EFEITOS DAS MOLÉCULAS FME E TMET SOBRE O CICLO CELULAR E A ESTABILIDADE CROMOSSÔMICA EM *Lactuca sativa*

Isabela Vitória Miranda Santos Belisário[1]; Maria Eliza Soares Queiróz[1]; Artur Campos de Oliveira[1], João Paulo de Morais Oliveira[1], Jorge Luiz Pereira[2]; Patrícia Fontes Pinheiro[2], Milene Miranda Praça Fontes[1]

[1] Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde - CCENS, Alegre, ES, Brasil. isabelavitoriamsb@gmail.com , mariaelizasqueiroz@gmail.com camposdeoliveira.artur@gmail.com, joaopaulo.ueg@gmail.com, milenemiranda@yahoo.com.br
[2] Departamento de Química (DEQ), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG, Brasil. jorge.pereira@ufv.br , patricia.pinheiro@ufv.br

Resumo
Para que uma substância seja caracterizada como agente herbicida eficiente, é essencial compreender sua atuação em nível celular. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos citotóxicos e citogenotóxicos dos ésteres semissintéticos fenoxiacetato de metila (FME) e timoxiacetato de metila (TMET) sobre células meristemáticas de raízes de *Lactuca sativa*, por meio da determinação do Índice Mitótico (IM%) e da frequência de alterações cromossômicas. Sementes de *L. sativa* foram tratadas com FME e TMET nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 mmol L^{-1}, utilizando água destilada e Tween 20 como controles negativos e o herbicida 2,4-D como controle positivo, em delineamento inteiramente casualizado. Após 48 horas, raízes foram coletadas, fixadas e preparadas para análise citogenética por coloração com orceína acética. Na concentração de 2,0 mmol L^{-1}, ambos os compostos promoveram inibição mitótica total (IM% = 0,0%), efeito equivalente ao do 2,4-D. O FME apresentou citotoxicidade mais pronunciada que o TMET na concentração intermediária (1,0 mmol L^{-1}). A alteração cromossômica predominante foi a c-metáfase, indicando interferência no fuso mitótico, embora sem significância estatística devido ao número reduzido de repetições. Conclui-se que FME e TMET exercem efeito citotóxico sobre *L. sativa*, reforçando seu potencial como candidatos a bioherbicidas de origem semissintética.

Palavras-chave: Citotoxicidade. Genotoxicidade. Índice mitótico. Ésteres bioativos. Alface.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas.

Introdução

O uso contínuo e, muitas vezes, repetitivo de herbicidas com os mesmos mecanismos de ação tem contribuído para a seleção de populações de plantas daninhas resistentes, comprometendo a eficiência do controle químico e dificultando o manejo dessas espécies em sistemas agrícolas. Esse cenário evidencia a necessidade de prospecção de novas moléculas com atividade herbicida, especialmente compostos que apresentem estruturas químicas distintas e possam interferir em processos fisiológicos e celulares essenciais ao desenvolvimento vegetal. Nesse contexto, produtos naturais e seus derivados semissintéticos constituem importantes fontes de moléculas bioativas e têm despertado interesse para o desenvolvimento de novos herbicidas.

Entre os compostos naturais com potencial para essa finalidade, destacam-se os compostos fenólicos, que apresentam ampla diversidade estrutural e diferentes atividades biológicas. Modificações químicas realizadas a partir dessas moléculas podem originar derivados semissintéticos com propriedades físico-químicas e biológicas distintas das substâncias precursoras (Pinheiro *et al.*, 2024b). Essa estratégia permite explorar relações entre estrutura química e atividade biológica, além de possibilitar a obtenção de moléculas com maior atividade sobre processos relacionados à germinação, ao crescimento e ao desenvolvimento vegetal. Entretanto, a identificação de um efeito fitotóxico constitui apenas uma etapa inicial na caracterização de uma molécula com potencial herbicida. A compreensão dos mecanismos celulares associados a esse efeito é fundamental para caracterizar sua bioatividade e os possíveis alvos envolvidos na inibição do crescimento vegetal.

