

Los metabolitos secundarios biosintetizados por las espinacas (*Spinacea oleracea* L.) y su cultivo *in vitro*. Una revisión

Secondary metabolites biosynthesized by spinach (*Spinacea oleracea* L.) and the *in vitro* culture: A review

Recepción del artículo: 10/07/2023 • Aceptación para publicación: 30/11/2023 • Publicación: 01/01/2024

<https://doi.org/10.32870/e-cucba.vi21.318>

Braulio Edgar Herrera Cabrera

Colegio de Postgraduados. Programa de Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional.
Santiago Momoxpan, Puebla, México.

Jorge Montiel Montoya

Instituto Politécnico Nacional Unidad Sinaloa. Centro Interdisciplinario de Investigación para el
Desarrollo Integral Regional. Guasave, Sinaloa, México.

Rafael Salgado Garciglia

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Investigaciones Químico
Biológicas. Morelia, Michoacán, México.

Luz María Basurto González

Andrés Carrillo del Río

Bryan Jesús Vega Navarro

Hebert Jair Barrales Cureño*

Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Zamora. Carrera en Ingeniería en Innovación
Agrícola Sustentable. Zamora, Michoacán, México

*Autor para correspondencia: hebert.bc@zamora.tecnm.mx

Resumen

Las espinacas pertenecen a la familia taxonómica Amaranthaceae. Es una hortaliza de hoja anual y de rápido crecimiento considerada de alto valor nutritivo. Su producción internacional según estimaciones de la FAO fue de 14 millones de toneladas, siendo China el primer productor (85%), seguido por Estados Unidos (2.6%), Japón (2.2%) y Turquía (1.6%); mientras que, en México, en el año 2020 fue de 49,313 toneladas (+27.3% en comparación con 2019) obtenidas a partir de 2,853 ha cosechadas (+16.6%), por lo que el rendimiento promedio nacional fue de 17.3 ton/ha (+9.2%). Los principales constituyentes fitoquímicos de la espinaca predominantemente asociados a la calidad de las espinacas son los flavonoides totales, fenoles totales y carotenoides totales, debido a su actividad antioxidante (Bergquist, 2006). Entre sus valiosas propiedades medicinales destacan anticáncer, antimutagénica, antiinflamatorio, antiproliferativo, anticancerígeno, antibacteriano, hepatoprotector, hipolipidémicas y supresoras del Sistema Nervioso Central. El presente trabajo es una revisión sobre el origen, propiedades medicinales, perfil agronómico, perfil de metabolitos primarios y secundarios biosintetizados, cultivo *in vitro* de *Spinacea oleracea* y los datos sobre la composición fitoquímica de los metabolitos secundarios de las espinacas detectadas por medio de técnicas analíticas.

Palabras clave: Espinacetina, flavonoides, jaceidín, patuletina, 20-hidroxisona.

Abstract

Spinach belongs to the taxonomic family Amaranthaceae. It is an annual, fast-growing leafy vegetable considered to have high nutritional value. Its international production according to FAO estimates was 14 million tons, with China being the first producer (85%), followed by the United States (2.6%), Japan (2.2%) and Turkey (1.6%); while, in Mexico, in 2020 it was 49,313 tons (+27.3% compared to 2019) obtained from 2,853 ha harvested (+16.6%), so the national average yield was 17.3 ton/ha (+9.2%). The main phytochemical constituents of spinach predominantly associated with the quality of spinach are total flavonoids, total phenolics and total carotenoids, due to their antioxidant activity (Bergquist, 2006). Its valuable medicinal properties include anticancer, antimutagenic, anti-inflammatory, antiproliferative, anticancer, antibacterial, hepatoprotective, hypolipidemic, and suppressors of the Central Nervous System. The present work is a review on the origin, medicinal properties, agronomic profile, profile of biosynthesized primary and secondary metabolites, *in vitro* culture of *Spinacea oleracea* and data on the phytochemical composition of the secondary metabolites of spinach detected by analytical techniques.

Keywords: Spinacetin, flavonoids, jaceidin, patuletin, 20-hydroxydisone.

