EFECTOS DE ALGUNOS FACTORES DEL SUELO SOBRE LA CONCENTRACION DE ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

(EFFECTS OF SOIL FACTORS ON THE ISOFLAVONE CONCENTRATION IN NATURAL PASTURE).

por

A.G. Gómez Castro\*, M. Medina Blanco\* y E. Peinado Lucena\*\*

- \* Cátedra de agricultura. Facultad de veterinaria. Córdoba (España).
- \*\* Instituto de zootecnia. C.S.I.C. Córdoba (España).

<u>Palabras clave</u>: Fitoestrógenos. Pastos naturales. Factores edáficos. Keywords: Phytoestrogens. Pasture. Edafic factors.

### Summary

The isoflavone content of natural pastures in the county of Córdoba has been studied. Soil factors can induce variations in the phytoestrogen level in the pasture. Soil organic matter, pH and Ca increments are determinants in the increase of isoflavone content. When the Mg concentration increases in soil the isoflavone level decreases. P and K effects are quite similar to that of pH and Ca and its significance is discussed on the basis of the botanical composition of pastures and its alterations.

#### Resumen

En la provincia de Córdoba, las más altas concentraciones de isoflavonas estrogénicas han sido encontradas en pastos naturales sobre suelos rojos mediterráneos y las más bajas corresponden a pastizales sobre tierras pardas meridionales sobre granitos. En ningún caso sus valores pueden considerarse peligrosos.

La concentración de isoflavonas estrogénicas aumenta a medida que lo hacen los niveles de materia orgánica del suelo y también cuando lo hacen pH y Ca, pero disminuyen al aumentar el MC. El incremento de

Recibido para publicación el 4-12-1981.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.242. GOMEZ CASTRO ET A.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

P y K edáficos provoca igualmente mayor tasa de isoflavonas en el pasto. Estos resultados se justifican en base a consideraciones sobre la composición botánica y sus cambios.

La significación y problemas derivados de los fitoestrógenos han sido recientemente sometidos a revisión por Medina Blanco, Peinado Lucena y Gómez Castro (12) y en otra comunicación se han estudiado las modificaciones estacionales en la concentración de dichas sustancias (Medina Blanco, Gómez Castro y Peinado Lucena (10) ). En el presente trabajo se pretende relacionar diversos factores del suelo con los niveles de isoflavonas estrogénicas en pastos naturales de la provincia de Córdoba.

### Material y métodos

Se estudian unas cuatrocientas muestras de pastos naturales situados al norte del río Guadalquivir, agrupadas según tipos de suelo (tabla I), niveles de materia orgánica, pH y concentraciones de Ca, Mg, P y K, atendiendo a los datos proporcionados por el Estudio agrobiológico de la provincia de Córdoba elaborado por el CEBAC (4).

Las isoflavonas se han dosificado, sobre muestras desecadas a 60º C. mediante la técnica de Dedio y Clark(6).

#### Resultados y discusión

En la tabla II se presenta la frecuencia de muestras positivas para cada isoflavona en los distintos tipos de suelos y en la tabla III las concentraciones correspondientes a las muestras positivas. La figura 1 corresponde a la representación gráfica de estos datos.

Se han registrado algunas diferencias significativas, posible reflejo de las condiciones del suelo, distintas para cada zona. Los suelos rojos sobre pizarras, de la zona III, son los que presentan mayor proporción de muestras positivas para todas las isoflavonas, con respecto a las restantes zonas, menos la I, lo que ha sido confirmado estadísticamente, salvo en el caso de genisteína y pratenseína. De otro lado, son las tierras pardas meridionales sobre granitos de la zona IV las que arrojan el mínimo de muestras positivas.

Las concentraciones de isoflavonas son máximas en los suelos rojos mediterráneos de la zona I, aunque esta circunstancia no ha podido ser

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.243. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

estadísticamente comprobada, pero si el hecho de que los valores minimos de las cifras de estos fitoestrógenos se encuentran en los pastizales de la zona IV.

