CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DE FENOXIACETATOS SEMISSINTÉTICOS DE FENÓIS NATURAIS EM *LACTUCA SATIVA*

Maria Eliza Soares Queiroz[1], Jorge Luiz Pereira[2], João Paulo de Morais Oliveira[1], Nicole Lima dos Santos[1], Elias Terra Werner[3], Patrícia Fontes Pinheiro[2], Milene Miranda Praça Fontes[1].

[1]Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alto Universitário, s/n, Caixa Postal 16, Bairro Guararema - 29500-000 - Alegre-ES, Brasil, mariaelizasqueiroz@gmail.com.
[2]Departamento de Química (DEQ), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário - 36570-900 - Viçosa-MG, Brasil.
[3]Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Avenida Fernando Ferrari, 514, Goiabeiras - 29075-910 - Vitória-ES, Brasil.

Resumo
A resistência de plantas daninhas aos herbicidas sintéticos impulsiona a busca por produtos naturais com potencial herbicida. Avaliou-se o perfil citotóxico e genotóxico de quatro ésteres fenoxiacetatos de alquila semissintéticos derivados de fenóis naturais (FET, TET, CET e CBUT2) em células meristemáticas radiculares de *Lactuca sativa L.*, por meio do índice mitótico, de alterações cromossômicas, de micronúcleos e de alterações nucleares, em seis concentrações (0,0625 a 2,0 mmol L^{-1}). Os quatro compostos reduziram significativamente o índice mitótico em todas as concentrações, sem aumentar micronúcleos ou alterações nucleares, com alterações cromossômicas pontuais apenas no CET na maior concentração. A Análise de Componentes Principais explicou 79,9% da variância total, confirmando correlação negativa entre índice mitótico e os indicadores de dano cromossômico e nuclear. Os resultados indicam perfil predominantemente citotóxico e baixo risco genotóxico, reforçando o potencial desses ésteres como protótipos herbicidas citogeneticamente seguros.

Palavras-chave: Índice mitótico. Herbicidas. Bioindicador vegetal. Micronúcleos. Ciclo celular.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Genética

Introdução

O manejo de plantas daninhas é um dos principais desafios da agricultura moderna, sendo o controle químico a estratégia mais utilizada. Contudo, o uso contínuo de herbicidas com o mesmo mecanismo de ação tem favorecido a seleção de populações resistentes, enquanto os impactos ambientais associados ao uso intensivo desses compostos têm impulsionado a busca por alternativas mais sustentáveis (Heap, 2026). Nesse cenário, ésteres fenoxiacetatos de alquila, semissintéticos, derivados de fenóis naturais (timol, carvacrol e fenol) foram previamente selecionados, por triagem computacional e bioensaio preliminar, como candidatos promissores a protótipos herbicidas: fenoxiacetato de etila (FET), timoxiacetato de etila (TET), carvacroxiacetato de etila (CET) e carvacroxiacetato de sec-butila (CBUT2).

Embora a atividade fitotóxica seja um critério importante nessa seleção inicial, ela não é suficiente, sozinha, para caracterizar o potencial herbicida de um composto, já que a redução do crescimento vegetal é apenas uma das manifestações possíveis da ação de moléculas bioativas e nem sempre revela os mecanismos celulares envolvidos. Por isso, ensaios citogenéticos em células meristemáticas radiculares foram incorporados a este estudo, permitindo investigar diretamente os efeitos dos compostos sobre o ciclo celular, a organização cromossômica e a estabilidade do material genético. O índice mitótico, as alterações cromossômicas, os micronúcleos e as alterações nucleares são reconhecidos como biomarcadores clássicos de citotoxicidade e genotoxicidade em tecidos meristemáticos vegetais, permitindo distinguir efeitos predominantemente citostáticos (associados à interrupção reversível da divisão celular) daqueles relacionados a danos cromossômicos permanentes (Fiskesjö, 1985; Leme; Marin-Morales, 2009; Andrade-Vieira et al., 2013).

