

BIOFORTIFIKACIJA SOJE SELENOM

BIOFORTIFICATION OF SOYBEAN WITH SELENIUM

Z. Antunović, Željka Klir Šalavardić, J. Novoselec

Pregledni znanstveni članak - Review scientific paper
 Primljeno - Received: 29. veljače – February 2024
 Revidirano - Revised: 14. ožujak – March 2024
 Prihvaćeno - Accepted: 19. ožujak – March 2024
<https://doi.org/10.33128/k.66.1.3>
 UDK 636.087.7:546.23
 636.086.34:546.23

SAŽETAK

Soja je krmivo bogato proteinima koje se najčešće, zajedno sa svojim nusproizvodima (sačma i pogača), koristi u obrocima životinja s ciljem kvalitetne opskrbe proteinima. Cilj je ovoga rada prikazati mogućnosti biofortifikacije soje selenom i njezinu primjenu u hranidbi životinja. Soja je kvalitetan izvor selena u organskome obliku, prije svega selenometionina. Selen je važan u prehrani ljudi i hranidbi životinja jer ima brojne fiziološke funkcije, a često je sadržan u nedostatnim količinama u hranidbenome lancu. Biofortifikacija soje selenom, i to agronomska biofortifikacija, može se koristiti kao kvalitetna metoda obogaćivanja jestivih dijelova usjeva/soje selenom. Najčešće se koriste anorganski spojevi selena (selenat i selenit) koje usjev/soja transformira u organski oblik, a on je pristupačniji različitim organizmima. Za razliku od selenita, anorganski oblik selena, selenat, bolje je biodostupnosti. Učinkovitija je agrofotifikacija usjeva/krmiva folijarnim tretiranjem usjeva negoli gnojdbom tala selenom. Razlog leži u izbjegavanju vrlo kompleksnih reakcija koje se odvijaju u tlu uzrokujući značajne razlike u usvajanju selena s obzirom na različite okolišne uvjete i uvjete u tlu. U dostupnim istraživanjima biofortifikacija soje selenom provedena anorganskim oblicima selena dovela je do značajnoga povećanja sadržaja selena u zrnu soje, ali nije utvrđen značajan utjecaj na prinos soje te na strukturu i funkcionalnost proteina soje. Međutim, postoje i istraživanja sa suprotnim učincima. Vrlo je malo istraživanja o korištenju biofortificirane soje selenom u hranidbi životinja, osobito onih domaćih. Navedeno bi moglo biti kvalitetna niša za daljnja istraživanja, koja će imati za cilj ukazati na mogućnosti primjene biofortificirane soje selenom u hranidbi domaćih životinja.

Ključne riječi: soja, biofortifikacija, selen, hranidba

UVOD

U hranidbi domaćih životinja najčešće se, s ciljem zadovoljavanja potrebe za proteinima u obrocima, koriste soja (kao zrno ili kao punomasna soja) i njezini nusproizvodi, koji nastaju u procesu izdavanja ulja iz soje. Prije svega su to sojina sačma, u

manjoj mjeri i sojina pogača, a rjeđe i zrno soje koje treba biti toplinski obrađeno, osobito u hranidbi nepreživača. Sačma i pogača soje su nusproizvodi koji nastaju u procesu dobivanja ulja iz soje, a razlika je u samome procesu izuzimanja ulja, jer tiještenjem nastaju pogače, a ekstrakcijom sačme. Zrno soje se koristi u obrocima životinja najčešće nakon top-

Prof. dr. sc. Zvonko Antunović, e-mail: Zvonko.Antunovic@fazos.hr, orcid.org/0000-0002-4922-705X; Doc. dr. sc. Željka Klir Šalavardić, e-mail: zeljka.klir@fazos.hr, orcid.org/0000-0003-4078-6864; izv. prof. dr. sc. Josip Novoselec, e-mail: josip.novoselec@fazos.hr, orcid.org/0000-0001-9763-3522, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Vladimira Preloga 1, 31000 Osijek, Hrvatska. Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom HRZZ-IP-2022-10-3803 (Biofortifikacija krmiva selenom u proizvodnji malih preživača – SeRumBiofort).

linske obrade u procesu tostiranja, ekstrudiranja ili mikroniziranja zbog sadržaja više antinutritivnih tvari (inhibitor tripsina, ureaza, saponini, hemaglutinini, oligosaharidi i dr.; Domaćinović i sur., 2006.). U hranidbi odraslih preživača moguće ju je koristiti i u sirovome stanju kao zrno oko 1 – 1,5 kg dnevno. Soja je krmivo bogato proteinima (oko 40 % suhe tvari) koje ima reputaciju skladišta proteina visoke kvalitete (Deng i sur., 2022.). Selen je esencijalni mikroelement za ljude i životinje. Primjerice, selen je sastavni dio selen-aminokiselina (selenocistein) potreban za sintezu više od 25 selenoproteina (Rayman i sur., 2012.). Sve su veći problemi u kvalitetnoj opskrbi selenom u obrocima domaćih životinja. Biofortifikacija je postupak koji na prirodan i relativno siguran način poboljšava opskrbu životinja u procesu obogaćivanja usjeva/biljaka selenom (Novoselec i sur., 2018.). Posljednjih se godina sve više koristi biofortifikacija krmiva selenom, i to osobito u područjima u kojima su tla siromašna selenom, te ga krmiva uzgajana na takvim tlima ne sadrže dovoljno, a time bi bila podignuta njegova razina u obrocima životinja. Međutim, uska je granica između potrebnih i toksičnih razina selena s obzirom na žive organizme. Stoga se, osim na oblik selena u biljci/krmivu i sposobnost biljaka za njegovo usvajanje, pozornost mora obratiti i na kvaliteti tla, ali i na sposobnost nakupljanja organskoga u odnosu na anorganski selen. Može bitna kontaminacija tala i usjeva/krmiva s drugim metalima (primjerice kadmijem i arsenom), kao i primjena ograničavajućih doza selena pri korištenju biofortifikacije biljaka/usjeva selenom s ciljem izbjegavanja toksičnosti selena za žive organizme, postupci su koje trebamo primijeniti (Tangjaidee i sur., 2023.). Cilj je ovoga rada prikazati mogućnosti biofortifikacije soje selenom te njezino korištenje u hranidbi životinja.

ZNAČENJE SOJE U HRANIDBI ŽIVOTINJA

Soja (*Glycine max* (L.) Merr) se ubraja u leguminoze, koje su osnovni izvor proteina u prehrani ljudi, ali i u hranidbi životinja. Leguminoze su bogat izvor brojnih mikronutrijenata, koji često premašuju ili nadopunjuju nutritivni sastav žitarica sadržanih u obrocima ljudi i životinja. Stoga poboljšanje njihova nutritivnoga sastava može biti vrlo naglašen cilj za rješavanje „skrivenih gladi“, to jest globalne pothranjenosti mikronutrijentima (Rehman i sur., 2018.). Navedeni autori ističu da je ona prisutna u gotovo dvije milijarde ljudi te da uzrokuje ozbiljne zdravstvene posljedice, od usporenoga rasta i razvoja do smanjenja životnoga ciklusa. Soja sadrži oko 40 % proteina u suhoj tvari. Osim visokoga sadržaja proteina, aminokiselinski sastav soje i sadržaj esencijalnih aminokiselina u soji vrlo su povoljni za životinje (Patil i sur., 2017.). Međutim, zrno soje je manjkavo glede postotka aminokiselina koje sadrže sumpor (cistin i metionin). Zrno soje sadrži četiri frakcije globulina (2S, 7S, 11S i 15S), koji čine 15 %, 34 %, 41,9 % i 9,1 % ukupnih globulina (Fukushima, 1991.). Među njima su 7S i 11S glavne frakcije globulina. Budući da utječe na senzorna svojstva i kvalitetu prehrambenih proizvoda, struktura i funkcionalnost proteina soje igra ključnu ulogu u obradi i skladištenju hrane. Na primjer, odgovarajuća obrada i izmjena proteina soje fizikalnim, kemijskim i biološkim tehnikama može promijeniti strukturu i funkcionalna svojstva proteina u usporedbi s prirodnim proteinima (Huang i sur., 2017.). Soja je kvalitetan izvor selena u organskome obliku, prije svega selenometionina (Deng i sur., 2021.). Sadržaj selena u soji iz različitih istraživanja prikazan je u Tablici 1. U istraživanju Denga i sur. (2021.) utvrđeni je sadržaj selena u soji iznosio 0,11 mg/kg selena, dok su Guo i Gao (2022.) te Yang i sur.

