

INFORME FINAL

**Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente -
PUIRNA-**

**Caracterización fitoquímica y de la actividad biológica y evaluación de la
propagación de seis especies del género *Stevia* de Guatemala.**

Código de proyecto B14-2021

**Unidad Académica Avaladora
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas -IIQB-
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**

**Dr. Juan Francisco Pérez Sabino
Coordinador del Proyecto de Investigación**

**M.A. Isabel Cristina Gaitán Fernández
Investigadora**

**Lic. Max Samuel Mérida Reyes
Investigador**

**Br. Javier Alejandro Medina Cortez
Auxiliar de Investigación II**

Guatemala, 28 de febrero de 2022

Autoridades

Dr. Hugo René Pérez Noriega
Director General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar
Coordinador General de Programas

Ing. Agr. Saúl Augusto Guerra Gutiérrez
Coordinador del Programa Universitario de Investigación en Recursos
Naturales y Ambiente -PUIRNA-

Autores

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino
Coordinador del Proyecto de Investigación

M.A. Isabel Cristina Gaitán Fernández
Investigadora

Lic. Max Samuel Mérida Reyes
Investigador

Br. Javier Alejandro Medina Cortez
Auxiliar de Investigación II

Colaboradores

M. Sc. Bessie Evelyn Oliva Hernández

Directora de la Escuela de Química

Dra. Elisandra Hernández Hernández

Profesora Titular de la Escuela de Química

M.A. Rodolfo Marinelli Orozco Chilel

Profesor Titular de la Escuela de Química

Dr. José Vicente Martínez Arévalo

Profesor Titular de la Facultad de Agronomía

Lic. Jorge Benjamín Jiménez Barrios

Profesor Titular de la Escuela de Biología

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación -Digi-, 2021.

El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través del código B14-2021 en el Programa Universitario de Investigación en Productos Naturales y Ambiente -PUIRNA-.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.



Universidad de San Carlos de Guatemala
Dirección General de Investigación



1. Índice general

Contenido

2	Resumen y palabras claves	7
3	Introducción	8
4	Planteamiento del problema	9
5	Delimitación en tiempo y espacio	11
5.1	Delimitación en tiempo	11
5.2	Delimitación espacial	11
6	Marco teórico	11
6.1	Las plantas del género <i>Stevia Cav.</i>	11
6.2	Las plantas del género <i>Stevia</i> de Guatemala.....	14
7	Estado del arte.....	18
8.	Objetivos.....	19
9.	Hipótesis	19
10.	Materiales y métodos	20
10.1	Enfoque de la investigación:	20
10.2	Método:.....	20
10.3	Recolección de información	23
10.4	Técnicas e instrumentos.....	24
10.5	Procesamiento y análisis de la información	24
11.	Resultados y discusión	24
11.1	Resultados.....	24
11.1.1	Colecta de individuos de <i>Stevia</i> en el occidente de Guatemala	24

11.1.2	Pesos y rendimientos de extractos etanólicos de <i>Stevia</i> spp. de Guatemala	37
11.1.3	Pesos y rendimientos de aceite esencial de <i>Stevia polycephala</i>	38
11.1.4	Actividad antimicrobiana de extractos de <i>Stevia</i> spp. de Guatemala	38
11.1.5	Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Stevia polycephala</i>	39
11.1.6	Aislamiento de metabolitos secundarios de <i>Stevia polycephala</i>	40
11.2	Discusión de resultados:.....	41
12.	Referencias	47
13.	Apéndice	50
13.1	Sitios de colecta	50
13.2	Fotografías	51
13.3	Espectros UV-Vis de fracciones obtenidas por cromatografía contracorriente.....	60
14.	Aspectos éticos y legales	66
15.	Vinculación	66
16.	Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual	66
17.	Aporte de la propuesta de investigación a los ODS:	67
18.	Orden de pago final	68
19.	Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación	68
20.	Aval de la Directora del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario	68
21.	Visado de la Dirección General de Investigación	69

Índice de tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Datos de campo de colectas de especies del género <i>Stevia</i> spp. en Guatemala.	25
Tabla 2. Especies de <i>Stevia</i> de estudio, reportadas en la Flora de Guatemala.	28
Tabla 3. Información de colectas de <i>Stevia elatior</i> Kunth, depositadas en Herbarios de Guatemala.	29
Tabla 4. Información de colectas de <i>Stevia lucida</i> var. <i>oaxacana</i> (DC) Grashoff, depositadas en Herbarios de Guatemala	30
Tabla 5. Información de colectas de <i>Stevia polycephala</i> Bertol, depositadas en Herbarios de Guatemala.	31

Tabla 6. Información de colectas de <i>Stevia serrata</i> Cav. depositadas en Herbarios de Guatemala	34
Tabla 7. Información de colectas de <i>Stevia suaveolens</i> Lag. depositadas en Herbarios de Guatemala.	36
Tabla 8. Pesos y rendimientos de extractos etanólicos obtenidos de partes aéreas de especies del género <i>Stevia</i> spp. de Guatemala.	37
Tabla 9. Pesos y rendimientos de aceite esencial de <i>S. polycephala</i>	38
Tabla 10. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de especies del género <i>Stevia</i>	39
Tabla 11. Actividad antimicrobiana del aceite esencial <i>S. polycephala</i>	39
Tabla 12. Valores de Rf en cromatografía en capa fina y máximos de absorción de espectros UV-Vis de fracciones de <i>Stevia polycephala</i> , obtenidas por cromatografía contracorriente.	40

Índice de figuras

Título	Página
Figura 1. Mapa de sitios de colecta de plantas del género <i>Stevia</i>	50
Figura 2. Espectro UV-Vis de la fracción 1, obtenida por cromatografía contracorriente.	60
Figura 3. Espectro UV-Vis de la fracción 2, obtenida por cromatografía contracorriente.	60
Figura 4. Espectro UV-Vis de la fracción 3, obtenida por cromatografía contracorriente.	61
Figura 5. Espectro UV-Vis de la fracción 4, obtenida por cromatografía contracorriente.	61
Figura 6. Espectro UV-Vis de la fracción 5, obtenida por cromatografía contracorriente.	62
Figura 7. Espectro UV-Vis de la fracción 6, obtenida por cromatografía contracorriente.	62
Figura 8. Espectro UV-Vis de la fracción 7, obtenida por cromatografía contracorriente.	63
Figura 9. Espectro UV-Vis de la fracción 8, obtenida por cromatografía contracorriente	63
Figura 10. Espectro UV-Vis de la fracción 9, obtenida por cromatografía contracorriente.	64
Figura 11. Espectro UV-Vis de la fracción 10, obtenida por cromatografía contracorriente	64
Figura 12. Espectro UV-Vis de la fracción 11, obtenida por cromatografía contracorriente.	65
Figura 13. Espectro UV-Vis de la fracción 12, obtenida por cromatografía contracorriente.	65
Figura 14. Espectro UV-Vis del residuo, parte de muestra que no se disolvió en etanol al 95%.	66

2 Resumen y palabras claves

En el proyecto se evaluó el potencial de aprovechamiento de plantas del género *Stevia* de Guatemala, ya que son un recurso que no ha sido estudiado en el país y porque se conoce que las plantas de dicho género son productoras de metabolitos secundarios de alto valor, como el caso de las especies *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni y *Stevia serrata* Cav. Guatemala es un país megadiverso, con elevado potencial para el aprovechamiento de los productos naturales en la medicina y en la industria, sin embargo, la diversidad biológica se encuentra amenazada ante la pérdida de cobertura vegetal y se corre el riesgo de perderla. De esta forma en el proyecto se planteó el estudio de cuatro especies del género *Stevia* con las cuales se realizaron ensayos biológicos con extractos etanólicos y aceites esenciales, para determinar el potencial de producción de los mismos con fines de uso medicinal y cosmético. La única especie cuyos extractos y aceite esencial mostraron actividad antimicrobiana fue *S. polycephala* colectada en dos localidades de Guatemala.

Se evaluó también la viabilidad de la propagación *S. polycephala* y *S. connata* a partir de germinación de semillas (aquenios) con el fin de proponer qué plantas tienen potencial para su aprovechamiento, sin embargo, dichas semillas no germinaron en el primer ensayo de germinación debido muy probablemente a que las semillas no han salido de latencia o se colectaron aún poco desarrolladas y por lo tanto aún no tenían el potencial de germinar.

Palabras clave: Aislamiento, biodiversidad, metabolitos secundarios, elucidación estructural, productos naturales.

Abstract and keywords

This research project evaluated the potential use of plants of *Stevia* genus from Guatemala, since they are a source that has not been studied in this country and because it is known that the plants of the genus are producers of high-value secondary metabolites, such as the case of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni and *Stevia serrata* Cav. Guatemala is a megadiverse country, with a high potential for the use of natural products in medicine and industry. However, biological diversity is threatened by the loss of plant cover and there is a risk of losing it. In this way, the project proposed the study

of seven species of the *Stevia* genus with which biological tests were carried out with ethanolic extracts and essential oils, to determine their production potential for medicinal and cosmetic use. The viability of the propagation of the study plants from seeds and cuttings was also evaluated, in order to propose which plants have potential for propagate them.

The viability of the propagation of *S. polycephala* and *S. connata* from germination of seeds (achenes) was also evaluated in order to propose which plants have potential for their use, however, these seeds did not germinate in the first germination trial. This is most likely due to the fact that the seeds have not come out of dormancy or were collected while still underdeveloped and therefore do not yet have the potential to germinate.

Keywords: Isolation, secondary metabolites, biodiversity, structural elucidation, natural products.

3 Introducción

Guatemala se caracteriza por ser un país de elevada biodiversidad la cual es causada por la gran variedad de microclimas y también debido a la convergencia de las floras de América del Norte y del Sur. Dentro de esta biodiversidad, se encuentran plantas que han desarrollado una elevada cantidad de metabolitos secundarios que cumplen funciones de defensa y de interacción con el entorno. En los últimos años, se ha evidenciado que estos metabolitos presentan actividades biológicas y farmacológicas que son aprovechadas por personas de las comunidades rurales del país, a través de la utilización de las plantas medicinales para el tratamiento de diferentes enfermedades. A pesar de ello, la investigación de los productos naturales en Guatemala no ha desarrollado investigación de la caracterización fitoquímica y evaluación de la actividad biológica de los metabolitos secundarios de muchas especies de plantas nativas que se utilizan popularmente como medicinales.

Dentro de la flora medicinal guatemalteca, destacan las plantas del género *Stevia*, para las que en un considerable número se ha reportado su uso en la medicina tradicional en diferentes países latinoamericanos (Soejarto, Compadre, & Kinghorn, 1983; Kinghorn, 2002). Las plantas del

género *Stevia* (Asteraceae) son hierbas y arbustos propios del Nuevo Mundo que se distribuyen desde el sur de Estados Unidos a Argentina hasta las tierras altas de Brasil, pasando por México, los países centroamericanos y los Andes Sudamericanos (Robinson & King, 1977; Soejarto, Compadre, & Kinghorn, 1983; King & Robinson, 1987; King & Robinson, 1987).

Muchas especies de *Stevia* son utilizadas en la medicina popular de países latinoamericanos y los hallazgos fitoquímicos de estas especies han sido realizados principalmente en México y en diferentes países sudamericanos evidenciando principalmente la presencia de sesquiterpenoides y compuestos de los grupos guaiano, longipineno y germacreno (Kinghorn, 2002).

Se reportan 17 especies de *Stevia* para Guatemala y de estas, únicamente 7 se valoran por su uso como plantas en la medicina tradicional, al ser utilizadas por pobladores en las áreas rurales para tratar una considerable cantidad de dolencias y malestares (Nash & Williams, 1976; Soejarto et al. 1983). De las especies mencionadas, únicamente *S. serrata* ha sido estudiado a nivel de la caracterización química y actividad antinociceptiva de su aceite esencial (Simas et al., 2017; Cordeiro et al. 2020).

Debido a la importancia de las plantas del género *Stevia* en países latinoamericanos y también a la ausencia de información química en las especies de Guatemala, se propone la investigación de las especies *S. connata*, *S. elatior*, *S. lucida*, *S. polycephala*, *S. serrata*, *S. suaveolens* y *S. viscida* para poder realizar la búsqueda de compuestos con actividad biológica que sirvan de base para la formulación de productos terapéuticos o cosméticos que puedan conllevar en un futuro cercano su domesticación y aprovechamiento sostenible de dichas especies.

4 Planteamiento del problema

El problema consiste en que no se cuenta con información sobre la fitoquímica y las propiedades antibacterianas de una gran cantidad de especies nativas de Guatemala, lo cual no permite su aprovechamiento sostenible para generar alternativas económicas para las comunidades que podrían beneficiarse de estas. En Guatemala la biodiversidad está amenazada por el avance de la

frontera agrícola, y debido a la gran variabilidad climática las plantas de Guatemala pueden generar una diversidad grande de metabolitos secundarios que pueden presentar propiedades farmacológicas como antiinflamatorias, analgésicas, entre otras, como se encontró recientemente para la *S. serrata* en estudios realizados por el grupo de investigación proponente. Es así como es importante investigar la fitoquímica de las especies de la biodiversidad de Guatemala, con lo cual se lograría su protección y aprovechamiento. De esta forma, se plantearon las siguientes preguntas relacionadas con el problema.

¿Cuáles son los principales grupos de metabolitos secundarios que poseen las plantas del género *Stevia* de Guatemala que pueden tener potencial de uso en la industria y la medicina?

¿Cuáles son las condiciones de operación que permiten aislar y purificar los metabolitos responsables de la actividad biológica de los extractos de las plantas del género *Stevia*, por cromatografía preparativa?

¿Qué plantas del género *Stevia* de Guatemala presentan metabolitos con actividad biológica y antioxidante que puedan ser aprovechadas económicamente?

¿Cuáles son los niveles de actividad contra bacterias de las fracciones preparativas que contienen los metabolitos con actividad biológica?

¿Cuáles son los niveles de actividad antioxidante de las fracciones preparativas que contienen los metabolitos con actividad biológica?

¿Cuál es la viabilidad que presentan las plantas del género *Stevia* en estudio para ser propagadas con vistas a su domesticación?

5 Delimitación en tiempo y espacio

5.1 Delimitación en tiempo

El proyecto inició en febrero de 2021 y finalizó el 28 de febrero de 2022. Se realizaron colectas a partir del mes de marzo hasta diciembre de 2021, y los análisis de laboratorio se realizaron de abril de 2021 a febrero de 2022.

5.2 Delimitación espacial

Los muestreos para colecta de material vegetal de las especies de estudio se realizaron en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, Quiché, Sololá, Quetzaltenango, San Marcos, y Totonicapán. Los extractos etanólicos y aceites esenciales fueron obtenidos en el laboratorio de la Unidad de Análisis Instrumental; los análisis de pruebas antimicrobianas se realizaron en el Laboratorio de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, mientras que los estudios de propagación se realizaron en instalaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos.

6 Marco teórico

6.1 Las plantas del género *Stevia* Cav.

6.1.1 Distribución

Stevia es un género de hierbas y arbustos enteramente del Nuevo Mundo que pertenecen a la familia Asteraceae (Soejarto et al., 1983; Kinghorn, 2002). Las especies de este género se distribuyen desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina y las tierras altas de Brasil, pasando por México, los países centroamericanos y los Andes sudamericanos. Los registros indican que el género no está representado en las Antillas ni la Amazonia (Robinson & King, 1977; King & Robinson, 1987).