Para esse tipo de avaliação, *Lactuca sativa L.* é amplamente utilizada como espécie bioindicadora em ensaios de citogenotoxicidade vegetal, pela sua sensibilidade, pelo ciclo celular bem caracterizado

e pela facilidade de visualização cromossômica, o que a consolidou como planta-modelo na avaliação do risco de contaminação ambiental (Aragão et al., 2021). Além da praticidade experimental, ensaios genotóxicos conduzidos em raízes de *L. sativa* têm se mostrado tão confiáveis quanto ensaios equivalentes realizados em leucócitos humanos, o que reforça a relevância desse bioindicador vegetal também para a avaliação de riscos à saúde humana (Reis et al., 2017).

Considerando o elevado potencial fitotóxico já demonstrado pelos quatro ésteres selecionados e as limitações das abordagens exclusivamente computacionais e macroscópicas, este trabalho partiu da hipótese de que essas moléculas seriam capazes de induzir alterações citogenéticas compatíveis com interferência em processos essenciais da divisão celular. Assim, o objetivo foi caracterizar o perfil citotóxico e genotóxico de FET, TET, CET e CBUT2 em células meristemáticas radiculares de *L. sativa*, por meio do índice mitótico, de alterações cromossômicas, de micronúcleos e de alterações nucleares.

Metodologia

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal do Espírito Santo, campus de Alegre. Os quatro ésteres fenoxiacetatos de alquila semissintéticos (FET, TET, CET e CBUT2), previamente sintetizados e caracterizados por métodos espectroscópicos, foram avaliados em seis concentrações (2,0; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 e 0,0625 mmol L^{-1}), além dos controles negativos (água destilada e Tween 20 a 0,5% v/v) e positivos (glifosato e 2,4-D, ambos a 2 mmol L^{-1}). As concentrações avaliadas foram obtidas por diluição seriada a partir da maior concentração (2,0 mmol L^{-1}), com o objetivo de identificar a menor concentração ainda capaz de induzir efeito citotóxico detectável.

Antes da avaliação citogenética, a atividade fitotóxica dos quatro ésteres foi avaliada diretamente sobre sementes de *L. sativa* em bioensaio de pré-emergência. Em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, revestidas com papel-filtro, distribuíram-se 25 sementes por placa, às quais foram adicionados 2,5 mL da solução-teste correspondente a cada tratamento; as placas foram vedadas com filme de PVC e incubadas em câmara de crescimento tipo BOD, a 25 ± 2°C, sob fotoperíodo de 16 horas de luz e 8 horas de escuro. A germinação foi monitorada a cada 8 horas durante as primeiras 48 horas, calculando-se a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação; o comprimento radicular foi mensurado após 48 horas e o da parte aérea após 120 horas, com paquímetro digital, conforme metodologia descrita por Alves et al. (2026).

A citotoxicidade e a genotoxicidade dos quatro ésteres semissintéticos foram avaliadas em sementes de *L. sativa*, utilizando-se o sistema-teste descrito por Andrade-Vieira et al. (2013). Como a exposição direta das sementes às moléculas promoveu inibição completa do crescimento radicular no ensaio de pré-emergência, empregou-se o método indireto: as sementes foram inicialmente pré-germinadas em água destilada até que as raízes atingissem aproximadamente 1 a 2 mm de comprimento e, então, transferidas para as soluções-teste, permanecendo em exposição por 24 horas. Ao término do tratamento, as pontas radiculares foram fixadas em solução de Carnoy (etanol e ácido acético, 3:1 v/v) e armazenadas a -20°C. As lâminas citológicas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com orceína acética a 2%, analisando-se ao microscópio óptico cerca de 5.000 células por tratamento, distribuídas em cinco repetições experimentais.

A citotoxicidade foi determinada pelo índice mitótico, enquanto a genotoxicidade foi avaliada pela frequência de alterações cromossômicas em relação às células em divisão (CA% div.) e ao total de células analisadas (CA% cel.), pela frequência de micronúcleos (MN) e pela frequência de alterações nucleares (NA). Os dados foram transformados por $x + 0,5$ e submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett. As médias foram comparadas por ANOVA seguida do teste de Dunnett em relação aos quatro controles ($p < 0,05$), e o conjunto dos cinco biomarcadores citogenéticos foi explorado ainda por Análise de Componentes Principais (PCA). Todas as análises estatísticas foram realizadas no software R.