Introducción

La espinaca (*Spinacia oleracea* L.) es un miembro de la familia Amaranthaceae, orden Caryophyllales. Éstas son verduras nutritivas con alto contenido de nutrientes básicos y fitoquímicos (Mehta y Belemkar, 2014). Su origen data del sudoeste central asiático. Se introdujo en España por los árabes en el siglo XI y posteriormente se cultivó en Europa en 1351 (Borrego, 1995). Se estableció en Grecia y Roma, siendo cultivada primeramente por los árabes. Es un cultivo hortícola relativamente nuevo que demuestra ser cada vez más popular en los últimos años debido a su gran valor nutricional (Hedges y Lister, 2007). Sus hojas se comercializan frescas, congeladas o en conserva, y son preparadas en ensaladas. Contiene microelementos como el magnesio (Mg), manganeso (Mn), hierro (Fe), zinc (Zn), selenio (Se), calcio (Ca), fósforo (P), potasio (K), cloro (Cl) y sodio (Na) (Toledo *et al.*, 2003). En Egipto, son un cultivo de hortaliza de invierno de cosecha anual, las hojas se utilizan como alimento fresco, enlatados, o producto congelado (Fekry y Nawar 2017). Los fitoquímicos predominantemente asociados a la calidad de sus hojas son los fenoles totales, los carotenoides totales, los flavonoides totales debido a su actividad antioxidante (Bergquist, 2006). Una ración de 100 g de espinacas contiene suficiente cantidad de vitaminas como: vitamina A (188%), B, C (47%), D, E y K (604%), así mismo contienen folato (49%). Las prácticas agronómicas, como la fertilización, el riego deficitario, las condiciones y duración del almacenamiento postcosecha, tienen un impacto en la biosíntesis de compuestos bioactivos (Mudau *et al.*, 2015; Fageria, 2009). La aplicación de fertilizantes contribuye en gran medida a mejorar el rendimiento de los cultivos y la nutrición de los alimentos (Wang *et al.*, 2008). Según Bunea *et al.* (2008), el contenido de flavonoides totales y algunos polifenoles de alto peso molecular se biosintetizan en esta especie (Turkmen *et al.*, 2005). También, tienen un corto periodo desde el período de plantación hasta el de cosecha; por lo tanto, la intervención de la estrategia es crítica para aumentar el creci-

miento y calidad nutricional. Dado el estilo de vida moderno y la creciente demanda de hortalizas de hoja, el consumo en fresco, cortadas como ensalada está aumentando en parte debido a su valor nutricional y a sus beneficios para la salud. Actualmente, se han realizado estudios moleculares de tipo metabolómicos (Zhang *et al.*, 2019), genómicos (Cai *et al.*, 2021), transcriptómicos (Xu *et al.*, 2017) y proteómicos (Bagheri *et al.*, 2015). La huella metabolómica ofrece una oportunidad única para estudiar los efectos sistémicos de su consumo, y proporcionaría una imagen completa de las propiedades biológicas. A pesar de su reputación como alimento beneficioso para la salud, el consumo mundial sigue siendo bajo, especialmente en comparación con otras verduras de hoja verde. La tendencia que muestran estadísticas de 42 años (1971-2013) sugiere que la inclusión en la dieta seguirá aumentando en el consumo global en comparación con la lechuga. Sin embargo, añadirles en cocinas y ensaladas o sustituir parcialmente la lechuga por espinacas aumentaría la exposición a los fitoquímicos y bioactivos con resultados positivos para la salud.

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión sobre el origen, propiedades medicinales, perfil agronómico, perfil de metabolitos primarios y secundarios biosintetizados por la especie y reportar los datos sobre la composición fitoquímica de los metabolitos secundarios de las espinacas detectados por medio de técnicas analíticas.

Propiedades medicinales de la espinaca (*Spinacea oleracea* L.)

Entre las propiedades medicinales de la espinaca, se puede reportar que reduce o previene el riesgo de contraer degradación macular (disminución de la visibilidad) por su elevado contenido de los carotenoides luteína y zeaxantina (Pamplona, 2004). Se utiliza para curar la anemia y la arterioesclerosis, posee una función inmunizadora y también puede prevenir la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas (Atehortua y Jaramillo, 2002). Esta especie se

destaca por su alto valor nutritivo y calórico, ligado al contenido de proteínas, carbohidratos, grasas, contenido de hierro, vitaminas A y C y posee una ligera actividad laxante y emoliente (Bacho, 2011). Las recomendaciones de su uso por su alto contenido en folatos las hace aconsejables en dietas de mujeres embarazadas previniendo malformaciones del feto durante las primeras semanas de embarazo. Los aportes en fibra generan efecto laxante que mejora el estreñimiento y colabora en la reducción del colesterol. Para mejorar la salud ocular, las espinacas aportan mayor contenido de vitamina A que las zanahorias (Caballero, 2013).

Perfil agronómico de espinaca (*Spinacea oleracea* L.)

Existen aproximadamente 82 variedades únicas de espinacas (Roberts and Moreau, 2016). La espinaca es tolerante a temperaturas bajas (15 a 18°C), existen variedades de invierno cuyas temperaturas tolerantes son de 5°C a 0°C sin llegar a sufrir daño fisiológico. Con respecto a la tolerancia a la salinidad, pueden llegar a tolerar concentraciones de sales de hasta 12 mohm lo cual está en función del clima, prácticas de cultivo o condiciones edafológicas. El rendimiento de espinaca por surco de 30.5 m es de 18.4 kg, un cultivo puede tener de 4-6 cosechas, su ciclo de vida es de 3-5 meses, la duración de la primera cosecha es de 45-50 días, siendo las distancias entre plantas de 25 a 30 m y los días de germinación ocurren de 7 a 12 días. La Figura 1 muestra algunas características fe-

notípicas de las espinacas (*Spinacea oleracea*).

