

## **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 de *Stevia* de Guatemala. Fase II**

**Partida presupuestaria número 4.8.63.0.38**

**Código del proyecto B36 – 2022**

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

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

**Lcdo. Max Samuel Mérida Reyes  
Investigador**

**Br. Julio Enrique Guerra López  
Auxiliar de Investigación II**

**Guatemala, 15 de marzo de 2023**

## **Contraportada (reverso de la portada)**

### **Autoridades**

Dra. Alice Burgos Paniagua

Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar

Coordinador General de Programas

M.C. Andrea Eunice Rodas Morán

Coordinadora del Programa Universitario de Investigación en Recursos

Naturales y Ambiente – PUIRNA-

### **Autores**

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Coordinador del Proyecto de Investigación

Lcdo. Max Samuel Mérida Reyes

Investigador

Br. Julio Enrique Guerra López

Auxiliar de Investigación II

Licda. Bessie Evelyn Oliva Hernández

Investigadora

Dr. José Vicente Martínez Arévalo

Investigador

## Colaboradores

Dra. Elisandra Hernández Hernández

Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac

M. A. Rodolfo Orozco Marinelli Orozco Chilel

Escuela de Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac

Lcdo. Jorge Benjamín Jiménez Barrios

Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Usac

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2023. 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 B36-2022 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 (incluir índice de tablas y figuras)

### Contenido

<b>1</b>	<b>Índice general (incluir índice de tablas y figuras)</b> .....	4
<b>2</b>	<b>Resumen y palabras claves</b> .....	9
<b>3</b>	<b>Introducción</b> .....	11
<b>4</b>	<b>Planteamiento del problema</b> .....	14
<b>5</b>	<b>Delimitación en tiempo y espacio</b> .....	16
	5.1 Delimitación en tiempo .....	16
	5.2 Delimitación espacial .....	16
<b>6</b>	<b>Marco teórico</b> .....	17
	6.1 Aspectos biológicos de plantas del género <i>Stevia</i> .....	17
	6.2 Hallazgos fitoquímicos en plantas del género <i>Stevia</i> .....	19
	6.3 Actividad biológica en especies del género <i>Stevia</i> .....	23
	6.4 Usos medicinales tradicionales en plantas del género <i>Stevia</i> .....	23
	6.5 Plantas del género <i>Stevia</i> de Guatemala que se incluyeron en el presente estudio .....	24
	6.6 Evaluación de la propagación sexual de las especies de estudio .....	26
<b>7</b>	<b>Estado del arte</b> .....	29
<b>8</b>	<b>Objetivos (generales y específicos aprobados en la propuesta)</b> .....	30
	General: .....	30
	Específicos: .....	30
<b>9</b>	<b>Hipótesis (si aplica)</b> .....	31
<b>10.</b>	<b>Materiales y métodos</b> .....	31

10.1	Enfoque de la investigación .....	31
10.2	Método .....	31
10.3	Recolección de información.....	32
10.4	Técnicas e instrumentos .....	33
10.5	Procesamiento y análisis de la información .....	38
<b>11</b>	<b>Resultados y discusión .....</b>	<b>40</b>
11.1	Resultados .....	40
11.1.1	Colecta de individuos de <i>Stevia</i> en regiones del interior de Guatemala.....	40
11.1.2	Pesos y rendimientos de aceite esencial de partes aéreas de <i>Stevia</i> de regiones del interior de Guatemala .....	46
11.1.3	Porcentajes de germinación de aquenios de <i>Stevia</i> colectados en regiones del interior de Guatemala.....	47
11.1.4	Composición de aceites esenciales.....	48
11.2	Discusión de resultados.....	<b>55</b>
11.2.1	Distribución de las especies de <i>Stevia</i> investigadas .....	55
11.2.2	Pruebas de germinación.....	55
11.2.3	Composición del aceite esencial.....	57
11.3	Conclusiones .....	59
<b>12</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>60</b>
<b>13</b>	<b>Apéndice.....</b>	<b>68</b>
<b>14</b>	<b>Aspectos éticos y legales.....</b>	<b>75</b>
<b>15</b>	<b>Vinculación .....</b>	<b>75</b>
<b>16</b>	<b>Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual.....</b>	<b>75</b>
<b>17</b>	<b>Aporte de la propuesta de investigación a los ODS: .....</b>	<b>75</b>
<b>18</b>	<b>Orden de pago final .....</b>	<b>76</b>
<b>19</b>	<b>Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación.....</b>	<b>76</b>
<b>20</b>	<b>Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario .....</b>	<b>77</b>
<b>21</b>	<b>Visado de la Dirección General de Investigación.....</b>	<b>77</b>

## Índice de tablas

	<b>Página</b>
Operacionalización de las variables o unidades de análisis	38
Coherencia de la propuesta de investigación	39
Tabla 1 Información de colecta de partes aéreas y aquenios (semillas) de diferentes especies de <i>Stevia</i> de regiones del interior de Guatemala.	40
Tabla 2 Rendimientos de extracción por duplicado de aceites esenciales obtenidos de partes aéreas de diferentes especies de <i>Stevia</i> colectadas en regiones del interior de Guatemala.	46
Tabla 3 Resultados de pruebas de germinación de aquenios de <i>Stevia</i> del interior de Guatemala en bandejas con peat moss como sustrato.	47
Tabla 4 Resultados de pruebas de germinación in vitro de aquenios de <i>Stevia</i> del interior de Guatemala.	48
Tabla 5 Composición del aceite esencial de <i>Stevia jorullensis</i> Kunth	48
Tabla 6 Composición del aceite esencial de <i>Stevia incognita</i> Grashoff	50
Tabla 7 Composición del aceite esencial de <i>Stevia ovata</i> Willd. de Jutiapa	51
Tabla 8 Composición del aceite esencial de <i>Stevia ovata</i> Willd. de Quetzaltenango	53

## Índice de fotografías

		<b>Página</b>
Fotografía 1	Francisco Pérez Sabino colectando partes aéreas de <i>Stevia jorullensis</i> Kunth en el caserío Tuicoy, Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango. Fotografía: Max Mérida Reyes, octubre de 2022.	69
Fotografía 2	Francisco Pérez Sabino colectando partes aéreas de <i>Stevia triflora</i> DC. en sitio cercano a la Cuesta del Águila, km 329-330, Aguacatán, Huehuetenango. Fotografía: Max Mérida Reyes, junio de 2022.	69
Fotografía 3	Max Mérida colectando aquenios de <i>Stevia ovata</i> Willd. en Paraje Chové, cantón Chichimuch, municipio de Santa Lucía Utatlán, departamento de Sololá. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, abril de 2022.	70
Fotografía 4	Max Mérida realizando búsqueda de aquenios de <i>Stevia</i> en aldea El Pinalón, Jalapa. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, junio de 2022.	70
Fotografía 5	Max Mérida en colecta de <i>Stevia triflora</i> DC, en Santa Cruz del Quiché, departamento de Quiché. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, junio de 2022.	71
Fotografía 6	Población de <i>Stevia ovata</i> Willd, en Salcajá, Quetzaltenango. Fotografía: Max Mérida, septiembre de 2022.	71
Fotografía 7	Julio Guerra colectando arbustos de <i>Stevia jorullensis</i> Kunth en Cerro Chiquito, ciudad de Quetzaltenango, Quetzaltenango. Fotografía: Max Mérida, noviembre de 2022.	72
Fotografía 8	Julio Guerra realizando extracción de aceites esenciales de partes aéreas de <i>Stevia</i> del interior de Guatemala con aparato Clevenger en laboratorio provisional en la ciudad de Villa Nueva, Guatemala. Fotografía: Max Mérida, noviembre de 2022.	72

Fotografía 9	Aceite esencial de partes aéreas de <i>Stevia ovata</i> Willd, de Jutiapa recogido en pentano en ampolla de recolección del aparato Clevenger. Fotografía: Julio Guerra López, noviembre de 2022.	73
Fotografía 10	Julio Guerra humedeciendo aquenios de <i>Stevia</i> en sustrato peat moss en ensayo de germinación de semillas. Fotografía: Max Mérida, agosto de 2022.	73
Fotografía 11	Julio Guerra colocando aquenios de <i>Stevia</i> en frascos de vidrio para ensayo in vitro de germinación de semillas. Fotografía: Max Mérida Reyes, julio de 2022.	74
Fotografía 12	Aquenios de <i>Stevia</i> colocados en frascos de vidrio sobre papel filtro humedecido para prueba de germinación in vitro de semillas. Fotografía: Julio Guerra, julio de 2022.	74
Fotografía 13	Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas marca Shimadzu 2010 del Instituto de Pesquisas de Productos Naturales, Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, diciembre de 2022.	75



## 2 Resumen y palabras claves

Guatemala es un país megadiverso como consecuencia de su ubicación geográfica en que confluyen especies originarias de América del Norte y del Sur. Existe un gran número de especies vegetales cuya fitoquímica aún no ha sido evaluada exhaustivamente. Entre estas especies, se incluyen las plantas del género *Stevia*, de las cuales, algunas se han reportado por producir metabolitos secundarios con potenciales aplicaciones en diversos campos de la salud y de la industria. El objetivo de la investigación fue caracterizar los principales metabolitos secundarios de las especies *Stevia triflora* DC., *Stevia ovata* Willd., *Stevia jorullensis* Kunth y *Stevia incognita* Grashoff, así como evaluar su propagación sexual. Las especies de estudio se localizaron en departamentos del occidente y del oriente de Guatemala, colectándose material para el procesamiento en el laboratorio. Se extrajeron los principales metabolitos con etanol 70% y por hidrodestilación con aparato Clevenger. Los rendimientos de extracción de los aceites esenciales fueron inferiores a 0.2% para las cuatro especies. Los aceites se analizaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en el Instituto de Pesquisas de Productos Naturales de la Universidad Federal de Río de Janeiro, presentando principalmente sesquiterpenos y sesquiterpenoides en porcentajes entre 0.1 y 30%. En las pruebas de germinación de aquenios, se obtuvieron rendimientos de 5.0 y 11.7% de germinación para *S. ovata* provenientes de Jutiapa y Sololá respectivamente, sin embargo, ninguna de las plántulas sobrevivió a individuos adultos. En vista de la composición elevada en sesquiterpenoides de los aceites esenciales, es recomendable caracterizar la actividad biológica y antioxidante de los extractos y aceites obtenidos, para determinar las posibles aplicaciones potenciales de los metabolitos secundarios de las especies estudiadas.

**Palabras clave:** Aceite esencial, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, sesquiterpenos, sesquiterpenoides, *Stevia*.

## Abstract and keyword

Guatemala is a megadiverse country as a consequence of its geographical location where species native to North and South America converge. There are a large number of plant species whose phytochemistry has not yet been exhaustively evaluated. These species include plants of the *Stevia* genus, some of which have been reported to produce secondary metabolites with potential applications in different fields of health and industry. The objective of this research was to characterize the main secondary metabolites and the antioxidant and biological activity of the species *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis* and *S. incognita*, as well as to evaluate their sexual propagation. The study species were found in western and eastern Guatemalan departments, collecting material for processing in the laboratory. The main metabolites were extracted with ethanol and by hydrodistillation by Clevenger apparatus. The extraction yields of the essential oils were less than 0.2% for the four species. The oils were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry at the Natural Products Research Institute of the Federal University of Rio de Janeiro, presenting mainly sesquiterpenes and sesquiterpenoids in percentages between 0.1 and 30%. In the achene germination tests, yields of 5.0 and 11.7% were obtained for *S. ovata* from Jutiapa and Sololá, respectively. In view of the high sesquiterpenoid composition of the oils, it is advisable to characterize the biological and antioxidant activity of the extracts and essential oils obtained, to determine the potential applications of the secondary metabolites of the studied species.

**Keywords:** Essential oil, gas chromatography coupled to mass spectrometry, sesquiterpenes, sesquiterpenoids, *Stevia*.

### 3 Introducción

Guatemala está en la lista de los países megadiversos de la Tierra, debido a su posición geográfica entre América del Sur y América del Norte, que ha propiciado el poblamiento y la diferenciación de las especies de ambos subcontinentes (Castañeda, 2008; Villar, 1998). Así, la amplia variedad de zonas de vida y microclimas del país (Villar, 1998) ha provocado que las plantas desarrollen una diversidad de metabolitos secundarios, que cumplen funciones de protección e interacción con el entorno, entre otras (Evans, 2002). Muchas de las propiedades de esas especies vegetales causadas por los productos naturales han sido aprovechadas por los pueblos ancestrales, principalmente de origen maya, conocimiento que se ha transmitido de forma oral de una generación a la siguiente, lo que ha llevado al desarrollo de la medicina tradicional de dichos pueblos (Cáceres, 1996; Villar, 1998).

Las propiedades biológicas y farmacológicas que los metabolitos secundarios presentan se han aprovechado por personas de las comunidades rurales del país, que han heredado el conocimiento tradicional de sus antepasados, a través del uso popular de especies vegetales medicinales para el tratamiento de diferentes enfermedades y padecimientos (Cáceres et al., 1990; Pérez-Sabino et al., 2012). Parte de ese conocimiento ha sido validado en diferentes investigaciones sobre las propiedades de las plantas medicinales de Guatemala (Cáceres et al., 1990; Cordeiro et al., 2020; Mérida-Reyes et al., 2020; Pérez-Sabino et al., 2012; Simas et al., 2017). Por otra parte, hay un sinnúmero de especies nativas de las que no se conocen usos tradicionales y que por pertenecer a géneros de plantas que presentan metabolitos secundarios de alto valor y con propiedades biológicas útiles, podrían también presentarlos, siendo así importante su investigación (Nash & Williams, 1976). Sin embargo, Guatemala hace falta aún desarrollar estudios de caracterización fitoquímica y análisis de las propiedades biológicas de los metabolitos secundarios de muchas especies de plantas nativas utilizadas en la medicina popular, y más aún de las que se desconocen sus propiedades (Cáceres, 1996; Evans, 2002).

Entre las especies para las cuales no se han realizado suficientes investigaciones, se encuentra las plantas del género *Stevia*, de las cuales se han publicado su utilización en la

medicina tradicional en diferentes países latinoamericanos (Kinghorn, 2002; Soejarto et al., 1983). Las plantas del género *Stevia* (Asteraceae) son hierbas y arbustos propios de América cuya distribución va desde los estados del sur de los Estados Unidos de América hasta Argentina, incluyendo las tierras altas de Brasil, encontrándose varias especies en Centroamérica y los Andes en América del Sur (King & Robinson, 1987; Robinson & King, 1977; Soejarto et al., 1983). La planta sudamericana *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, reporta usos sobresalientes debido a que sus hojas de sabor dulce son usadas por dar dulzura a alimentos y bebidas, lo que la hace una especie de gran importancia económica a nivel mundial (Soejarto, 2002). México es uno de los países que más ha desarrollado investigación fitoquímica sobre este género, así como diferentes países sudamericanos en los cuales se ha reportado principalmente la presencia de sesquiterpenoides y compuestos de los grupos germacreno, guaiano y longipineno (Cerdeira-García-Rojas & Pereda-Miranda, 2002). Sin embargo, se ha comprobado que las especies del género *Stevia* producen también flavonoides (Christaki et al., 2013; Machado et al., 2017; Wölver-Rieck, 2012) y aceites esenciales (Machado et al., 2005; Muanda et al., 2011; Pérez Sabino et al., 2020; Simas et al., 2017; Turko et al., 2007). Los flavonoides presentan actividad antioxidante y también participan en varios mecanismos biológicos en la base de los procesos degenerativos. Al ser agentes reductores, donantes de hidrógeno y extintores de oxígeno radicalar. Además de la capacidad antioxidante, se han reportado recientemente propiedades antiinflamatorias (Yadav et al., 2017), así como actividades antialérgicas, antivirales y antiproliferativas, anticancerígenas, así como de reducción del riesgo de enfermedades coronaria y accidente cerebrovascular (He et al., 2010).