6.1.2 Hábitat

Las especies del género *Stevia* se encuentran principalmente en altitudes entre los 500 a 3,500 metros sobre el nivel del mar. Aunque generalmente crecen en terrenos montañosos semisecos, sus

hábitats van desde praderas, bosques frondosos, laderas boscosas de montaña, bosques de coníferas, hasta vegetación subalpina (Kinghorn, 2002).

6.1.3 Descripción botánica y hábito

Son hierbas o arbustos anuales o perennes, en su mayoría erectos, con hojas simples, opuestas, raramente alternas, la mayoría pecioladas pero exstipuladas, penninervadas o reticuladamente nervadas. Las inflorescencias son capítulos arreglados en grupos corimbosos, paniculados o tirseiformes en las puntas de las ramas o el tallo (Pruski & Robinson, 2015).

6.1.4 Etnobotánica e importancia comercial

De las aproximadamente 220-230 especies de *Stevia*, únicamente alrededor de 34 (15%) tienen algún tipo de registro etnobotánico que relacionan usos con nombres comunes de las especies. De estas 34 especies, únicamente la especie sudamericana *S. rebaudiana*, presenta registros de uso sobresalientes debido a que sus hojas dulces son utilizadas por impartir dulzura a bebidas y alimentos. Por esto, *S. rebaudiana* es una especie de relevancia económica a nivel mundial, dada su intensiva comercialización por su uso como edulcorante natural de bajo contenido calórico (Kinghorn, 2002).

6.1.5 Composición química

Las investigaciones sobre la fitoquímica de las especies del género *Stevia* se han sido realizado principalmente para especies de México y Sudamérica, evidenciando principalmente la presencia de sesquiterpenoides y compuestos de los grupos guaiano, longipineno y germacreno (Kinghorn, 2002).

6.1.5.1 Hallazgos fitoquímicos en especies de *Stevia* de México

Fue aislado el triterpeno 8,14-*seco*-oleana-8(26),13-dien-3 β -ol acetato del extracto hexánico de las raíces de *S. eupatoria* de México (Román et al., 2004)). El nuevo sesquiterpenoide

(4*R*,5*S*,7*S*,8*R*,9*S*,10*R*,11*R*)-longipin-2-en-7,8,9-triol-1-ona-7-angelato-9-isovalerato fue aislado del extracto hexánico de las raíces de *S. eupatoria* de México (Cerde-García-Rojas, Guerra-Ramírez, Román-Marín, Hernández-Hernández, & Joseph-Nathan, 2006).

Se determinó la configuración absoluta del residuo del α -metilbutiril en dos compuestos derivados del longipineno aislados de extractos hexánicos de las raíces de *S. pilosa* de México. La configuración (4*R*,5*S*,7*S*,8*S*,9*S*,10*R*,11*R*,2''*S*) se determinó para 7-angeloiloxi-9-hidroxi-8-(α -metilbutiriloxi)-longipin-2-en-1-ona, mientras que la configuración (4*R*,5*S*,7*S*,8*R*,10*R*,11*R*,2''*S*) se determinó para 7-angeloiloxi-8-(α -metilbutiriloxi)-longipin-2-en-1-ona (Álvarez-García et al., 2005).

El compuesto ácido estefálico fue aislado del extracto metanólico de la planta entera de *S. polycephala* de México (Angeles et al., 1982). Dos nuevos derivados del longipineno fueron aislados de las raíces de *S. viscida* de México. Las estructuras fueron deducidas como longipinan-9 α , 15-diangeloiloxi-1-one y longipinan-9 α -angeloiloxi-15-tigloiloxi-1-ona (Román, Morán, Hernández, Cerde-García-Rojas, & Joseph-Nathan, 1995). También fue aislado el triterpeno 8,14-*seco*-oleana-8(26),13-dien-3 β -ol del extracto hexánico de las raíces de *S. viscida* de México (Román et al., 2004).

En otro estudio, se aislaron e identificaron dos nuevas sesquiterpenlactonas procamazulénicas del extracto diclorometánico de las hojas secas de *S. serrata* colectada en el Estado de Morelos, México: Steviserrolido A y Steviserrolido B (Calderón, Quijano, Gómez, & Ríos, 1989). La destilación por arrastre de vapor de 178 g de flores de *S. serrata* colectadas en el estado de Michoacán, México, proveyeron 700 mg de aceite esencial azul el cual rindió 320 mg de camazuleno utilizando cromatografía de sílica gel (Román, Mora & Hernández, 1990).

Se aislaron y elucidaron 5 nuevos longipinenos de las raíces de *S. serrata* colectadas en el estado de Michoacán, México: 7 β , 9 α -diangeloiloxi-8 α -hidroxilongipinan-1-ona; 8 β , 9 α -diangeloiloxi-9 α -hidroxilongipinan-1-ona; 7 β ,9 α -diangeloiloxi-8 α -acetiloxilongipinan-1-ona; 7 β ,9 α -diangeloiloxi-8 α -acetiloxilongipin-2-en-1-ona; 7 β -angeloiloxi-8 α -isobutiriloxilongipin-2-en-1-ona (Sánchez-Arreola, Cerde-García-Rojas, Joseph-Nathan, Román & Hernández, 1995).

6.1.5.2 Hallazgos fitoquímicos en especies de *Stevia* de Sudamérica

Se aislaron derivados del longipineno de las partes aéreas de dos especies de *Stevia* de Venezuela. Longipin-2-ene-7 β -angeloiloxi-9 α -acetiloxi-1-one fue aislado de *S. lucida*, mientras que 2-dehidrorastevione, rasteviona y trifloresteviona fueron aislados de *S. triflora* (Amaro, Adrián, Cerda, & Joseph-Nathan, 1988).

En otro estudio, dos nuevos diésteres del longipineno fueron aislados del extracto hexánico de raíces de *S. lucida* de Colombia, longipin-2-eno-7 β , 9 α -diol-1-one-7-tiglato-9-isovalerato y longipin-2-eno-7 β , 9 α -diol-1-ona-7-seneciato-9-isovalerato (Guerra-Ramírez, Cerda-García-Rojas, Puentes, & Joseph-Nathan, 1998).

También se han caracterizado exitosamente 19 derivados del ácido hidroxicinámico en hojas de *S. rebaudiana*, correspondiendo a tres ácidos monocafeoilquínicos (M_r354), siete ácidos dicafeoilquínicos (M_r516), un ácido *p*-coumaroilquínico (M_r338), un ácido feruloilquínico (M_r368), dos ácidos cafeoil-feruloilquínicos (M_r530), tres ácidos cafeoilshikímicos (M_r336), y dos ácidos tricafeoilquínicos (M_r678) (Karaköse, Jaiswal, & Kuhnert, 2011).

Dos nuevos glicósidos diterpénicos secundarios fueron aislados de un extracto comercial de hojas de *S. rebaudiana* cultivada en Malasia. Los compuestos fueron identificados como ácido 13- $\{\beta$ -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- $[\beta$ -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil-oxi]*ent*-kaur-16-en-19-oico, éster de $\{\beta$ -D-xilopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- $[\beta$ -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)]-*O*- β -D-glucopiranosilo, ácido 13- $\{\beta$ -D-6-deoxiglucopiranosil-(1 \rightarrow 2)-*O*- $[\beta$ -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil-oxi]*ent*-kaur-16-en-19-oico y éster de $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosilo}*ent*-kaur-16-en-19-oico y éster de $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- $[\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosilo} (Prakash, & Prakash Chaturvedula, 2013).

6.2 Las plantas del género *Stevia* de Guatemala

De las 220-230 especies reconocidas del género, 17 están descritas para la República de Guatemala (Nash & Williams, 1976; King & Robinson, 1987). De estas 17 especies, 7 de ellas (*S. connata*, *S.*

elatior, *S. lucida*, *S. polycephala*, *S. serrata*, *S. suaveolens* y *S. viscida*) se reportan como plantas de uso medicinal tradicional o para uso forestal (*S. polycephala*) en encuestas etnobotánicas realizadas en localidades del altiplano guatemalteco y en reportes de literatura científica de especies del género (Soejarto et al., 1983).

***Stevia connata* Lag.**

S. connata se distribuye desde el cinturón volcánico sureño mexicano hasta Nicaragua, a altitudes entre 610-2,450 msnm. La planta florece de agosto a noviembre. Es una hierba perenne de 1m de alto, con tallos escasos, glabros o escasamente puberulentos, hojas opuestas, sésiles, oblongas a linear oblongas, raramente estrecho lanceoladas, de 4.5-11 cm de largo a 3.5-15 mm de ancho, inflorescencias son corimbos compactos, terminales y redondeados, de 7-19 cm de diámetro, cabezas florales de 8-10 mm alto, con pedúnculos cortos, corolas blancas, de alrededor de 4-6 mm de longitud, aquenios de 2.5-3.7 mm de longitud excluyendo el vilano (Nash & Williams, 1976).

Se han reportado colectas de esta especie para Guatemala, aunque no se mencionan detalles específicos de los sitios de colecta como departamentos o municipios (Tropicos.org, 2020). Soejarto et al. (1983) reportan que la especie es conocida en Guatemala como “pericón de monte” y que es valorada por utilizarse en el tratamiento de dolores de estómago. Por su parte, Cates et al. (2013) reportan que a la especie se le conoce popularmente como “guapillo” en el departamento de Chiquimula, Guatemala, y que su raíz se utiliza para tratar el dolor de estómago y para la infertilidad.

***Stevia elatior* Kunth**

S. elatior se distribuye desde el sur de México, Centroamérica y norte de Sudamérica, se encuentra a altitudes entre 1,300-2,650 msnm, cerca y dentro de bosques de pino-encino, usualmente en lugares soleados y frecuentemente sobre suelo rojo arcilloso. En Sudamérica puede alcanzar elevadas altitudes y se dice que crece en campos, áreas cubiertas de hierba, y cerca de aldeas justo debajo del páramo. En Guatemala crece en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, El Quiché, Sacatepéquez, Santa Rosa y Sololá, floreciendo de julio a octubre. Es una hierba rizomatosa y perenne

de 1.5 m de alto, los tallos son solitarios o pocos, erectos, densamente glandular pilosos, hojas ovadas a ovadas deltoides, sésiles, subpecioladas o largamente pecioladas, crenadas, el ápice agudo a obtuso o redondeado, corolas de 4.5-6 mm de alto, de color púrpura rojizo con lóbulos blancos a rosa pálidos, aquenios heteromórficos de 4-4.5 mm de longitud excluyendo el vilano (Nash & Williams, 1976).

En cuanto a los usos medicinales, Soejarto et al. (1983) reportan que las hojas de *S. elatior* son utilizadas por pobladores del estado de Oaxaca, México, para aliviar quemaduras y rasguños.

***Stevia polycephala* Bertol.**

S. polycephala se distribuye en México y Guatemala en bosques nubosos montanos de coníferas y encinos o en suelo de grava sobre colinas y a lo largo de caminos entre los 2,600-3,200 msnm. En Guatemala se encuentra en los departamentos de Guatemala, Huehuetenango, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Suchitepéquez y Totonicapán. Es un arbusto de 2 m de alto, los tallos de uno a varios, la corteza suave de color pardo opaco, ramas opuestas, puberulento, hojas opuestas, lanceoladas, de alrededor de 7-18 cm de largo, 1.7-5.3 cm de ancho, punteadas glandular, enteras o aserradas el ápice acuminado, con la base aguda, inflorescencias son terminales, corimbos redondeados de 6-20 cm, la corola es blanca, rosada o lavanda, de alrededor de 6 mm de longitud, los aquenios de 5.5 mm de longitud (Nash & Williams, 1976).

Soejarto et al. (1983) reportan que *Stevia polycephala* Bertol. var. *polycephala* es conocida como “mejorana” en Guatemala. En la aldea Xicanxabox, Totonicapán, la señora Josefina Puac refirió que las partes aéreas del “quebuj” (*S. polycephala*) eran utilizadas junto con otras plantas medicinales en los baños de temazcal para reponer las fuerzas de las mujeres después del parto (J. Puac, comunicación personal, 12 de junio de 2008). Por su parte, el señor Jaime Batz, de la aldea La Soledad, Acatenango, refirió que la decocción de las partes aéreas del “quebuj” era utilizado en lienzos para el tratamiento de lesiones óseas y dolores musculares (J. Batz, comunicación personal, 08 de marzo de 2014).

El Ing. Agr. Vicente Martínez relató el uso de *S. polycephala* como planta nodriza de plántulas de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) en distintas comunidades del altiplano guatemalteco (V. Martínez, comunicación personal, 10 de febrero de 2016).

Stevia serrata Cav.

Se distribuye desde el sur de Arizona, Nuevo México y Texas hasta el norte de Oaxaca, de Chiapas hasta Honduras, Colombia, Venezuela y Ecuador. En Guatemala se encuentra en los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, El Quiché, Sacatepéquez y Sololá (Nash & Williams, 1976; Pruski & Robinson, 2015). La especie crece a lo largo de bordes de caminos y en pastos de diversos hábitats de matorrales de *Yucca-Opuntia* y bosques de pino-encino, generalmente entre 900 y 2,800 m. Prefiere lugares soleados, pedregosos y bien drenados, pero también crecen en pastos húmedos y otras áreas planas (Nash & Williams, 1976; Pruski & Robinson, 2015).

Es una hierba perenne y erecta de entre 0.6-1 m de alto, con tallos puberulentos a densamente pilosos. Hojas alternas, dispersas o a menudo amontonadas, sésiles o subsésiles, con grupos axilares de hojas pequeñas, láminas de 2.5-6.5 cm de longitud y 0.2-1.5 cm de ancho, con márgenes subenteros y usualmente serrados hacia la punta, ápice redondeado a agudo. La inflorescencia densamente corimbiforme, pedúnculos de 0-2 mm, sésiles glandulares, pubescentes. Corolas de 3-5 mm, usualmente blancas. Cipselas de 2.2-4.2 mm de longitud, 4 (raramente 5 o 0) cipselas por capítulo usualmente con 3-5 aristas, aristas de 3-5 mm. (Nash & Williams, 1976; Pruski & Robinson, 2015).

En Honduras, la planta es conocida como “flor de octubre” y la decocción de la flor es utilizada por parte de las parteras para acelerar las contracciones de las parturientas durante el parto (Ticktin & Dalle, 2005). En México, la planta, conocida como “tlalchichinole”, era utilizada en decocción de las partes aéreas para el lavado de espinillas infectadas (Kinghorn, 2002). También en México, donde recibe el nombre de “chile burro” es utilizada para tratar los malestares intestinales (Vibrans, Alipi, y Pichardo, 2009).

7 Estado del arte

Se ha demostrado que varias plantas del género *Stevia* poseen metabolitos secundarios con usos potenciales en la medicina y la industria de los alimentos, como el caso de la especie *S. serrata* de Guatemala que se ha investigado por el grupo de investigación proponente y la especie *S. rebaudiana*, de Sudamérica, de la cual se conoce por su producción de edulcorantes.

S. rebaudiana es una especie que reviste importancia económica a nivel mundial debido al hecho de que la planta contiene glicósidos diterpénicos de sabor dulce, en particular, esteviósido y rebaudiósido A. Estos compuestos son utilizados como edulcorantes que no aportan calorías, principalmente en países como Japón y Corea, donde son utilizados para endulzar y saborizar una vasta variedad de productos alimenticios (Kinghorn, 2002).