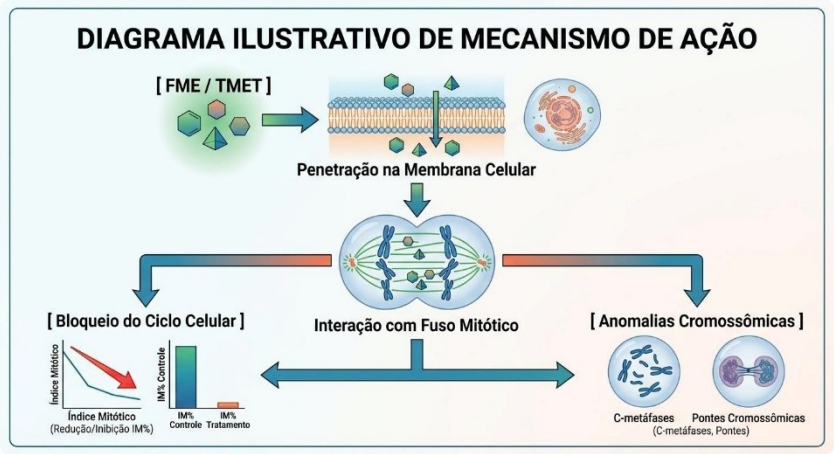
O meristema radicular representa um importante sistema para esse tipo de investigação, uma vez que apresenta intensa atividade proliferativa e responde rapidamente à exposição a substâncias capazes de interferir na progressão do ciclo celular. Alterações na frequência de células em divisão podem ser detectadas por meio do índice mitótico, considerado um importante indicador de citotoxicidade. A redução desse índice pode estar associada à inibição da proliferação celular, ao bloqueio ou atraso da progressão do ciclo celular e, consequentemente, à redução do crescimento radicular. Dessa forma, a análise citogenética permite estabelecer uma relação entre os efeitos observados em nível macroscópico, como a inibição do crescimento das raízes, e as alterações que ocorrem em nível celular (Alves *et al.*, 2018).

Além das alterações na dinâmica do ciclo celular, determinadas substâncias podem comprometer a estabilidade do material genético, ocasionando anomalias durante a divisão celular. Alterações cromossômicas como cromossomos aderentes, cromossomos perdidos, pontes cromossômicas, fragmentos e alterações relacionadas à organização do fuso mitótico fornecem informações importantes sobre os efeitos dos compostos avaliados. A ocorrência dessas alterações permite investigar possíveis efeitos clastogênicos, relacionados a danos ou quebras cromossômicas, e aneugênicos, associados principalmente a alterações na segregação dos cromossomos. Assim, a avaliação conjunta do índice mitótico e da frequência e dos tipos de alterações cromossômicas possibilita uma caracterização mais abrangente dos efeitos citotóxicos e genotóxicos de moléculas bioativas.

Entre os compostos de interesse estão o fenoxiacetato de metila (FME) e o timoxiacetato de metila (TMET), ésteres derivados dos ácidos fenoxiacético e timoxiacético, respectivamente. Embora apresentem similaridades estruturais, esses compostos diferem quanto à presença de substituintes no anel aromático, característica que pode influenciar propriedades como lipofilicidade, solubilidade, permeabilidade através das membranas e interação com componentes celulares. Essas diferenças estruturais tornam relevante a comparação de seus efeitos sobre células vegetais, especialmente considerando seu potencial fitotóxico e a possibilidade de interferência em processos fundamentais para o crescimento, como a divisão celular e a manutenção da estabilidade cromossômica (Fiskesjö, 1985; Alves *et al.*, 2018).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de FME e TMET sobre o ciclo celular e a estabilidade cromossômica de células meristemáticas de raízes de *Lactuca sativa*, por meio da determinação do índice mitótico (IM%) e da frequência e caracterização das alterações cromossômicas (Figura 1).

Figura 1 – Representação esquemática do mecanismo de ação dos compostos semissintéticos FME e TMET sobre a divisão celular meristemática e a indução de alterações cromossômicas em *Lactuca sativa*.



Fonte: Gemini (2026), gerado por inteligência artificial a partir dos dados experimentais do estudo da autora, Isabela Vitória.

Metodologia

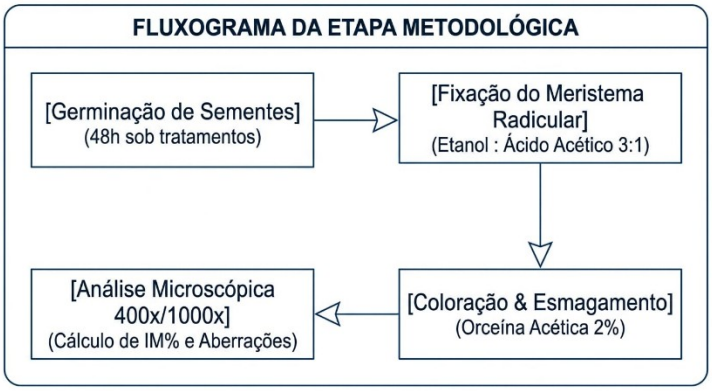
Os compostos FME e TMET, ésteres metílicos dos ácidos fenoxiacético e timoxiacético, respectivamente, foram obtidos em colaboração com o Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Foram utilizadas sementes de *Lactuca sativa* L. (cultivar Elba, lote 110948), submetidas aos tratamentos com FME e TMET nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 mmol L^{-1}, com água destilada e solução de Tween 20 (2% p/v) como controles negativos e o herbicida 2,4-D como controle positivo, em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições por tratamento.