Por su parte, los aceites esenciales han sido utilizados por siglos en la medicina popular y en años recientes se han demostrado las propiedades biológicas de muchos aceites esenciales en numerosos estudios. Dichos estudios han demostrado principalmente propiedades antinociceptivas, anticancer, antiinflamatorias, repelente de insectos, antivirales, antioxidantes y potenciadores de la penetración en la piel (Adorjan & Buchbauer, 2010).

En Guatemala se han reportado 16 especies de especies del género *Stevia*, de las cuales solamente 7 han sido reportadas por su uso en la medicina tradicional, siendo utilizadas en las áreas rurales para tratar dolencias y malestares, como parte de los conocimientos ancestrales de

los pueblos originarios de Guatemala (Nash & Williams, 1976; Soejarto et al. 1983). Una especie que ha sido investigada en Guatemala es *S. serrata*, a nivel de la caracterización química y actividad antinociceptiva de su aceite esencial (Simas et al., 2017; Cordeiro et al. 2020). En la primera fase del proyecto se están estudiando las especies *S. connata*, *S. elatior*, *S. lucida*, *S. polycephala*, *S. serrata*, *S. suaveolens* y *S. viscida*, de las cuales algunas tienen usos medicinales conocidos, sin embargo, en Guatemala no se habían realizado estudios acerca de sus metabolitos secundarios. Durante la investigación se ha visto la necesidad de que además de la colecta de material vegetal, tanto para la caracterización fitoquímica y bioensayos, es necesario actualizar los registros de la distribución especies del género, ya que por el avance de la frontera agrícola y de la urbanización, las poblaciones de *Stevia* se han desplazado o bien, no cuentan con registro exacto de coordenadas geográficas.

Es bien conocido que las especies de plantas que pertenecen a un mismo género, presentan familias y metabolitos secundarios en común, y otros derivados de un metabolito padre, que pueden tener propiedades potencializadas, dependiendo de las circunstancias por las que estos metabolitos nuevos se han desarrollado (Borgo et al., 2021). Por lo anterior, en este estudio se planteó investigar los metabolitos secundarios de las especies *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis*, *S. caracasana*, *S. incognita* y *S. microchaeta* de Guatemala, 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 el aprovechamiento sostenible de dichas especies. Así mismo, se hará una actualización de la información de la distribución de estas especies en el interior de Guatemala.

#### **4 Planteamiento del problema**

Guatemala posee una biodiversidad elevada la cual no es suficientemente aprovechada (Castañeda, 2008). Aunque la medicina basada en el conocimiento tradicional de los pueblos originarios es reconocida (Cáceres, 1996; Villar, 1998), aún no se ha investigado suficiente sobre la composición química de los productos naturales de la flora de Guatemala que podrían tener un valor elevado. De esta forma, se carece de información sobre la fitoquímica y la actividad biológica de un vasto número de especies nativas de Guatemala, lo que limita su aprovechamiento sostenible para el desarrollo de nuevos medicamentos y para generar alternativas económicas para las comunidades que podrían beneficiarse de estas. En Guatemala la diversidad florística está amenazada por el avance de la frontera agrícola y la urbanización creciente de las ciudades (Reyes, 2008; Véliz, 2008).

Debido a la gran variabilidad climática de Guatemala (Castañeda, 2008; Villar, 1998), las especies de plantas pueden generar una diversidad grande de metabolitos secundarios que pueden presentar propiedades farmacológicas (Evans, 2002). Entre estas especies se encuentran las del género *Stevia*, una de las cuales, la *S. serrata* ha sido investigada por la unidad de investigación proponente, encontrándose que presenta actividades antinociceptivas y antiinflamatorias importantes (Simas et al., 2017; Pérez–Sabino et al., 2019; Cordeiro et al., 2020). Por lo anterior, en vista que en Guatemala existen 16 especies reportadas de este género, se consideró importante aportar para cubrir este vacío de información científica, que permita además de evaluar el potencial del aprovechamiento sostenible de estas especies, contribuir a su protección. En 2021 se realizó la primera fase del proyecto, priorizando la investigación de seis especies para las que se reportan usos en la medicina tradicional. Para esta segunda fase se planteó el estudio de seis especies del género *Stevia* para las cuales no se encontró información sobre su uso en la medicina tradicional de Guatemala, siendo así necesario generar información sobre su fitoquímica y actividad biológica. Aunado a esto, dichas especies de *Stevia* se reportan en la literatura científica para diferentes departamentos de Guatemala, sin embargo no hay registros de herbario de varias especies del género, por lo que es necesario contribuir con la

ampliación de las colecciones botánicas de los herbarios del país y registrar la localización de las poblaciones de las especies con coordenadas geográficas y altitudes de las localidades de colecta. Por último, se carece de información de la biología reproductiva de estas especies que proporcione información para su proceso de domesticación, lo cual se busca abarcar por medio de esta investigación.

## 5 Delimitación en tiempo y espacio

### 5.1 Delimitación en tiempo

El proyecto inició en febrero de 2022 y finalizó en diciembre de 2022. Se realizaron colectas a partir del mes de febrero de 2022 hasta enero de 2023, y las extracciones y análisis de laboratorio se realizaron en los meses noviembre y diciembre de 2022 y enero de 2023.

### 5.2 Delimitación espacial

Las colectas de material vegetal de las especies de estudio se realizaron en los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Sololá, Quetzaltenango, Quiché, Baja Verapaz, Chiquimula, Jalapa y Jutiapa (Tabla 1). Los análisis de laboratorio y las pruebas de germinación de aquenios (semillas) se realizaron en un laboratorio provisional en la residencia del auxiliar Julio Enrique Guerra en residenciales Catalina, zona 6 de Villa Nueva, en el departamento de Guatemala. La identificación de compuestos nuevos aislados se realizó en el Instituto de Pesquisas de Produtos Naturales de la Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil.



## **6 Marco teórico**

### **6.1 Aspectos biológicos de plantas del género *Stevia***

Las plantas del género *Stevia* pertenecen a un grupo de hierbas y arbustos propios del continente americano que se encuentran en la tribu Eupatoriae dentro de la familia Asteraceae (Hernández et al., 1998; Robinson, 1930; Soejarto et al., 1983; Soejarto, 2002). Se distribuyen desde las fronteras suroeste de los Estados Unidos de América, a través de los países de la cordillera hasta el norte de Chile, las tierras altas de Brasil, México, y los países centroamericanos hasta los Andes sudamericanos. Son abundantes en la República Argentina, alcanzando aparentemente su máxima latitud austral en el sureste de ese país. Hay pocas especies en Uruguay. En Paraguay el género está mucho más desarrollado y muestra un alto endemismo (Robinson, 1930; Soejima et al., 2017). Los reportes de la literatura no evidencian la presencia de especies para las Antillas o para cualquiera de las otras islas del Caribe. Están escasamente representadas en Venezuela, principalmente de las montañas alrededor de Caracas y cerca de Mérida. El género es aún desconocido para las Guayanas y para la región de la Amazonia (Robinson, 1930; Robinson & King, 1977; King & Robinson, 1987).

Se desarrollan en terrenos montañosos semisecos y sus hábitats comprenden bosques frondosos, praderas, vegetación subalpina y laderas boscosas de montañas, principalmente entre los 500 y los 3,500 metros sobre el nivel del mar (Soejarto, 2002). Las *Stevia* de México, así como otros géneros mexicanos de Asteraceae como *Baccharis*, *Brickellia*, *Dahlia* y *Senecio*, presentan su mayor diversidad de especies en bosques de pino-encino (Rzedowski & Rzedowski, 2001). Se reportan entre 154 y 230 especies del género *Stevia* en el continente americano (Abdullateef & Osman, 2011; King & Robinson, 1987; Ramesh et al., 2006; Soejima et al., 2017) y alrededor de 34 especies se mencionan por poseer registros etnobotánicos que relacionan usos de diferente tipo con nombres comunes de las especies (Borgo et al., 2021; Soejarto, 2002).

Son mayormente arbustos rizomatosos o hierbas anuales o perennes. Se caracterizan por poseer hojas simples que pueden ser alternas u opuestas y con bordes dentados o serrados. Las inflorescencias son capítulos arreglados en grupos paniculados, tirseiformes o corimbosos en las puntas de las ramas o el tallo. El capítulo consiste en un involucreo cilíndrico o en forma de embudo de cinco filarios lineares a oblongos dispuestos en una serie o verticilo y en una estivación valvada o subimbricada, y en cinco flósculos (flores) sobre un receptáculo glabro o plano. Los cinco flósculos son normalmente blancos, pero pueden ser también púrpura a púrpura rojizo, tubulares, el color de las partes superior e inferior de los flósculos puede ser diferente y están dispuestos en verticilos de 5 piezas. Los aquenios (frutos) son cilíndricos a fusiformes o prismáticos, con 5 ángulos, 5 costillas, con superficies cóncavas (Pruski & Robinson, 2015; Soejarto, 2002). *Stevia* es un género que se caracteriza por la uniformidad de su morfología floral básica, sin embargo, es un género que también consiste en un gran número de especies diversificadas en hábitos, forma de las hojas, indumentos y estructuras superficiales, tamaño y color de las corolas, estructura del vilano, formación de la inflorescencia y otras características (Soejima et al., 2001).

En cuanto a su biología evolutiva, Soejima et al. (2017) sugieren que el género *Stevia* se originó en México hace alrededor de 7.0 a 7.3 millones de años. Dos grandes clados, uno con especies de arbustos y otro con especies de hierbas, se separaron alrededor de 6.6 millones de años. La reconstrucción filogenética sugiere que un ancestro de *Stevia* fue un arbusto pequeño en los bosques templados de pino-encino y el cambio evolutivo del estado arbustivo al estado herbáceo ocurrió una sola vez. Un clado brasileño estuvo anidado en un clado de hierbas mexicanas, y su origen se estimó en 5.2 millones de años, lo que sugiere que la migración desde Norteamérica hasta Sudamérica ocurrió después de la formación del istmo de Panamá. La diversidad de especies en México parece reflejar la diversidad de hábitats dentro de la zona de bosques templados de pino-encino.

Se reportan casos de endemismo para diferentes especies del género *Stevia*. En el sur y centro de Brasil, el género está bastante bien representado por especies que son en su mayoría endémicas de ese país (Robinson, 1930). Gutiérrez et al. (2016) reconocieron a *S. philippiana*

como especie endémica de Chile. Esta especie presenta una amplia variación morfológica principalmente en las características de sus hojas y el vilano. A través del análisis de una amplia colección de especímenes los autores determinaron la presencia de morfotipos intermedios en *S. philippiana*. Quaresma et al. (2013) describieron y presentaron a *S. grazielae* como nueva especie de *Stevia* ubicada en el estado de Minas Gerais, Brasil. También reportan otras 25 especies de *Stevia* como endémicas de Brasil (Nakajima, 2013, como se citó en Quaresma et al., 2013).

La especie *S. polycephala* reviste importancia ecológica en el occidente de Guatemala, ya que se cuenta entre las especies que aseguran la sobrevivencia del pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) al actuar como planta nodriza en los bosques de pinabete en Ixchiguán, San Marcos, junto con especies como el arrayán (*Baccharis vaccinioides* Kunth), malacate (*Symphoricarpos microphyllus* Kunth), salvia (*Buddleja megalcephala* Donn. Sm.), mozote (*Acaena elongata* L.) y mora (*Rubus trilobus* Ser.). A *S. polycephala* se le conoce con el nombre común de chicajol en esta región del país (Cruz-Bolaños et al., 2018).

## 6.2 Hallazgos fitoquímicos en plantas del género *Stevia*

Borgo et al. (2021) reportan que los sesquiterpenoides son, por mucho, los más abundantes y principales metabolitos secundarios encontrados en las partes aéreas y raíces encontradas en especies de *Stevia*. Por su parte, Hernández et al., (1998) describen que las sesquiterpenlactonas son los metabolitos secundarios frecuentemente encontrados y aislados en diferentes plantas de *Stevia*.

Cerda-García-Rojas y Pereda-Miranda (2002) informan de análisis fitoquímicos en especies de *Stevia*, los cuales han sido llevados a cabo principalmente en plantas de México y Sudamérica, demostrando la presencia de sesquiterpenoides y compuestos de los grupos germacreno, longipineno y guaiano.

A partir del extracto hexánico de las raíces de *S. eupatoria* de México, Román et al. (2004) aislaron el triterpeno 8,14-*seco*-oleana-8(26),13-dien-3 $\beta$ -ol acetato. Asimismo, Cerda-García-Rojas et al., (2006) aislaron 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 del extracto hexánico de las raíces de *S. eupatoria* de México.

Romero-Montiel et al. (2007) reportaron por primera vez la presencia del derivado del longipinano (4*R*,5*S*,7*S*,8*S*,9*S*,10*R*,11*R*,2'*S*,2''*S*)-(+)-7,8-di-( $\alpha$ -metilbutiriloxi)-9-hidroxi-longipin-2-en-1-ona de las raíces de *S. nepetifolia* de México.

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

A partir del extracto metanólico de la planta entera de *S. polycephala* de México, Angeles et al. (1982) aislaron el compuesto ácido estefálico. De las raíces de *S. viscida* de México, Roman et al. (1995) aislaron dos nuevos derivados del longipineno: longipinan-9 $\alpha$ , 15-diangeloiloxi-1-ona y longipinan-9 $\alpha$ -angeloiloxi-15-tigloiloxi-1-ona. Por su parte, Román et al. (2004) aislaron el triterpeno 8,14-*seco*-oleana-8(26),13-dien-3 $\beta$ -ol del extracto hexánico de las raíces de *S. viscida* de México.

Calderón et al. (1989) aislaron steviserrolido A y steviserrolido B a partir de hojas secas de *S. serrata* del estado mexicano de Morelos y las clasificaron como dos nuevas sesquiterpenlactonas procamazulénicas. Román et al. (1990) por su parte, extrajeron, a través de destilación por arrastre de vapor, 700 mg de un aceite esencial azul a partir de 178 g de flores de *S. serrata* de México, los cuales rindieron 320 mg del sesquiterpeno camazuleno, utilizando cromatografía de sílica gel.

Sánchez-Arreola et al. (1995) aislaron de las raíces de *S. serrata* del estado de Michoacán, México los longipinenos  $7\beta$ ,  $9\alpha$ -diangeloiloxi- $8\alpha$ -hidroxilongipinan-1-ona;  $8\beta$ ,  $9\alpha$ -diangeloiloxi- $9\alpha$ -hidroxilongipinan-1-ona;  $7\beta$ ,  $9\alpha$ -diangeloiloxi- $8\alpha$ -acetiloxilongipinan-1-ona;  $7\beta$ ,  $9\alpha$ -diangeloiloxi- $8\alpha$ -acetiloxilongipin-2-en-1-ona; y  $7\beta$ -angeloiloxi- $8\alpha$ -isobutiriloxilongipin-2-en-1-ona.

Chacón Morales et al. (2013) aislaron e identificaron la isocumarina (+)-meleina y los flavonoides hispidulina, pectolinaringenina e isosakuranetina en hojas y tallos de *S. lucida* del estado Mérida de Venezuela. La isocumarina (+)-meleina es el primer reporte para especies del género *Stevia*. Por su parte, los tres flavonoides aislados en el estudio son comunes para la familia Asteraceae, pero la isosakuranetina es el primer reporte para especies del género *Stevia*, mientras que la hispidulina es el primer reporte para *S. lucida*.