Perfil de metabolitos primarios de espinaca (*Spinacea oleracea* L.)

Las plantas producen miles de metabolitos secundarios que se distinguen de los metabolitos primarios, como azúcares, aminoácidos, ácidos nucleicos y lípidos (Kabera *et al.*, 2014). El metabolismo primario es la fuente de sustratos para la producción de metabolitos secundarios. El metabolismo primario y el secundario dependen de la concentración de glucosa en el tejido vegetal. El suministro de nitrógeno (N) es uno de los principales factores ambientales que regulan los componentes de las plantas y está estrechamente relacionado con la calidad del cultivo. En espinacas se reportó el efecto del suministro de N sobre el contenido de nitrato, ácido oxálico, carbohidratos, ácido ascórbico y otros antioxidantes (Ter Steege *et al.*, 1999). El nitrato actúa como una señal que regula la actividad de muchas enzimas y transportadores, incluyendo la nitrato reductasa, la fosfoenolpiruvato carboxilasa, la malato deshidrogenasa, la sacarosa fosfato sintasa y el transportador de nitrato involucrado en la regulación del equilibrio de carbono y nitrógeno en las plantas (Scheible *et al.*, 1997). Actualmente, se presta mucha atención a la fitorregulación antiestrés mediante plantas medicinales, que son eficaces no sólo para el tratamiento de diversas enfermedades, sino

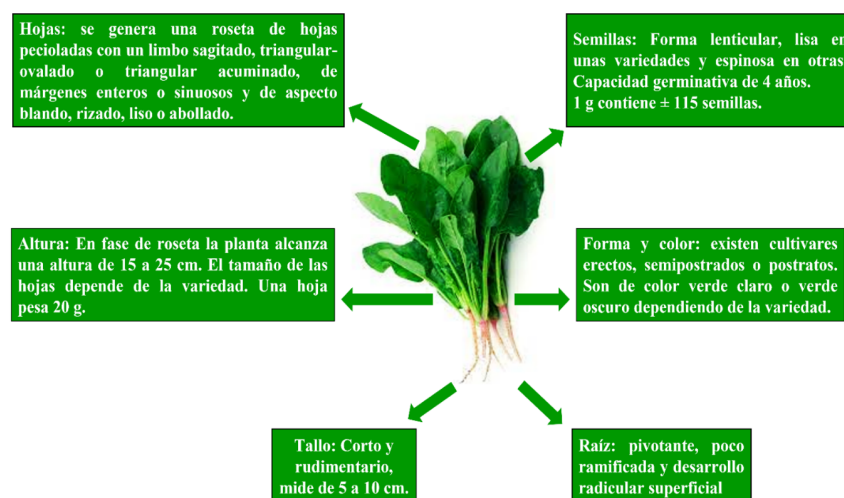


Figura 1. Descripción de las características fenotípicas de la espinaca (*Spinacea oleracea* L.).

también como método para normalizar las funciones fisiológicas y el estado psicofisiológico de las personas sanas. Los fitoadaptadores se encuentran no sólo en las plantas medicinales, sino también en las plantas alimenticias. Los fitoadaptadores se encuentran no sólo en las plantas medicinales, sino también en las plantas alimenticias, siendo los fitocisteroides útiles como: antiestrés, hematoprotector, antirradiación, antidiabético, antiaterosclerótico y antiisquémico.

Métodos de obtención del perfil de metabolitos secundarios y propiedades de espinaca (*Spinacea oleracea* L.)

Los metabolitos secundarios se sintetizan en las plantas en respuesta a una necesidad específica. Los compuestos secundarios de las plantas son utilizados a menudo por el ser humano como medicamentos, aromatizantes, aceites aromáticos, suplementos dietéticos, etc. La fase de desarrollo, el tipo de suelo y la disponibilidad

de nutrientes, la temperatura, los elicitores químicos, el suministro de agua, la contaminación, la temperatura y la luz son algunos de los factores que regulan la biosíntesis de los metabolitos (Li *et al.*, 2020). El perfil de metabolitos obtenido mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) se aplicó por primera vez con éxito en biología vegetal por Roessner *et al.* (2000). El método tiene una sensibilidad extrema en la detección de efectos genéticos y ambientales en los sistemas biológicos (Fiehn 2002). Además, su aplicación no se limita a plantas modelo, sino que se puede utilizar con cualquier especie, incluidas las de importancia agrícola y económica. El alto contenido total de flavonoides en la espinaca (1.000 mg/kg), en comparación con otras verduras, ofrece numerosas propiedades farmacológicas, antioxidantes, antiinflamatorias, anti-mutagénicas y anticancerígenas (Vázquez, 2013; Howard 2002; Pandjaitan, 2005). Abdelgawad (*et al.*, 2022), investigaron las acti-

