

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA

Cássia Becker Böck

**ANÁLISE DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE *MALVA*
SYLVESTRIS L. E *MALVA PARVIFLORA* L.**

Santa Maria, RS
2023

Cássia Becker Böck

**ANÁLISE DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE *MALVA SYLVESTRIS* L. E
MALVA PARVIFLORA L.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agrobiologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Solange Bosio Tedesco

Santa Maria, RS
2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Böck, Cássia Becker
Análise do potencial citogenotóxico de Malva
sylvestris L. e Malva parviflora L. / Cássia Becker Böck.
2023.
68 p.; 30 cm

Orientadora: Solange Bosio Tedesco
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2023

1. Citogenotoxicidade 2. Teste de Allium cepa 3.
Plantas medicinais I. Tedesco, Solange Bosio II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

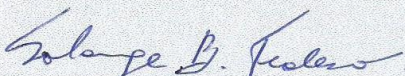
Declaro, CÁSSIA BECKER BÖCK, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Cássia Becker Böck

**ANÁLISE DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE *MALVA SYLVESTRIS* L. E
MALVA PARVIFLORA L.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Agrobiologia**.

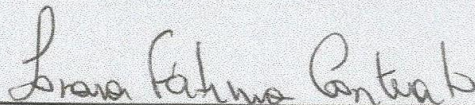
Aprovada em 9 de fevereiro de 2023:



Solange Bosio Tedesco, Dra (UFSM)
(Presidente/ Orientadora)



Viviane Dal-Souto Frescura, Dra (UFSM)



Ionara Fatima Conterato, Dra (SEAPI)

Santa Maria, RS
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por acreditarem em mim, por todo amor, suporte, força, e por sempre me apoiarem nessa jornada, e pelo cuidado com as mudas.

A minha avó, que tanto torce por mim.

Ao meu namorado Eduardo, que me incentiva tanto, me apoia e me entende, pela força nos momentos que precisei, e pelo companheirismo em tantos momentos, além das idas à estufa.

A minha orientadora, Solange, que me acolheu no Laboratório, me deu a oportunidade de desenvolver essa pesquisa e me ensinou tanto.

Ao pessoal do LABCITOGEN, em especial a Carmine, que me ajudou com os artigos, revisões e conselhos, a Andressa, que se tornou uma grande amiga e parceira de caminhada, e a Julia, que me auxiliou no primeiro ano do mestrado.

As minhas amigas Amanda, Jéssica, Karine, Gabrielle, Luiza, Mariana, Verônica, Fernanda e Mariane, e demais amigos, pelas conversas, conselhos, desabafos e encontros.

As amigas que o mestrado me deu, Marjana e Amanda, pelos infinitos desabafos e apoio.

Aos meus sogros e cunhado, pelo apoio e torcida.

A Prof^a Dr^a Leyza Paloschi de Oliveira (Universidade Alto Vale do Rio do Peixe-UNIARP), que me enviou sementes de *Malva sylvestris*, para que eu pudesse realizar meu trabalho.

A Universidade Federal de Santa Maria, pelo ensino gratuito e de qualidade, e a CAPES, pela bolsa de mestrado.

Vocês foram fundamentais. Muito obrigada!

RESUMO

ANÁLISE DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE *Malva sylvestris* L. E *Malva parviflora* L.

AUTORA: Cássia Becker Böck
ORIENTADORA: Solange Bosio Tedesco

Tratamentos com plantas medicinais fazem parte da cultura de diversas regiões do mundo. Porém, é necessário estudar o efeito delas no organismo humano, e a citogenética é uma boa ferramenta para essas investigações. O teste de *Allium cepa* é uma excelente alternativa, sendo utilizado como bioindicador de genotoxicidade de extratos de plantas. Espécies da família Malvaceae, como *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L. são utilizadas pela população em geral como antifúngico, anti-inflamatório, analgésico, antioxidante e outros. O objetivo do estudo foi analisar o potencial citogenotóxico delas. Este trabalho foi dividido em dois artigos: o primeiro trata do cultivo de 44 mudas de *M. parviflora*, entre novembro e dezembro de 2020, por 36 dias em casa de vegetação. As mudas foram divididas em dois grupos, sendo um com proteção com Sombrite 70% e o outro recebeu a luz que incide na estufa plástica. Após colhidas, metade das plantas foram armazenadas em congelador e a outra metade foi desidratada em ambiente controlado. A análise do potencial citogenotóxico foi realizada através do teste de *A. cepa*, no qual foram preparados extratos aquosos de *M. parviflora* na concentração de 5 g.L⁻¹, com a parte aérea e raízes da planta, frescas e secas. O segundo artigo foi realizado com *M. sylvestris* e *M. parviflora* no período entre abril e maio de 2022, na mesma estufa, e a colheita foi após 38 dias. Metade das plantas foi armazenada em congelador e a outra parte, desidratada em estufa. Foi feita a análise do potencial citogenotóxico de extratos aquosos destas espécies de *Malva*, preparados nas concentrações de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹ a partir da parte aérea e raízes das plantas, sendo metade frescas e o restante desidratadas. O teste do potencial antigenotóxico foi feito com a parte aérea fresca, em 5 g.L⁻¹. Para os dois artigos, a metodologia do teste de genotoxicidade foi a mesma: os bulbos de *A. cepa* foram colocados para enraizar em água destilada e em seguida colocados nos devidos tratamentos. Após 24 horas, as raízes foram colhidas, colocadas em fixador por mais 24 horas e em seguida armazenadas em álcool 70° em refrigerador. A diferença para o teste de antigenotoxicidade foi que primeiramente os bulbos foram colocados em contato com glifosato 1,5% por 24 h, para depois serem colocados nos tratamentos com os extratos aquosos. Os resultados do Artigo 1 mostraram que os extratos aquosos de *M. parviflora* testados na concentração de 5 g.L⁻¹ apresentam atividade antiproliferativa, porém não são genotóxicos. Resultados semelhantes foram encontrados no Artigo 2, no qual os extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora* não são genotóxicos, mas também não são antigenotóxicos.

Palavras-chave: Teste de *Allium cepa*. Plantas medicinais. Extratos aquosos.

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE CYTOGENOTOXIC POTENTIAL OF *Malva sylvestris* L. AND *Malva parviflora* L.

AUTHOR: Cássia Becker Böck
ADVISOR: Solange Bosio Tedesco

Treatments with medicinal plants are part of the culture of many regions of the world. However, it is essential to study their effect on the human organism, and cytogenetics is a good tool for these investigations. The *Allium cepa* test is an excellent alternative that is used as a bioindicator of genotoxicity of plant extracts. Species of the Malvaceae family, such as *Malva sylvestris* L. and *Malva parviflora* L. are used by the general population as antifungal, anti-inflammatory, analgesic, antioxidant and others. The objective of the study was to analyze their cytogenotoxic potential. This research was done in two articles: the first one consisted in the cultivation of 44 *M. parviflora* seedlings, between November and December 2020, for 36 days in a greenhouse. The seedlings were divided into two groups: one protected with 70% Sombrite and the other received the light that fell on the plastic greenhouse. After being harvested, half of the plants were stored in a freezer and the other half were dehydrated in a controlled environment. The cytogenotoxic potential analysis was performed using the *A. cepa* test, in which aqueous extracts of *M. parviflora* were prepared at a concentration of 5 g.L⁻¹, with the aerial part and roots of the plant, fresh and dry. The second article was carried out with *M. sylvestris* and *M. parviflora* in the period between April and May 2022, in the same greenhouse, and they were harvested after 38 days. Half of the plants were stored in a freezer and the other part was dried in a kiln. The analysis of the cytogenotoxic potential of aqueous extracts of these *Malva* species was carried out, prepared at concentrations of 5 g.L⁻¹ and 15 g.L⁻¹ from the aerial part and roots of the plants, half of them were fresh and the rest dehydrated. The antigenotoxic potential test was performed with the fresh aerial part, at 5 g.L⁻¹. For both articles, the methodology of the genotoxic test was the same: the *A. cepa* bulbs were placed to root in distilled water and then placed in the proper treatments. After 24 hours, the roots were harvested, placed in a fixative for another 24 hours and then stored in 70° alcohol in a refrigerator. The difference for the antigenotoxicity test was that the bulbs were first placed in contact with 1.5% glyphosate for 24 h, and then placed in treatments with aqueous extracts. The results of Article 1 showed that the aqueous extracts of *M. parviflora* tested at 5 g.L⁻¹ exhibited antiproliferative activity, but are not genotoxic. Similar results were found in Article 2, in which aqueous extracts of *M. sylvestris* and *M. parviflora* are not genotoxic, but neither are antigenotoxic.

Keywords: *Allium cepa* test. Medicinal plants. Aqueous extracts.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - <i>Malva sylvestris</i> L. cultivada em casa de vegetação.	13
FIGURA 2 - <i>Malva parviflora</i> L. cultivada em casa de vegetação.	14
FIGURA 3 - Mudas de <i>Malva parviflora</i> L. em estufa plástica.	17
FIGURA 4 - Mudas de <i>Malva parviflora</i> L. com sombreamento.	18
FIGURA 5 - Mudas de <i>Malva parviflora</i> L. sem sombreamento.	18
FIGURA 6 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> L. durante enraizamento em água destilada. ..	20
FIGURA 7 - Controles e extratos aquosos de <i>Malva parviflora</i> prontos para o teste de <i>Allium cepa</i>	20
FIGURA 8 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> L. nos diferentes tratamentos com extratos aquosos de <i>Malva parviflora</i> L.	20
FIGURA 9 - Mudas de <i>Malva sylvestris</i> L. (bancada da frente) e de <i>Malva parviflora</i> L. (bancada de trás) na primeira semana, durante o período de aclimação na estufa.	22
FIGURA 10 - <i>Malva sylvestris</i> L. (bancada de trás) e de <i>Malva parviflora</i> L. (bancada da frente) na quarta semana.	22
FIGURA 11 - Material vegetal iniciando a secagem em estufa.	25
FIGURA 12 - Extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. para o teste de citogenotoxicidade	26
FIGURA 13 - Extratos aquosos de <i>Malva parviflora</i> L. para o teste de citogenotoxicidade.	26
FIGURA 14 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> L. nos tratamentos com extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. e <i>Malva parviflora</i> L. para o teste de citogenotoxicidade.	27
FIGURA 15 - Bulbos de <i>Allium cepa</i> L. nos tratamentos com extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. e <i>Malva parviflora</i> L. para o teste de antigenotoxicidade.	27
FIGURA 16 - Células meristemáticas de <i>Allium cepa</i> L. em aumento de 40x. a - seta indicando metáfase; b - setas indicando prófase; c - seta indicando anáfase; d - seta indicando metáfase.	58
FIGURA 17 - Mudas de <i>Malva sylvestris</i> L. (esquerda) e <i>Malva parviflora</i> L. (direita)	59
FIGURA 18 - Esquizocarpos e mericarpos de <i>Malva parviflora</i> L. (A, B e C) e de <i>Malva sylvestris</i> L. (D, E e F).	60

Artigo 1

FIGURA 1 - Células da região meristemática de *Allium cepa* L. observadas em microscopia óptica com aumento de 40x.....38

Artigo 2

FIGURA 1 - Células da região meristemática de *Allium cepa* L. observadas em microscopia óptica com aumento de 40x54

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Tratamentos para o teste de citogenotoxicidade de <i>Malva parviflora</i> L.	19
TABELA 2 - Tratamentos utilizados no teste de citogenotoxicidade, feitos a partir de extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. e <i>Malva parviflora</i> L.....	24
TABELA 3 - Tratamentos para o teste antigenotóxico, feitos a partir dos extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. e <i>Malva parviflora</i> L.	24

Artigo 1

TABELA 1 - Número de células de <i>Allium cepa</i> L. analisadas em diferentes condições do extrato aquoso de <i>Malva parviflora</i> L., na concentração de 5 g.L ⁻¹ , com células em interfase, em divisão e o índice mitótico, em cada tratamento.....	34
TABELA 2 - Número de células de <i>Allium cepa</i> L. analisadas em diferentes condições do extrato aquoso de <i>Malva parviflora</i> L., na concentração de 5 g.L ⁻¹ , com células irregulares e índice genotóxico (IG), em cada tratamento.....	37

Artigo 2

TABELA 1 - Células de <i>Allium cepa</i> L. analisadas em diferentes condições de extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. e <i>Malva parviflora</i> L.....	50
TABELA 2 - Células de <i>Allium cepa</i> L. analisadas em diferentes condições de extratos aquosos de <i>Malva sylvestris</i> L. e <i>Malva parviflora</i> L. em relação a antigenotoxicidade.....	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	METODOLOGIA	17
1.1.1	Artigo 1	17
1.1.1.1	Cultivo em casa de vegetação	17
1.1.1.2	Coleta e armazenamento	18
1.1.1.3	Teste de citogenotoxicidade	19
1.1.2	Artigo 2	21
1.1.2.1	Cultivo em casa de vegetação	21
1.1.2.2	Coleta e armazenamento	23
1.1.2.3	Teste de citogenotoxicidade e antigenotoxicidade	23
1.1.2.4	Preparação de lâminas	27
1.1.2.5	Análise Estatística	28
2	ARTIGO 1 - POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE <i>MALVA PARVIFLORA</i> L.	29
2.1	INTRODUÇÃO	30
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	32
2.2.1	Cultivo em casa de vegetação	32
2.2.2	Coleta e armazenamento	32
2.2.3	Teste de citogenotoxicidade	32
2.2.4	Preparação de lâminas	33
2.2.5	Análise estatística	33
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
2.4	CONCLUSÃO	39
3	ARTIGO 2 - ANÁLISE DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO E REPARADOR DE <i>MALVA PARVIFLORA</i> L. E <i>MALVA SYLVESTRIS</i> L.	44
3.1	INTRODUÇÃO	45
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	46
3.2.1	Cultivo em casa de vegetação	46
3.2.2	Coleta e armazenamento	47
3.2.3	Teste de citogenotoxicidade e antigenotoxicidade	47
3.2.4	Preparação de lâminas	48
3.2.5	Análise estatística	49
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49

3.4	CONCLUSÃO.....	55
4	DISCUSSÃO GERAL.....	58
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	63
	REFERÊNCIAS.....	64

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais possuem uma ampla e diversa quantidade de compostos orgânicos que podem gerar certas ações fisiológicas no corpo humano, e por isso, há centenas de anos elas têm sido usadas para tratar doenças (AKHTAR et al., 2018) e infecções. Esse uso de plantas e seus produtos na cura de doenças é conhecido como fitoterapia, considerado parte da medicina popular. É utilizada de forma complementar aos tratamentos biomédicos ou suprimindo a falta de recursos financeiros e tecnológicos, bem como sendo uma opção de cuidado à saúde (SILVA et al., 2022).

As plantas medicinais são aquelas que ajudam no tratamento de doenças, podendo até mesmo curar, por meio de seus princípios ativos (BRASIL, 2018). No Brasil, com o intuito de levar à população o acesso as plantas medicinais e fitoterápicos com segurança, efetividade e qualidade, em 2008 o Ministério da Saúde criou o Programa/Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que incentiva e monitora o uso e a distribuição destes tratamentos alternativos nas unidades básicas de saúde, junto ao Sistema Único de Saúde (SUS), alinhada com a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. A iniciativa tem como fundamentos a valorização dos conhecimentos tradicionais, o fundamento científico, a geração de emprego, qualificação de produtores, incentivando a produção nacional e o uso sustentável da biodiversidade (BRASIL, 2022).

O governo brasileiro possui também a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde, a RENISUS, criada em 2009 com a finalidade de orientar pesquisas e estudos das espécies incluídas, principalmente das nativas (BRASIL, 2021). Dentre as 71 espécies listadas, está a *Malva sylvestris* L.

