węgiel (żółty), azot (pomarańczowy), tlen (turkusowy), siarka (fioletowy). Zdjęcie w kolorze dostępne w wersji online. Wykonał K. Marycz

## DYSKUSJA

Z uwagi na podstawowy charakter chemiczny kości i rogu, spodziewaliśmy się zdecydowanie większych zawartości wapnia i ewentualnie magnezu w kości, natomiast węgla, azotu i siarki w rogu. Wynika to z mineralizacji tej pierwszej, czyli postępującej depozycji substancji nieorganicznych (Follet i in. 2003) oraz z występowania białka, jakim jest keratyna, w rogu (Ryder 1962, Hieronymus i in. 2006). Stąd nie dziwi niewielki, ale zaznaczony, udział siarki, która wchodzi w skład wybranych aminokwasów (Stryer 2003). Z kolei sód i magnez (niska zawartość w próbce) mogą być przypadkowo deponowane wraz ze wzrostem rogu lub odgrywać rolę w tworzeniu soli strukturalnych obok związków wapnia.

Najbardziej intrygująco jednak przedstawia się obecność krzemu i glinu w korze rogu. O ile glin charakteryzuje się znaczną szkodliwością dla prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych (Ochmański i Barabasz 2000, Valtulini i in. 2005, Shaw i Petrik 2009, Joshi i in. 2013, Kijak i in. 2013), to krzem zdaje się być stale odkrywanym "dobrym" pierwiastkiem (Węglarzy i Bereza 2007, Brasser i in. 2008). Co ciekawe, Bellés i in. (1998)



potwierdzili, że krzem hamuje akumulację glinu u szczurów. Stąd, czy krzem przeciwdziałał nadmiernej akumulacji glinu w rogu? Jeżeli tak, to jesteśmy skłonni opisać taki fenomen jako niepożądany, gdyż akumulowanie glinu w rogu - pobranego z pożywieniem, wodą i wdychanym pyłem- mogłoby stanowić swoisty mechanizm detoksykacji. Pestova i in. (1990) wykazali, że małe dawki glinu w wodzie pitnej są toksyczne dla układu nerwowego, ponadto wykazują działanie mutagenne. Z tego powodu, opisana zaleta związków krzemu stałaby się w takich sytuacjach sporą wadą. Musimy pamiętać jednak, że próbka została pobrana z kory, zatem strefy będącej w kontakcie ze środowiskiem zewnętrznym. Stąd niewykluczone, iż samiec, ocierając rogami o kraty wybiegu czy podłoże, dostarczył doń glinu. Gdyby udało się wykluczyć kontaminację, to należałoby zwrócić uwagę na składniki diety oraz stan środowiska na Śląsku w ciągu 40 lat życia nosorożca (1970-2011). Środowisko to, a dokładniej gleby, charakteryzuje wysoki stopień obciążenia metalami, co ma znaczenie dla rolnictwa, jakości wód oraz alokacji przez organizmy żywe (Stankiewicz 1992, 1993, Adrianek i Skowronek 2005).

Nasze wyniki dowodzą potrzeby intensywnych badań i poszukiwania korelacji z licznymi czynnikami związanymi z zagadnieniem alokacji pierwiastków w organizmie. Związane jest to nie tylko z ekologią żywieniową i znaczeniem wybranych pierwiastków dla fizjologii, ale również z nie odkrytymi mechanizmami sterującymi rozmieszczeniem ich w ciele. Według naszej wiedzy nikt nie realizował szczegółowych badań pierwiastkowych rogu i nie znamy prac wskazujących na odkładanie glinu w strukturze rogu nosorożców.

## **WNIOSKI**

1. Stwierdzenie obecności glinu sugeruje możliwość, że róg nosorożca stanowi miejsce depozycji szkodliwych pierwiastków, takich jak glin. Przytoczone dane dowodzą potrzeby rozszerzenia badań w tym kierunku.
2. Wobec opisanych dotychczas biologicznych właściwości związków krzemu, pierwiastek ten może uniemożliwiać deponowanie glinu w rogu.

## **PODZIĘKOWANIA**

Kierujemy podziękowania do dyrekcji Chorzowskiego Ogrodu Zoologicznego, w którym wychowywał się Boś.



## Bibliografia

Adrianek, Z., Skowronek, K. 2005. Gleby. Stan gleb w województwie śląskim w oparciu o wyniki badań przeprowadzonych przez Okręgową Stację Chemiczno-Rolniczą w Gliwicach. Raport o stanie środowiska województwa śląskiego: 123-131.

Ammann, K. 2013. Illegal trade: the rhino and the bling. National Geographic, artykuł online. <http://newswatch.nationalgeographic.com/2013/12/12/illegal-trade-the-rhino-and-the-bling/> (dostęp 16.01.2014).

Bellés, M., Sánchez, D. J., Gómez, M., Corbella, J., Domingo, J. L. 1998. Silicon reduces aluminum accumulation in rats: relevance to the aluminum hypothesis of Alzheimer disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 12(2): 83-87.