La especie *S. serrata* reviste considerable importancia debido al hallazgo de la presencia de compuestos procamazulénicos, así como la presencia del sesquiterpeno camazuleno en el aceite esencial de las partes aéreas (Calderón, Quijano, Gómez & Ríos, 1989; Román, Mora, & Hernández, 1990). Se realizó un primer estudio de *S. serrata* de Guatemala el cual evidenció una alta concentración de camazuleno en la composición de su aceite esencial (60.1%). Dicho estudio también demostró una marcada actividad antinociceptiva del aceite esencial de partes aéreas de *S. serrata* en ratones en la prueba de la formalina (Simas et al., 2017). Un estudio posterior demostró efecto antinociceptivo del aceite esencial de *S. serrata* de Guatemala, el cual fue mediado, por lo menos en parte, a través de las rutas opiode, colinérgica y nitrérgica en un estudio con ratones (Cordeiro et al., 2020).

Un primer ensayo de domesticación de *S. serrata* colectada en Santa Lucía Utatlán, Sololá, demostró efectividad de propagación a través de germinación de semillas. Se obtuvo un 75% de germinación de semillas, las cuales se desarrollaron hasta plantas adultas (Pérez-Sabino et al., 2020).

El hallazgo de la actividad biológica del aceite esencial de *S. serrata* de Guatemala, así como la efectividad de su propagación a través de germinación de semillas, ha contribuido a impulsar más

investigaciones en especies del género *Stevia* de Guatemala en la búsqueda de compuestos con actividad biológica que sirvan de base para la formulación de productos terapéuticos y/o cosméticos.

8. Objetivos

General:

Caracterizar los principales metabolitos secundarios y la actividad antioxidante y biológica de las fracciones de extractos, de cuatro especies del género *Stevia* y la germinación de semillas de las especies del género *Stevia* nativas de Guatemala.

Específicos:

1. Determinar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en cuatro especies del género *Stevia* nativas de Guatemala.
2. Aislar a escala preparativa metabolitos secundarios de extractos de las cuatro plantas de estudio en fracciones preparativas.
3. Determinar la actividad biológica de los extractos crudos y de las fracciones preparativas de las cuatro especies de estudio contra microorganismos patógenos para el ser humano.
4. Determinar la actividad antioxidante de los extractos crudos y de las fracciones preparativas de las cuatro plantas de estudio.
5. Evaluar la viabilidad de germinación por semillas de dos especies del género *Stevia*.

9. Hipótesis

Al menos una fracción preparativa del extracto etanólico de cada una de las seis plantas de estudio del género *Stevia*, presenta actividad biológica cuantificable contra microorganismos patógenos.

10. Materiales y métodos

10.1 Enfoque de la investigación:

El enfoque de la investigación fue cuantitativo ya que se recolectaron datos correspondientes a resultados de análisis químicos y biológicos, y se realizó un análisis estadístico de los resultados para establecer las diferencias en composición química, actividad biológica y factibilidad de propagación de las especies de estudio. La investigación es descriptiva y explicativa.

10.2 Método:

La unidad de investigación proponente contó con equipo de laboratorio y laboratorios adecuados para realizar los análisis más relevantes, así como personal especializado en Química de Productos Naturales, Botánica y estudios agronómicos.

Colecta

Las especies a estudiar en la presente investigación fueron *S. connata*, *S. elatior*, *S. polycephala*, incluyéndose como referencia la *S. serrata*, la cual ya ha sido estudiada por el grupo de investigación, pero se aprovechó para utilizarla con propósitos comparativos en los ensayos cromatográficos, y para investigar y confirmar la presencia de algunos metabolitos. Estas plantas presentan propiedades medicinales y fueron colectadas en localidades de los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, Quiché, Sololá, Quetzaltenango, San Marcos, y Totonicapán, donde se han reportado poblaciones de las plantas de estudio en investigaciones previas y en la literatura consultada, y se hará una búsqueda en las regiones boscosas en cerros de Petén e Izabal. Los sitios de colecta serán georreferenciados por medio de un aparato de GPS. Las colectas se realizarán en los meses de marzo a octubre. En cada población se colectarán 2 kg de hojas. Ver cronograma de muestreos en el apéndice.

Del material vegetal homogenizado de cada localidad, se tomaron seis porciones de 100 g. Los metabolitos secundarios fueron extraídos de cada porción de material vegetal, con una porción de 1 L de etanol por 48 h y dos porciones sucesivas de 500 mL por 48 h cada una. El extracto fue filtrado,

luego evaporado en rotavapor. Se pesó el material y luego se concentró para calcular el rendimiento y se almacenaron en refrigeración, previo a su separación por cromatografía.

Preparación de la muestra y obtención de extractos

Las muestras fueron desecadas en secador solar, luego de lo cual fueron molidas y homogenizadas para su extracción. Del material vegetal homogenizado de cada localidad, se tomaron seis porciones de 100 g. Los metabolitos secundarios fueron extraídos de cada porción de material vegetal, con una porción de 1 L de etanol por 48 h y dos porciones sucesivas de 500 mL por 48 h cada una. El extracto es filtrado, luego evaporado en rotavapor. Se pesó el material concentrado para calcular el rendimiento y se almacenó en refrigeración, previo a su separación por cromatografía.

Extracción y análisis de aceites esenciales

El aceite esencial fue obtenido por medio de hidrodestilación utilizando un aparato tipo Clevenger, a partir de 100 g de material seco, colectándose el aceite por 3 h en pentano. Posteriormente se evaporó el pentano en rotavapor y se determinó el rendimiento de extracción pesando el aceite en balanza analítica. Se realizaron de cuatro a seis extracciones de material de cada población para obtener suficiente aceite para las separaciones preparativas.

Ensayos de actividad biológica

Se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y de los aceites esenciales, frente a bacterias Gram positivo (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Bacillus subtilis* ATCC 6633), bacterias Gram negativo (*Escherichia coli* ATCC 8739 y *Salmonella enterica* var. Tiphimurium) y una levadura (*Candida albicans* ATCC 10231) utilizando el método descrito por frente Mitcher y colaboradores (1972).

Los compuestos se diluyeron en dimetilsulfoxido (DMSO) y posteriormente en etanol al 50% para obtener una concentración inicial 1000 µg/mL. El inóculo de la bacteria se prepara utilizando un estándar de MacFarland de 0.5 e inoculando por estriación en las cajas con agar Mueller Hinton® que

contienen el compuesto. Para los compuestos con actividad antimicrobiana se les determinó la concentración de inhibición mínima (CIM) realizando diluciones seriadas.

Fraccionamiento de extractos etanólicos por cromatografía contracorriente

A partir de los resultados de actividad biológica, se realizó el fraccionamiento del extracto de *Stevia polycephala* colectada en las faldas del volcán de Acatenango, por haber sido la única especie que presentó actividad antimicrobiana. Para realizar la separación, se utilizó hexano como fase estacionaria y una mezcla de ciclohexano:acetato de etilo:metanol: agua (1:1:1:1) en un cromatógrafo contracorriente con columna de 250 mL. La muestra para su inyección fue disuelta en etanol al 95%. El residuo no disuelto no se introdujo en el cromatógrafo y se conservó para su análisis por espectrofotometría UV-Vis. Se colectaron fracciones de 20-30 mL según se observara cambios en la coloración de la fracción eluida. Las muestras se almacenaron para su análisis.

Análisis de fracciones

Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina, en placas de gel de sílice, utilizando como fase móvil acetato de etilo:metanol:agua (90:8:5). Se determinaron los R_f de los compuestos presentes en cada fracción. Posteriormente, se obtuvieron en un espectrofotómetro, los espectros UV-Vis entre 200 y 1000 nm de las fracciones que presentaron metabolitos aislados y se tabularon los máximos de absorción. El residuo no separado por cromatografía contracorriente se disolvió en agua y se obtuvo el espectro UV-Vis de la misma manera que para las fracciones.

Evaluación de la viabilidad de la propagación de las especies de estudio

Las infrutescencias recolectadas para cada población en el campo se secaron y se seleccionó la semilla (aquenios). Cada uno de los procesos fue descrito detalladamente ya que no hay información sobre la tecnología de semillas de estas especies. Se estableció el número de semillas por gramo y de esto, se tomaron 200 semillas para colocarlas a germinar.

Germinación de semillas

En frascos de vidrio de boca ancha de 50 mL se colocaron 20 aquenios (semillas) de *S. connata* y *S. polycephala*, sobre servilletas mojadas dentro de los frascos para evaluar el potencial de germinación de las mismas, previamente a realizar los ensayos de reproducción sobre peat moss en piloneras.

10.3 Recolección de información

El análisis de este trabajo se hace a partir de tres fuentes: a) revisión de literatura; b) estudios de campo y c) estudios de laboratorio.

La revisión de literatura para la parte botánica de las especies del país se obtuvo de la Parte 12 de la Flora de Guatemala (Nash & Williams, 1976) y de registros de los herbarios AGUAT, BIGUA y USCG y de otras fuentes importantes relacionadas con el género *Stevia*.

Para la parte de estudios de campo, se realizaron giras de prospección y recolección en 2021, en varias partes del país con énfasis en el rango altitudinal reportado en la literatura para las especies de *Stevia*, esto como parte de las actividades del proyecto “Caracterización fitoquímica y de la actividad biológica, y evaluación de la propagación de seis especies del género *Stevia* de Guatemala, con el financiamiento de la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Se obtuvo muestras para herbario que fueron determinadas y descritas.

En el caso de estudios de laboratorio, se compiló información bibliográfica del género, se describió lo encontrado en estudios previos con *Stevia serrata* y *Stevia polycephala*. Se complementa con los avances obtenidos en las especies recolectadas dentro del proyecto mencionado anteriormente.

En el laboratorio se tabularon los datos espectroscópicos de absorbancia y longitud de onda a partir del análisis por espectrofotometría UV-Vis de metabolitos secundarios aislados de extractos etanólicos. Se tabularon las distancias recorridas por los metabolitos separados por cromatografía en capa fina.

10.4 Técnicas e instrumentos

Muestreo: se muestrearon 2 kg de cada planta en cada población, procurando obtener al menos dos poblaciones en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, Quiché, Sololá, Quetzaltenango, San Marcos, Totonicapán. No se encontraron poblaciones de las plantas de estudio en los departamentos de Sacatepéquez, Santa Rosa, y Chiquimula.

Entre los instrumentos utilizados se encuentran un cromatógrafo contracorriente para realizar separaciones de extractos. Espectrofotómetro UV-Vis por medio del cual se obtuvieron los espectros de los compuestos aislados a partir de los extractos etanólicos.

10.5 Procesamiento y análisis de la información

Los resultados de los análisis de laboratorio se procesaron en una hoja electrónica de Excel. Se elaboraron tablas con los resultados obtenidos, a partir de las cuales se realizó el análisis y discusión de resultados.

11. Resultados y discusión

11.1 Resultados

11.1.1 Colecta de individuos de *Stevia* en el occidente de Guatemala

Se realizó la colecta de especies de *Stevia* en estado silvestre en diferentes departamentos del occidente de Guatemala (Tabla 1). Fue posible la ubicación y colecta de partes aéreas de *S. connata*, *S. serrata*, *S. elatior*, *S. suaveolens* y *S. polycephala*. Se realizó la búsqueda de *S. lucida* en los sitios que reportan las etiquetas de especímenes de herbario, sin embargo, no pudo ser localizada. *S. viscida* tampoco pudo ser localizada debido a que no se halló información en etiquetas de herbario sobre sitios de colecta de esta especie para Guatemala.

Por otra parte, en las Tabla 2 se presenta la información existente en la Flora de Guatemala sobre la distribución de las especies de estudio, mientras que de la 3 a la 7 se presenta la información recopilada en herbarios de Guatemala, en los que se han hecho depósitos de especímenes de las especies estudiadas. Es de destacar que antes de esta investigación, no se contaba con depósitos de especímenes de la *S. connata*, siendo esta investigación la primera en que se reporta la localización de una población de la especie en el departamento de Huehuetenango (Tabla 1).

Tabla 1

Datos de campo de colectas de especies del género Stevia spp. en Guatemala.

Especie	Fecha de colecta	Sitio de colecta	Coordenadas geográficas/ Altitud	Vegetación asociada	Partes colectadas
<i>Stevia serrata</i> Cav.	Abril 2021	En terreno baldío cerca del paso a desnivel que comunica la ciudad de Quetzaltenango con Salcajá, departamento de Quetzaltenango.	N 14° 51' 51.4" O 091° 28' 08.6" 2,327 msnm	En remanente de bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.)	Aquenios
<i>Stevia polycephala</i> Bertol.	Junio 2021	Faldas de volcán de Acatenango, municipio de Acatenango, departamento de Chimaltenango.	N 14° 31' 50.3" O 090° 52' 48.1" 2,631 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.), encinos (<i>Quercus</i> sp.), alisos (<i>Alnus</i> sp.) y árboles de manita (<i>Chiranthodendron pentadactylon</i> Larreat.). Presencia de cultivos de maíz y hortalizas.	Hojas, tallos, inflorescencias y aquenios
<i>Stevia polycephala</i> Bertol.	Julio 2021	Aproximadamente a 4 kms de la entrada de San José Ojetenam,	N 15° 13' 17.0" O 091° 57' 32.7" 3,340 msnm	Bosque con presencia de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y arbustos de arrayán (<i>Baccharis</i> sp.)	Hojas, tallos y aquenios

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

		departamento de San Marcos.			
<i>Stevia polycephala</i> Bertol.	Julio 2021	En carretera de terracería hacia aldea Nueva Esperanza, San José Ojetenam, departamento de San Marcos.	N 15° 12' 53.8" O 091° 57' 28.2" 3,394 msnm	En bosque de pinabete (<i>Abies guatemalensis</i> Rehder) y arrayán (<i>Baccharis</i> sp.).	Hojas y tallos
<i>Stevia elatior</i> Kunth	Julio 2021	En bosque cercano al foco urbano de San Miguel Ixtahuacán, departamento de San Marcos.	N 15° 14' 57.3" O 091° 43' 56.4" 2,437 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y encinos (<i>Quercus</i> sp.), cercano a cultivo de maíz, durazno y cerezas (<i>Prunus</i> spp.).	Hojas, tallos e inflorescencias
<i>Stevia serrata</i> Cav.	Julio 2021	En bosque cercano al foco urbano de San Miguel Ixtahuacán, departamento de San Marcos.	N 15° 15' 33.7" O 091° 44' 24.5" 2,379 msnm	En bosque de pino (<i>Pinus</i> sp.) cercano a cultivo de maíz.	Hojas, tallos e inflorescencias
<i>Stevia elatior</i> Kunth	Julio 2021	En bosque cercano al foco urbano de San Miguel Ixtahuacán, departamento de San Marcos.	N 15° 15' 33.2" O 091° 44' 24.2" 2,378 msnm	En bosque de pino (<i>Pinus</i> sp.) cercano a cultivo de maíz.	Hojas, tallos e inflorescencias
<i>Stevia serrata</i> Cav.	Julio 2021	En bosque en la carretera entre San Miguel Ixtahuacán y Huehuetenango, departamento de San Marcos.	N 15° 17' 00.7" O 091° 43' 10.6" 2, 228 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y encinos (<i>Quercus</i> sp.)	Hojas, tallos e inflorescencias
<i>Stevia elatior</i> Kunth	Julio 2021	En bosque en la carretera entre San Miguel	N 15° 17' 00.4" O 091° 43' 10.2" 2, 229 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y	Hojas, tallos e inflorescencias

		Ixtahuacán y Huehuetenango, departamento de San Marcos.		encinos (<i>Quercus</i> sp.)	
<i>Stevia suaveolens</i> Lag.	Octubre 2021	En cerro aledaño a foco urbano del municipio de San José Ojetenam, departamento de San Marcos.	N 15° 14' 12.4" O 091° 58' 28.9" 3,150 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y cipreses (<i>Cupressus</i> sp.).	Hojas, tallos, inflorescencias inmaduras
<i>Stevia suaveolens</i> Lag.	Octubre 2021	Entre los municipios de Zacualpa y Chinique, departamento de Quiché.	N 15° 00' 14.8" O 090° 56' 07.2" 1,719 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y encinos (<i>Quercus</i> sp.)	Hojas, tallos e inflorescencias
<i>Stevia connata</i> Lag.	Octubre 2021	Municipio de Huehuetenango. En la carretera entre San Pedro Jocopilas, Quiché, y la ciudad de Huehuetenango, departamento de Huehuetenango.	N 15° 16' 18.7" O 091° 21' 04.6" 1,963 msnm	En bosque de pinos (<i>Pinus</i> sp.) y encinos (<i>Quercus</i> sp.)	Hojas, tallos, inflorescencias y aquenios

Fuente: Datos experimentales Proyecto B14-2021

Tabla 2.