Conhecida popularmente como malva, malva-de-banho, malva-alta, malva-rosa e outros, a *Malva sylvestris* L. (Figura 1) inteira possui propriedades terapêuticas, mas em geral, seus efeitos farmacológicos são atribuídos às folhas e às flores, principalmente devido à presença de alguns flavonoides e mucilagens nestas partes (MIKAILI et al., 2012). A espécie pertence à ordem Malvales e família Malvaceae. É utilizada como medicinal desde a antiguidade, quando também era servida como hortaliça e citada na literatura etnofarmacológica como capaz de suavizar a irritação dos tecidos e reduzir inflamações (PAUL, 2016). É uma planta

bianual/perene, distribuída principalmente pela Europa, África do Norte e Ásia e cresce geralmente em áreas úmidas (PAUL, 2016).

M. sylvestris é uma planta herbácea ereta, com 0,5 a 1,5 m de altura, estípula de 5 x 3 mm e lâmina foliar de 3-9 x 3-8 cm, reniforme, lobada, margem crenada e glabrescente. Possui bractéolas do epicálise lanceoladas a ovaladas, de 2 mm de largura, flores axilares, cálice com 3-6 mm de comprimento e persistente no fruto, corola rosa-arroxeadada com 2,5 cm de diâmetro, pétalas de 0,7 a 2,2 cm de comprimento, marginadas. Fruto tipo esquizocarpo pardacento ou acinzentado quando maduro, com 0,7 cm de diâmetro, 9-11 mericarpos suavemente reticulados (OLIVEIRA et al., 2019).

Figura 1 - *Malva sylvestris* L. cultivada em casa de vegetação.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Da mesma ordem, família e gênero, a *Malva parviflora* L. (Figura 2) é conhecida como malva-de-botica, malva-de-dente entre outros nomes populares, e muitas vezes confundida com a *M. sylvestris*. O pó seco ou a infusão feita de folhas e raízes é usada para limpar feridas e machucados (ZAYED et al., 2017). Extratos da planta também apresentam função antibacteriana, antidiabética, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante, neuroprotetiva e outras (NASER et al., 2022), além de ser usada para dor de cabeça, febre, infecções intestinais, úlceras, bronquite, dor de garganta e tosse

(ABKAR et al., 2014). É vastamente distribuída, incluindo na Europa, Ásia, Austrália, Nova Zelândia e América do Norte e Sul (BAUQUIER et al., 2016), inclusive no bioma Pampa (TEIXEIRA et al., 2016).

M. parviflora é uma planta herbácea decumbente a ereta de 0,4 a 1,8 m de altura, com estípula 2-8 x 3-6 mm. Lâmina foliar reniforme, lobada, base auriculada, margem crenada; glabrescente. Flores nas axilas foliares, brácteas do involúcro lineares a lanceoladas, cálice de 0,2 a 0,7 cm, chegando nos frutos; corola esbranquiçada com parte lilás, 0,7 cm diâmetro; pétalas de 0,4-0,7 cm, marginalizadas. Fruto tipo esquizocarpo pardacento a acinzentado quando maduro, com 0,7 cm de diâmetro, com 10 a 11 mericarpos com projeções levemente aladas (OLIVEIRA et al., 2019).

Figura 2 - *Malva parviflora* L. cultivada em casa de vegetação.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

As espécies vegetais sintetizam uma variedade de metabólitos que são classificadas de acordo com sua função. Os metabólitos primários são essenciais para crescimento, desenvolvimento e garantia da sobrevivência da planta em seu habitat, como as proteínas, ácidos graxos, clorofila e outros, e os metabólitos secundários são usados para funções acessórias (MIRANDA et al., 2013).

Metabólitos secundários são pequenas moléculas orgânicas e não essenciais sintetizadas pelas plantas para seu desenvolvimento normal, mas são necessárias para reprodução e para mecanismos de defesa contra bactérias, fungos, vírus e outros (ANAND et al., 2019). Algumas funções específicas dos metabólitos secundários podem ser citadas, como a proteção das plantas contra os herbívoros e contra a infecção por microrganismos patogênicos (defesa), atração (através do odor, cor ou sabor) de animais polinizadores e dispersores de sementes, além de atuarem como agentes na competição planta-planta e nas simbioses plantas-microrganismos (TAIZ & ZEIGER, 2017). A produção deles é influenciada por fatores ambientais, que causam diferentes influências na concentração desses componentes químicos na planta (PEREIRA et al., 2022).

O metabolismo secundário pode ser visto como a capacidade de adaptação e sobrevivência em resposta a estímulos e estresses do ambiente. Devido às relevantes atividades biológicas, os metabólitos secundários das plantas têm sido importantes fontes de ativos para medicina tradicional, perfumaria e matéria-prima industrial (YANG et al., 2018). Por serem uma resposta ao estresse ambiental, para a maioria das plantas são fatores externos como a temperatura, disponibilidade de água, luz e nutrientes que podem afetar expressivamente os processos associados ao desenvolvimento delas, e também a capacidade de sintetizar os metabólitos secundários.

De acordo com Yang et al. (2018), as plantas medicinais possuem uma composição química complexa e variável, e o tipo e quantidade de metabólitos secundários são determinados de acordo com o ambiente. Em resposta à radiação solar, as plantas podem se adaptar a mudanças ambientais pelo acúmulo e liberação de metabólitos secundários. Os principais fatores relacionados a radiação solar incluem o fotoperíodo (duração do dia), a intensidade, a direção e qualidade (frequência de onda) (ZORATTI et al., 2014). Além disso, um fator individual geralmente pode interagir com outros fatores (uma alta radiação solar é frequentemente acompanhada de temperatura elevada e deficiência de água). Assim, diferenças no sombreamento podem alterar estes metabólitos e suas quantidades, podendo influenciar na genotoxicidade.

A fim de analisar e indicar o potencial genotóxico e antiproliferativo de uma espécie, é muito utilizado o teste de *Allium cepa* L., aplicado como excelente bioindicador vegetal (TEDESCO & LAUGHINGHOUSE, 2012). O teste é validado

pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e há correlação positiva do teste com outros tipos celulares tanto para animais não-humanos, quanto humanos (HERRERO et al., 2012). Comparando com testes em animais, o teste de *A. cepa* evita o uso deles e as conseqüentes questões éticas, tem maior custo-benefício, fornece uma boa quantidade de dados, e é uma técnica fácil e acessível (TEDESCO & LAUGHINGHOUSE, 2012). A espécie tem genoma diploide ($2n = 2x = 16$) com cromossomos monocêntricos e relativamente grandes, apropriados para observação no microscópio, sendo essa mais uma vantagem do seu uso (BONCIU et al., 2018).

Os efeitos das infusões de plantas medicinais sobre o ciclo celular de *A. cepa* foram relatados por vários autores, como Tedesco et al. (2017) com *Sambucus australis*, Hister et al. (2019) com *Psidium cattleianum*, Rodrigues et al. (2021) com *Myrocarpus frondosus*, Pereira et al. (2022) com *Phyllanthus tenellus*, entre outros. Os principais efeitos observados foram a mutagenicidade e antimutagenicidade, assim como o aumento ou diminuição da proliferação celular da ponta de raízes de *A. cepa* tratadas com diferentes concentrações, de diferentes espécies de plantas medicinais.

Além da grande utilização nos testes de citogenotoxicidade de plantas medicinais, o sistema teste de *A. cepa* pode ser utilizado para o monitoramento da poluição ambiental e avaliação do potencial mutagênico de muitos compostos químicos (TEDESCO & LAUGHINGHOUSE, 2012), sendo validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) e o Programa Ambiental das Nações Unidas (UNEP) como um eficiente teste para análise e monitoramento *in situ* da genotoxicidade de substâncias ambientais (CABRERA & RODRIGUES, 1999).

Assim, este estudo teve o objetivo de analisar o potencial citogenotóxico dos extratos aquosos de *Malva parviflora* feitos a partir de mudas cultivadas em duas condições de luminosidade e duas formas de planta (fresca e desidratada); verificar e comparar o potencial citogenotóxico e antigenotóxico dos extratos aquosos de *Malva sylvestris* e *M. parviflora*, a partir de plantas frescas e secas.

1.1 METODOLOGIA

1.1.1 Artigo 1

1.1.1.1 Cultivo em casa de vegetação

O cultivo de *M. parviflora* foi feito entre os meses de novembro e dezembro de 2020, a partir de mudas jovens, de um mesmo lote, adquiridas no comércio local de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil). As plantas foram cultivadas em vasos de plástico de 3 L, com o substrato composto de turfa, calcário e casca de pinus compostada, na estufa plástica do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e receberam água de uma a duas vezes ao dia (Figura 3). Foram feitos dois grupos com 22 plantas cada, totalizando 44 plantas. O grupo A foi protegido com tela de sombreamento do tipo Sombrite de 70% na cor preta, com a finalidade de diminuir a incidência de luz solar (Figura 4), enquanto as plantas do grupo B receberam luz solar natural que incide na estufa (Figura 5). No total, as plantas ficaram durante o período de 36 dias em casa de vegetação, sendo os seis primeiros dias para aclimatação no local, e em seguida foram coletadas para a continuação dos experimentos.

Figura 3 - Mudanças de *Malva parviflora* L. em estufa plástica.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2020).

Figura 4 - Mudas de *Malva parviflora* L. com sombreamento.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2020).

Figura 5 - Mudas de *Malva parviflora* L. sem sombreamento.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2020).

1.1.1.2 Coleta e armazenamento

Após os 36 dias as plantas foram coletadas, sendo que a metade do material foi armazenado em congelador (assim, são considerados frescos) e a outra parte foi desidratada (seca) em ambiente controlado no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (Labcitogen) da UFSM, com temperatura de aproximadamente 20°C, e armazenados em local seco.

1.1.1.3 Teste de citogenotoxicidade

A análise do potencial citogenotóxico *M. parviflora* foi realizada no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade da UFSM, por meio do sistema de teste *Allium cepa*. Foram analisadas as células da região meristemática do bioindicador vegetal, a fim de se observar possíveis mudanças na divisão celular e alterações cromossômicas. Para o teste de citogenotoxicidade foram realizados oito tratamentos, além do negativo (água destilada) e positivo (glifosato 1,5%), totalizando 10 tratamentos (Tabela 1), e feitas repetições com quatro bulbos de *Allium cepa* (cebola) para cada um dos tratamentos (Figura 8).

Os bulbos tiveram suas raízes antigas retiradas e foram colocados para enraizamento em água destilada por quatro dias, no mês de abril de 2021. Após esse período, os bulbos foram transferidos para os extratos aquosos de *M. parviflora*, que foram preparados a partir da decocção da parte aérea (folhas e caules) e das raízes, ambos na concentração de 5 g.L⁻¹. A água destilada foi utilizada como controle negativo do experimento, e o glifosato o controle positivo, a uma concentração de 1,5%, conforme Souza et al. (2010). Os tratamentos permaneceram em contato com os bulbos enraizados por 24 horas e posteriormente as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 24 horas. O material foi então armazenado em etanol 70% sob refrigeração até ser utilizado para análise.

Tabela 1 - Tratamentos para o teste de citogenotoxicidade de *Malva parviflora* L.

GRUPO A (com tela de sombreamento)	GRUPO B (sem tela de sombreamento)
T1: Controle negativo (água destilada)	T1: Controle negativo (água destilada)
T2: Controle positivo (glifosato 1,5%)	T2: Controle positivo (glifosato 1,5%)
T3A: Extrato aquoso das folhas e caules secos na concentração 5 g.L ⁻¹	T3B: Extrato aquoso das folhas e caules secos na concentração de 5 g.L ⁻¹
T4A: Extrato aquoso das raízes secas na concentração 5 g.L ⁻¹	T4B: Extrato aquoso das raízes secas na concentração 5 g.L ⁻¹
T5A: Extrato aquoso das folhas e caules frescos na concentração 5 g.L ⁻¹	T5B: Extrato aquoso das folhas e caules frescos na concentração 5 g.L ⁻¹
T6A: Extrato aquoso das raízes frescas na concentração 5 g.L ⁻¹	T6B: Extrato aquoso das raízes frescas na concentração 5 g.L ⁻¹

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Figura 6 - Bulbos de *Allium cepa* L. durante enraizamento em água destilada.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2021).

Figura 7 - Controles e extratos aquosos de *Malva parviflora* L. prontos para o teste de *Allium cepa* L.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2021).

Figura 8 - Bulbos de *Allium cepa* L. nos diferentes tratamentos com extratos aquosos de *Malva parviflora* L.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2021).

1.1.2 Artigo 2

1.1.2.1 Cultivo em casa de vegetação

O cultivo em estufa de *M. sylvestris* foi feito a partir de mudas produzidas entre novembro e dezembro de 2021 através de sementes doadas pela Prof^a Dr^a Leyza Paloschi de Oliveira (Universidade Alto Vale do Rio do Peixe- UNIARP), e de mudas de *M. parviflora* oriundas de floricultura de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil). As plantas foram cultivadas em vasos de plástico tamanho 12 (Figuras 9 e 10), com o substrato composto de duas partes de turfa, calcário e casca de pinus compostada, e uma parte do substrato Agrinobre, composto de turfa de esfagno, vermiculita expandida, casca de arroz carbonizada, calcário dolomítico, fertilizante NPK e micronutrientes, na estufa do Departamento de Biologia da UFSM. As plantas receberam luz natural que incide na estufa. Com o tempo de aclimação, as plantas permaneceram por um período de 38 dias em casa de vegetação e em seguida foram coletadas para as análises.

Figura 9 - *Malva sylvestris* L. (bancada da frente) e *Malva parviflora* L. (bancada de trás) na primeira semana, durante o período de aclimação na estufa.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Figura 10 - *Malva sylvestris* L. (bancada de trás) e *Malva parviflora* L. (bancada da frente) na quarta semana.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

1.1.2.2 Coleta e armazenamento

Após os 38 dias, as plantas foram coletadas e metade das mudas foi desidratada em estufa Medclave Modelo 3 no Labcitogen/ UFSM com temperatura de aproximadamente 60°C (Figura 11), e o restante foi armazenado em congelador.

1.1.2.3 Teste de citogenotoxicidade e antígenotoxicidade

A análise do potencial citogenotóxico e antígenotóxico de *M. sylvestris* e *M. parviflora* foi realizada no Labcitogen/ UFSM, por meio do sistema teste *Allium cepa*, no qual foram analisadas as células da região meristemática do bioindicador vegetal, a fim de se avaliar possíveis alterações na divisão celular e nos cromossomos durante o ciclo celular. Para o teste de citogenotoxicidade foram feitos 20 tratamentos (Tabela 2), e cinco para o teste antígenotóxico (Tabela 3), ambos com as duas espécies. Foram feitas repetições com três bulbos de *A. cepa* para cada um dos tratamentos.

Os bulbos de cebola tiveram suas raízes antigas raspadas e em seguida colocados para enraizamento em água destilada por quatro dias em maio de 2022. Após esse período, foram transferidos para os extratos aquosos de cada população de *M. sylvestris* e *M. parviflora* (Figuras 12 e 13, respectivamente). Para o teste de citogenotoxicidade os extratos aquosos da parte aérea fresca e seca, bem como das raízes de *M. sylvestris* e *M. parviflora* foram preparados por decocção de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹. Como no Artigo 1, a água destilada foi utilizada como controle negativo do experimento e para o controle positivo, o glifosato a uma concentração de 1,5%. Os tratamentos permaneceram em contato com as raízes dos bulbos pelo período de 24 horas (Figura 14).

O teste antígenotóxico (Figura 15) foi feito a partir da decocção da parte aérea e raízes frescas na concentração de 5 g.L⁻¹, sendo que os bulbos de *A. cepa* foram expostos ao glifosato 1,5% pelo período de 24 horas, e após, colocados nos tratamentos com os extratos aquosos, também por 24 horas. Além disso, um grupo foi colocado em água destilada para recuperação de possíveis alterações cromossômicas e comparação com aqueles colocados nos extratos da planta.

Posteriormente, as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 36 horas. O material foi então passado para frascos contendo etanol 70% e armazenado sob refrigeração até ser utilizado para análise.

Tabela 2 - Tratamentos utilizados no teste de citogenotoxicidade, feitos a partir de extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L.

