



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DE RECURSOS
NATURAIS**

SERGIMAR KENNEDY DE PAIVA PINHEIRO

**ONTOGÊNESE E MECANISMO DE SECREÇÃO EM COLÉTERES DE
MORINDA CITRIFOLIA L. (RUBIACEAE)**

FORTALEZA

2017

SERGIMAR KENNEDY DE PAIVA PINHEIRO

ONTOGÊNESE E MECANISMO DE SECREÇÃO EM COLÉTERES DE *MORINDA*
CITRIFOLIA L.(RUBIACEAE)

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P17o Paiva Pinheiro, Sergimar Kennedy de.
Ontogênese e mecanismo de secreção em coléteres de *Morinda citrifolia* L. (RUBIACEAE) / Sergimar Kennedy de Paiva Pinheiro. – 2017.
47 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel.

1. *Morinda citrifolia* L. 2. Ontogênese. 3. Processo secretor. 4. Coléter. I. Título.

CDD 660.6

SERGIMAR KENNEDY DE PAIVA PINHEIRO

ONTOGÊNESE E MECANISMO DE SECREÇÃO EM COLÉTERES DE *MORINDA*
CITRIFOLIA L.(RUBIACEAE)

Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel.

Aprovado em: 27/01/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Odair Pastor Ferreira
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Itayguara Ribeiro da Costa
Universidade Federal do Ceará

AGRADECIMENTOS

À funcap, pelo apoio financeiro com a manutenção de bolsa auxílio.

Ao Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel, pela excelente orientação.

Aos professores participantes da banca examinadora, Odair Pastor Ferreira e Itayguara Ribeiro da Costa.

A Prof^a. Dr^a Maria Izabel Galão – pela colaboração na utilização das dependências do Laboratório de Biologia Celular Vegetal da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Ao Prof^o. Dr. Odair Pastor Ferreira - pela colaboração na utilização das dependências do Laboratório de Materiais Funcionais Avançados da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Prof^o. Dr. Alejandro Pedro Ayala - pela colaboração na utilização das dependências do Laboratório de Caracterização e Propriedades de Cristais da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Aos colegas da central analítica, José Breno, Francinalda Xavier e Rafael Medeiros pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Aos técnicos Marlos de Medeiros Chaves, João Victor Serra Nunes e Rosemeyre Freire, pelas sugestões e apoio técnico.

A minha família, Crislane Sousa e Sarah Michele pela paciência e ajuda nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Maria Silvanete e Wilson Pinheiro pelo apoio, e conselhos.

RESUMO

Coléteres são estruturas secretoras presentes em mais de 60 famílias de angiospermas, cuja função é proteger o primórdio foliar contra danos físicos e químicos. Os coléteres tem origem mista e se desenvolvem a partir de células do meristema fundamental e da protoderme, pela diferenciação e reorganização celular para o desenvolvimento da estrutura madura. Após a diferenciação celular o processo secretor se inicia. A secreção é um fenômeno complexo de síntese, separação e isolamento substâncias, assim como liberação ou eliminação extracelular. Nesse contexto, a parede periclinal externa possui papel fundamental na passagem de secreção para o meio externo. Tais estruturas estão presentes na face adaxial das estípulas e possuem morfologia do tipo padrão. Durante o desenvolvimento, os coléteres de *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) passam por quatro estágios de desenvolvimento definidos por mudanças estruturais e anatômicas: indiferenciado, pré-secretor, secretor e senescente. No estágio indiferenciado, as estruturas secretoras estudadas são caracterizadas por pequenas protuberâncias na base da superfície adaxial das estípulas. No estágio pré-secretor a epiderme inicia sua diferenciação. Nos estágios seguintes, os coléteres apresentam eixo central parenquimático revestido por células epidérmicas em paliçada. A secreção é abundante no ápice vegetativo impregnando o primórdio foliar e estípulas. Assim, o objetivo deste trabalho foi descrever a ontogênese dos coléteres de *Morinda citrifolia*, bem como o mecanismo de secreção utilizando técnicas de microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica de campo claro (incluindo testes histoquímicos) e microscopia confocal a laser visando um maior entendimento em relação ao processo secretor. As amostras foram preparadas de acordo com técnicas usuais para microscopia. Os testes histoquímicos evidenciaram a presença de mucilagem e proteínas na secreção. Lipídeos foram observados na cutícula e extratos cuticulares, contudo, não foi evidenciado amido nem fenol. Foram observados dois mecanismos de secreção: rompimento de cutícula e passagem da secreção através da cutícula. Com o fim do processo secretor, o coléter entra em estágio senescente, sendo caracterizado pelo enrugamento da cutícula e mudança de cor.

Palavras-chaves: *Morinda citrifolia* L. Ontogênese. Processo secretor. Coléter.

ABSTRACT

Colleters are structures secretory present in more than 60 families of angiosperms, whose function is protect the leaf primordium against physical and chemical damages. The colleters develop from cells of the fundamental meristem and of the protoderm, for differentiation and cellular reorganization for the development of the mature structure. After cell differentiation the secretory process begins. The Secretion is a complex phenomenon of synthesis, separation and isolation substances, as well as release or extracellular elimination. In this context, the external periclinal wall plays a fundamental role in the passage of secretion into the external environment. The colleters have mixed origin, developing from the protoderm and the fundamental meristem. These structures are present on the adaxial side of the stipules and have a morphology of the standard type. During development, the colleters of *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) go through four stages of development defined by structural and anatomical changes: Undifferentiated, pre-secretory, secretory and senescent. At the undifferentiated stage, the secretory structures studied are characterized by small protuberances at the base of the adaxial surface of the stipules. In the pre-secretory stage, the epidermis begins its differentiation. In the following stages, the colleters present axis central parenchymatic covered by epidermal cells in palisade. The secretion is abundant at the vegetative apex impregnating the leaf primordium and stipules. Thus, the objective of this work is describe the ontogenesis of the coléteres of *Morinda citrifolia*, as well as the secretion mechanism using scanning electron microscopy techniques, light field microscopy (including histochemical tests) and laser confocal microscopy for a better understanding of the secretory process. Samples were prepared according to usual techniques for microscopy. The histochemical tests evidenced the presence of mucilage and proteins in the secretion. Lipids were observed in the cuticle and cuticular extracts, however, neither starch nor phenol was evident. Were observed two mechanisms of secretion: Rupture of cuticle and passage of secretion through the cuticle. With the end of the secretory process, the coléter enters a senescent stage, being characterized by the wrinkling of the cuticle and color change.

Keywords: *Morinda citrifolia* L. Ontogenesis. Secretory process. Colleter.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura – 1 Mapa local de coleta do material botânico	17
Figura – 2 Visão geral da espécie <i>Morinda citrifolia</i> L	21
Figura – 3 Microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica e microscopia a laser confocal em coléteres de <i>Morinda citrifolia</i> nos diferentes estágios de desenvolvimento.....	23
Figura – 4 Microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica e microscopia confocal a laser em coléteres de <i>Morinda citrifolia</i> em estágio secretor.....	24
Figura – 5 Microscopia eletrônica de varredura, microscopia confocal a laser, microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura ambiental em coléteres de <i>Morinda citrifolia</i> em processo secretor, com rompimento de cutícula	26
Figura – 6 Microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica em coléteres de <i>Morinda citrifolia</i> em processo secretor, sem rompimento de cutícula	27
Figura – 7 Microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica em coléteres de <i>Morinda citrifolia</i> em estágio senescente.....	38
Figura – 8 Coléter de <i>Morinda citrifolia</i> em diferentes estágios de desenvolvimento utilizando microscopia óptica para testes histoquímicos	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização histoquímica dos principais compostos químicos do coléter e secreção de <i>Morinda citrifolia</i>	33
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MO	Microscopia óptica
CLSM	Microscopia confocal a laser
GSED	Detector de elétrons secundários em ambiente gasoso
SE	Elétrons secundários
XP	Xylidine ponceau
PAS	Reagente ácido periódico-schiff
HMDS	Hexametildisilizano
eV	Elétron-volt
keV	Quilo elétron-volt

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	Espécie <i>Morinda citrifolia</i> L.	11
1.2	Coléteres	11
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1	Coleta do material	17
3.2	Material botânico	18
3.3	Microscopia eletrônica de varredura	18
3.4	Microscopia eletrônica de varredura ambiental	18
3.5	Microscopia óptica	19
3.6	Testes Histoquímicos	19
3.7	Microscopia confocal a laser	20
4	RESULTADOS	20
4.1	Morfologia externa de <i>Morinda citrifolia</i>	20
4.2	Estágios de desenvolvimento dos coléteres	22
4.2.1	<i>Coléter indiferenciado</i>	22
4.2.2	<i>Coléter pré-secretor</i>	22
4.2.3	<i>Coléter secretor</i>	24
4.2.4	<i>Coléter senescente</i>	28
4.3	Testes histoquímicos	29
5	DISCUSSÃO	33
5.1	Morfologia externa	33
5.2	Estágios de desenvolvimento do coléter	33
5.2.1	<i>Coléter indiferenciado</i>	34

5.2.2	<i>Coléter pré-secretor</i>	34
5.2.3	<i>Coléter secretor</i>	35
5.2.4	<i>Coléter senescente</i>	36
5.3	Testes histoquímicos	37
6	CONCLUSÃO	40
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

1.1 Espécie *Morinda citrifolia* L.

O gênero *Morinda* pertence à família Rubiaceae e compreende cerca de 40 espécies, distribuídas principalmente em regiões pantropicais (Kesonbuaa e Chantaranonthai, 2013). Dentre as espécies descritas até o momento, destaca-se *Morinda citrifolia*, por apresentar propriedades antioxidantes (Zin et al., 2002) em suas raízes (Hemwimon et al., 2007) e frutos (Krishnaiah et al., 2015).

Esta planta é conhecida popularmente por "Noni" sendo distribuída originalmente na Ásia tropical, Índia e ilhas do Pacífico. As propriedades medicinais da espécie em questão são conhecidas há mais de 200 anos e exploradas por povos indígenas para o tratamento de doenças em comunidades primitivas. Tais propriedades medicinais auxiliam no combate a doenças do coração, AIDS, úlceras, artrites e câncer (Wang et al., 2002). Para tanto, são utilizados praticamente todas as partes da planta, incluindo flores, folhas, cascas, caule, raízes e frutos (Deng et al., 2007; Wang et al., 2002; Dixon, McMillen e Etkin, 1999). Assim como a maior parte das espécies de Rubiaceae, a espécie *Morinda citrifolia* possui coléteres na superfície adaxial das estípulas (Pinheiro et al., 2015), cuja função é proteger o primórdio foliar e estruturas em desenvolvimento.

1.2 Coléteres

De acordo com Thomas (1991), coléteres são estruturas secretoras dispostas na face adaxial das estípulas, presentes em mais de 60 famílias de angiospermas. Tais estruturas secretoras também podem ocorrer em diferentes órgãos da planta, variando entre as famílias botânicas. Em Rubiaceae, tais estruturas secretoras encontram-se, principalmente, na face adaxial das estípulas (Thomas, 1991), mas também podem estar presentes em brácteas e sépalas (Barreiro e Machado, 2007). Na família Aquifoliaceae, coléteres foram encontrados na base e sobre os dentes da folha e área nodal (Gonzalez e Tarragó, 2009). Em Caryocaraceae, coléteres ocorrem na face adaxial da estípula protegendo o ápice caulinar (Paiva e Machado, 2006). Na família Orchidaceae, foram encontrados coléteres em brácteas, sépalas e parede do ovário, sendo o primeiro registro conhecido para todas estas estruturas (Cardoso-Gustavson et al., 2014). Em

Apocynaceae, coléteres foram descritos em cotilédones, meristema apical e região nodal da folha (Apezzato-da-Glória e Estelita, 2000)

A observação cuidadosa de coléteres permite definir diferentes estágios de desenvolvimento, desde a ontogênese até a senescência. No início do desenvolvimento da estrutura secretora, as células da protoderme (que darão origem às células epidérmicas) e as do meristema fundamental (que darão origem aos tecidos do interior da estrutura) são indiferenciadas (Klein et al., 2004).

