

WPLYW ROKU ZBIORU NASION SOI (*GLYCINE MAX* L. MERRILL) NA AKUMULACJĘ ŻELAZA Z ROZTWORÓW FeSO_4 *

MAGDALENA ZIELIŃSKA-DAWIDZIAK¹, JERZY NAWRACAŁA², DOROTA PIASECKA-KWIATKOWSKA¹,
EWELINA KRÓL³, HALINA STANIEK³, ZBIGNIEW KREJPCIO³

¹Katedra Biochemii i Analizy Żywności, ²Katedra Genetyki i Hodowli Roślin,
³Katedra Higieny Żywności Człowieka, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

mzd@up.poznan.pl

Synopsis. Prezentowane doświadczenia prowadzono na dwóch polskich odmianach nasion soi – Nawiko i Augustie. Nasiona uzyskano z trzech kolejnych lat zbiorów (2009–2011). Celem badań była analiza wpływu warunków pogodowych, tj. temperatury i opadów, na zawartość białka w nasionach oraz wynikającą z tego odporność nasion na stres abiotyczny i ich zdolność do akumulacji jonów żelaza z medium hodowlanego. Soja była uprawiana na tym samym polu z zastosowaniem co roku tego samego nawożenia. W zebranych nasionach oznaczono zawartość białka ogólnego i ekstrahowalnego. Następnie nasiona poddano 7-dniowemu procesowi kiełkowania w roztworach 20 i 25 mM FeSO_4 . Po wysuszeniu analizowano całkowitą zawartość żelaza. Stwierdzono, że zdolność do akumulacji żelaza przez kiełkującą soję zależy od roku zbioru, odmiany i jest skorelowana z zawartością białka ekstrahowalnego. Maksymalna ilość żelaza związana była przez kiełkujące nasiona soi odmiany Augusta, zebrane w roku z największymi opadami w lipcu i sierpniu. Wyniki wskazują, że do przygotowywania preparatu kiełków sojowych wzbogacanych w żelazo metodą biofortyfikacji korzystne jest wykorzystywanie nasion soi odmiany Augusta zbieranych z obszarów, w których w lipcu i sierpniu nie wystąpiły okresy suszy.

Słowa kluczowe – *key words*: soja – *soybean*, żelazo – *iron*, warunki pogodowe – *weather conditions*

WSTĘP

Skiełkowane nasiona soi stanowią źródło wielu prozdrowotnych składników żywieniowych. Ilość i jakość tych składników można modyfikować poprzez zmianę warunków kiełkowania, takich jak ekspozycja na światło, skład pożywki, temperatura i czas kiełkowania [Shah i in. 2011, Zieliński i in. 2007].

Wzrost roślin na podłożach zawierających podwyższone stężenie żelaza jest znaną metodą ich biofortyfikacji w ten cenny z żywieniowego punktu widzenia jon metalu. W prezentowanych doświadczeniach w tym celu wykorzystano nasiona sojowe, ponieważ stwierdzono intensywne wiązanie żelaza przez kiełkującą soję z roztworów zawierających jony Fe^{2+} [Zielińska-Dawidziak i in. 2009]. Zdolność roślin strączkowych do silnej akumulacji żelaza z roztworów wynika z ich dobrej tolerancji na stężenie metali w podłożu wzrostowym i jest konsekwencją syntezy odpowiednich białek budujących system odpornościowy rośliny.

Podczas wzrostu w takich warunkach na komórki roślinne działa niekorzystny czynnik abiotyczny. Działanie czynników abiotycznych, takich jak deficyt wody, stres osmotyczny, niekorzystna temperatura, stosowanie niektórych herbicydów, deficyt soli mineralnych czy wspomnianego nadmiaru jonów metali wywołuje odpowiedź tkanek nazywaną stresem oksyda-

* Badania sfinansowano z projektu POIG 01.01.02-00-061/09

cyjnym [Kacperska i in. 2002]. Wzrost roślin w warunkach stresu oksydacyjnego wywołanego jonami żelaza, związany jest z uruchamianiem mechanizmów, które pozwalają na neutralizowanie ich negatywnego, toksycznego oddziaływania na struktury komórkowe [Woźny i Goździcka-Józefiak 2010]. Wyróżnia się trzy podstawowe mechanizmy samoobrony roślin przed toksycznym działaniem metali: unikanie (np. wydzielanie śluzów, ligandów do ryzosfery, unieruchamianie w obrębie ściany komórkowej), kompleksowanie (przez fityniany, kwasy organiczne, niektóre aminokwasy i ich pochodne) i ostatecznie unieszkodliwianie przez wbudowanie w strukturę peptydów i białek (fitochelatyny i ferrytyna) [Hossain i in. 2012, Zielińska-Dawidziak i Twardowski 2008].