T1: Controle positivo (glifosato 1,5%)	
T2: Controle negativo (água destilada)	
T3: Parte aérea fresca de <i>M. sylvestris</i> em 5 g.L ⁻¹	T12: Parte aérea fresca de <i>M. parviflora</i> em 5 g.L ⁻¹
T4: Parte aérea fresca de <i>M. sylvestris</i> em 15 g.L ⁻¹	T13: Parte aérea fresca de <i>M. parviflora</i> em 15 g.L ⁻¹
T5: Parte aérea seca de <i>M. sylvestris</i> em 5 g.L ⁻¹	T14: Parte aérea seca de <i>M. parviflora</i> em 5 g.L ⁻¹
T6: Parte aérea seca de <i>M. sylvestris</i> em 15 g.L ⁻¹	T15: Parte aérea seca de <i>M. parviflora</i> em 15 g.L ⁻¹
T7: Raízes frescas de <i>M. sylvestris</i> em 5 g.L ⁻¹	T16: Raízes frescas de <i>M. parviflora</i> em 5 g.L ⁻¹
T8: Raízes frescas de <i>M. sylvestris</i> em 15 g.L ⁻¹	T17: Raízes frescas de <i>M. parviflora</i> em 15 g.L ⁻¹
T9: Raízes secas de <i>M. sylvestris</i> em 5 g.L ⁻¹	T18: Raízes secas de <i>M. parviflora</i> em 5 g.L ⁻¹
T10: Raízes secas de <i>M. sylvestris</i> em 15 g.L ⁻¹	T19: Raízes secas de <i>M. parviflora</i> em 15 g.L ⁻¹
T11: Flores frescas de <i>M. sylvestris</i> em 5 g.L ⁻¹	T20: Flores frescas de <i>M. parviflora</i> em 5 g.L ⁻¹

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Tabela 3 - Tratamentos para o teste antígenotóxico, feitos a partir dos extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L.

T21: Glifosato + água
T22: Glifosato + extrato aquoso da parte aérea fresca de <i>M. sylvestris</i> concentração 5 g.L ⁻¹
T23: Glifosato + extrato aquoso das raízes frescas de <i>M. sylvestris</i> na concentração 5 g.L ⁻¹
T24: Glifosato + extrato aquoso da parte aérea fresca de <i>M. parviflora</i> na concentração 5 g.L ⁻¹
T25: Glifosato + extrato aquoso das raízes frescas de <i>M. parviflora</i> na concentração 5 g.L ⁻¹

Fonte: Elaborado pela autora (2021).

Figura 11 - Material vegetal iniciando a secagem em estufa.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Figura 12 - Extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. para o teste de citogenotoxicidade.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Figura 13 - Extratos aquosos de *Malva parviflora* L. para o teste de citogenotoxicidade



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Figura 14 - Bulbos de *Allium cepa* L. nos tratamentos com extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L. para o teste de citogenotoxicidade.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Figura 15 - Bulbos de *Allium cepa* L. nos tratamentos com extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L. para o teste de antigenotoxicidade.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

1.1.2.4 Preparação de lâminas

Para análise e contagem das células de *Allium cepa* foram preparadas duas lâminas por bulbo e contadas 500 células por lâmina, totalizando 1000 células por bulbo (repetição) e 3000 células por tratamento. As lâminas foram preparadas utilizando a metodologia adaptada de Guerra & Souza (2002), onde as raízes foram hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos, em seguida lavadas em água destilada e sua região meristemática retirada e corada com orceína acética 2%. Essa região foi

esmagada com auxílio de um bastão de vidro e sobre este material foi colocada uma lamínula de vidro.

Com auxílio de microscopia óptica em aumento de 40X foram analisadas as células de raízes de *A. cepa* submetidas aos tratamentos, levando em consideração as fases da divisão celular e alterações cromossômicas encontradas. Posteriormente foi calculado o índice mitótico (IM) dos tratamentos, baseando-se na porcentagem de células em divisão encontradas, e o índice genotóxico (IG) relacionado à quantidade de alterações celulares encontradas.

1.1.2.5 Análise Estatística

O delineamento utilizado no teste de *A. cepa* foi o inteiramente casualizado. Os dados do Artigo 1 foram submetidos ao teste de Qui-Quadrado, com 5% de probabilidade de erro, utilizando o programa estatístico BIOESTAT 5.0 (AYRES et al., 2007) e o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2014). No Artigo 2 também foi utilizado o teste de Scott-Knott.

2 ARTIGO 1 - POTENCIAL CITOGENOTÓXICO DE *MALVA PARVIFLORA* L.¹

Cássia Becker BÖCK¹

Carmine Aparecida Lenz HISTER²

Solange Bosio TEDESCO³

¹Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Autora correspondente:

Cássia Becker Böck

E-mail: cassiabk@gmail.com

RESUMO

Por muitos séculos, o tratamento com plantas medicinais foi o único meio acessível para vários grupos étnicos e na atualidade as plantas ainda são muito utilizadas no tratamento de diversas enfermidades, além de serem matéria-prima para vários fármacos. No entanto, muitas dessas plantas podem apresentar efeitos genotóxicos desconhecidos, tornando o seu consumo um risco para a saúde. Espécies como *Malva parviflora* L. têm sido utilizadas pela população em geral para fins medicinais: antifúngico, anti-inflamatório, analgésico e antioxidante. Neste estudo foi feita a análise do potencial citogenotóxico de extratos aquosos desta espécie de *Malva* através do teste de *Allium cepa*, que serve como bioindicador de genotoxicidade de extratos de plantas. Foram cultivadas 44 mudas de *M. parviflora* por 36 dias, entre novembro e dezembro de 2020. O material vegetal foi cultivado em casa de vegetação, em dois grupos: metade das plantas foi protegida com tela de sombreamento, e a outra metade não. Os extratos aquosos foram preparados a partir da parte aérea e das raízes (frescas e desidratadas), na concentração de 5 g.L⁻¹. Os bulbos de *A. cepa* ficaram por 24 horas nos tratamentos, além dos controles negativo (água destilada) e positivo (glifosato 1,5%). As raízes dos bulbos foram coletadas, colocadas no fixador por 24 horas, transferidas para álcool 70% e armazenadas em refrigerador. As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento, e analisadas células em divisão e anotadas as alterações cromossômicas encontradas, calculados os índices mitótico e genotóxico e feita análise estatística pelo teste de

¹ Artigo com intenção de submissão na revista Acta Scientiarum. Biological Sciences.

Qui-Quadrado e teste de Scott-Knott. Os resultados obtidos mostraram que os extratos aquosos de *Malva parviflora* na concentração de 5 g.L⁻¹ apresentaram atividade antiproliferativa, porém não genotóxica. O modo de cultivo é relevante, ou seja, com e sem sombreamento as folhas frescas apresentam diferença na proliferação celular, porém o mesmo não ocorre com as folhas secas.

Palavras-chave: *Allium cepa*. Plantas medicinais. Extratos aquosos. Índice mitótico. Genotoxicidade.

2.1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são recursos medicamentosos menos ou não-tóxicos, facilmente acessíveis e econômicos (FATHI et al., 2022). Por muitos séculos, o tratamento com estas plantas foi o único recurso disponível para vários grupos étnicos, e atualmente as plantas continuam sendo frequentemente utilizadas para o tratamento de patologias em muitos países (GASPARETTO et al., 2011), incluindo o Brasil. Além de fazerem parte da cultura, seu uso pode ser influenciado pelo alto custo dos remédios, pela dificuldade de acesso a consultas médicas (OLIVEIRA et al., 2019), e há crescente tendência da volta do uso de recursos naturais como uma alternativa aos remédios sintéticos (LIU et al., 2022).

No entanto, muitas dessas plantas podem apresentar efeitos citogenotóxicos desconhecidos, tornando seu uso um risco para a saúde. Um teste que tem sido amplamente utilizado para avaliar a toxicidade de extratos de plantas é o teste de *Allium cepa*, que serve como bioindicador de genotoxicidade (HISTER et al., 2017; PEREIRA et al., 2019). O teste é executado com a finalidade de indicar o potencial genotóxico e antiproliferativo de plantas e sendo um excelente bioindicador vegetal, validado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), com boa sensibilidade e grande correlação com testes com mamíferos (TEDESCO & LAUGHINGHOUSE, 2012).

Malvaceae Juss. é uma família botânica com rica diversidade de espécies utilizadas para vários fins, como medicinal, têxtil e ornamental (OLIVEIRA et al., 2019). Sendo uma das 10 famílias de angiospermas mais ricas do Brasil (The Brazil Flora Group, 2021), é composta por cerca de 280 gêneros (World Flora Online, 2022a) e 861 espécies (Flora e Funga do Brasil, 2022). Possui distribuição cosmopolita, com um número elevado de espécies nos trópicos (OLIVEIRA et al., 2019). O gênero *Malva* compreende cerca de 140 espécies (World Flora Online, 2022b), e pode ser considerado como herbácea anual ou bianual (LIU et al., 2022). As espécies do gênero

são muito utilizadas pelos efeitos diurético, laxativo, antisséptico, anti-inflamatório e cicatrizante (SHARIFI-RAD et al., 2019).

Malva parviflora L. é conhecida como malva, malva-de-botica, e outros nomes populares. A espécie é nativa da Europa e Ásia, mas naturalizada em vários países e atualmente é quase cosmopolita (World Flora Online, 2022c). No Brasil, é cultivada nas regiões Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina). É uma planta herbácea decumbente a ereta, de 0,4 a 1,8 m de altura, folha reniforme e possui flores brancas com partes lilás (DE OLIVEIRA et al., 2019). O pó seco ou a infusão feita de folhas e raízes é usada para limpar feridas e machucados (ZAYED et al., 2017). Extratos da planta também apresentam função antifúngica, anti-inflamatória, analgésica e antioxidante (ZAYED et al., 2012). Abkar et al. (2014) relatam ser usada para dor de cabeça, febre, infecções intestinais, úlceras, bronquite, dor de garganta e tosse. Os principais compostos encontrados na espécie e que geram estas funções, são escopoletina e ácido oleanólico (MEDRANO-JIMENEZ et al., 2019), além de polifenóis, flavonoides, esteroides, terpenos, saponinos e taninos (NASER et al., 2022).

Espécies vegetais podem sintetizar uma variedade de metabólitos que são classificados de acordo com a sua função, sendo que os metabólitos secundários são usados para sua defesa, além de outras funções (MIRANDA et al., 2013). Fatores como a incidência de radiação ultravioleta, sazonalidade, ritmo circadiano e temperatura, entre outros, influenciam na sua produção (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). Desta forma, diferenças no sombreamento podem alterar estes metabólitos e suas quantidades, podendo afetar a genotoxicidade. Ressalta-se que os agentes clastogênicos podem agir sobre os cromossomos, sendo considerados genotóxicos, e que citotoxicidade se refere a inibição ou aumento da divisão celular.

Pesquisas sobre a genotoxicidade de *M. parviflora* são escassas e necessárias. Assim, os objetivos deste estudo foram avaliar se o sombreamento e a parte da planta interferem no potencial citogenotóxico de extratos aquosos de *M. parviflora*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Cultivo em casa de vegetação

O cultivo de *M. parviflora* foi feito no período entre novembro e dezembro de 2020, a partir de mudas adquiridas no comércio local de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil). As plantas foram cultivadas em vasos de plástico de 3 L, com o substrato composto de turfa, calcário e casca de pinus compostada, na estufa plástica do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e receberam água ao menos uma vez ao dia. Foram feitos dois grupos com 22 plantas cada, totalizando 44. No grupo A foi utilizada tela de sombreamento do tipo Sombrite de 70% na cor preta, para que as mudas recebessem menos incidência de luz solar, e as do grupo B receberam a luz solar natural que incide na estufa. No total, as plantas ficaram durante 36 dias em casa de vegetação, sendo os seis primeiros para aclimação no local. A temperatura média mínima do período foi de 17,8 °C, e a máxima, 29,6 °C.

2.2.2 Coleta e armazenamento

Após os 36 dias as plantas foram coletadas, sendo que metade do material foi guardado em congelador e a outra parte foi seca em ambiente controlado no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (Labcitogen) da UFSM, com temperatura de aproximadamente 20°C, e em seguida armazenado em local seco.

2.2.3 Teste de citogenotoxicidade

A análise do potencial citogenotóxico de *M. parviflora* foi realizada no Labcitogen/UFSM, por meio do sistema de teste *Allium cepa*. Os bulbos das cebolas tiveram suas raízes antigas raspadas e foram colocados em água destilada para novo enraizamento por quatro dias, no mês de abril de 2021. Após esse período, foram transferidos para os extratos aquosos de *M. parviflora*, preparados a partir da parte aérea (folhas e caules) e das raízes, na concentração de 5 g./L⁻¹. O material vegetal foi pesado e os extratos foram feitos por decocção por 10 minutos com água destilada. O controle negativo do experimento foi a água destilada e o controle positivo, o glifosato na concentração de 1,5%, conforme Souza et al. (2010). Para o teste, foram

feitas repetições com quatro bulbos de *A. cepa* para cada tratamento. Foram realizados 10 tratamentos: T1 = Controle negativo (água destilada), T2 = Controle positivo (glifosato 1,5%), T3 = Parte aérea fresca com sombreamento, T4 = Parte aérea fresca sem sombreamento, T5 = Parte aérea seca com sombreamento, T6 = Parte aérea seca sem sombreamento, T7 = Raízes frescas com sombreamento, T8 = Raízes frescas sem sombreamento, T9 = Raízes secas com sombreamento e T10 = Raízes secas sem sombreamento. Os bulbos enraizados permaneceram em contato com os tratamentos por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 24 horas, em temperatura ambiente. O material foi então passado para outros frascos contendo etanol 70% e armazenado sob refrigeração até ser utilizado para análise.

2.2.4 Preparação de lâminas

Para análise das células de *A. cepa* foram feitas duas lâminas por bulbo e contadas 500 células por lâmina, totalizando 4000 células por tratamento. As lâminas foram preparadas utilizando a metodologia adaptada de Guerra & Souza (2002) onde as raízes foram hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos, em seguida lavadas em água destilada e tiveram sua região meristemática retirada, colocada em lâmina de vidro e corada comorceína acética 2%. Após, foi feita a técnica de esmagamento, que consiste em moer o material com auxílio de um pequeno bastão de vidro. Sobre este material foi colocada uma lamínula de vidro e retirado o excesso de corante. Com auxílio de microscopia óptica (Leica- DM500) em aumento de 40X foram analisadas as 500 células por lâmina, levando em consideração o ciclo celular: interfase e a divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), e alterações cromossômicas encontradas (quebras, micronúcleos, pontes anafásicas e telofásicas).

2.2.5 Análise estatística

O delineamento utilizado no teste de *A. cepa* foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados referentes à divisão celular, índice mitótico (IM), foram comparados pelo teste Qui-Quadrado ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico BIOESTAT 5.0 (AYRES et al., 2007). As irregularidades cromossômicas,

índice genotóxico (IG), foram comparados pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2014).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar de um grande número de plantas medicinais serem conhecidas e usadas na medicina popular, estudos mais detalhados da atividade biológica e farmacológica de muitas permanecem faltando (CIAPPINA et al., 2017). A maioria delas não são suficientemente estudadas quanto a citotoxicidade e mutagenicidade, mas podem ser monitoradas pelo sistema de teste de *Allium cepa* (TEDESCO et al., 2015).

Os resultados obtidos das análises da parte aérea e raízes de *M. parviflora* cultivada nas condições com e sem sombreamento no período de novembro e dezembro de 2020, sob o sistema de teste *A. cepa* estão registrados na Tabela 1. Nela, são mostrados os diferentes tratamentos feitos com os extratos aquosos, além dos controles negativo (água destilada) e positivo (glifosato 1,5%), e são apresentados resultados desses tratamentos: o índice mitótico, número de células em interfase e em divisão.

Tabela 1 - Número de células de *Allium cepa* L. analisadas em diferentes condições do extrato aquoso de *Malva parviflora* L., na concentração de 5g.L^{-1} , células em interfase, em divisão e o índice mitótico, em cada tratamento.