Tablica 1. Sadržaj selena u zrnu soje u različitim istraživanjima

Table 1 Selenium content in soybeans seed in different studies

Referenca / Reference	Sadržaj selena u soji Selenium content in soybean	Mjerna jedinica Values	Područje istraživanja Region of investigation
Deng i sur. (2021.)	0,11	mg/kg	Kina
Guo i Gao (2022.)	19,3	μg/kg	Kina
Yang i sur. (2003.)	0,055	μg/g	Kina
Diaz Alcaron i sur. (1996.)	0,018-0,269	mg/kg	Španjolska
Galić i sur. (2021.b)	64,02-101,42	μg/g	Hrvatska
Lončarić i sur. (2018.)	30	μg/kg	Hrvatska
Jelić i sur. (2020.)	0,044	mg/kg	Hrvatska

(2003.) utvrdili znatno niži sadržaj selena u soji. Međutim, u jugoistočnoj su Španjolskoj Diaz Alarcon i sur. (1996.) utvrdili sadržaj selena u soji od 0,018 do 0,269 mg/kg, dok je u istraživanjima provedenim u istočnoj Hrvatskoj (Jelić i sur., 2020.) utvrđen također niži sadržaj selena u soji (0,044 mg/kg).

ZNAČENJE SELENA U HRANIDBI ŽIVOTINJA

Selen je esencijalan element u tragovima, prisutan u brojnim enzimima i selenoproteinima. Potreban je za normalan rast te zdravlje ljudi i životinja (Rayman i sur., 2012.). Selen je sastavni dio enzima glutation-peroksidaze, koja je značajan pokazatelj oksidacijskoga stresa. Također, sudjeluje u metabolizmu štitnjače, a potreban je i za funkcioniranje imunosnoga sustava i borbu protiv karcinoma. Danas je u svijetu preko milijardu ljudi u deficitu sa selenom (Mao i sur., 2014.). Životinje mogu generirati niz selenoproteina, uključujući i glutation-peroksidazu, selenoprotein P, tioredoksin-reduktazu i druge jodotironin-dejodinaze koristeći se apsorbiranim oblicima selena (Rayman, 2004.). Neka su tla u brojnim područjima svijeta jako bogata, ali postoje i ona jako siromašna selenom. S obzirom na manjak selena u takvim tlima, očekivano je da su usjevi/krmiva koji se uzgajaju na takvim tlima također deficitarni selenom. Poremećaji i bolesti koji su povezani s nedostatkom selena uzrokuju značajne ekonomske gubitke (Antunović i sur., 2020. i 2021.). Mala je razlika između nedostatnoga i toksičnog sadržaja selena za životinje, na što treba posvetiti posebnu pozornost. Općenito se može reći da su potrebe za selenom u životinja oko 0,1 do 0,3 mg/kg hrane, iako su brojna istraživanja pokazala da sadržaj selena u hrani životinja može biti znatno viši (0,4-0,5 mg Se/kg hrane; Lin and Shiau, 2007.). Nedostatak selena kroz duže razdoblje u životinja može imati značajan utjecaj na smanjenu plodnost, zadržavanje placente, inhibiciju rasta i produktivnosti, veću pojavnost mastitisa, kao i bolesti bijelih mišića, s kliničkim znakovima koji uključuju lezije skeletnoga i/ili srčanog mišića (Malagoli i sur., 2015.; Pecoraro i sur., 2022.).

Sadržaj selena u različitim krmivima također je varijabilan. Leguminoze najčešće sadrže manje selena od trava, ali se navedena razlika smanjuje kako se smanjuje sadržaj selena u tlu (Minson, 1990.). Na sadržaj selena u žitaricama značajan utjecaj ima tip tla. U istraživanjima provedenima u Republici Hrvatskoj utvrđen je značajan nedostatak selena u tlima

osobito u sjevernim, sjeveroistočnim i istočnim područjima, a time i u organizmima životinja koje se hrane usjevima/krmivima proizvedenima na takvim tlima (Gavrilović, 1982.; Antunović i sur., 2010.).

U svijetu postoje i područja u kojima tla imaju visok sadržaj selena, pa stoga korištenje usjeva uzgajanih na takvim tlima u obrocima životinja može dovesti do njihova trovanja. Otrovanja selenom zabilježena su kod svih domaćih životinja, a toksične razine selena u hrani za ovce su 10 mg/kg, goveda 8 mg/kg, svinje 5-8 mg/kg te za perad 15 mg/kg (Aladrović i sur., 2021.). Prekomjerna konzumacija selena u životinja (5-50 mg/kg tjelesne mase) može uzrokovati alkalnu bolest, koja se očituje deformacijom kopita, nedostatkom vitalnosti te pojavom anemije i ukočenosti (Jeong i Lee, 2011.). Poznato je da je selenit otrovniji od selenata i organskih oblika selena kao što su selenometionin, selenocistein i metilselenocistein (Huang i sur., 2022.a), koji su zapravo dominantni oblici selena zastupljeni u zrnu soje obogaćene selenom (Deng i sur., 2021.). Organski oblici selena imaju relativno nisku toksičnost i visoku hranjivu vrijednost u usporedbi s anorganskim oblicima selena (Adadi i sur., 2019.). Kod domaćih životinja postoji akutno, subakutno i kronično trovanje selenom. Otrovanja selenom nastaju ingestijom usjeva koji nakupljaju selen iz tala koja su bogata selenom, i to zbog pogrješaka u hranidbi prilikom prekomjerna dodavanja različitih dodataka selena u obroke životinja, kao i hranom i vodom koji vuku podrijetlo iz kontaminiranoga područja (Aladrović i sur., 2021.).

UTJECAJ OBOGAĆIVANJA SOJE SELENOM U PROCESU BIOFORTIFIKACIJE

Biofortifikacija je postupak koji na prirodan i relativno siguran način poboljšava opskrbu životinja u procesu obogaćivanja usjeva/biljaka selenom (Banuelos i sur., 2023.). Iako je u brojnim regijama u svijetu utvrđen nedostatak selena u tlima i u obrocima životinja, potrebna je stroga kontrola sadržaja selena u suhoj tvari biljaka/usjeva. Ova klasična metoda zove se „agronomska biofortifikacija“, a provodi se gnojidbom tala selenovim gnojivima na kojima se uzgajaju navedeni usjevi ili folijarnom primjenom/tretiranjem selenom, kao i predtretmanom sjemena. Biljke akumuliraju selen uglavnom u anorganskome obliku, a zatim sintetiziraju selen aminokiseline u selenometionin i tako postaju izvor njegova organskoga oblika za životinje (Lyons i sur.