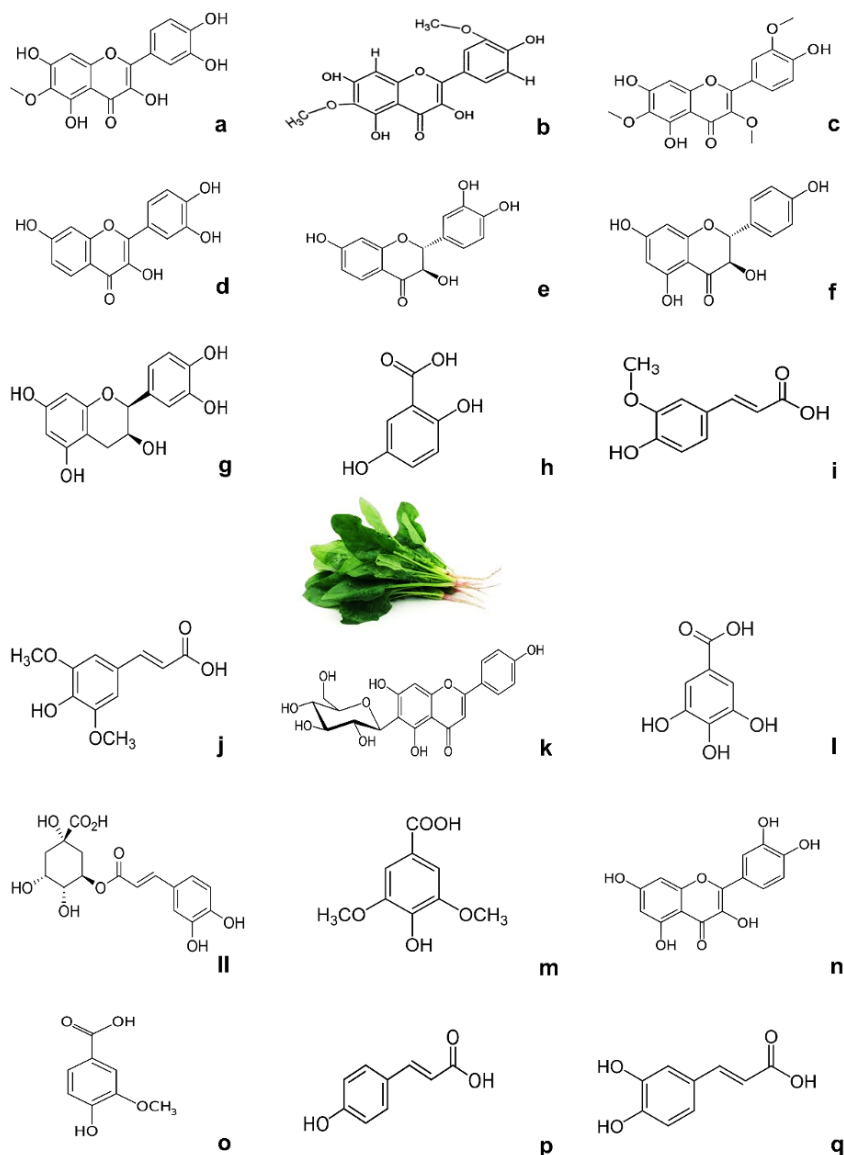
Cuadro 1. Metabolitos secundarios biosintetizados y detectados en espinaca (*Spinacea oleracea* L.).

Órgano	Método de detección	Tipo de flavonoide	Referencia
Hojas	UPLC-ESI-MS/MS validado en modo MRM.	Espinacetina, 5,3',4'-trihidroxi-3-metoxi-6,7-metilendioxi-flavona, ácido protocatéquico, ácido ferúlico y ácido cumárico.	Singh <i>et al.</i> 2019.
Hojas	HPLC	Agliconas: Monometoxilada (patuletina), Dimetoxilada (espinacetina), Trimetoxilada (jaceidin). Glicósidos de flavonoides: Patuletina-3-glicosido, Espinacetina-3-glicosido Espinatosido-4'-glucuronido, Jaceidin-4'-glucuronido, 5,3',4'-trihidroxi-3-metoxi-6:7-metilendioxi-flavona-4' glucuronido, 5,4'-dihidroxi-3,3'-dimetoxi-6:7-metilendioxi-flavona-4'-glucuronido.	Kidmose, 2001
Hojas jóvenes	HPLC de fase inversa	5,3',4'-trihidroxi-3-metoxi-6:7-metilendioxi-flavona-4'-glucurónido, Patuletina-3-glucosil-(1-6)[apiosil(1-2)]-glucosido, Patuletina-3-gentiobiosido, Patuletina glicósido, Patuletin-3-(2''-feroilglucosil)-(1-6)[apiosil(1-2)]-glucosido, Espinatosido-4'-glucuronido.	Sara, 2005
Extractos de espinaca	HPLC	Epicatequina, isovitexina, fisetina, fustina, quercetina, aromadendrina.	Hu y Gao, 2020
Hoja de espinaca	HPLC	Ácido gálico, ácido clorogénico, ácido protocatéquico, ácido alfa-resorcílico, ácido vanílico, ácido siringico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido m-hidroxibenzoico, ácido gentísico, ácido p-cumárico, ácido m-cumárico, ácido ferúlico, ácido o-cumárico y ácido sinápico.	Bergman, <i>et al.</i> , 2001
hojas	HPLC	Quercetina, espinacetina, ácido ferúlico y ácido cafeico.	Murcia, <i>et al.</i> , 2020