Tratamento	Células Analisadas	Células em Interfase	Células em Divisão	Índice Mitótico (%)
T1- CN	4000	3859	141	3,52 a*
T2- CP	4000	3864	136	3,4 ab
T3- PAFCS	4000	3858	142	3,55 ab
T4- PAFSS	4000	3916	84	2,1 de
T5- PASCS	4000	3923	77	1,92 ef
T6- PASSS	4000	3910	90	2,25 d
T7- RFCS	4000	3869	129	3,22 ab
T8- RFSS	4000	3887	113	2,82 bc
T9- RSCS	4000	3860	140	3,5 a
T10- RSSS	4000	3848	152	3,8 a

Fonte: Elaborado pelas autoras (2022).

T1 = Controle Negativo (água destilada), T2 = Controle Positivo (glifosato 1,5%), T3 = Parte aérea fresca com sombreamento, T4 = Parte aérea fresca sem sombreamento, T5 = Parte aérea seca com sombreamento, T6 = Parte aérea seca sem sombreamento, T7 = Raízes frescas com sombreamento, T8 = Raízes frescas sem sombreamento, T9 = Raízes secas com sombreamento, T10 = Raízes secas sem sombreamento. *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Qui-Quadrado.

Observando a Tabela 1, é possível notar que os tratamentos T1 (controle negativo- água destilada), T9 (extrato de raízes secas com sombreamento) e T10 (extrato de raízes secas sem sombreamento) apresentaram os maiores valores de índice mitótico (proliferação celular), mas não diferindo entre si, e nem dos tratamentos T2 (controle positivo- glifosato), T3 (extrato de parte aérea fresca com sombreamento) e T7 (extrato de raízes frescas com sombreamento), (χ^2 : T1XT2=0.093; T1XT3=0.004; T1XT7=0.546; T1XT9=0.004; T1XT10=0.429; T2XT3=0.134; T2XT7=0.188; T2XT9=0.060; T2XT10=0.922; T3XT7=0.639T3XT9=0.015; T3XT10=0.353; T7XT8=0.176; T7XT9=0.460; T9XT10=0.512).

O T8 (raízes frescas sem sombreamento) não diferiu do T2 (controle positivo), T3 (parte aérea fresca com sombreamento) e T7 (raízes frescas sem sombreamento), mas diferiu da água (T1), apresentando índice mitótico (IM) de 2,82%. Entretanto, diferiu de T4 (parte aérea fresca sem sombreamento), T5 (parte aérea seca com sombreamento) e T6 (parte aérea seca sem sombreamento), que apresentaram os menores valores. Desses, houve uma diminuição do IM em relação à água, e essa queda indica atividade antiproliferativa.

Comparando os extratos aquosos feitos a partir da parte aérea (T3 a T6) em relação aos preparados com raízes (T7 a T10), os tratamentos T3 a T6 tiveram no geral IM menores que os T7 a T10. Excetuando o T3, todos os demais extratos de parte aérea de malva foram diferentes estatisticamente do controle negativo, diminuindo a divisão celular. Apenas T10 teve IM maior que da água, do T9 foi semelhante, e de T7 e T8 foi menor, mas apesar disso, não são diferentes estatisticamente. Resultados que diferem de Bispo et al. (2021), em que o extrato aquoso de *Erythrina fusca* aumentou o IM de *A. cepa*.

Sobre os extratos aquosos feitos com a parte aérea seca (T5 e T6), com e sem sombreamento, houve redução do IM em relação ao T1 (controle negativo), então é possível dizer que são antiproliferativos. No trabalho de Trapp et al. (2020), o extrato aquoso de *Plectranthus barbatus* seco não afetou o IM, diferindo do encontrado com *M. parviflora*. Já os extratos das raízes secas, com e sem sombreamento foram semelhantes ao T1, também diferindo do artigo citado. Ainda em Trapp et al. (2020), os extratos feitos com plantas frescas e secas aumentou a divisão celular, o que nos extratos de *M. parviflora*, aconteceu somente com o T7, e T8 não, diferindo do artigo.

Os tratamentos sem sombreamento tiveram IM menor (T4= 2,1%, T6= 2,25% e T8= 2,82%) em relação ao T1 (3,52%), exceto T10 (3,8%), com valor próximo de T1. Este resultado concorda com Pereira et al. (2022), em que foi analisada a genotoxicidade de *Phyllanthus tenellus* sob diferentes luminosidades, e as plantas sem sombreamento também provocaram uma redução no IM de *A. cepa* em relação aos tratamentos. A causa desse IM menor é provável que seja pelo cultivo das plantas em estufa ter sido feito entre novembro e dezembro de 2020 (final da primavera), que teve maior incidência de luz direta e conseqüentemente temperaturas mais altas no substrato e nas plantas, o que causa um maior estresse nesse grupo do que no grupo com sombreamento. Esse estresse faz com que as plantas produzam mais metabólitos secundários, que influenciam no ciclo celular de *A. cepa* (PEREIRA et al., 2022). Já o grupo de plantas com sombreamento (T3, T5, T7 e T9), que tiveram menos estresse por receberem menor incidência de luz solar, tiveram os valores parecidos com do T1 e não podem ser considerados antiproliferativos.

Em suma, extratos aquosos de parte aérea de malva sem sombreamento, de material fresco ou seco (T4 e T6), extratos de parte aérea seca com sombreamento (T5) e também extrato de raízes frescas sem sombreamento (T8), foram os tratamentos que mais reduziram o IM, sendo considerados citotóxicos. Por outro lado, os extratos aquosos preparados a partir de raízes secas, independente de sombreamento (T9 e T10), podem ser considerados seguros para o consumo, uma vez que não apresentaram atividade citotóxica. Assim como extratos de material fresco oriundo de plantas com sombreamento também não são citotóxicos.

Os tratamentos com extratos de plantas de *Malva* com sombreamento (T3, T7 e T9) tiveram IM semelhantes entre si e com a água destilada, exceto T5. Por outro lado, o IM de raízes dos bulbos tratados com extratos das plantas sem sombreamento (T4, T6, T8 e T10) variou. Li et al. (2020) destacam que as plantas medicinais são compostas de uma grande variedade de compostos químicos relacionados a fatores externos, como as condições ambientais e idade da planta. O controle de fatores abióticos é importante para manter a qualidade de plantas medicinais cultivadas, já que os mesmos podem variar de acordo com os fatores externos.

Percebe-se que o sombreamento ocasionou diferenças em relação aos extratos aquosos da parte aérea (T3, T4, T5 e T6), mas não em relação às raízes (T7, T8, T9 e T10). Além disso, a secagem da parte aérea (T5 e T6) potencializou o efeito de citotoxicidade de *M. parviflora*, pelos compostos terem ficado mais concentrados.

De acordo com Naser et al. (2022), a parte aérea da espécie possui flavonoides, taninos, saponinos, alcaloides e fenóis, bem como as raízes, mas em menor concentração.

Na Tabela 2 são apresentados os dados das alterações cromossômicas causadas pelos diferentes tratamentos. É possível observar que apareceram células irregulares em todos os tratamentos, inclusive no controle negativo em água, como também ocorreu em Tedesco et al. (2015), Sharma et al. (2018), Silva et al. (2018), Hister et al. (2019) e Pinheiro et al. (2022), mas, esses valores representam menos de 1% (0,35% a 0,92%). Somente no tratamento com glifosato, que é conhecido genotóxico, o valor de IG foi acima de 1%.

Tabela 2 - Número de células de *Allium cepa* L. analisadas em diferentes condições do extrato aquoso de *Malva parviflora* L., na concentração de 5 g.L⁻¹, com células irregulares e índice genotóxico (IG), em cada tratamento.

Tratamento	Células Analisadas	Células Irregulares	Índice Genotóxico %
T1- CN	4000	15	0,37 a*
T2- CP	4000	41	1,02 a
T3- PAFCS	4000	21	0,52 a
T4- PAFSS	4000	19	0,47 a
T5- PASCS	4000	18	0,45 a
T6- PASSS	4000	16	0,42 a
T7- RFCS	4000	37	0,92 a
T8- RFSS	4000	21	0,55 a
T9- RSCS	4000	18	0,47 a
T10- RSSS	4000	14	0,35 a

Fonte: Elaborado pelas autoras (2022).

T1 = Controle Negativo (água destilada), T2 = Controle Positivo (glifosato 1,5%), T3 = Parte aérea fresca com sombreamento, T4 = Parte aérea fresca sem sombreamento, T5 = Parte aérea seca com sombreamento, T6 = Parte aérea seca sem sombreamento, T7 = Raízes frescas com sombreamento, T8 = Raízes frescas sem sombreamento, T9 = Raízes secas com sombreamento, T10 = Raízes secas sem sombreamento. *Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Scott-Knott.

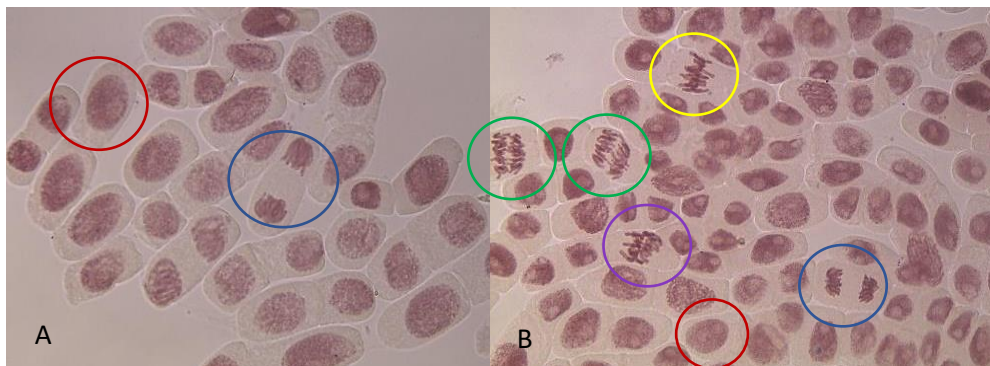
De acordo com a Tabela 2, todos os tratamentos foram estatisticamente semelhantes entre si, sendo que em todos (exceto o tratamento positivo) as alterações foram menores de 1%. Os tratamentos feitos com os extratos aquosos da parte aérea de *M. parviflora* (T3 a T6) tiveram IG semelhantes, maiores que da água, mas sem diferença estatística. Assim, do ponto de vista estatístico, apesar de algumas irregularidades terem sido encontradas, não é possível afirmar que os tratamentos testados possuem potencial genotóxico.

O tratamento T7, extrato aquoso de raízes frescas com sombreamento, foi o que teve o IG mais perto do tratamento positivo T2 (glifosato 1,5%). Comparando com o T1 (água destilada), os tratamentos feitos a partir de raízes tiveram tanto o maior valor de IG, significando que são mais genotóxicos (T7), quanto o menor IG observado no tratamento T10 (raízes secas sem sombreamento), o mais semelhante ao controle negativo.

Os tratamentos com raízes frescas independente de sombreamento, T7 (0,92%) e T8 (0,55%), foram os que apresentaram IG mais altos. Estes resultados se assemelham com Bispo et al. (2021) nas análises com extratos de parte aérea e raízes de *Erythrina fusca*, onde todas as concentrações avaliadas apresentaram alterações. Apenas o T10 teve o IG menor que da água destilada (0,35% e 0,37%, respectivamente), não diferindo dela estatisticamente e sendo possível afirmar que seu consumo é seguro.

Na Figura 1 é possível observar várias células meristemáticas de raízes de cebola em interfase e em divisão. Na Figura 1A, há células em interfase e uma célula em telófase. Já na Figura 1B, observa-se as células em interfase, metáfase e telófase normal, mas também algumas irregulares, como pontes anafásicas.

Figura 1 - Células da região meristemática de *Allium cepa* L. observadas em microscopia óptica com aumento de 40x. A - divisão celular normal; B - divisão celular com irregularidades. Círculo vermelho - interfase; círculo amarelo - metáfase; círculo roxo – metáfase irregular; círculos verdes - anáfase irregular; círculo azul - telófase



Fonte: Acervo pessoal das autoras (2022).

Altyar et al. (2022) pesquisaram sobre úlceras gástricas e mucilagem extraída da folha e do fruto de *M. parviflora* e foi concluído que são seguros, sendo a dose letal acima de 5 g/kg. Úlcera gástrica é uma doença que pode surgir como efeito colateral de remédios para tratamento de várias doenças (como os anti-inflamatórios), demora a sarar e atinge muitas pessoas em todo o mundo, e além de atrapalhar a vida no dia

a dia, pode ocorrer complicações fatais como sangramento gástrico e perfurações (CARLOTTO et al., 2019). Altyar et al. (2022) concluíram que o uso da *M. parviflora* junto com drogas padrão reduziram significativamente a contagem de úlceras, estas que poderiam ser evitadas ou serem menos graves se fosse utilizado os anti-inflamatórios naturais (como a espécie de *Malva* em questão) desde o começo. Além disso, os autores também mostraram que a mucilagem das folhas inibiu 47,99% da tosse quimicamente induzida e foi mais eficaz que dos frutos, apoiando assim o tradicional uso das folhas da espécie para tratar tosse.

El-Naggar et al. (2020) avaliaram o efeito profilático de diferentes concentrações de nanoemulsão de extrato de folhas de *M. parviflora* que combinado com iogurte, combate a colite ulcerativa induzida em ratos. Essa combinação pode ser um suplemento alimentar saudável, como uma boa via para produtos medicinais naturais. Os resultados indicaram que essa nanoemulsão do extrato de folhas da espécie contribuiu para a redução da inflamação e para neutralizar o estresse oxidativo.

O estudo de Medrano-Jimenez et al. (2019), sobre a atividade anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico das folhas de *M. parviflora* na doença de Alzheimer em camundongos magros e obesos, mostrou a supressão da neuroinflamação, o que sugere que pode ser efetivamente usada para prevenir ou atrasar a doença.

Os presentes dados indicam inúmeros benefícios de tratamentos com *M. parviflora*, mas ainda há necessidade de um maior aprofundamento e mais testes.

2.4 CONCLUSÃO

Os extratos aquosos de *Malva parviflora* em determinadas condições possuem atividade antiproliferativa, como os extratos preparados na concentração de 5 g.L⁻¹ da parte aérea fresca sem sombreamento, da parte aérea seca com e sem sombreamento, e raízes frescas com e sem sombreamento.

Apesar de irregularidades terem sido visualizadas, todos os tratamentos são estatisticamente iguais, não sendo possível afirmar que os extratos aquosos de *M. parviflora* possuem atividade genotóxica.

Os extratos aquosos de *M. parviflora* preparados com parte aérea fresca com sombreamento diferiram dos extratos sem sombreamento, o que mostra que o modo de cultivo é relevante. Porém, há espaço para aprofundamento na pesquisa.

REFERÊNCIAS

ABKAR, S.; HANIF, U.; ALI, J.; ISHTIAQ, S. Pharmacognostic studies of stem, roots and leaves of *Malva parviflora* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 5, p. 410-415, 2014.

ALTYAR, A. E.; MUNIR, A.; ISHTIAQ, S.; RIZWAN, M.; ABBAS, K.; KENSARA, O.; ELHADY, S.S.; RIZG, W.Y.; YOUSSEF, F.S.; ASHOUR, M.L. *Malva parviflora* Leaves and Fruits Mucilage as Natural Sources of Anti-Inflammatory, Antitussive and Gastro-Protective Agents: A Comparative Study Using Rat Models and Gas Chromatography. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 427, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph15040427>.

AYRES, M. et al. **BioEstat**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém: ONG Mamiraua, 364p, 2007.

BISPO, R. B.; CARDOSO, E. S.; SANDER, N. L.; ARRUDA, J. C.; RODRIGUES, A. S.; OLIVEIRA, U. A.; SANTOS, L. L.; ROSSI, A. A. B. Citogenotoxicidade de extratos aquosos de *Erythrina fusca* Lour. sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 10, p. 99270-99285, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n10-308>.