Especies de Stevia de estudio, reportadas en la Flora de Guatemala.

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

Espece	Hábitat	Rango Altitudi- nal (msnm)	Distribución
<i>Stevia elatior</i> Kunth	En y cerca de bosques de pi- nos y robles, generalmente en lugares soleados y fre- cuentemente en suelos de arcilla roja.	1300-2650	Chimaltenango; Huehuete- nango; El Quiche: Sacatepé- quez; Santa Rosa, Sololá. Este y sureste de México, América Central y norte de Sur América
<i>Stevia lucida</i> var. oaxacana (DC.) Grashoff	Bosques de encinos y pinos en México y Centroamérica, pero en Sur América se encuentra con mayor frecuencia en las regiones del subpáramo, donde florece todo el año.	1800-3200	Chimaltenango, Huehuete- nango, El Quiché, Quetzalte- nango. México (Oaxaca, Chia- pas), Costa Rica, Panamá, Co- lombia, Venezuela
<i>Stevia connata</i> Lag.	Sin información	610-2450	De Eje volcánico transversal en México a Nicaragua
<i>Stevia polycephala</i> Bertol.	Bosques nublados de robles, coníferas o montanos o en suelos con grava en colinas y a lo largo de las carreteras	2600-3200	Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Suchitepéquez, Toton- icapán. México (Chiapas).
<i>Stevia serrata</i> Cav.	La especie crece a lo largo de los caminos y en pastiza- les en varios hábitats desde matorrales de <i>Yucca-Opun- tia</i> hasta bosques de pinos. Las plantas prefieren lug- ares soleados, pedregosos y bien drenados, pero también crecen en pastos húmedos y otras áreas planas.	Por arriba de 1500	Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzalte- nango, El Quiché, Sacatepé- quez, Sololá. Sureste de Ari- zona sureste de Texas al no- reste de Oaxaca, Chiapas a Honduras. Colombia a Ecu- ador
<i>Stevia suaveo- lens</i> Lag.	Crece en bosques de pino- encino	2000-3100	Chimaltenango, San Marcos, El Quiché. México (México) a Guatemala, con poblacio- nes periféricas en Durango,

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

			Costa Rica, Colombia y Ecuador.
<i>Stevia viscida</i> Kunth	Pastizales y bordes de caminos en sitios bastante planos	1100-2200	Huehuetenango. De sureste de Arizona y Texas al oeste de Guatemala

Fuente: Nash & Williams (1976)

Tabla 3.

Información de colectas de *Stevia elatior* Kunth, depositadas en Herbarios de Guatemala.

Datos de colecta	Características del espécimen	Coordenadas y/o Altitud msnm	Fecha de colecta
Herbario AGUAT			
Guatemala, Guatemala, Mixco, a 2 km antes del mirador de San Lucas Sacatepéquez.	Planta de 1 m de alto, tallos rojizos, corola púrpura con lóbulos blancos.	1,600	24/07/1992
Guatemala, departamento de Sacatepéquez, Santa María de Jesús.	Hierba de 40 cm de altura con inflorescencias laxas, creciendo a la orilla de la carretera.	2,000	17/08/1989
Herbario USCG			
Guatemala, Quiché, San Pedro Jocopilas, en la carretera a Sacapulas.	Hierba sufrutescente, de +50 cm de alto, hojas opuestas, sésiles, ovadas, inflorescencia laxas, flores blancas, 5 por capítulo.	15°07'00.40"N; 91°11'18.69"O; 2,076	17/08/2007
Guatemala, departamento de Santa Rosa, a 35 km al oeste de Barberena.	Presente en área mayormente cultivada, a la orilla de la carretera.	1,830	25/07/1979

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI–

Guatemala, Huehuetenango, Chiantla, La Zeta.	Hierba frecuente, de 1 m de porte, con inflorescencias laxas. Las cabezuelas discoideas, con pocas flores de color blanco; creciendo a la orilla de la carretera dentro de un rodal joven de <i>Quercus</i> spp.	2,150	10/08/1999
Guatemala, Sacatepéquez, Santa Lucia Milpas Altas, Finca Florencia.	Hierba muy frecuente, creciendo a la orilla de la carretera, presentando laxas panículas de cabezuelas discoideas con pocas flores.	2,000	30/08/1994
Guatemala, Huehuetenango, Aguacatán, Cuesta del Águila.		15°18'26"N; 91°11'11"O; 1,734	05/10/2010

Fuente: Herbarios AGUAT y USCG.

Tabla 4.

Información de colectas de *Stevia lucida* var. *oaxacana* (DC) Grashoff, depositadas en Herbarios de Guatemala

Datos de colecta	Características	Coordenadas y/o Altitud msnm	Fecha de colecta
Herbario USCG			
Guatemala, Huehuetenango, Todos Santos Cuchumatán, Reserva Forestal Todos Santos Cuchumatán.		15°31'07"N, 91°35'27"O; 3,416	18/11/2009
Guatemala, Quetzaltenango, Volcán Zunil.	Arbusto frecuente, inflorescencias terminales, formando panículas abiertas.	3,200	07/05/2000
Guatemala, Sololá, volcán Atitlán.	Arbusto.	3,600	08/03/1992

Fuente: Herbario USCG.

Tabla 5.

Información de colectas de *Stevia polycephala* Bertol, depositadas en Herbarios de Guatemala.

Datos de colecta	Características	Coordenadas y/o Altitud msnm	Fecha de colecta
Herbario AGUAT			
Guatemala, Sacatepé- quez, volcán de Agua.		2,800	03/01/1926
Guatemala, San Mar- cos, San José Ojete- nám, entre bosque y pastizal, pendiente moderadamente es- carpado.	Arbusto de 80 cm de alto, corteza lisa, flores blancas, común.	3,320	15/02/1977
Guatemala, Totonica- pán, sobre carretera CA1, 16 km al sur de la ciudad de Totoni- capán, en bosque mixto de <i>Pinus</i> y ár- boles latifoliados.	Arbusto de 2 m de alto con flores blan- cas.	2,925	02/01/1992
Guatemala, Sacatepé- quez, Santa María de Jesús, volcán de Agua.	Arbusto muy frecuente de 2m de alto, fé- tido, flores de color rosado claro.	14°28'10"N, 90°44'23"O; 3,400	13/04/2000
Guatemala, Huehue- tenango, San Juan Ix- coy, Rocas de Cap- tzín.	Arbusto frecuente, fétido, de 1 a 2.3 m de porte, con abundantes corimbos de cabezuelas de color rosado claro, cre- ciendo a la orilla de la carretera.	3,100	29/03/1995
Guatemala, Sacatepé- quez-Chimaltenango, faldas del volcán de Acatenango.	Planta arbustiva ± 2m de alto, flores co- lor lila.	2,000	27/11/1993

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

Guatemala, volcán de Acatenango, vuelta del Sare.	Arbusto abundante, de 1.8 m de porte, creciendo a la orilla del camino, con inflorescencias de color rosado, y con mal olor, parecido a zorrillo.	2,300	26/05/1990
---	---	-------	------------

Herbario USCG

Guatemala, Sololá, alrededor de 30 km al este de Quetzaltenango sobre ruta CA1, en bosque de pino-encino.	Arbusto frecuente de 3m de alto, flores blancas.	14°50'N, 91°20'O; 2,850	
Guatemala, Huehuetenango, Todos Santos Cuchumatán, Tuicoy.	Arbusto muy frecuente, glanduloso fétido, 1 m de porte, corimbos de cabezuelas discoideas de color rosado claro, creciendo dentro del sotobosque con <i>Abies</i> sp.	3,400	15/03/2000
Guatemala, Sololá, San Juan la Laguna, Cerro Panan.		14°38'31"N, 91°00'00"O; 2,490	03/01/2012
Guatemala, Huehuetenango, San Juan Ixcuy. Cuenca del Río Yulgüitz, aldea Yulgüitz.		15°33'46"N, 91°28'16"O; 2,644	16/11/2009
Guatemala, Huehuetenango, Chiantla, cerca del Mirador.	Arbusto muy frecuente, de 2m de porte, filotaxia opuesta, inflorescencias en corimbos de cabezuelas muy denso. Olor fétido.	15°23'56.9"N; 91°26'25.8"O; 2,984	22/03/2007

Herbario BIGU

Guatemala, Sacatepéquez, volcán de Acatenango, Las tres cruces. BIGU 80505	Arbusto de hojas opuestas, inflorescencias en corimbos de cabezuelas discoideas con 3-5 flores rosadas.	14°32'37.41"N, 90°52'32.28"; 2,540	10/07/2018
--	---	--	------------

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

Guatemala, Huehuetenango, Municipio La Libertad, Peña Blanca. BIGU 045676	Arbusto muy frecuente, de 2-3 m de porte, con abundantes y densos corimbos y cabezuelas discoideas de color rosado-blanco, planta fétida.	15°29'55"N, 91°54'58"O; 3,424	14/12/2000
Guatemala, Municipio de Zunil, borde entre volcán Zunil y volcán Santo Tomás. BIGU 038867	Creciendo con <i>Abies guatemalensis</i> , <i>Oreopanax echinops</i> , <i>Arbutus xalapensis</i> , <i>Chiranthodendron pentadactylon</i> y <i>Pinus hartwegii</i>	14°43'23.5"N, 91°28'49"O; 3,272	04/01/2005
Guatemala, Quetzaltenango, 2 km al sur de Llanos del Pinal (7 km al sudoeste de Xela), ladera norte del volcán Santa María. BIGU 038774	Arbusto de 2m con cabezuelas discoideas rosadas y blancas, en bosques densos, caminos de terracería abiertos y afloramientos rocosos con <i>Alnus acuminata</i> , <i>Cupressus lusitanica</i> , <i>Quercus</i> sp., y <i>Buddleja americana</i> .	14°46.578' N, 91°33'26.7"O; 2,800	06/01/2006
Guatemala, Quetzaltenango, ladera noroeste del volcán Zunil. BIGU 038892	En afloramientos rocosos de <i>Alnus acuminata</i> ssp. <i>arguta</i> , <i>Pinus</i> sp., <i>Arbutus xalapensis</i> y <i>Lunipus montanus</i> .	14°44'25.6"N, 91°27'48.7"O; 3,180	31/12/2003
Guatemala, Quetzaltenango, Municipio de Cantel, cumbre a lo largo del borde de Zunil (Sierra Chuatroj), 2 km al sureste de Xecam. BIGU 043222	En praderas abiertas con <i>Baccharis vaccinioides</i> , <i>Abies guatemalensis</i> , <i>Alnus firmifolia</i> y <i>Arbutus xalapensis</i> .	14°46'31.0"N, 91°25'45.5"O; 3,245	07/01/2008
Guatemala, Huehuetenango, San Juan Ixcoy, Captzín. BIGU 040592	Planta con hojas opuestas, cabezuelas discoideas, filarios.	15°34'37"N, 91°29'47"O; 3,150	18/08/2007

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

Guatemala, San Marcos, volcán Tajumulco. BIGU 040018	Arbusto frecuente, fétido, con hojas opuestas, inflorescencias en corimbos de cabezuelas discoideas de color rosado.	15°02'48.27"N, 91°53'36.40"O; 3,767	07/11/2000
Guatemala, Huehuetenango, Chiantla, cerca del Mirador. BIGU 039486	Arbusto muy frecuente, de 2m de porte, filotaxia opuestas; inflorescencias en corimbos de cabezuelas muy denso. Olor fétido.	15°23'56.9"N, 91°26'25.8"O; 2,984	22/03/2007
Guatemala, Quetzaltenango, Municipio de Zunil, Fuentes Georginas, 4 km al sur de Zunil, ladera noroeste del volcán Zunil. BIGU 0029345	En afloraciones rocosas de <i>Fucshia arborescens</i> , <i>Alnus acuminata</i> ssp. <i>arguta</i> , <i>Gunnera kilipiana</i> y <i>Stanmarkia spectabilis</i> .	14°45'04.0"N, 91°28'35.8"O; 2,467	24/12/2003
Guatemala, Sololá, Municipio de San Pedro la Laguna, volcán San Pedro. BIGU 0031812	Arbusto encontrado creciendo en áreas con claros o mayor exposición al sol, en la ladera sureste del volcán.	14°39'19.4"N, 91°15'52.9"O; 2,950	29/04/2005
Guatemala, Totonicapán, Totonicapán, Bosque Comunal. BIGU 061556	Arbustivo, presente en zonas de regeneración natural de coníferas. Uso medicinal	14°54'48.55"N, 91°19'33.92"O; 3,183	18/09/2012

Fuente: Herbarios AGUAT, USCG, BIGU.

Tabla 6.

Información de colectas de *Stevia serrata* Cav. depositadas en Herbarios de Guatemala

Datos de colecta	Características	Coordenadas y/o Altitud msnm	Fecha de colecta
Herbario AGUAT			

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

Guatemala, Huehuetenango, colectada en las Vegas, a pocos metros del cruce de la carretera hacia Huehuetenango.	Planta de alrededor de 70 cm de altura, flores de color blanco.		15/08/1988
Guatemala, departamento de Chimaltenango, Los Aposentos.	Hierba erecta de 0.9 m de talla, con cabezuelas blancas terminales, creciendo bajo bosque de pino (<i>Pinus montezumae</i>).	1,600	13/08/1989
Pamuculica, Parcialidad Velásquez, Totonicapán, Totonicapán.	En pajonal dominado por <i>Stipa ichu</i> ; exposición oeste; pendiente escarpado; pleno sol. Perenne, flores blancas. Crece en grupos.	2,830	30/09/1977
Pasto comunal de San Francisco el Alto, Totonicapán.	En pajonal dominado por <i>Stipa ichu</i> , exposición noroeste, pendiente moderado, pleno sol. Perenne, flores blancas, tienen olor dulce. Rara.	2,770	28/09/1977

Herbario USCG

Guatemala, Huehuetenango, Chiantla, caserío La Zeta.	Hierba frecuente, de 1.3 m de porte, con filotaxia opuesta, las inflorescencias en corimbos de cabezuelas blancas.	2,100	10/08/1999
Cruce a Sololá, Sololá.	Hierba muy abundante, flores blancas.	2,300	12/09/1992
Municipio de San Miguel Ixtahuacán, San Marcos, Guatemala.	Hierba muy frecuente, 0.35 m de alto, tomentosa.	1,900	15/06/2006

Herbario BIGU

Guatemala, Huehuetenango, Chiantla, la Zeta. BIGU 0019567	Hierba frecuente, de 1.3 m de porte, con filotaxia opuesta, las inflorescencias en corimbos de cabezuelas blancas.	15°21'50.9"N, 91°30'24"O; 2,100	10/08/1999
---	--	---------------------------------------	------------

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

Guatemala, San Marcos, San Miguel Ixtahuacán, San José Ixcaniche. BIGU 066567	De 50 cm de altura, abundante en la zona, cuenta con un tallo principal del cual dependen gran cantidad de hojas de 2-2.5 cm de largo, con borde aserrado y uninervadas, inflorescencias en forma de corimbo, flores color blanco.	15°15'2.43"N, 91°40'56.71"O; 2100	19/07/2013
Guatemala, San Marcos, San Miguel Ixtahuacán, San José Nueva Esperanza. BIGU 027912	Planta herbácea de 30 a 50 cm de alto, inflorescencia blanca y tallo piloso.	15°14'28.36"N, 91°42'37.46"O; 2,300	02/06/2004
Guatemala, Quiché, San Pedro Jocopilas, en la carretera a Zapulá. BIGU 040300	Hierba sufrutescente, de +70 cm de alto, hojas alternas, sublineares o espatuladas, inflorescencias compactas, flores blancas.	15°06'16.4"N, 91°10'18.06"O; 2,134	17/08/2007
Guatemala, Sacatepéquez, Santa Lucía Milpas Altas, finca Florencia. BIGU 063716	Hierba muy frecuente, de 1.6m de porte, con hojas alternas, inflorescencias en corimbos de cabezuelas discoides, blancas, densifloras.	15°34'09.89"N, 90°40'30.76"O; 1,957	15/10/1999

Fuente: Herbarios AGUA, USCG, BIGU.