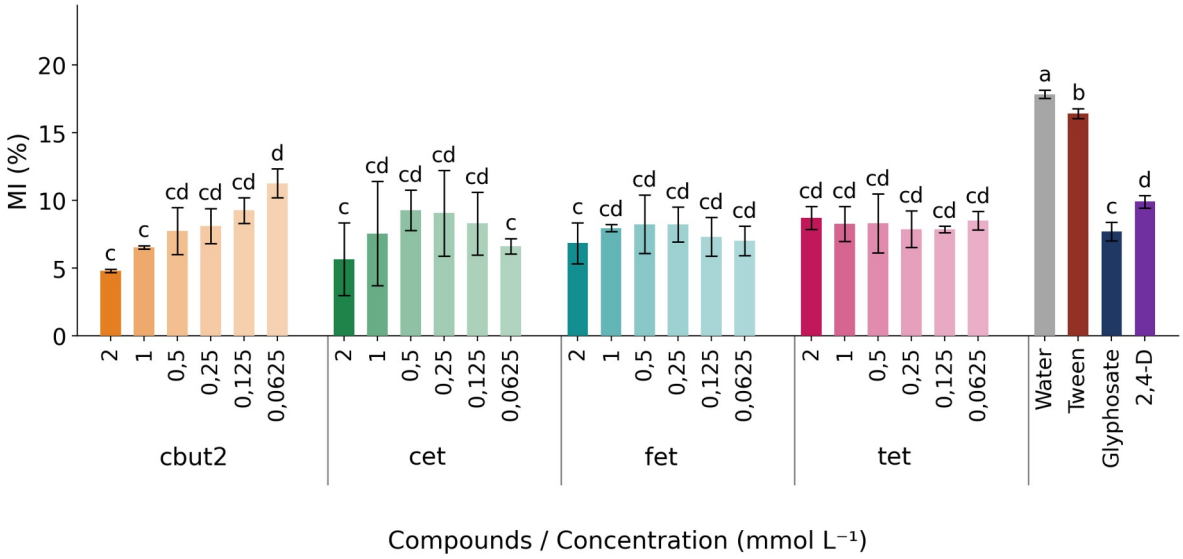
Resultados

No bioensaio de pré-emergência, os quatro ésteres fenoxiacetatos de alquila promoveram inibição completa da germinação das sementes de *L. sativa* em todas as concentrações testadas. Pelo teste de Dunnett, nenhum tratamento diferiu estatisticamente do 2,4-D, enquanto todos diferiram significativamente dos controles água, Tween 20 e glifosato, configurando resposta do tipo tudo-ou-nada. Como o índice de velocidade de germinação, o crescimento radicular e o crescimento da parte aérea são variáveis dependentes da emissão da radícula, a inibição completa da germinação

impossibilitou a obtenção dessas medidas e a construção de curvas dose-resposta, o que motivou a adoção do método indireto, com sementes pré-germinadas, na avaliação citogenética subsequente.

Entre os cinco biomarcadores avaliados, o índice mitótico foi o parâmetro que apresentou a resposta mais consistente aos tratamentos (Figura 1). Os quatro ésteres fenoxiacetatos de alquila promoveram redução do índice mitótico em relação aos controles negativos em todas as combinações de molécula e concentração testadas. CBUT2 e CET apresentaram comportamento dependente da concentração: nas maiores concentrações (2,0 e 1,0 mmol L^{-1} para CBUT2; 2,0 mmol L^{-1} para CET), o índice mitótico não diferiu estatisticamente do glifosato, controle positivo que promoveu a maior redução da atividade mitótica, enquanto nas menores concentrações a resposta se aproximou da observada para o 2,4-D. Já FET e TET apresentaram perfil citotóxico relativamente uniforme ao longo de toda a faixa de concentrações estudada.

Figura 1 - Índice mitótico de células meristemáticas de *L. sativa* após exposição aos ésteres fenoxiacetatos de alquila e aos controles. Letras distintas indicam diferença estatística pelo teste de Dunnett (p<0,05).