vidades potenciales antileucémicas de cincuenta y seis plantas medicinales cultivadas y utilizadas en Egipto, siendo el extracto hidroetanólico al 75% de las hojas de espinaca el que presentó una actividad antileucémica prometedora y activa contra la línea celular de leucemia mieloide crónica K562. Los estudios en humanos y animales también apoyan el potencial de los compuestos derivados de éstas plantas para me-

jorar varios componentes del síndrome metabólico, es decir, la obesidad, la hiperglucemia y la hipertrigliceridemia.

Esta es una hortaliza de alto valor biológico debido a la presencia de los metabolitos secundarios mencionados, siendo las concentraciones de estos compuestos de mayor biosíntesis en verano en comparación con el invierno (Modlin *et al.*, 1994; Mithöfer *et al.*, 1999



Esqueletos de estructuras químicas de metabolitos secundarios en espinaca (*Spinacea oleraceae* L.). a) Patuletina (F.M.: $C_{16}H_{12}O_8$, M.M.: 332.26 g/mol); b) Espinacetina (F.M.: $C_{17}H_{14}O_8$, M.M.: 346.29 g/mol); c) Jaceidín (F.M.: $C_{18}H_{16}O_8$, M.M.: 360.31 g/mol); d) Fisetina (F.M.: $C_{15}H_{10}O_6$, M.M.: 286.23 g/mol); e) Fustina (F.M.: $C_{15}H_{12}O_6$, M.M.: 288.25 g/mol); f) Aromadendrina (F.M.: $C_{15}H_{12}O_6$, M.M.: 288.06 g/mol); g) Epicatequina (F.M.: $C_{15}H_{14}O_6$, M.M.: 290.26 g/mol); h) Ácido gentísico (F.M.: $C_7H_6O_5$, M.M.: 154.12 g/mol); i) Ácido ferúlico (F.M.: $C_{10}H_{10}O_4$, M.M.: 194.18 g/mol); j) Ácido gálico (F.M.: $C_7H_6O_5$, M.M.: 170.12 g/mol); k) Isovitexina (F.M.: $C_{21}H_{20}O_{10}$, M.M.: 432.38 g/mol); l) Ácido clorogénico (F.M.: $C_{16}H_{18}O_9$, M.M.: 354.311 g/mol); ll) Ácido siringico (F.M.: $C_9H_{10}O_5$, M.M.: 198.17 g/mol); m) Quercetina (F.M.: $C_{15}H_{10}O_7$, M.M.: 302.23 g/mol); n) Ácido vanílico (F.M.: $C_8H_8O_4$, M.M.: 168.14 g/mol); o) Ácido cumárico (F.M.: $C_9H_8O_3$, M.M.: 164.04 g/mol); p) ácido p-cumárico (F.M.: $C_9H_8O_3$, M.M.: 164.04 g/mol) y q) Ácido cafeico (F.M.: $C_9H_8O_4$, M.M.: 180.15 g/mol). F.M.: Fórmula molecular, M.M.: Masa molar. Elaboración: Autor.

1999; Wang *et al.*, 2002; Bunea *et al.*, 2008; Sultana y Anwar, 2008; Metha y Belemkar, 2014).

En el Cuadro 1 se aprecian los principales metabolitos secundarios biosintetizados por las hojas de espinaca (*Spinacea oleraceae* L.) detectados por métodos analíticos.

En la Figura 2 se aprecian las principales estructuras químicas de metabolitos secundarios detectados en espinaca (*Spinacea oleraceae* L.).

Los compuestos fenólicos de las espinacas son fuente de moléculas quimiopreventivas, es decir, antioxidantes exhiben una amplia gama de efectos biológicos, tales como antimutagénica, antioxidante (Bergman *et al.*, 2001), antiinflamatorio (Lomnitski *et al.*, 2000), antiproliferativo (Nyska *et al.*, 2003), anticancerígeno (Nyska *et al.*, 2001), antibacteriano (Altemimi *et al.*, 2017), hepatoprotector (Abdul-Wahab y Jalil 2012), hipolipidémicas (Hetta *et al.*, 2017) y supresoras del Sistema Nervioso Central (Das y Guha 2008).