Bertram, J. E. A., Gosline, J. M. 1986. Fracture toughness design in horse hoof keratin. *Journal of experimental Biology*, 125: 29-47.

Brasser, H. J., Krijger, G. C., Wolterbeek, H. T. 2008. On the beneficial role of silicon to organisms: a case study on the importance of silicon chemistry to metal accumulation in yeast. *Biol. Trace Elem.*, 125(1): 81-95.

Da Silva, J. J. R. F., Williams, R. J. P. 2001. The biological chemistry of the elements. The inorganic chemistry of life. Second edition. Oxford University Press.

De Beer, G. R. 1928. *Vertebrate Zoology. An introduction to the comparative anatomy, embryology, and evolution of chordate animals.* The Macmillan Company. New York.

Emslie, R., Brooks, M. 1999. African Rhino. Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC African Rhino Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.

Emslie, R. 2012. *Ceratotherium simum*. W: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Dostęp: 17 December 2013.

Follet, H., Boivin, G., Rumelhart, C., Meunier, P. J. 2003. The degree of mineralization is a determinant of bone strength: a study on human calcanei. *Bone*, 34: 783-789.

Hashiguchi, K., Hashimoto, K., Akao, M. 2001. Morphological character of crystalline components present in saiga horn. *Okajimas Folia Anat Jpn*, 78: 43-48.

Hieronimus, T. L., Witmer, L. M., Ridgely, R. C. 2006. Structure of white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) horn investigated by X-ray computed tomography and histology with implications for growth and external form. *Journal of Morphology*, 267 (10): 1172-1176.

IUCN. 2014. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. Dostępne pod adresem: <http://www.iucnredlist.org/> (dostęp 16.01.2014).

Janiszewski, L., Barbacka-Surowiak, G., Surowiak, J. 1993. *Neurofizjologia porównawcza.* PWN. Warszawa.

Joshi, D. K., Choudhary, M., Tripathi, S., Negi, M. P. S., Mahdi, A. A. 2013. Age dependent relative risk of aluminum toxicity: levels of metals and enzymic and non enzymic antioxidants status in liver, kidney and brain of aluminum treated young and old rats. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research*, 4(3): 176-185.

Kijak, E., Rosato, E., Knapczyk, K., Pyza, E. 2013. *Drosophila melanogaster* as a model system of aluminum toxicity and aging. *Insect Science*, doi: 10.1111/1744-7917.12017.

Milledge, S. 2002. Rhino horn stockpile management. Improving security and management of rhino horn stocks in SADC rhino range states Semester 5 task 3.1-1.1: Technical Paper 1. SADC Regional Programme for Rhino Conservation. The Programme is funded by the Italian Ministry of Foreign Affairs, Directorate General for Development Cooperation (Project AID 5064).

Ochmański, W., Barabasz, W. 2000. Aluminum- occurrence and toxicity for organisms. *Przegląd Lekarski*, 57(11): 665-668.

Pestova, L. V., Nadeenko, V. G., Kungurova, S. I. 1990. O toksichnosti aliuminiia pri postuplenii v organizm s pit'evoi vodoi (tekst w języku rosyjskim). *Gigiena i Sanitariia*, 9: 23-5.

Ryder, M. L. 1962. Structure of rhinoceros horn. *Nature*, 193: 1199–1201.

Schmidt-Nielsen, K. 2008. *Fizjologia zwierząt. Adaptacja do środowiska*. PWN. Warszawa.

Shaw, Ch. A., Petrik, M. S. 2009. Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 103(11): 1555-1562.

Sobczak-Kupiec, A., Wzorek, Z. 2010. Właściwości fizykochemiczne ortofosforanów wapnia istotnych dla medycyny – TCP i HAp. *Czasopismo Techniczne*, 107(1-Ch): 309-322.

Stankiewicz, D. 1992. Wpływ metali ciężkich na jakość roślin uprawianych w rejonach uprzemysłowionych (na przykładzie województwa katowickiego). *Kancelaria Sejmu. Biuro Studiów i Ekspertyz. Informacje*, 22: 1-5.

Stankiewicz, D. 1993. Problemy rekultywacji gleb zdegradowanych. *Kancelaria Sejmu. Biuro Studiów i Ekspertyz. Informacje*, 110: 1-6.

Stryer, L. 2003. *Biochemia*. PWN. Warszawa.

Szefer, P., Nriagu, J. O. (ed.). 2007. *Mineral components in food*. Taylor and Francis Group - CRC Press.

Suzuki, O. 2010. Biological role of Synthetic Octacalcium Phosphate in bone formation and mineralization. *Journal of Oral Biosciences*, 52(1): 6-14.

Valtulini, S., Macchi, C., Ballanti P., Cherel, Y., Laval, A., Theaker, J. M., Bak, M., Ferretti, E., Morvan, H. 2005. Aluminium hydroxide-induced granulomas in pigs. *Vaccine*, 23: 3999-4004.

Węglarzy, K., Bereza, M. 2007. Biologiczne znaczenie krzemu oraz jego interakcje z innymi pierwiastkami. *Wiadomości Zootechniczne*, 45(4): 67-70.