Chacón Morales et al. (2018) aislaron y determinaron la elucidación estructural de las chalconas 2',3,4-trihidroxichalcona, floretina y calomelanona en hojas y tallos secos de *S. lucida* colectada en el estado Mérida en Venezuela. Estas chalconas son el primer hallazgo de este tipo de metabolitos secundarios para especies del género *Stevia*. De las partes aéreas de dos especies de *Stevia* de Venezuela, Amaro et al. (1988) aislaron derivados del longipineno: en *S. lucida* se aislaron longipin-2-ene- $7\beta$ -angeloiloxi- $9\alpha$ -acetiloxi-1-ona, y en *S. triflora* aislaron 2-dehidrorasteviona, rasteviona y trifloresteviona.

Hernández et al. (1995) determinaron por métodos espectroscópicos, la presencia de los guaianólidos eupahakonenina, ligustrina-8-yl-( $\gamma$ -butirolactona- $\beta$ -carboxilato), ligustrina-8-yl-(2,5-dihidro-5-ceto-3-furanocarboxilato) y la flavona eupatorina en las partes aéreas de *S. gilliesii* colectada en la provincia de Catamarca, Argentina. El guaianólido ligustrina-8-yl-( $\gamma$ -butirolactona- $\beta$ -carboxilato) es el primer reporte de este grupo de compuestos para *S. gilliesii*.

Guerra-Ramírez et al. (1998) aislaron dos nuevos diésteres del longipineno del extracto hexánico de las raíces de *S. lucida* de Colombia: longipin-2-eno-7 $\beta$ , 9 $\alpha$ -diol-1-one-7-tiglato-9-isovalerato y longipin-2-eno-7 $\beta$ , 9 $\alpha$ -diol-1-ona-7-seneciato-9-isovalerato.

Machado et al. (2017) aislaron y determinaron por métodos espectroscópicos cuatro flavonoides de las partes aéreas de *Stevia urticifolia* Thunb. de Brasil: 5,7,4'-trihidroxi-6-metoxiflavona (hispidulina), 5,7,3',4'-tetrahidroxi-6-metoxiflavona (nepentina), 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavona (quercetina) y quercetina-3-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranósido (avicularina). Los cuatro flavonoides son el primer reporte para la especie *S. urticifolia*.

Rajbhandari & Roberts (1985) confirmaron por comparación de estándares y datos espectrales la presencia de los flavonoides jaceidina, centaureidina, quercetina-3-*O*-D-galactósido y quercetina-3-*O*-D-galactosil-D-glucosa en hojas secas de *S. cuzcoensis* de Perú; centaureidina, quercetina-3-*O*-D-galactósido y quercetina-3-*O*-D-galactosil-D-galactósido en hojas secas de *S. galeopsidifolia* de Perú; quercetagetina-3,6,3',4'-tetrametil-éter, quercetina-3-*O*-D-galactósido y quercetina-3-*O*-L-ramnósido en hojas secas de *S. serrata* de México; quercetagetina-3,4,7-trimetil éter, alpigenina-7-*O*-D-glucósido y quercetina-3-*O*-D-galactósido en hojas secas de *S. soratensis* de Perú.

Prakash y Prakash Chaturvedula (2013) aislaron dos nuevos glicósidos diterpénicos de un extracto comercial de hojas de *S. rebaudiana* proveniente de Malasia. Los compuestos se identificaron como ácido 13- $\{\beta$ -D-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\{\beta$ -D-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -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*- $\beta$ -D-glucopiranosilo y ácido 13- $\{\beta$ -D-6-deoxiglucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\{\beta$ -D-glucopiranosil-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopiranosil-oxi}ent-kaur-16-en-19-oico éster de  $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-*O*- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucopyranosilo}.

Karaköse et al. (2011) caracterizaron exitosamente 19 derivados del ácido hidroxicinámico en hojas de *S. rebaudiana* adquirida en un mercado de Alemania, correspondiendo a dos ácidos cafeoil-feruloilquínicos, un ácido feruloilquínico, dos ácidos

tricafeoilquínicos, tres ácidos monocafeoilquínicos, siete ácidos dicafeoilquínicos, un ácido *p*-coumaroilquínico y tres ácidos cafeoilshikímicos.

### 6.3 Actividad biológica en especies del género *Stevia*

Los flavonoides eupatorina y 5-desmetilsinensetina aislados del extracto diclorometánico de *Stevia satureiifolia* (Lam.) Sch. Bip. var. *satueiifolia* mostraron valores de IC<sub>50</sub> de 0.2 y 0.4 µg/mL sobre epimastigotes de *Trypanosoma cruzi* y valores de IC<sub>50</sub> de 61.8 y 75.1 µg/mL sobre tripomastigotes de *T. cruzi*, respectivamente. El flavonoide 5-desmetilsinensetina mostró actividad moderada sobre amastigotes de *T. cruzi* (IC<sub>50</sub> = 78.7 µg/mL) y fue el compuesto más activo sobre promastigotes de *Leishmania braziliensis* (IC<sub>50</sub> = 37.0 µg/mL) (Beer et al., 2016).

Fournet et al. (1994) ensayaron los extractos etanólicos, de acetato de etilo y éter de petróleo de *S. yaconensis* de Bolivia contra *Leishmania brasiliensis*, *L. donovanni*, *L. amazonensis* y *Trypanosoma cruzi*. Los extractos fueron activos en el rango de 50-100 µg / mL contra los parásitos.

### 6.4 Usos medicinales tradicionales en plantas del género *Stevia*

*S. cardiatica* es valorada por los nativos de una región montañosa poco conocida del sur de Bolivia como un remedio cardíaco, mientras que las raíces y flores de *S. trifida* son utilizadas para preparar una infusión para tratar la disentería en México (Robinson, 1930). En las entrevistas etnobotánicas realizadas por el equipo de investigación proponente en el interior de Guatemala, se reportan como plantas de uso medicinal a *S. polycephala*, *S. serrata* y *S. triflora*. Las hojas de *S. polycephala* se utilizan en Sololá y Totonicapán en los baños de temazcal, junto con otras plantas medicinales, para recuperar las fuerzas perdidas por el parto en mujeres recién paridas y la conocen con el nombre común de Quebuj (S. Batz, comunicación personal, 26 de octubre de 2007). En Chimaltenango utilizan las raíces de *S. polycephala* para el tratamiento de la diabetes (J. Sis, comunicación personal, 14 de enero de 2019). Una

decocción de las raíces de *S. serrata* son utilizadas en Quiché para tratar el dolor de estómago y la conocen con el nombre común de Ujolom Ocox (V. Choc, comunicación personal, 14 de octubre de 2014), mientras que las partes aéreas de la misma especie son utilizadas para tratamiento de dolor de cuerpo causado por resfriados (R. Koj, comunicación personal, 12 de septiembre de 2021). En el departamento de Baja Verapaz, la decocción de las hojas tiernas de *S. triflora* son utilizadas para tratamiento del dolor de estómago y la conocen con el nombre común de Oreja de Conejo (M. A. Hernández, comunicación personal, 31 de agosto de 2021).

## 6.5 Plantas del género *Stevia* de Guatemala que se incluyeron en el presente estudio

De las 230 especies de *Stevia* reportadas por King y Robinson (1987), la *Flora of Guatemala* reporta 21 especies del género para el territorio guatemalteco (Nash & Williams, 1976). Las especies seleccionadas a evaluar en el presente estudio fueron: *Stevia triflora* DC., *Stevia ovata* Willd., *Stevia jorullensis* Kunth, *Stevia incognita* Grashoff, *Stevia caracasana* DC. y *Stevia microchaeta* Sch. Bip.

*S. triflora* son hierbas presentes en sitios soleados y cubiertos de hierba, usualmente cerca de bosques de pino y encino. Florece de septiembre a diciembre. En Guatemala se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala y Huehuetenango. Se distribuye desde Jalisco, México hasta Ecuador. Son hierbas perennes de 1.5 m de alto, con varios tallos erectos, hojas opuestas de peciolo cortos, capítulos de alrededor de 7 mm de longitud de pedúnculos cortos, corolas blancas de alrededor de 3 mm de longitud, aquenios de 2.5 mm de longitud excluyendo el vilano (Nash & Williams, 1976). Amaro et al. (1988) aislaron los compuestos 2-dehidrorasteviona, rasteviona y trifloresteviona de las partes aéreas de *S. triflora* de la flora andina venezolana.

*S. ovata* son hierbas comunes en áreas rocosas a lo largo de carreteras y en áreas boscosas, usualmente sobre los 1,200 msnm. Se distribuye desde el norte de México hasta Ecuador. En Guatemala se ha reportado para los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Zacapa. Florece de julio a enero.



Son plantas rizomatosas de 2 m de alto, con hojas opuestas pecioladas o subpecioladas, corolas de 3-5 mm de longitud, blancas o raramente teñidas de rosa, aquenios de alrededor de 3-4 mm de longitud excluyendo el vilano (Nash & Williams, 1976). La literatura no reporta usos medicinales ni de otro tipo para esta especie.

*S. jorullensis* se encuentra de manera ocasional en bosques de pino y encino desde 1,000-3,200 msnm. Presente en Nuevo León, México y Guatemala. En Guatemala se ha reportado para los departamentos de Sololá, Huehuetenango y Totonicapán. Es una hierba perenne de 1 m de alto, tallos de uno a varios, de hojas opuestas, usualmente pecioladas. Corolas de color rosa brillante a púrpura o lavanda (Nash & Williams, 1976). Se aislaron las sesquiterpenlactonas 11 $\beta$ , 13-dihidrocostunolido, 11,13-dihidroreynosina y el 1 $\beta$ -hidroxicolartina de las partes aéreas de *S. jorullensis* de México. Los compuestos esteroidales  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol,  $\beta$ -sitosteril glucopiranosido, estigmasteril glucopiranosido y ácido clorogénico también fueron aislados de sus partes aéreas (Pérez-Castorena et al., 2020). Se cree que esta especie está entre las plantas medicinales mexicanas conocidas como Camopaltic, y que sus raíces eran utilizadas para evacuar la orina (Soejarto, 2002).

*S. incognita* es una especie presente en bosques de coníferas entre los 1,600-3,400 msnm. Se distribuye en México, Honduras, Colombia y Venezuela. En Guatemala se ha reportado para los departamentos de Chimaltenango, El Progreso, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, El Quiché, Sacatepéquez, San Marcos, Totonicapán. Hierba perenne de 1.5 m de alto, los tallos púrpuras, puberulentos, hojas opuestas pecioladas, ovadas, láminas foliares de 3-5 cm de longitud, serradas o dentadas, corolas de rosado a púrpura, de alrededor de 5-6.5 mm de longitud (Nash & Williams, 1976). Forma parte de la diversidad florística del Estado de México y su nombre común es yoloquilde (Mejía Canales et al., 2018). No se reportan usos medicinales ni de ningún otro tipo en la revisión de literatura sobre la especie.

*S. caracasana* está presente en bosques de pino y encino entre los 300-3,000 msnm. Presente desde Sinaloa, México a Colombia y Venezuela. En Guatemala se reporta para los departamentos de Alta Verapaz, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango y Zacapa. Es una hierba

perenne de 1.5 m de alto, los tallos usualmente solitarios, hojas opuestas pecioladas, serradas o dentadas, corolas de 4.5-5.5 mm de longitud de color rosado (Nash & Williams, 1976). No se hallaron reportes de usos medicinales o de otro tipo en la revisión de literatura para esta especie.

*S. microchaeta* está presente en regiones de bosques nubosos, justo debajo de la zona de helechos arborescentes entre los 2,300 a 3,300 msnm. Presente en los estados mexicanos de Veracruz, Oaxaca y Chiapas. En Guatemala se ha reportado para los departamentos de Quetzaltenango y San Marcos. Se trata de arbustos grandes de 4 m de alto, con pocos tallos, de hojas opuestas lanceoladas, la mayoría de mayores de 10 cm de longitud, crenadas a dentadas, peciolo de 3-6 cm de longitud, corolas de color lavanda, de alrededor de 4.5-5 mm de longitud (Nash & Williams, 1976). Se aislaron los flavonoides luteolina-7-*O*- $\beta$ -D-glucósido, luteolina-4'-*O*- $\beta$ -D-glucósido, quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-glucósido y quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-galactósido de las hojas secas de *S. microchaeta* (Rajbhandari, & Roberts, 1985). La literatura no reporta usos medicinales ni de otro tipo para esta especie.

## 6.6 Evaluación de la propagación sexual de las especies de estudio

El marco teórico del tema de propagación se basa principalmente en el libro Propagación de plantas: principios y práctica de Hartman y Kester (1987), a partir de la fecha de publicación se han realizado varias reimpressiones, al 2021 no hay otro libro que supere los conceptos vertidos en este documento.

Las plantas tienen la capacidad de reproducirse sexual y asexualmente. De manera asexual puede ser desde una célula (principio de totipotencia de las plantas) en laboratorio, una pequeña fracción en cultivo de tejidos, callos producidos en cultivos de tejidos, un fragmento de la planta (modulo que tiene como mínimo una yema) entre los más utilizados (Hartman & Kester, 1987).

La propagación asexual se usa: a) cuando se quieren preservar materiales genéticos valiosos donde no se requiere que tengan cambios morfológicos (clonación); b) cuando la propagación por semilla se hace difícil; c) por razones prácticas para tener un tiempo más corto en la producción de flores y frutos; d) en algunos casos para librarse de patógenos especialmente hongos, bacterias y virus, utilizando injertos de materiales genéticos valiosos sobre patrones resistentes a patógenos del suelo utilizados (Hartman & Kester, 1987) .

La reproducción sexual, se lleva a cabo a partir de semillas que contienen a la nueva planta en potencia conformada por un embrión con hipocótilo que dará origen a las raíces y epicótilo que dará origen a tallos y hojas (plúmula). El conocimiento de la morfología de la semilla es fundamental para comprender la germinación y emergencia de las plantas sobre el suelo.

En el caso de la familia Asteraceae, el fruto y la semilla están unidos en lo que se denomina aquenio, aunque en sentido estricto en botánica el fruto de la mayoría de las asteráceas es una cipsela (porque el aquenio se deriva de un ovario súpero monocarpelar, en tanto que la cipsela se aplica a frutos que se derivan de un ovario ínfero bicarpelar). Es importante esto para el presente estudio ya que la reproducción de las especies estudiadas es principalmente a partir de esta estructura.

En el estudio de la propagación sexual se deben considerar varios aspectos:

1. La viabilidad es decir el tiempo en que una semilla se encuentra apta para germinar, lo cual va a depender del tipo de fruto o semilla que contenga al embrión, la condiciones ambientales donde se almacena, la cantidad de alimento que una semilla tenga para la futura planta.
2. La latencia que consiste en que en algunos casos las semillas, no germinan en condiciones normales ya que han entrado en una especie de letargo. La latencia puede ser de varios tipos:
  - 2.1 Latencia exógena (en la cubierta de las semillas), puede ser a) física, b) mecánica, c) química
  - 2.2 Latencia endógena o morfológica: a) embriones rudimentarios, b) embriones no desarrollados.
  - 2.3 Latencia interna: a) fisiológica, b) interno intermedio, c) del embrión.
  - 2.4 Latencia combinada morfo-fisiológica

## 2.5 Latencia combinada exógena-endógena

Hay varios métodos para romper la latencia a manera de métodos pregerminativos, de ellos se pueden mencionar:

- a) Estratificación
- b) Escarificación:
  - mecánica
  - química
- c) Lixiviación
- d) Combinación de tratamientos
- e) Hormonas y otros estimulantes químicos
- f) Flotación (Varela y Arana, 2011).