Cuando los valores obtenidos para las frecuencias y concentraciones de isoflavonas se comparan con los correspondientes a algunos parámetros del suelo puede, en algunos casos, observarse una cierta relación que permite la obtención de deducciones. Así, en la figura 2, se presentan estas relaciones con la materia orgánica del suelo y puede registrarse una cierta tendencia a aumentar el número de muestras positivas a medida que lo hacen los niveles de aquella, lo que ha sido confirmado estadísticamente en algunos casos para genisteína, formononetina e isoflavonas en general. Las concentraciones de las isoflavonas son afectadas de modo similar pero más intenso, salvo en el caso de las isoflavonas metiladas (formononetina y biochanina A), en las que se aprecia una respuesta en sentido contrario.

Es bastante aparente (figura 3) el efecto de Ca y Mg y del pH, que en buena medida depende de ellos, sobre el hallazgo de muestras positivas, más abundantes a medida que aumentan sus valores; lo que puede explicarse con facilidad en base al favorable efecto que los mencionados parámetros ejercen sobre la dominancia de las leguminosas. Las concentraciones de isoflavonas responden por igual a la variación de Ca, Mg y pH, aunque en el caso del Mg el efecto se aprecia solamente hasta ciertos niveles edáficos de este elemento pero después la respuesta es de sentido contrario.

Alexander y Rossiter (1), en sus experiencias con fertilizantes fosforados y caliza, no determinaron la influencia adicional de ésta. En el presente trabajo se observa que el incremento del nivel de Ca en el suelo, y también de los valores de pH, se traduce en aumentos de la concentración de isoflavonas, que evidentemente puede ser consecuencia del predominio de leguminosas calcicolas, como se deduce del análisis de las gráficas que presentan la frecuencia de muestras positivas, y aunque el caso no es comparable, conviene señalar que Ferrando, Guilleux y Guerrillot-Venet (7) registrar incremento de la actividad estrogénica tras la aplicación de caliza.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p 244.

GOMEZ CASTRO <u>ET AL</u>.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

Tabla I. Características medias de los suelos.

Ti	po de suelo	pН	Materia orgáni-	C/N.	N p.	P2 <sup>0</sup> 5	K <sub>2</sub> 0	Ca	Mg
			ca (p. 100)		100		mg/100 g	de su	elo
Ι.	Suelos rojos meditenráneos	7.5	1.5 -	12.1	0.08	15.7	21.1	285	14.2
II.	Tierras pardas meridionales sobre pizarras	6.1	2.3	14.1	0.10	4.8	13.6	152	24.7
III.	Suelos rojos sobre pizarras	6.3	1.8	11.4	0.10	3.1	13.6	213	31.5
TV.	Tierras pardas meridionales sobre granitos	5.9	1.8	12.8	0.08	3.3	16.3	69	13.1

Tabla II. Frecuencias de hallazgos positivos para cada isoflavona en las distintas clases de suelo.

suelos	I	II	III	IV
piochanina A	41.18 abc	36.52 <sup>a</sup>	58.14 <sup>b</sup> ,	23.50°
genisteina	29.41 ,	27.83 <sup>a</sup>	20.93 <sup>ab</sup>	11.06 <sup>D</sup>
oratenseina	0.00 <sup>ab</sup>	17.39 <sup>a</sup>	4.65 <sup>D</sup>	7.83 <sup>D</sup>
formononetina	76.47 ab	60.00 <sup>a</sup>	81.40 <sup>D</sup>	40.09°
nidroxiisoflavonas	47.06 abc	43.48 <sup>a</sup>	66.12 <sup>b</sup>	28.57
isoflavonas	76.47 ab	66.96 <sup>a</sup>	86.05	47.47

pos datos de una misma línea son significativamente diferentes (al menos p<0.05) cuando los exponentes de uno no contienen a todos los del otro.

Archivos de zootecnia. vol. 31, núm. 121, 1982. p.245. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

Tabla III. Concentración de isoflavonas (en porcentajes de materia seca) en las muestras positivas de las distintas clases de suelos.