Divisões celulares iniciais que ocorrem no meristema fundamental e protoderme, tanto no plano periclinal e anticlinal, formam um aglomerado de células, que com o desenvolvimento tornam-se alongadas (Dave et al., 1987). Durante as etapas seguintes de desenvolvimento do coléter, as células secretoras e eixo central são formados (Dave et al., 1988; Gagliardi et al., 2016). Pelo exposto, quando o coléter assume essas características, ele está completamente expandido. A estrutura secretora em questão apresenta origem mista, sendo formado de células da protoderme e meristema fundamental (Da Cunha e Vieira, 1993; Apezzato-da-Glória e Estelita, 2000; Klein et al., 2004; Barreiro e Machado, 2007).

O coléter completamente expandido possui eixo alongado e base curta (Thomas e Dave, 1990). O eixo central é constituído por células parenquimáticas, circundadas por células epidérmicas secretoras em paliçada (Thomas. V. 1991; Da Cunha e Vieira 1993; Barreiro e Machado, 2007; Gonzalez e Tarragó, 2009; Martins et al., 2010). Em algumas espécies, a estrutura secretora em questão apresenta vascularização (Rio et al., 2002; Miguel et al., 2009; Rocha et al., 2011; Tresmondi et al., 2015). Por outro lado, outras espécies apresentam coléteres sem vascularização no eixo central (Dave et al., 1987; Martins et al., 2016; Fernandes et al., 2016).

Vários autores descreveram coléteres com anatomia similar à descrita acima (Vitarelli e Santos, 2009; Coelho et al., 2013; Tresmondi et al., 2015). Com base na morfologia e anatomia, tais estruturas secretoras podem ser classificadas como: padrão, padrão reduzido, dendroíde, intermediário, tipo escova, filiforme (Thomas, 1991; Simões, Castro e Kinoshita, 2016), digitiforme (Paiva e Machado, 2006), cônico e hemisférico (Gonzalez e Tarragó, 2009), lacrimiforme (Miguel et al., 2010), claviformes (Rocha et al., 2011), padrão bipartido (Martins, 2012), petaloide (Silva et

al., 2012), bifurcado (Coelho et al., 2013) e terminal (Muravnik et al., 2014). Coléteres podem se apresentar organizados de diferentes formas em vários órgãos, variando de acordo com a espécie. Em *Mitragyna parvifolia* (Rubiaceae) os coléteres estão dispostos em linhas na base da estípula (Thomas e Dave, 1990). Na espécie *Bathysa nicholsonii* (Rubiaceae), coléteres formam dois grupos triangulares na superfície adaxial da estípula (Miguel et al., 2006). Em *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae), coléteres estão dispostos aleatoriamente na superfície adaxial da estípula (Paiva e Machado, 2006). Apesar da morfologia e distribuição diferentes nas espécies, os coléteres possuem em comum a produção de secreção, cuja principal função é proteger o primórdio foliar.

Coléter pode apresentar dois principais mecanismos de secreção: sem rompimento (Miguel et al., 2006) e com rompimento de cutícula (Mayer et al., 2013). O primeiro mecanismo de liberação do exsudato ocorre por passagem de secreção sem rompimento de cutícula. Tal mecanismo foi descrito em várias espécies, dentre elas *Prestonia coalita* (Apocynaceae) (Rio et al., 2002), *Copaifera langsdorffii* (Fabaceae, Caesalpinioideae) (Paiva, 2009), *Psychotria nuda* (Rubiaceae) (Miguel et al., 2009) e *Pentas lanceolata* (Rubiaceae) (Muravnik et al., 2014). O segundo mecanismo de liberação do exsudato ocorre por rompimento, característica pouco comum entre as espécies, sendo elas *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) (Paiva e Machado, 2006), *Coffea arabica* (Rubiaceae) (Mayer et al., 2013) e *Tocoyena bullata* (Rubiaceae) (Miguel et al., 2016).

O termo coléter deriva da palavra “colla”, referindo-se à secreção pegajosa que é liberada (Thomas, 1991). A função da secreção é proteger o primórdio foliar contra desidratação (Fernandes et al., 2016). Além da proteção de órgãos em desenvolvimento, a secreção atua como facilitador deslizando lubrificando segmentos florais uns contra os outros (Machado et al., 2013). Em flores de café *Coffea arabica* (Rubiaceae) a secreção do coléter apresenta função adesiva, mantendo unidas as pétalas e evitando assim a desidratação (Mayer et al., 2013). Na espécie *Oncidium flexuosum* (Orchidaceae), foi observada secreção dos coléteres durante o desenvolvimento de brácteas, bractéolas e sépalas (Mayer et al., 2011). Os coléteres começam a secretar antes da expansão dos primórdios foliares, como observado em *Alibertia sessilis* (Rubiaceae) (Barreiro e Machado, 2007), sendo funcionais logo quando são formados

(Paiva e Machado, 2006). O exsudato é um material pegajoso, abundante, que cobre completamente as estruturas em desenvolvimento no ápice caulinar (Barreiro e Machado, 2007). A secreção do coléter pode apresentar características químicas que variam conforme a espécie, como observado em flores de *Ficus enormis* (Moraceae) na qual a secreção é de natureza mista, sendo constituído por mucilagem e lipídeos (Machado et al., 2013). Na espécie *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae) a secreção é predominantemente hidrofílica, constituída por mucilagem rica em proteínas (Coelho et al., 2013). Em *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae), polissacarídeos são os componentes predominantes no exsudato (Rocha et al., 2011). A presença de proteínas na secreção dos coléteres de *Simira glaziovii* (Rubiaceae) foi descrito por Klein et al. (2004) e para *Bathysa nicholsonii* (Rubiaceae) (Miguel et al., 2006). O coléter pode ser diferenciado de outras estruturas secretoras pela secreção de mucilagem ou uma mistura de mucilagem com substâncias lipofílicas no exsudato (Fahn, 1979; Fahn, 1988). A passagem de secreção em outras estruturas secretoras ocorre de modo semelhante ao observado no coléter, no entanto, a composição química do exsudato difere. Em laticíferos é predominante a presença de látex, sendo constituído por moléculas terpênicas, alcaloides, taninos e enzimas proteolíticas (Ascensão, 2007). Nos nectários extraflorais e florais é predominante a presença de açúcares (Pacini et al., 2003).

Coléteres em órgãos completamente desenvolvidos, comumente secam e senescem, embora alguns deles possam permanecer nas folhas (Gonzalez, 1998). Coléter em estágio senescente apresenta o contorno da cutícula mais sinuoso (Coelho et al., 2013), com enrugamento de cutícula (Miguel et al., 2016). Nesse estágio, há uma visível mudança de cor no coléter, passando do amarelo para escuro (Thomas e Dave, 1990), indicando necrose nos tecidos. A secreção nesse estágio de desenvolvimento adquire aspecto de crosta amarelada (Gonzalez, 1998). A senescência é um processo normal de desenvolvimento controlado pela programação genética da planta (Miguel et al., 2016).

O estudo de estruturas secretoras, especialmente coléter, é de fundamental importância para biologia celular, pois nos fornece um modelo de estudo nessa área. Um dos grandes mistérios da biologia celular é a passagem da secreção através da parede celular, onde o estudo de coléteres pode fornecer respostas para o esclarecimento

de tal fenômeno. Além disso, é possível investigar a morte celular programada, no qual o metabolismo da célula sofre importantes mudanças em seu funcionamento.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar os coléteres de *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) quanto a ontogênese, morfologia e processo secretor.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar a ontogênese do coléter de *Morinda citrifolia* L.;
- ✓ Descrever o processo secretor dos coléteres de *Morinda citrifolia* L.;
- ✓ Investigar, por técnicas de histoquímica, os principais compostos químicos presentes em coléteres de *Morinda citrifolia* L.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta do material

O material botânico de dois indivíduos foi coletado no Brasil (Fig. 1A), estado do Ceará (Fig. 1B), no município de Maracanaú (Fig. 1C), bairro Conjunto Timbó, avenida do Contorno Norte S/N, localização $3^{\circ}52'27.5''\text{S}$ $38^{\circ}36'29.2''\text{W}$ (Fig. 1D). O local de coleta compreende a zona urbana do município.

Figura 1: Mapa do local de coleta do material botânico.



Fonte: Adaptado de Google Maps (2017).

A – Mapa do Brasil, visão geral do estado do Ceará; B – Estado do Ceará; C – Município de Maracanaú; D – Município de Maracanaú com a localização de coleta (retângulo). Barras: A – 500 km; B – 50 km; C – 5 km; D – 2 km.

3.2 Material botânico

Ápices caulinares vegetativos de indivíduos adultos foram coletados com o auxílio de uma lâmina. As estipulas foram destacadas de cada nó, utilizando pinças e lâminas. Para microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica, as estipulas foram fixadas e desidratadas quimicamente no laboratório. A identificação das estipulas foi iniciada a partir do nó mais velho em direção ao nó mais novo, região que fica próxima ao meristema apical.

3.3 Microscopia eletrônica de varredura

Fragmentos da base da estipula de *Morinda citrifolia*, contendo coléteres, foram fixados em solução aquosa contendo glutaraldeído de 2,5%, formaldeído 4%, diluídos em tampão cacodilato de sódio 0,05 mol/L, pH 7,2, em temperatura ambiente, durante 24 horas. Posteriormente, o material foi lavado em tampão cacodilato de sódio, por três vezes, por 45 min cada lavagem. Após as lavagens, as amostras foram desidratadas com acetona em série crescente de 50%, 70%, 90% e 100%, por 45 min em cada etapa. Após desidratação o material foi seco com hexametildisilazano (HMDS). O procedimento ocorreu em duas etapas, na primeira etapa os fragmentos foram expostos a solução de 1:1 de HMDS/acetona, por 2 h. Em seguida foi utilizado HMDS puro nos fragmentos, sendo deixado na capela para evaporar durante a noite. Fragmentos secos de estipulas contendo coléter foram aderidos à fita de carbono dupla face. As amostras foram cobertas por *sputtering* com uma camada de 20 nm de ouro, utilizando-se o aparelho Quorum Q150T ES. A observação e documentação foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Quanta FEG 450 (FEI).

3.4 Microscopia eletrônica de varredura ambiental

Fragmentos recém coletados foram dispostos em suportes apropriados de alumínio. Após estabilização da temperatura, a análise foi iniciada. A análise morfológica foi realizada com auxílio de Microscópio eletrônico de varredura Quanta 450 FEG (FEI), com aceleração de voltagem em 10 kV, tamanho do spot de 2.5 ou 3.0 e abertura final da lente de 30µm. A distância de trabalho foi de 7 à 10 mm em modo de pressão variável, com pressão variando entre 300 e 700 Pa e temperatura entre 0 e 2° Celsius. As imagens foram obtidas com detector de elétrons secundário em ambiente gasoso (GSED).

3.5 Microscopia óptica

As amostras foram fixadas conforme procedimento descrito para MEV. Após serem lavados por 45 min no mesmo tampão, os fragmentos foram pós-fixados em solução aquosa contendo tetróxido de ósmio 1,0 % diluído em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH ~ 7,2, temperatura ambiente, durante 1 hora na ausência de luz. Posteriormente, o material foi lavado em tampão cacodilato de sódio, por três vezes, por 45 min cada lavagem. Após as lavagens, as amostras foram desidratadas com acetona em série crescente de 50%, 70%, 90% e 100%, por 45 min em cada etapa. Então, os fragmentos foram infiltrados com resina epóxi (EponPolibed), utilizando-se série crescente de resina em propanona. A polimerização da resina foi realizada a 60°C. Cortes semifinos de aproximadamente, 1 µm de espessura foram obtidos com navalhas de vidro em ultramicrotomo (UC7-LEICA). A coloração foi realizada com solução aquosa de azul de toluidina 1,0 % (O'Brien et al. 1964). Lâminas permanentes foram montadas com verniz composta de resina acrílica. A documentação foi realizada em fotomicroscópio Olympus UC30, utilizando câmera digital modelo UC30 e software para análise de imagem Cell B.