Etapas de germinación:

### Etapa 1. Activación

- a) Imbibición de agua, la semilla en su proceso de maduración pierde agua para prolongar su vida y evitar la germinación. Cuando la semilla está en un medio para germinar, absorbe agua por medio del micropilo un pequeño agujero en la testa cerca del embrión. Al inicio la entrada de agua es rápida y luego se estabiliza hasta dejar totalmente hidratado el interior de la semilla.
- b) Síntesis de enzimas.
- c) Elongación de células y emergencia de la radícula.

### Etapa 2. Digestión y traslocación.

Etapa 3. Crecimiento de la plántula, que puede ser epigea si los cotiledones se levantan sobre el suelo junto con el tallo e hipogea si los cotiledones quedan debajo del suelo y solo emerge el tallo de la planta. (Hartman & Kester, 1987).

La prueba de tetrazolio. Es una prueba cualitativa de la viabilidad, muchas veces se utiliza como complementaria con la prueba de germinación ya que permite conocer las semillas viables estén o no en latencia. Consiste en que las semillas se tiñen de rojo al ser remojadas en una solución

de cloruro de 2, 3, 5 trinefilitetrazolio (TTC). Esta sustancia es cambiada a un compuesto insoluble de color rojo (formazán). Los resultados pueden obtenerse en 24 horas y en ocasiones en dos a tres horas. Se utiliza una concentración de 0.1 a 1.0% con un pH de 6 o 7 (Hartman & Kester, 1987; Rodríguez et al., 2008).

## 7 Estado del arte

La especie *S. serrata*, distribuida en áreas del altiplano occidental de la República de Guatemala, reviste actualmente gran importancia debido a recientes publicaciones que evidencian la presencia del compuesto camazuleno en el aceite esencial azul de sus partes aéreas. El camazuleno y compuestos procamazulénicos en individuos de *S. serrata* colectada en México ya habían sido evidenciados por investigadores mexicanos (Calderón et al., 1989; Román et al., 1990). Por su parte, investigadores de la Universidad de San Carlos de Guatemala de manera conjunta con investigadores de la Universidad Federal de Río de Janeiro determinaron una concentración de 60.1% de camazuleno en el aceite esencial de las partes aéreas de *S. serrata* colectada en el departamento de Sololá. Adicionalmente, se determinó una marcada actividad antinociceptiva del aceite esencial en un modelo de irritación en pata trasera de ratones con formalina (Simas et al., 2017), atribuyéndose esta propiedad, principalmente al compuesto camazuleno (Safayhi et al., 1994). También, en un primer ensayo de domesticación de *S. serrata* se demostró efectividad de propagación a través de germinación de semillas colectadas en Santa Lucía Utatlán, departamento de Sololá. Se obtuvo un 75% de germinación de semillas, las cuales se desarrollaron hasta plantas adultas. En este mismo estudio se presentó la composición del aceite esencial de las raíces de *S. serrata*, evidenciándose el  $\alpha$ -longipineno (23.5%) y germacreno D (22.2%) como compuestos mayoritarios (Pérez-Sabino et al., 2020). En un estudio más reciente, el aceite esencial de *S. serrata* demostró actividad antinociceptiva y antiinflamatoria en un experimento in vivo. El aceite esencial fue ensayado en modelos químicos (capsaicina y glutamato como inductores de la acción de lamerse en ratones) o térmicos (placa caliente) de nocicepción. El mecanismo de acción fue evaluado utilizando dos receptores antagonistas (naloxona, atropina) y una enzima inhibidora (L-NAME). El efecto antihiperálgico fue evaluado utilizando nocicepción inducida por carragenina y evaluado en

placa caliente. Los datos obtenidos sugirieron que el aceite esencial de *S. serrata* presentó efecto antinociceptivo mediado, al menos en parte, por las vías opioide, colinérgicas y nitrérgicas (Cordeiro et al., 2020). Estos hallazgos recientes de actividad biológica del aceite esencial de *S. serrata* del occidente guatemalteco, así como la efectividad de su propagación a través de germinación de semillas, contribuyen a impulsar y promover investigaciones en otras especies del género *Stevia* de Guatemala, en la búsqueda de compuestos con actividad biológica que puedan integrarse en la formulación de productos cosméticos y terapéuticos. Es importante también reconocer el valor de los aceites esenciales debido a que han demostrado múltiples propiedades biológicas como antinociceptivas, anticancer, antiinflamatorias, repelente de insectos, antivirales, antioxidantes y potenciadores de la penetración en la piel (Adorjan & Buchbauer, 2010), lo que los hace un grupo de metabolitos secundarios a seguir siendo estudiados en especies que carecen de estudios químicos.

## 8 Objetivos (generales y específicos aprobados en la propuesta)

### General:

Caracterizar los principales metabolitos secundarios y la actividad antioxidante y biológica de las fracciones de extractos, así como la propagación sexual las especies del género *Stevia* (*Stevia triflora* DC., *Stevia ovata* Willd., *Stevia jorullensis* Kunth, *Stevia incognita* Grashoff, *Stevia caracasana* DC., *Stevia microchaeta* Sch. Bip.), nativas de Guatemala, que se logren localizar.

### Específicos:

1. Determinar la distribución actual de las poblaciones de las especies de estudio en los departamentos reportados en la literatura.
2. Determinar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en las especies seleccionadas.
3. Caracterizar la propagación sexual de dos especies de estudio.

## 9 Hipótesis (si aplica)

El proyecto no tiene hipótesis por ser de tipo descriptivo.

## 10. Materiales y métodos

### 10.1 Enfoque de la investigación

La investigación tiene un enfoque cuantitativo, ya que se recopilaron datos que coinciden con resultados de análisis químicos y biológicos. Se llevaron a cabo análisis descriptivos de los resultados con el fin de identificar las diferencias en la composición química y factibilidad de propagación de las especies en estudio. En términos de su naturaleza, esta investigación es descriptiva y exploratoria.

### 10.2 Método

Para la recolección de datos se realizó la búsqueda de material vegetal de las especies *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis*, *S. incognita*, *S. caracasana* y *S. microchaeta* en los departamentos de San Marcos, Sololá, Huehuetenango, Quetzaltenango, Quiché, Jalapa, Baja Verapaz, Jutiapa y Chiquimula, en los cuales se han reportado las especies en la *Flora of Guatemala* (Nash & Williams, 1976) y en las etiquetas de muestras herbario. Las colectas, tanto de aquenios (semillas), como de partes aéreas de las especies, se realizaron en los meses de febrero 2022 a enero de 2023.

## *Extracción de metabolitos secundarios*

Las muestras fueron procesadas en un laboratorio provisional acondicionado en la residencia del auxiliar Julio Enrique Guerra ubicada en residenciales Catalina en la zona 6 de Villa Nueva, en el departamento de Guatemala. En dicho laboratorio se extrajeron los principales metabolitos del material vegetal colectado de especies de *Stevia* en estudio.

## *Análisis de metabolitos secundarios*

El Instituto de Pesquisas de Productos Naturales de la Universidad Federal de Río de Janeiro, apoyó al proyecto en la identificación de metabolitos secundarios presentes en aceites esenciales extraídos de partes aéreas de las especies de *Stevia* propuestas por medio de técnicas como cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

### **10.3 Recolección de información**

Las especies a estudiar en la presente investigación fueron *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis*, *S. incognita*, *S. caracasana* y *S. microchaeta*. Para algunas de estas plantas se reportan propiedades medicinales y fueron colectadas en localidades de los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Sololá, Quetzaltenango, Quiché, Baja Verapaz, Chiquimula, Jalapa y Jutiapa, donde se han reportado poblaciones de las plantas de estudio en etiquetas de especímenes de herbario y en información recabada en la *Flora of Guatemala* (Nash & Williams, 1976). Los sitios de colecta se georreferenciaron por medio de GPS. En los casos en que fue posible, la muestra estuvo constituida por material vegetal de al menos dos poblaciones de cada especie en los departamentos en que se encontraron. Las colectas se realizaron en los meses de febrero de 2022 a enero de 2023, para lo cual se colectaron, como mínimo, 2 kg de material vegetal fresco de cada población de las seis especies de estudio, colectando por lo menos 7 individuos de cada especie por población.



Los aceites esenciales fueron extraídos a partir del material vegetal seco de las especies de *Stevia* colectadas, a través de aparato Clevenger, por la técnica de hidrodestilación en laboratorio provisional en residencia del auxiliar Julio Enrique Guerra.

Las extracciones se realizaron por triplicado y se estimó su rendimiento promedio con su desviación estándar. Los análisis también se realizaron por triplicado. Al ser un estudio exploratorio y descriptivo, no se realizaron pruebas para comprobación de hipótesis.

Durante las colectas se tomaron 2 muestras para herbario de cada especie de *Stevia* localizada (alrededor de 2% del material fresco destinado para herbario y 98% para extracción y análisis de metabolitos) y muestras de infrutescencias, las cuales se caracterizaron para conocer detalles del proceso de extracción de semillas y cantidad que se puede obtener de cada cabezuela. Para cada colecta se realizaron pruebas de germinación que consistieron en establecer la viabilidad de aquenios (semillas) al calcular el porcentaje de aquenios germinados y el tiempo óptimo para germinar, construcción de curvas de germinación y caracterización de las plántulas (Hartman & Kester, 1987).

## 10.4 Técnicas e instrumentos

### *Colecta*

El universo de este estudio abarcó poblaciones de las especies *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis*, *S. incognita*, *S. caracasana* y *S. microchaeta* que se ubicaron en departamentos del occidente y oriente de Guatemala, según los reportes de etiquetas de especímenes de herbario y de la *Flora of Guatemala* (Nash & Williams, 1976). Las colectas se realizaron en los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Sololá, Quetzaltenango, Quiché, Baja Verapaz, Chiquimula, Jutiapa y Jalapa. Este estudio, que corresponde a la fase II, se centró en especies que tienen escasa o nula información sobre sus propiedades, lo que lo convierte en un estudio exploratorio. El objetivo principal fue evaluar si estas plantas contienen metabolitos con propiedades aún no descubiertas por el ser humano.

## *Preparación de la muestra*

Las muestras fueron secadas a temperatura ambiente sobre papel absorbente en laboratorio provisional en residencia del auxiliar Julio Enrique Guerra, luego de lo cual fueron molidas con licuadora y homogenizadas para su extracción.

## *Obtención de extractos etanólicos*

Se tomaron seis porciones de 100 g del material vegetal homogenizado de cada población de *Stevia* muestreada. Los metabolitos secundarios se extrajeron de cada porción de material vegetal a través dos porciones sucesivas de 500 mL por 48 h cada una.

## *Extracción y análisis de aceites esenciales*

El aceite esencial fue obtenido por medio de hidrodestilación utilizando aparato tipo Clevenger, a partir de 80 g de material vegetal seco, extrayéndose el aceite por 3 h en pentano. Posteriormente se evaporó el pentano a temperatura ambiente y se determinó el rendimiento de extracción pesando el aceite esencial en balanza semianalítica. Se realizaron dos extracciones de material vegetal de cada población para obtener suficiente aceite esencial para determinación de su composición. La composición del aceite esencial fue determinada por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en el Instituto de Pesquisas de Productos Naturales de la Universidad Federal de Río de Janeiro.

## *Determinación de la composición del aceite esencial por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG/EM*

El análisis por CG/EM de los aceites esenciales de *Stevia* fue determinado por el Instituto de Pesquisas de Productos Naturales -IPPN- de la Universidad Federal de Río de Janeiro. En el laboratorio del IPPN se utilizó cromatógrafo Shimadzu 2010 Plus System acoplado a detector selectivo Shimadzu QP-2010 y equipado con columna capilar DB5-MS

de sílice fundida (60 m, 0.25mm I.D., 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de película). La temperatura programada del horno inició en 60 °C y luego aumentó a una relación de 3 °C/min hasta llegar a 246 °C, y luego se mantuvo por 20 min. Otras condiciones de operación fueron las siguientes: gas portador, He (99.999%), con tasa de flujo de 1.03mL/min; temperatura del inyector, 220 °C; relación de división de 1:50; volumen de inyección de 1 $\mu\text{L}$ . Los espectros de masas fueron tomados en 70 eV. Los valores de m/z fueron registrados en el rango de m/z 40 – 700 Da (Adams, 2007; Reis Simas et al., 2019).

## *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 seleccionaron los aquenios (semillas). Cada uno de los procesos es descrito detalladamente ya que no hay información sobre la tecnología de semillas de estas especies.

### *1. Caracterización de infrutescencias y obtención de semillas*

De las colectas realizadas se realizó una caracterización de las infrutescencias y aquenios: (Considerar que esto se debe hacer por cada colecta y por especie).

- a) Tomar 10 infrutescencias y contar el número de aquenios, promediar y obtener con este el número de aquenios por infrutescencia.
- b) Caracterización de aquenios: tomar 50 aquenios y medir largo y ancho sin considerar el papus.
- c) Realizar procesamiento de semillas para eliminar papus y tener semilla limpia para pruebas de germinación. Se describirán los pasos a seguir para obtener semilla limpia, lista para germinar.

## 2. Pruebas de germinación

Para conocer la viabilidad de las semillas, se realizó la prueba de germinación que consiste en calcular el porcentaje de semillas germinadas de un lote, generalmente se hace en un ensayo con cuatro repeticiones para contar con información cuantitativa confiable (Hartman & Kester, 1987).

Las pruebas se realizaron en papel filtro mojado, colocando la semilla entre papel (papel mojado-semilla-y cubierto con papel) en frascos de vidrio a temperatura ambiente.

a) Inicialmente se realizó una prueba de 10 semillas por cada colecta, para verificar que no hay latencia, si hubiere se debe de hacer pruebas pregerminativas.

b) Pruebas de germinación con repeticiones.

Se establecieron 4 repeticiones en cada una se colocarán 100 semillas.

Se considera una semilla germinada cuando la radícula tiene al menos 3 mm.

Condiciones de la cámara de germinación: temperatura 20 grados, humedad relativa 75% o más, 12 horas luz.

b.1) Curvas de germinación: se cuenta el número de semillas germinadas a partir del tercer día cada día hasta que se note que ya no hay germinación, con esto se harán curvas de germinación en x tiempo y en y % germinación.

b.2) Índices

Poder germinativo: es igual al porcentaje de germinación en condiciones favorables.

Velocidad de germinación: es el tiempo promedio donde se obtiene el mayor porcentaje de germinación.

Coefficiente de velocidad de germinación

$$T_g = \frac{\sum(N_i D_i)}{\sum N_i}$$

Donde:

T<sub>g</sub>: Tiempo de germinación

N: número de semillas germinadas al día D<sub>i</sub>

D<sub>i</sub>: tiempo transcurrido desde la siembra en días

La velocidad de germinación corresponde al inverso del tiempo medio de germinación multiplicado por 100.

Un índice muy utilizado es el T<sub>50</sub> que indica el tiempo en el que el 50% de las semillas ha germinado.

El Índice de Timpson (I<sub>t</sub>): queda definido mediante la fórmula:

$$I_T = \sum N_i(T - J_i)$$

donde:

$$J = D - 1$$

donde N<sub>i</sub> y D<sub>i</sub> tienen el mismo significado que para T<sub>g</sub>.

T = Último día de conteo de germinación el coeficiente de uniformidad (C<sub>u</sub>) queda definido por la ecuación:

$$C_u = \frac{\sum N_i(\bar{D} - D_i)^2}{\sum N_i}$$

donde:

N<sub>i</sub> = Número de semillas germinadas el día D<sub>i</sub>

D<sub>i</sub> = Número de días transcurridos desde la siembra

D = Número de días después de la siembra elegido para calcular la uniformidad de germinación (Rodríguez, Adam y Durán, 2008).

## *Evaluación de resultados*

Se presentan tablas y gráficas con los porcentajes de germinación de aquenios, rendimientos y composición de los aceites esenciales obtenidos.