W ramach obrony przed toksycznym działaniem żelaza na rośliny strączkowe zaobserwowano wyjątkowo intensywną biosyntezę białka wiążącego żelazo, tj. ferrytyny [Smól 2001, Zielińska-Dawidziak i in. 2009]. Ferrytyna odpowiada w roślinach za gospodarowanie żelazem – pełni funkcję zarówno akceptora, jak i donora tego pierwiastka. W komórkach występuje również w formie syntezowanej w odpowiedzi na stres abiotyczny i biotyczny, nazywanej też formą detoksyfikującą. Reguluje w komórkach stężenie metali przejściowych [Rama Kumar i Prasad. 1999], łagodzi skutki ataku patogenów [Mata i in. 2001] i powstawania reaktywnych form tlenu [Deak i in. 1999], pełniąc jednocześnie rolę czynnika chroniącego genom [Surguladze i in. 2005]. Obecnie fitoferrytyna uważana jest za jedną z najbardziej obiecujących form suplementacji diety człowieka w żelazo [Theil i in. 2012].

Kompleksowe działanie systemu odpornościowego kiełkujących nasion związane jest warunkami, jakie panowały w okresie wzrostu rośliny. Szczególnie opady i temperatura w okresie zawiązywania i nalewania nasion wpływają na ich skład. Stres wywołany przez niekorzystne warunki pogodowe może zakłócać syntezę białek, które odpowiadają za odporność nasion na działanie czynników stresowych podczas ich kiełkowania i dalszego wzrostu rośliny, osłabiając ich naturalną zdolność do ochrony przed niekorzystnymi czynnikami.

Nasiona soi w zależności od odmiany i warunków uprawy mogą zawierać 35–47% białka. Nasilone opady w okresie wypełniania nasion przy niedostatecznym zaopatrzeniu roślin w azot mogą zmniejszyć zawartość białka nawet do 26,5–34,7% [Vollmann i in. 2000]. Istotnym jest przy tym fakt, że przebieg warunków pogodowych może mieć wpływ nie tylko na zawartość białka ale i na jego skład. Proteomiczna analiza wykonana przez Ren i in. [2008] potwierdziła, że wysokie temperatury zmieniają również profil ekspresji białek.

Celem prezentowanych badań było sprawdzenie, czy zróżnicowane warunki pogodowe panujące w trzech kolejnych latach (2009–2011) w okresie wegetacji soi wpłynęły na zawartość białek w zawiązywanych nasionach i w konsekwencji na zdolność do wiązania żelaza przez kiełkujące nasiona soi, które wykorzystane mają być jako materiał do suplementacji żywności w żelazo.

MATERIAŁ I METODY

W ramach prezentowanego eksperymentu porównywano dwie odmiany soi, które rosły na polu Katedry Genetyki i Hodowli Roślin w Rolniczym Gospodarstwie Doświadczalnym (RGD) Dłoń należącym do Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Siew soi przeprowadzono w latach 2009–2011 odpowiednio 24, 26 i 25 kwietnia, na glebie płowej, III i IV klasy bonitacyjnej. Norma wysiewu przy rozstawie 12,5 cm wynosiła dla odmiany Nawiko 120 kg·ha⁻¹ a dla odmiany Augusta 150 kg·ha⁻¹. Po siewie zastosowano oprysk mieszkanką herbicydów: Sencor 0,5 kg·ha⁻¹ oraz Afalon 1,0 l·ha⁻¹. Zastosowano nawożenie: 60 kg·ha⁻¹ N w dawce dzielonej 30 kg przed siewem i 30 kg przed kwitnieniem, 80 kg·ha⁻¹ P oraz 120 kg·ha⁻¹ K. Zbiory następowały w pełnej dojrzałości roślin 2 września w roku 2009 i 2010 a 9 września w 2011 r.

Odmianę Nawiko (1991) wyhodowano w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu poprzez skrzyżowanie fotoneutralnej szwedzkiej odmiany „FISKE-BY V” z linią z kolekcji amerykańskiej „PI 180 502”. Nawiko charakteryzuje się małą masą tysiąca nasion (134 g) oraz potencjałem plonowania średnio 20–30 dt·ha⁻¹. Przeciętne zawartości białka oraz tłuszczu surowego w nasionach soi tej odmiany wynoszą odpowiednio około 35 i 20%. Odmianę Augusta (2002) otrzymano po skrzyżowaniu międzygatunkowym pomiędzy linią „104 (*Glycine max*)” i „linią 11 (*Glycine soja*)” w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Augusta posiada małą masę tysiąca nasion średnio 125 g, a w latach 2006–2009 w doświadczeniach COBORU odmiana ta plonowała od 22,7 do 29,5 dt·ha⁻¹. Średnia zawartość białka w nasionach Augusty to około 36%, a tłuszczu 19%.