Após 48 horas de incubação em câmara BOD a 24 ± 1 °C, dez raízes por tratamento foram coletadas e fixadas em solução de etanol:ácido acético glacial (3:1 v/v) por 24 horas em freezer (-18 °C), com posterior renovação do fixador. Para o preparo das lâminas citogenéticas, duas raízes por repetição foram lavadas em água destilada (30 min) e submetidas à hidrólise ácida em HCl 5N por 18 minutos à temperatura ambiente. Os meristemas radiculares foram excisados, corados com orceína acética 2% por 15 minutos e esmagados suavemente sob lamínula.

As lâminas foram seladas e mantidas a -20 °C até a leitura em microscópio óptico (Nikon Eclipse Ci-S, 400x e 1000x). Foram analisadas cerca de 500 células por lâmina, totalizando aproximadamente 9.000 células observadas (18 lâminas). Determinaram-se o Índice Mitótico (IM%) e a frequência de alterações cromossômicas por célula em divisão e por total de células, conforme metodologia descrita na literatura (Aragão *et al.*, 2015; Alves *et al.*, 2018).

A análise estatística considerou a lâmina como unidade amostral. Avaliaram-se a normalidade (Shapiro-Wilk) e a homogeneidade de variâncias (Bartlett). O IM% foi analisado por ANOVA seguida dos testes de Tukey e Dunnett ($p < 0,05$); as variáveis genotóxicas, não paramétricas, foram submetidas ao teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) (Figura 2).

Figura 2 – Etapas do procedimento experimental, englobando a germinação das sementes sob tratamento por 48h, fixação do meristema radicular em solução Carnoy 3:1, coloração e esmagamento com orceína acética 2% e análise microscópica (400x/1000x).



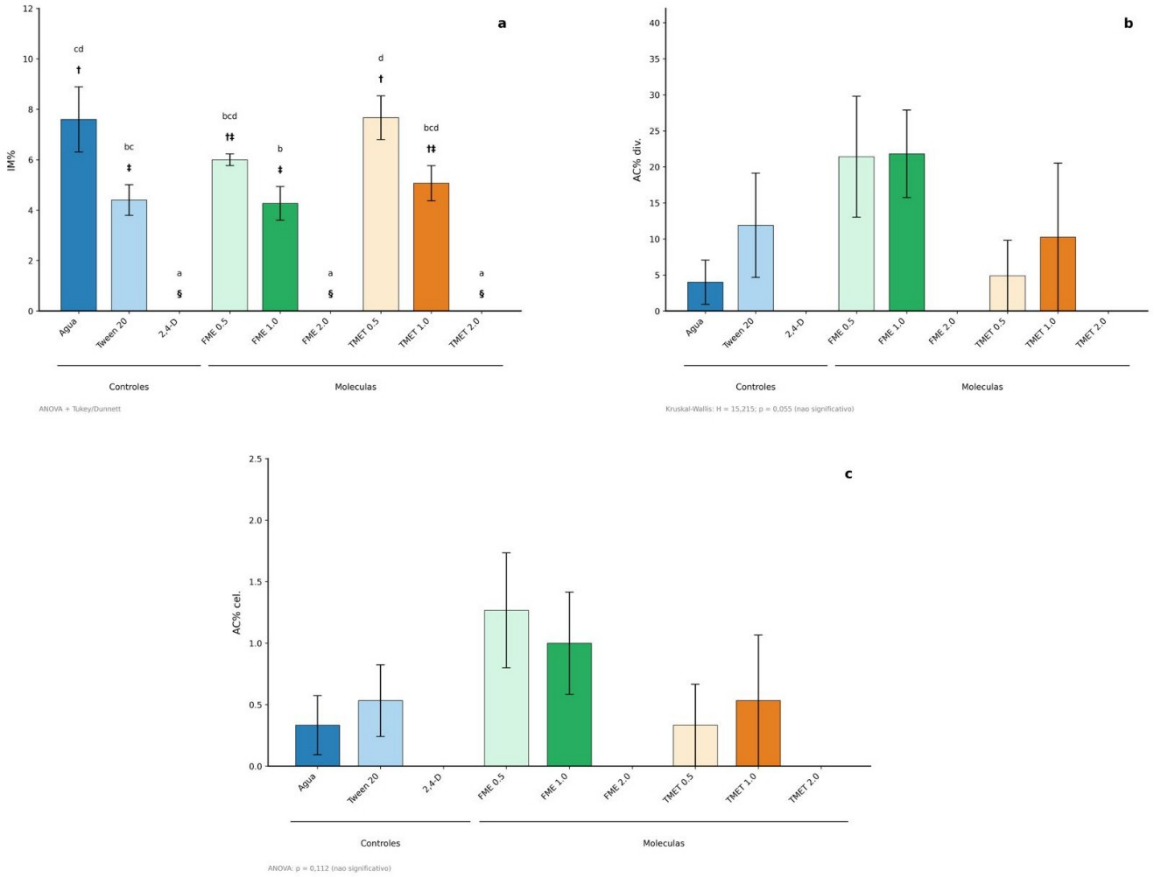
Fonte: Gemini (2026), gerado por inteligência artificial a partir dos dados experimentais do estudo da autora, Isabela Vitória.