Tabla 7.

Información de colectas de *Stevia suaveolens* Lag. depositadas en Herbarios de Guatemala.

Datos de colecta	Características	Coordenadas y/o Altitud msnm	Fecha de colecta
Herbario BIGU			
Guatemala, Huehuetenango, Todos Santos Cuchumatán, Llanos de San Nicolás, BIGU 79144	Hierba densamente pubescente, filotaxia opuesta, inflorescencias en cabezuelas discoides.	15°24'42.4"N, 91°24'55.85"O; 3110	10/08/2018

Guatemala, Huehue-
tenango, Chiantla, Planta frecuente de 70 cm de porte, con 15°24'51.4"N,
Llanos de San Nico- hojas opuestas, inflorescencias en cabe- 91°24'58.6"O; 22/10/2010
lás, orilla de ria- zuelas discoideas de color rosado. 3085
chuelo. BIGU 54077

Fuente: Herbario BIGU

11.1.2 Pesos y rendimientos de extractos etanólicos de *Stevia* spp. de Guatemala

Se obtuvieron extractos etanólicos de diferentes especies de *Stevia* de Guatemala (Tabla 8). Los extractos obtenidos de las partes aéreas de dos localidades de *S. polycephala* presentaron los mayores rendimientos y la localidad de San Marcos superó considerablemente a la localidad de Chimaltenango.

Tabla 8

Pesos y rendimientos de extractos etanólicos obtenidos de partes aéreas de especies del género Stevia spp. de Guatemala.

Especie / Localidad de colecta	Peso materia vegetal seca (g)	Número de extracciones	Peso del extracto (g)	Rendimiento (%)
<i>Stevia</i> <i>polycephala</i> Bertol. ¹	100	6	21.82	21.82
<i>Stevia</i> <i>polycephala</i> Bertol. ²	100	6	32.98	32.98
<i>Stevia elatior</i> Kunth San Marcos	100	6	13.65	13.65
<i>Stevia connata</i> Lag. Huehuetenango	100	6	17.43	17.43

Fuente: Datos experimentales Proyecto B14-2021

¹ Faldas del volcán Acatenango, Chimaltenango

² San José Ojetenam, San Marcos

11.1.3 Pesos y rendimientos de aceite esencial de *Stevia polycephala*

Se obtuvo aceite esencial de las partes aéreas de *S. polycephala* de dos localidades de Guatemala (Tabla 9). Los rendimientos no superaron el 0.1% y las demás especies, o no presentaron suficiente follaje para la extracción, o no se obtuvo aceite esencial de las mismas.

Tabla 9

Pesos y rendimientos de aceite esencial de S. polycephala

Especie / Localidad de colecta	Peso materia vegetal seca (g)	Número de extracciones	Peso del aceite esencial (g)	Media del rendimiento p/p (desviación estándar)
<i>Stevia polycephala</i> Acatenango	400	4	0.32	0.08 (0.05)
<i>Stevia polycephala</i> San José Ojetenam	300	3	0.20	0.07 (0.02)

Fuente: Datos experimentales Proyecto B14-2021

11.1.4 Actividad antimicrobiana de extractos de *Stevia spp.* de Guatemala

Se presenta la actividad antimicrobiana de extractos de *Stevia spp.* de Guatemala (Tabla 4). Únicamente *S. polycephala* mostró actividad antimicrobiana, siendo la localidad de Chimaltenango la que mostró mayor actividad antimicrobiana al dar actividad positiva frente a 3 cepas más de microorganismos que la localidad de San Marcos.

Tabla 10.

Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de especies del género *Stevia*

Microorganismo	<i>Stevia polycephala</i> Bertol ¹	<i>Stevia polycephala</i> Bertol ²	<i>Stevia elatior</i> Kunth ³	<i>Stevia triflora</i> D.C. ⁴	<i>Stevia con-nata</i> Lag.
	($\mu\text{g/mL}$)	($\mu\text{g/mL}$)	($\mu\text{g/mL}$)	($\mu\text{g/mL}$)	($\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	250	1000	(-)	(-)	(-)
<i>Escherichia coli</i> 25922	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Bacillus cereus</i> 33019	31.2	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Salmonella entérica</i> var. Tiphya	1000	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Candida albicans</i>	1000	(-)	(-)	(-)	(-)

Fuente: Datos experimentales Proyecto B14-2021

¹ Faldas del volcán Acatenango, Chimaltenango

² San José Ojetenam, San Marcos

³ San Miguel Ixtahuacán, San Marcos

⁴ Aguacatán, Huehuetenango

(-): actividad negativa

11.1.5 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Stevia polycephala*

Se presenta la actividad antimicrobiana del aceite esencial obtenido de partes aéreas de *S. polycephala* de dos localidades de Guatemala (Tabla 5). No se evidenció actividad antimicrobiana del aceite esencial de *S. polycephala* independientemente de la localidad de colecta.

Tabla 11.

Actividad antimicrobiana del aceite esencial *S. polycephala*

Microorganismo	<i>Stevia polycephala</i> Bertol ¹		<i>Stevia polycephala</i> Bertol ²		Control positivo
	Halo de inhibición	Interpretación	Halo de inhibición	Interpretación	
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	8 mm	Negativo (-)	< 6 mm	Negativo (-)	26 mm*
<i>Escherichia coli</i> 25922	< 6 mm	Negativo (-)	< 6 mm	Negativo (-)	23 mm*
<i>Bacillus cereus</i> 33019	8 mm	Negativo (-)	< 6 mm	Negativo (-)	24 mm*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9027	< 6 mm	Negativo (-)	< 6 mm	Negativo (-)	22 mm*

<i>Salmonella entérica</i> var. Tiphy	< 6 mm	Negativo (-)	< 6 mm	Negativo (-)	23 mm*
<i>Candida albicans</i>	< 6 mm	Negativo (-)	< 6 mm	Negativo (-)	26 mm**

Fuente: Datos experimentales Proyecto B14-2021

¹ San José Ojetenam, San Marcos

² Faldas del volcán Acatenango, Chimaltenango

* Control positivo ceftriaxona: > 21 mm

** Control positivo fluconazol: > 19 mm

11.1.6 Aislamiento de metabolitos secundarios de *Stevia polycephala*

En la Tabla 12 se presentan los valores de Rf de análisis en capa fina de los compuestos aislados por cromatografía contracorriente de *S. polycephala* colectada en las faldas del volcán de Acatenango en junio de 2021 (Tabla 1). Los espectros de todas las fracciones se presentan en las figuras 2 a 13. A estos compuestos se les obtuvo también el espectro UV-Vis en el rango de 200 a 600 nm, presentándose los máximos de longitud de onda en la Tabla 12. Las fracciones 4, 5 y 6 presentaron espectros similares a los de flavonoides, así como el residuo de la disolución del extracto. Este residuo, que no pudo disolverse en etanol al 95%, si se disolvió en agua, presentando un espectro similar a los de las fracciones 4, 5 y 6, por lo que podría tratarse de flavonoides glicosilados (Figura 14).

Tabla 12

Valores de Rf en cromatografía en capa fina y máximos de absorción de espectros UV-Vis de fracciones de *Stevia polycephala*, obtenidas por cromatografía contracorriente.

Fracción	Manchas	Rf	Máximo de absorción en UV-Vis (nm)	Posible compuesto
Residuo de disolución	1	0.0	253 329	Flavonoide
4	1	0.775	253 329	Flavonoide
5	2	0.775 0.925	253 329	Flavonoide
6	2	0.775 0.925	253 329	Flavonoide

Fuente: Datos experimentales Proyecto B14-2021

11.2 Discusión de resultados:

11.2.1 Distribución de las especies investigadas

Se realizó la colecta de especies de *Stevia* en estado silvestre en diferentes departamentos del occidente de Guatemala (Tabla 1). Fue posible la ubicación y colecta de partes aéreas de *S. connata*, *S. serrata*, *S. elatior*, *S. suaveolens* y *S. polycephala*. Se realizó la búsqueda de *S. lucida* en los sitios que reportan las etiquetas de especímenes de herbario, sin poder localizarla. *S. viscida* tampoco fue localizada debido a que no se halló información en etiquetas de herbario sobre sitios de colecta de esta especie para Guatemala.

S. polycephala es la especie del género *Stevia* que presenta especímenes de herbario colectados en más localidades en Guatemala. Según la Flora de Guatemala, esta especie tiene poblaciones en los departamentos de Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Suchitepéquez, Totonicapán. En la revisión efectuada en los herbarios, se encontraron depósitos de especímenes en los herbarios AGUAT, USCG y BIGU, correspondientes a varias poblaciones en municipios de los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Sololá, Sacatepéquez y Totonicapán (Tabla 5). En el proyecto se localizó y colectó esta especie en los municipios de San Miguel Ojetenam del departamento de San Marcos y en las faldas del volcán Acatenango, en el departamento de Sacatepéquez (Tabla 1), en sitios previamente registrados en los herbarios.

Según la Flora de Guatemala *S. elatior* se encuentra en Guatemala, en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, El Quiché, Sacatepéquez, Santa Rosa y Sololá. En esta investigación, se encontraron poblaciones de esta especie en los municipios de Aguacatán, Huehuetenango, y en el municipio de San Miguel Ixtahuacán, San Marcos (Tabla 1), lo que indica una distribución más amplia de la especie de la considerada por la Flora de Guatemala. No se localizaron poblaciones de la especie en puntos de colecta reportados para especímenes del Herbario BIGU, en el municipio de Barberena, Santa Rosa, ni en el municipio de Chiantla, Huehuetenango (Tabla 3).

De acuerdo con la Flora de Guatemala, *S. connata* se distribuye del eje volcánico transversal en México a Nicaragua (Tabla 2), no existiendo previamente depósitos de especímenes en los herbarios de Guatemala. De esta forma, la localización de una población en el municipio de Huehuetenango, en Huehuetenango (Tabla 1), es un aporte del proyecto para el mejor conocimiento de la distribución de la especie en Guatemala.

Por otra parte, *S. serrata*, está reportada por la Flora de Guatemala para los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, El Quiché, Sacatepéquez, Sololá (Tabla 2), y de la cual existen especímenes depositados en los herbarios AGUAT, USCG y BIGU, en municipios de estos departamentos (Tabla 6). Esta especie que había sido colectada por los autores en investigaciones previas, fue localizada en esta investigación en localidades de San Miguel Ixtahuacán, confirmando su amplia distribución en los departamentos de estudio.

En el caso de *S. lucida*, reportada en la Flora de Guatemala en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, El Quiché y Quetzaltenango (Tabla 2), en este estudio no se pudieron localizar poblaciones en los municipios en que se realizaron búsquedas en los cuatro departamentos citados. La búsqueda incluyó puntos localizados en los registros de los especímenes del herbario USCG, en los municipios de Todos Santos Cuchumatán y en las faldas del volcán Zunil (Tabla 4). Es posible que, durante las búsquedas de esta especie, entre los meses de junio y octubre, la planta no se encontrara en un estado vegetativo que permitiera identificarla en el campo.

La distribución de *Stevia suaveolens* se reporta en la Flora de Guatemala para los departamentos de Chimaltenango, San Marcos, El Quiché (Tabla 2). Por otra parte, se tienen especímenes depositados en el herbario BIGU, provenientes de los municipios de Todas Santos Cuchumatán y Chiantla, del departamento de Huehuetenango (Tabla 7). En esta investigación, se localizó a la planta en el municipio de San José Ojetenam, San Marcos y en el departamento de Quiché (Tabla 1), localizándose así, poblaciones que no habían sido reportadas anteriormente en herbarios de Guatemala.

11.2.2 Rendimiento de extracción

En la Tabla 2 se presentan los resultados de rendimiento de extracción con etanol de las partes aéreas de las especies *S. polycephala*, *S. elatior* y *S. connata*, para las cuales se logró obtener suficiente masa para realizar las extracciones. De estas, el material de las dos procedencias de *S. polycephala* presentó los mayores rendimientos, con 32.98 y 21.82 %, para las muestras colectadas en las faldas del volcán Acatenango y en San Miguel Ojetenam, respectivamente, los que hace esperar que posea mayor cantidad de sustancias bioactivas, entre las plantas de estudio. El rendimiento de *S. elatior* fue el menor con 13.65 %. Es de destacar que las hojas de *S. polycephala* presentaron un mayor tamaño, lo cual permitió contar con suficiente material para extracción. En el caso de *S. suaveolens*, no se logró colectar suficiente material para extraerlo en el laboratorio.

En cuanto a la extracción de aceite esencial, solamente para *S. polycephala* se logró colectar suficiente material vegetal para poder obtener volúmenes cuantificables de aceite (Tabla 3). Para *S. elatior* y *S. connata* se dio prioridad a la extracción etanólica. Los rendimientos del aceite esencial para *S. polycephala*, fueron de 0.32% para la muestra de las faldas del volcán Acatenango y 0.20% para la muestra colectada en San Miguel Ojetenam. Estos rendimientos son similares a los obtenidos para *S. serrata*, la cual ha presentado rendimientos de 0.2 %, en estudios sobre su composición química y actividad farmacológica (Reis Simas et al., 2017). Estos rendimientos pueden considerarse bajos, sin embargo, el valor del aceite se podrá determinar al realizar el análisis por cromatografía de gases. La producción de volúmenes elevados de biomasa de esta especie garantizó obtener cantidades de aceite de utilidad para la evaluación de actividad biológica.

11.2.3 Actividad antimicrobiana y antioxidante

En la Tabla 10 se presentan los resultados de actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de cinco muestras colectadas en campo en varios departamentos de Guatemala durante 2021, contra las bacterias Gram positivo (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*), la bacteria Gram negativo (*Salmonella enterica* var. Tiphya) y el hongo levaduriforme (*Candida albicans*) a una concentración

de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (1 mg/mL). Dos muestras correspondieron a poblaciones de la especie *Stevia polycephala*.