Kielkowanie nasion prowadzono w 20 i 25 mM roztworach siarczanu żelaza (II) w komorach klimatycznych Adaptis (Conviro) przez 7 dni w warunkach zaprezentowanych w tab. 1. Jak

Tabela 1. Warunki hodowli podczas kiełkowania nasion soi („-” – brak oświetlenia, „+” – oświetlenie 300 luxów)

Table 1. The culture conditions during germination of soybean seeds (‘-’ – no illuminated, ‘+’ – illuminated 300 lux)

Dzień hodowli <i>Culture day</i>	Godziny <i>Hours</i>	Temperatura <i>Temperature</i>	Wilgotność <i>Humidity</i>	Oświetlenie <i>Illumination</i>
1-6	00.00-06.00	22°C	90%	-
	06.00-23.00	24°C		-
	23.00-24.00	23°C		+
7	00.00-06.00	21°C	90%	-
	06.00-23.00	23°C		+
	23.00-24.00	22°C		-

ustalono wcześniej, takie stężenia żelaza w pożywce pozwalają na maksymalną jego kumulację przez kiełkujące nasiona przy wydajnym odzysku biomasy [Zielińska-Dawidziak i in. 2009]. W pierwszym dniu nasiona odkażano przez zalanie 70-procentowym etanolem. Po odkażeniu nasiona zalewano odpowiednimi roztworami Fe²⁺ i pozostawiano do spęcznienia na kilka godzin. Po przeniesieniu badanego materiału do kiełkownic, w kolejnych dniach podlewano próby odpowiednimi roztworami. Po siedmiu dniach skielkowane nasiona suszono owiewowo, w temp. 35–45°C do uzyskania wilgotności ok. 8–9%, mielono i przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach, w temperaturze –18°C do czasu wykonywania odpowiednich analiz.

Kielkowanie przeprowadzono w 9–12 niezależnych powtórzeniach. Materiał przed wykonaniem analiz łączono, a analizy składu chemicznego wykonywano w 4 powtórzeniach.

Oznaczenie procentowej zawartości białka ogólnego w suchej masie ziarna wykonano metodą Kjeldahla (PN-EN ISO 5983-1, 2006), wykorzystując aparat KjelFlex K-360. Rezultaty przedstawiano jako zawartość procentową w badanym materiale, po wykorzystaniu przelicznika azotu ogólnego na białko sojowe N=5,71 [Kunachowicz i in. 2005].

Ekstrakty z otrzymanych nasion wykonano metodą jednostopniową, w proporcji 1:10 w/v, za pomocą buforu 50 mM Tris-HCl (pH 8,0) zawierającego 20 mM NaCl. Ekstrakcję wykonywano przez 1h w 3 powtórzeniach. Stężenia białka w otrzymanych ekstraktach wyznaczano

metodą Bradforda [1976], a następnie przeliczano na procentową zawartość białka ekstrahowanego w suchej masie nasion.

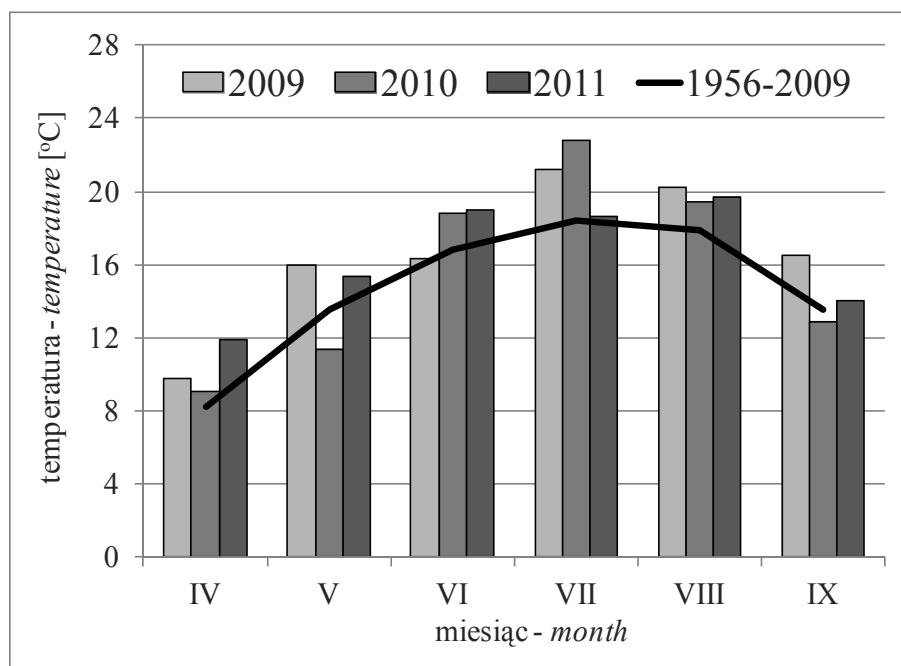
Analizę całkowitej zawartości żelaza w materiale wykonywano po zmineralizowaniu próbki w spektralnie czystym, stężonym kwasie azotowym, w systemie mikrofalowym MARS-5 (Milistone, USA). Zawartość żelaza w uzyskanym mineralizacie oznaczano metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej, przy długości fali 248,3 nm i szerokości szczeliny 0,15 nm, przy użyciu spektrometru AAS-3 (Zeiss).