3.6 Testes Histoquímicos

Fragmentos da base da estípula recém coletados foram fixados em solução aquosa contendo formaldeído 4% e cacodilato de sódio 0,05 mol/L em pH 7 sob temperatura ambiente durante 2 h. Após este tempo o material foi lavado no mesmo tampão por três vezes, 45 min cada lavagem. Após as lavagens, as amostras foram desidratadas com etanol em série crescente de 50%, 70%, 90% e 100%, por 60 min em cada etapa. Em seguida, os fragmentos foram infiltrados em historesina Leica em série crescente onde foi utilizada resina básica com ativador e etanol na proporção de 1:1 por 48 horas. Na etapa posterior, os fragmentos foram infiltrados em solução pura de resina básica com ativador por 24 horas. O emblocamento dos fragmentos foi realizado em resina básica com ativador e solução hardener, onde a polimerização foi realizada sob luz incandescente durante 60 minutos. Cortes finos de aproximadamente 5 µm de espessura foram obtidos com lâmina de aço carbono em microtomo rotativo automático (Leica RM 2265). As principais classes de compostos químicos nos coléteres foram investigadas usando os seguintes testes histoquímicos: Reagente Ácido Periódico-Schiff (PAS) para polissacarídeos totais (Jensen, 1962), sudan black para lipídeos totais

(Pearse 1980), xylydine ponceau (XP) para proteínas (Vidal 1970), ácido tânico/cloreto férrico para mucilagens (Pizzolato e Lillie, 1973), lugol para amido (Jensen, 1962) e dicromato de potássio para fenóis (Gabe, 1968). Amostras controle foram realizadas de acordo com especificação para cada teste. A documentação foi realizada em fotomicroscópio Olympus UC30, utilizando câmera digital modelo UC30 e software para análise de imagem Cell B.

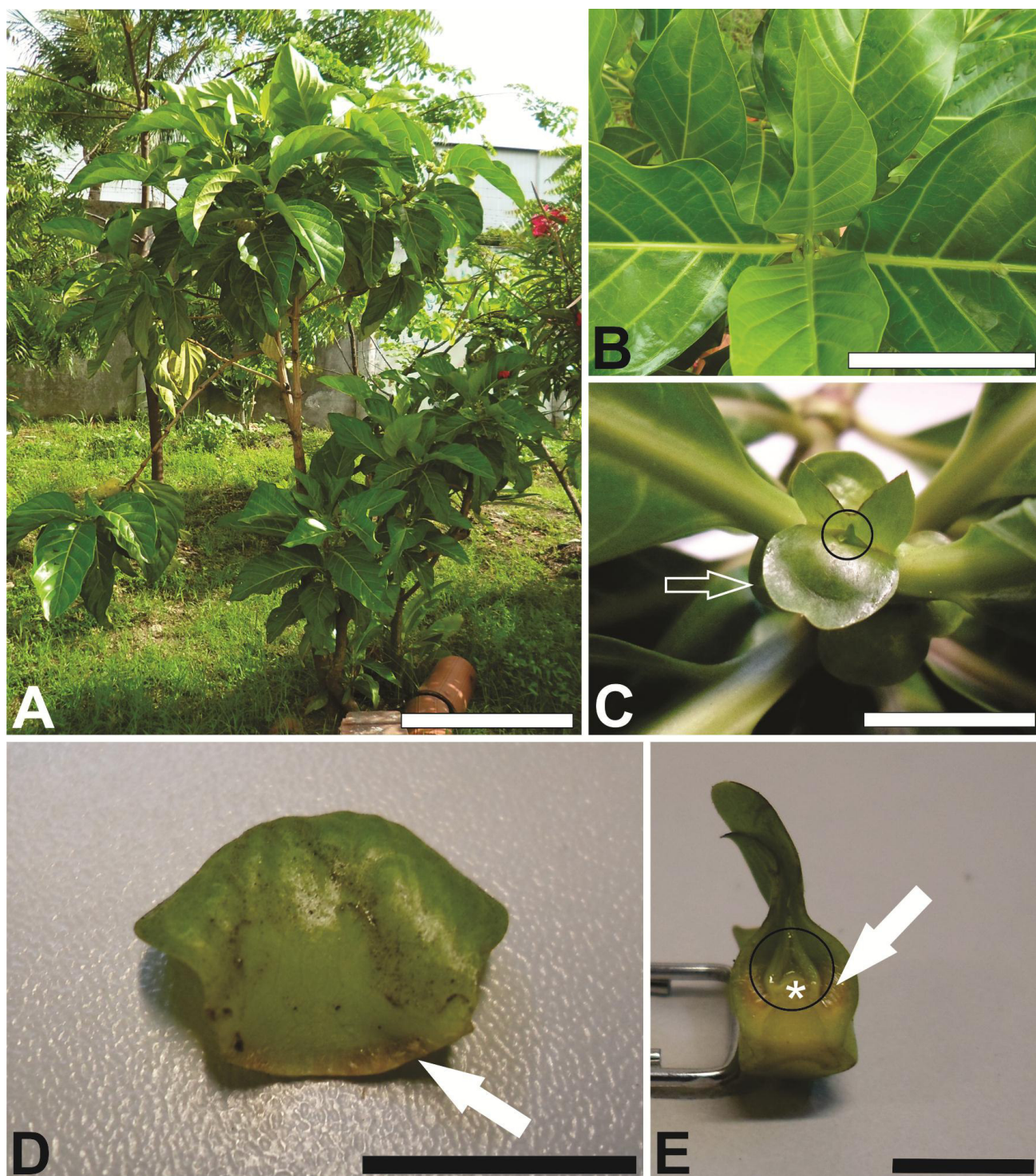
3.7 Microscopia confocal a laser

Ápices caulinares vegetativos foram coletados com auxílio de lâminas e levados imediatamente para o laboratório. Após a separação das estípulas, fragmentos contendo coléteres foram imersos em auramina O 1% durante 10 minutos, sendo o fragmento lavado três vezes em água destilada para observação da cutícula. Amostras foram observadas no microscópio confocal a laser (LM 710 Zeiss) utilizando o laser de excitação com comprimento de onda de 405 nm. O espectro de emissão foi coletado entre 455-500 nm.

4 RESULTADOS

4.1 Morfologia externa de *Morinda citrifolia*

Um dos indivíduos coletados media aproximadamente 4 metros (Fig. 2A) e possuíam folhas simples, opostas cruzadas, lanceoladas e pecioladas, com margem lobada e venação pinada (Fig. 2B). As estípulas são interpeciolares não fusionadas, protegendo o primórdio foliar. A secreção encontrada no primórdio foliar dificultou a separação das estípulas (Fig. 2C). Coléteres da espécie *M. citrifolia* são encontrados na base da superfície adaxial das estípulas, dispostos em forma de uma linha, possuindo aspecto amarelado quando jovens (Fig. 2D). Uma vez a estípula destacada, o coléter adquire coloração escura, devido a exposição com o ambiente. A secreção cobre todo o primórdio foliar (Fig. 2E), tendo consistência pegajosa com aspecto translucido, em contato com o ambiente torna-se vítrea. O desenvolvimento de coléteres em *M. citrifolia* não ocorre de forma sincrônica levando-se em consideração cada um dos nós. Sendo assim, o desenvolvimento dos coléteres foi descrito de acordo com estágios de desenvolvimento.

Figura 2: Visão geral de *M. citrifolia*.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A – Planta de *M. citrifolia* no local de coleta; B – Ápice vegetativo mostrando folhas opostas cruzadas; C – Detalhe do ápice vegetativo. Note estípulas (seta aberta) protegendo o primórdio foliar (círculo); D - Detalhe da superfície adaxial da estípula com coléteres na base (seta fechada); E - Corte longitudinal do ápice vegetativo, estípulas com coléteres (seta fechada) protegendo o primórdio foliar. Note a presença de secreção junto ao primórdio foliar (*). Barras: A – 2 m; B – 2,1 cm; C – 2,5 cm; D – 2,8 cm; E – 1,1 cm.

4.2 Estágios de desenvolvimento dos coléteres

Coléteres podem apresentar diferentes estágios de desenvolvimento na mesma estípula, sendo eles, indiferenciado, pré-secretor, secretor e senescente. Em *M. citrifolia*, foi observado coléteres indiferenciados, pré-secretores e senescentes (Fig. 3A, B). Coléter em estágio inicial de desenvolvimento, encontra-se indiferenciado.

4.2.1 Coléter indiferenciado

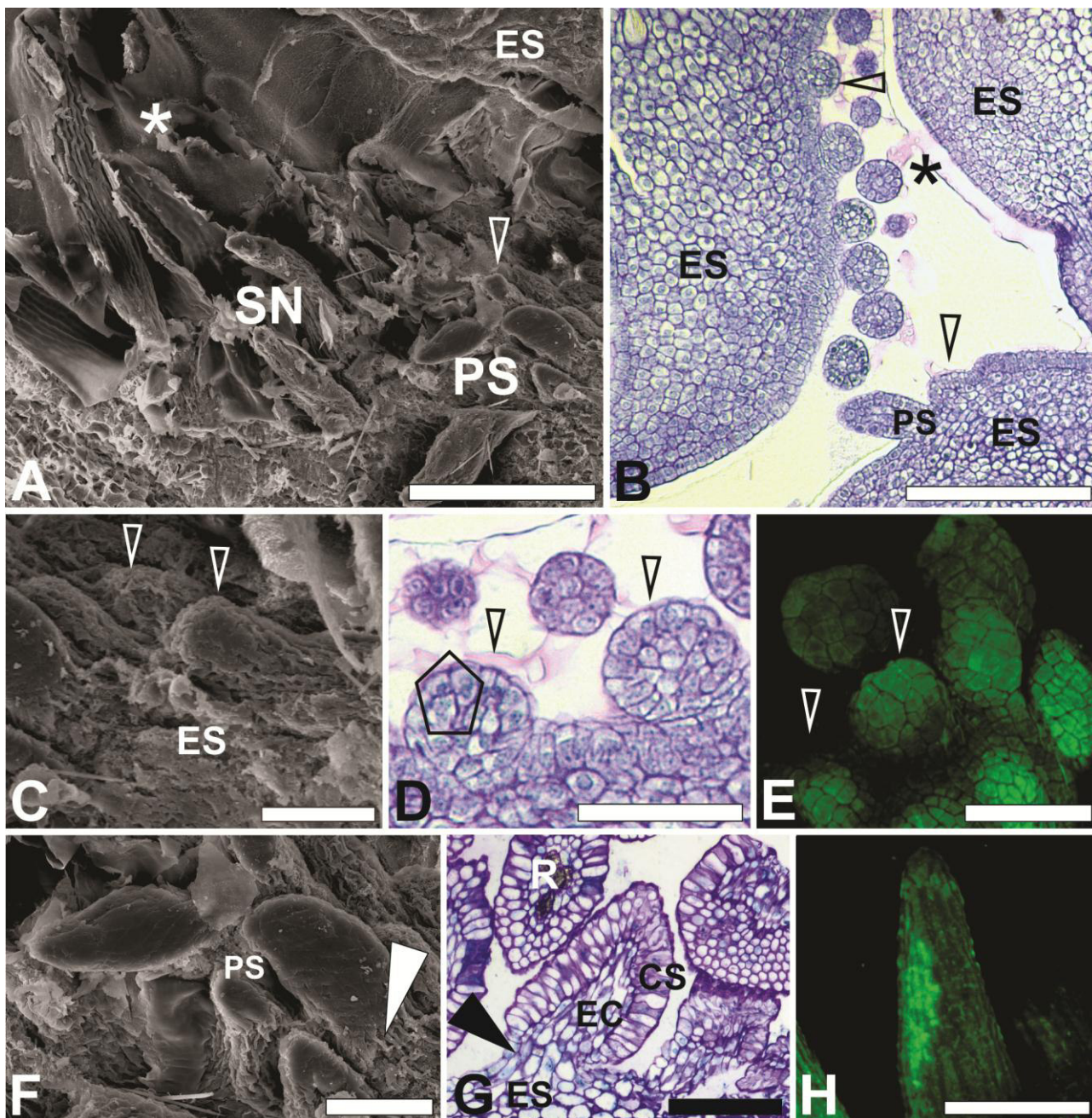
Coléteres indiferenciados estão no início de seu desenvolvimento. Tais estruturas secretoras são caracterizadas por pequenas protuberâncias na base da superfície adaxial das estípulas (Fig. 3C). Cortes longitudinais e transversais das estípulas exibem células isodiamétricas, havendo pouca diferença no formato entre as células do meristema fundamental e células da protoderme (Fig. 3D). Divisões anticlinais e periclinais que ocorrem na protoderme e divisões no meristema fundamental formam uma protuberância na região basal da estípula. A formação do coléter inicia-se a partir de células meristemáticas e protodérmicas, tendo origem mista, característica que define a estrutura secretora como coléter (Fig. 3D). Observa-se intensa atividade mitótica nas células, com parede periclinal sendo formada. Essas divisões contribuem para o desenvolvimento do coléter (Fig. 3D). Coléter indiferenciado não produz secreção, contudo, foi observado secreção junto a eles (Fig. 3D). A cutícula nesse estágio de desenvolvimento não apresentou enrugamento (Fig. 3E). Células do meristema fundamental e protodérmicas se diferenciam, formando o coléter no estágio pré-secretor.