De las especies evaluadas, se encontró actividad antimicrobiana significativa únicamente para *S. polycephala* procedente de las faldas del volcán Acatenango contra las bacterias Gram positivo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Bacillus cereus* ATCC 33019 a una concentración inhibitoria mínima de 250 y 31.2 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. En otros estudios se ha encontrado actividad antibacteriana de otras especies de *Stevia* como *Stevia rebaudiana* Bertoni contra bacterias que producen caries, por la presencia de steviol que le confiere el sabor dulce a la especie (Ríos Cortes, Cuevas, Román, Pérez, y Ríos, 2008; Tovar-Huaynate & Cupé-Araujo, 2017). Aunque *S. polycephala* presentó actividad inhibitoria contra *S. enterica* y *C. albicans* esta no es significativa ya que se encuentra en valores de 1,000 $\mu\text{g/mL}$. Se puede inferir que las condiciones de crecimiento (agua, suelo y clima) favorecieron en *S. polycephala* del volcán Acatenango la formación de metabolitos secundarios a los cuales se les atribuye su actividad antimicrobiana. En forma general, las otras especies del género *Stevia* evaluadas no presentan actividad antimicrobiana a la concentración de 1,000 $\mu\text{g/mL}$, lo que no la hace una opción para el aislamiento de sustancias con actividad antibacteriana o antifúngica importante.

La actividad antimicrobiana del aceite esencial fue ensayada únicamente en la especie de *S. polycephala* (Tabla 11), debido al bajo rendimiento obtenido en la extracción para las otras especies; No se encontró actividad antimicrobiana contra ninguna de las bacterias o el hongo ensayado. Por lo que su aceite no posee ningún metabolito secundario que pueda ser microbiocida. Se utilizó como control positivo ceftriaxona para las bacterias gram positivo y gram negativo y fluconazol para la levadura *Candida albicans*. Por otra parte, para la determinación de actividad antioxidante deberán realizarse nuevas colectas, ya que el rendimiento bajo de los aceites esenciales no permitió su determinación, priorizándose la determinación de actividad biológica.

11.2.4 Fraccionamiento de extractos etanólicos de *S. polycephala*

Luego de realizar la determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las especies de estudio, se seleccionó el extracto de *S. polycephala* proveniente de las faldas del volcán de Acatenango para su fraccionamiento por cromatografía contracorriente, al ser el único extracto que presentó actividad significativa. Se obtuvieron 14 fracciones de entre 10 y 20 mL, colectadas separadamente según se observaba cambios en la coloración del eluyente. Los espectros UV-Vis de las fracciones obtenidas por cromatografía contracorriente y del residuo del extracto no disuelto en etanol al 95%, se presentan en las figuras 2 a la 14 en el Apéndice. Antes de obtener los espectros UV-Vis de las fracciones, se verificó por cromatografía en capa fina cuales fracciones presentaban compuestos separados, encontrándose que las fracciones 4, 5 y 6 presentaron metabolitos separados (Tabla 13). La fracción 4 presentó un metabolito aislado con Rf de 0.775, mientras que las fracciones 5 y 6 presentaron el mismo metabolito y un segundo metabolito que presentó un Rf de 0.925 con las condiciones cromatográficas utilizadas. Los metabolitos presentes en las tres fracciones presentaron espectros característicos de flavonoides, cuya identidad deberá determinarse posteriormente por técnicas espectroscópicas y espectrometría de masas. El residuo que no pudo disolverse en etanol para introducirlo en el cromatógrafo contracorriente, pudo disolverse en agua, presentando también un espectro UV-Vis característico de flavonoides, por lo que también deberá identificarse por técnicas cromatográficas posteriormente.

11.2.5 Viabilidad de germinación de aquenios (semillas) de *S. polycephala* y *S. connata*

En diciembre de 2021, se colocaron 20 aquenios (semillas) de *S. polycephala* colectados en San Marcos en julio de 2021 y 20 aquenios (semillas) de *S. connata* colectados en Huehuetenango en octubre 2021 en frascos de vidrio de boca ancha de 50 mL con papel periódico previamente humedecido y guardados a temperatura ambiente y luz indirecta. Luego de un mes de observación revisando cada dos días los aquenios de ambas especies pudo constatar que ninguno logró germinar. Una explicación es que los aquenios de ambas especies se encontraban en condición de latencia, por lo que era necesario continuar con las pruebas de germinación en meses posteriores.

En el caso de los aquenios de *S. rebaudiana*, se ha determinado que su pobre germinación constituye un obstáculo hacia la propagación a gran escala, lo que hace al material vegetal caro y costoso (Abdullateef, bin Osman, & bint Zainuddin, 2015), lo cual podría ser característica de algunas especies del género. En la experiencia lograda por el equipo de investigación, se determinó que el tiempo mínimo para lograr viabilidad de la germinación en aquenios de *S. serrata* luego de su colecta, fue de 3 meses (Pérez-Sabino et al., 2020), germinando estos a los 8 días de iniciado el experimento. De esta forma puede concluirse que debe determinarse ese tiempo mínimo para romper la latencia y lograr la germinación de sus aquenios.

11.2.6 Perspectivas de valor fitoquímico del género *Stevia* para el futuro en Guatemala

La mayoría de estudios fitoquímicos del género *Stevia* se han enfocado en *S. rebaudiana*, por ser la única especie cultivada y por las propiedades edulcorantes que le confieren los glicósidos que le dan un alto valor económico. En las otras especies no se puede esperar encontrar las mismas propiedades edulcorante que en *S. rebaudiana*, ya que según Soejarto, Kinghorn, & Farnsworth (1982), solo dos especies del género presentan esa propiedad. Por otra parte, en estudios previos, el aceite esencial de *S. Serrata* ha presentado actividad antiinflamatoria y antinociceptiva (Simas et al, 2017; Cordeiro et al., 2020). Así, es importante explorar otras propiedades de estas especies y sus metabolitos responsables, por ejemplo, el camazuleno encontrado en *S. serrata* y su actividad antiinflamatoria, así como la actividad antimicrobiana en *S. polycephala*, reportada previamente y que se encontró también en este estudio.

12. Referencias

- Abdullateef, R. A., bin Osman, M., & bint Zainuddin. (2015). Acclimatized apparatus enhanced seed germination in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *International Journal of Biology*, 7(2), 28-34. doi: 10.5539/ijb.v7n2p28
- Álvarez-García, R., Torres-Valencia, J.M., Román, L.U., Hernández, J.D., Cerda-García-Rojas, C.M., & Joseph-Nathan, P. (2005). Absolute configuration of the α -methylbutyryl residue in longipinene derivatives from *Stevia pilosa*. *Phytochemistry*, 66, 639-642.
- Amaro, J.M., Adrián, M., Cerda, C.M., & Joseph-Nathan P. (1988). Longipinene derivatives from *Stevia lucida* and *S. triflora*. *Phytochemistry*, 27(5), 1409-1412. doi: 10.1016/0031-9422(88)80205-X
- Angeles, E., Folting, K., Grieco, P.A., Huffman, J.C., Miranda, R., & Salmón, M. (1982). Isolation and structure of stephalic acid, a new clerodane diterpene from *Stevia polycephala*. *Phytochemistry*, 21(7), 1804-1806.
- Calderón, J.S., Quijano, L., Gómez, F., & Ríos, T. (1989). Prochamazulene sesquiterpene lactones from *Stevia serrata*. *Phytochemistry*, 28 (12), 3526-3527.
- Cates, R.G., Prestwich, B., Innes, A., Rowe, R., Standley, M., Williams, S.,... Martínez, J.V. (2013). Evaluation of the activity of Guatemalan medicinal plants against cancer cell lines and microbes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(35), 2616-2627. doi: 10.5897/JMPR2013.4478
- Cerda-García-Rojas, C.M., Guerra-Ramírez, D., Román-Marín, L.U., Hernández-Hernández, J.D., & Joseph-Nathan, P. (2006). DFT molecular modeling and NMR conformation analysis of a new longipinenetriolone diester. *Journal of molecular structure*, 789, 37-42.
- Cordeiro, M.S., Simas, D.L.R., Pérez-Sabino, J.F., Mérida-Reyes, M.S., Muñoz-Wug, M.A., Oliva-Hernández, B.E.,... Giorno, T.B.S. (2020). Characterization of the antinociceptive activity from *Stevia serrata* Cav. *Biomedicines*, 8(79), 1-10. doi: 10.3390/biomedicines8040079
- Guerra-Ramírez, D., Cerda-García-Rojas, C., Puentes, A.M., Joseph-Nathan, P. (1998). Longipinene diesters from *Stevia lucida*. *Phytochemistry*, 48(1), 151-154. doi: 10.1016/S0031-9422(97)00793-0

- Karaköse, H., Jaiswal, R., & Kuhnert, N. (2011). Characterization and quantification of hydroxycinnamate derivatives in *Stevia rebaudiana* leaves by LC-MSⁿⁱ. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59, 10143-10150. doi: 10.1021/jf202185m
- Kinghorn, A. (2002). *Stevia: The genus Stevia*. London and New York: Taylor & Francis, 18-19.
- King, R.M., & Robinson, H. (1987). *The Genera of the Eupatorieae (Asteraceae): Monographs in Systematic Botany*. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 22.
- Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W.N., & Beal, J.L. (1972). Antimicrobial agents from higher plants. 1. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia*, 35(2), 157-166.
- Nash, D.L., & Williams, L.O. (1976). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 24(12), 116-125.
- Pérez-Sabino, J.F., Mérida-Reyes, M.S., Martínez-Arévalo, J.V., Muñoz-Wug, M.A., Oliva-Hernández, B.E., Gaitán-Fernández, I.C.,... Ribeiro da Silva, A.J. (2020). Seed propagation and constituents of the essential oil of *Stevia serrata* Cav. from Guatemala. In H.A. El-Shemy (Ed.), *Essential oils: Oils of nature* (pp. 203-216). London: IntechOpen.
- Prakash, I., & Prakash Chaturvedula, V.S. (2013). Additional minor diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Molecules*, 18, 13510-13519. doi: 10.3390/molecules181113510
- Pruski, J.F., & Robinson, H. (2015). Flora Mesoamericana. *Asteraceae Bercht. & J. Presl*, 5(2): 554-567.
- Ríos Cortes, A.M.; Cuevas, V.M.; Román, D.; Pérez, I. y Ríos, G. (2008) Actividad antimicrobiana de extractos de *Stevia rebaudiana* Bertoni contra microorganismos cariogénicos. *Federación Odontológica Colombiana*; 71(223), 24-34.
- Román LU, Guerra-Ramírez D, Morán G, Martínez I, Hernández JD, & Cerda-García-Rojas CM (2004). First seco-C oleananes from nature. *Organic letters*. 6(2):173-176. doi: 10.1021/ol036107j
- Román, L. U., Mora, Y., Hernández, J.D. (1990). *Stevia serrata*, a source of chamazulene. *Phytoterapia*, 61 (1), 84.

- Román, L.U., Morán, G., Hernández, J.D., Cerda-García-Rojas, C.M., & Joseph-Nathan, P. (1995). Longipinane derivatives from *Stevia viscida*. *Phytochemistry*, 38(6), 1437-1439.
- Robinson, H., & King, R.M. (1977). *Eupatorieae—systematic review: In The Biology and Chemistry of the Compositae*. New York: Academic Press, 1, 437–485.
- Sánchez-Arreola, E., Cerda-García-Rojas, C.M., Joseph-Nathan, P., Román, L.U., & Hernández, J.D. (1995). Longipinene derivatives from *Stevia serrata*. *Phytochemistry*, 39 (4), 853-857.
- Simas, D.L., Mérida-Reyes, M., Muñoz-Wug, M., Cordeiro, M., Giorno, T.B., Pérez-Sabino, F., ... Ribeiro da Silva, A.J. (2017). Antinociceptive activity and chemical composition of the essential oil of *Stevia serrata* Cav. from Guatemala. *Natural Products Research*, 33(4), 577-579.
- Soejarto, D.D., Compadre, C.M., & Kinghorn, A.D. (1983). Ethnobotanical notes on *Stevia*. *Botanical Museum leaflets, Harvard University*, 29(1), 1-25.
- Ticktin, T., & Dalle, S.P. (2005). Medicinal plant use in the practice of midwifery in rural Honduras. *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 233-248.
- Tovar-Haynate, G.A., & Cupé-Araujo, A. (2017). Actividad antimicrobiana de la *Stevia* en comparación con el xilitol, frente a los streptococcus mutans – un estudio in vitro. *Odontol Pediatr* 16(1), 34-40.
- Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. (12 Jul 2020) [<http://www.tropicos.org>]. Recuperado de <https://tropicos.org/name/2716232>
- Vibrans, H., Alipi, A.M., & Pichardo, J.M. (2009). Malezas de México. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/stevia-serrata/fichas/ficha.htm>

13. Apéndice

13.1 Sitios de colecta

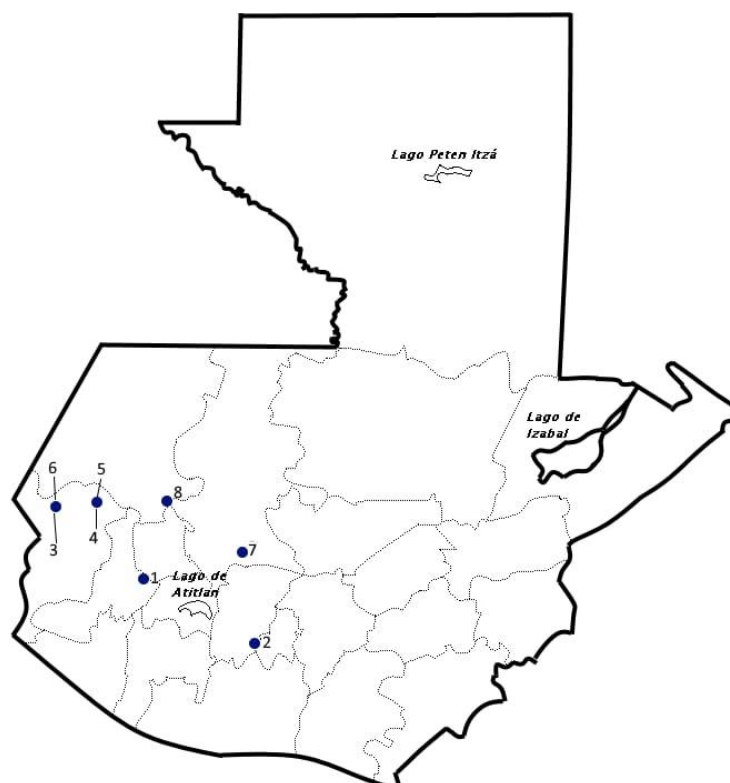


Figura 1. Mapa de sitios de colecta de plantas del género *Stevia*. 1) *Stevia serrata* Cav.; 2) *Stevia poycephala* Bertol.; 3) *Stevia polycephala* Bertol.; 4) *Stevia elatior* Kunth; 5) *Stevia serrata* Cav.M
6) *Stevia suaveolens* Lag.; 7) *Stevia suaveolens* Lag.; *Stevia connata* Lag.

13.2 Fotografías



Fotografía 1. Colecta de *Stevia polycephala* en San José Ojetenam, San Marcos.



Fotografía 2. *Stevia elatior* colectada en San Miguel Ixtahuacán, San Marcos.



Fotografía 3. Colecta en Chiché, Quiché.



Fotografía 4. Localización de una especie de *Stevia* en Baja Verapaz.



Fotografía 5. *Stevia polycephala*, en volcán Acatenango.



Fotografía 6. *Stevia polycephala*, en volcán Acatenango.



Fotografía 7. *Stevia connata* en departamento de Huehuetenango.



Fotografía 8. Preparación de residuo de extractos de *S. polycephala* para medición por espectrofotometría UV-Vis.