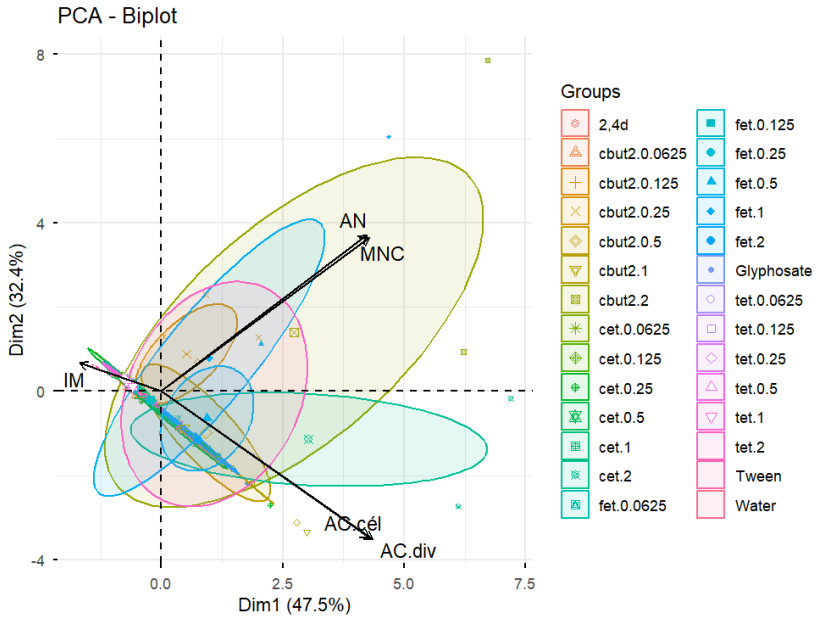


Fonte: os autores.

Os parâmetros ligados à estabilidade cromossômica e nuclear, por sua vez, tiveram respostas bem menos pronunciadas, sem diferença estatística em relação aos controles para a maioria das combinações molécula-concentração, com exceção pontual do CET a 2,0 mmol L^{-1}. As frequências de micronúcleos e de alterações nucleares não diferiram dos controles em nenhum tratamento.

A Análise de Componentes Principais explicou 79,9% da variância total dos dados (47,5% na Dim1 e 32,4% na Dim2; Figura 2): o vetor do índice mitótico se projetou em direção oposta aos vetores associados aos danos cromossômicos e nucleares, indicando correlação negativa entre atividade proliferativa e ocorrência de alterações citogenéticas.

Figura 2 - PCA (biplot) dos biomarcadores citogenéticos em *L. sativa*. MI = índice mitótico; CA% div./cel. = alterações cromossômicas; MNC = micronúcleo; NA = alteração nuclear.



Fonte: os autores.

Discussão

A redução do índice mitótico é um dos indicadores mais sensíveis de citotoxicidade em tecidos meristemáticos vegetais, refletindo a diminuição da proliferação celular por interrupção do ciclo, com interferência em processos como síntese proteica, metabolismo energético e organização do fuso mitótico (Grant, 1994; Leme; Marin-Morales, 2009). Esse padrão é compatível com moléculas de elevada atividade herbicida, já que a interrupção da divisão celular compromete o estabelecimento inicial da planta.

As alterações cromossômicas e nucleares costumam decorrer de quebras ou falhas no fuso mitótico (Fiskesjö, 1985; Leme; Marin-Morales, 2009), manifestando-se mais quando a célula avança pelo ciclo após o dano; como os ésteres causaram forte bloqueio proliferativo, sua detecção pode ter sido limitada nas concentrações mais citotóxicas. O resultado do CET a 2,0 mmol L^{-1}, em que a maior redução do índice mitótico coincidiu com o único aumento de dano cromossômico, sugere que essa concentração pode ter ultrapassado a capacidade celular de reparo (Venkataravanappa et al., 2025).

As frequências de micronúcleos e de alterações nucleares, biomarcadores associados a dano genético mais permanente (Fenech, 2000), não diferiram dos controles em nenhum tratamento, o que reforça que compostos herbicidas podem atuar por interferência em processos fisiológicos essenciais, causando paralisação do crescimento celular sem necessariamente provocar alterações estruturais permanentes no DNA (Felisbino et al., 2018): elevada atividade fitotóxica não implica, por si só, dano genético proporcional.