2007.). Organski oblici selena su znatno sigurniji za životinje zbog manje mogućnosti predoziranja pri konzumaciji usjeva/biljaka biofortificiranih selenom (Terry i sur., 2000.). Primjerice, biljke/usjevi koji rastu na tlima bogatim selenom ne sadrže više od 10 mg/kg selena u suhoj tvari. Većina biljaka sadrži samo 1 – 2 mg/kg selena, ali postoje i selenoformne biljke, koje mogu skladištiti značajno veće količine selena. Deng i sur. (2022.) navode da je agronomska biofortifikacija primjenom u tlo ili folijarnim tretiranjem jednostavna i isplativa metoda za povećanje sadržaja selena u jestivim dijelovima usjeva/biljke. Pozornost treba obratiti na mogućnost pojačanoga imobiliziranja s obzirom na različite sastojke tla, ali i na mogućnost ispiranja (Liu i sur., 2015.), što ima za rezultat smanjenu bioraspoloživost selena. Dakle, kemijska svojstva tla i mikrobna aktivnost u tlu također značajno utječu na postizanje željenoga učinka. Poznat je povoljan utjecaj gnojidbe biljaka selenom putem tla na brojne fiziološke sustave biljaka. Biljke apsorbiraju selen u obliku organskoga selena (selenocistein, selenometionina, Se(IV) i Se(VI)); Gupta i Gupta, 2017.). White (2015.) ističe da korijenje biljaka ne može apsorbirati Se(II), ali može apsorbirati organske oblike selena kao što su selenocistein i selenometionina te anorganske vrste selena kao što su Se(0), Se(IV) i Se(VI). Put apsorpcije Se(VI) u biljke je s pomoću transportera sulfata (Gupta i Gupta, 2017.), dok je to za Se(IV) putem transportera fosfata (Winkel i sur., 2015.).

Brojna istraživanja ukazuju da je učinkovitija folijarna primjena/tretiranje biljaka preko lisne površine negoli gnojidba gnojivima na bazi selena (Danso i sur., 2023.). Navedeno se pojašnjava smanjenjem međudjelovanja različitih sastojaka u tlu te skraćivanjem transportnoga puta od korijena do izdanaka biljaka. Osim toga, smatra se da je pri folijarnome tretiranju potrebna značajno manja količina selena za postizanje željenoga učinka kod usjeva/biljaka. Općenito se 80 % selena koji su usvojile žitarice transformira u organski oblik, koji je vezan na proteine (Deng i sur., 2017.). Selenit [Se(IV)] i selenat [Se(VI)] dva su glavna dostupna izvora selena za biljke.

Biofortifikacija se može kombinirati i s uzgojem sorata/genotipa s povećanom sposobnošću usvajanja selena s ciljem povećanja njegova sadržaja u jestivim usjevima, kao i poboljšanja prinosa na tlima s nedostatnim/nedostupnim mikroelementima (Borg i sur., 2009.). Genetska biofortifikacija je dugotrajna i vrlo zahtjevna metoda povećanja sadržaja mikro-

nutrijenata, pa i selena, ali je održiva i ekonomski učinkovita. Biofortifikacija biljaka selenom najčešće je zastupljena u područjima u kojima su tla deficitarna selenom (Australija, SAD, Novi Zeland, Brazil, Meksiko, Turska, Ujedinjeno Kraljevstvo, Finska, zemlje jugoistočne Europe i dr.).

Najčešća je primjena gnojiva na bazi selena u malim količinama, od svega 10 – 20 g/ha selena, s ciljem postizanja povoljnih učinaka biofortifikacije. S ciljem kvalitetnije raspodjele i lakše primjene često se koriste neka komercijalna gnojiva, primjerice urea ili kalcijev nitrat, koje onda predstavljaju komponentu „nosača“ u koju se selen umješuje (Ramkissoon i sur., 2019.). Navedena gnojidba dovodi do povećanja ukupnoga i bioraspoloživoga selena, što povećava i koncentraciju selena u biljkama/usjevima koje rastu na tako gnojenim tlima (Broadley i sur., 2010.). Međutim, važno je istaknuti da biljke usvajaju samo oko 12 % selena sadržanoga u gnojivima unesenima u tlo, jer je većina selena fiksirana u tlu te nije bioraspoloživa (Broadley i sur., 2010.). Stoga je za svaku fenofazu rasta biljaka potrebno ponoviti gnojidbu tla navedenim gnojivima. Ros i sur. (2016.) ističu da je folijarna primjena gnojiva na bazi selena na biljkama/usjevima dapače osam puta učinkovitija negoli klasična gnojidba tala navedenim gnojivima. Autori kao razlog navode brzinu procesa usvajanja i asimilacije selena, čime se izbjegavaju kompleksni procesi koji se odvijaju u tlu te se skraćuje vrijeme translokacije selena i poboljšava njegova biodostupnost iz korijena do ploda biljke/usjeva (Ramkissoon i sur., 2019.). Naime, biljke nakon folijarne aplikacije selenovih gnojiva usvajaju selen kroz lisne kutikule ili kroz trihome, stomate, stigme i hidatode (Wang i sur., 2016.).

Brojna su istraživanja provedena s ciljem biofortificiranja soje selenom te ispitivanja utjecaja na kemijski sastav soje, s naglaskom na sadržaj selena, ali i na prinos i kvalitetu takve soje.

Soja ima jaku sposobnost apsorpcije selena iz tla kada se selen asimilira u selenometionin i selenocistein, koji su glavni organski oblici selena u proteinima soje i visoke su bioraspoloživosti (Tie i sur., 2015.). Također, selen može zamijeniti sumpor u aminokiselinama koje sadrže sumpor, nespecifično se kombinirajući s njima u obliku selen-aminokiselina koje sadrže selenoproteini, čime se olakšavaju različite fiziološke aktivnosti (Bellinger i sur., 2009.). Chan i sur. (2010.) utvrdili su da je više od 80 % ukupnoga selena u soji obogaćenoj selenom vezano za proteine visoke molekulske mase. Međutim, sadržaj

selena u soji nije podjednako raspoređen, ovisno o frakcijama proteina. Proteini u zrnu soje uglavnom se sastoje od globulina (2S, 7S, 11S i 15S), s time da frakcije 7S i 11S čine 75,9 % ukupnih globulina (Fukushima, 1991.). Primjerice, istraživanje Denga i sur. (2021.) pokazalo je različitu sposobnost različitih frakcija proteina soje glede obogaćivanja selenom. Tako je sadržaj selena u frakciji 11S bio 38 % viši negoli u frakciji 7S u soji obogaćenoj folijarnim tretiranjem selenom, što ukazuje na veću sposobnost obogaćivanja selenom frakcije 11S u usporedbi sa frakcijom 7S.

U istraživanju Huang i sur. (2022.a) utvrđen je značajan utjecaj biofortifikacije selenom na različite morfološke i fiziološke pokazatelje kod klijanaca soje. Sjeme soje postavljeno je u inkubator s kontroliranim uvjetima (temperatura i vlaga) i namočeno otopinama selena u različitim koncentracijama (0, 5, 10, 20, 40 i 60 mg/L selena). Navedeni autori utvrdili su povećanje za 87,3 puta ukupnoga sadržaja selena u klijancima soje, dok je značajan dio anorganskoga selena transformiran u organski selen tijekom 24 sata od klijanja. Utvrđene su i najzastupljenije specijacije selena (metilselenocistein i selenometionin). Također je utvrđeno i da se biofortifikacijom selenom povećao sadržaj ukupnih fenola i flavonoida te aminokiselina, a posebno kod tretmana s nižom koncentracijom selena.

Pri uzgoju soje na tlima koja su gnojena monoamonijfosfatom obogaćenim selenom, što je oko 80 g/ha selena, Silva i sur. (2022.) utvrdili su da je došlo do povećanja prinosa zrna soje. Osim toga, povećao se i sadržaj aminokiselina u zrnu i smanjena je lipidna peroksidacija.