4.2.2 Coléter pré-secretor

Coléter pré-secretor apresenta cutícula levemente enrugada (Fig. 3F), com pequena constrição na base, região onde não foram observadas células secretoras (Fig. 3G). Coléter nesse estágio de desenvolvimento apresenta eixo central parenquimático coberto por células secretoras dispostas em paliçada. As células secretoras do coléter nesse estágio de desenvolvimento, ainda não liberou secreção para o meio externo. Cutícula foi notada aderida à parede periclinal externa (Fig. 3G). Observa-se pouco enrugamento de cutícula no estágio pré-secretor, devido às células secretoras estarem

túrgidas (Fig. 3H). Com a continuidade do processo de secreção os coléteres entram em estágio secretor.

Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura (A, C, F), microscopia óptica (B, D, G) e microscopia confocal a laser (E, H) de coléteres de *M. citrifolia* em diferentes estágios de desenvolvimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

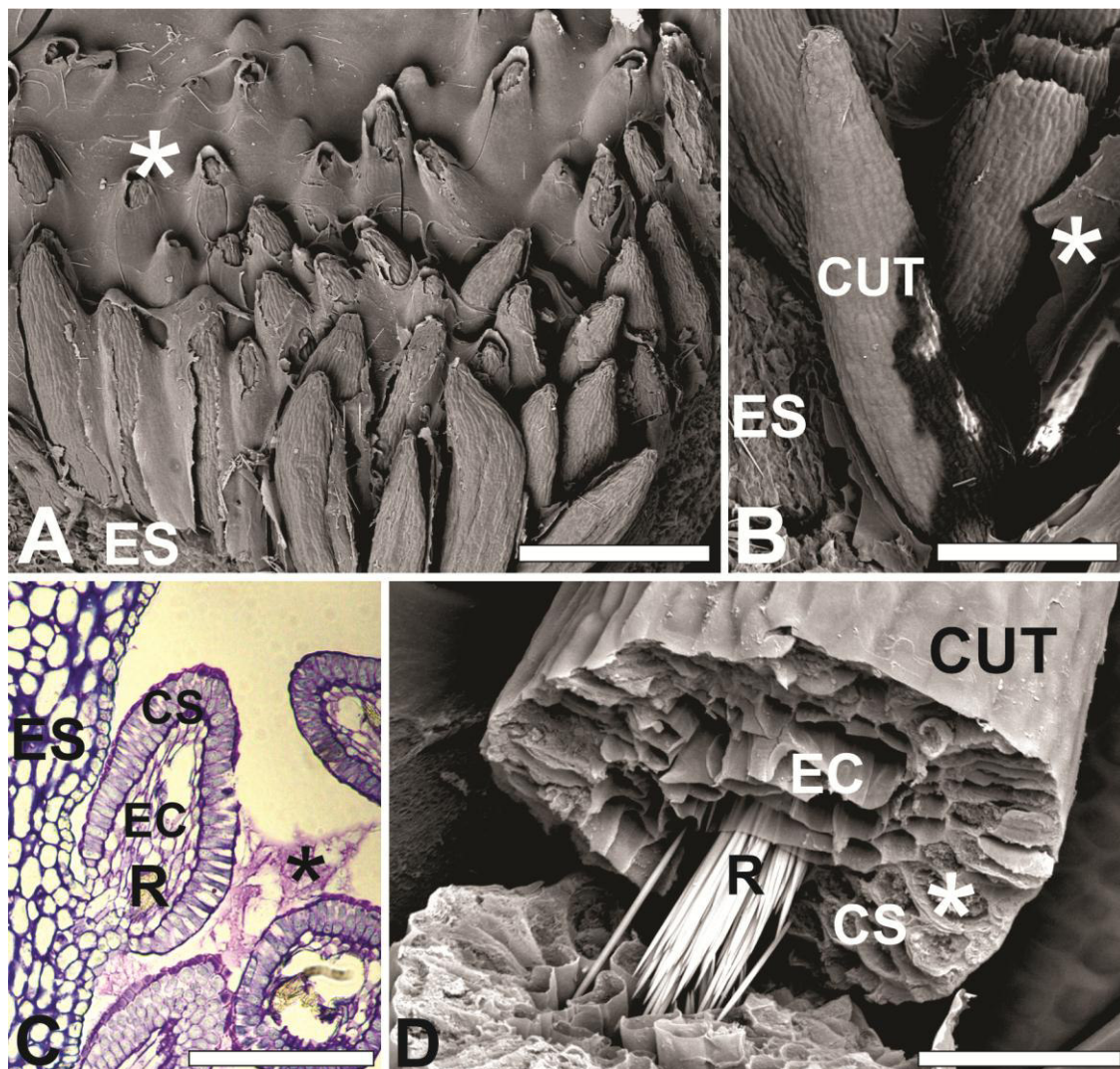
A – Visão geral da superfície adaxial da estípula exibindo coléteres em estágio indiferenciado (ponta de seta), pré-secretor (PS) e estágio senescente (SN) coberto por secreção (*); B – Coléteres de *Morinda citrifolia* em estágio indiferenciado (ponta de seta) e pré-secretor (PS); C – Coléter em estágio inicial de desenvolvimento (ponta de seta aberta); D – Coléter em corte longitudinal no estágio inicial de desenvolvimento (ponta de seta aberta). Note a divisão celular e núcleo no início do desenvolvimento do coléter (pentágono); E – Coléter em corte transversal no estágio

inicial de desenvolvimento (ponta de seta aberta); F – Detalhe de Coléter pré-secretor (PS). Observe constrição na base (ponta de seta branca); G – Corte longitudinal de coléteres em estágio pré-secretor (PS). Note secreção (*) acumulada nas células da epiderme secretora (CS); H – Coléter em estágio pré-secretor, com cutícula pouco enrugada. Barras: A – 200 μm ; B – 300 μm ; C, D – 50 μm ; E, H – 100 μm ; F – 50 μm ; G – 60 μm .

4.2.3 Coléter secretor

Coléteres em estágio secretor são notados aderidos à base da superfície adaxial da estípula, principalmente imersos na secreção (Fig. 4A). Em estágio secretor, coléteres de *M. citrifolia* apresenta morfologia do tipo padrão (Fig. 4B), sendo caracterizado por possuir eixo central alongado, com células secretoras de mesma proporção em ambos os lados do coléter (Fig. 4C). Não foram observados traços vasculares no eixo central do coléter, sendo evidente feixe de ráfides (Fig. 4C). Detalhe do coléter exibindo feixe de ráfides e eixo central com células secretoras, coberto por cutícula (Fig. 4D). Em *M. citrifolia* foram observados dois mecanismos de secreção, o primeiro ocorre por ruptura de cutícula, e o segundo mecanismo ocorre por passagem da secreção sem rompimento de cutícula.

Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura (A, B, D) e microscopia óptica (C) em coléteres de *M. citrifolia* em estágio secretor.

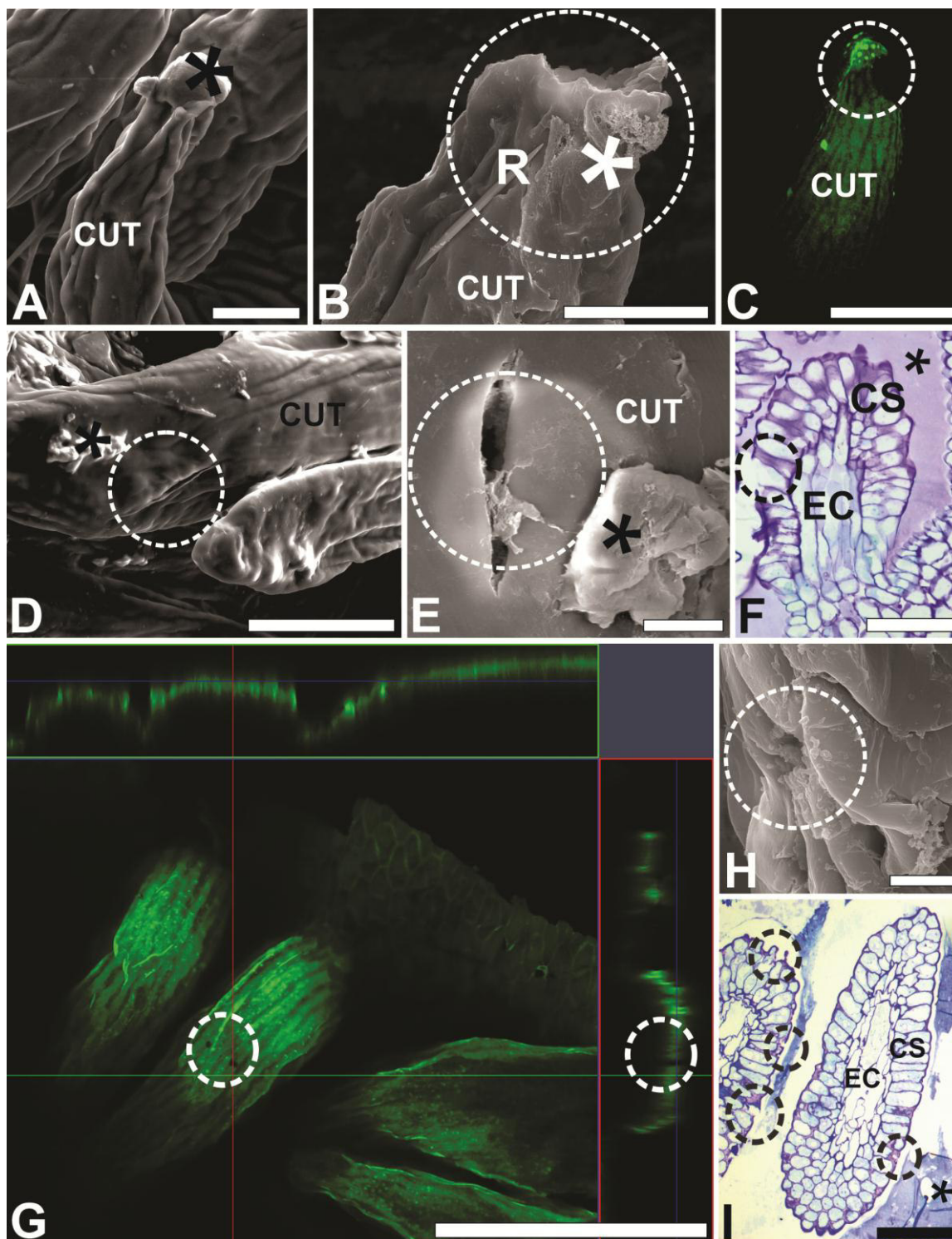


Fonte: Elaborado pelo autor.