Analizę statystyczną wykonano wykorzystując program Statistica 10 (StatSoft). Inc., Tulsa, OK., USA). Wyniki poszczególnych oznaczeń uśredniano i obliczano odchylenia standardowe. W analizie wykorzystano analizę regresji oraz jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). W przypadku wykazania istotnych różnic wykonano analizę post-hoc przy pomocy testu Tukey'a w celu wyznaczenia grup jednorodnych.

WYNIKI I DYSKUSJA

Soja w RGD Dłoń była uprawiana na tym samym polu z zastosowaniem co roku tego samego nawożenia. Dlatego też zawartości i właściwości białek w nasionach mogły być przede wszystkim modyfikowane przez warunki pogodowe: temperaturę i opady.

Temperatura w okresie wegetacji w latach 2009–2011 była korzystna dla wzrostu i rozwoju soi, wyższa od średniej temperatury z wielolecia 1956–2009 (rys. 1). Szczególnie wysokie tem-

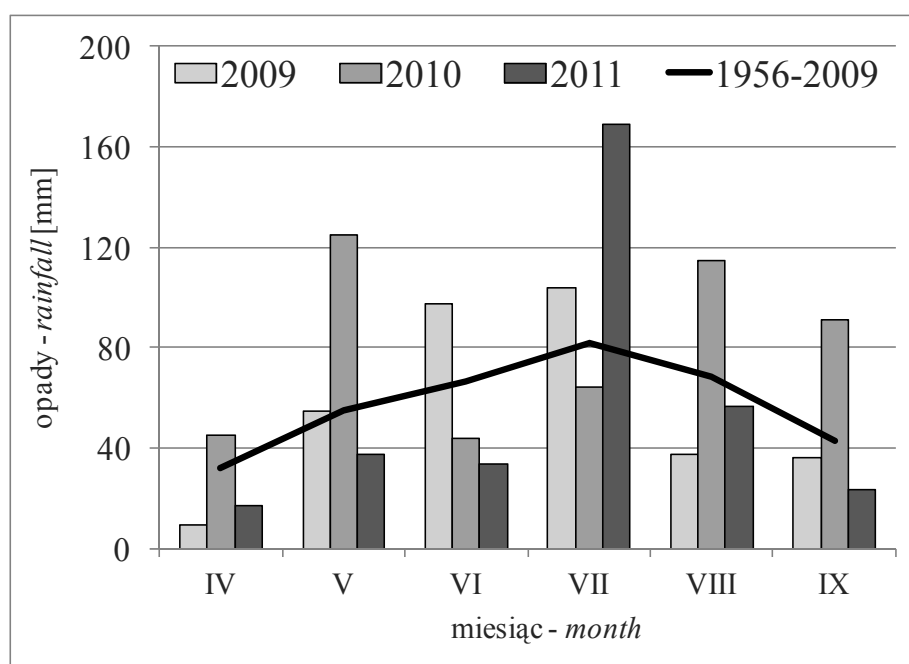


Rys. 1. Średnie temperatury w miesiącach kwiecień–wrzesień z lat 2009–2011 oraz 1956–2009 na terenie RGD Dłoń

Fig. 1. Average temperatures in the months of April–September from the years 2009–2011 and 1956–2009 in the area of RGD Dłoń

peratury panowały w okresie zawiązywania nasion w lipcu 2009 i 2010 roku. We wszystkich trzech latach doświadczenia, podczas nalewania nasion w sierpniu, czyli w okresie akumulacji białek, średnie temperatury miesięczne były wysokie – około 20°C. Już wcześniej obserwowano, że wysokie temperatury wpływają na zwiększenie zawartości białka w nasionach soi [Bennett i Krishnan 2005].

Warunki pogodowe w RGD Dłóń w latach 2009–2011 były zróżnicowane głównie pod względem opadów (rys. 2). Wpływ ilości opadów na zawartość białka w nasionach jest również potwierdzony literaturowo. W warunkach Słowacji odmiana Quito w mokrym roku zawierała 29,6% białka podczas gdy w roku z niedoborem opadów 38,4% [Fecak i in. 2010].