Fotografía a 9. Obtención por cromatografía contracorriente de fracciones de extracto etanólico de *S. polycephala*.



Fotografía 10. Revelado de placas de cromatografía en capa fina de las fracciones de extractos de *S. polycephala* obtenidas por cromatografía contracorriente.



Fotografía 11. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de *S. elatior* contra las bacterias Gram positivo (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*), la bacteria Gram negativo (*Salmonella enterica* var Tiphya) y el hongo levaduriforme (*Candida albicans*) a una concentración de 1,000 ug/mL (1 mg/mL). Fotografía: Isabel Cristina Gaitán, 27 de octubre de 2021.



Fotografía 12. Semillas (cipselas) con estructuras de inflorescencias secas de *S. polycephala* proveniente de faldas del volcán Acatenango, Chimaltenango. Fotografías: Max Mérida Reyes, 18 de noviembre de 2021.



Fotografía 13. Semillas (cipselas) separadas de estructuras de inflorescencias secas de *S. polycephala* proveniente de faldas del volcán Acatenango, Chimaltenango. Fotografías: Max Mérida Reyes, 18 de noviembre de 2021.



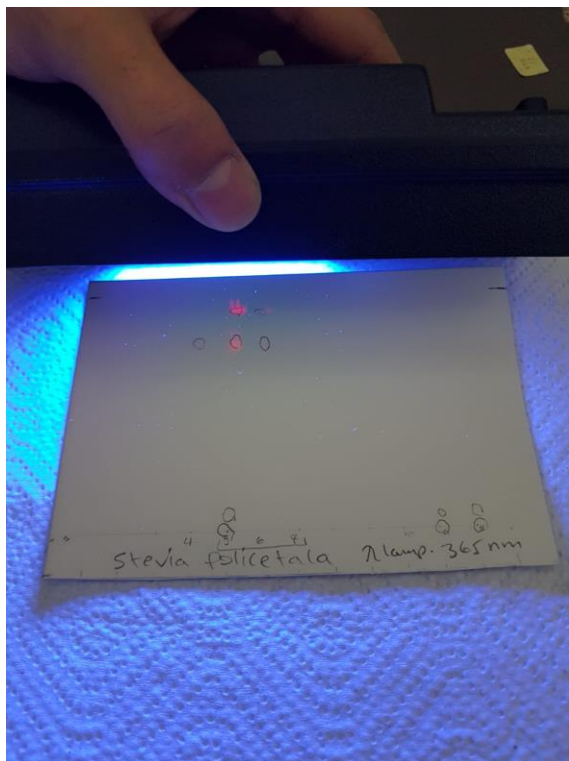
Fotografía 14. Inflorescencias de *Stevia polycephala* de volcán Acatenango.



Fotografía 15. *Stevia serrata* en San Miguel Ixtahuacán, San Marcos.



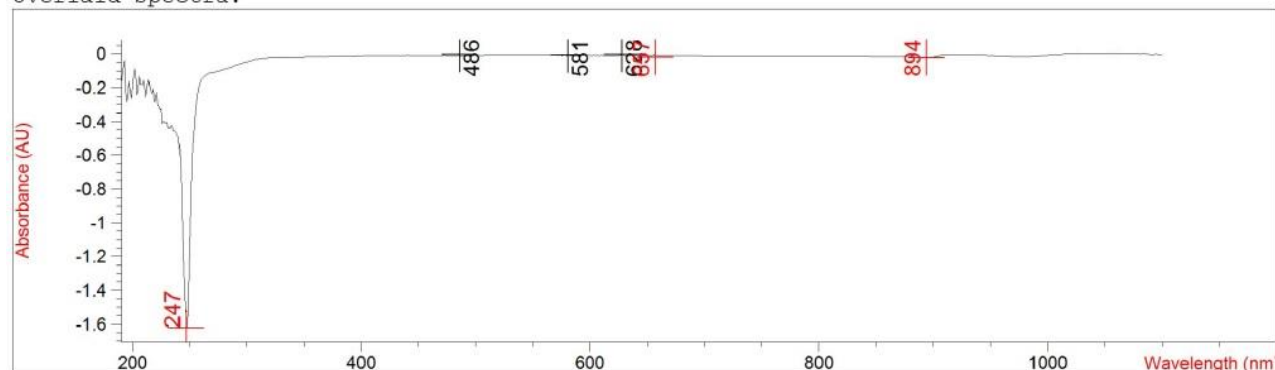
Fotografía 16. *Stevia suaveolens* de San José Ojetenam, San Marcos.



Fotografía 17. Cromatografía en capa fina de fracciones de extracto etanólico de *S. polycephala*, obtenidos por cromatografía contracorriente.

13.3 Espectros UV-Vis de fracciones obtenidas por cromatografía contracorriente

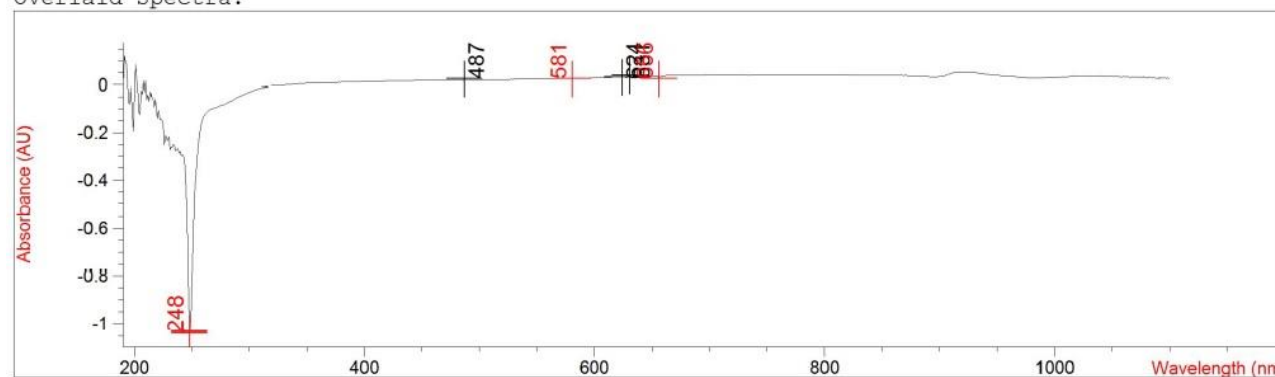
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		628.0	-2.8310E-3	247.0	-1.62330
1		486.0	-3.1042E-3	894.0	-1.9835E-2
1		581.0	-5.6877E-3	657.0	-1.7658E-2

Figura 2. Espectro UV-Vis de la fracción 1, obtenida por cromatografía contracorriente.

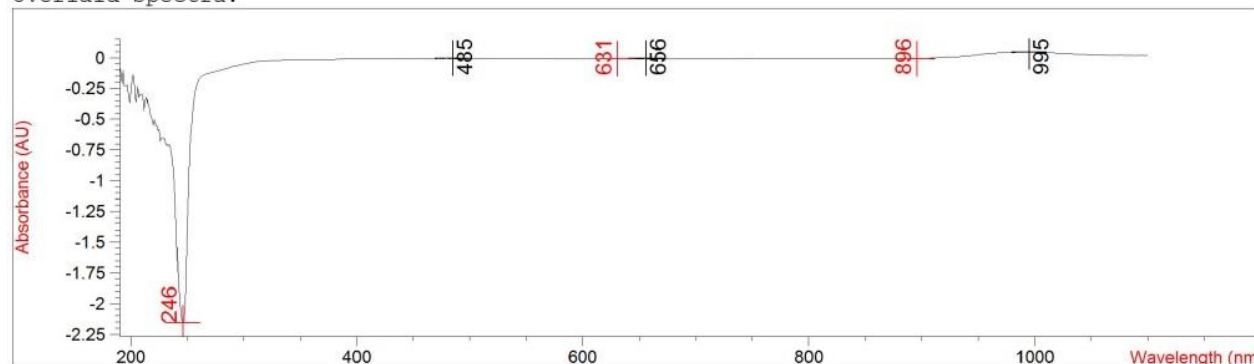
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		631.0	3.8562E-2	248.0	-1.03780
1		624.0	3.1588E-2	581.0	2.3992E-2
1		487.0	2.4996E-2	656.0	2.4075E-2

Figura 3. Espectro UV-Vis de la fracción 2, obtenida por cromatografía contracorriente.

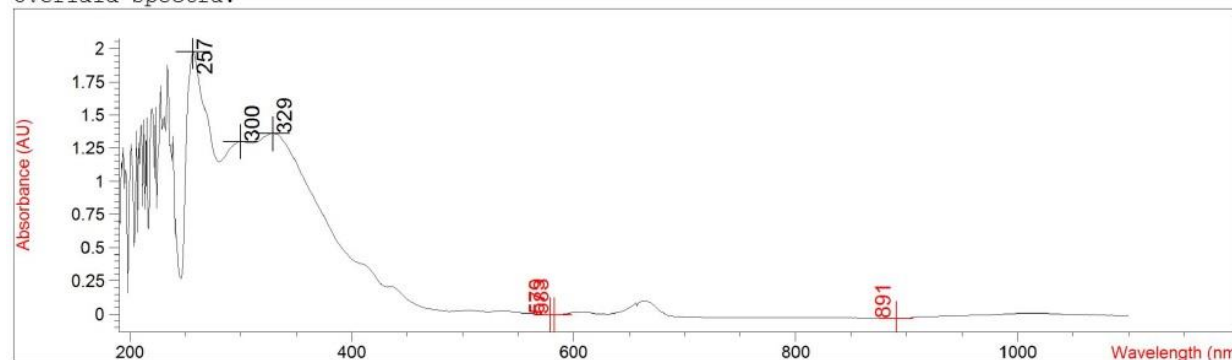
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		995.0	4.5360E-2	246.0	-2.15670
1		485.0	-5.5056E-3	631.0	-1.1109E-2
1		656.0	-6.4487E-3	896.0	-1.0462E-2

Figura 4. Espectro UV-Vis de la fracción 3, obtenida por cromatografía contracorriente.

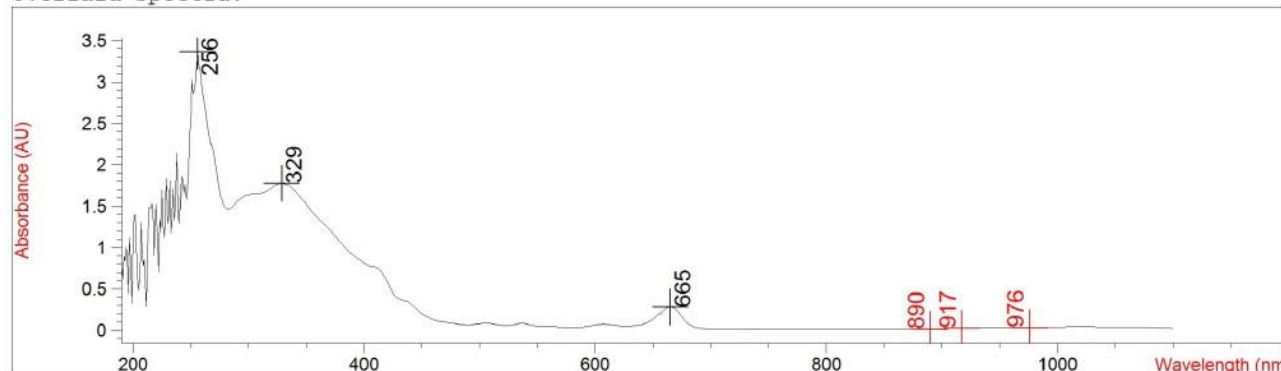
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		257.0	1.97660	891.0	-3.2405E-2
1		329.0	1.35970	583.0	-5.4307E-3
1		300.0	1.30070	579.0	-3.7379E-3

Figura 5. Espectro UV-Vis de la fracción 4, obtenida por cromatografía contracorriente.

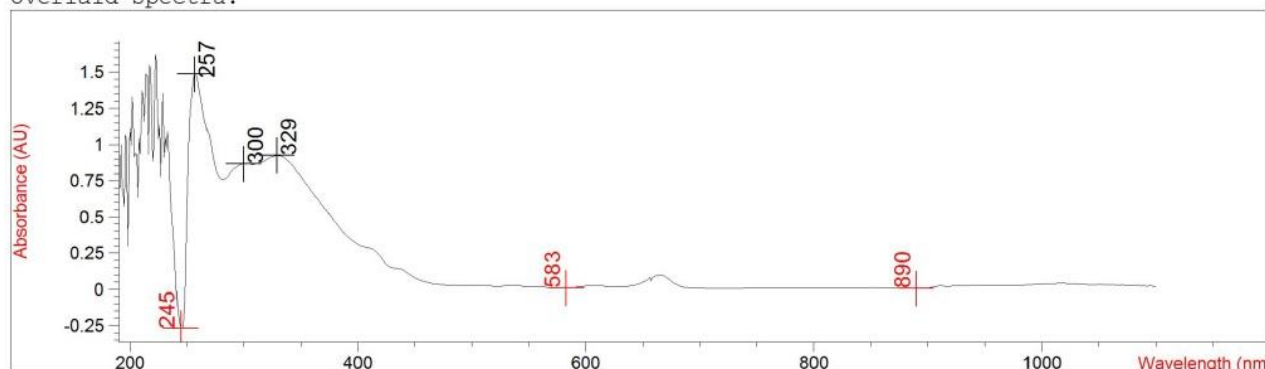
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		256.0	3.36800	890.0	1.3095E-2
1		329.0	1.77860	917.0	2.9251E-2
1		665.0	0.28257	976.0	3.0246E-2

Figura 6. Espectro UV-Vis de la fracción 5, obtenida por cromatografía contracorriente.

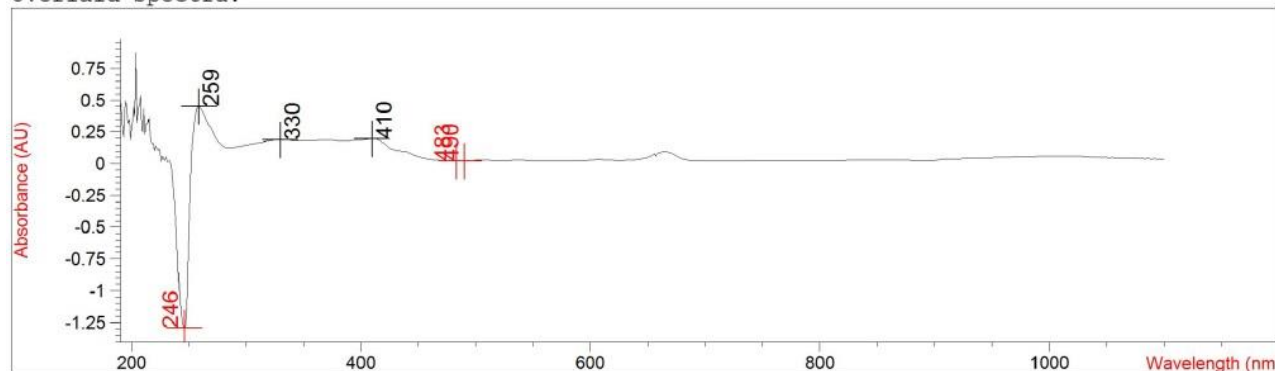
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		257.0	1.48510	245.0	-0.26753
1		329.0	0.92447	890.0	6.5436E-3
1		300.0	0.86734	583.0	1.2054E-2

Figura 7. Espectro UV-Vis de la fracción 6, obtenida por cromatografía contracorriente.