A – Conjunto de coléteres na base da estípula, cobertos por secreção (*); B – Detalhe de coléter com morfologia do tipo padrão na base da estípula; C – Coléter exibindo eixo central (EC) alongado com ráfides (R), circundado por células secretoras (CS) empilhada dispostas axialmente; D – Detalhe do coléter em corte na transversal exibindo feixe de ráfides (R), eixo central (EC) e células secretoras (CS). Observe secreção (*) nas células secretoras (CS). Barras: A - 500 μm ; B - 250 μm ; C - 30 μm ; D - 50 μm .

Coléter apresentando rompimento de cutícula com secreção sendo expelida no ápice (Fig. 5A), sendo tal característica um processo físico de liberação do exsudato (Fig. 5B). Com o processo de liberação de exsudato para o meio externo, ocorre o enrugamento da cutícula (Fig. 5B). O rompimento na cutícula pode ocorrer em qualquer região do coléter, não sendo restrito apenas ao ápice (Fig. 5C, D), local onde foi observado secreção (Fig. 5E). O rompimento provoca descontinuidade na cutícula (Fig. 5F). A ruptura pode ocorrer em menor proporção, apresentando-se como pequenos rompimentos na cutícula (Fig. 5G), local onde pode ser observada secreção (Fig. 5H). A ruptura pode ocorrer em vários pontos da cutícula, otimizando o processo secretor (Fig. 5I)

Figura 5: Microscopia eletrônica de varredura (B, E, H), microscopia confocal a laser (C, G), microscopia óptica (F, I) e microscopia eletrônica de varredura ambiental (A, D) em coléteres de *Morinda citrifolia*.



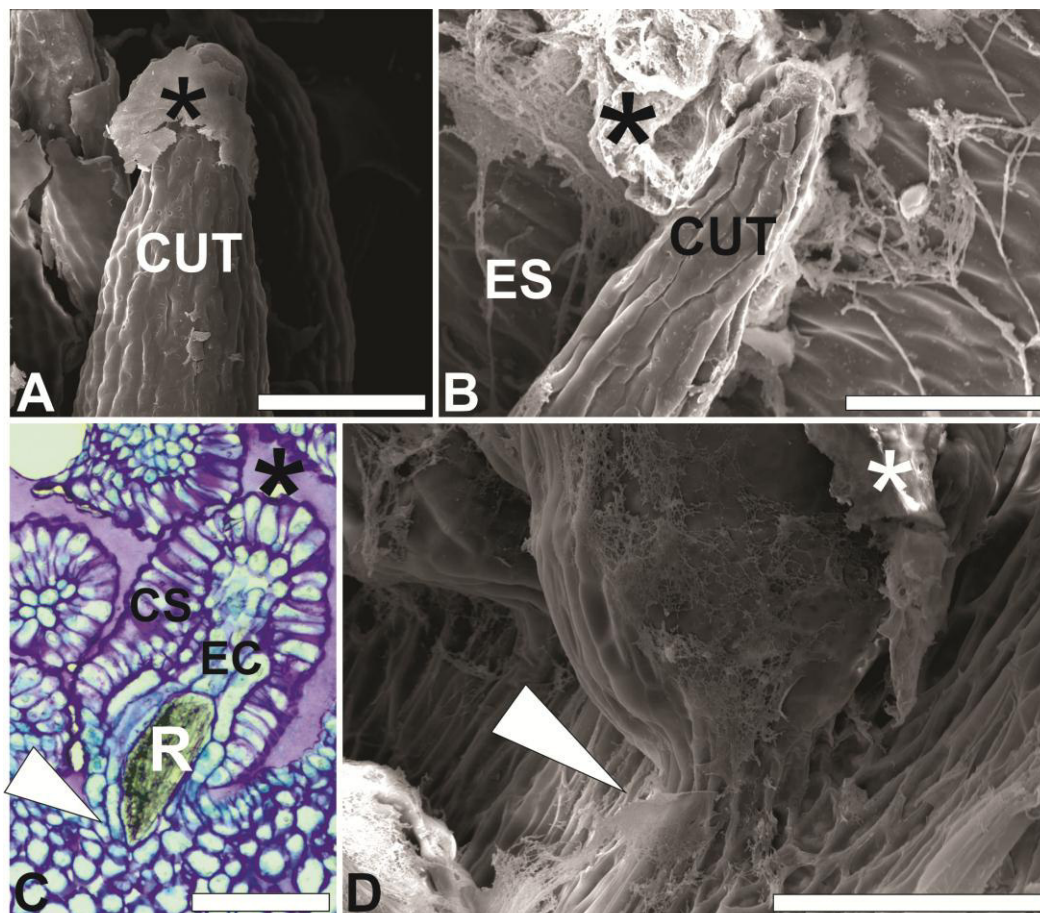
Fonte: Elaborado pelo autor.

A – Coléter em estágio secretor apresentando rompimento de cutícula (CUT) e secreção no ápice (*); B – Detalhe do coléter evidenciando a ruptura de cutícula (CUT) no ápice (círculo pontilhado); C – coléter em estágio secretor com ruptura de cutícula (CUT) (círculo pontilhado). Note que a cutícula está pouco

enrugada, indicando que o processo secreção está no início; D – Rompimento de cutícula (CUT) na região mediana do coléter (círculo pontilhado); E – Detalhe do rompimento de cutícula. Observe secreção no momento da ruptura (círculo pontilhado). F – Corte longitudinal em coléter coberto por secreção (*), com rompimento de cutícula (círculo pontilhado); G, H – Rompimento de cutícula (círculo pontilhado). Note que o rompimento se apresenta como pequenas rupturas no coléter; I – Rompimento de cutícula em vários pontos do coléter (círculo pontilhado). Barras: A – 50 μm ; B, F – 30 μm ; C, G – 200 μm ; D – 100 μm ; E – 10 μm ; H – 5 μm ; I – 60 μm .

O segundo mecanismo de secreção, ocorre sem rompimento de cutícula. Coléter no início do processo secretor (Fig. 6A). Em estágio final da fase secretora, o coléter libera secreção, que cobre a superfície da cutícula, região em que não foi observado rupturas (Fig. 6B). Nesse mecanismo de secreção, não foi observado descontinuidade de cutícula (Fig. 6C). Coléter em estágio secretor exibiu constrição na base, região formada por células não secretoras (Fig. 6C, D). Com continuidade no processo secretor, a cutícula torna-se fortemente enrugada. Com o fim do processo secretor e iniciando fase senescente.

Figura 6: Microscopia eletrônica de varredura (A, B e D) e microscopia ótica (C) em coléteres de *M. citrifolia* em estágio secretor.



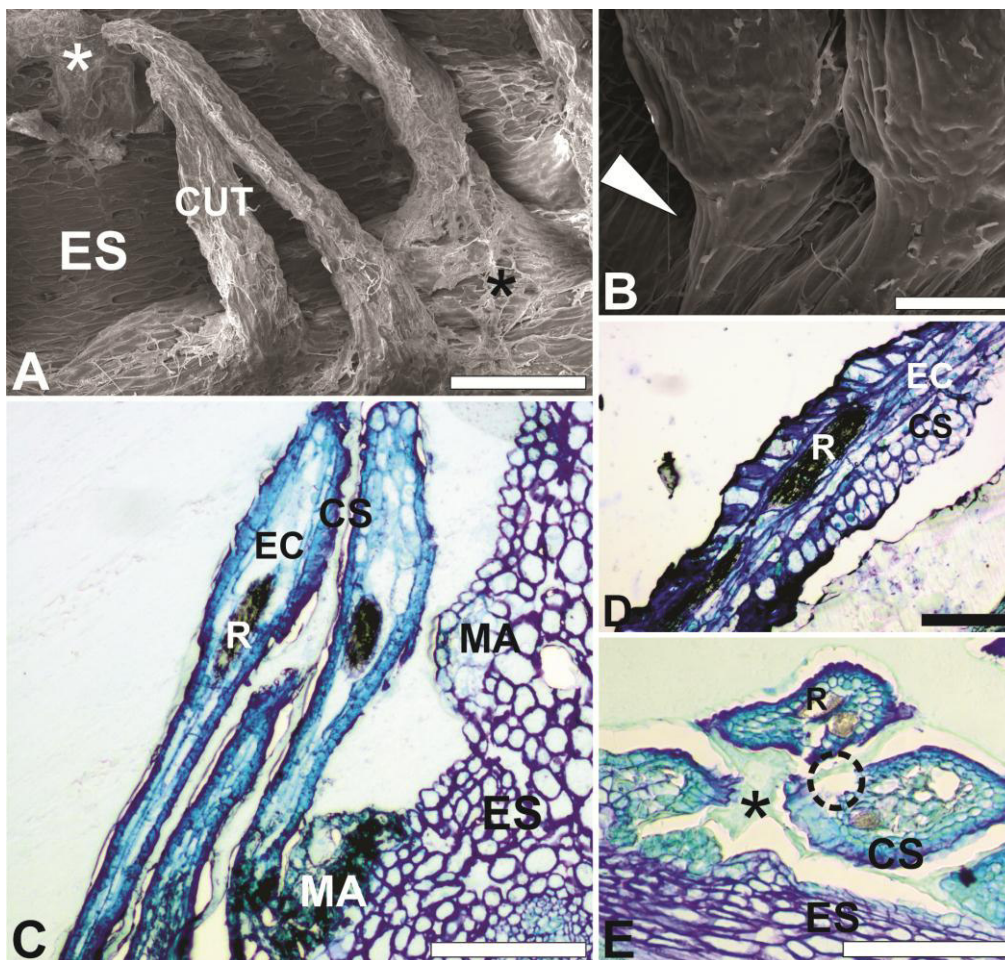
Fonte: Elaborado pelo autor.

A – Coléter em estágio secretor com ápice coberto por secreção (*). Não foi observado ruptura de cutícula (CUT); B – Coléter em processo final de secreção (*). Observe cutícula enrugada (CUT), sem rompimento evidente. C – Corte longitudinal de coléter mostrando contração na base (ponta de seta branca), feixe de ráfides (R) no eixo central (EC) e células secretoras (CS); D – Constrição na base do coléter no início da atividade secretora (Ponta de seta branca). Mesmo com secreção no exterior do coléter, não foi observado rompimento de cutícula. Barras: A, B, D – 100 μm ; C – 60 μm .

4.2.4 Coléter senescente

Coléter no final do estágio secretor entra em fase senescente. A cutícula adquire aspecto murcho e enrugado. É comum nesse estágio, a secreção cobrir a superfície do coléter (Fig. 7A). A contração torna-se pouco evidente na base (Fig. 7B), apresentando células secretoras menos volumosas (Fig. 7C). É notável a formação do meristema de abscisão na base do coléter senescente (Fig. 7C). Em estágio senescente, as células secretoras encontram-se colapsadas, apresentando formato irregular (Fig. 7D). Também foi observado rupturas na estrutura do coléter (Fig. 7E).

Figura 7: Microscopia eletrônica de varredura (A, B) e microscopia óptica (C, D, E) em coléteres de *M. citrifolia* em estágio senescente (SN).



Fonte: Elaborado pelo autor.

A – Visão geral de coléteres na base da estipula, todos coberto por secreção (*). Note que os coléteres diminuem de volume em estágio senescente. B – Constrição na base do coléter em estágio senescente (SN). Observe a constricção pouco evidente (ponta de seta branca). C – Coléter em estágio senescente (SN) e meristema de abscisão (MA) na superfície da estipula. Nesse estágio as células secretoras diminuem de volume; D – Detalhe do coléter em estágio senescente com ráfides (R) no eixo central (EC). Veja que as células secretoras nesse estágio encontram-se colapsadas; E – Coléter em corte transversal mostrando células secretoras (CS) desorganizadas com rompimento de cutícula (círculo pontilhado). Barras: A – 200 μm ; B – 100 μm ; C, D, E – 60 μm .