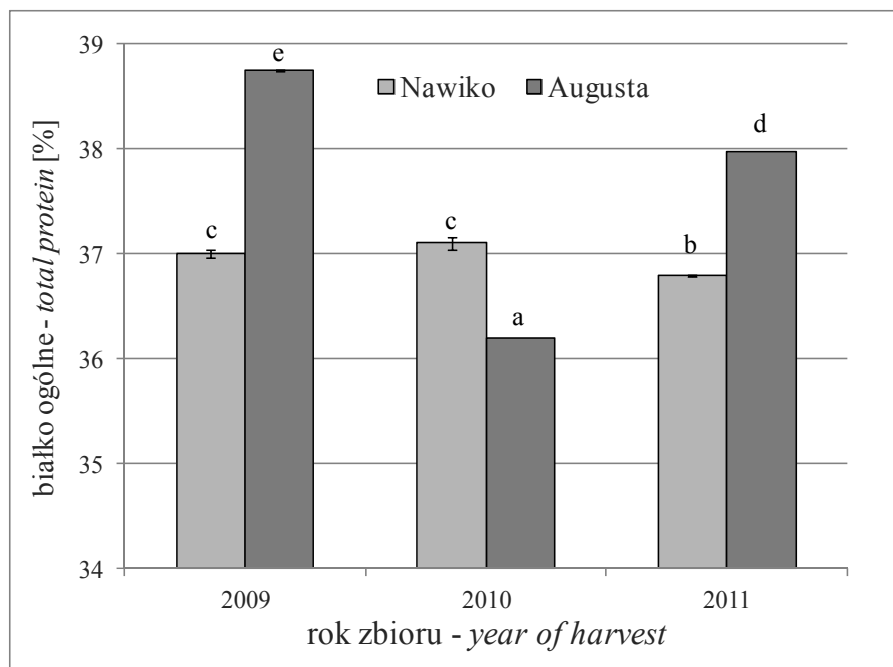


Rys. 2. Ilość opadów w miesiącach kwiecień–wrzesień z lat 2009–2011 oraz średnia z lat 1956–2009 na terenie RGD Dłóń

Fig. 2. Amount of rainfall in the months of April–September from the years 2009–2011 and their average from 1956–2009 in the area of RGD Dłóń

Okres nalewania nasion jest najbardziej wrażliwy na stres niedoboru wody [Brevadan i Egli 2003]. Niewystarczająca ilość wody w tym okresie skutkuje mniejszym plonem nasion ale zwiększa w nich zawartość białka [Popovic i in. 2012]. Zwiększona zawartość białka w nasionach jest wynikiem zmniejszenia wielkości nasion (MTN) [Rotundo i Westgate 2009].

Wyznaczoną w ramach prezentowanych doświadczeń zawartość białka ogólnego i ekstrahowalnego w badanych nasionach soi (odmian Nawiko i Augusta) pochodzących z trzech kolejnych lat zbioru zaprezentowano na rysunkach 3 i 4. Obserwowany jest istotny wpływ odmiany jak i ocenianych czynników pogodowych, a więc roku zbioru, na zawartość białka ogólnego i ekstrahowalnego (tab. 2) w nasionach uprawianych na tym samym obszarze. W przypadku

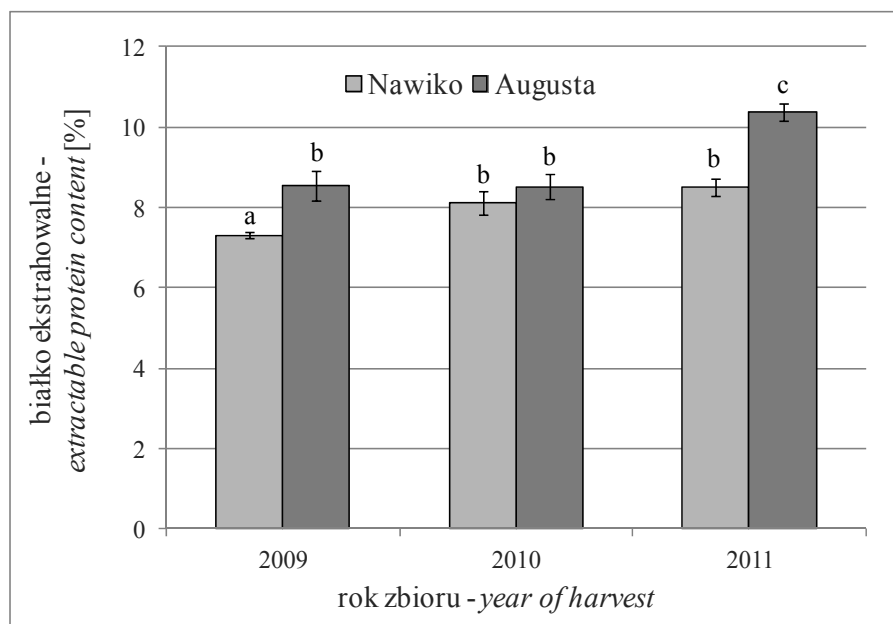


Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$
The values designed with various letters differ statistical significantly at the level of $\alpha=0.05$

Rys. 3. Zawartość białka ogólnego wyznaczona w nasionach z lat zbioru 2009–2011
Fig. 3. The total protein content in seeds harvested in 2009–2011

Tabela 2. Jednowymiarowe testy istotności dla zawartości białka ekstrahowanego i białka ogólnego
Table 2. Univariate tests of significance for extractable protein content and total protein content

Efekt <i>Effect</i>	Stopnie swobody <i>Degrees of freedom</i>	Dla zawartości białka ekstrahowanego <i>For extractable protein content</i>		Dla zawartości białka ogólnego <i>For total protein content</i>	
		F	P	F	P
Rok zbioru <i>Year of harvest</i>	2	41,69	0,000004	13,21	0,000928
Odmiana <i>Variety</i>	1	73,27	0,000002	21,57	0,000566
Rok zbioru i odmiana <i>Year of harvest and variety</i>	2	9,79	0,003014	29,74	0,000022
Błąd <i>Error</i>	12				



Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$
The values designed with various letters differ statistical significantly at the level of $\alpha=0.05$

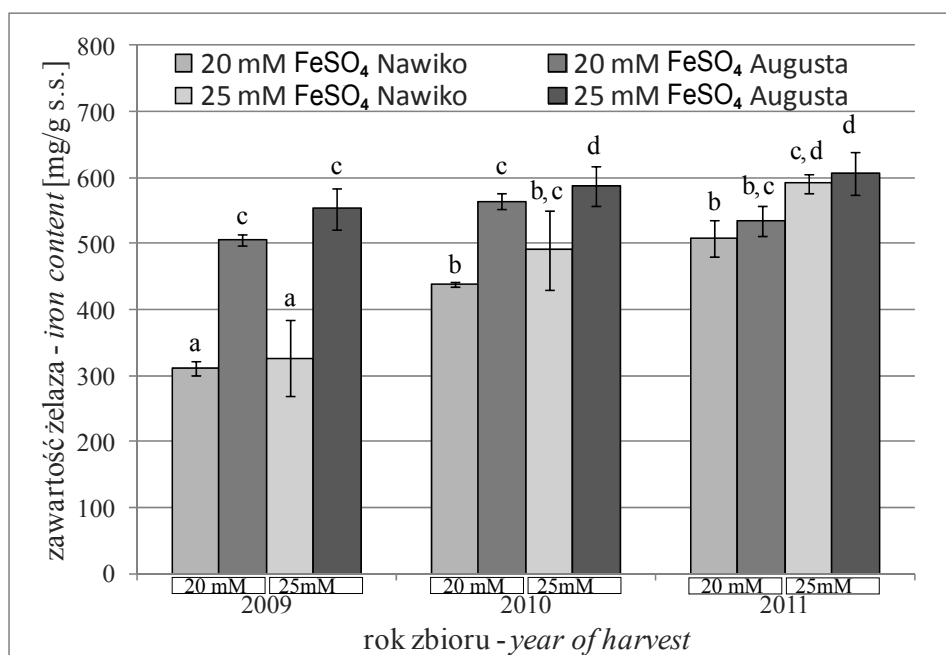
Rys. 4. Zawartość białka ekstrahowanego w pH 8,0 wyznaczona w nasionach z lat zbioru 2009–2011
Fig. 4. The content of proteins extractable in pH 8.0 in seeds harvested in 2009–2011

białka ogólnego potwierdzone zostały obserwacje Fecaka i in. [2010], gdyż największą jego zawartością cechowały się nasiona odmiany Augusta zebrane w roku o najniższej odnotowanej ilości opadów, tj. w roku 2009, a zawartość białka w nasionach Nawiko była porównywalna w latach 2009 i 2010, które były zdecydowanie bardziej suche w lipcu i sierpniu niż rok 2011.

Białka wyekstrahowane w prezentowanym doświadczeniu należą przede wszystkim do grupy globulin o punkcie izoelektrycznym odległym od pH 8,0. Warunki ekstrakcji dobrano w ten sposób, aby wyizolować z badanego materiału grupę białek o właściwościach podobnych do ferrytyny. W przypadku analizy wpływu roku zbioru i odmiany na zawartość tych białek w nasionach można stwierdzić, że istotnie większą ich zawartość obserwowano w nasionach odmiany Augusta niż Nawiko (w latach 2009 i 2011) (wyekstrahowano odpowiednio o 1,25 i 1,68% s.m. więcej białka), a jednocześnie najwięcej tych białek wyekstrahowano w roku 2011 z nasion odmiany Augusta, a najmniej z nasion odmiany Nawiko w roku 2009 (rys. 4). Zestawiając otrzymane dane z warunkami pogodowymi stwierdzono, że zwiększona kumulacja tej grupy białek jest dodatnio skorelowana z sumą opadów w okresie zawiązywania i nalewania nasion (lipcu i sierpniu), która wynosiła odpowiednio 141,5 mm w roku 2009, 179 mm w roku 2010 i 225,3 mm w roku 2011.

Niedobór bądź nadmiar pierwiastków, w tym stężenie jonów Fe²⁺, w glebie lub pożywce wzrostowej przyczynia się wyraźnie do zmiany składu białkowego wzrastających roślin i nasion, zwiększając ekspresję białek stresowych [Gayler i Sykes 1985, Smól i Twardowski 1999].

Dlatego ważne jest stwierdzenie, czy na zdolność do ekspresji ferrytyny podczas kiełkowania wpływa zawartość białka w nasionach. Ekspresję ferrytyny oceniano poprzez zdolność do wiązania jonów żelaza z roztworów FeSO_4 . Po wykonaniu analizy zawartości żelaza w otrzymanym preparacie zauważono istotnie większą zdolność do wiązania żelaza przez kiełkującą nasiona odmiany Augusta (rys. 5).