U istraživanju Denga i sur. (2022.) utvrđeni su distribucija i specijacija selena u proteinima soje te njegov utjecaj na strukturu i funkcionalnost proteina soje. Folijarno tretiranje soje provedeno je sa

60 g/ha natrijeva selenita ili natrijeva selenata. Bez obzira na primijenjeni oblik selena, nije bilo utjecaja na prinos zrna soje. Utvrđen je značajan utjecaj u sadržaju selena u soji tretiranoj selenitom i selenatom, koji je bio 57,7 i 104,3 puta veći od kontrole. Učinkovitost iskorištenja selena iz zrna soje tretirane selenatom bila je 28,3 %, što je ~ 1,8 puta više od tretmana selenitom (Tablica 2). Utvrđeno je također da je u soji obogaćenoj selenom selen uglavnom (>90 % ukupnog Se) bio u organskome obliku (selenometionin), i to bez obzira na izvor selena. Sadržaj selena u izolatu proteina soje i glicinina bio je 29,1 – 38,6 % veći od koncentrata proteina soje i β-konglicinina u soji obogaćenoj selenom, pri čemu je selenometionin bio zastupljen > 80 % ukupnoga selena u svim proteinima. Sadržaj metionina koji sadrži sumpor u izolatu proteina soje i glicinina značajno se je smanjio u soji obogaćenoj selenom u usporedbi s kontrolom. Nije utvrđen značajan učinak selena na sadržaj i sastav proteina, sekundarnu strukturu i mikromorfologiju, odnosno funkcionalnost. Folijarno tretiranje soje selenatom pruža ekonomičan i učinkovit način proizvodnje soje obogaćene selenom, bez utjecaja na strukturu i funkcionalnost proteina, pri čemu izolat proteina soje i glicinin pokazuju visoku sposobnost obogaćivanja selenom (uglavnom selenometioninom). Provedbom metaanalize Galić i sur. (2021.a) također su potvrdili da je, za razliku od selenita, pri biofortifikaciji selenom selenat žitaricama (osim riže) učinkovitiji oblik za iskorištenje.

Yang i sur. (2003.) proveli su poljske pokuse primjenom u tlo i folijarnim tretiranjem biljke soje selenitom ili gnojivom obogaćenim selenom. Tretman 1 obuhvaćao je gnojidbu tla selenovim gnojivima (300 g/ha selena), a tretman 2 folijarnu primjenu s 200 g/ha selena. Navedeni autori utvrdili su da niti metoda primjene niti izvor selena nisu utjecali na sadržaj proteina u soji. Međutim, utvrđeno je značaj-

Tablica 2. Prinos zrna soje i sadržaj selena u zrnu soje (Deng i sur., 2022.)

Table 2 Soybean seed yield and selenium content in soybean seed (Deng et al., 2022)

Tretman Treatment	Prinos zrna soje (t/ha) Soybean seed yield (t/ha)	Sadržaj selena (mg/kg) Selenium content (mg/kg)	Učinkovitost iskorištenja selena (%) Soybean seed's selenium recovery efficiency (%)
Kontrola / Control	1,46 ± 0,16 ^a	0,11 ± 0,02 ^c	-
Selenit / Selenite	1,52 ± 0,15 ^a	6,35 ± 0,52 ^b	16,07 ± 2,65 ^b
Selenat / Selenate	1,48 ± 0,11 ^a	11,47 ± 0,48 ^a	28,29 ± 3,22 ^a

^{abc}vrijednosti s različitim slovima u istoj koloni su značajno različite (P<0,05)

^{abc}The values marked with different letters in the same column are significantly different (P<0,05).

no povećanje sadržaja selena u zrnu soje pri gnojdbi selenitom i gnojivima obogaćenih selenom, od 0,028 do 0,115-0,199 $\mu\text{g/g}$ pri aplikaciji u tlo, a pri folijarnoj aplikaciji selenovih gnojiva na 1,126-1,211 $\mu\text{g/g}$. Navedeni autori također su utvrdili značajan utjecaj različitih sorata soje na usvajanje selena.

Zhao i sur. (2019.) također su ukazali da je smanjen sadržaj metionina u proteinima zrna soje obogaćene selenom u usporedbi sa zrnom soje kontrolne skupine. Navedeno pokazuje da selen može utjecati na sintezu aminokiselina koje sadrže sumpor u proteinima soje. Mehanizmi djelovanja pojašnjavaju se time da usjevi asimiliraju selen asimilacijskim putevima sumpora, tako da selen može djelomično zamijeniti sumpor, odnosno selenometionin i metilselenocistein mogu izravno zamijeniti metionin i cistein tijekom sinteze proteina, što rezultira smanjenjem sadržaja metionina i cisteina u proteinima (Schiavon i Pilon-Smits, 2017.).

Istraživanja provedena s dvije sorte soje pri različitim načinima aplikacije (tlo ili folijarno) selenovih gnojiva korištenjem organskoga ili anorganskog selena (10 g/ha ili 80 g/ha) prikazana su u studiji autora Silve i sur. (2023.). Dobiveni su rezultati pokazali da su svi tretmani anorganskim selenom (tlo ili folijarno) povećali sadržaj selena u zrnu soje u usporedbi s kontrolom. Više od 80 % ukupnoga selena bilo je u obliku selenometionina, a specijacijom selena u zrnu soje utvrđena je značajna razlika, ovisno o aplikaciji selena (tlo ili folijarna primjena).

Pri aplikaciji selena u tlo Deng i sur. (2021.) utvrdili su povećanje prinosa soje u usporedbi s kontrolom, dok se sadržaj proteina u zrnu soje nije značajno mijenjao. Prijašnje studije pokazale su da se na taj način može poboljšati rast i povećati antioksidacijski kapacitet u biljkama, što utječe na prinos, i to uglavnom onda kada su biljke izložene stresnim uvjetima (Nawaz i sur., 2015.; Ravelle i sur., 2021.). Tako su Galić i sur. (2021.b) istraživali fiziološki odgovor klijanaca soje obogaćene selenom kod dviju sorata (*Sonja* i *Lucija*) u uvjetima osmotskoga stresa u klimatskoj komori. Ovisno o sorti, u klijancima soje obogaćene selenom utvrđene su nakon tjedan dana značajne razlike u sadržaju selena, što se očitovalo i na peroksidacijskome učinku kod sorte *Sonja* i antioksidacijskome učinku kod sorte *Lucija*, koji su potvrđeni utvrđivanjem sadržaja lipidne peroksidacije, prolina, ukupnoga sadržaja fenola, vitamina C i ukupne antioksidacijske aktivnosti. Autori su zaključili da različite sorte soje pokazuju različite fiziološke reakcije i na osmotski stres, i na biofortifikaciju selenom.

Lončarić i sur. (2018.) proveli su istraživanja biofortifikacije pet sorata soje selenom na tlima siromašnim selenom u istočnoj Hrvatskoj. U fenofazi cvatnje soje provedena je agronomska biofortifikacija soje folijarnom aplikacijom otopine natrijeva selenata (10 g/ha selena). Autori nisu utvrdili da je folijarna aplikacija selena utjecala na prinos zrna soje, ali je značajno povećana koncentracija selena u zrnu soje, i to prosječno 19,7 puta (kontrola 30 $\mu\text{g/kg}$, a nakon folijarne aplikacije 588 $\mu\text{g/kg}$ selena). Utvrđene su i sorte specifičnosti biofortificirane soje, i to od najvećega do najmanjega sadržaja u zrnu (*Sanda*: 780 $\mu\text{g/kg}$; *Ika*: 660 $\mu\text{g/kg}$; *Lucija*: 596 $\mu\text{g/kg}$; *Korana*: 556 $\mu\text{g/kg}$; te *Toma*: 351 $\mu\text{g/kg}$). Autori su također utvrdili i povećanje sadržaja selena u mahunama biofortificirane soje (kontrola 17, a nakon folijarne aplikacije 210 $\mu\text{g/kg}$), uz razlike između sorata. U zaključku autori navode da su dobiveni rezultati pokazali uspješnost i sortnu specifičnost agronomske biofortifikacije soje, s prosječnim povećanjem sadržaja selena u zrnu 19,7 puta u odnosu na kontrolu do najvećeg 780 $\mu\text{g/kg}$ selena.