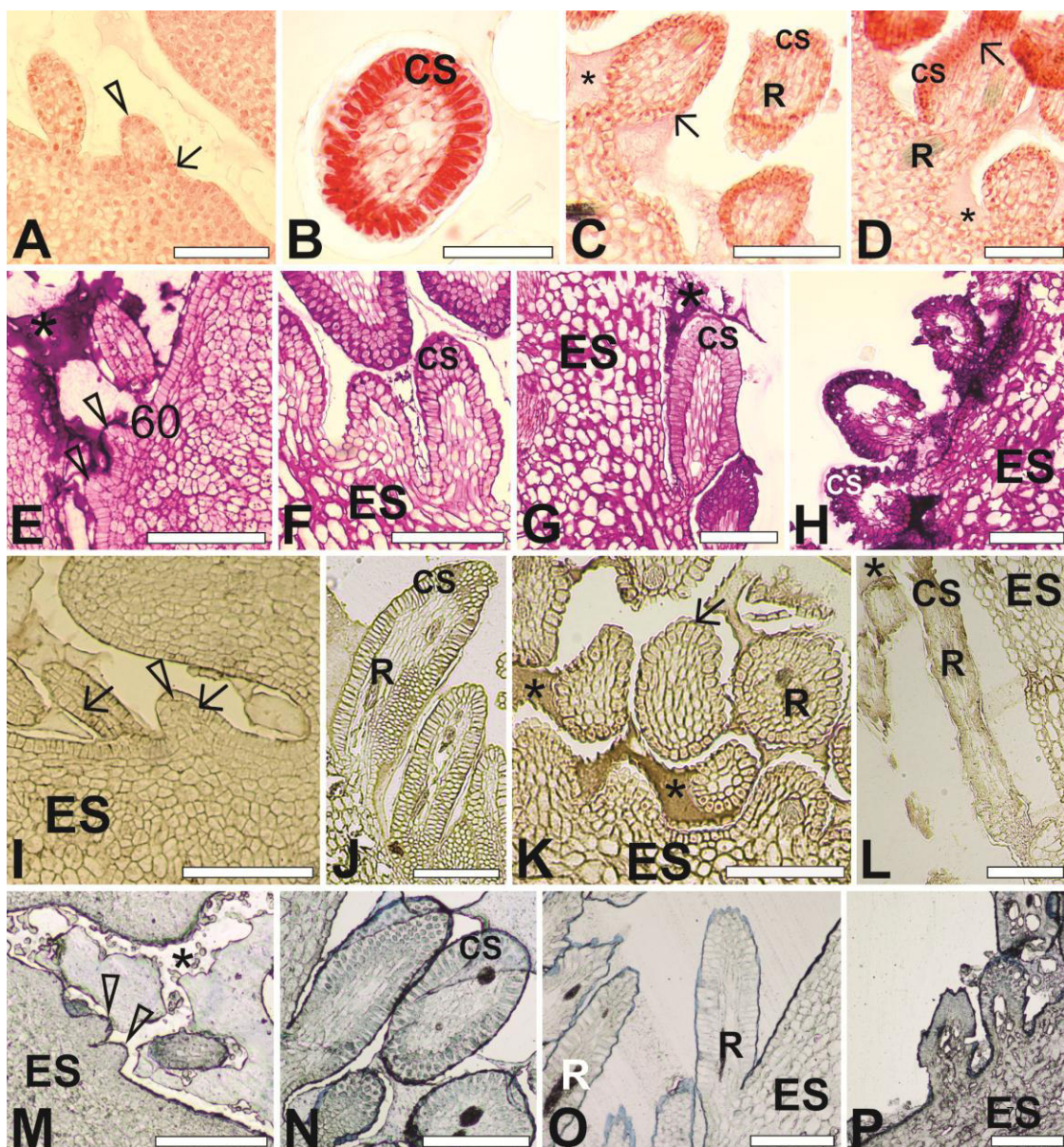
4.3 Testes histoquímicos

Foram realizados testes histoquímicos em coléteres de *M. Citrifolia* nos quatro estágios de desenvolvimento: Coléter indiferenciado, Pré-secretor, secretor e senescente. Diferentes substâncias químicas contidas nos coléteres foram identificadas durante o desenvolvimento destas estruturas. A coloração variou de intensidade em função da quantidade do composto químico presente em cada região da estrutura secretora. A secreção é composta principalmente por proteínas, mucilagem e polissacarídeos (Tabela 01). Teste histoquímico utilizando xylydine ponceau (XP) evidenciou proteínas, estando presentes em células secretoras (Fig. 8 B, C, D), secreção (Fig. 8C) e núcleo celular (Fig. 8 A, C, D). Não foi observado proteínas no núcleo celular em estágio pré-secretor, devido as células secretoras estarem turgidas (Fig. 8A, C, D).

Utilizando reagente ácido periodico-schiff (PAS) para detecção polissacarídeos, não foi observado reação com o núcleo celular, resultado comum para todos os estágios de desenvolvimento (Fig. 8E, F, G, H). Coléter em estágio indiferenciado, ocorreu fraca reação com parede periclinal externa (Fig. 8E). Em estágio pré-secretor, secretor e senescente, a camada de polissacarídeos reagiu com parede periclinal externa, apresentando forte coloração (Fig. 8G, H). Houve forte reação com células secretoras e secreção em coléteres no estágio pré-secretor, secretor e senescente (Fig. 8F, G, H). Utilizando ácido tânico/cloreto férrico para detecção de mucilagem, foi observada reação positiva com o núcleo celular em estágio indiferenciado (Fig. 8I), pré-secretor (Fig. J) e estágio secretor (Fig. 8K). Reação forte com secreção, apresentando forte coloração (Fig. 8K). Não foi observada reação positiva com o núcleo em estágio senescente, reagindo apenas com secreção (Fig. 8L). Em estágio senescente, mucilagem foi observada em células secretoras (Fig. 8L).

Teste histoquímico aplicado para detecção de lipídios, utilizando sudan black, revelou reação positiva com cutícula e extratos cuticulares, apresentando coloração intensa nessa região, para todos os diferentes estágios de desenvolvimento (Fig. 8M, 8N, 8O, 8P), no entanto, não foi detectado lipídios na secreção do coléter (Fig. 8O).

Figura 8: Coléter de *M. citrifolia* em diferentes estágios de desenvolvimento. Material em historresina (A - P) submetido a teste histoquímico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Teste utilizando xylidine ponceau (XP) para proteínas (A, B, C, D); Solução ácido periódico-schiff (PAS) para polissacarídeos (E, F, G, H); cloreto férrico/ ácido tânico para mucilagem (I, J, K, L); sudan black para lipídeos totais (M, N, O, P). A – Coléter em estágio indiferenciado (ponta de seta). Coloração

vermelha indica reação positiva para proteínas. Observe o núcleo celular fortemente corado (flecha). B – Coléter em estágio pré-secretor. Forte reação com células secretoras (CS). Não foi observado reação com núcleo celular. C – Coléter em estágio secretor. Reação positiva com secreção (*), citoplasma e núcleo celular (flecha). E – Coléter em estágio senescente. Observe células secretoras (CS) coradas indicando reação positiva. E – Coleter em estágio indiferenciado. Coloração rosa indica a presença de polissacarídeos. Note secreção (*) rica em polissacarídeos. F – Coléter em estágio pré-secretor. Forte reação com células secretoras (CS). G – Coléter em estágio secretor. Reação positiva com células secretoras (CS), secreção (*). H – Coléter em estágio senescente. Forte reação com células secretoras. Não foi observado reação com o núcleo celular. I – Coléter indiferenciado (ponta de seta). Reação fraca com o núcleo celular (flecha). J – Coléter em estágio pré-secretor. Observe secreção nas células secretoras (CS). Não foi observado reação com o núcleo. K – Coléter em estágio secretor. Reação fraca com o núcleo celular (flecha), no entanto, reação forte com a secreção (*) indicando a presença de mucilagem. L – Coléter em estágio senescente (SN). Não foi observado reação com o núcleo celular (flecha). M, N, O, P – Reação positiva para lipídios em todos os estágios de desenvolvimento do coléter. Reação forte com cutícula e extratos cuticulares. Não foi observado reação com o núcleo e secreção. Barras: A, F, O – 70 μm ; B, D, N – 40 μm ; C - 50 μm ; J – 53; E, G, H, I, K, L, P, M – 60 μm .

Para detectar amido, foi utilizada solução de iodo, não sendo observada reação positiva em células secretoras e secreção do coléter (Tabela 1). Com dicromato de potássio, não foi detectado fenol na secreção e células secretoras do coléter. O mesmo resultado repetiu-se com o núcleo celular e eixo central (Tabela 1). Os resultados detalhados dos testes histoquímicos realizados encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização histoquímica dos principais compostos químicos do coleter e secreção em *Morinda citrifolia*.

			Lipídeos	Compostos fenólicos	Polissacarídeos	Proteínas	Amido	Mucilagem	
Coléter indiferenciado	Protoderme	Parede celular	+	-	-	-	-	-	
		Citoplasma	-	-	ND	-	-	-	
		Núcleo	-	-	-	++	-	+	
	Meristema Fundamental	Parede celular	-	-	ND	-	-	-	
		Citoplasma	-	-	+	-	-	-	
		Núcleo	-	-	-	++	-	+	
Coléter Pré-secretor	Eixo central	Parede celular	-	-	-	+	-	+	
		Vacúolo	-	-	-	-	-	-	
		Citoplasma	-	-	+	+	-	+	
	Células secretoras	Parede celular	++	-	-	+	-	+	
		Vacúolo	-	-	-	-	-	-	
		Citoplasma	-	-	+	++	-	+	
		Núcleo	-	-	-	ND	-	ND	
Coléter secretor	Eixo Central	Parede celular	-	-	+	+	-	+	
		Vacúolo	-	-	-	-	-	-	
		Citoplasma	-	-	+	+	-	+	
	Células secretoras	Parede celular	++	-	++	+	-	+	
		Vacúolo	-	-	-	+	-	-	
		Citoplasma	-	-	++	+	-	+	
		Núcleo	-	-	-	++	-	+	
	Secreção			-	-	++ +	+	-	+++
	Coléter senescente	Eixo Central	Parede celular	-	-	++	-	-	+
Vacúolo			-	-	-	-	-	-	
Citoplasma			-	-	+	-	-	+	
Células secretoras		Parede celular	++	-	++	-	-	+	
		Vacúolo	-	-	-	-	-	-	
		Citoplasma	-	-	++	-	-	+	
		Núcleo	-	-	-	++	-	ND	
Secreção			-	-	++ +	++	-	+	

Fonte: Elaborado pelo autor.

Chave: (+) Reação fraca, (++) Reação moderada, (+++) Reação forte, (-) Não reagiu, (ND) Não detectado.

5 DISCUSSÃO

5.1 Morfologia externa

Coléteres de *M. citrifolia* foram caracterizados através de técnicas de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura. Tais ferramentas permitiram a observação dos coléteres em diferentes estágios de desenvolvimento, incluindo mecanismos de secreção. Em *M. citrifolia*, coléteres foram encontrados na superfície adaxial das estípulas, estando presente na base, dispostos em forma de linhas simples. Tal característica foi observada por vários autores (Thomas e Dave, 1990; Klein et al., 2004; Miguel et al., 2010; Pinheiro et al., 2015; Miguel et al., 2016). Também foram descritos coléteres em outros órgãos da planta para família Rubiaceae, como cálice (Dave et al., 1987) e brácteas (Mayer et al., 2013). Em outras famílias de angiospermas, coléteres foram descritos em diferentes localizações. Em Turneraceae, coléteres foram descritos no primórdio foliar (Gonzalez, 1998), em Lecythidaceae, coléteres foram descritos nas margens da folha (Paiva, 2012) e Malpighiaceae, coléteres foram encontrados em brácteas (Gagliardi et al., 2016).