Los estudios epidemiológicos indican los efectos quimioprotectores y quimiopreventivos mediante el consumo. Los estudios en células y animales descubrieron algunos aspectos de la acción quimioprotectora de los extractos mediante la detención del ciclo celular y la inhibición de la ADN polimerasa. Los constituyentes actuarían a través de la inducción de hormonas de la saciedad, la actividad sensibilizadora de la insulina y la interacción con enzimas digestivas de lípidos y carbohidratos.

La 20-hidroxicidisona (20E) (Figura 2) es un fitocesteroide (esterol polihidroxilado, análogo estructural de las hormonas de la muda de los insectos), que permite su uso en productos farmacéuticos y suplementos alimenticios dietéticos (DFS), especialmente en la nutrición de los deportistas como mejora del rendimiento, curación de heridas y propiedades antiosteoporóticas. La 20E puede aislarse de plantas medicinales como la leuzea de cártamo (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.)), la hierba de sierra sin ciruela (*Serratula coronata* L.), de *S. oleracea* y también de las judías de quinoa

(*Chenopodium quinoa* Willd.). La concentración de fitocisteroides en las espinacas es de 1 a 2 órdenes de valor inferior a la de las plantas medicinales; las hojas de *S. oleracea* contienen aproximadamente un 0.01% de 20E por peso de materia prima fresca. El 20E y sus derivados también se señalan como eficaces para mejorar la síntesis de proteínas, la salud humana y la curación de algunos de los trastornos derivados del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). También se ha informado de que tiene propiedades antioxidantes y tónicas.

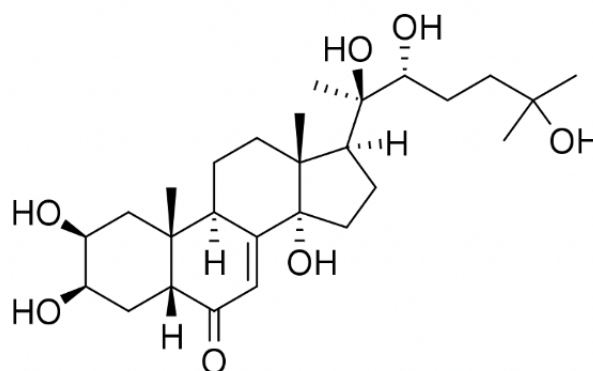


Figura 2. Molécula de 20-hidroxicidisona (ecdisterona o 20E, F.M.: $C_{27}H_{44}O_7$, M.M.: 480.64 g/mol).

Un grupo de investigadores estudió la respuesta de *S. oleracea* a diferentes niveles de estrés por salinidad y demostraron que la espinaca tiene un buen potencial para desalinizar el suelo salino y también las partes de la planta estresadas por la sal pueden ser utilizadas para la producción de 20E.

Cultivo *in vitro* de espinaca

La técnica de cultivo de tejidos vegetales ayuda a la producción de la escala comercial de metabolitos secundarios con una amplia variedad de aplicaciones farmacéuticas e industriales. Norinake *et al.* (1996) utilizaron un sistema de fluorescencia inducida por láser (LIF) de argón para determinar el desarrollo de las plantas de espinaca desde una distancia de un metro. La relación entre los picos de clorofila a y clorofila b fue disminuyendo con la edad de la planta. Esta tendencia se debió al aumento de los picos de fluorescencia de la clorofila a y al aumento del contenido de clorofila a medida que maduraban las plantas.

Komai *et al* (1996), establecieron un sistema eficaz para la regeneración vegetal *in vitro*, se investigaron los explantes y las condiciones óptimas de cultivo para la embriogénesis somática. Cuando los explantes de cotiledón, hipocótilo, raíz y hoja de plántulas se cultivaron en un medio de cultivo compuesto por medio de Murashige y Skoog que contenía 10 g/L de sacarosa, 10 μM de ácido 1-naftalenoacético (NAA) y 0.1 μM de ácido giberélico (GA_3), los embriones somáticos se formaron con mayor frecuencia en los segmentos radiculares. El medio Nitsch indujo la embriogénesis de espinaca con mayor eficacia que los medios MS, White, B5 y SH. Leguillon *et al.* (2003) indujeron la caulogénesis y la embriogénesis somática a partir de capas celulares delgadas transversales (tTCL) de dos genotipos de espinaca europea (*S. oleracea* L.). La regeneración se produjo principalmente cuando las tTCL se habían extirpado de plántulas cultivadas en un medio de precondicionamiento compuesto por macroelementos de White, microelementos de Nitsch, vitaminas de Murashige y Skoog (MS), 6 g/L de agar y 20 g/L de glucosa. El mejor desarrollo radicular se obtuvo en medio MS suplementado con 4.9 μM de ácido indol-3-butírico (IBA) y 8 g/L de Phytigel. Las plántulas se transfirieron al suelo y se desarrollaron hasta convertirse en plantas bien formadas y fértiles. Geekiyanage *et al.* (2006), probaron los efectos del fotoperiodo, la intensidad luminosa y el ácido giberélico (GA_3) en la regeneración de brotes adventicios a partir de cotiledones de espinaca. Los efectos del fotoperiodo y el GA_3 sobre la regeneración de brotes fueron significativos a una intensidad luminosa alta de 90-100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El efecto combinado de la regeneración óptima de brotes y la multiplicación más alta de brotes se observó en explantes de plántulas cultivadas en condiciones de día corto (SD) y a alta intensidad luminosa, con 0.5 mg/L de GA_3 en medio Murashige y Skoog suplementado con 1 mg/L de 6-benciladenina y 0.4 mg/L de ácido α -naftalenoacético. Van Nguyen *et al.* (2013) desarrollaron un sistema eficiente para la regeneración de plantas de espinaca mediante la