## *Operacionalización de las variables o unidades de análisis*

<b>Objetivos específicos</b>	<b>Variables o unidades de análisis que serán consideradas</b>	<b>Forma en que se medirán, clasificarán o cualificarán</b>
Objetivo 1 Determinar la distribución actual de las poblaciones de las especies de estudio en los departamentos reportados en la literatura.	Variables independientes: Lugares de colecta de las plantas de estudio. Variables dependientes: Especies	Nombres de los sitios de colecta, registro de coordenadas geográficas y altitud.
Objetivo 2 Determinar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en las especies seleccionadas.	Variables dependientes: Especies Variables dependientes: Metabolitos presentes e identificados.	Cromatografía de gases con espectrometría de masas. Los resultados se medirán en porcentajes.
Objetivo 3 Caracterizar la propagación sexual de dos especies de estudio.	Variable independiente: Especies Variable dependiente: germinación de aquenios (semillas).	Porcentaje de viabilidad (cuantas plantas logran propagarse por cada 100 semillas).

## **10.5 Procesamiento y análisis de la información**

Para los aceites esenciales se determinó el rendimiento de extracción por duplicado así como la composición química. Los resultados se almacenaron en hoja electrónica. Los datos de promedio y desviación estándar se tabularon y graficaron para realizar la discusión de resultados. Para el caso de la propagación por semillas de las especies de estudio, se cuantificó cuántas logran ser propagadas y el porcentaje de viabilidad.

## *Coherencia de la propuesta de investigación*

1. Evaluar la viabilidad de propagación de las seis especies de estudio.

<b>Objetivos específicos</b>	<b>Métodos, técnicas, instrumentos</b>	<b>Resultados <sup>(1)</sup></b>
Objetivo 1 Determinar la distribución actual de las poblaciones de las especies de estudio en los departamentos reportados en la literatura.	Búsqueda de especies en departamentos en que se reportan en la literatura y en la información de fichas de herbarios.	Localización georreferenciada de especies de estudio del género <i>Stevia</i> .
Objetivo 2 Determinar los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en las especies seleccionadas.	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.	Clasificación y cuantificación de metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial.
Objetivo 3 Caracterizar la propagación sexual de dos especies de estudio.	Pruebas de viabilidad de propagación de dos especies que consistió en calcular el porcentaje de germinación de semillas a través de ensayos in vitro y sobre peat moss.	Base de datos sobre la viabilidad de propagación de dos especies de estudio de diferentes poblaciones.

(1) Los resultados o productos esperados, alcances, hallazgos, conocimientos teóricos deben redactarse en congruencia con los objetivos de la investigación. Cada objetivo debe tener previsto al menos un resultado.

## 11 Resultados y discusión

### 11.1 Resultados

#### 11.1.1 Colecta de individuos de *Stevia* en regiones del interior de Guatemala

En la presente investigación se llevó a cabo la colecta de diferentes especies de *Stevia* en estado silvestre en departamentos de las regiones occidente y oriente de Guatemala (Tabla 1). Fue posible la ubicación y colecta de partes aéreas y aquenios de *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis* y *S. incognita*. A pesar de los esfuerzos de búsqueda en diferentes localidades por parte del equipo de investigación, no fue posible la ubicación y colecta de las especies *S. caracasana* y *S. microchaeta*.

**Tabla 1**

*Información de colecta de partes aéreas y aquenios (semillas) de diferentes especies de Stevia de regiones del interior de Guatemala.*

<b>Especie / parte colectada</b>	<b>Proveniencia / fecha de colecta</b>	<b>Coordenadas geográficas /Altitud</b>	<b>Vegetación asociada</b>
<i>Stevia triflora</i> DC. Aquenios	Aldea Los Ángeles, Santa Cruz del Quiché, departamento de Quiché.  Febrero 2022	N 15° 01' 25.3" O 091° 05' 06.1"  2,074 msnm	En bosque de pinos ( <i>Pinus</i> sp.) y encinos ( <i>Quercus</i> sp.).
<i>Stevia triflora</i> DC. Aquenios	En bosque cercano a la Cuesta del Águila, km 329-330, municipio de Aguacatán, departamento de Huehuetenango.	N 15° 19' 33.30" O 091° 16' 51.70"  1,826 msnm	En planicie cercana a bosque de pino ( <i>Pinus</i> sp.)
<i>Stevia ovata</i> Willd. Aquenios	Marzo 2022 En carretera de terracería en las cercanías de aldea La	N 14° 19' 40.97" O 090° 04' 05.24"	En bosque de pino- encino ( <i>Pinus</i> sp., <i>Quercus</i> sp.).



# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

	Brea, Quesada, Jutiapa.	1,298 msnm	
	Marzo 2022		
Especie / parte colectada	Proveniencia / fecha de colecta	Coordenadas geográficas /Altitud	Vegetación asociada
<i>Stevia incognita</i> Grashoff	Cerro Catzik, municipio de Ixchiguán, departamento de San Marcos.	N 15° 10' 52.8" O 091° 56' 33.0"	En bosque con presencia de pinos ( <i>Pinus</i> sp.).
Aquenios		3,587 msnm	
	Abril 2022		
<i>Stevia ovata</i> Willd.	En paraje Chove, cantón Chichimuch, municipio de Santa Lucía Utatlán, departamento de Sololá.	N 14° 47' 01.5" O 091° 14' 50.3"	En bosque de pinos ( <i>Pinus</i> sp.) y encinos ( <i>Quercus</i> sp.).
Aquenios		2,374 msnm	
	Abril 2022		
<i>Stevia</i> sp.	Municipio de Monjas, departamento de Jalapa.	N 14° 44' 51.6" O 089° 47' 19.5"	En bosque de pino- encino ( <i>Pinus</i> sp., <i>Quercus</i> sp.).
Aquenios		1,117 msnm	
	Junio 2022		
<i>Stevia ovata</i> Willd.	Paraje Chové, cantón Chichimuch, municipio de Santa Lucía Utatlán, departamento de Sololá.	N 14° 47' 01.5" O 091° 14' 50.3"	En bosque de pino- encino ( <i>Pinus</i> sp., <i>Quercus</i> sp.).
Parte aéreas en estadio vegetativo		2,374 msnm	
	Junio 2022		
<i>Stevia triflora</i> DC.	Sitio cercano a la Cuesta del Águila, km 329-330, municipio de Aguacatán, departamento de Huehuetenango.	N 15° 19' 33.30" O 091° 16' 51.70"	Bosque de pinos ( <i>Pinus</i> sp.)
Parte aéreas en estadio vegetativo		1,826 msnm	
	Junio 2022		

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Especie / parte colectada	Proveniencia / fecha de colecta	Coordenadas geográficas /Altitud	Vegetación asociada
<i>Stevia triflora</i> DC. Parte aéreas en estado vegetativo.	Hierbas en la carretera entre Santa Cruz del Quiché y el municipio de Chiché en aldea Los Ángeles, departamento de Quiché.	N 15° 01' 25.3" O 091° 05' 06.1"  2,074 msnm	Bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> sp., <i>Quercus</i> sp.)
<i>Stevia</i> sp.	Junio 2022 Aldea El Pinalón, San Pedro Pinula, Jalapa.	N 14° 45' 25.7" O 089° 48' 14.2"  1,183 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.)
Parte aéreas en estadio vegetativo	Agosto 2022		
<i>Stevia triflora</i> DC.	Cumbre del Cerro Brujo, Concepción Las Minas, Chiquimula.	N 14° 27' 26.3" O 089° 24' 44.8"  1,521 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.)
Parte aéreas en estadio vegetativo	Agosto 2022		
<i>Stevia ovata</i> Willd.	Aldea La Brea, Quesada, Jutiapa.	N 14° 20' 22.6" O 090° 04' 24.7"  1,396 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Parte aéreas en estadio vegetativo	Agosto 2022		
<i>Stevia ovata</i> Willd.	Aldea La Brea, Quesada, Jutiapa.	N 14° 20' 24.6" O 090° 04' 44.4"  1,392 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Parte aéreas en estadio vegetativo	Agosto 2022		
<i>Stevia</i> sp.	Carretera entre Salcajá y la ciudad de Quetzaltenango. Salcajá, Quetzaltenango.	N 14° 53' 42.5" O 091° 27' 28.0"  2,353 msnm	Terrenos baldíos cercanos a bosques de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Georreferenciación*			
<i>Stevia</i> sp.	Septiembre 2022 Faldas del volcán Cerro Quemado, Almolonga, Quetzaltenango.	N 14° 48' 11.6" O 091° 30' 09.6"  2,712 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Georreferenciación*			

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Septiembre 2022			
Especie / parte colectada	Proveniencia / fecha de colecta	Coordenadas geográficas /Altitud	Vegetación asociada
<i>Stevia ovata</i> Willd. Parte aéreas en inicio de floración.	Carretera entre Salcajá y la ciudad de Guatemala. Salcajá, Quetzaltenango.	N 14° 53' 40.3" O 091° 27' 26.4" 2,357 msnm	Terrenos baldíos cercanos a bosques de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
<i>Stevia</i> sp. Georreferenciación*	Septiembre 2022 En ladera del Cerro Candelaria, ciudad de Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 47' 32.1" O 091° 31' 41.0" 2,678 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.) y en asociación con <i>Stevia polycephala</i> Bertol.
<i>Stevia</i> sp. Georreferenciación*	Octubre 2022 Cerro Candelaria, ciudad de Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 47' 37.1" O 091° 31' 55.9" 2,531 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.) y en asociación con <i>Stevia polycephala</i> Bertol.
<i>Stevia</i> sp. Georreferenciación*	Octubre 2022 Cerro Candelaria, ciudad de Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 47' 36.8" O 091° 31' 56.2" 2,530 msnm	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.) en asociación con <i>S. polycephala</i> .
<i>Stevia</i> sp. Georreferenciación*	Octubre 2022 Cerro Candelaria, ciudad de Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 47' 32.4" O 091° 31' 43.2" 2,648 msnm	Cercanos a cultivo de maíz ( <i>Zea mays</i> L.).
<i>Stevia ovata</i> Willd. Partes aéreas en floración.	Octubre 2022 Carretera entre Salcajá y la ciudad de Quetzaltenango, Salcajá, Quetzaltenango.	N 14° 47' 36.8" O 091° 31' 56.2" 2,530 msnm	Terrenos baldíos cercanos a bosques de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
<i>Stevia triflora</i> DC.	Octubre 2022 Sitio cercano a La Cuesta del Águila, municipio de	N 15° 19' 33.6" O 091° 16' 52.6"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

Partes aéreas en floración.	Aguacatán, Huehuetenango.	1,818 msnm	
	Octubre 2022		
<b>Especie / parte colectada</b>	<b>Proveniencia / fecha de colecta</b>	<b>Coordenadas geográficas /Altitud</b>	<b>Vegetación asociada</b>
<i>Stevia jorullensis</i> Kunth	Caserío Tuicoy, Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango.	N 15° 32' 56.6" O 091° 36' 22.4"	Bosque de <i>Abies guatemalensis</i> Rehder.
Partes aéreas en floración.	Huehuetenango.	3,530 msnm	
	Octubre 2022		
<i>Stevia triflora</i> DC.	Aldea Los Ángeles, Santa Cruz del Quiché, Quiché.	N 15° 01' 25.1" O 091° 05' 06.7"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.		2,066 msnm	
	Octubre 2022		
<i>Stevia ovata</i> Willd.	Aldea La Brea, Quetzaltenango, Jutiapa.	N 14° 20' 12.5" O 090° 04' 17.5"	Asociadas a bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.		1,380 msnm	
	Noviembre 2022		
<i>Stevia ovata</i> Willd.	Aldea El Pinalón, Jalapa.	N 14° 45' 31.3" O 089° 48' 21.2"	Asociadas a bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.		1,181 msnm	
	Noviembre 2022		
<i>Stevia</i> sp.	Cerro Chiquito, Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 46' 23.9" O 091° 33' 13.3"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Georreferenciación*		2,805 msnm	
	Noviembre 2022		
<i>Stevia</i> sp.	Ladera “La Cruz del Volcán” en Cerro Chiquito, Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 46' 23.8" O 091° 33' 10.5"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Georreferenciación*		2,810 msnm	
	Noviembre 2022		
<i>Stevia</i> sp.	Cerro Chiquito, Quetzaltenango, Quetzaltenango.	N 14° 46' 16.3" O 091° 32' 55.1"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Georreferenciación*		2,934 msnm	
	Noviembre 2022		

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

<i>Stevia ovata</i> Willd.	Terreno baldío en Salcajá, Quetzaltenango.	N 14° 53' 41.4" O 091° 27' 29.5"	Terrenos baldíos cercanos a bosques de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.	Noviembre 2022	2,357 msnm	
<b>Especie / parte colectada</b>	<b>Proveniencia / fecha de colecta</b>	<b>Coordenadas geográficas /Altitud</b>	<b>Vegetación asociada</b>
<i>Stevia ovata</i> Willd.	En paraje Chové, Santa Lucía Utatlán, Sololá.	N 14° 47' 01.5" O 091° 14' 50.3"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
	Noviembre 2022	2,374 msnm	
<i>Stevia incognita</i> Grashoff	En cerro Cotzik, Ixchiguán, San Marcos.	N 15° 10' 52.8" O 091° 56' 33.0"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.		3,587 msnm	
<i>Stevia</i> sp.	Aldea Capellanía, Chiantla, Huehuetenango.	N 15° 25' 00.3" O 091° 26' 13.9"	En las cercanías de bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.	Noviembre 2022	3,148 msnm	
<i>Stevia</i> sp.	Faldas del volcán Cerro Quemado, Almolonga, Quetzaltenango.	N 14° 48' 10.9" O 091° 30' 06.1"	En las cercanías de bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.	Noviembre 2022	2,703 msnm	
<i>Stevia</i> sp.	Terreno baldío en Salcajá, Quetzaltenango.	N 14° 53' 41.6" O 091° 27' 29.7"	En las cercanías de bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.	Noviembre 2022	2,358 msnm	
<i>Stevia triflora</i> DC.	Aldea Chaguíte, San Jerónimo, Baja Verapaz.	N 15° 00' 55.8" O 090° 12' 26.6"	En bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Partes aéreas en floración.	Noviembre 2022	1,280 msnm	
<i>Stevia</i> sp.	Aldea Capellanía, Chiantla, Huehuetenango.	N 15° 25' 00.3" O 091° 26' 13.9"	En las cercanías de bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
Aquénios	Enero 2023	3,148 msnm	

Especie / parte colectada	Proveniencia / fecha de colecta	Coordenadas geográficas /Altitud	Vegetación asociada
<i>Stevia ovata</i> Willd. Aquenios	Aldea El Pinalón, Jalapa.  Enero 2023	N 14° 45' 31.3" O 089° 48' 21.2"  1, 181 msnm	Asociadas a bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).
<i>Stevia ovata</i> Willd. Aquenios	Aldea La Brea, Quesada, Jutiapa.  Enero 2023	N 14° 20' 12.5" O 090° 04' 17.5"  1, 380 msnm	Asociadas a bosque de pino-encino ( <i>Pinus</i> spp., <i>Quercus</i> spp.).

\* *Estos arbustos de Stevia no estaban en floración y por esta razón se tomó únicamente georreferencia con GPS y fotografías.*

## 11.1.2 Pesos y rendimientos de aceite esencial de partes aéreas de *Stevia* de regiones del interior de Guatemala

Se presentan los pesos y rendimientos de aceite esencial de las partes aéreas de especies de *Stevia* de las regiones occidente y oriente del interior de Guatemala (Tabla 2). La *S. ovata* del departamento de Jutiapa fue la que presentó los mayores valores (0.13%), mientras que *S. incognita* presentó los valores más bajos (0.04%).