CARLOTTO, J.; MARIA-FERREIRA, D.; SOUZA, L. M.; LUZ, B. B.; DALLAZEN, J. L.; WERNER, M. F. P.; CIPRIANI, T.R. A polysaccharide fraction from “ipê-roxo” (*Handroanthus heptaphyllus*) leaves with gastroprotective activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, n. 115239, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115239>.

CIAPPINA, A. L.; FERREIRA, F. A.; PEREIRA, I. R.; SOUSA, T. R.; MATOS, F. S.; MELO-REIS, P. R.; GONÇALVES, P. J.; BAILÃO, E. F. L. C.; ALMEIDA, L. M. Toxicity of *Jatropha curcas* L. látex in *Allium cepa* test. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 33, n. 5, p. 1295-1304, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14393/BJ-v33n5a2017-33835>.

EL-NAGGAR, M. E.; HUSSEIN, J.; EL-SAYED, S. M.; YOUSSEF, A. M.; BANA, M. E.; LATIF, Y. A.; MEDHAT, D. Protective effect of the functional yogurt based on *Malva parviflora* leaves extract nanoemulsion on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 6, p. 14500-14508, 2020.

FATHI, M.; GHANE, M.; PISHKAR, L. Phytochemical Composition, Antibacterial, and Antibiofilm Activity of *Malva sylvestris* Against Human Pathogenic Bacteria. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 17, n. 1, 2022. DOI: [10.5812/jjnpp.114164](https://doi.org/10.5812/jjnpp.114164).

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542014000200001&lng=pt&nrm=iso.

GASPARETTO, J. C.; MARTINS, C. A. F.; HAYASHI, S. S.; OTUKY, M. F.; PONTAROLO, R. Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva Sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 2, p. 172–189, 2011. DOI: 10.1111/j.2042-7158.2011.01383.x.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N.P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

HISTER, C. A. L.; PASQUALLI, M.; TRAPP, K. C.; STEFANELLO, R.; BOLIGON, A. A.; CAMPOS, M. M. A.; TEDESCO, S. B. Atividade antiproliferativa e determinação dos compostos fenólicos de extratos aquosos de amoreira-preta (*Rubus* sp.) pelo sistema teste in vivo de *Allium cepa* L. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 15, n. 1, 2017.

HISTER, C. A. L.; TRAPP, K. C.; BOLIGON, A. A.; TEDESCO, S. B. Determinação de compostos fenólicos e avaliação do potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). **Caderno de Pesquisa**, Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 1, p. 17-30, 2019.

LI, Y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 148, p. 80-89, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>

LIU, Y.; WANG, J.; KANG, H. Random Amplified Polymorphic DNA profiling in detecting genetic variation in *Malva* L. species: edible and medicinal plants. **Caryologia**, v. 75, n. 1, p. 77-87, 2022. DOI: 10.36253/caryologia-1355.

Malvaceae in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB156>. Acesso em: 12 out. 2022. WFO (2022): *Malva* L. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000022983>. Acesso em: 08 out. 2022.

MEDRANO-JIMÉNEZ, E.; CARRILLO, I. J.; PEDRAZA-ESCALONA, M.; RAMÍREZ-SERRANO, C. E.; ÁLVAREZ-ARELLANO, L.; CORTÉS-MENDOZA, J.; HERRERA-RUIZ, M.; JIMÉNEZ-FERRER, E.; ZAMILPA, A.; TORTORIELLO, J.; PEDRAZA-ALVA, G.; PÉREZ-MARTÍNEZ, L. *Malva parviflora* extract ameliorates the deleterious effects of a high fat diet on the cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease by restoring microglial function via a PPAR- γ -dependent mechanism. **Journal of Neuroinflammation**, v. 16, n. 143, 2019.

MIRANDA, G. S.; SANTANA, G. S.; MACHADO B. B.; COELHO, F. P.; CARVALHO, C. A. Atividade antibacteriana *in vitro* de quatro espécies vegetais em diferentes

graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 15, n. 1, p. 104-111, 2013.

NASER, E.H.; MAHDI, L. S.; ALASADI, R. T. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activity of *Malva parviflora* plant: A Review. *Scientific Journal of Medical Research*, v. 6, n. 23, p. 35-44, 2022. DOI: 10.37623/sjomr.v06i23.06.

OLIVEIRA, L. P.; BOVINI, M. G.; BORTOLUZZI, R. L. C.; BOFF, M. I. C.; BOFF, P. Species of *Malva* L. (Malvaceae) Cultivated in the Western of Santa Catarina State and Conformity With Species Marketed as Medicinal Plants in Southern Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 15, 2019.

PEREIRA, J. S.; RODRIGUES, L.G.; FREITAS, J.M.B.; TEDESCO, S.B. Potencial antiproliferativo de extratos aquosos de cascas de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos pelo teste *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.16, n. 29, p. 1925-1932, 2019.

PEREIRA, J. S., HISTER, C.A.; UBESSI, C.; TEDESCO, S. B. Genotoxicity, cytotoxicity and phenolic compounds from aqueous extracts of *Phyllanthus tenellus* Roxb. cultivated under different light conditions. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 25, p. 575-585, 2022.

PINHEIRO, S. M. G.; MAMBRÍ, A. P. S.; FRESCURA, V. D.; FUNK, N. L.; KUHN, A. W.; TRAPP, K. C.; ANDRIOLO, J. L.; BOLIGON, A. A.; SILVA, C. B.; TEDESCO, S. B. Composição fitoquímica, efeito antiproliferativo e genotoxicidade do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) cultivado sob diferentes períodos de salinidade. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v. 22, p. 17-24, 2022.

SHARIFI-RAD, J.; MELGAR-LALANNE, G.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A.J.; TAHERI, Y.; SHAHEEN, S.; KREGIEL, D.; MARTINS, N. *Malva* species: Insights on its chemical composition towards pharmacological applications. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 3, p. 546-567, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6550>.

SHARMA, Sonia; SHARMA, Sushant; VIG, A. P. Antigenotoxic potential of plant leaf extracts of *Parkinsonia aculeata* L. using *Allium cepa* assay. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 130, p. 314-323, 2018.

SILVA, R. M. G; CARVALHO, A. C. M.; MATIOLLI, L. S.; FIGUEIREDO, C. C. M; GOMES, A. C.; FERREIRA, P. C.; SILVA, L. P. Genotoxicity and antioxidant activity of spices and herbs used in brazilian cuisine. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 34, n. 3, p. 727-743, 2018.

TEDESCO, M.; KUHN, A. W.; BOLIGON, A. A.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; ATHAYDE, M. L.; SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Chromatographic analysis, antiproliferative effect and genotoxicity of aqueous extracts of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck on the *Allium cepa* L. test system. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 31, n. 4, p. 1213-1221, 2015.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination**. InTech, p. 137- 156, 2012. DOI: 10.5772/31371.

THE BRAZIL FLORA GROUP. Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. **Taxon**, v. 71, n. 1, p. 178–198, 2022.

TRAPP, K. C.; HISTER, C. A. L.; LAUGHINGHOUSE IV, H.D.; BOLIGON, A.A.; TEDESCO, S. B. Determination of phenolic compounds and evaluation of cytotoxicity in *Plectranthus barbatus* using the *Allium cepa* test. **Caryologia**, v. 73, n. 2, p. 145-153, 2022. DOI: 10.13128/caryologia-947.

World Flora Online (2022): *Malva* L. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000022983>. Acesso em: 08 out. 2022.

World Flora Online (2022): Malvaceae Juss. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000360>. Acesso em: 08 out. 2022.

World Flora Online (2022): *Malva parviflora* L. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000449230>. Acesso em: 11 out. 2022.

ZAYED, M. F.; EISA, W. H.; SHABAKA, A. A. *Malva parviflora* extract assisted green synthesis of silver nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 98, p. 423–428, 2012.

ZAYED, M. F.; EISA, W. H.; HEZMA, A. M. Spectroscopic and antibacterial studies of anisotropic gold nanoparticles synthesized using *Malva parviflora*. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 83, p. 1046-1050, 2017. DOI: 10.1007/s10812-017-0406-6.

3 ARTIGO 2 - ANÁLISE DO POTENCIAL CITOGENOTÓXICO E REPARADOR DE *MALVA PARVIFLORA* L. E *MALVA SYLVESTRIS* L.

Cássia Becker BÖCK¹

Andressa Janaína PUHL²

Carmine Aparecida HISTER³

Solange Bosio TEDESCO¹

¹Programa de Pós-graduação em Agrobiologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

³Departamento de Biologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

Autora correspondente:

Cássia Becker Böck

E-mail: cassiabk@gmail.com

RESUMO

As plantas medicinais fazem parte da história da humanidade e são recursos importantes no tratamento de saúde de quem procura alternativas aos fármacos industrializados, ou tem nelas a única opção de tratamento. *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L. são utilizadas por grande parte da população mundial e possuem ação anti-inflamatória, antifúngica, diurética e outras. Porém, a utilização de extratos de plantas pode ser prejudicial sem pesquisa prévia. O objetivo deste artigo foi analisar a capacidade citogenotóxica e antígenotóxica de *M. sylvestris* e *M. parviflora*, através do teste de *Allium cepa* L., que é considerado um excelente bioindicador vegetal. Para isto, as mudas foram cultivadas em casa de vegetação por 38 dias, colhidas, medidas, pesadas e metade de cada espécie foi armazenada em congelador, e o restante foi desidratado em estufa. Para o teste de citogenotoxicidade foram feitos os tratamentos na concentração de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹ da parte aérea, de flores e de raízes das duas espécies de *Malva*, com o material fresco e seco, e utilizada água destilada como tratamento negativo, e glifosato a 1,5% como tratamento positivo. Os bulbos de *A. cepa* permaneceram por 24 horas nos extratos. Para o teste de antígenotoxicidade, os bulbos foram expostos ao glifosato 1,5% por 24 horas e em seguida expostos a tratamentos feitos com a parte aérea e raízes frescas das duas espécies, por mais 24 h. Após os testes, as raízes dos bulbos foram coletadas, fixadas em etanol: ácido

acético (3:1) por 36 horas, e em seguida armazenadas em álcool 70% em refrigerador. Para a análise em microscopia, as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento, e observadas as fases da divisão celular e irregularidades. Os resultados obtidos mostram que os extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora* não possuem potencial genotóxico, nem antígenotóxico, mas alguns tratamentos, especialmente os com extratos de *M. parviflora*, apresentaram citotoxicidade, pois reduziram a divisão celular de *A. cepa*.

Palavras-chave: *Allium cepa*. Plantas medicinais. Extrato aquoso. Antigenotoxicidade.

3.1 INTRODUÇÃO

Ao longo da maior parte da história, a natureza e especialmente as plantas têm sido fonte de medicamentos para uma ampla quantidade de doenças (CRAGG et al., 2014) e problemas de saúde, e como um resultado da experiência acumulada das gerações passadas, atualmente todas as culturas do mundo possuem um conhecimento extensivo sobre plantas medicinais (AL-SNAFI, 2019). Há uma crescente busca por estes tipos de tratamento, e seu uso pode ser influenciado por fatores como a condição econômica, o preço elevado dos remédios e o difícil acesso de quem mora longe de hospitais e postos de saúde (OLIVEIRA et al., 2019). Porém, é relevante ressaltar que o uso indiscriminado de chás e derivados pode causar mais danos que benefícios a saúde, principalmente devido ao desconhecimento de seus constituintes químicos (HISTER et al., 2019).

Grande parte das plantas medicinais, apesar de serem muito usadas, ainda não foram suficientemente estudadas, e menos ainda quanto ao potencial genotóxico delas (TEDESCO et al., 2017). Para o consumo de extratos de plantas ser seguro, há a necessidade de testes genotóxicos, e o teste de *Allium cepa* L. é um excelente bioindicador para este fim. O uso do teste de *A. cepa* para verificar o potencial genotóxico de agentes químicos, físicos e biológicos tem uma longa história na literatura científica (BONCIU et al., 2018), é validado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e possui grande correlação a testes com mamíferos (TEDESCO & LAUGHINGHOUSE IV, 2012).

Malvaceae Juss. é uma família botânica cosmopolita, com maior distribuição nos trópicos e é utilizada para fins medicinais, têxteis e ornamentais (OLIVEIRA et al., 2019). De acordo com The World Flora Online (WFO, 2022a) é composta por cerca de 280 gêneros, e é uma das 10 famílias de angiospermas mais ricas do Brasil (The

Brazil Flora Group, 2021). O gênero *Malva* é conhecido pela capacidade diurética, laxante, expectorante, antisséptica, anti-inflamatória e outras, e compreende 146 espécies (WFO, 2022b), dentre elas estão a *Malva sylvestris* L. e a *Malva parviflora* L., muito utilizadas para fins medicinais.

Malva sylvestris L. é conhecida como malva, malva-de-banho, malva-alta, malva-rosa, entre outros nomes populares e é nativa da Ásia, Europa e Norte da África (BARROS et al., 2010). No Brasil, ela ocorre em parte do sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e do Sul (Paraná e Santa Catarina), sendo possível a ocorrência no Espírito Santo e no Rio Grande do Sul (Flora e Funga do Brasil). A espécie é herbácea de 0,5 a 1,5 m de altura, ereta, possui folhas alternadas, tricoma da face adaxial fasciculado e simples; flores com involúcro; brácteas florais lanceoladas a ovais; herbácea ereta; pétalas de 7 a 20 mm de comprimento, rosas; 9 a 11 mericarpos, levemente reticulados.

Malva parviflora L. é conhecida como malva, malva-de-botica, malva-de-dente e outros. É nativa da Europa e Ásia (WFO, 2022c), e no Brasil, ela ocorre no Sul (Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina) e em parte do Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo) e do Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul), de acordo com a Flora e Funga do Brasil (2022). Planta herbácea decumbente a ereta, de 0,4 a 1,8 m de altura; possui folhas alternadas, tricoma da face adaxial fasciculado e simples; flores com involúcro, pétalas esbranquiçadas de 4 a 7 mm; de comprimento; brácteas florais lineares a lanceoladas; superfície adaxial da lâmina glabrescente, tricoma simples; mericarpos lateralmente reticulados (ou extremamente reticulados) com projeções levemente aladas.

Informações sobre a toxicidade de *M. sylvestris* são poucas, e sobre a *M. parviflora* são ainda mais escassas. Levando em consideração estes fatos e a necessidade de estudos mais atuais, os objetivos desse trabalho foram verificar se a parte da planta e a concentração utilizadas interferem na citotoxicidade e antigenotoxicidade das duas espécies de *Malva*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Cultivo em casa de vegetação

As mudas de *M. sylvestris* foram produzidas a partir de sementes doadas pela Prof^a Dr^a Leyza Paloschi de Oliveira (Universidade Alto Vale do Rio do Peixe-UNIARP), e as de *M. parviflora* foram adquiridas de uma floricultura de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil). O cultivo das espécies ocorreu entre abril e maio de 2022, na estufa do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foram utilizados vasos plásticos de tamanho 12 com substrato composto de turfa, calcário e casca de *Pinus* compostada. As mudas ficaram 38 dias na estufa, sendo os oito primeiros para aclimação no local.

3.2.2 Coleta e armazenamento

Após o período na casa de vegetação, as plantas foram coletadas. Metade de cada espécie foi armazenada em congelador, e o restante foi colocado para secagem em estufa Medclave Modelo 3, e após, armazenadas em local seco no Laboratório de Citogenética e Genotoxicidade da Universidade Federal de Santa Maria (Labcitogen/UFSM).

3.2.3 Teste de citogenotoxicidade e antigenotoxicidade

A análise do potencial citogenotóxico e antigenotóxico de *M. sylvestris* e *M. parviflora* foi realizada no Labcitogen/UFSM, por meio do sistema de teste *Allium cepa*. Os bulbos de cebola tiveram suas raízes antigas raspadas e colocados em água destilada para novo enraizamento por cinco dias, no mês de maio de 2022. Já enraizados, foram transferidos para os extratos aquosos das duas espécies de *Malva*, que foram preparados a partir da parte aérea (folhas e caules) e das raízes, na concentração de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹. O material vegetal foi pesado e os extratos foram feitos por decocção por 10 minutos com água destilada.