Wartości oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $\alpha=0,05$
The values designed with various letters differ statistical significantly at the level of $\alpha=0.05$

Rys. 5. Zawartość całkowitego żelaza w soi po 7 dniach kiełkowania w roztworach 20 i 25 mM FeSO_4
 Fig. 5. The total iron content in soybean after 7 days of germination in 20 and 25 mM solutions of FeSO_4

Potwierdzono również istotny wpływ panujących warunków pogodowych w badanych latach zbioru na zawartość żelaza w badanym materiale. Ograniczenie opadów w miesiącach zawiązywania i nalewania strąków, odnotowane w roku 2009, widocznie wpływało na obniżenie zdolności do kumulacji żelaza podczas prowadzonego po zbiorze kiełkowania (rys. 5). Jednocześnie największe ilości żelaza kumulowały nasiona obu odmian zebrane w 2011 r., w którym odnotowano największe opady w miesiącach lipcu i sierpniu. Zaobserwowano różną wrażliwość odmianową w aspekcie wiązania żelaza na ograniczenie opadów. W roku 2009 kiełkująca Augusta wiązała o 62,5% żelaza więcej z roztworów 20 mM i o 69,6% z roztworów 25 mM. Różnice te były natomiast znacznie mniejsze w roku 2011 – Augusta wiązała odpowiednio tylko o 5,3 i o 2,6% żelaza więcej. Może to sugerować, że ograniczenie opadów w sierpniu 2009 r., silniej wpłynęło na odporność nasion Nawiko na stres związany z obecnością jonów Fe^{2+} . Nato-

miast zdecydowanie mniejsze różnice odmianowe w roku 2011 mogą wynikać z faktu, że suma opadów w omawianych miesiącach znacznie przewyższała sumę w wieloleciu 1956–2009.

W badanych latach nie stwierdzono wpływu temperatury na zdolność wiązania żelaza przez kiełkujące nasiona, co prawdopodobnie jest konsekwencją tego, że temperatura w badanych latach w okresie wegetacji soi przekraczała średnią temperaturę obserwowaną w wieloleciu 1956–2009. Podwyższona temperatura z całą pewnością wpływa pozytywnie na ogólny stan uprawianej soi, w tym również na odporność kiełkujących nasion na stres abiotyczny.

Na zdolność wiązania żelaza przez kiełkujące nasiona soi nie wpływa zawartość białka ogólnego w wyjściowym materiale. Natomiast stwierdzono istotny wpływ zawartości białka ekstrahowalnego w nasionach na tę zdolność. Wyznaczony współczynnik korelacji potwierdza, że nie jest to jedyny czynnik determinujący wiązanie żelaza ($r^2=0,46$ i $p=0,002$ dla kiełkowania w roztworach 20 mM oraz $r^2=0,49$ i $p=0,001$ dla 25 mM).

WNIOSKI

1. Na zdolność kumulowania żelaza przez kiełkujące nasiona soi istotnie wpływa zarówno rok zbioru jak i odmiana nasion. Kumulacja ta zależy również od zawartości białka ekstrahowanego w nasionach, a nie zależy od zawartości białka ogólnego.
2. Zdolność do wiązania żelaza z pożywek istotnie i dodatnio skorelowana jest z ilością opadów w miesiącach zawiązywania i nalewania nasion, czego nie zaobserwowano w przypadku temperatury.
3. Na cele przygotowania roślin biofortyfikowanych w żelazo korzystne jest wykorzystanie nasion soi odmiany Augusta pozyskiwanych z obszarów, na których w okresie zawiązywania i nalewania nasion panowały optymalne dla ich rozwoju warunki.

PIŚMIENNICTWO

- Bennett J.O., Krishnan H.B. 2005. Long-term study of weather on soybean seed composition. *Korean J. Crop Sci.* 50: 32–38.
- Bradford M.M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248–254.
- Brevadan R.E., Egli D.B. 2003. Short period of water stress during seed filling, leaf senescence, and yield of soybean. *Crop Sci.* 43: 2083–2088.
- Deak M., Horvarth G.V., Davletova S., Török K., Vass I., Barna B., Kiraly, Dudits D. 1999. Plants ectopically expressing the iron-binding protein, ferritin, are tolerant to oxidative damage and pathogens. *Nat. Biotechnol.* 17: 192–196.
- Fecak P., Sarikova D., Cerny I. 2010. Influence of tillage system and starting fertilization on seed yield and quality of soybean *Glycine max* (L.) Merrill. *Plant Soil Environ.* 56: 105–110.
- Hossain M.A., Piyatida P., Teixeira da Silva J.A., Fujita M. 2012. Molecular mechanism of heavy metal toxicity and tolerance in plants: central role of glutathione in detoxification of reactive oxygen species and methylglyoxal and in heavy metal chelation. *J. Botany* 2012: 1–37.
- Kacperska A., Kopcewicz, J., Lewak S., Gabryś H. 2002. Reakcje roślin na abiotyczne czynniki stresowe. W: *Fizjologia roślin*. J. Kopcewicz, S. Lewak (red.). Wyd. Nauk. PWN Warszawa: 612–678.
- Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K. 2005. Bazy danych. Tabele wartości odżywczej produktów spożywczych i potraw. Wyd. 3. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa.
- Mata C.G., Lamattina L., Cassia R.O. 2001. Involvement of iron and ferritin in the potato-*Phytophthora infestans* interaction. *Europ. J. Plant Pathol.* 107: 557–562.