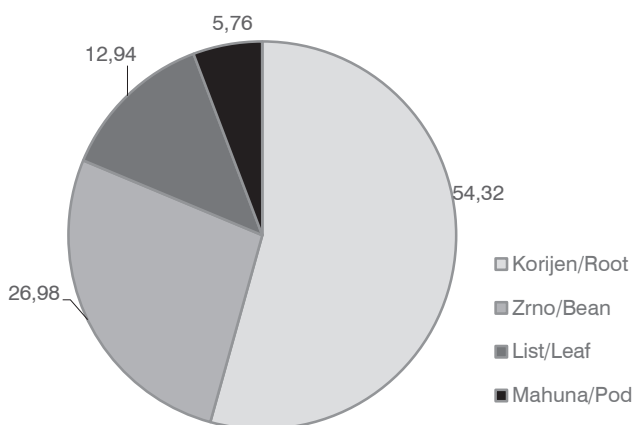
Chan i sur. (2010.) istraživali su profil selena, uključujući i ukupnu koncentraciju selena i njegovu distribuciju s obzirom na molekulske mase u biljci soje obogaćene selenom (selenit) istraživali su. Selenometionin i selenocistein dominantni su oblici selena niske molekulske mase koji se nalaze u zrnu, dok je sadržaj anorganskoga selena bio dominantan u drugim dijelovima biljaka soje. Najveći sadržaj selena utvrđen je u korijenu soje (151 mg/kg, tj. 54,32 % ukupnoga selena) koji je imao izravan kontakt s tlom s dodatkom selena (Grafikon 1). Primjerice, zrno soje nakuplja znatno više selena (75 mg/kg) u usporedbi s listovima (36 mg/kg) i mahunama (16 mg/kg). Tijekom obogaćivanja soje selenom nisu utvrđena oštećenja biljaka, što ukazuje da odgovarajući dodatak selena potiče rast i djeluje kao antioksidans inhibiranjem peroksidacije lipida u stanicama pri oštećenju biljaka. Budući da je selen esencijalni mikronutrijent i značajan je u borbi s pojavnošću bolesti, ali i u borbi protiv raka, relativno visok sadržaj selena u zrnu soje biofortificirane selenom može biti dodatna prednost.

Huang i sur. (2022.b) istraživali su biofortifikaciju soje selenom tijekom klijanja te su utvrdili da je to učinkovita metoda u proizvodnji sojinih klijanaca obogaćenih selenom. Utvrđen sadržaj selena u klijancima soje biofortificirane selenom bio je 79,8 puta viši od kontrole. U klijancima soje biofortificira-

ne selenom utvrđeni su selenometionin i metilsele-nocistein kao dominantni oblici selena (41,5 – 80,5 i 19,5 – 21,2 % ukupnoga selena). Biofortifikacija se-lenom nije imala značajnoga učinka na sadržaj ami-nokiselina, ali je smanjen sadržaj metionina u 11S frakciji proteina soje. Isto tako, biofortifikacija klija-naca soje selenom nije imala utjecaj na sposobnost zadržavanja vode i ulja u proteinima soje, uz utvrđen veći antioksidacijski kapacitet u frakciji 7S, ali ne i u frakciji 11S proteina soje. Navedeno ukazuje na različitost obogaćivanja glavnih frakcija proteina se-lenom u soji.

ISTRAŽIVANJA BIOFORTIFICIRANE SOJE SELENOM I NJEZINIH IZOLATA U PRIMJENI KOD ŽIVOTINJA

Vrlo je malo istraživanja o korištenju biofortificirane soje selenom u hranidbi životinja, a u dostupnoj literaturi pronađen je samo jedan rad o njezinu korištenju kod domaćih životinja. Analizom dostupne literature pronađeno je pet radova koji uključuju korištenje biofortificirane soje selenom ili njezinih izolata proteina u hranidbi laboratorijskih životinja (miševa i štakora). Navedeno bi moglo biti kvalitetna niša za daljnja istraživanja, koja će imati za cilj ukazati na mogućnosti primjene soje biofortificirane selenom u hranidbi domaćih životinja. Također, u budućnosti treba provesti i istraživanja o mogućem utjecaju toplinskih tretmana/obrada zrna soje na stabilnost i učinkovitost usvajanja selena kod životinja. U nastavku dajemo kratak pregled pronađenih istraživanja, s njihovim osnovnim zaključcima i preporukama.



Grafikon 1. Postotni udio ukupnoga selena sadržanoga u pojedinim dijelovima biljke soje obogaćene selenom

Graph 1 The percentage of total selenium contained in the individual parts of the selenium-enriched soybean plant

Jelić i sur. (2020.) proveli su istraživanje primjenom soje biofortificirane selenom, same ili u kombinaciji s biofortificiranim kukuruzom, dodane krmnoj smjesi za hranidbu tovnih pilića. U istraživanje je uključeno 90 tovnih pilića podijeljenih u tri skupine. Kontrolna skupina pilića hranjena je krmnom smjesom u kojoj je u pokusnoj skupini 1 (P1) korištena soja biofortificirana selenom, a u pokusnoj skupini 2 (P2) i soja i kukuruz biofortificirani selenom. Sadržaj selena u soji kontrolne skupine i biofortificirane soje u pokusnoj skupini bili su 0,044 mg/kg i 0,16 mg/kg, dok je sadržaj u kukuruzu kontrolne skupine bio 0,016 mg/kg, a biofortificirani kukuruz pokusne skupine imao je 0,03 mg/kg selena. Ukupan sadržaj selena u hrani kontrolne skupine iznosio je 0,06 mg/kg, P1 skupine 0,16 mg/kg, a P2 skupine 0,19 mg/kg. Nisu utvrđene značajne razlike između skupina u proizvodnim svojstvima pilića osim tjelesne mase u četvrtome tjednu tova, kao ni razlike u biokemijskim pokazateljima u krvi pilića osim željeza. Međutim, utvrđen je značajan utjecaj na klaoničke pokazatelje kod pojedinih dijelova trupa. Tako su prsa u skupini P2 imala puno veću masu od kontrolne skupine i skupine P1. Također je utvrđena značajna razlika u sadržaju selena u bijelome mesu i zabatku između skupine P2 i kontrole te skupine P2 i P1 skupine. Autori su u konačnici zaključili da nije bilo značajnoga utjecaja primjene biofortificiranih krmiva na proizvodna svojstva tovnih pilića, ali je utvrđena značajna razlika u masi pojedinih dijelova trupa (masa prsa), koja je i najkvalitetniji, ali i najskuplji dio trupa, kao i značajno veći sadržaj selena u bijelome mesu i zabatku u pokusnih skupina. Navedeno ukazuje na opravdanu primjenu biofortificiranih krmiva (soja + kukuruz) u hranidbi tovnih pilića i mogućnost proizvodnje funkcionalne hrane.