A água destilada foi utilizada como o controle negativo do experimento e o glifosato na concentração de 1,5% para o controle positivo conforme, Souza et al. (2010). Foram feitas repetições com três bulbos de *A. cepa* para cada tratamento, e realizados 25 tratamentos: T1 Controle negativo (água destilada), T2 Controle positivo (glifosato 1,5%); de *Malva sylvestris*: T3 Parte aérea fresca a 5 g.L⁻¹, T4 Parte aérea fresca a 15 g.L⁻¹, T5 Parte aérea seca a 5 g.L⁻¹, T6 Parte aérea seca a 15 g.L⁻¹, T7 Raízes frescas a 5 g.L⁻¹, T8 Raízes frescas a 15 g.L⁻¹, T9 Raízes secas a 5 g.L⁻¹, T10

Raízes a 15 g.L⁻¹, T11 Flores frescas a 5 g.L⁻¹; de *Malva parviflora*: T12 Parte aérea fresca a 5 g.L⁻¹, T13 Parte aérea fresca a 15 g.L⁻¹, T14 Parte aérea seca a 5 g.L⁻¹, T15 Parte aérea seca a 15 g.L⁻¹, T16 Raízes frescas a 5 g.L⁻¹, T17 Raízes frescas a 15 g.L⁻¹, T18 Raízes secas a 5 g.L⁻¹, T19 Raízes a 15 g.L⁻¹, T20 Flores frescas a 5 g.L⁻¹. T21 Glifosato 1,5% + água, T22 Glifosato + Parte aérea fresca de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹, T23 Raízes frescas de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹, T24 Glifosato + Parte aérea fresca de *M. parviflora* 5 g.L⁻¹, T25 Glifosato + raízes frescas de *M. parviflora* 5 g.L⁻¹.

Para o teste de citogenotoxicidade (T3 a T20), os bulbos enraizados permaneceram em contato com os tratamentos por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 36 horas. O material foi então passado para outros frascos contendo etanol 70% e armazenado sob refrigeração até ser utilizado para análise.

Para o teste de antigenotoxicidade (T21 a T25) os bulbos foram expostos a glifosato 1,5% por 24 h e após esse período, foram colocados nos extratos aquosos das espécies de *Malva* por mais 24 h, e então as raízes do bioindicador vegetal foram coletadas e seguiram o mesmo procedimento citado acima.

3.2.4 Preparação de lâminas

Para análise do ciclo celular de raízes de cebola foram feitas duas lâminas por bulbo e contadas 500 células por lâmina, totalizando 3000 células por tratamento. As lâminas foram preparadas utilizando a metodologia adaptada de Guerra & Souza (2002): as raízes foram hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos, em seguida lavadas em água destilada e tiveram sua região meristemática retirada, a qual foi colocada em lâmina de vidro e corada comorceína acética 2%. Após, foi feita a técnica de esmagamento, que consiste em moer o material, com auxílio de um pequeno bastão de vidro. Sobre este material foi colocada uma lamínula de vidro e retirado o excesso de corante. Com auxílio de microscopia óptica (Leica DM500) em aumento de 40X foram analisadas as células, levando em consideração o ciclo celular: interfase e a divisão celular (prófase, metáfase, anáfase e telófase), e alterações cromossômicas encontradas (como quebras, micronúcleos, pontes anafásicas e telofásicas).

3.2.5 Análise estatística

O delineamento utilizado no teste de *A. cepa* foi o inteiramente casualizado, com três repetições. De cada repetição foram analisadas duas lâminas. Os dados referentes à divisão celular (índice mitótico - IM), e irregularidades cromossômicas (índice genotóxico - IG), foram comparados pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$), utilizando o programa estatístico SISVAR 5.6 (FERREIRA, 2014).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas medicinais são definidas pela etnobotânica e pela etnofarmacologia como aquelas espécies usadas na medicina tradicional, que contêm elementos benéficos que ajudam na cura e tratamento de doenças em humanos e/ou animais. Os fitoquímicos medicinais são recursos importantes na descoberta de novas drogas, já que apenas uma pequena porcentagem tem sido investigada (ANAND et al., 2019). Como exemplos de drogas bem-sucedidas derivadas de plantas medicinais há a Aspirina, de *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim e a Codeína, que vem de *Papaver somniferum* L., além de outras.

A Tabela 1 traz as informações do teste de *Allium cepa* realizado com extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora* feitos com a parte aérea e raízes, nas concentrações de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹, mostrando a quantidade de células em interfase, em divisão e irregulares, bem como os índices mitótico e genotóxico. Através do índice mitótico, foi possível observar três grupos de tratamentos estatisticamente diferentes: a, b e c.

Tabela 1 - Células de *Allium cepa* analisadas em diferentes condições de extratos aquosos de *Malva sylvestris* e *Malva parviflora*.

(continua)

Tratamento	Células Analisadas	Células em Interfase	Células em Divisão	Índice Mitótico %	Células Irregulares	Índice Genotóxico %
T1- CN	3000	2894	151	5,03 a	10	0,33 a
T2- CP	3000	2869	131	4,36 b	53	1,76 a
T3-PAFMS 5 g.L ⁻¹	3000	2844	156	5,2 a	43	1,43 a
T4-PAFMS 15 g.L ⁻¹	3000	2842	158	5,26 a	35	1,16 a
T5-PASMS 5 g.L ⁻¹	3000	2917	83	2,76 b	15	0,5 a

Tabela 1 - Células de *Allium cepa* L. analisadas em diferentes condições de extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L.

Tratamento	Células Analisadas	Células em Interfase	Células em Divisão	Índice Mitótico %	Células Irregulares	Índice Genotóxico %
T6-PASMS 15 g.L ⁻¹	3000	2945	55	1,83 c	4	0,13 a
T7-RFMS 5 g.L ⁻¹	3000	2805	196	6,53 a	8	0,26 a
T8-RFMS 15 g.L ⁻¹	3000	2849	156	5,2 a	57	1,9 a
T9-RSMS 5 g.L ⁻¹	3000	2831	169	5,63 a	57	1,9 a
T10-RSMS 15 g.L ⁻¹	3000	2872	128	4,26 b	10	0,33 a
T11-FFMS 5 g.L ⁻¹	3000	2852	148	4,93 a	93	3,1 a
T12-PAFMP 5 g.L ⁻¹	3000	2794	206	6,86 a	47	1,56 a
T13-PAFMP 15 g.L ⁻¹	3000	2802	198	6,6 a	23	0,76 a
T14-PASMP 5 g.L ⁻¹	3000	2896	104	3,46 b	32	0,93 a
T15-PASMP 15 g.L ⁻¹	3000	2971	29	0,96 c	58	1,93 a
T16-RFMP 5 g.L ⁻¹	3000	2823	177	5,9 a	27	0,9 a
T17-RFMP 15 g.L ⁻¹	3000	2881	119	3,96 b	100	3,26 a
T18-RSMP 5 g.L ⁻¹	3000	2882	118	3,93 b	44	1,46 a
T19-RSMP 15 g.L ⁻¹	3000	2896	104	3,46 b	18	0,6 a
T20-FFMP 5 g.L ⁻¹	3000	2837	163	5,43 a	50	1,66 a

Fonte: Elaborado pelas autoras (2022).

T1- CN = Controle negativo (água destilada); T2- CP = Controle positivo (glifosato 1,5%); *M. sylvestris*: T3- PAFMS = Parte aérea fresca a 5 g.L⁻¹; T4- PAFMS = Parte aérea fresca a 15 g.L⁻¹; T5- PASMS = Parte aérea seca a 5 g.L⁻¹; T6- PASMS = Parte aérea seca a 15 g.L⁻¹; T7- RFMS = Raízes frescas a 5 g.L⁻¹; T8- RFMS = Raízes frescas a 15 g.L⁻¹; T9- RSMS = Raízes secas a 5 g.L⁻¹; T10- RSMS = Raízes secas a 15 g.L⁻¹; T11- FFMS = Flores frescas a 5 g.L⁻¹. *M. parviflora*: T12- PAFMP = Parte aérea a 5 g.L⁻¹; T13- PAFMP = Parte aérea fresca a 15 g.L⁻¹; T14- PASMP = Parte aérea seca a 5 g.L⁻¹; T15- PASMP = Parte aérea seca a 15 g.L⁻¹; T16- RFMP = Raízes frescas a 5 g.L⁻¹; T17- RFMP = Raízes frescas a 15 g.L⁻¹; T18- RSMP = Raízes secas a 5 g.L⁻¹; T19- RSMP = Raízes secas a 15 g.L⁻¹; T20- FFMP = Flores frescas de a 5 g.L⁻¹.

Os tratamentos que tiveram os menores índices mitóticos, e, portanto, são citotóxicos, pertencem ao grupo c, que são o T15 (parte aérea seca de *M. parviflora* a 15 g.L⁻¹) e T6 (parte aérea seca de *M. sylvestris* a 15 g.L⁻¹), 0,966% e 1,80%, respectivamente. É possível dizer que estes tratamentos são antiproliferativos, pois

tiveram menores índices mitóticos quando comparados com o tratamento negativo (água destilada), que teve IM de 5,03%.

Os tratamentos T5 (parte aérea seca de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹), T14 (parte aérea seca de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹), T19 (raízes secas de *M. parviflora* a 15 g.L⁻¹), T18 (raízes secas de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹), T17 (raízes frescas de *M. parviflora* a 15 g.L⁻¹) e T10 (raízes secas de *M. sylvestris* a 15 g.L⁻¹), e o T2 (controle positivo - glifosato 1,5%) não são estatisticamente diferentes entre si no que se refere ao IM, mas diferiram em relação a água destilada (T1), ou seja todos estes tratamentos reduziram a divisão celular de *A. cepa*, demonstrando um efeito antiproliferativo.

Já os tratamentos T11 (flores frescas de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹), T8 (raízes frescas de *M. sylvestris* a 15 g.L⁻¹), T3 (parte aérea fresca de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹), T4 (parte aérea fresca de *M. sylvestris* a 15 g.L⁻¹), T20 (flores frescas de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹), T9 (raízes secas de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹), T16 (raízes frescas de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹), T7 (raízes frescas de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹), T13 (parte aérea fresca de *M. parviflora* a 15 g.L⁻¹) e T12 (parte aérea fresca de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹) são estatisticamente iguais entre si e com a água destilada (T1). É possível perceber que os extratos das flores não são diferentes estatisticamente entre si e nem da água, não tendo efeito citotóxico.

Os extratos das plantas frescas tiveram maior IM em relação ao das plantas secas. No geral, o IM dos extratos aquosos na concentração de 5 g.L⁻¹ foi maior que em 15 g.L⁻¹, resultado também encontrado em Rodrigues et al. (2021), em que extratos aquosos de folhas e caules secos de *Myrocarpus frondosus* exibiram capacidade antiproliferativa especialmente em maiores concentrações.

Em relação à *M. parviflora*, os tratamentos com material seco (parte aérea e raízes) nas duas concentrações ou com material fresco na maior concentração (15 g.L⁻¹) possuem efeito citotóxico de inibição da divisão celular. Por outro lado, os tratamentos com extratos aquosos de partes aéreas frescas, nas duas concentrações, e raízes frescas e flores frescas, na concentração de 5 g.L⁻¹, não apresentaram citotoxicidade.

Em relação à espécie *M. sylvestris*, apenas os tratamentos com extratos aquosos da parte aérea seca, nas duas concentrações, e de raízes secas, na maior concentração, é que apresentaram esse efeito inibitório sobre o IM. Nenhum dos tratamentos com material fresco (parte aérea, raízes e flores) de *M. sylvestris*

apresentou diferença significativa do controle negativo, podendo esta espécie ser considerada segura para o consumo de suas partes frescas.

Dos tratamentos com *M. sylvestris*, nota-se que os extratos aquosos feitos com raízes apresentaram IM um pouco maior do que os extratos da parte aérea, enquanto nos tratamentos com *M. parviflora* não houve esse padrão. Os extratos de *M. sylvestris* que podem ser considerados antiproliferativos foram os feitos a partir de extratos aquosos da parte aérea seca nas concentrações de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹, e das raízes secas em 15 g.L⁻¹. Para *M. parviflora*, os tratamentos antiproliferativos foram também a partir de extratos da parte aérea seca nas concentrações de 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹, e das raízes frescas em 15 g.L⁻¹ e de raízes secas em 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹.

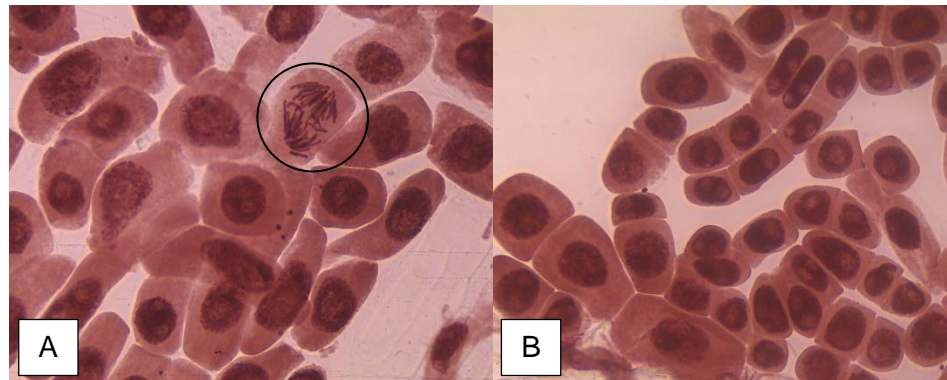
Os tratamentos que inibiram mais fortemente a divisão celular foram os extratos aquosos de parte aérea seca tanto de *M. sylvestris* (T6) como de *M. parviflora* (T15). Esses resultados evidenciaram que os extratos de material seco das duas espécies possuem atividade antiproliferativa, por terem inibido a divisão celular.

Comparando os tratamentos em relação ao índice genotóxico (IG), todos são estatisticamente iguais. Porém, olhando para a percentagem do IG, há a seguinte ordem crescente: T6, T7, T1, T10, T5, T19, T13, T16, T14, T4, T2, T3, T18, T12, T20, T15, T8, T9, T11 e T17.

A ausência de genotoxicidade também foi observada em extratos hidroalcoólicos de *Morus nigra*, de acordo com Santos et al. (2020). O mesmo resultado foi encontrado por Pinheiro et al. (2022) com óleo essencial de *Rosmarinus officinalis*.

Agentes genotóxicos são substâncias que podem causar dano ao material genético. Eles podem ter origem química, física ou biológica (TUENTER et al., 2020), como pesticidas, metais pesados, luz UV, bactérias e outros. Danos cumulativos no DNA podem acarretar em mutações envolvidas no desenvolvimento de câncer, inflamações crônicas, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, entre outras.

Figura 1 - Células da região meristemática de *Allium cepa* L. observadas em microscopia óptica com aumento de 40x. A - anáfase com cromossomos soltos; B - células em interfase.



Fonte: Acervo pessoal das autoras (2022).

A Tabela 2 traz os dados das células de *A. cepa* submetidas ao teste de antigenotoxicidade com extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora* feitos com parte aérea e raízes frescas na concentração de 5 g.L⁻¹, os números de células em interfase, em divisão e irregulares, bem como a porcentagem do índice mitótico e genotóxico.

Tabela 2 - Células de *Allium cepa* L. analisadas em diferentes condições de extratos aquosos de *Malva sylvestris* L. e *Malva parviflora* L. em relação a antigenotoxicidade.