**Tabla 2**

*Rendimientos de extracción por duplicado de aceites esenciales obtenidos de partes aéreas de diferentes especies de Stevia colectadas en regiones del interior de Guatemala.*

Especie / Proveniencia	Peso material seco (g)	Peso aceite esencial (g)	Rendimiento del aceite esencial (%)	Media del rendimiento p/p (desviación estándar)
<i>Stevia ovata</i> Willd. / Quesada, Jutiapa	80.02	0.06	0.08	0.13 (0.07)
	80.03	0.14	0.18	
<i>Stevia ovata</i> Willd. / Salcajá, Quetzaltenango	80.00	0.02	0.03	0.05 (0.02)
<i>Stevia jorullensis</i> Kunth /Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango	80.01	0.05	0.06	
	80.02	0.06	0.08	0.07 (0.01)

<i>Stevia incognita</i>	80.00	0.02	0.03	
Grashoff / Ixchiguán, San Marcos	80.02	0.03	0.04	0.04 (0.01)

*Fuente: Datos experimentales.*

### 11.1.3 Porcentajes de germinación de aquenios de *Stevia* colectados en regiones del interior de Guatemala

Se presentan los porcentajes de germinación de aquenios (semillas) de especies de *Stevia* del interior de Guatemala en sustrato peat moss (Tabla 3) e *in vitro* (Tabla 4). Ninguno de los aquenios germinados de las *Stevia* de estudio sobrevivió hasta plantas adultas.

**Tabla 3**

*Resultados de pruebas de germinación de aquenios de Stevia del interior de Guatemala en bandejas con peat moss como sustrato.*

<b>Especie / Proveniencia</b>	<b>Total de aquenios que fueron puestos a prueba de germinación</b>	<b>Total de aquenios que germinaron</b>	<b>Porcentaje de germinación de aquenios</b>
<i>Stevia ovata</i> Willd. Santa Lucía Utatlán, Sololá	420	3	0.71%
<i>Stevia ovata</i> Willd. Quesada, Jutiapa	420	8	1.90%
<i>Stevia incognita</i> Grashoff Ixchiguán, San Marcos	420	2	0.48%

*Fuente: Datos experimentales.*

**Tabla 4**

*Resultados de pruebas de germinación in vitro de aquenios de Stevia del interior de Guatemala.*

<b>Especie / Proveniencia</b>	<b>Total de aquenios que fueron puestos a prueba de germinación</b>	<b>Total de aquenios que germinaron</b>	<b>Porcentaje de germinación de aquenios</b>
<i>Stevia ovata</i> Willd. Santa Lucía Utatlán, Sololá	60	7	11.67%
<i>Stevia ovata</i> Willd. Quesada / Jutiapa	60	3	5.00%

*Fuente: Datos experimentales.*

### 11.1.4 Composición de aceites esenciales

La Tabla 5 presenta la composición del aceite esencial de *S. jorullensis*, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite presentó 50 componentes, siendo un compuesto que no pudo ser identificado el que presentó el mayor porcentaje (20.4 %), seguido por otro compuesto no identificado con 11.8 y por el óxido de cariofileno con 11.1 %, el germacreno D con 10.0 %. Diez compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura.

**Tabla 5**

*Composición del aceite esencial de Stevia jorullensis Kunth*

<b>Tri</b>	<b>IK</b>	<b>Sustancia</b>	<b>% Área</b>
3.212	808	2-hexanol	0.13
6.612	972	Sabineno	0.14
6.725	977	$\beta$ -pineno	0.13
10.876	1099	Linalool	0.19
21.403	1344	No identificado	2.17
21.703	1350	$\alpha$ -Longipineno	0.31
21.981	1357	Silphiperfol-5,7(14)-diene	0.17



22.271	1363	Acetato de nerilo	0.29
22.627	1372	$\alpha$ -ylangeno	0.38
22.822	1376	$\alpha$ -copaeno	0.66
23.210	1385	$\beta$ -bourboneno	0.13
24.696	1420	( <i>E</i> )-cariofileno	6.98
25.693	1443	6,9-guaiadieno	0.95
26.123	1453	$\alpha$ -humuleno	1.33
26.394	1460	No identificado	1.96
27.110	1477	$\gamma$ -muuroleno	0.20
27.299	1481	Germacreno D	10.05
27.504	1486	$\beta$ -selineno	0.23
27.725	1491	$\tau$ -muurola 4(14).5 dieno	0.25
27.846	1494	Epi-cubebol	1.12
27.933	1496	Biciclogermacreno	0.60
28.093	1500	$\alpha$ -muuroleno	0.52
28.412	1508	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -farneseno	0.18
28.705	1515	Cubebol	1.60
28.987	1522	No identificado	11.75
30.175	1552	No identificado	0.47
30.633	1563	( <i>E</i> )-Nerolidol	1.28
30.933	1571	Silfiperfol-5-en-3-ona A	0.41
31.210	1578	Espatuleno	3.40
31.429	1583	Óxido de cariofileno	11.13
31.665	1589	No identificado	0.29
32.307	1605	6-demetoxi-ageratochromeno	3.50
32.443	1609	Epóxido de humuleno II	0.82
32.546	1611	No identificado	0.31
32.640	1614	No identificado	0.21
32.867	1620	10-epi- $\gamma$ -eudesmol	0.28
33.204	1628	1-epi-cubenol	0.33
33.348	1632	Cariofila-4(12)-8(13)-dien-5- $\alpha$ -ol	0.64
33.499	1636	Cariofila-4(12)-8(13)-dien-5- $\beta$ -ol	0.94
33.886	1646	Cubenol	0.57
34.040	1650	$\beta$ -eudesmol	0.13
34.154	1653	Pogostol	1.53
34.834	1671	No identificado	0.51
35.397	1685	Eudesma-4(15).7-dien-1- $\beta$ -ol	1.00
43.373	1908	No identificado	2.15
46.171	1992	Óxido de 13-epi-manool	2.05

46.886	2015	Óxido de manool	1.08
48.184	2055	No identificado	0.46
49.275	2090	No identificado	20.42
49.422	2094	No identificado	0.81
51.960	2177	Abienol	0.20

*Fuente: Datos experimentales*

La Tabla 6 presenta la composición del aceite esencial de *S. incognita*, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite presentó 35 componentes, siendo el germacreno D, el que presentó el mayor porcentaje (31.8 %), seguido por el óxido de cariofileno con 8.9 % y óxido de manool con 8.6 %. Nueve compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura.

**Tabla 6**

*Composición del aceite esencial de Stevia incognita Grashoff*

<b>IK</b>	<b>Sustancia</b>	<b>% Área</b>
1350	$\alpha$ -longipineno	0.38
1376	$\alpha$ -ylangeno	0.25
1385	$\beta$ -bourbonene	0.34
1390	$\beta$ -cubebene	0.26
1419	( <i>E</i> )-cariofileno	6.23
1432	$\beta$ -gurjuneno	0.46
1453	$\alpha$ -humuleno	0.79
1477	$\gamma$ -muuroleno	0.50
1482	Germacrene D	31.81
1494	Epi-cubebol	0.70
1496	Biciclogermacreno	1.71
1515	Cubebol	2.26
1553	No identificado	0.63
1577	Espatulenol	3.56
1582	Óxido de cariofileno	8.88
1589	No identificado	0.68
1593	Salvial-4(14)-en-1-ona	0.69
1608	Epóxido de humuleno II	0.42
1611	No identificado	0.81
1628	1-epi-cubebol	0.68

1636	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5- $\alpha$ -ol	1.45
1641	Epi- $\alpha$ -cadinol	1.51
1647	Desmetoxi enecalín	2.83
1650	No identificado	0.54
1653	$\alpha$ -cadinol	2.96
1657	6-etil-6-(3)-metilfenil-heptan-2-ona	0.70
1665	7-epi- $\alpha$ -eudesmol	0.46
1686	Eudesma-4(15),7-dien-1- $\beta$ -ol	5.52
1699	(2Z,6Z)-farnesol	0.40
1765	$\beta$ -acoradienol	0.49
1844	No identificado	0.29
1992	Óxido de 13-epi-manool	8.59
2014	No identificado	0.49
2088	No identificado	1.40

*Fuente: Datos experimentales*

La Tabla 7 presenta la composición del aceite esencial de *S. ovata* procedente de Jutiapa, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite presentó 54 componentes, ninguno de los cuales se encontró en porcentaje arriba del 20%, siendo el germacreno D el compuesto más abundante con 17.7 %, seguido por el beta-duprezianeno con 11.0 % y el óxido de cariofileno con 10.8 %. Cuatro compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura.

**Tabla 7**

*Composición del aceite esencial de Stevia ovata Willd, de Jutiapa*

<b>Tri</b>	<b>IK</b>	<b>Sustancia</b>	<b>% Área</b>
5.579	933	$\alpha$ -pineno	0.07
9.654	1065	Hidrato de cis-sabineno	0.26
10.885	1099	Linalol	3.29
12.701	1143	<i>t</i> -verbenol	0.54
14.079	1177	Terpinen-4-ol	0.21
16.276	1227	Nerol	0.39
21.152	1338	$\delta$ -elemeno	0.74
22.271	1363	Acetato de nerilo	0.84
22.825	1376	$\alpha$ -copaeno	0.34

23.209	1385	$\beta$ -bourboneno	0.12
23.430	1390	Iso-longifoleno	0.18
23.522	1392	$\beta$ -elemeno	0.55
24.283	1410	$\alpha$ -gurjuneno	0.16
24.717	1420	$\beta$ -duprezianeno	11.04
25.696	1443	6,9-guaiadieno	0.14
26.129	1454	$\alpha$ -humuleno	2.23
26.273	1457	Sesquisabieno	0.70
27.111	1477	$\gamma$ -muuroleno	0.52
27.308	1482	Amorfa-4,7 (11)-diene	8.32
27.502	1486	$\beta$ -selineno	0.91
27.720	1491	t-muurola-4(14),5-diene	0.23
27.854	1495	Epi-cubebol	1.00
27.941	1497	Biciclogermacreno	2.25
28.095	1500	$\alpha$ -muuroleno	0.62
28.285	1505	Germacreno A	0.13
28.428	1509	$\beta$ -bisaboleno	0.41
28.671	1515	Cubebol	1.55
29.037	1524	$\delta$ -cadineno	1.77
30.058	1549	Hedycaryol	0.20
30.174	1552	No identificado	0.59
30.700	1565	Butanoato de geranilo	17.73
31.175	1577	Germacreno D-4-ol	2.56
31.231	1578	Espatuleno	3.26
31.449	1583	Óxido de cariofileno	10.81
31.663	1589	Cubebol	0.19
31.773	1591	$\alpha$ -muuroolol	0.28
32.016	1598	Guaiol	0.72
32.455	1609	Epóxido de humuleno II	0.66
32.570	1612	$\beta$ -oplopenona	0.11
32.891	1620	10-epi- $\gamma$ -eudesmol	0.54
33.232	1629	1-epi-cubenol	3.18
33.364	1633	No identificado	3.60
33.509	1636	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5- $\alpha$ -ol	0.35
33.696	1641	muurolol	2.80
33.908	1647	No identificado	1.05
34.050	1650	$\beta$ -eudesmol	3.17
34.218	1655	$\alpha$ -cadinol	4.98
34.343	1658	No identificado	0.29

34.529	1663	No identificado	0.12
34.840	1671	No identificado	0.43
35.408	1686	Eudesma-4(15),7-dien-1-β -ol	0.43
35.593	1691	Shyobunol	1.70
36.275	1709	Farnesal	0.13
40.129	1815	No identificado	0.44

*Fuente: Datos experimentales*

La Tabla 8 presenta la composición del aceite esencial de *Stevia ovata*, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite presentó 44 componentes, siendo el nerolidol el que presentó el mayor porcentaje (19.9 %), seguido por el espatulenol con 17.8 %, el óxido de cariofileno con 10.3 %. Diez compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura.

**Tabla 8**

*Composición del aceite esencial de Stevia ovata Willd. de Quetzaltenango*

<b>IK</b>	<b>Sustancia</b>	<b>% Área</b>
1099	Linalol	0.46
1139	Cis-verbenol	0.11
1142	Trans-Verbenol	0.43
1160	Cis-crisantenol	3.08
1226	Nerol	0.29
1363	Acetato de nerilo	1.07
1390	β-cubebene	0.10
1392	β-elemene	0.22
1419	(E)-cariofileno	60.8
1453	α-humuleno	1.38
1477	γ-muuroleno	7.71
1486	β-selineno	0.87
1496	Biciclogermacreno	3.26
1499	α-muurolene	0.29
1507	(E,E)-α-farnesene	0.15
1510	No identificado	0.14
1515	Cubebol	0.78

1523	$\delta$ -adinene	0.65
1551	No identificado	1.17
1564	(E)-nerolidol	19.86
1574	No identificado	0.15
1577	Espatulanol	17.84
1582	Óxido de cariofileno	10.31
1589	No identificado	0.37
1606	No identificado	0.14
1608	Epóxido de humuleno II	1.36
1611	No identificado	0.53
1629	1-epi-Cubenol	0.37
1632	1,7-diepi- $\alpha$ -cedrenal	0.66
1636	Cariofila-4(12),8(13)-dien-5- $\alpha$ -ol	0.72
1638	Cis-cadin-4-en-7-ol	1.03
1642	Epi- $\alpha$ -muurolol	1.07
1646	Cubenol	1.52
1649	$\beta$ -eudesmol	0.42
1653	$\alpha$ -cadinol	2.11
1657	No identificado	0.53
1660	No identificado	0.14
1672	Valeranona	9.48
1679	Kushinol	0.26
1686	Eudesma-4(15),7-dien-1- $\beta$ -ol	1.19
1689	No identificado	0.49
1765	No identificado	0.49
1771	14-oxi- $\alpha$ -muuroleno	0.17

Fuente: Datos experimentales

## **11.2 Discusión de resultados**

### **11.2.1 Distribución de las especies de *Stevia* investigadas**

En la presente investigación se realizó la colecta de diferentes especies de *Stevia* en estado silvestre en departamentos de las regiones occidente y oriente de Guatemala (Tabla 1). Fue posible la ubicación y colecta de partes aéreas y aquenios de *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis* y *S. incognita*. A pesar de los esfuerzos de búsqueda en los sitios en que se han reportado, no fue posible la ubicación de las especies *S. caracasana* y *S. microchaeta*. Esto podría deberse a que se trata de especies que no cuentan con poblaciones abundantes y cuya distribución no es muy amplia en el territorio guatemalteco. Este hecho pudo reflejarse en la escasa cantidad de especímenes de *S. caracasana* y *S. microchaeta* con que cuentan las colecciones de los herbarios visitados. Caso contrario ocurre con especies como *S. polycephala*, *S. ovata* y *S. serrata*, de las que se cuenta un considerable número de especímenes de herbario, hecho que también ha podido ser constatado al evidenciarse la abundancia de estas especies en diferentes localidades del occidente del país.

A través de los trabajos de campo de colecta y determinación de las especies de *Stevia*, fue posible evidenciar que las especies que presentaron una mayor distribución en el interior de Guatemala fueron la *S. triflora* y *S. ovata*. *S. triflora* fue ubicada en poblaciones con abundantes individuos en los departamentos de Huehuetenango y Quiché y una población menor en el departamento de Chiquimula. *S. ovata* por su parte fue localizada en gran abundancia en los departamentos de Quetzaltenango, Sololá y Jutiapa, mientras que una población pequeña fue ubicada en el departamento de Jalapa. La especie *S. jorullensis* fue ubicada en una única localidad en el departamento de Huehuetenango y *S. incognita* fue ubicada en una única localidad en el departamento de San Marcos.