Resultados

Existe uma relação inversamente proporcional entre a concentração dos ésteres FME e TMET e a taxa de proliferação celular no meristema de *L. sativa*. Na concentração de 2,0 mmol L^{-1}, ambos os compostos promoveram inibição mitótica total (IM% = 0,0%), efeito citotóxico idêntico ao do herbicida 2,4-D, correlacionado com a ausência de germinação e o bloqueio do alongamento radicular observados nessa concentração. Nas concentrações intermediárias e baixas, os compostos apresentaram comportamentos distintos: o FME, a 1,0 mmol L^{-1}, induziu redução estatisticamente significativa do IM% (4,3%) em relação ao controle Água (7,6%); já o TMET não diferiu significativamente dos controles negativos nessa concentração (IM% de 5,1%) (Figura 3).

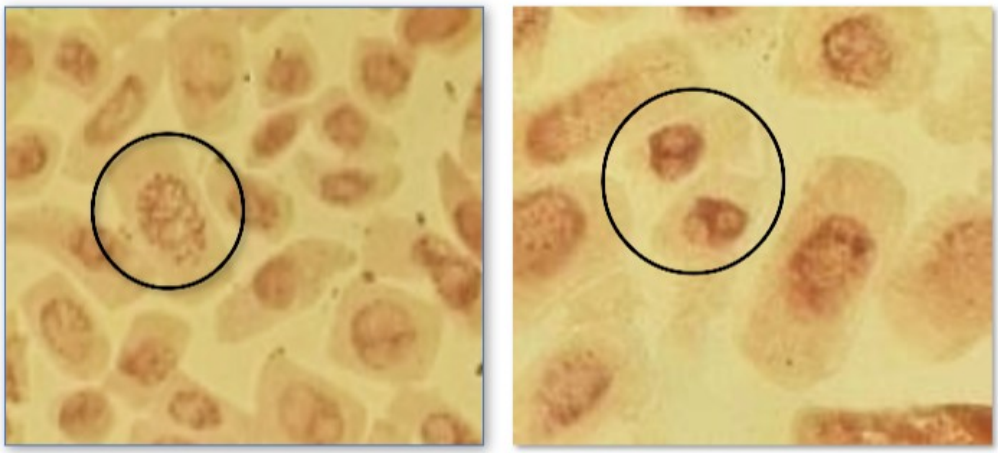
A análise de alterações cromossômicas indicou a ocorrência de distúrbios mitóticos induzidos pelos tratamentos, predominando a c-metáfase, além de ocorrências pontuais de ponte cromossômica e botão nuclear, alterações compatíveis com interferência no fuso mitótico e com quebra ou impedimento de segregação do material genético. Apesar do registro qualitativo dessas anomalias, a análise estatística (Kruskal-Wallis, p = 0,055 para alterações por célula em divisão; ANOVA, p = 0,112 para alterações em relação ao total de células) não indicou diferença significativa entre tratamentos e controles, o que se deve principalmente à alta variabilidade entre lâminas e ao número reduzido de repetições biológicas (n = 3) (Figura 3 e Figura 4).