Esse padrão faz sentido biologicamente, já que a redução acentuada do índice mitótico limita o número de células que chegam a progredir pelas fases mitóticas, etapa em que danos cromossômicos se tornam detectáveis. Por isso, o baixo risco genotóxico observado deve ser interpretado também como uma possível limitação de detecção decorrente da elevada citotoxicidade, e não apenas como evidência direta de segurança genética dos compostos.

Conclusão

Os quatro ésteres fenoxiacetatos de alquila semissintéticos avaliados apresentaram perfil citogenético predominantemente citotóxico em *L. sativa*, com redução consistente do índice mitótico e baixo risco genotóxico nas condições testadas, e FET e TET mostrando resposta mais uniforme entre concentrações. Esse perfil reforça o potencial dessa classe de compostos como protótipos herbicidas com boa segurança citogenética, sugerindo viabilidade dos ésteres fenoxiacetatos de alquila

semissintéticos como alternativa no enfrentamento da resistência de plantas daninhas aos herbicidas sintéticos atualmente disponíveis. Estudos futuros devem investigar os mecanismos por trás da redução da atividade mitótica e ampliar o tempo de exposição, de modo a confirmar se o baixo dano cromossômico reflete segurança genética ou apenas uma limitação de detecção associada à elevada citotoxicidade.

Referências

ALVES, T. A.; ALVES, T. A.; GAZOLLA, P. A. R.; LIMA, A. M. A.; OLIVEIRA, M. B.; BELARMINO, W. S.; SENA, C. L.; TEIXEIRA, R. R.; WERNER, E. T.; CAMPOS, O. S.; COSTA, A. V.; PRAÇA-FONTES, M. M. Cytogenotoxic effects and physicochemical and molecular profiles of eugenol-derived triazoles with phytotoxic potential. **Chemistry & Biodiversity**, v. 23, e03621, 2026.

ANDRADE-VIEIRA, L. F.; BOTELHO, C. M.; LAVIOLA, B. G.; PALMIERI, M. J.; PRAÇA-FONTES, M. M. Effects of *Jatropha curcas* oil in *Lactuca sativa* root tip bioassays. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 1, p. 373-382, 2013.

ARAGÃO, F. B.; DUARTE, I. D.; FANTINATO, D. E.; GALTER, I. N.; SILVEIRA, G. L.; REIS, G. B.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; MATSUMOTO, S. T. Toxicogenetic of tebuconazole based fungicide through *Lactuca sativa* bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 213, 111985, 2021.

FELISBINO, K.; SANTOS-FILHO, R.; PIANCINI, L. D. S.; CESTARI, M. M.; LEME, D. M. Mesotrione herbicide does not cause genotoxicity, but modulates the genotoxic effects of atrazine when assessed in mixture using a plant test system (*Allium cepa*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 150, p. 83-88, 2018.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 455, p. 81-95, 2000.

FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for the detection of environmental mutagens. **Mutation Research**, v. 310, p. 175-185, 1994.

HEAP, I. The international herbicide-resistant weed database. 2026. Disponível em: http://www.weedscience.org. Acesso em: 15 ago. 2026.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

REIS, G. B.; ANDRADE-VIEIRA, L. F.; MORAES, I. C.; CÉSAR, P. H. S.; MARCUSSI, S.; DAVIDE, L. C. Reliability of plant root comet assay in comparison with human leukocyte comet assay for assessment environmental genotoxic agents. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 142, p. 110-116, 2017.

VENKATARAVANAPPA, J. T.; SARASWATHI, S.; GOPALKRISHNASHETTY, Y. S.; SOMAN, P.; GUPTA, N. M. L.; SRIVASTAVA, S.; KUMARI, S. *Allium cepa* L. as a bioindicator: A comprehensive review of genotoxicity and cytotoxicity assessment methods**. Toxicon**, v. 267, 108586, 2025.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da UFES/Alegre e ao Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV) pelo apoio financeiro, infraestrutura e recursos fornecidos para a realização deste estudo.