### **11.2.2 Pruebas de germinación**

La propagación sexual se evaluó a través de la germinación de semillas de tres especies colectadas, *S. ovata* y *S. incognita* en sustrato peat moss y *S. ovata* de Sololá y Jutiapa, en pruebas in vitro (Tabla 4). En las pruebas de germinación de aquenios, en peat moss se obtuvieron porcentajes

de 0.71% y 1.90% para *S. ovata* de Sololá y Jutiapa respectivamente, y de 0.48% para *S. incognita*. En las pruebas in vitro, se obtuvieron rendimientos de 5.0 y 11.7% de germinación para *S. ovata* provenientes de Jutiapa y Sololá respectivamente, sin embargo, ninguna de las plántulas sobrevivió a individuos adultos.

Los porcentajes de germinación en ambos ensayos fueron inferiores al 75% de germinación obtenido para los aquenios de *S. serrata* (Pérez-Sabino et al., 2020). Ninguno de los aquenios germinados de las *Stevia* de estudio sobrevivió hasta plantas adultas. En vista que la obtención de un mayor porcentaje de germinación es necesario para poder propagar las especies en condiciones controladas, es necesario realizar ensayos de germinación en otras condiciones de humedad y temperatura.

Los resultados de estos experimentos están en concordancia con los rendimientos de germinación de semillas de *S. rebaudiana* obtenidos por investigadores brasileños en los que establecen los bajos rendimientos de aquenios viables producidos por esta especie (Felippe & Lucas, 1971). Los resultados también son similares a las pruebas de germinación que el equipo de investigación ha determinado en aquenios de *S. serrata* de diferentes localidades del occidente de Guatemala en que los porcentajes de germinación y sobrevivencia han sido del 0%.

Otra razón, teniendo en cuenta aspectos ecológicos, es que los aquenios de *Stevia* provenían de individuos de lugares perturbados, lo que puede permitir inferir que hay una disminución de agentes polinizadores como himenópteros (abejas), dípteros (moscas) y lepidópteros (mariposas y polillas) debido a la contaminación y perturbación de su hábitat. De ello se puede concluir que las especies de *Stevia* produzcan aquenios que no fueron fertilizadas y por lo tanto su rendimiento de germinación es muy bajo. En experimentos de germinación de aquenios de *S. rebaudiana*, se demostró un aumento significativo en el porcentaje de germinación siendo de  $78.3 \pm 14.5\%$  para individuos de *S. rebaudiana* que fueron sometidos a polinización con abejorros del género *Bombus* (Goettemoeller & Ching, 1999). Por lo tanto, la propagación sexual en especies de *Stevia* debe continuar investigándose, modificando las condiciones de campo y de laboratorio para mejorar el porcentaje de germinación y sobrevivencia de las plantas.



### 11.2.3 Composición del aceite esencial

El género *Stevia* es propio del continente americano, siendo la especie más conocida la *S. rebaudiana* por sus componentes esteviósidos utilizados como sustitutos del azúcar. En Guatemala, la especie más investigada es la *S. serrata*, cuyo aceite esencial ha mostrado propiedades aintinociceptivas importantes (Cordeiro et al., 2020; Reis Simas et al., 2019). En el presente estudio se analizaron los aceites esenciales de tres especies del género *Stevia*, siendo estas *S. jorullensis*, *S. incognita* y *S. ovata* cuyos resultados se presentan en las Tablas 5 a 8.

En la Tabla 5 se presenta la composición del aceite esencial de *S. jorullensis*, colectada en Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango. El aceite esencial que presentó un rendimiento de extracción de 0.07% (Tabla 2) fue analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite presentó una composición diversa, con 50 componentes, entre los que un compuesto que no pudo ser identificado fue el que presentó el mayor porcentaje (20.4%), seguido por otro compuesto no identificado con 11.8% y por el óxido de cariofileno con 11.1%, el germacreno D con 10.0%. Al igual que el aceite esencial de *S. serrata* analizado en diferentes trabajos (Cordeiro et al., 2020; Reis Simas et al., 2019; Pérez Sabino et al. 2017), la mayoría de los compuestos presentes en el aceite esencial de *S. jorullensis* fueron sesquiterpenos y sesquiterpenoides. Para esta especie no se encontraron usos en la medicina tradicional en la literatura y los pobladores de las localidades en que se encontró la planta tampoco indicaron que fuera utilizada para propósitos medicinales o de otro tipo.

La composición del aceite esencial de *S. incognita*, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se presenta en la Tabla 6. El aceite esencial de esta especie presentó un rendimiento de extracción de 0.04% (Tabla 2), y 35 componentes fueron separados en el análisis cromatográfico, siendo el germacreno D, el que presentó el mayor porcentaje (31.8%), seguido por el óxido de cariofileno con 8.9% y óxido de manool con 8.6%. Al igual que para *S. jorullensis*, la mayoría de los componentes del aceite de *S. incognita* son sesquiterpenos y sesquiterpenoides. Nueve compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de

masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura. Para esta especie no se encontraron usos en la medicina tradicional en la literatura y los pobladores de las localidades en que se encontró la planta tampoco indicaron que fuera utilizada para propósitos medicinales.

En la Tabla 9 se presenta la composición del aceite esencial de *S. ovata* procedente de Quesada, Jutiapa, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite presentó un rendimiento de extracción de 0.13% (Tabla 4), siendo el mejor rendimiento entre los aceites esenciales de las tres especies analizadas. Se separaron 54 componentes, ninguno de los cuales presentó porcentaje arriba del 20%. Al igual que para *S. incógnita*, el germacreno D fue el compuesto más abundante con 17.7%, seguido por el  $\beta$ -duprezianeno con 11.0% y el óxido de cariofileno con 10.8%. La mayor parte de los componentes del aceite fueron también sesquiterpenos y sesquiterpenoides. Cuatro compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura. Para esta especie tampoco se encontraron usos en la medicina tradicional en la literatura y los pobladores de las localidades en que se encontró la especie tampoco indicaron que fuera utilizada para propósitos medicinales.

En la Tabla 8 se presenta la composición del aceite esencial de *S. ovata* colectada en Salcajá, Quetzaltenango, analizado por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El aceite esencial de este aceite presentó 44 componentes, siendo el nerolidol el que presentó el mayor porcentaje (19.9%), seguido por el espatulenol con 17.8%, el óxido de carifolifeno con 10.3%. La diferencia en la composición entre el aceite de *S. ovata* de Quetzaltenango y el de Jutiapa puede deberse a diferencias en el clima y factores edafológicos, sin embargo, deben realizarse más análisis en diferentes meses del año para establecer si hay variaciones estacionales en la composición del aceite. Al igual que para el aceite de *S. ovata* de Jutiapa y *S. jorullensis* y *S. incognita*, los sesquiterpenos y sesquiterpenoides fueron los compuestos más abundantes. Diez compuestos no pudieron ser identificados, al no coincidir el espectro de masas o el índice de retención con lo reportado en la literatura. En conversaciones con pobladores locales tampoco indicaron estos que la especie fuera utilizada con propósitos medicinales.

En vista que los aceites esenciales de las tres especies de *Stevia* reportados en este estudio presentan composición variada, principalmente de sesquiterpenos y sesquiterpenoides, los autores consideran importante realizar ensayos de actividad antibacteriana, antiinflamatoria y antinociceptiva, para establecer posibles usos en la medicina y el aprovechamiento de los metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales.

## 11.3 Conclusiones

Fue posible la colecta de partes aéreas de las especies *S. triflora*, *S. ovata*, *S. jorullensis*, *S. incognita* en las regiones occidente y oriente de Guatemala.

No fue posible ubicar las especies *S. caracasaca* y *S. microchaeta* en los sitios en que se realizaron las búsquedas.

Los rendimientos de extracción de los aceites esenciales fueron inferiores a 0.2% para las cuatro especies de *Stevia* evaluadas.

Los aceites esenciales de las especies *S. jorullensis*, *S. incognita* y *S. ovata* presentaron en su composición principalmente sesquiterpenos y sesquiterpenoides en porcentajes entre 0.1 y 30% determinado con cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

En las pruebas de germinación de aquenios, se obtuvo rendimientos de 5.0 y 11.7% de germinación para *S. ovata* provenientes de Jutiapa y Sololá respectivamente, sin embargo, ninguna de las plántulas sobrevivió hasta individuos adultos.

La propagación sexual a través de germinación de aquenios en especies de *Stevia* debe continuar investigándose, modificando las condiciones de campo y de laboratorio para mejorar el porcentaje de germinación.

## 12 Referencias

- Abdullateef, R. A., & Osman, M. (2011). Effects of visible light wavelengths on seed germinability in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Internacional Journal of Biology*, 3(4). <https://doi.org/10.5539/ijb.v3n4p83>
- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry (4a ed.). Allured publishing.
- Adorjan, B., & Buchbauer, G. (2010). Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavor and Fragrance Journal*, 25, 407-426. <https://doi.org/10.1002/ffj.2024>
- 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  $\alpha$ -methylbutyryl residue in longipinene derivatives from *Stevia pilosa*. *Phytochemistry*, 66, 639-642. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.12.001>
- 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. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80205-X](https://doi.org/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. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(82\)85072-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(82)85072-3)
- Beer, M. F., Frank, F. M., Elso, O. G., Bivona, A. E., Cerny, N., Giberti, G., Malchiodi, E. L., Martino, V. S., Alonso, M. R., Sülsen, V. P., & Cazorla, S. I. (2016). Trypanocidal and leishmanicidal activities of flavonoids isolated from *Stevia satereiifolia* var. *satereiifolia*. *Pharmaceutical biology*, 54(10), 2188-2195. <https://doi.org/10.3109/13880209.2016.1150304>
- Borgo, J., Laurella, L.C., Martini, F., Catalán, C.A.N., & Sülsen, V. P. (2021). *Stevia* genus: phytochemistry and biological activities update. *Molecules*, 26(9), 2733. <https://doi.org/10.3390/molecules26092733>
- Cáceres, A., Cano, O., Samayoa, B., & Aguilar, L., (1990). Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against

enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 30(1), 55-73.  
[https://doi.org/10.1016/0378-8741\(90\)90017-n](https://doi.org/10.1016/0378-8741(90)90017-n).

Cáceres, A. (1999). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala.

Calderón, J. S., Quijano, L., Gómez, F., & Ríos, T. (1989). Prochamazulene sesquiterpene lactones from *Stevia serrata*. *Phytochemistry*, 28(12), 3526-3527.  
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(89\)80380-2](https://doi.org/10.1016/0031-9422(89)80380-2)

Castañeda, C. (2008). Diversidad de ecosistemas en Guatemala. En C. Azurdia, F. García, & M. M. Ríos (Eds.), *Guatemala y su biodiversidad: Un enfoque histórico, cultural, biológico y económico* (pp. 181-229). Documento Técnico 67 (06-2008), Oficina Técnica de Biodiversidad, Consejo Nacional de Áreas Protegidas.

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. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2005.12.017>

Cerda-García-Rojas, C.M., & Pereda-Miranda, R. (2002). The phytochemistry of *Stevia*: a general survey. En A. D. Kinghorn (Ed.), *Stevia: The genus Stevia* (pp. 86-118). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.4324/9780203165942>

Chacón-Morales, P., Amaro-Luis, J.M., & Bahsas, A. (2013). Isolation and characterization of (+)-mellein, the first isocoumarin reported in *Stevia* genus. *Avances en Química*, 8(3), 145-151.

Chacón Morales, P. A., Dugarte, C. S., & Amaro Luis, J. M. (2018). 2',3,4-trihidroxichalcona, phloretin and calomelanone from *Stevia lucida*. The first chalcones reported en *Stevia* genus. *Biochemical Systematics and Ecology*, 77, 57-60.  
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.02.005>

Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., Karatzia, M. A., Florou-Paneri, P. (2013). *Stevia rebaudiana* as a novel source of food additives. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(4)195-202.

Cordeiro, M. S., Simas, D. L. R., Pérez-Sabino, J. F., Mérida-Reyes, M. S., Muñoz-Wug, M. A., Oliva-Hernández, B. E., da Silva, A. J. R., Fernandes, P. D., & Giorno, T. B. S. (2020).

- Characterization of the antinociceptive activity from *Stevia serrata* Cav. *Biomedicines*, 8(79), 1-10. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8040079>
- Cruz-Bolaños, S., Maldonado-de León, D., Martínez-Arévalo, J. V., & Cáceres, A. (2018). Bioactividad de extractos de seis especies vegetales nodrizas de bosques de pinabete (*Abies guatemalensis* Rehder) de Ixchiguán, San Marcos, Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 5(1), 7-15. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v5i1.491>
- Evans, W. C. (2002). *Trease and Evans Pharmacognosy*. Elsevier.
- Felippe, G. M., Lucas, N. M. C., Behar, L., & Oliveira, M. A. C. (1971). Observações a respeito da germinação de *Stevia rebaudiana* Bert. *Heoehnea*, 1, 81-93.
- Fournet, A., Barrios, A. A., Muñoz, V. (1994). Leishmanicidal and trypanocidal activities of Bolivian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 41, 19-37. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)90054-x](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)90054-x)
- Goettemoeller, J., & Ching, A. (1999). Seed Germination in *Stevia rebaudiana*. En J. Janick (Ed.), *Perspectives on New Crops and New Uses* (pp. 510-511). ASHS Press.
- Guerra-Ramírez, D., Cerda-García-Rojas, C., Puentes, A. M., & Joseph-Nathan, P. (1998). Longipinene diesters from *Stevia lucida*. *Phytochemistry*, 48(1), 151-154. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00793-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00793-0)
- Gutiérrez, D. G., Muñoz-Schick, M., Grossi, M. A., Rodríguez-Craverro, J. F., Morales, V., & Moreira-Muñoz, A. (2016). The genus *Stevia* (Eupatorieae, Asteraceae) in Chile: a taxonomical and morphological analysis. *Phytotaxa*, 282, 1-18. <https://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.282.1.1>
- Harmann, H. T., & Kester, D. E. (1987). *Propagación de plantas: principios y prácticas*. CECSA.
- He, D., Huang, Y., Ayupbek, A., Gu, D., Yang Y., Aisa, H. A., & Ito, Y. (2010). Separation and purification of flavonoids from black currant leaves by high-speed countercurrent chromatography and preparative HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33(5), 615-628. <https://doi.org/10.1080/10826071003608447>
- Hernández, L. R., Catalán, C. A. N., Cerda-García-Rojas, C. M., & Joseph-Nathan, P. (1995). Guaianolides from *Stevia gilliesii*. *Natural Product Letters*, 6, 215-221. <https://doi.org/10.1080/10575639508043162>

- Hernández, L. R., Catalán, C. A. N., & Joseph-Nathan, P. (1998). The chemistry of the genus *Stevia* (Asteraceae). *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 22(83), 229-279. <https://www.researchgate.net/publication/270511131>
- Karaköse, H., Jaiswal, R., & Kuhnert, N. (2011). Characterization and quantification of hydroxycinnamate derivatives in *Stevia rebaudiana* leaves by LC-MS<sup>nt</sup>. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59, 10143-10150. <https://doi.org/10.1021/jf202185m>
- King, R. M., & Robinson, H. (1987). The genera of the Eupatorieae (Asteraceae). *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*, 22, 1-581. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.156613>
- Kinghorn, A. D. (2002). Overview. En A. D. Kinghorn (Ed.), *Stevia: The genus Stevia* (pp. 1-17). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.4324/9780203165942>
- Machado, K. N., Tasco, A. J. H., Salvador, M. J., Rodrigues, I. V., Pessoa, C., Sousa, I. J. O., Ferreira, P. M. P., Nascimento, A. M. (2017). Flavonoids, antioxidant, and antiproliferative activities of *Stevia urticifolia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 53(6), 1167-1169. <https://doi.org/10.1007/s10600-017-2228-4>
- Machado, K. N., Turatti, I. C., Lopes, N. P., Nascimento, A. M. (2005). Essential oil composition of *Stevia urticifolia* growing in Ouro Preto-MG. *Chemistry of Natural Compounds*, 51(5), 985-986. <https://doi.org/10.1007/s10600-015-1471-9>
- Mérida-Reyes, M. S., Muñoz-Wug, M. A., Oliva-Hernández, B. E., Gaitán-Fernández, I. C., Reis Simas, D. L., Ribeiro da Silva, A. J., & Pérez-Sabino, J. F. (2020). Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Pimenta dioica* (L.) Merr. from Guatemala. *Medicines*, 7(10), 59. <https://doi.org/10.3390/medicines7100059>
- Mejía Canales, A., Franco-Maass, S., Endara Agramont, A. R., & Ávila Akerberg, V. (2018). Caracterización del sotobosque en bosques densos de pino y oyamel en el Nevado de Toluca, México. *Madera y bosques*, 24(3), 1-15. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2431656>
- 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.