Suelos	I	II	III	IV
biochanina A	0.182 <sup>ab</sup>	0.089 <sup>a</sup>	0.047 <sup>b</sup>	0.059 <sup>ab</sup>
genisteina	0.198 <sup>a</sup>	0.069 <sup>a</sup>	0.058 <sup>a</sup>	0.044 <sup>a</sup>
pratenseľna	0.000 <sup>ab</sup>	0.083 <sup>a</sup>	0.076 <sup>a</sup>	0.065 <sup>b</sup>
formononetina	$0.099^{a}$	0.042 <sup>a</sup>	0.057 <sup>a</sup>	0.040 <sup>a</sup>
hidroxisoflavonas	0.380 <sup>ab</sup>	0.241 <sup>a</sup>	0.181 <sup>b</sup>	0.148 <sup>cb</sup>
isoflavonas	0.479 <sup>ab</sup>	0.283 <sup>a</sup>	0.238 <sup>ab</sup>	0.188 <sup>b</sup>

Dos datos de una misma línea son significativamente diferentes (al menos p < 0.05) cuando los exponentes de uno no contienen a todos los del otro.

El nivel de Mg influye sobre la concentración de isoflavonas de forma algo distinta, ya que aunque inicialmente se detecta una respuesta similar, pasado cierto umbral la tendencia se invierte. Sin embargo, la frecuencia de muestras positivas sigue aumentando tras un intervalo de valores de Mg edáfico que no la afecta. Alexander y Rossiter (1) no registaron efectos adicionales sobre la actividad estrogénica al sumar al fertilizante fosforado aplicaciones de K y Mg, aunque cabe la posibilidad, puesto que estos elementos no fueron aplicados aisladamente, de que una actividad contraria para dichos elementos, como se ha observado en este trabajo, ocultara los efectos de cada uno de ellos por separado.

Con respecto al P del suelo hay que destacar efectos poco notables sobre la frecuencia de muestras positivas (figura 4) en los valores más bajos, como norma general para todas las isoflavonas. Sin embargo, a partir de 30 mg de  $P_2O_5$  por 100 g de suelo, se observa, salvo en el caso de la formononetina, un notable aumento del número de hallazgos positivos.

En lo que se refieree a las concentraciones de las isoflavonas es general, y desde el principio, una respuesta positiva al aumento del Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.246. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

nivel de P en el suelo (figura 5). Este incremento merece especial consideración y debe contemplarse desde dos puntos de vista distintos: el del conjunto del pastizal y el de las muestras positivas, cuya repercusión será analizada posteriormente. En cierta forma, los resultados obtenidos coinciden con los de Ferrando, Guilleux y Guerrillot-V:net (7), quienes registraron incrementos de la actividad estrogénica de zanahorias al aplicar dicho elemento como fertilizante, sin embargo, difiere de lo observado por la generalidad de autores que, como Bradbury y White (2), Curnow (5), Morley (14), Alexander y Rossiter (1), Rossiter (19) y Rossiter y Beck (23) señalan que la carencia de P en el suelo es determinante de incrementos en la concentración de isoflavonas, que pueden llegar a duplicarse, decuplicarse o aun más (Rossiter (20) ), o como en Alexander y Rossiter (1), Buttler, Steemers y Wong (3), Gourley, Kein y Stob (8), Neil y Marshall (15), Rossiter (21) y Schultz (24), quienes coinciden en el efecto reductor de la concentración de fitoestrógenos, que pueden atribuirse a los fertilizantes de P.

A pesar de ello debe tenerse en cuenta que, en ausencia de patógenos, los niveles de fitoestrógenos son poco afectados por los de P (Loper y Hanson (9) ), lo que hace pensar en que el incremento registrado se debería, más que a una acción directa del P sobre la concentración de las mencionadas sustancias en la planta individualmente considerada, a un efecto indirecto que, por ejemplo, puede ser la consecuencia del incremento de leguminosas determinado por una mayor concentración de P en el suelo (Peinado Lucena, Medina Blanco y Gómez Castro (17) ); que se puede reflejar en un aumento de la proporción de muestras positivas, al menos a partir de ciertos niveles, y que justamente sea la causa de las diferencias registradas entre los resultados de este trabajo y los de los autores mencionados anteriormente, que indicaban un efecto negativo del P sobre la concentración de isoflavonas. En efecto, prácticamente todos los trabajos aludidos se refieren a praderas monofíticas de leguminosas, especialmente Trifolium subterraneum. En el caso de los pastizales aquí estudiado se trata de formaciones altamente polifitas en las que los componentes de leguminosas no suele pasar del 15 al 25 p.100 como máximo, y por tanto, sobre todo si se tiene en cuenta la escasez generalizada de P en el suelo, es fácil obtener como respuesta un incremento de la proporción de leguminosas al aumentar los contenidos edáficos de ese elemento, lo que ha sido registrado efectivamente, con anterioridad, Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.247. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

tras la aplicación de fertilizantes (Medina Blanco, Peinado Lucena y Gómez Castro (11) y Peinado Lucena, Gómez Castro y Medina Blanco (16)).