Zhang i sur. (2021.) koristili su peptide soje obogaćene selenom, koji su izolirani i pročišćeni iz hidrolizata proteina soje obogaćene selenom ultrafiltracijom. Istraživanje je provedeno s imunosuprimiranim miševima ciklofosfamidom s ciljem utvrđivanja imunomodulacijskih učinaka peptida soje obogaćene selenom. Ukupno 60 muških jedinaka starih šest tjedana i tjelesne mase od 20 g držano je na konstantnoj temperaturi od 24 °C i pri relativnoj vlažnosti zraka od 50 – 60 %, s intervalima 12 sati dan i 12 sati noć. Hranidba je provedena peletiranim smjesom uz slobodni pristup vodi, a peptidi soje obogaćeni selenom su davani oralno tijekom 15 dana. Primjena peptida soje obogaćene selenom dovela je do ublažavanja atrofije imunoloških organa i gubitaka mase kod imunosupresivnih miševa.

Također je utvrđeno značajno poboljšanje koncentracija ukupnih proteina, albumina, imunoglobulina (IgM, IgG i IgA) te veći broj leukocita u krvi, ali i značajno više razine interleukina-2 (IL-2), gama-interferona (INF- γ), dušikova oksida (NO) i cikličkoga guanozin-monofosfata povećanjem ekspresije mRNA IL-2, INF- γ i smanjenjem NO u tkivu slezene. Navedeni autori u zaključku ističu da je utvrđeno učinkovito povećanje imunološkoga kapaciteta u imunosupresivnih miševa, što pokazuje da su peptidi soje obogaćene selenom učinkovit imunomodulator, s potencijalnom primjenom u funkcionalnoj hrani ili dodacima prehrani.

Cilj studije Liu i sur. (2018.) bio je istražiti hepatoprotektivne učinke peptida soje obogaćene selenom na fibrozu jetre izazvanu tetraklorometanom (CCl₄) u štakora. Soja je obogaćena selenom folijarnim tretiranjem selenovim gnojivom (0,1 g natrijselenita i 2,8 g natrijeva alginata otopljenoga u 1 L vode). Soja je tretirana svaki drugi dan u fenofazi cvatnje do mjesec dana prije žetve. U istraživanje je uključeno 66 štakora prosječne tjelesne mase od 180 g. Životinje su držane na konstantnoj temperaturi od 22 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 60 %, s dvanaesterosatnim ciklusom dana i noći. Životinje su hranjene komercijalnom krmnom smjesom u koju je u pokusnim skupinama dodana različita koncentracija peptida soje obogaćene selenom. Utvrđeno je da peptidi soje obogaćene selenom značajno smanjuju fibrozu jetre inhibicijom sinteze aktina α -glatkih mišića u jetri i povećanjem ekspresije mRNA matrice metaloproteinaze 9 (MMP9). Također je utvrđeno značajno smanjenje aktivnosti aspartat-transaminaze i alanin-aminotransferaze u serumu te povećanje sadržaja glutationa i aktivnosti glutation-peroksidaze (GSH-Px) nakon tretmana peptidima soje obogaćene selenom. Rezultati imunohistokemijskih analiza pokazali su da su i infiltracija upalnih stanica i područje fibroze smanjeni pri tretmanu peptidima soje obogaćene selenom. Zaključno, navedeni autori ističu da se primjenom peptida soje obogaćene selenom može smanjiti fibroza jetre izazvana CCl₄ poboljšanjem sinteze GSH-Px i povećanjem razine ekspresije mRNA MMP9. Wang i sur. (2014.) davali su štakorima peptide soje obogaćene selenom tijekom deset tjedana te su utvrdili smanjenje oštećenja jetrenih stanica i poboljšanje antioksidacijske funkcije kod štakora s masnom jetrom uzrokovanom hranidbom s visokim udjelom masti.

Pročišćavanjem sojina proteina nakon enzimolize proteazom nastaju peptidi soje koji mogu potaknuti imunološki sustav prilagodbom sadržaja

imunoglobulina i drugih imunoloških čimbenika (Zhang i sur., 2020.). Pri hranidbi štakora peptidima i proteinima soje biofortificirane selenom utvrđena je brža apsorpcija peptida soje biofortificirane selenom u tijelu štakora, što ukazuje na opravdanost daljnjih istraživanja vezanih za biofortifikaciju navedenih sojinih izolata selenom (Gao i sur., 2021.). U konačnici, uz utvrđenu bržu apsorpciju i značajnu bolju funkcionalnost u tijelu, primjena peptida soje biofortificirane anorganskim selenom sigurniji su i zbog niske toksičnosti, što ukazuje na opravdano korištenje u hranidbi.

Usjevi obogaćeni selenom kvalitetan su funkcionalan izvor zbog svojih antitumorskih i antikancerogenih svojstava, naglašavaju u svojoj studiji Zhang i sur. (2020.). U ovoj studiji proučavan je utjecaj konjugata proteina soje i polifenola obogaćenih selenom u antioksidacijskim testovima *in vitro* te antioksidacijski mehanizmi zaštite kože miševa oštećenih UV-B zrakama. Folijarno tretiranje soje provedeno je u fenofazi cvatnje (mjesec dana prije žetve) svaki drugi dan, i to četiri tjedna selenovim gnojivom (0,1 g natrijselenit i 2,8 g natrijeva alginata otopljenoga u 1 L vode). Nakon žetve iz zrna soje ekstrahirani su globulini. U istraživanje je uključeno 40 ženki miševa, smještenih u ciklusu 12 sati dana 12 sati noć, pri konstantnoj temperaturi od 22 °C. Miševi su podijeljeni u četiri skupine po 10 jedina te su tretirani s 20 mg/mL uzorka sojinih konjugata i polifenola obogaćenih selenom u pokusnim skupinama, dok je kontrolna skupina tretirana fiziološkom otopinom 30 minuta prije izlaganja UV-B zračenju (120 μ W/cm²). Miševi su usmrćeni nakon pet dana izlaganja UV-B zracima. Rezultati su pokazali da je antioksidacijska aktivnost konjugata između 7S globulina iz soje obogaćene selenom (Se-7S) i epigalokatehin galatom, to jest EGCG-om (Se-7S-EGCG), značajno viša ($P < 0,05$) od one obogaćene Se-7S-GA-om (galska kiselina). Strukturne karakteristike upućuju na to da je došlo do polimerizacije polifenola s aminokiselinskim ostacima. Naime, Se-7S-EGCG inhibirao je apoptozu epidermalnih stanica induciranu UV-B-om. U zaključku autori navode da navedeni rezultati daju dobru osnovu za daljnju primjenu konjugata proteina soje i polifenola obogaćenih selenom.

ZAKLJUČAK

Biofortifikacija soje selenom učinkovit je postupak s ciljem obogaćivanja soje selenom te može biti dio sveobuhvatne strategije u borbi sa široko ra-

sprostranjenim nedostatkom selena u hranidbenome lancu biljka-životinja-čovjek. Osim toga, buduće studije trebale bi uključiti cijeli spektar istraživanja, od specijacije različitih oblika selena (s obzirom na njegovu različitu biodostupnost) i njegove zastupljenosti u tlu, biljkama/usjevima i živim organizmima do provedbe brojnih testova *in vitro* i *in vivo* s različitim vrstama domaćih životinja. Također, u budućnosti treba provesti i istraživanja o mogućem utjecaju toplinskih tretmana/obrada zrna soje na stabilnost i učinkovitost usvajanja selena kod životinja.