Tratamento	Células Analisadas	Células em Interfase	Células em Divisão	Índice Mitótico %	Células Irregulares	Índice Genotóxico %
T1- CN	3000	2894	151	5,03 a	10	0,33 a
T2- CP	3000	2869	131	4,36 a	53	1,76 a
T21- G+A	3000	2872	128	4,26 a	52	1,73 a
T22- G+PAFMS 5 g.L ⁻¹	3000	2871	129	4,3 a	68	2,26 a
T23- G+RFMS 5 g.L ⁻¹	3000	2903	97	3,23 a	48	1,6 a
T24- G+PAFMP 5 g.L ⁻¹	3000	2889	111	3,7 a	46	1,53 a
T25- G+RFMP 5 g.L ⁻¹	3000	2946	54	1,8 b	30	1 a

Fonte: Elaborado pelas autoras (2022).

T1- CN = Controle negativo (água destilada); T2- CP = Glifosato 1,5%; T21- G+A = Glifosato 1,5% + água destilada; T22- G+PAFMS = Glifosato 1,5% + parte aérea fresca de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹; T23-

G+ RFMS = Glifosato 1,5% + raízes frescas de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹; T24- G+PAFMP = Glifosato 1,5% + parte aérea fresca de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹; T25- G+RFMP = Glifosato 1,5% + raízes frescas de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹.

Agentes antígenotóxicos são os compostos que reduzem o dano causado por agentes genotóxicos no DNA. Eles podem auxiliar na prevenção, atraso ou diminuição dessas condições (TUENTER et al., 2020). Sobre o índice mitótico dos tratamentos de antígenotoxicidade, é possível notar que os tratamentos ficaram divididos em dois grupos estatisticamente diferentes: os tratamentos T1 (controle negativo), T2 (controle positivo), T21 (glifosato + água destilada), T22 (glifosato + parte aérea fresca de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹), T23 (glifosato + raízes frescas de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹) e T24 (glifosato + parte aérea fresca de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹) são estatisticamente iguais entre si, mas diferentes do T25 (glifosato + raízes frescas de *M. parviflora* a 5 g.L⁻¹), que teve o menor índice mitótico (1,80). Ou seja, o único pós-tratamento que interferiu no IM foi o T25, e os outros foram estatisticamente iguais ao controle negativo.

Quanto ao índice genotóxico, os tratamentos foram estatisticamente iguais. Assim, é possível dizer que não são genotóxicos. Porém, comparando o IG dos tratamentos, o menor e mais discrepante foi do T1 (água destilada), seguido do T25, (glifosato + raízes frescas de *M. parviflora*), e em ordem crescente T24, T23, T21, T2 e T22. O maior IG foi do tratamento com glifosato + parte aérea fresca de *M. sylvestris* a 5 g.L⁻¹. Isto é, os extratos aquosos de plantas frescas, tanto de *M. sylvestris* como de *M. parviflora*, não tem a capacidade de reversão das mutações que foram ocasionadas pelo contato com o glifosato. Diferentemente, Tedesco et al. (2017) encontraram efeito antígenotóxico de extratos aquosos feitos a partir de folhas de *Sambucus australis* na concentração de 0.012 g.ml⁻¹.

Analisando pacotes de chás vendidos no Sul do Brasil como *Malva*, Oliveira et al. (2019) encontraram que há um alto consumo de *Pelargonium graveolens* e *Sida cordifolia* no lugar de *M. sylvestris*, que é a espécie com maior número de inconformidades. *S. cordifolia* estava presente em 80% das amostras, sendo que 65% delas tinham o nome de *M. sylvestris* ou apenas o nome comum de malva. Um fator que influencia nisso é que *S. cordifolia* é uma espécie amplamente distribuída no Brasil, enquanto o gênero *Malva* é de mais difícil cultivo, em condições com temperaturas mais baixas e pouco encontrado em ecossistemas selvagens. O fato de embalagens mostrarem o nome errado da planta a ser consumida é perigoso, já que

diferentes espécies possuem diferentes contraindicações, como a *S. cordifolia* que não é indicada para pessoas com problemas cardiovasculares.

3.4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos nesse estudo evidenciaram que os extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora*, independente de secagem ou da parte da planta utilizada, não possuem potencial genotóxico. Os extratos feitos a partir da parte aérea seca das duas espécies em 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹ podem ser considerados antiproliferativos, bem como os extratos feitos a partir das raízes secas em 15 g.L⁻¹ e das flores frescas em 5 g.L⁻¹ de *M. sylvestris* e das raízes frescas em 15 g.L⁻¹ e de raízes secas em 5 g.L⁻¹ e 15 g.L⁻¹ de *M. parviflora*.

Os extratos aquosos de *M. parviflora* preparados a partir de material seco (parte aérea e raízes) nas duas concentrações ou com material fresco na maior concentração possuem efeito citotóxico antiproliferativo, inibindo a divisão celular. Em relação aos extratos aquosos da espécie *M. sylvestris*, apenas aqueles da parte aérea seca, nas duas concentrações, e de raízes secas, na maior concentração, é que apresentaram essa atividade antiproliferativa.

Os extratos aquosos de *M. parviflora* de partes aéreas frescas, nas duas concentrações, e raízes frescas e flores frescas, em 5g.L⁻¹, não apresentaram citotoxicidade. Tampouco os extratos aquosos de material fresco (parte aérea, raízes e flores) de *M. sylvestris*, nas duas concentrações testadas, podendo assim serem considerados seguros para o consumo.

Extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora* a partir do material vegetal fresco em 5 g.L⁻¹ não são antigenotóxicos.

É de suma importância a correta identificação das espécies comercializadas, para um uso mais efetivo e com menos riscos para saúde.

REFERÊNCIAS

ANAND, U.; JACOBO-HERRERA, N.; ALTEMIMI, A.; LAKHSSASSI, N. A Comprehensive Review on Medicinal Plants as Antimicrobial Therapeutics: Potential Avenues of Biocompatible Drug Discovery. **Metabolites**, v. 9, n. 11, p 258, 2019. doi:10.3390/metabo9110258.

AL-SNAFI, A. E. Medical benefit of *Malva neglecta* – A review. **IOSR Journal Of Pharmacy**, v. 9, n. 6, p. 60-67, 2019.

BARROS, L.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: a comparative study of the nutraceutical potential and composition. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 6, p. 1466–1472, 2010.

BONCIU, E.; FIRBAS, P.; FONTANETTI, C. S.; WUSHENG, J.; KARAISSMAILIĞLU, M. C.; LIU, D.; MENICUCCI, F.; PESNYA, D. S.; POPESCU, A.; ROMANOVSKY, A. V.; SCHIFF, S.; ŚLUSARCZYK, J.; SOUZA, C. P.; SRIVASTAVA, A.; SUTAN, A.; PAPINI, A. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia**, v. 71, n. 3, 191-209, 2018. DOI: 10.1080/00087114.2018.1503496.

CRAGG, G.M.; GROTHAUS, P. G.; NEWMAN, D. J. New Horizons for Old Drugs and Drug Leads. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 3, p. 703-723, 2014. DOI: dx.doi.org/10.1021/np5000796.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542014000200001&lng=pt&nrm=iso.

HISTER, C. A. L.; TRAPP, K. C.; BOLIGON, A. A.; TEDESCO, S. B. Determinação de compostos fenólicos e avaliação do potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). **Caderno de Pesquisa**, Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 1, p. 17-30, 2019.

Malva parviflora in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB594807>. Acesso em: 25 nov. 2022.

Malva sylvestris in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB617592>. Acesso em: 25 nov. 2022.

OLIVEIRA, L. P.; BOVINI, M. G.; BORTOLUZZI, R. L. C.; BOFF, M. I. C.; BOFF, P. Species of *Malva* L. (Malvaceae) Cultivated in the Western of Santa Catarina State and Conformity With Species Marketed as Medicinal Plants in Southern Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 15, 2019.

PINHEIRO, S. M. G.; MAMBRÍ, A. P. S.; FRESCURA, V. D.; FUNK, N. L.; KUHN, A. W.; TRAPP, K. C.; ANDRIOLO, J. L.; BOLIGON, A. A.; SILVA, C. B.; TEDESCO, S. B. Composição fitoquímica, efeito antiproliferativo e genotoxicidade do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) cultivado sob diferentes períodos de salinidade. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v. 22, p. 17-24, 2022.

RODRIGUES, L. G.; PEREIRA, J. S.; FREITAS, J. M. B.; UBESSI, C.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative analysis of aqueous extracts of cabreúva (*Myrocarpus frondosus*) on the *Allium cepa* cell cycle. **Caryologia**, v. 73, n. 4, p. 39-44, 2020. DOI: 10.13128/caryologia-776.

SANTOS, P. N. S.; PAZ, F. A. N.; SANTOS, E. N.; BATISTA, N. J. C.; CARVALHO, T. M.; COSTA, C. L. S. Análise do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato hidroalcolóico das folhas da *Morus nigra* L. Através do bioensaio *Allium cepa*. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i4.2968>.

TEDESCO, M.; KUHN, A. W.; FRESCURA, V. D. S.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; TEDESCO, S. B.; SILVA, A. C. F. Assessment of the antiproliferative and antigenotoxic activity and phytochemical screening of aqueous extracts of *Sambucus australis* Cham. & Schltdl. (ADOXACEAE). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n. 89, 2017.

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination**. InTech, p. 137- 156, 2012. DOI: 10.5772/31371.

THE BRAZIL FLORA GROUP. Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. **Taxon**, v. 71, n. 1, p. 178–198, 2022.

TUENTER, E.; CREYLMAN, J.; VERHEYEN, G.; PIETERS, L.; MIERT, S. V. Development of a classification model for the antigenotoxic activity of flavonoids. **Bioorganic Chemistry**, v. 98, n. 103705, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103705>.

World Flora Online (2022): *Malva* L. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000022983>. Acesso em: 08 out. 2022.

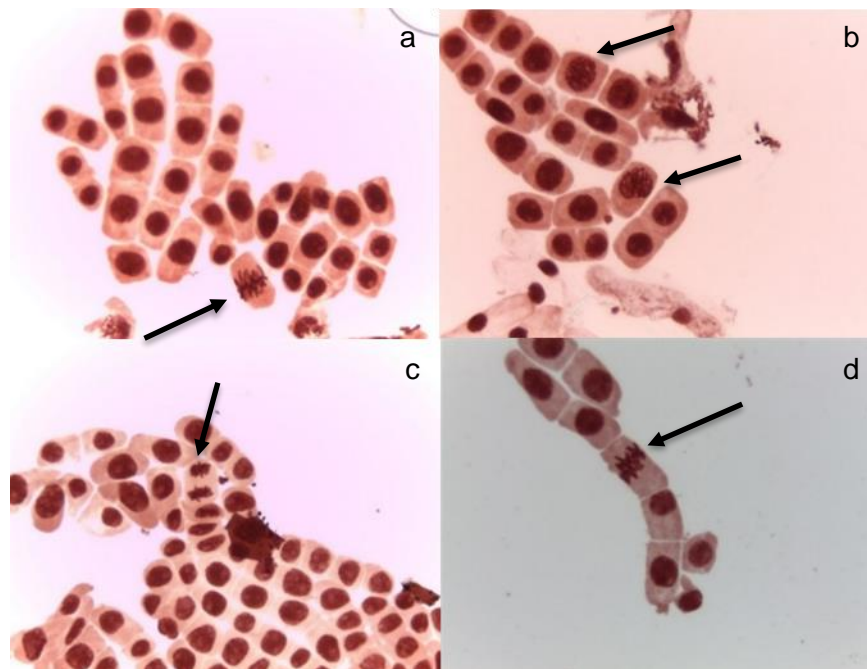
World Flora Online (2022): *Malva parviflora* L. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-0000449230>. Acesso em: 11 out. 2022.

World Flora Online (2022): Malvaceae Juss. Disponível em: <http://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-7000000360>. Acesso em: 08 out. 2022.

4 DISCUSSÃO GERAL

O teste de *Allium cepa* se mostrou como um ótimo bioindicador vegetal de citogenotoxicidade e antigenotoxicidade, concordando com Tedesco & Laughinghouse IV (2012). A Figura 16 mostra as células meristemáticas de *A. cepa* sob tratamentos de *M. parviflora*, evidenciando o fato de que o bioindicador vegetal possui cromossomos relativamente grandes e de fácil observação em microscópio, sendo possível distinguir com facilidade as fases da divisão celular, como metáfase nas imagens a e d.

Figura 16 - Células meristemáticas de *Allium cepa* L. em aumento de 40x. a - seta indicando metáfase; b- setas indicando prófase; c- seta indicando anáfase; d- seta indicando metáfase.



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

O gênero *Malva* é morfologicamente diverso, mas algumas espécies dificilmente são distinguidas desta forma (GARCÍA et al., 2009). De acordo com a pesquisa realizada por Martins et al. (2015) sobre a classificação das “malvas brasileiras”, aproximadamente 21 espécies são conhecidas com esse nome. Oliveira et al. (2019) analisando espécies de *Malva* comercializadas no Oeste do estado de Santa Catarina (Brasil) encontraram inconformidades em 68% dos rótulos analisados, variando entre constar apenas o nome popular e ter o nome científico de uma espécie e o material vegetal ser de outra. Isso é perigoso porque se estiver sendo

comercializada uma espécie medicinal com o nome de outra, quem a consome não sabe o que está ingerindo, nem as contraindicações. Por isso, é fundamental que se tenha a correta identificação.

Observando a Figura 17, é possível encontrar algumas diferenças entre as duas espécies: a flor de *M. sylvestris* é maior e com a coloração rosa-arroxeadada e as folhas são levemente mais escuras, enquanto *M. parviflora* possui flores menores e brancas com pequena parte lilás, e folhas mais claras com tricomas mais evidentes.

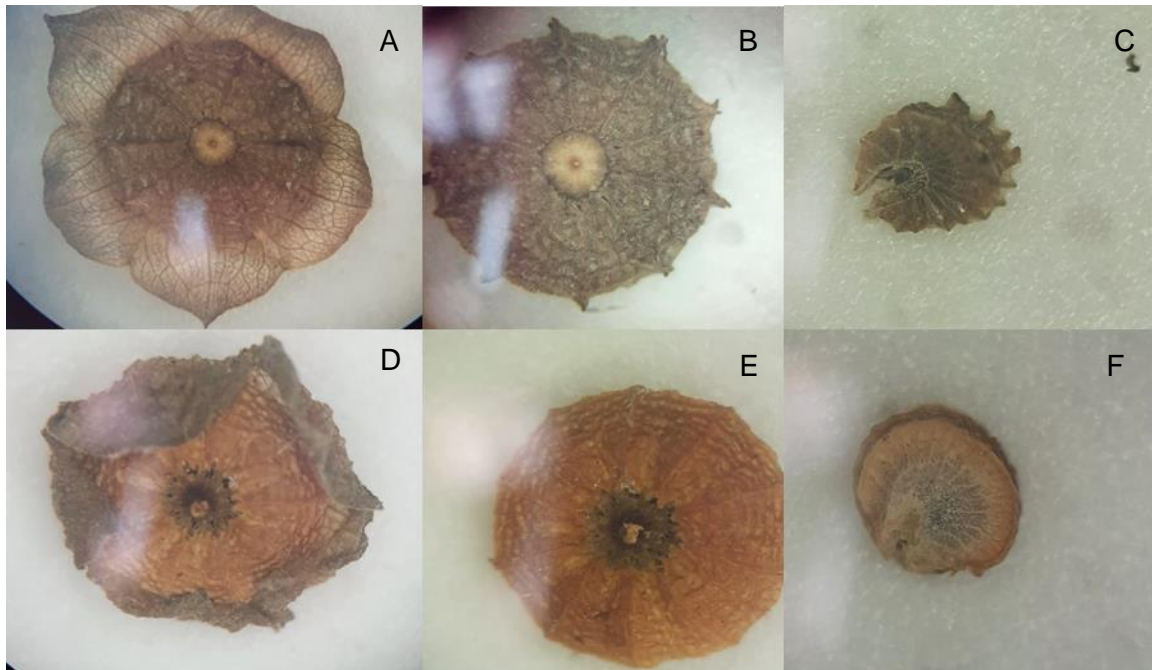
Figura 17 - *Malva sylvestris* L. (esquerda) e *Malva parviflora* L. (direita).