Si se considera la información que suministra la figura 5 se obtienen ciertas evidencias de lo anteriormente indicado, ya que, en efecto, aunque la concentración de isoflavonas en el conjunto del pastizal sigue aumentando como consecuencia del fomento del componente leguminoso, a partir de ciertos niveles se observa ya una respuesta al P en las concentraciones de las muestras positivas (en las que lógicamente predominan las leguminosas) siendo fácil advertir una disminución de las concentraciones, lo que sería indicativo de que la actuación del P corresponde a lo indicado por la bibliografía clásica, por lo menos a partir de ciertos niveles.

La influencia del K edáfico sobre la cantidad de muestras positivas (figura 6) se traduce en un descenso inicial al incrementarse sus niveles, que finalmente queda anulado, aunque dicho fenómeno no es aparente para las isoflavonas genisteína y pratenseína. Por el contrario, la concentración de isoflavonas aumenta a medida que los valores edáficos del mencionado elemento se hacen más elevados.

Aparentemente esto se encuentra en contradicción con lo registrado por Rossiter (20), quien indica que la influencia del K es escasamente significante, lo que podría deducirse del hecho de que las tasas más elevadas de K en el suelo favorecerían a las no leguminosas, con la consiguiente disminución de la concentración de isoflavonas (Peinado Lucena, Medina Blanco y Gómez Castro (17)). En este sentido la figura 6 es bastante explicativa y podría interpretarse como el reflejo de la disminución del porcentaje de leguminosas.

De otro lado, el efecto registrado sobre la concentración de las isoflavonas no es concordante con la función protectora que el K ejerce frente a las enfermedades infecciosas, especialmente las fúngicas (Perrenoud (18)), ya que de acuerdo con la bibliografía sobre el tema revisada por Medina Blanco, Peinado Lucena y Gómez Castro (13), dichas enfermedades generan elevación de los niveles de fitoestrógenos.

Sin embatgo, el incremento de la tasa de isoflavonas, al aumentar la concentración de K en el suelo, puede estar relacionado con la función estimulante de la síntesis de hidratos de carbono que a dicho elemento corresponde, sobre todo si se tiene en cuenta que Rossiter (22) ha demostrado una clara relación positiva entre la concentración de hidratos de carbono solubles y el nivel de glucósidos de isoflavonas en la célula vegetal.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.248. GOMEZ CASTRO <u>ET AL</u>.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

De las observaciones de este trabajo parece deducirse que el suelo es un factor que juega significativamente en la determinación de los niveles de isoflavonas estrogénicas, en los pastizales. En la bibliografía mundial se recogen como importantes fuentes de variación, de una parte, la especie vegetal en la que los diversos géneros de las leguminosas (especialmente Trifolium y Medicago) son elementos prioritarios en la determinación de la potencialidad estrogénica, matizada, de otra , por la presencia o ausencia de enfermedades que pueden actuar como elementos modificadores de notabilisima importancia. Sin embargo, en ausencia de enfermedades y cuando la formación herbácea no presenta una dominancia absoluta de especies leguminosas, los factores del suelo pueden jugar un doble e importante papel, especialmente acentuado por los tratamientos fertilizantes. De un lado, el efecto per se sobre la concentración fitoestrogénica como inductores de cambios metabólicos en el vegetal, que no parece importante; de otro lado, y con mayor trascendencia, las modificaciones que imponen a la composición botánica, por lo que sus efectos, si no notorios actualmente, pueden, a la larga, quedar reflejados a través de aquellas modificaciones que conduzcan a la dominancia de las especies potencialmente peligrosas.

### Agradecimiento

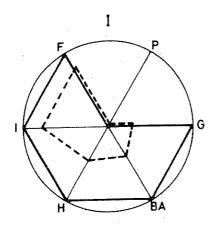
Al Dr. A.B. Beck, del Departament of Agriculture del C.S.I. R.O., por el amable suministro de algunos de los patrones de referencia empleados en este trabajo.

A Da Antonia Escobar de la Torre\*, por su valiosa cooperación técnica.