investigación de los factores que influyen en la inducción de callos y brotes. Todas las combinaciones de reguladores del crecimiento vegetal (PGR) ensayadas indujeron callo con alta frecuencia (73-100 %), y la combinación de 5 μM de ácido α -naftalenoacético (NAA), 10 μM de 6-benciladenina (BA) y 0.1 μM de ácido giberélico (GA_3) tuvo el efecto más significativo sobre el crecimiento del callo en términos de peso (120.98 ± 22.56 mg). Las plantas femeninas regeneradas crecieron bien hasta la madurez en el invernadero (77.17 ± 9.80 %) y produjeron semillas (175.21 ± 28.01 semillas firmes por planta).

Conclusiones

La espinaca es considerada como uno de los cultivos vegetales saludables para el consumo humano en la dieta humana contemporánea. Dado el estilo de vida moderno y la creciente demanda de hortalizas de hoja, el consumo de esta hortaliza fresca y cortada como ensalada aumentará debido a su valor nutricional y a sus beneficios para la salud. El perfil de metabolitos encontrados en esta especie, tiene un alto potencial como hortaliza de hoja en el tratamiento de diversas enfermedades debido a que proporciona protección contra el estrés oxidativo, que es la causa de muchas enfermedades. Las hojas de espinaca presentan un potencial terapéutico debido a la biodisponibilidad de los fitoquímicos y bioactivos que se obtienen a partir de su consumo.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) y al Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Zamora.

Literatura citada

- Abdelgawad, S.M., Hetta, M.H., Ibrahim, M.A. (2022). Phytochemical Investigation of Egyptian Spinach Leaves, a Potential Source for Antileukemic Metabolites: In Vitro and In Silico Study. *Rev Bras Farmacogn*, 32, 774–785. DOI: 10.1007/s43450-022-00307-0
- Abdul-Wahab, F. y Abdul Jalil, T.(2012). Study of Iraqi Spinach Leaves (Phytochemical and Protective Effects Against methotrexate-Induced hepatotoxicity in rats). *Iraqi J Pharm Sci*, 21, 8-17.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Abu-Ghazaleh A. y Lightfoot, D.A. (2017). Evaluation of the antimicrobial activities of ultrasonicated spinach leaf extracts using rapd markers and electron microscopy. *Arch Microbiol*, 1–13, DOI: 10.1007/s00203-017-1418-6.
- Bagheri, R., Bashir, H., Ahmad, J., M. Iqbal y Qureshi, M.I. (2015). Spinach (*Spinacia oleracea* L.) modulates its proteome differentially in response to salinity, cadmium and their combination stress. *Plant Physiol Biochem*, 97,235-45. DOI: 10.1016/j.plaphy.2015.10.012.
- Bergman, M., Varshavsky, L., Gottlieb, H.E. y Grossman, S. (2001). The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochemistry*, 58,143-152.
- Cai, X., Sun, X., Xu.,C., Sun, H., Wang, X. , Ge, C., Zhang, Z., Wang, Q., Fei, Z., Jiao, C. y Wang, Q. (2021). Genomic analyses provide insights into spinach domestication and the genetic basis of agronomic traits. *Nature Communications*. 12.
- Das, S y Guha, D. (2008). CNS depressive role of aqueous extract of *Spinacia oleracea* L. leaves in adult male albino rats. *Indian J Exp Biol*, 46,185–90.
- Geekiyanage, S., Takase, T., Watanabe, S., Fukai, S. y Kiyosue, T. (2006). The combined effect of photoperiod, light intensity and GA3 on adventitious shoot regeneration from cotyledons of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant Biotechnol*, 23, 431–435.
- Hetta, M.H., Moawad, A.S., Hamed, M.A.A y Sabri, A.I. (2017). *In-vitro* and *In-vivo* hypolipidemic activity of spinach roots and flowers. *Iran J Pharm Sci*, 16,1509.
- Howard, L.R., Pandjaitan, N., Morelock, T y Gil, M.I. (2002). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and growing season. *J. Agric. Food Chem*, 50(21),5891-5896.
- Hu, J. y Gao, J. (2020). Validation of a hplc method for flavoind contents in spina gleditsiae and its use to illustrate the various quality of cultivated varieties. *Natural Product Communications*, 15(8),193. DOI: 10.1177/1934578X20946258
- Kabera, J., Semana, E., Mussa, A y He, X. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *J Pharma Pharm*, 2, 377-392
- Kidmose, U., Edelenbos, M. y Knuthsen, P. (2001). Carotenoids and flavonoids in organically grown spinach (*Spinacia oleracea* L) genotypes after deep frozen storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 918-931.
- Komai, F., Okuse, I. y Harada, T. (1996). Somatic embryogenesis and plant regeneration in culture of root segments of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant Science*, 113, 203-208. DOI:10.1016/0168-9452(95)04285-7
- Leguillon, S., Charles, G. y Branchard, M. (2003). Plant regeneration from thin cell layers in *Spinacia oleracea*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 74.
- Li, Y., D. Kong., Y. Fu., M.R. Sussman y Wu, H. (2020)The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Phys Biochem*. 148:80-89.
- Lomnitski, L., Carbonatto, M., Ben-Shaul, V., Peano, S. y A. Conz (2000). The prophylactic effects of natural water-soluble antioxidant from spinach and apocynin in a rat model of lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *Toxicol Pathol*, 28,588-600.