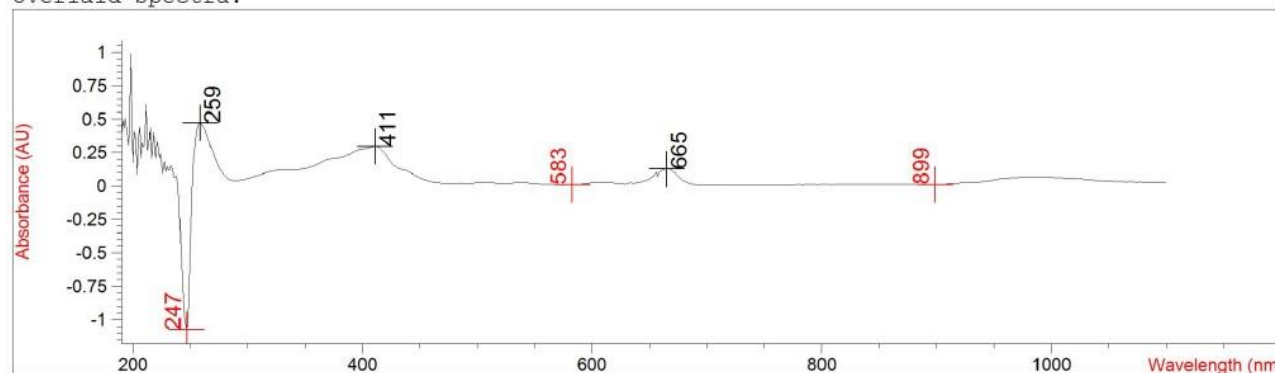
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		259.0	0.44987	246.0	-1.29440
1		410.0	0.19820	483.0	2.2774E-2
1		330.0	0.18979	490.0	2.2831E-2

Figura 8. Espectro UV-Vis de la fracción 7, obtenida por cromatografía contracorriente.

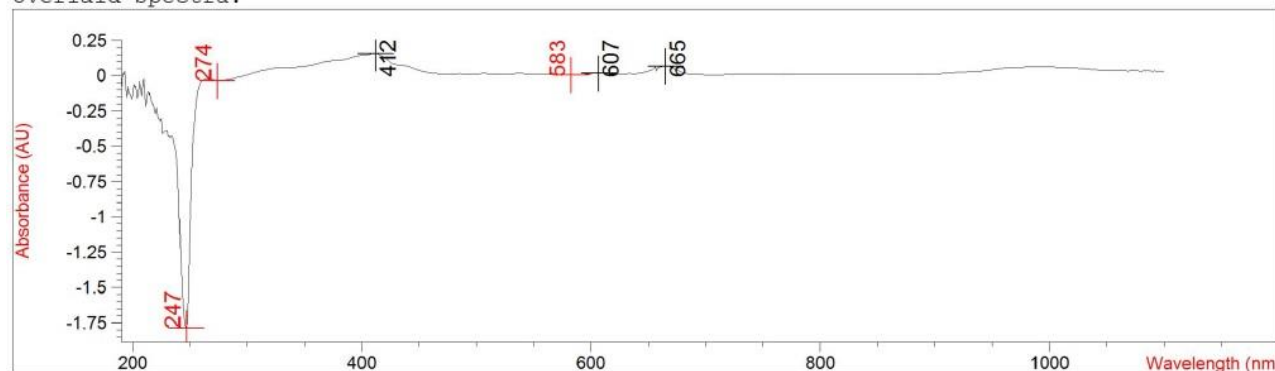
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		259.0	0.47009	247.0	-1.07490
1		411.0	0.29596	899.0	9.0542E-3
1		665.0	0.12647	583.0	9.2201E-3

Figura 9. Espectro UV-Vis de la fracción 8, obtenida por cromatografía contracorriente.

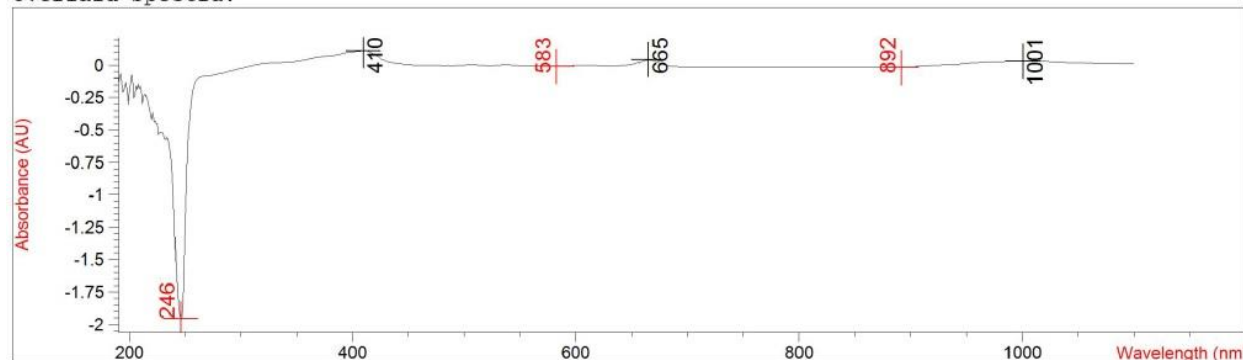
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		412.0	0.15710	247.0	-1.78920
1		665.0	6.6759E-2	274.0	-3.6438E-2
1		607.0	1.6238E-2	583.0	5.0225E-3

Figura 10. Espectro UV-Vis de la fracción 9, obtenida por cromatografía contracorriente.

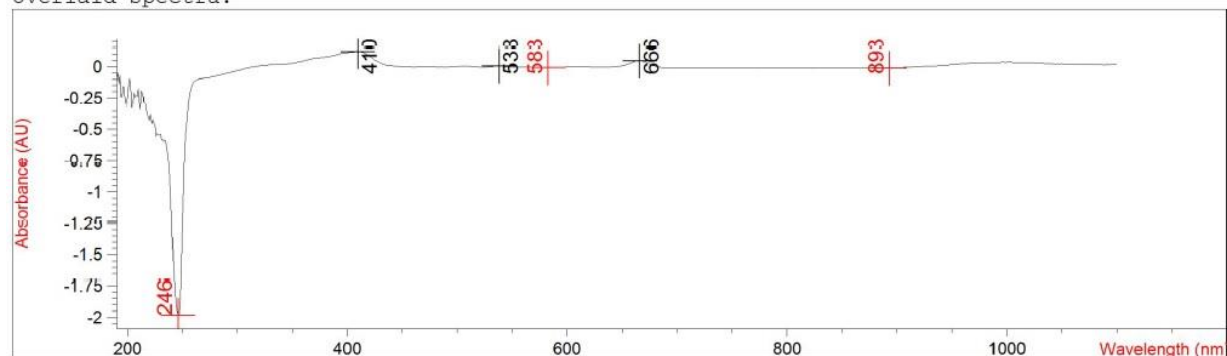
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		410.0	0.11300	246.0	-1.95730
1		665.0	4.2031E-2	892.0	-1.5737E-2
1		1001.0	3.3508E-2	583.0	-8.7852E-3

Figura 11. Espectro UV-Vis de la fracción 10, obtenida por cromatografía contracorriente.

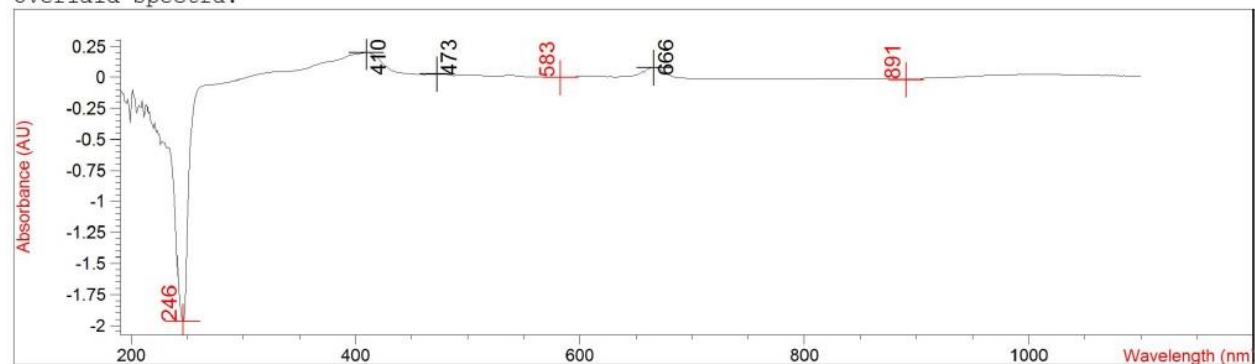
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		410.0	0.11947	246.0	-1.98540
1		666.0	4.6977E-2	893.0	-1.4376E-2
1		588.0	3.3665E-3	583.0	-8.1692E-3

Figura 12. Espectro UV-Vis de la fracción 11, obtenida por cromatografía contracorriente.

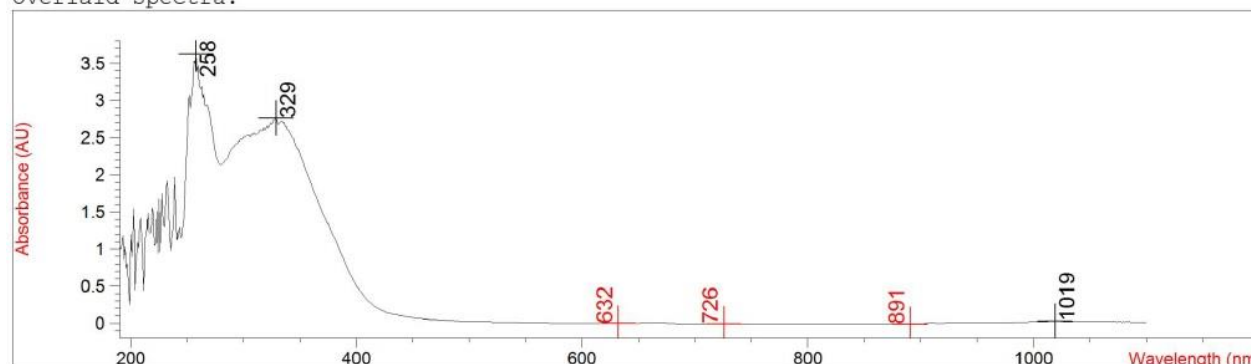
Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		410.0	0.20122	246.0	-1.96760
1		666.0	7.8899E-2	891.0	-1.9686E-2
1		473.0	2.5101E-2	583.0	-4.0846E-3

Figura 13. Espectro UV-Vis de la fracción 12, obtenida por cromatografía contracorriente.

Overlaid Spectra:



#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1		258.0	3.62920	891.0	-1.5207E-2
1		329.0	2.76240	726.0	-9.0528E-3
1		1019.0	2.5603E-2	632.0	-4.2439E-3

Figura 14. Espectro UV-Vis del residuo, parte de muestra que no se disolvió en etanol al 95%.

14. Aspectos éticos y legales

No se requirió trámite de licencia para realizar la presente investigación.

15. Vinculación

Se informó del proyecto al Sr. Sebastián Jerónimo Pablo, líder comunitario de Chichim, en Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango para obtener el apoyo para la búsqueda de especies del género *Stevia* en dicho municipio y colaborar con futuras fases del proyecto.

Se ha recibido solicitud de una organización internacional que solicita cooperación para realizar un proyecto para evaluar los glicósidos de *Stevia rebaudiana* cultivada en Guatemala, así como la calidad del suelo en que se cultiva y la salud de la planta.

Se ha mantenido el vínculo con el Instituto de Pesquisas de Productos Naturales de la Universidad Federal de Río de Janeiro, donde se analizarán los metabolitos aislados en el laboratorio.

16. Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Se ha preparado el primer artículo de dos que se espera publicar en revistas internacionales. El primero se titula “Conocimiento actual de la sistemática, distribución y fitoquímica del género *Stevia* en Guatemala”, el cual será enviado a la revista *Biología Tropical* para su evaluación.

Se presentaron los resultados en las comisiones intersectoriales de medio ambiente y Ciencias de la Tierra, el Océano y el Espacio de la SENACYT, en las cuales participa la Escuela de Química.

Se presentarán resultados en el Congreso Internacional de Productos Naturales de la IUPAC que se celebrará en Nápoles en el segundo semestre de 2022. Este congreso estaba inicialmente programado en octubre de 2021 en la misma ciudad, pero por medidas de prevención de la pandemia Covid-19 se trasladó para octubre de 2022.

17. Aporte de la propuesta de investigación a los ODS:

Con el proyecto se buscaba contribuir al Objetivo de Desarrollo Sostenible 15. “Proteger, restaurar y promover la utilización sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar de manera sostenible los bosques, combatir la desertificación y detener y revertir la degradación de la tierra, y frenar la pérdida de diversidad biológica” específicamente con las metas 15.6 “Promover la participación justa y equitativa en los beneficios que se deriven de la utilización de los recursos genéticos y promover el acceso adecuado a esos recursos, como se ha convenido internacionalmente” y 15.9 “Para 2020, integrar los valores de los ecosistemas y la diversidad biológica en la planificación nacional y local, los procesos de desarrollo, las estrategias de reducción de la pobreza y la contabilidad”, generando conocimiento sobre la diversidad de productos naturales de la flora guatemalteca para la protección y aprovechamiento sostenible de estos recursos. Esto se logra evaluando el potencial de uso y domesticación de las especies del género *Stevia*, por medio de la identificación de metabolitos secundarios de alto valor económico y su actividad biológica, para que en caso que puedan ser aprovechados contribuyan promover el uso sostenible de estas plantas que en la actualidad no son aprovechadas, buscando la participación justa y equitativa de los beneficios para las comunidades donde puedan aprovecharse, con lo cual se busca también generar alternativas de ingresos para las comunidades del área rural.

Por otra parte, la generación de nuevas capacidades para las unidades académicas participantes para el aislamiento de metabolitos secundarios de la flora guatemalteca a escala preparativa permitirá el planteamiento de nuevos productos de alto valor agregado, buscando contribuir al desarrollo económico de regiones con incidencia de pobreza por medio de la protección y uso de especies de la biodiversidad propia de Guatemala. Los resultados del proyecto contribuyen al objetivo de desarrollo sostenible número 15, “ Proteger, restaurar y promover la utilización sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar de manera sostenible los bosques, combatir la desertificación y detener y revertir la degradación de la tierra, y frenar la pérdida de diversidad biológica”, ya que se han localizado poblaciones de especies del género *Stevia* en localidades de diferentes departamentos del occidente de Guatemala, que permiten orientar esfuerzos para su estudio y utilización sostenible, así como protegerlas.

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

18. Orden de pago final

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
Lic. Max Samuel Mérida Reyes	Investigador		No	
M.A. Isabel Cristina Gaitán Fernández	Investigadora		No	
Javier Alejandro Medina Cortez	Auxiliar		No	

19. Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	
Fecha: 28/02/2022	

20. Aval de la Directora del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe mensual de las actividades realizadas en el proyecto Caracterización fitoquímica y de la actividad biológica, y evaluación de la propagación de seis plantas del género *Stevia* de Guatemala en mi calidad

Informe final proyecto de investigación 2021

Dirección General de Investigación –DIGI-

de Directora del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

Vo.Bo. Dra. María Eunice Enríquez Cotton	
Fecha: 28/02/2022	

21. Visado de la Dirección General de Investigación

Vo.Bo. Ing. Agr. Augusto Saul Guerra Gutiérrez Coordinador del Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales -PUIRNA-	
Fecha: 28/02/2022	

Vo.Bo. Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación	
Fecha: 28/02/2022	