Figura 3 - Índice mitótico (IM%) (a), alterações cromossômicas por célula em divisão (b) e em relação ao total de células (c) em células meristemáticas de raízes de *Lactuca sativa* expostas a FME e TMET nas concentrações de 0,5, 1,0 e 2,0 mmol L^{-1}, além dos controles Água, Tween 20 e 2,4-D.



Fonte: a autora (2026).

Figura 3 – Registro de alterações cromossômicas em *Lactuca Sativa,* em concentrações de 1,0 mmol L^{-1}



Fonte: A autora (2026)

Discussão

A acentuada redução do IM% demonstra que o mecanismo principal de citotoxicidade do FME e do TMET envolve o bloqueio da progressão do ciclo celular nas células meristemáticas (Figura 1). O FME demonstrou maior citotoxicidade que o TMET em concentrações intermediárias, o que corrobora a hipótese de que a ausência de grupos volumosos no anel aromático do FME (Figura 1) facilita sua penetração na membrana celular e sua interação com alvos celulares da maquinaria mitótica (Pinheiro *et al.*, 2024; Świderski *et al.*, 2025).

Esse resultado deve ser interpretado considerando que, na concentração de 2,0 mmol L^{-1}, não houve germinação das sementes, impossibilitando a formação adequada do tecido meristemático radicular e reduzindo drasticamente o número de células em divisão disponíveis para análise; assim, a diminuição do índice mitótico está diretamente relacionada ao efeito fitotóxico dos compostos sobre o estabelecimento das plântulas. Embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas na frequência de alterações cromossômicas entre os tratamentos (Figura 3), não é possível afirmar que FME e TMET não apresentem potencial citogenotóxico: o reduzido número de repetições, aliado à elevada variabilidade entre lâminas, provavelmente diminuiu o poder estatístico das análises (Alves *et al.*, 2018; Roberto *et al.*, 2023).

Este estudo avaliou parâmetros citotóxicos e citogenéticos, não contemplando ensaios específicos para determinação de potencial mutagênico, de modo que não é possível inferir sobre a capacidade dessas moléculas de induzir mutações permanentes no material genético, sendo necessários estudos complementares com outros biomarcadores e maior número de repetições (Pinheiro *et al.*, 2024).

Conclusão

Os ésteres semissintéticos FME e TMET exercem efeito citotóxico sobre *Lactuca sativa*, inibindo a divisão celular de forma dependente da concentração. A concentração de 2,0 mmol L^{-1} causa citotoxicidade total (IM% = 0,0%), bloqueando completamente a mitose nas células meristemáticas, equiparando-se ao efeito do 2,4-D. O éster FME exibe citotoxicidade mais pronunciada em concentração intermediária (1,0 mmol L^{-1}) do que o TMET. Os compostos induzem aberrações cromossômicas, predominantemente c-metáfases, evidenciando interferência no fuso mitótico, embora estudos com maior amostragem sejam necessários para validação da significância genotóxica.

Referências

ALVES, T. A. *et al.* Toxicity of thymol, carvacrol and their respective phenoxyacetic acids in *Lactuca sativa* and *Sorghum bicolor*. Industrial Crops and Products, v. 114, p. 59-67, 2018.

ALVES, T. A. *et al.* Cytogenotoxic effects and physicochemical and molecular profiles of eugenol-derived triazoles with phytotoxic potential. Chemistry & Biodiversity, v. 23, n. 1, e202503621, 2026.

ARAGÃO, F. A. S. *et al.* Phytotoxic and cytotoxic effects of *Eucalyptus* essential oil on lettuce (*Lactuca sativa* L.). Allelopathy Journal, v. 35, n. 2, p. 259-272, 2015.

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

PINHEIRO, P. F. *et al.* Synthesis and evaluation of esters obtained from phenols and phenoxyacetic acid with significant phytotoxic and cytogenotoxic activities. Environmental Science and Pollution Research, v. 31, n. 50, p. 60023-60040, 2024.

ROBERTO, C. E. O. *et al.* Phytogenotoxicity of thymol and semisynthetic thymoxyacetic acid in pre/post emergence of model plants and weeds. Environmental Science and Pollution Research, v. 30, n. 13, p. 38955-38969, 2023.

ŚWIDERSKI, G. *et al.* Study of the relationship between the structures and biological activity of herbicides derived from phenoxyacetic acid. Materials, v. 18, n. 7, p. 1680, 2025.