- Murcia, M.A., Jiménez, M., Gonzalez, J y Martínez-Tomé, M. (2020). Spinach. En *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*. Academic Press, 181-195.
- Nyska, A., Suttie, A., Bakshi, S., Lomnitski, L. Grossman, S., Bergman, M., Ben-Shaul, V., Crocket, P., Haseman, J.K., Moser, G., Goldsworthy, R. y Maronpot, R. (2003). Slowing tumorigenic progression in TRAMP mice and prostatic carcinoma cell lines using natural antioxidant from spinach, NAO—a comparative study of three anti-oxidants. *Toxicol Pathol*, 31, 39-51. doi: 10.1080/01926230390173833.
- Nyska, A., Lomnitski, L., Spalding, J., Dunson, D.B., Goldsworthy, T.L., Ben-Shaul, V., Grossman, S., Bergman, M. y Boorman, G. (2001). Topical and oral administration of the natural water-soluble antioxidant from spinach reduces the multiplicity of papillomas in the Tg.AC mouse model. *Toxicol Lett*, 122, 33-44. DOI: 10.1016/s0378-4274(01)00345-9.
- Pandjaitan, N., Howard, L.R., Morelock, T. y Gil, M.I. (2005). Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation. *J. Agric. Food Chem*, 53(22), 8618–23.
- Roberts, J.L. y Moreau, R. (2016). Functional properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) phytochemicals and bioactives. *Food & Function*, 7(8), 3337-3353. DOI: 10.1039/c6fo00051g
- Sara, A., Ulla, E.G., Knuthsen, P. y Olsson, M.E. (2005). Flavonoids in baby spinach (*Spinacia oleracea* L.): changes during plant growth and storage. *J Agric Food Chem*, 30;53(24), 9459-64. DOI: 10.1021/jf051430h.
- Singh, A., Singh, P., Kumar, B., Kumar, S. y Maurya, R. (2019). Detection of flavonoids from *Spinacia oleracea* leaves using HPLC-ESI-QTOF-MS/MS and UPLC-QqQLIT-MS/MS techniques. *Natural Product Research*, 33(15), 2253-2256. DOI: 10.1080/14786419.2018.1489395
- Van Nguyen, Q., Sun, H., Boo, K., Lee, D., Lee, J., Lim, P., Lee, H., Riu, K. y Lee, D. (2013). Effect of plant growth regulator combination and culture period on in vitro regeneration of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Plant Biotechnology Reports*, 7, 99–108.
- Vázquez, E., García-Risco, M., Jaime, L., Reglero, G. y Fornari, T. (2013). Simultaneous extraction of rosemary and spinach leaves and its effect on the antioxidant activity of products. *J Supercrit Fluids*, 82, 138–45.
- Xu, C., C. Jiao, H. Sun, X. Cai, X. Wang, C. Ge, Y. Zheng, W. Liu, X. Sun, Y. Xu, J. Deng, Z. Zhang, S. Huang, S. Dai, B. Mou, Q. Wang, Z. Fei y Q. Wang. (2017). Draft genome of spinach and transcriptome diversity of 120 *Spinacia* accessions. *Nature Communications*. 8.
- Zhang, H., L. Lu, X. Zhao, S. Zhao, X. Gu, W. Du, H. Wei, R. Ji y L. Zhao. (2019). Metabolomics Reveals the "Invisible" Responses of Spinach Plants Exposed to CeO₂ Nanoparticles. *Environ Sci Technol*, 21, 53(10), 6007-6017. DOI: 10.1021/acs.est.9b00593.