A secreção produzida no coléter de *M. citrifolia* apresenta aspecto translúcido, sendo observada na base da estípula e cobrindo o ápice vegetativo, característica descrita em coléteres de *Bathysa gymnocarpa* e *Bathysa stipulata* (Miguel et al., 2010). Coléteres de *Morinda citrifolia* apresenta diferentes estágios de desenvolvimento.

5.2 Estágios de desenvolvimento do coléter

O desenvolvimento de coléteres em *M. citrifolia* ocorre de forma assíncrona, apresentando diferentes estágios de desenvolvimento em um mesmo nó. Outras espécies apresentaram as mesmas características. Em *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) (Paiva e Machado, 2006) e *Tocoyena bullata* (Miguel et al., 2016), foram descritas coléteres em diferentes estágios de desenvolvimento, presentes no mesmo nó. Diferentes estágios de desenvolvimento garantem a produção de secreção durante todo o desenvolvimento da inflorescência como observado na ordem Malpighiales (Gagliardi et al., 2016). Coléter no início de desenvolvimento, encontra-se indiferenciado. Os estágios foram definidos em quatro tipos: coléteres indiferenciados, pré-secretores, secretores e senescentes.

5.2.1 Coléter indiferenciado

Coléteres apresentam origem mista, sendo originado do tecido fundamental e protoderme. (Paiva e Machado, 2006). Coléter de *M. citrifolia* apresentou mesma característica, tendo o desenvolvimento da estrutura secretora origem mista. No início de desenvolvimento do coléter, as células da protoderme e do tecido fundamental estão ainda indiferenciadas. Ambas as células no início do desenvolvimento são isodiamétricas (Klein et al., 2004). Tanto na protoderme como no meristema fundamental, ocorrem divisões periclinais e anticlinais formando um amontoado, que com o desenvolvimento da estrutura secretora vão se tornando alongadas (Dave et al., 1988). Essas sucessivas divisões é de fundamental importância para a diferenciação celular.

Coléteres de origem mista foram descritos por vários autores para família Rubiaceae (Da Cunha e Vieira, 1993; Klein et al., 2004 e Barreiro e Machado, 2007). Além de Rubiaceae, coléteres de origem mista foram descritos para família de Apocynaceae (Apezzato-da-Glória e Estelita, 2000). No entanto, Paiva e Machado (2006) consideram estruturas secretoras presente em *Hymenaea estigonocarpa* (Fabaceae) como coléteres, embora eles tenham apenas origem na protoderme. Esta característica foi observada em *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae) (Rocha et al., 2011). Na espécie *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae), o autor classifica a estrutura secretora com base na presença de polissacarídeos na secreção (Martins et al., 2011). Após diferenciação, coléter de *Morinda citrifolia* entra em estágio pré-secretor.

5.2.2 Coléter pré-secretor

Coléter pré-secretor apresenta células diferenciadas, no eixo central e epiderme secretora. O coléter maduro e diferenciado possui eixo central longo e curto pedúnculo (Thomas e Dave, 1990). Nesse estágio de desenvolvimento, as células secretoras dos coléteres de *Morinda citrifolia* estão turgidas. A secreção ocupa maior parte do conteúdo celular.

Em *M. citrifolia*, nesse estágio de desenvolvimento, foi observado constrição na base. A morfologia do coléter para a espécie *M. citrifolia* é do tipo padrão, sendo característica recorrente na família Rubiaceae. A morfologia anteriormente mencionada foi descrito em *Bathysa nicholsonii* (Miguel et al., 2006), *Simira* (Klein et

al., 2004) e *Gardenia lúcida* (Dave et al., 1988). Além de Rubiaceae, tais características foram observadas em outras famílias como Euphorbiaceae (Martins et al., 2016), Aquifoliaceae (Gonzalez e Tarragó, 2009) e Apocynaceae (Rio et al., 2002). Após estágio pré-secretor, o coléter libera secreção para o meio externo.

5.2.3 Coléter secretor

Coléteres de *M. citrifolia* em estágio secretor apresenta morfologia do tipo padrão, sendo característica mais comum encontrado em angiospermas (Thomas, 1991). Este tipo morfológico de coléter foi descrito por vários autores (Dave et al., 1988; Klein et al., 2004; Miguel et al., 2006; Miguel et al., 2010). A estrutura secretora descrita anteriormente e formada por curto pedúnculo, eixo central que pode apresentar vascularização, bem como feixe de ráfides. As células secretoras estão dispostas em paliçada com cutícula espessa (Vitarelli et al., 2015; Appezzato-da-Glória e Estelita, 2000).

Na espécie *M. citrifolia* foi observado constrição na base do coléter, estando esta característica presente em outras espécies da família Rubiaceae. Esses resultados mostram que a anatomia em coléteres não diferem muito no gênero Rubiaceae, sendo visto em *Gardenia lúcida* (Dave et al., 1988) espécies de *Simira* (Klein et al., 2004), *Bathysa nicholsoni* (Miguel et al., 2006), *Psychotria carthagenensis* (Vitarelli e Santos, 2009) e *Pentas lanceolata* (Muravnik et al., 2014). A maioria das características anatômicas dos coléteres foi observada também em outras famílias, como visto em Myrtaceae (Silva et al., 2012), Apocynaceae (Appezzato-da-Glória e Estelita, 2000; Rio et al., 2005) e Turneraceae (Gonzalez, 1998). Não foi observado traço vascular em coléteres de *Morinda citrifolia*, no entanto, muitos autores descreveram a presença de traço vascular na estrutura secretora (Tresmondi et al., 2015; Miguel et al., 2010; Miguel et al., 2006; Klein et al., 2004; Rio et al., 2002).

Aparentemente, a presença de traço vascular não possui importância em relação à atividade das estruturas secretoras. A presença de um vestígio vascular na estrutura secretora depende apenas da proximidade do coléter com traços vasculares dos tecidos onde estão inseridos (Appezzato-da-Glória e Estelita, 2000). O número e o tamanho dos coléteres também é determinante para o fornecimento da vascularização,

uma vez que, o coléter requer uma maior entrada de precursores para produção da secreção (Tresmondi et al., 2015).

Coléteres em fase secretora produzem grande quantidade de exsudato, estando de acordo com sua principal função, proteger o primórdio foliar e folhas jovens durante seu desenvolvimento. Essa função de proteção é unânime na literatura (Thomas, 1991; Miguel et al., 2006; Miguel et al., 2010; Muravnik et al., 2014; Tresmondi et al., 2015). A secreção de *M. citrifolia* é translúcida e cobre todo ápice vegetativo, sugerindo um mecanismo de proteção dos tecidos meristemáticos.

Dois mecanismos de liberação da secreção para o meio externo foi visto em *M. citrifolia*, por ruptura e passagem de secreção através da cutícula. O acúmulo de secreção ocorre no espaço subcuticular, ocasionando o deslocamento da cutícula e rompimento. Tais características foram descritas por muitos autores (Dave et al., 1988; Paiva e Machado, 2006; Vitarelli et al., 2015; Miguel et al., 2016). No entanto, na espécie *Morinda citrifolia* não foi observado o acúmulo de secreção no espaço subcuticular, somente o rompimento.

Outro resultado sugere que, a passagem da secreção pode ocorrer sem o rompimento da cutícula. Alguns autores fornecem evidências em relação à passagem da secreção através da parede periclinal externa, sem causar o rompimento da cutícula. Em coléteres de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae) a passagem de secreção ocorre através de poros (Vitarelli e Santos, 2009), por microporos em *Oncidium flexuosum* (Orchidaceae) (Mayer et al., 2011), difusão em *Bathysa gymnocarpa* e *Bathysa stipulata* (Rubiaceae) (Miguel et al., 2010), canais secretores em *Ficus enormis* (Moraceae) (Machado et al., 2013) e vesículas secretoras em *Cannabis sativa* (Canabaceae) (Mahlberg e Eun-Soo, 1992). No entanto, esses resultados ainda deixam dúvidas em relação à passagem de secreção sem rompimento de cutícula. Em *Morinda citrifolia*, os dados são ainda inconclusivos em relação ao modo de passagem da secreção sem rompimento cuticular.

5.2.4 Coléter senescente

Coléter senescente foi caracterizado por possuir superfície enrugada, com secreção ainda presente na superfície. Em estágio senescente ocorre a vesiculação do protoplasto, indicando que os dictiosomos estão produzindo enzimas líticas, o que

sugere morte celular programada (Paiva, 2012). Nesse estágio de desenvolvimento, coléteres de *Morinda citrifolia* apresenta constrição pouco evidente, devido às células secretoras ficarem menos volumosas e desorganizadas (Miguel et al., 2010; Fernandes et al., 2016). Nesta fase é notável a formação de um meristema de abscisão na base do coléter (Miguel et al., 2016). Na área de abscisão é possível observar uma cicatrização (Macedo et al., 2016; Fernandes et al., 2016), sendo esta característica evidente na espécie *Morinda citrifolia*. Em *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae) foi descrito componentes fenólicos na área de abscisão (Paiva, 2012). Não foi possível verificar compostos fenólicos nesta mesma área em *Morinda citrifolia*.

5.3 Testes histoquímicos

M. citrifolia apresenta secreção constituída de muitos componentes químicos. É conhecido que a composição química da secreção do coléter é complexa, sendo comum a presença de proteínas (Coelho et al., 2013; Mayer et al., 2013), polissacarídeos (Vitarelli et al., 2015), lipídios (Paiva, 2009; Martins et al., 2016) e mucilagem (Rio et al., 2002; Machado et al., 2015). Reação para proteínas em *Morinda citrifolia* foi realizada com xylidine ponceau (XP), podendo ser detectado utilizando outros métodos: azul brilhante de comassie (Coelho et al., 2013), anilina azul (Mayer et al., 2013) e azul de bromophenol (Barreiro e Machado, 2007). Em *Morinda citrifolia*, proteínas estão presentes, principalmente, em células secretoras e núcleo, sendo em menor quantidade no eixo central e secreção. Em coléteres de *Zanthoxylum minutiflorum* (Rutaceae) foi descrito proteínas principalmente nas células secretoras (Macedo et al., 2016). Em *Croton glandulosus* (Euphorbiaceae) foi observado proteínas na secreção dos coléteres (Machado et al., 2015). No entanto, em *Casearia* (Salicaceae) não foi descrito presença de proteínas na estrutura dos coléteres, bem como na secreção (Fernandes et al., 2016).

Teste histoquímico com PAS foram descritos para várias espécies, sendo característica comum à presença de polissacarídeos. Em *Casearia* (Salicaceae) foi observado polissacarídeos em células secretoras e secreção (Fernandes et al., 2016), na espécie *Delechia alata* (Euphorbiaceae) polissacarídeos foram descritos na secreção (Martins et al., 2016). Em *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae) polissacarídeos foram observados na secreção e células secretoras (Coelho et al., 2013), sendo tais características encontradas na espécie *Morinda citrifolia*. Proteínas e polissacarídeos

foram encontrados na secreção e células secretoras de *Morinda citrifolia*, cuja função é proteger os tecidos em desenvolvimento contra dessecação e danos durante o crescimento. Mesma função foi relatada na espécie *Pentas lanceolata* (Rubiaceae) (Muravnik et al., 2014).

Mucilagem presente em coléteres de *M. citrifolia*, demonstram a importância desse composto na proteção de estruturas em desenvolvimento. A natureza higroscópica e textura viscosa da mucilagem mantem regiões meristemáticas hidratadas (Silva et al., 2012). A composição química da mucilagem envolve uma complexa mistura de açúcares, formados a partir de unidades de açúcar e ácido urônico (Bhatia et al. 2014), no entanto, em sementes de arábido, o composto em maior quantidade na mucilagem é pectina. Pectina é um polissacarídeo ácido, que forma um gel na matriz extracelular (Western et al. 2000). Em tubérculos de *Dioscorea batatas*, a mucilagem é constituída por água, pectinas, açúcares e ácidos orgânicos (Misaki et al., 1972)

Na espécie *M. citrifolia*, lipídios de cunho estrutural, presentes na parede periclinal externa reagiu fortemente com sudan black. Não foi detectado lipídios na secreção de *M. citrifolia*, no entanto lipídeos podem estar presentes em outras partes da estrutura do coléter, sendo que tal característica não foi observado em coléteres de *M. citrifolia*. Em coléteres de *Zanthoxylum minutiflorum* (Rutaceae), lipídeos foram descritos nas células secretoras e cutícula (Macedo et al., 2016).