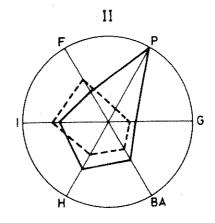
<sup>\*</sup> Ayudante de investigación del C.S.I.C.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.249.

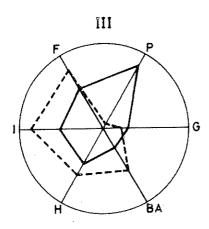
GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.



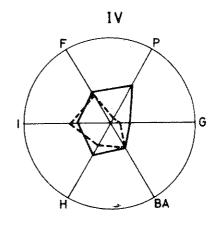
SUELOS ROJOS MEDITERRA-NEOS.



TIERRAS PARDAS MERIDIONA-LES SOBRE PIZARRAS.



SUELOS ROJOS SOBRE PIZA-RRAS.



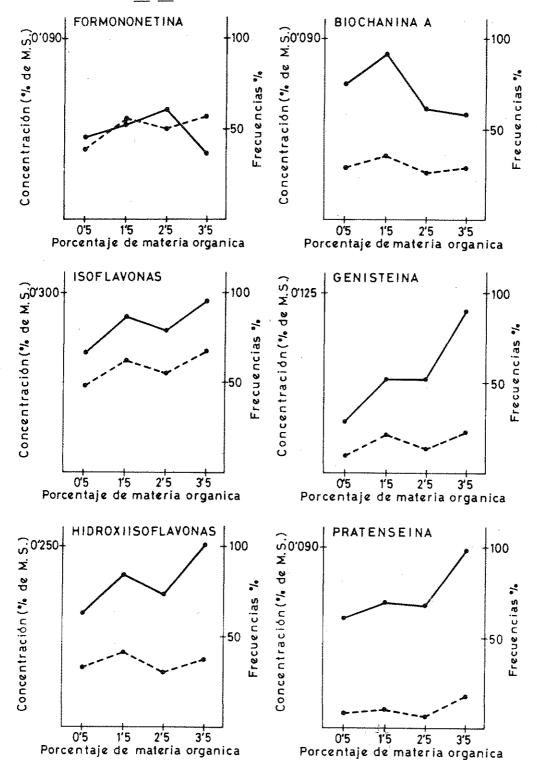
TIERRAS PARDAS MERIDIONA-LES SOBRE GRANITOS.

# LEYENDA.

BA= BIOCHANINA A; G=GENISTEINA; P=PRATENSEINA; F=FORMONONETINA; I=ISOFLAVONAS; H=HIDROXIISOFLAVONAS

Figura 1. Frecuencia (----) y concentración (-----) relativas de isoflavonas en los distintos suelos.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.250. GOMEZ CASTRO <u>ET AL</u>.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.



Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.251. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

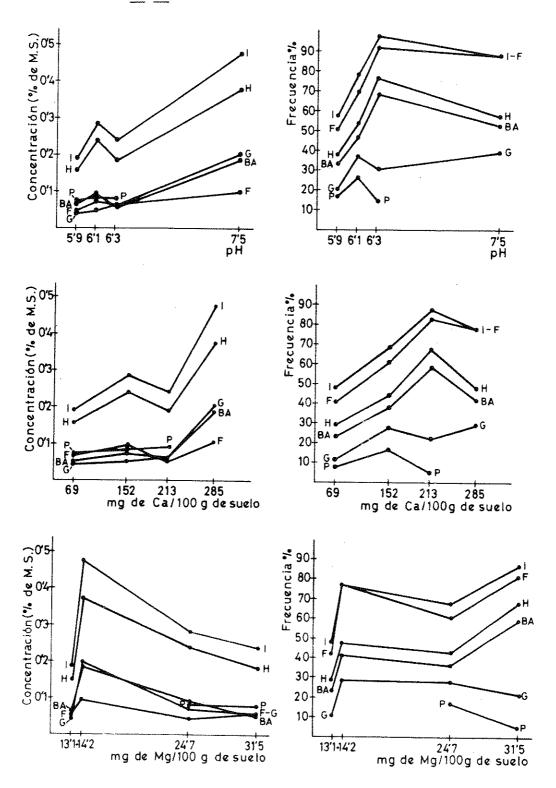


Figura 3. Influencia del pH y niveles de Ca y Mg del suelo sobre frecuencia de muestras positivas y concentración de isoflavonas.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p. 252. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