LITERATURA

- Adadi, P., Barakova, N.V., Muravyov, K.Y., Krivoshapkina, E.F. (2019.): Designing selenium functional foods and beverages: Food Research International, 120: 708–725.
- Aladrović, J., Lozančić, I., Lojkić, M., Pušić, I., Pađen, L., Prevendar Crnić, A. (2021.): Fiziološki i toksični učinci selena u životinja. Hrvatski veterinarski vjesnik, 29 (1): 22-31.
- Antunović, Z., Steiner, Z., Vegara, M., Šperanda, M., Steiner, Z., Novoselec, J. (2010.): Concentration of selenium in soil, pasture, blood and wool of sheep. Acta Veterinaria-Beograd, 60: 263-271.
- Antunović, Z., Novoselec, J., Klir Šalavardić, Ž. (2020.): Obogaćivanje janječeg mesa selenom. Krmiva, 62(2): 85-96.
- Antunović, Z., Klir Šalavardić, Ž., Sičaja, V., Novoselec, J. (2021.): Obogaćivanje mlijeka malih preživača selenom. Krmiva 63(2): 75-97.
- Banuelos, G.S., Lin, Z.Q., Caton, J. (2023.): Editorial: Selenium in soil-plant-animal systems and its essential role for human health. Frontiers in Plant Science, 14: 1237646.
- Bellinger, F.P., Raman, A. V., Reeves, M.A., Berry, M.J. (2009). Regulation and function of selenoproteins in human disease. Biochemical Journal, 422: 11–22.
- Borg, S., Brinch-Pedersen, H., Tauris, B., Holm, P.B. (2009.): Iron transport, deposition and bioavailability in the wheat and barley grain. Plant and Soil, 325 (1-2): 15-24.
- Broadley, M.R., Alcock, J., Alford, J., Cartwright, P., Foot, I., Fairweather-Tait, S.J., Hart, D.J., Hurst, R., Knott, P., McGrath, S.P., Meacham, M.C. (2010.): Selenium biofortification of highyielding winter wheat (*Triticum aestivum* L.) by liquid or granular Se fertilisation. Plant Soil, 332: 5–18.
- Chan, Q., Afton, S.E., Caruso, S.A. (2010.): Selenium speciation profiles in selenite-enriched soybean (*Glycine Max*) by HPLC-ICPMS and ESI-ITMS. Metallomics, 2: 147–153.
- Danso, O.P., Asante-Badu, B., Zhang, Z., Song, J., Wang, Z., Yin, X., Zhu, R. (2023.): Selenium biofortification: Strategies, progress and challenges. Agriculture, 13, 416.
- Deng, X., Liu, K., Li, M., Zhang, W., Zhao, Z., Liu, X. (2017): Difference of selenium uptake and distribution in the plant and selenium form in the grains of rice with foliar spray of selenite or selenate at different stages. Field Crops Research, 211, 165-171.
- Deng, X., Zhao, Z., Lv, C., Zhang, Z. Z., Yuan, L. X., Liu, X. (2021.): Effects of sulfur application on selenium uptake and seed selenium speciation in soybean (*Glycine max* L.) grown in different soil types. Ecotoxicology and Environmental Safety, 209: 111790.
- Deng, X., Liao, J., Zhao, Z., Qin, Y., Liu, X. (2022.): Distribution and speciation of selenium in soybean proteins and its effect on protein structure and functionality. Food Chemistry, 370: 130982.
- DiazAlarcon, J.P., NavarroAlarcon, M., delaSerrana, H.L.G., LopezMartinez, M.C. (1996.): Determination of selenium in cereals, legumes and dry fruits from southeastern Spain for calculation of daily dietary intake. Science of The Total Environment, 184: 183–189.
- Domaćinović, M. (1996.): Hranidba domaćih životinja: osnove hranidbe i krmiva. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, str. 439
- Fukushima, D. (1991.): Recent progress of soybean protein foods: Chemistry, technology, and nutrition. Food Reviews International, 7(3): 323–351.
- Galić, L., Vinković, T., Ravnjak, B., Lončarić, Z. (2021.a): Agronomic Biofortification of Significant Cereal Crops with Selenium-A Review. Agronomy, 11, 1015.
- Galić, L., Špoljarević, M., Jakovac, E., Ravnjak, B., Teklić, T., Lisjak, M., Perić, K., Nemet, F., Lončarić, Z. (2021.b): Selenium biofortification of soybean seeds influences physiological responses of seedlings to osmotic stress. Plants, 10: 1498.
- Gavrilović, B. (1982.): Važnost količine selena u tlu i krmivima u odnosu na pojavu nekih bolesti goveda, svinja i ovaca. Stočarstvo, 36 (11-12): 409-420.
- Gao, S., Zhang, J., Zhang, Q., Li, W., Li, H., Yu, T., Liu, Q. (2021.): Preparation and in vivo absorption characteristics of selenium-enriched soybean peptides. Food Science, 42 (3): 165–172.
- Gu, X. and Gao, C. (2022.): New horizons for selenium in animal nutrition and functional foods. Animal Nutrition, 11: 80-86.
- Gupta, M., and Gupta, S. (2017.): An Overview of Selenium Uptake, Metabolism, and Toxicity in Plants. Frontiers in Plant Science, 7: 2074.