Fonte: Acervo pessoal da autora (2022).

Oliveira et al. (2019) caracterizam a coloração dos esquizocarpos das duas espécies de *Malva* como pardacentos a acinzentados, e na Figura 18 é possível observar que os de *M. parviflora* possuem coloração mais escura e pardacenta, enquanto os esquizocarpos de *M. sylvestris* são de cor mais clara. Os mericarpos de *M. parviflora* possuem projeções levemente aladas, enquanto os de *M. sylvestris* são mais arredondados. O tamanho das estruturas é semelhante nas duas espécies.

Figura 18 - Esquizocarpos e mericarpos de *Malva parviflora* L. (A, B e C) e de *Malva sylvestris* L. (D, E e F).



Fonte: Acervo pessoal da autora (2023).

Apesar do Brasil ser rico em biodiversidade e plantas medicinais, a maioria das plantas na lista da RENISUS é exótica (PALHARES et al., 2015). A espécie *M. sylvestris* consta na lista, mas além de ser exótica, ela é muito difícil de ser encontrada no Brasil. Por outro lado, a *M. parviflora* ocorre no bioma Pampa (TEIXEIRA et al., 2016) e é frequentemente encontrada em pátios e terrenos, e conseqüentemente, mais utilizada que a outra espécie. Assim, seria importante haver um maior estímulo para pesquisa desta espécie para posterior inclusão na RENISUS e consumo mais seguro.

De acordo com a revisão bibliográfica de Azab (2017) o consumo de *M. sylvestris* é seguro de todas as formas, e o teste genotóxico não foi estatisticamente significativo. Analisando o índice genotóxico, foi possível observar que o IG encontrado foi inversamente proporcional a concentração do extrato aquoso, ou seja, foi maior nos extratos de 5 g.L⁻¹ do que nos de 15 g.L⁻¹. Já com os extratos aquosos de *M. parviflora* houve esse padrão apenas nos tratamentos com a parte aérea fresca e raízes secas.

Foi possível observar que as mudas de *M. parviflora* cultivadas para o Artigo 1, entre novembro e dezembro de 2020 sofreram estresse por conta das altas

temperaturas da época, perdendo folhas e morrendo. Porém, esse estresse pode ter aumentado os metabólitos secundários de interesse na medicina tradicional. Assim, há a necessidade de análises fitoquímicas. As mudas da espécie cultivadas entre abril e maio se desenvolveram muito bem e tiveram índice mitótico maior.

Em síntese, além do calor, o não sombreamento também pode ter ajudado para a diferença nos resultados encontrados no teste de *A. cepa*, pois os extratos aquosos de parte aérea de *M. parviflora* sem sombreamento, de material fresco ou seco (T4 e T6), extratos de parte aérea seca com sombreamento (T5) e também extrato de raízes frescas sem sombreamento (T8), foram os tratamentos que mais reduziram o IM, sendo considerados citotóxicos.

Yuan et al. (2016) observaram o grande número de potenciais medicamentos que por vários motivos, não avançaram para o uso clínico e comercial. Porém, também destacam o impressionante progresso da pesquisa multidisciplinar em produtos naturais que tem sido feita nos últimos anos, e que segue em ritmo acelerado.

As propriedades medicinais das plantas estão associadas com os metabólitos secundários, e alguns tipos específicos são sintetizados apenas em certas condições, então para se ter produtos de qualidade, é necessário cultivar as plantas medicinais em ambientes cuidadosamente controlados. Yang et al. (2018) dizem que o uso de estresse ambiental pode fornecer uma maneira potencial e lucrativa de aumentar o acúmulo de compostos bioativos, melhorar a qualidade e reduzir as pressões de colheita excessiva de plantas medicinais.

Muitos metabólitos secundários de interesse são acumulados nas raízes, mas a colheita delas é destrutiva para as plantas. Kusuma et al. (2017) apontam que a produção deles geralmente é maior em tecidos diferenciados, e que tem aumentado o interesse em desenvolver raízes adventícias de espécies de plantas medicinais em cultivo *in vitro*. Porém, com os extratos aquosos de *M. sylvestris* e *M. parviflora* é possível notar que não há a necessidade de os extratos aquosos serem feitos com raízes, já que não há diferença significativa no índice genotóxico entre as raízes e partes aéreas, mas há no índice mitótico.

Em relação à época do ano, quando o calor não era mais tão forte, o que mais influenciou as diferenças entre os tratamentos foi a secagem do material vegetal. Isto porque com a secagem ocorre a evaporação da água presente nos tecidos vegetais, o que pode ampliar a concentração dos metabólitos secundários. Também há diferença entre as duas espécies, indicando que cada uma possui peculiaridades em

relação a seus metabólitos produzidos. Nesse sentido, os tratamentos que tiveram efeito citotóxico através da redução da proliferação celular foram os extratos aquosos de material fresco e seco (raízes e parte aérea) de *M. parviflora*, e os extratos aquosos da parte aérea e raízes secas de *M. sylvestris*.

Há vários medicamentos e moléculas derivados de plantas medicinais que deram certo: Aspirina, que veio de *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim; Papaverina, de *Papaver somniferum* L.; Artemisinina, de *Artemisia annua* L.; Camptotecina, de *Camptotheca acuminata* Decne, entre outros.

Um grande esforço deve ser feito para explorar e avaliar a potencial caracterização molecular dos compostos medicinais, com auxílio de bancos de dados e grupos interdisciplinares. No final, a descoberta de novas medicações mais efetivas e menos tóxicas, vai beneficiar a população mundial (ANAND et al., 2020).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir deste estudo, é possível destacar a inexistência de mudas de *M. sylvestris* para comprar, nas regiões Sudeste e Sul do Brasil; a incorreta identificação das espécies de *Malva* de vendedores de plantas; a dificuldade em identificar mudas sem flor; e o fato de o gênero não estar muito adaptado com o calor que ocorre em Santa Maria- RS.

As propriedades medicinais das plantas estão associadas com os metabólitos secundários, que por sua vez são influenciados pelo ambiente. Assim, a fim de se ter plantas medicinais de qualidade, é necessário que sejam cultivadas em ambientes controlados.

As espécies do gênero *Malva* estão mais habituadas com climas frios, fato que foi evidente quando comparados os períodos do ano em que os cultivos em casa de vegetação foram feitos. As mudas de *Malva parviflora* cultivadas entre novembro e dezembro de 2020 tiveram um crescimento menor e menos quantidade de folhas, quando comparadas as cultivadas entre abril e maio de 2022. Porém, há a necessidade de estudos fitoquímicos para analisar qual a melhor forma de cultivo a fim de ter plantas com mais quantidades de propriedades medicinais.

O sombreamento não influencia a citotoxicidade das raízes de *Malva parviflora*, em contrapartida faz diminuir os potenciais efeitos citotóxicos da parte aérea, uma vez que ele diminui o estresse causado pelo calor e radiação solar. Os extratos aquosos de *Malva sylvestris* e *Malva parviflora* não são genotóxicos. Para *M. parviflora*, a secagem do material vegetal não influencia a citotoxicidade que se mostrou presente nos extratos de parte aérea e raízes frescas e secas nas duas concentrações testadas; por outro lado na espécie *M. sylvestris* apenas os extratos de parte aérea e raízes secas que apresentaram efeito antiproliferativo, mais acentuado na maior concentração, de 15 g.L⁻¹.

Não é possível dizer que *M. sylvestris* e *M. parviflora* possuem potencial antígeno-tóxico, já que não houve diferença estatística nos tratamentos.

REFERÊNCIAS

- ABKAR, S.; HANIF, U.; ALI, J.; ISHTIAQ, S. Pharmacognostic studies of stem, roots and leaves of *Malva parviflora* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 5, p. 410-415, 2014.
- AKHTAR, N.; HAQ, I. U.; MIRZA, B. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 8, p. 1223-1235, 2018.
- ANAND, U.; JACOBO-HERRERA, N.; ALTEMIMI, A.; LAKHSSASSI, N. A Comprehensive Review on Medicinal Plants as Antimicrobial Therapeutics: Potential Avenues of Biocompatible Drug Discovery. **Metabolites**, v. 9, n. 11, p 258, 2019. DOI:10.3390/metabo9110258.
- AYRES, M. et al. **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém: ONG Mamiraua, 364p, 2007.
- AZAB, A. *Malva*: Food, medicine and chemistry. **European Chemical Bulletin**, v. 6, n. 7, p. 295–320, 2017. DOI: 10.17628/ecb.2017.6.295-320.
- BAUQUIER, J.; STENT, A.; GIBNEY, J.; JERRETT, I.; WHITE, J.; TENNENT-BROWN, B.; PEARCE, A.; PITT, J. Evidence for marsh mallow (*Malva parviflora*) toxicosis causing myocardial disease and myopathy in four horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 49, p. 307–313, 2016. DOI: 10.1111/evj.12604.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Plantas Medicinais de Interesse ao SUS – Rénisus**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/daf/pnmpf/ppnmpf/renisus>. Acesso em: 05 nov. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Exposição marca os 15 anos da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/fevereiro/exposicao-marca-os-15-anos-da-politica-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos>. Acesso em: 05 nov. 2022.
- BONCIU, E.; FIRBAS, P.; FONTANETTI, C. S.; WUSHENG, J.; KARAISSMAILIĞLU, M. C.; LIU, D.; MENICUCCI, F.; PESNYA, D. S.; POPESCU, A.; ROMANOVSKY, A. V.; SCHIFF, S.; ŚLUSARCZYK, J.; SOUZA, C. P.; SRIVASTAVA, A.; SUTAN, A.; PAPINI, A. An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. **Caryologia**, v. 71, n. 3, 191-209, 2018. DOI: 10.1080/00087114.2018.1503496.
- CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**, v. 426, p. 211-214, 1999.
- CASTILHO, I. **Congresso celebra 10 anos do programa de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do SUS**. Brasil, Ministério da Saúde, 2018. Disponível em:

<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2018/novembro/congresso-celebra-10-anos-do-programa-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-do-sus>. Acesso em: 13 nov. 2022.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542014000200001&lng=pt&nrm=iso. Acesso em: 05 nov. 2022.

GARCÍA, P. E.; SCHÖNSWETTER, P.; AGUILAR, J. F.; FELINER, G. N.; SCHNEEWEISS, G. M. Five molecular markers reveal extensive morphological homoplasy and reticulate evolution in the *Malva* alliance (Malvaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 50, n. 2, p. 226-239, 2009. DOI: 10.1016/j.ympev.2008.10.015.

HISTER, C. A. L.; TRAPP, K. C.; BOLIGON, A. A.; TEDESCO, S. B. Determinação de compostos fenólicos e avaliação do potencial genotóxico e antiproliferativo de extratos aquosos das folhas de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). **Caderno de Pesquisa**, Santa Cruz do Sul, v. 31, n. 1, p. 17-30, 2019.

HERRERO, O.; PÉREZ-MARTÍN, J. M.; FREIRE, P. F.; LÓPEZ, L. C.; PEROPADRE, A.; HAZEN, M. J. Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research**, v. 743, n. 1-2, p. 20-24, 2012. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2011.12.028.

KUSUMA, D. Y.; KRISTANTI, A. N.; MANUHARA, Y. S. W. Effect of Sucrose and Immersion Frequency on Production of Adventitious Roots and Secondary Metabolites of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr in Temporary Immersion Bioreactors. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 16, p. 24-36, 2017.

MARTINS, C. A. F.; PIANTAVINI, M. S.; RIBEIRO, R. P.; AMANO, E.; DAL-PRÁB, B. V.; PONTAROLO, R. Non-Targeted Electrospray Mass Spectrometry-Based Metabolic Fingerprinting and PLS-DA-Based Classification of Brazilian "Malvas". **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 2, p. 365-372, 2015. DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140288>.

MIKAILI, P.; SHAYEGH, J.; ASGHARI, M. H. Review on the indigenous use and ethnopharmacology of hot and cold natures of phytomedicines in the Iranian traditional medicine. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 2, p. S1189-S93, 2012.

MIRANDA, G. S.; SANTANA, G. S.; MACHADO B. B.; COELHO, F. P.; CARVALHO, C. A. Atividade antibacteriana *in vitro* de quatro espécies vegetais em diferentes graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 15, n. 1, p. 104-111, 2013.

NASER, E. H.; MAHDI, L. S.; ALASADI, R. T. Phytochemical Constituents and Pharmacological Activity of *Malva parviflora* plant: A Review. **Scientific Journal of Medical Research**, v. 6, n. 23, p. 35-44, 2022. DOI: 10.37623/sjomr.v06i23.06.

OLIVEIRA, L. P.; BOVINI, M. G.; BORTOLUZZI, R. L. C.; BOFF, M. I. C.; BOFF, P. Species of *Malva* L. (Malvaceae) Cultivated in the Western of Santa Catarina State and Conformity With Species Marketed as Medicinal Plants in Southern Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 15, 2019.

PAUL, D. A review on biological activities of common mallow *Malva sylvestris* L. **Innovare Journal of Life Sciences**, v. 4, n. 5, p. 1-5, 2016.

PALHARES, R. M.; DRUMMOND, M. G.; BRASIL, B. S. A. F.; COSENZA, G. P.; BRANDÃO, M. G. L.; OLIVEIRA, G. Medicinal Plants Recommended by the World Health Organization: DNA Barcode Identification Associated with Chemical Analyses Guarantees Their Quality. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, 2015.
DOI: 10.1371/journal.pone.0127866.

PEREIRA, J. S.; RODRIGUES, L. G.; FREITAS, J. M. B.; TEDESCO, S. B. Potencial antiproliferativo de extratos aquosos de cascas de *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos pelo teste *Allium cepa* L. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 16, n. 29, p. 1925-1932, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858 p

TEDESCO, S. B.; LAUGHINGHOUSE, H. D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination**, p. 137- 156, 2012. DOI: 10.5772/31371.

TEDESCO, M.; KUHN, A. W.; FRESCURA, V. D. S.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; TEDESCO, S. B.; SILVA, A. C. F. Assessment of the antiproliferative and antigenotoxic activity and phytochemical screening of aqueous extracts of *Sambucus australis* Cham. & Schldl. (ADOXACEAE). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, n. 89, 2017.

TEIXEIRA, M. P.; CRUZ, L.; FRANCO, J. L.; VIEIRA, R. B.; VALDIR MARCOS STEFENON, V. M. Ethnobotany and antioxidant evaluation of commercialized medicinal plants from the Brazilian Pampa. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 1, p. 47-59, 2016.

RODRIGUES, L. G.; PEREIRA, J. S.; FREITAS, J. M. B.; UBESSI, C.; TEDESCO, S. B. Antiproliferative analysis of aqueous extracts of cabreúva (*Myrocarpus frondosus*) on the *Allium cepa* cell cycle. **Caryologia**, v. 73, n. 4, p. 39-44, 2021. DOI: 10.13128/caryologia-776.

SILVA, G. G.; LÉDA, P. H. O.; OLIVEIRA, D. R. Fitoterápicos disponíveis na RENAME e aquisição pelo SUS: uma contribuição para análise da PNPMF. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 4, 2022. DOI: <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1364>.

YANG, L.; WEN, K. S.; RUAN, X.; ZHAO, Y. X.; WEI, F.; WANG, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. **Molecules**, v. 23, n. 4, 2018. DOI:10.3390/molecules23040762.

YUAN, H.; MA, Q.; YE, L.; PIAO, G. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. **Molecules**, v. 21, n. 559, 2016. DOI: 10.3390/molecules21050559.

ZAYED, M. F.; EISA, W. H.; HEZMA, A. M. Spectroscopic and antibacterial studies of anisotropic gold nanoparticles synthesized using *Malva parviflora*. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 83, p. 1046-1050, 2017. DOI: 10.1007/s10812-017-0406-6.

ZORATTI, L.; KARPPINEN, K.; ESCOBAR, A. L.; HÄGGMAN, H.; JAAKOLA, L. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. **Frontiers in Plant Science: Plant Metabolism and Chemodiversity**, v. 5, n. 534, 16p., 2014. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00534>.