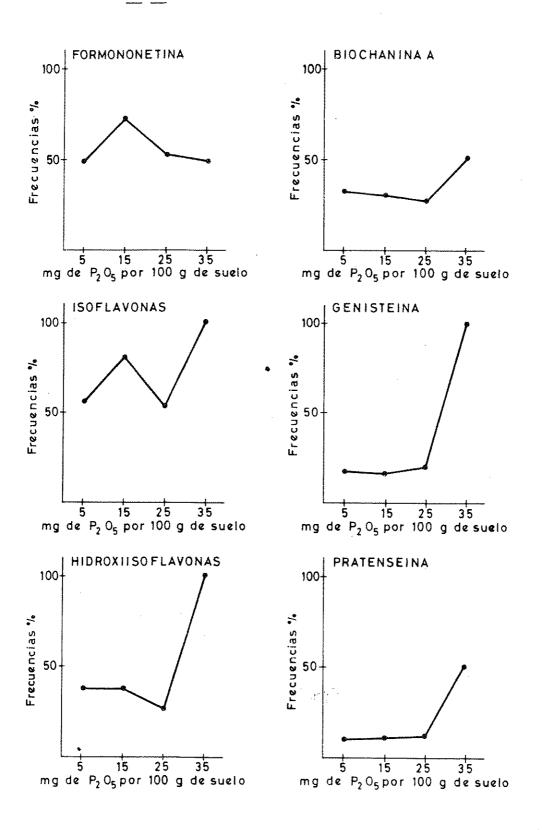


Figura 4. Frecuencia de muestras positivas según los niveles de P en el suelo.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.253. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

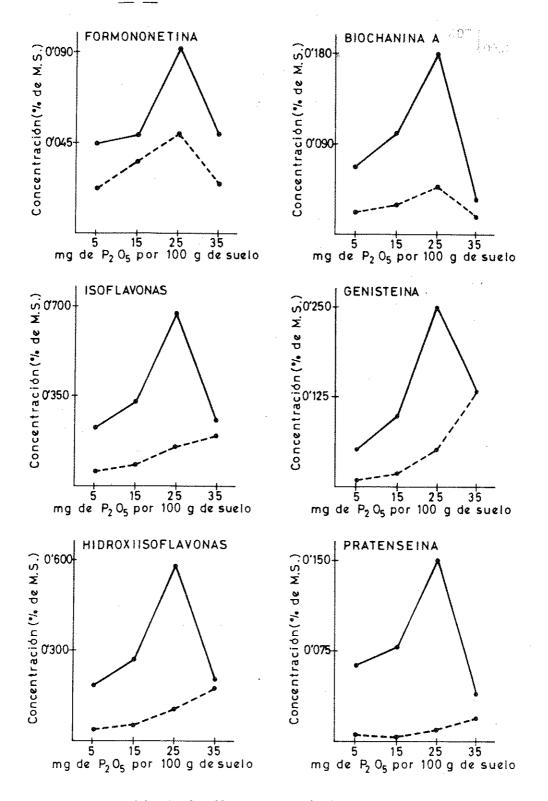
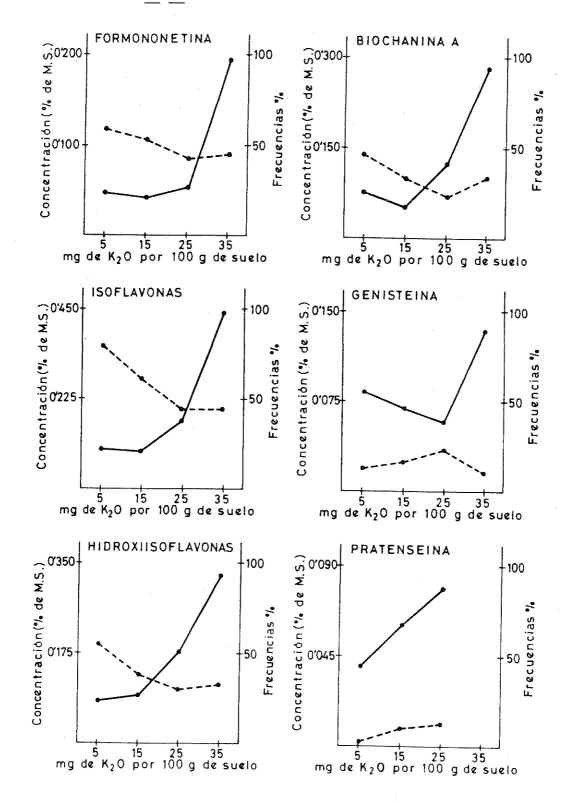


Figura 5. Concentración de isoflavonas según los niveles de P en el suelo (——) en las muestras positivas (----) en el conjunto del pastizal.