24. Huang, L., Ding, X., Dai, C., Ma, H. (2017.): Changes in the structure and dissociation of soybean protein isolate induced by ultrasound-assisted acid pretreatment. *Food Chemistry*, 232: 727–732.
25. Huang, Y., Fan, B., Lei, N., Xiong, Y., Liu, Y., Tong, L., Wang, F., Maesen, P., Blecker, C. (2022.a): Selenium biofortification of soybean sprouts: Effects of selenium enrichment on proteins, protein structure, and functional properties. *Frontiers in Nutrition*, 9: 849928.
26. Huang, J., Qian, J., Wang, S., Li, Y., Zhai, X., Olajide, T.M., Shen, G.X., Liao, X. (2022.b): Effect of selenium biofortification on bioactive compounds and antioxidant activity in germinated black soybean. *Journal of Food Science*, 87: 1009–1019.
27. Jelić, S. (2020.): Primjena selenom biofortificiranog kukuruza i soje u hranidbi tovnihi pilića. Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek. Diplomski rad, str. 56.
28. Jeong, D. and Lee, K.H. (2011.): Bimodal actions of selenium essential for antioxidant and toxic pro-oxidant activities: The selenium paradox (Review). *Molecular Medicine Reports*, 5: 299–304.
29. Lin, Y.H. and Shiau, S.Y. (2007.): The effects of dietary selenium on the oxidative stress of grouper (*Epinephelus malabaricus*) fed high copper. *Aquaculture*, 267: 38–43.
30. Liu, X., Zhao, Z., Duan, B., Hu, C., Zhao, X., Guo, Z. (2015.): Effect of applied sulphur on the uptake by wheat of selenium applied as selenite. *Plant and Soil*, 386 (1-2): 35-45.
31. Liu, W., Hou, T., Shi, W., Guo, D., He, H. (2018.): Hepatoprotective effects of selenium-biofortified soybean peptides on liver fibrosis induced by tetrachloromethane. *Journal of Functional Foods*, 50: 183–191.
32. Lončarić, Z., Martić, M., Rastija, D., Kerovec, D., Sudarić, A. (2018.): Agronomska biofortifikacija soje na tlu siromašnom selenom. Knjiga sažetaka: „Potencijali tla i zemljišnih resursa: ključne uloge znanosti i učinkovitih politika“. Romić, M., Rastija, D., Popović, B., Vukovar. Hrvatsko tloznanstveno društvo, str. 52.
33. Lyons, M.P., Papazyan, T.T., Surai, P.F. (2007.): Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from nature-review. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*, 20(7):1135-1155.
34. Malagoli, M., Chiavon, M., dall' Acqua, S., Pilon-Smit, E.A.H. (2015.): Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. *Frontiers in Plant Science*, 6: 280.
35. Mao, H., Wang, J., Wang, Z., Zan, Y., Lyons, G., Zou, C. (2014.): Using agronomic biofortification to boost zinc, selenium, and iodine concentrations of food crops grown on the loess plateau in China. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14(2): 459-470.
36. Minson, D. J. (1990.): *Forage in Ruminant Nutrition*. Academic Press, New York, 295-382.
37. Nawaz, F., Ahmad, R., Ashraf, M.Y.Y., Waraich, E.A.A., Khan, S.Z.Z. (2015.): Effect of selenium foliar spray on physiological and biochemical processes and chemical constituents of wheat under drought stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 113: 191–200
38. Novoselec, J., Klir, Ž., Domaćinović, M., Lončarić, Z., Antunović, Z. (2018.): Biofortification of feedstuffs with microelements in animal nutrition. *Poljoprivreda*, 24 (1): 25-34.
39. Patil, G., Mian, R., Vuong, T., Pantalone, V., Song, Q., Chen, P., Nguyen, H.T. (2017.): Molecular mapping and genomics of soybean seed protein: A review and perspective for the future. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(10): 1975–1991.
40. Pecoraro, B.M., Leal, D.F., Frias-De-Diego, A., Browning, M., Odle, J., Crisci, E. (2022.): The health benefits of selenium in food animals: a review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13: 58.
41. Ramkissoon, C., Degryse, F., da Silva, R.C., Baird, R., Young, S.D., Bailey, E. H., McLaughlin, M. J. (2019.): Improving the efficacy of selenium fertilizers for wheat biofortification. *Scientific Reports*, 9(1): 19520.
42. Ravello, R.A.V., de Oliveira, C., Lessa, J., Boas, L.V.V., de Castro, E.M., Guilherme, L.R.G., Lopes, G. (2021.): Selenium application influenced selenium biofortification and physiological traits in water-deficit common bean plants. *Crop and Pasture Science*, 73: 44–55.
43. Rayman, M.P. (2004.): The use of high-selenium yeast to raise selenium status: How does it measure up? *British Journal of Nutrition*, 92: 557–573.
44. Rayman, M.P. (2012.): Selenium and human health. *The Lancet*, 379: 1256–1268.
45. Rehman, H.M., Cooper, J.W., Lam, H.M., Yang, S.H. (2018.): Legume biofortification is an underexploited strategy for combatting hidden hunger. *Plant Cell Environ*; 42: 52–70.
46. Ros, G.H., van Rotterdam, A.M.D., Bussink, D.W., Bindraban, P.S. (2016.): Selenium fertilization strategies for bio-fortification of food: an agro-ecosystem approach. *Plant Soil*, 404(1-2): 99-112.
47. Schiavon, M. and Pilon-Smits, E. A. (2017.): The fascinating facets of plant selenium accumulation - biochemistry, physiology, evolution and ecology. *New Phytologist*, 213: 1582–1596.
48. Silva, M.A., de Sousa, G.F., Corguinham A.P.B., de Lima Lessa, J.H., Dinali, G.S., Oliveira, C., Lopes, G., Amaral, D., Brown, P., Guilherme, L.R.G. (2022.): Selenium biofortification of soybean genotypes in a tropical soil via Se-enriched phosphate fertilizers. *Frontiers in Plant Science*, 13: 988140.

49. Silva, M.A., de Sousa, G.F., Bañuelos, G., Amaral, D., Brown, P.H., Guilherme, L.R.G. (2023.): Selenium Speciation in Se-Enriched Soybean Grains from Biofortified Plants Grown under Different Methods of Selenium Application. *Foods*, 12: 1214.
50. Tangjaidee, P., Swedlund, P., Xiang, J., Yin, H., Quek, S.Y. (2023.): Selenium-enriched plant foods: Selenium accumulation, speciation, and health functionality. *Frontiers in Nutrition*, 9: 962312.
51. Terry, N., Zayed, A.M., Desouza, M.P., Tarun, A.S. (2000.): Selenium in higher plants. *The Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51: 401–432.
52. Tie, M., Li, B., Zhuang, X., Han, J., Liu, L., Hu, Y., Li, H. (2015.): Selenium speciation in soybean by high performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization–tandem mass spectrometry (HPLC–ESI–MS/MS). *Microchemical Journal*, 123: 70–75.
53. Yang, F., Chen, L., Hu, Q., Pan, G. (2003.): Effect of the application of selenium on selenium content of soybean and its products. *Biological Trace Element Research*, 93: 249–256.
54. Wang, F.J., Chen, X.B., Zhang, S.Y., Tan, Z., X., Xiang, G.M., Liu, J.H. (2014.): Effects of Se-riched soybean peptide on antioxidant function in rats of fatty liver caused by high-fat diet. *Zhongguo Ying Young Sheng Li Xue Za zhi*, 30(4): 339–342.
55. Wang, P., Lombi, E., Zhao, F.J., Kopittke, P.M. (2016.): Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sciences. *Trends in Plant Science*, 21: 699–712.
56. White, P.J. (2015.): Selenium accumulation by plants. *Annals of Botany* 117, 217–235.
57. Winkel, L.H.E., Vriens, B., Jones, G.D., Schneider, L.S., Pilon-Smits, E., Bañuelos, G.S. (2015.): Selenium Cycling Across Soil-Plant-Atmosphere Interfaces: A Critical Review. *Nutrients*, 7: 4199–4239.
58. Zhang, X., Hea, H., Hou, T. (2020.): Molecular mechanisms of selenium-biofortified soybean protein and polyphenol conjugates in protecting mouse skin damaged by UV-B. *Food & Function*, 11: 3563.
59. Zhang, J., Gao, S., Cao, M., Li, W., Liu, Y. (2021.): Immunomodulatory effects of selenium-enriched peptides from soybean in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice. *Food Science & Nutrition*, 21; 9(11): 6322–6334.
60. Zhao, X., Zhao, Q., Chen, H., and Xiong, H. (2019.): Distribution and effects of natural selenium in soybean proteins and its protective role in soybean β -conglycinin (7S globulins) under AAPH-induced oxidative stress. *Food Chemistry*, 272: 201–209.

SUMMARY

Soybean is a feedstuff rich in proteins, which is, together with its by-products (meal and cake), most often used in animal diets in order to provide a good-quality protein source. The aim of this paper is to present the possibilities of biofortification of soybeans with selenium and its application in animal feeding. Soybean is a high-quality source of selenium in organic form, primarily in the form of selenomethionine. Selenium is important in human and animal feeding due to its numerous physiological functions and is usually presented in insufficient amounts in the food chain. Biofortification of soybeans with selenium, specifically the agronomic one, can be used as a qualitative method of enriching edible parts of crops/soybeans with selenium. Inorganic selenium compounds (selenate and selenite) are most often used, which the crop/soybean transforms into an organic form that is more accessible to different organisms. The inorganic form of selenium like selenate is more bioavailable than selenite. Agrofortification of crops/forage by foliar treatment of crops is more effective than soil fertilization with selenium. The reason for this is to avoid very complex reactions which take place in the soil, causing significant differences in the absorption of selenium with regard to different environmental and soil conditions. In the available research, the biofortification of soybeans with selenium, carried out with inorganic forms of selenium, led to a significant increase in the content of selenium in soybeans, but no significant effect on the soybean yield and on the structure and functionality of soybean proteins was detected. However, there are also studies with opposite effects. There is not ample research on the use of selenium-biofortified soybean in animals feeding, especially in livestock. This could be a subject of further research, with the aim of pointing out the possibilities of using selenium-biofortified soybean in livestock feeding.

Keywords: soybean, biofortification, selenium, feeding