- PN-EN ISO 5983-1 2006. Pasze – Oznaczanie zawartości azotu i obliczanie zawartości białka ogólnego – Cz. 1: Metoda Kjeldahla.
- Popovic V., Jaksic S., Glamoclija D., Grahovac N., Djekic V., Mickovski Stefanovic V. 2012. Variability and correlation between soybean yield and quality components. *Rom. Agr. Res.* 29: 131–137.
- Rama Kumar T., Prasad M.N.V. 1999. Metal binding properties of ferritin *in vitro* in *Vigna mungo* (L.) Hepper (Black gram): Possible role in heavy metal detoxification. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62: 502–507.
- Rotundo J.L., Westgate M.E. 2009. Rate and duration of seed component accumulation in water-stressed soybean. *Crop Sci.* 50: 676–684.
- Shah S.A., Zeb A., Masood T., Noreen N., Abbas S.J., Samiullah M., Alim M.A., Muhamma A. 2011. Effects of sprouting time on biochemical and nutritional qualities of *Mungbean* varieties. *Afr. J. Agric. Res.* 6: 5091–5098.
- Smól J. 2001. Właściwości molekularne ferrytyny roślinnej warunkujące jej biologiczne funkcje i praktyczne zastosowanie. Praca doktorska. IChB PAN Poznań.
- Smól J., Twardowski T. 1999. Properties of lupin ferritin and the regulatory mechanism of its biosynthesis. *Biologia* 54: 309–313.
- Surguladze N., Patton S., Cozzi A., Fried M.G., Connor J.R. 2005. Characterization of nuclear ferritin and mechanism of translocation. *Biochem. J.* 388: 731–740.
- Theil E.C., Chen H., Miranda C., Janser H., Elsenhans B., Núñez M.T., Pizarro F., Schümann K. 2012. Absorption of iron from ferritin is independent of heme iron and ferrous salts in women and rat intestinal segments. *J. Nutr.* 142: 478–483.
- Vollmann J., Fritz C. N., Wagentristsl H., Ruckenbauer P. 2000. Environmental and genetic variation of soybean seed protein content under Central European growing conditions. *J. Sci. Food Agric.* 870: 1300–1306.
- Woźny A., Goździcka-Józefiak A. (red.) 2010. Reakcje komórek roślin na czynniki stresowe. Wyd. Nauk. UAM Poznań, 2: ss. 334.
- Zielińska-Dawidziak M., Staniek H., Twardowski T. 2009. Zmiany w zawartości żelaza w roślinach kiełkujących w hodowlach hydroponicznych z FeSO_4 . *Żywnienie człowieka i metabolizm* 2: 499–505.
- Zielińska-Dawidziak M., Twardowski T. 2008. Zmiany w zawartości wybranych frakcji białka pod wpływem działania jonów żelaza na kiełkujące nasiona soi, lucerny oraz ziarnaki pszenicy. W: *Metody fizyczne diagnostyki surowców roślinnych i produktów spożywczych*. Wyd. Komitet Agrofizyki PAN, FRNA: 107–117.
- Zieliński H., Piskula M.K., Michalska A., Kozłowska H. 2001. Antioxidant capacity and its components of cruciferous sprouts. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 57: 315–322.

M. ZIELIŃSKA-DAWIDZIAK, J. NAWRACAŁA, D. PIASECKA-KWIATKOWSKA, E. KRÓL, H. STANIEK, Z. KREJPCIO

EFFECT OF SOYBEAN SEEDS YEAR HARVEST (*GLYCINE MAX* L. MERRILL) ON IRON ACCUMULATION FROM FeSO_4 SOLUTIONS

Summary

Presented experiments were conducted on two Polish soybean seeds varieties – Nawiko and Augusta. Seeds were obtained from the three consecutive harvest years (2009–2011). The aim of the study was to analyze whether the weather conditions, i.e. temperature and rainfall in the year of harvest, influence on protein content in the seed, and by this fact, on the seeds immune system and their ability to accumulation of iron ions from the culture media. The seeds were grown in the same field, using the same fertilization. In the harvested seeds, the contents of total and extractable protein were determined. Following, the seeds were subjected to a germination process in solutions of 20 and 25 mM FeSO_4 . 7-day germinated seeds were powdered and then the total iron content was analyzed. It was observed, that ability to iron

accumulation in sprouted seeds is dependent on year of harvest, variety, and correlated with the content of the extractable protein. The maximum amount of iron bound Augusta seeds, collected in the year with the largest rainfall in July and August. The results suggest, that for the preparation of iron-enriched sprouts with the biofortification method, soybean seeds varieties Augusta should be used and collected from the areas where did not occur periods of drought in July and August.