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.254. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.



Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.255. GOMEZ CASTRO <u>ET AL</u>.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

### LEYENDA COMUN FIGURAS

- BA = Biochamina
- G = Genisteina
- P = Pratenseina
- F = Formononetina
- I = Isoflavonas
- H = Hidroxiisoflavonas.

## Bibliografía

- 1. Alexander, G. y R.C. Rossiter. <u>Aust. J. Agric. Res. 3</u>, 24 (1952).
- 2. Bradbury, R.B. y D.E. White. J. Chem. Soc. 3447 (1951).
- 3. Buttler, G.W., M.A. Steemers y E. Wong. <u>N.Z.J. Agric. Res. 10</u>, 312 (1967).
- 4. CEBAC. Estudio agrobiológico de la provincia de Córdoba. Copigraf, S.L. Madrid (1971).
- 5. Curnow, D.H. <u>Biochem</u> <u>J</u>. <u>58</u>, 283 (1954).
- 6. Dedio, W. y K.W. Clark. Can. J. Plant. Sci. 49, 185 (1969).
- 7. Ferrando, R., M.M. Guilleux y A. Guerrillot-Vinet. <u>Nature</u>, <u>192</u>, <u>1205</u> (1961).
- 8. Gourley, L.M., W.F. Kein y M. Stob. <u>Crop Sci. 9</u>, 30 (1969).
- 9. Loper, G.M. y C.H. Hanson. <u>Crop Sci. 4</u>, 480 (1964).
- 10. Medina Blanco, M., A.G. Gómez Castro y E. Peinado Lucena. XXI Reun. Cient. S.E.E.P., León (1981).
- 11. Medina Blanco, M., E. Peinado Lucena y A.G. Gómez Castro. Arch. Zootec. 16, 3 (1967).

Archivos de zootecnia, vol. 31, núm. 121, 1982, p.256. GOMEZ CASTRO ET AL.: ISOFLAVONAS ESTROGENICAS EN PASTOS NATURALES.

- 12. Medina Blanco, M., E. Peinado Lucena y A.G. Gómez Castro. Los fitoestrógenos y su incidencia en la producción animal. Serv. Publ. Universidad de Córdobba (1980).
- 13. Medina Blanco, M., E. Peinado Lucena y A.G. Gómez Castro. Zootechnia (en prensa) (1980).
- 14. Morley, F.H.W. Advan. Agron. 13, 57 (1961).
- 15. Neil, H.G. y T.J. Marshall. <u>J</u>. <u>Agric</u>. <u>West</u>. <u>Aust</u>. <u>11</u>, 43 (1970).
- 16. Peinado Lucena, E., A.G. Gómez Castro y M. Medina Blanco. Arch. Zootec. 21, 262 (1972).
- 17. Peinado Lucena, E., M. Medina Blanco y A.G. Gómez Castro. Zootechnia 22, 99 (1973).
- 18. Perrenoud, S. Potassium and plant health. Int. Potash Inst. Berna (Suiza) (1977).
- 19. Rossiter, R.G. <u>Aust. J. Agric. Res. 20</u>, 1043 (1969).
- 20. Rossiter, R.C. <u>Aust</u>. <u>Vet</u>. <u>J</u>. <u>46</u>, 141 (1970).
- 21. Rossiter, R.C. Aust. J. Agric. Res. 21, 593 (1970).
- 22. Rossiter, R.C. <u>Aust</u>. <u>J. Agric</u>. <u>Res</u>. <u>23</u>, 419 (1972).
- 23. Rossiter, R.C. y A.B. Beck. <u>Aust. J. Agric. Res. 17</u>, 447 (1966).
- 24. Schultz, G. Dtsch. Tierärztliche Wschv. 74, 118 (1967).