- Muanda, F. N., Soulimani, R., Diop, B., & Dicko, A. (2011). Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. *LWT-Food Science and Technology*, *44*(9), 1865-1872. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.002>
- Nash, D. L., & Williams, L. O. (1976). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, *24*(12), 116-125. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.2402>
- Pérez-Castorena, A. L., Nieto-Camacho, A., & Maldonado, E. (2020). Sesquiterpene lactones and other constituents from *Stevia jorullensis*. *Biochemical systematics and ecology*, *89*. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2020.104003>
- Pérez-Sabino, J. F., Mérida-Reyes, M., & Farfán-Barrera, C. D. (2012). Análise e discriminação de quimiotipos de *Lippia graveolens* H.B.K. da Guatemala por microextração em fase sólida, CG-EM e análise multivariada. *Química Nova*, *35*(1), 97-101. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100018>
- Pérez-Sabino, J. F., Mérida-Reyes, M. S., Martínez-Arévalo, J. V., Muñoz-Wug, M. A., Oliva-Hernández, B. E., Gaitán-Fernández, I. C., Reis-Simas, D. L., Ribeiro da Silva, A. J. (2019). Seed propagation and constituents of the essential oil of *Stevia serrata* Cav. from Guatemala. En H.A. El-Shemy (Ed.), *Essential oils: Oils of Nature* (pp. 203-216). IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.88221>
- Prakash, I., & Prakash Chaturvedula, V. S. (2013). Additional minor diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Molecules*, *18*(11), 13510-13519. <https://doi.org/10.3390/molecules181113510>
- Pruski, J. F., & Robinson, H. (2015). Flora Mesoamericana: ASTERACEAE. *Botanical Sciences*, *5*(2), 554-567.
- Quaresma, A. S., Nakajima, J. N., & Roque, N. (2013). *Stevia grazielae* (Asteraceae: Eupatorieae: Ageratinae): a new species from the Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais, Brazil. *Kew Bulletin*, *68*, 647-650. <https://doi.org/10.1007/S12225-013-9483-8>
- Rajbhandari, A., & Roberts, M. F. (1985). The flavonoids of *Stevia cuzcoensis*, *Stevia galeopsidifolia*, *Stevia serrata*, and *Stevia soratensis*. *Journal of Natural Products*, *48*(5), 858-859.



- Rajbhandari, A., & Roberts, M. F. (1985). The flavonoids of *Stevia microchaeta*, *Stevia monardifolia*, and *Stevia origanoides*. *Journal of Natural Products*, 48(3), 502-503. <https://doi.org/10.1021/np50039a036>
- Ramesh, K., Singh, V., & Megeji, N.W. (2006). Cultivation of *Stevia* [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni]: A comprehensive review. *Advances in Agronomy*, 89, 137-177. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(05\)89003-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(05)89003-0)
- Reis Simas, D. L., Mérida-Reyes, M. S., Muñoz-Wug, M. A., Santos Cordeiro, M., Sardella Giorno, T. B., Taracena, E. A., Oliva-Hernández, B. E., Martínez-Arévalo, J. V., Dias Fernandes, P., Pérez-Sabino, J. F., & Ribeiro da Silva, A. J. (2019). Antinociceptive activity and chemical composition of the essential oil of *Stevia serrata* Cav. from Guatemala. *Natural Products Research*, 33(4), 577-579. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2017.1399376>
- Reyes, R. (2008). Biodiversidad y amenazas. En C. Azurdia, F. García, & M. M. Ríos (Eds.), *Guatemala y su biodiversidad: Un enfoque histórico, cultural, biológico y económico* (pp. 497-556). Documento Técnico 67 (06-2008), Oficina Técnica de Biodiversidad, Consejo Nacional de Áreas Protegidas.
- Robinson, B. L. (1930). Observations on the genus *Stevia*. *Harvard University Herbaria*, 90, 36-58. <http://www.jstor.org/stable/41764084>
- Rodríguez, I., Adam, G., & Durán, J. M. (2008). Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor en semillas. *Agronomía: Revistas Agropecuaria y Ganadera*, 912, 836-842.
- 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. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(94\)00800-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(94)00800-9)
- Román, L.U., Guerra-Ramírez, D., Morán, G., Martínez, I., Hernández, J. D., & Cerda-García-Rojas, C.M. (2004). First seco-C oleananes from nature. *Organic letters*, 6(2), 173-176. <https://doi.org/10.1021/ol036107j>
- Robinson, H., & King, R. M. (1977). *Eupatorieae—systematic review: In The Biology and Chemistry of the Compositae*. Academic Press.

- Romero-Montiel, L., Torres-Valencia, J.M., Álvarez-García, R., Román-Marín, L. U., Hernández-Hernández, J.D., Cerda-García-Rojas, C.M., & Joseph-Nathan, P. (2007). Structure and conformation of a new longipinene diester from *Stevia nepetifolia*. *Natural Product Communications*, 2(5), 525-530. <https://doi.org/10.1177/1934578X0700200503>
- Rzedowski, G. C., & Rzedowski, J. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México* (2nd ed.). Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Safayhi, H., Sabieraj, J., Sailer, E.-R., & Ammon, H. P. T. (1994). Chamazulene: an antioxidant-type inhibitor of leukotriene B<sub>4</sub> formation. *Planta Medica*, 60(5), 410-413. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959520>
- 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. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00026-4](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00026-4)
- Soejarto, D. D. (2002). Botany of *Stevia* and *Stevia rebaudiana*. En A. D. Kinghorn (Ed.), *Stevia: The genus Stevia* (pp. 18-39). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.4324/9780203165942>
- Soejarto, D.D. (2002). Ethnobotany of *Stevia* and *Stevia rebaudiana*. En A. D. Kinghorn (Ed.), *Stevia: The genus Stevia* (pp. 40-67). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.4324/9780203165942>
- Soejarto, D. D., Compadre, C. M., & Kinghorn, A. D. (1983). Ethnobotanical notes on *Stevia*. *Botanical Museum leaflets, Harvard University*, 29(1), 1-25. <https://doi.org/10.2307/41762838>
- Soejima, A., Yahara, T., & Watanabe, K. (2001). Thirteen new species and two new combinations of *Stevia* (Asteraceae: Eupatorieae) from Mexico. *Brittonia*, 53(3), 377-395. <https://doi.org/10.1007/BF02809793>
- Soejima, A., Tanabe, A. S., Takayama, I., Kawahara, T., Watanabe, K., Nakazawa, M., Mishima, M., & Yahara, T. (2017). Phylogeny and biogeography of the genus *Stevia* (Asteraceae: Eupatorieae): an example of diversification in the Asteraceae in the new

- world. *Journal of Plant Research*, 130, 953-972. <https://doi.org/10.1007/s10265-017-0955-z>
- Ticktin, T., & Dalle, S. P. (2005). Medicinal plant use in the practice of midwifery in rural Honduras. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 233-248. <https://10.1016/j.jep.2004.09.015>
- Turko, Y. A., Korobko, N. V., Shokun, V. V., Chernyak, E. N., Vyalkov, A. U., Stepankina, O. N., Kerimzhanova, B. F., & Baltaev, U. A. (2007). GC-MS research. I. Essential oil from *Stevia rebaudiana*. *Chemistry of Natural Compounds*. 43(6), 744-745. <https://10.1007/s10600-007-0254-3>
- Varela, S. A., & Arana, V. (2011). *Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos*. Cuadernillo No. 3. Serie técnica: “Sistemas Forestales Integrados”. INTA.
- Véliz Pérez, M. E. (2008). Diversidad florística de Guatemala. En C. Azurdia, F. García, & M. M. Ríos (Eds.), *Guatemala y su biodiversidad: Un enfoque histórico, cultural, biológico y económico* (pp. 261-299). Documento Técnico 67 (06-2008), Oficina Técnica de Biodiversidad, Consejo Nacional de Áreas Protegidas.
- Vibrans, H., Alipi, A. M., & Pichardo, J. M. (2009). Malezas de México. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm>
- Villagómez-Flores, E., Hinojosa-Espinosa, O., & Villaseñor, J. L. (2018). El género *Stevia* (Eupatorieae, Asteraceae) en el estado de Morelos, México. *Acta botanica mexicana*, 125, 7-36. <https://doi.org/10.21829/abm125.2018.1315>
- Villar Anléu, L. M. (1998). *La flora silvestre de Guatemala*. Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Wölwer-Rieck, U. (2012). The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: A review. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 60, 886-895. <https://doi.org/10.1021/jf204407>
- Yadav, R., Yadav., B. S., & Yadav, R. B. (2017). Phenolic profile and antioxidant activity of thermally processed sponge gourd (*Luffa cylindrica*) as studied by using high performance thin layer chromatography (HPTLC). *International Journal of Food Properties*, 20(9), 2096-2112. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1230872>

## 13 Apéndice

### 13.1 Fotografías de colecta en campo



#### **Fotografía 1**

*Francisco Pérez Sabino colectando partes aéreas de Stevia jorullensis Kunth en el caserío Tuicoy, Todos Santos Cuchumatán, Huehuetenango. Fotografía: Max Mérida Reyes, octubre de 2022.*



#### **Fotografía 2**

*Francisco Pérez Sabino colectando partes aéreas de Stevia triflora DC. en sitio cercano a la Cuesta del Águila, km 329-330, Aguacatán, Huehuetenango. Fotografía: Max Mérida Reyes, junio de 2022.*





### **Fotografía 3**

*Max Mérida colectando aquenios de Stevia ovata Willd. en Paraje Chové, cantón Chichimuch, municipio de Santa Lucía Uatlán, departamento de Sololá. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, abril de 2022.*



### **Fotografía 4**

*Max Mérida realizando búsqueda de aquenios de Stevia en aldea El Pinalón, Jalapa. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, junio de 2022.*



## Fotografía 5

*Max Mérida en colecta de Stevia triflora DC. en Santa Cruz del Quiché, departamento de Quiché.*

*Fotografía: Francisco Pérez Sabino, junio de 2022.*



## Fotografía 6

*Población de Stevia ovata Willd. en Salcajá, Quetzaltenango. Fotografía: Max Mérida, septiembre de 2022.*





## Fotografía 7

*Julio Guerra colectando arbustos de Stevia jorullensis Kunth en Cerro Chiquito, ciudad de Quetzaltenango, Quetzaltenango. Fotografía: Max Mérida, noviembre de 2022.*

## 13.2 Fotografías del trabajo de laboratorio y ensayos de germinación de aquenios de especies de Stevia del interior de Guatemala.



## Fotografía 8

*Julio Guerra realizando extracción de aceites esenciales de partes aéreas de Stevia del interior de Guatemala con aparato Clevenger en laboratorio provisional en la ciudad de Villa Nueva, Guatemala. Fotografía: Max Mérida, noviembre de 2022.*



**Fotografía 9**

*Aceite esencial de partes aéreas de Stevia ovata Willd. de Jutiapa recogido en pentano en ampolla de recolección del aparato Clevenger. Fotografía: Julio Guerra López, noviembre de 2022.*



**Fotografía 10**

*Julio Guerra humedeciendo aquenios de Stevia en sustrato peat moss en ensayo de germinación de semillas. Fotografía: Max Mérida, agosto de 2022.*





**Fotografía 11**

*Julio Guerra colocando aquenios de Stevia en frascos de vidrio para ensayo in vitro de germinación de semillas. Fotografía: Max Mérida Reyes, julio de 2022.*



**Fotografía 12**

*Aquenios de Stevia colocados en frascos de vidrio sobre papel filtro humedecido para prueba de germinación in vitro de semillas. Fotografía: Julio Guerra, julio de 2022.*



## **Fotografía 13**

*Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas marca Shimadzu 2010 del Instituto de Pesquisas de Productos Naturales, Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil. Fotografía: Francisco Pérez Sabino, diciembre de 2022.*

## 14 Aspectos éticos y legales

Se obtuvo licencia de investigación y de colecta del Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP), para la investigación de especies del género *Stevia* de Guatemala.

## 15 Vinculación

Ha sido posible mantener los vínculos académicos con el Instituto de Pesquisas Naturales de la Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil, donde se realizó la determinación de composición de aceites esenciales de algunas especies de *Stevia* contempladas en el presente estudio a través de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

## 16 Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Se presentarán resultados de investigación de especies de *Stevia* en estudio en la “Jornada Académica de Investigación VI Edición” en la ponencia titulada: Fitoquímica y actividad biológica del género *Stevia* en Guatemala en el Centro Universitario de San Marcos –CUSAM- el día 4 de mayo de 2023.

Se presentarán resultados sobre la composición de aceites esenciales de las especies *S. incognita* y *S. ovata* en el “71 congreso de la Sociedad de Investigación de Plantas Medicinales y Productos Naturales” a celebrarse en la ciudad de Dublín, Irlanda, del 2 al 5 de julio de 2023.

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

A través de la presente investigación se busca 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 de los recursos, como se ha convenido internacionalmente”. Esto se pretende evaluando el potencial de domesticación y aprovechamiento de las especies del género *Stevia*, por medio de la identificación de metabolitos secundarios de alto valor económico y su actividad biológica para promover el uso sostenible de estas plantas que en la actualidad no han sido aprovechadas y con las cuales se busca desarrollar alternativas de ingresos para las comunidades del área rural.

**18 Orden de pago final**

<b>Nombres y apellidos</b>	<b>Categoría (investigador /auxiliar)</b>	<b>Registro de personal</b>	<b>Procede pago de mes (Sí / No)</b>	<b>Firma</b>
Lcdo. Max Mérida Reyes	Investigador	20060419	No	
Br. Julio Enrique Guerra López	Auxiliar de Investigación II	20190171	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.

<b>Dr. Juan Francisco Pérez Sabino</b> <b>Coordinador del proyecto de investigación</b>	
<b>Fecha:</b> 15 /03 /2023	

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

## 20 Aval del Director(a) 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 final de las actividades realizadas en el proyecto (escriba el nombre del proyecto de investigación) en mi calidad de (indique: Director del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario), mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

<b>Vo.Bo. Dr. María Eunice Enríquez Cotton</b> <b>Directora del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas – IIQB-</b>	
<b>Fecha: 15 /03/ 2023</b>	

## 21 Visado de la Dirección General de Investigación

<b>Vo.Bo. M.C. Andrea Eunice Rodas Morán</b> <b>Coordinadora del Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente – PUIRNA-</b>	
<b>Fecha: 15 / 03 / 2023</b>	

<b>Vo.Bo. Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar</b> <b>Coordinador General de Programas Universitarios de Investigación</b>	
<b>Fecha: 15 / 03 /2023</b>	