Amido não foi observado na secreção dos coléteres de *M. citrifolia*, sendo energeticamente desfavorável seu desperdício. Esta característica descrita anteriormente, é recorrente em outras espécies estudadas como *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae) (Coelho et al., 2013) e *Delechia alata* (Euphorbiaceae) (Martins et al., 2016). No entanto, grãos de amido e gotículas de óleo podem estar presentes nas células secretoras, como observado em *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae), sendo provavelmente uma reserva energética transitória. Esta estratégia facilita a fonte de energia ininterrupta para a síntese de mucilagem e secreção durante o período relativamente curto de secreção (Mercadante-Simões e Paiva, 2013). O amido constitui reserva energética sendo formado nos plastídios das plantas superiores, o amido é sintetizado nas folhas, onde serve como carboidrato de reserva temporário, acumulando-se nos cloroplastos durante o dia e servindo como fonte principal para a síntese de sacarose citosólica durante a noite (Vandeputte e Delcour, 2004; Tester et al.,

2004). Compostos fenólicos não foram observados na secreção de *M. citrifolia*, característica em comum encontrado em coléteres de *Bathysa cuspidata* (Coelho et al., 2013). Os flavonoides, grupo de metabolitos secundários da classe dos fenóis, exercem nas plantas proteção contra raios ultravioleta, proteção contra insetos, vírus, bactérias, atração de polinizadores, ação antioxidante e inibição de enzimas (Zuanazzi e Montanha, 2004).

6 CONCLUSÃO

→ Coléteres de *M. citrifolia* possuem quatro estágios de desenvolvimento, sendo eles: indiferenciado, pré-secretor, secretor e senescente. Esses quatros estágios apresentam características morfológicas e anatômicas distintas.

→ Dois mecanismos de secreção foram observados para espécie *M. citrifolia*, por ruptura de cutícula e sem ruptura respectivamente.

→ O primeiro mecanismo ocorre por ruptura na cutícula, caracterizando-se como processo físico. O segundo mecanismo de secreção ocorre sem ruptura na cutícula, sendo que a passagem do exsudato na parede periclinal externa na espécie *M. citrifolia* carece de investigação mais detalhada.

→ Proteínas, polissacarídeos e mucilagem são predominantes na secreção. Apenas proteínas foram identificadas no núcleo. Lipídeos foram identificados na parede periclinal externa.

REFERÊNCIAS

- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M. E. M. Development , structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 2, p. 113–120, 2000.
- ASCENSÃO, L. **Estruturas secretoras em plantas: Uma abordagem morfo-anatômica**. 2007.
- BARREIRO, D. P.; MACHADO, S. R. Coléteres dendróides em *Alibertia Sessilis* (Vell.) K. Schum., uma espécie nao-nodulada de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n. 3, p. 387–399, 2007.
- BHATIA, N. M.; SALUNKHE, S. S.; MALI, S. S.; et al. Extraction and characterization of mucilage from *Lepidium sativum* Linn. Seeds. **Der Pharmacia Lettre**, v. 6, n. 1, p. 65–70, 2014.
- CARDOSO-GUSTAVSON, P.; CAMPBELL, L. M.; MAZZONI-VIVEIROS, S. C.; BARROS, F. Floral colleters in *Pleurothallidinae* (Epidendroideae: Orchidaceae). **American Journal of Botany**, v. 101, n. 4, p. 587–597, 2014.
- COELHO, V. P. DE M.; LEITE, J. P. V.; FIETTO, L. G.; VENTRELLA, M. C. Colleters in *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae): Development, ultrastructure and chemical composition of the secretion. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 208, n. 10–12, p. 579–590, 2013.
- DA CUNHA, M.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria vellosiana* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, v. 49, p. 39–50, 1993.
- DAVE, Y.; KURIACHEN, P. M.; THOMAS, V. Developement, structure and senescence of colleters in *gardenia lucida* Roxb. (Rubiaceae). **Acta Societatis**, v. 57, n. 1, p. 3–7, 1988.
- DAVE, Y.; THOMAS, V.; KURIACHEN, P. M. Structure and development of colleters of *Aganosma caryophyllata* G. Don. **Pakistan Journal of Botany**, v. 19, p. 243–248, 1987.
- DENG, S.; PALU, A. K.; WEST, B. J.; et al. Lipoxygenase inhibitory constituents of the fruits of noni (*Morinda citrifolia*) collected in Tahiti. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 5, p. 859–862, 2007.
- DIXON, A. R.; MCMILLEN, H.; ETKIN, N. L. Ferment this: the transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). **Economic Botany**, v. 53, n. 1, p. 51–68, 1999. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/index/Q74217544087J336.pdf>>. .
- FAHN, A. **Secretory tissues in plants**. Academic P ed. London, 1979.
- FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist**, v. 108, n. 3, p. 229–257, 1988. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8137.1988.tb04159.x>>. .

FERNANDES, V. F.; THADEO, M.; DALVI, V. C.; MARQUETE, R.; MEIRA, R. M. S. A. Colleters in Casearia (Salicaceae): A new interpretation for the theoid teeth. **Botanical Journal of the Linnean Society**, , n. Maio, 2016.

GABE, M. **Techniques histologiques**. Paris: Masson & Cie, 1968.

GAGLIARDI, K. B.; CORDEIRO, I.; DEMARCO, D. Protection and attraction: Bracts and secretory structures in reduced inflorescences of Malpighiales. **Flora**, v. 220, p. 52–62, 2016. Elsevier GmbH. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2016.02.003>>. .

GONZALEZ, A. M. Colleters in Turnera and Piriqueta(Turneraceae). , v. 128, p. 215–228, 1998.

GONZALEZ, A. M.; TARRAGÓ, J. R. Anatomical structure and secretion compounds of colleters in nine Ilex species (Aquifoliaceae) from southern South America. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 160, p. 197–210, 2009.

HEMWIMON, S.; PAVASANT, P.; SHOTIPRUK, A. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Morinda citrifolia. **Separation and Purification Technology**, v. 54, p. 44–50, 2007.

JENSEN, W. A. **Botanical histochemistry: principles and practice** . San Francisco: **W.H. Freeman and Company, 1962. 408 p.** 1962^o ed. San Francisco: W. H. Freeman and company, 1962.

KESONBUAA, W.; CHANTARANOTHAI, P. The genus Morinda (Rubiaceae) in Thailand. **Science Asia**, v. 39, n. 4, p. 331–339, 2013.

KLEIN, D. E.; GOMES, V. M.; DA SILVA-NETO, S. J.; DA CUNHA, M. The structure of colleters in several species of Simira (Rubiaceae). **Annals of Botany**, v. 94, p. 733–740, 2004.

KRISHNAIAH, D.; BONO, A.; SARBATLY, R.; ANISUZZAMAN, S. M. Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated Morinda citrifolia L . methanolic extract from Poly-ethersulphone (PES) membrane separator. **Journal of King Saud University - Engineering Sciences**, v. 27, n. 1, p. 63–67, 2015. King Saud University. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jksues.2013.01.002>>. .

MACEDO, T. P.; CORTEZ, P. A.; COSTA, L. C. DO B. First record of colleters in Zanthoxylum Linn . species (Rutaceae Juss ., Sapindales): structural , functional and taxonomic considerations. **Flora**, v. 224, p. 66–74, 2016. Elsevier GmbH. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.flora.2016.07.007>>. .

MACHADO, A. F. P.; DE SOUZA, A. M.; LEITÃO, C. A. E. Secretory structures at syconia and flowers of Ficus enormis (Moraceae): A specialization at ostiolar bracts and the first report of inflorescence colleters. **Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 208, n. 1, p. 45–51, 2013.

MACHADO, S. R.; PALEARI, L. M.; PAIVA, A. S. E.; RODRIGUES, T. M. Colleters on the inflorescence axis of croton glandulosus (euphorbiaceae): structural and functional characterization. **Int. J. Plant Sci.**, v. 176, n. 1, p. 86–93, 2015.

MAHLBERG, P. G.; EUN-SOO, K. Secretory vesicle formation in glandular trichomes of *Cannabis sativa* (Cannabaceae). , v. 79, n. 2, p. 166–173, 1992.

MARTINS, F. M. Leaf and calycine colleters in *Odontadenia lutea* (Apocynaceae – Apocynoideae – Odontadenieae): their structure and histochemistry. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 1, p. 59–69, 2012.

MARTINS, F. M.; CUNHA-NETO, I. L.; PEREIRA, T. M. Floral morphology and anatomy of *Dalechampia alata* Klotzsch ex Baill. (Euphorbiaceae), with emphasis on secretory structures. **Braz. J. Biol.**, v. 76, n. 1996, p. 233–244, 2016.

MARTINS, F. M.; KINOSHITA, L. S.; CASTRO, M. DE M. Coléteres foliares e calicinais de *Temnadenia violacea* (Apocynaceae, Apocynoideae): estrutura e distribuição. **Revista Brasil. Bot.**, v. 33, n. 3, p. 489–500, 2010.

MARTINS, F. M.; LIMA, J. F.; MASCARENHAS, A. A. S.; MACEDO, T. P. Secretory structures of *Ipomoea asarifolia*: Anatomy and histochemistry. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 1, p. 13–20, 2011.

MAYER, J. L. S.; CARDOSO-GUSTAVSON, P.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Colleters in monocots: New record for Orchidaceae. **Flora**, v. 206, n. 3, p. 185–190, 2011.

MAYER, J. L. S.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; MAZZAFERA, P. A functional role for the colleters of coffee flowers. **AoB PLANTS**, v. 5, n. June, p. 1–13, 2013.

MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; PAIVA, E. A. S. Leaf colleters in *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae): Ecological, morphological and structural aspects. **Comptes Rendus - Biologies**, v. 336, n. 8, p. 400–406, 2013.

MIGUEL, E. D. C.; MORAES, D. G. DE; CUNHA, M. DA. Stipular colleters in *Psychotria nuda* (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae): micromorphology, anatomy and cristals microanalysis. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 4, p. 1034–1039, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062009000400013&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. .

MIGUEL, E. DE C.; DA CUNHA, M.; MIGUEL, T. B. A. R.; BARROS, C. F. Ontogenesis secretion and senescence of *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart. (Rubiaceae) colleters. **Plant Biology**, , n. Paiva 2009, p. 1–8, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/plb.12473>>. .

MIGUEL, E. DE C.; GOMES, M. V.; OLIVEIRA, DE M. A.; DA CUNHA, M. Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): Ultrastructure, secretion protein composition, and antifungal activity. **Plant Biology**, v. 8, n. 5, p. 715–722, 2006.

MIGUEL, E. DE C.; KLEIN, D. E.; OLIVEIRA, A. M.; DA CUNHA, M. Ultrastructure of secretory and senescence phase in colleters of *Bathysa gymnocarpa* and *B. stipulata* (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 33, n. 3, p. 425–436, 2010.

MISAKI, A.; ITO, T.; HARADA, T. Constitutional Studies on the Mucilage of “Yamanoimo,” *Dioscorea batatas* Decne, forma Tsukune. **Agricultural and Biological**

Chemistry, v. 36, n. 5, p. 761–771, 1972.

MURAVNIK, L. E.; KOSTINA, O. V.; SHAVARDA, A. L. Development, structure and secretion compounds of stipule colleters in *Pentas lanceolata* (Rubiaceae). **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 27–36, 2014. South African Association of Botanists. Disponível em:

<<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0254629914000490>>. .

O'BRIEN, T. .; FEDER, N.; MCCULLY, M. . Polychromatic Staining of Plant Cell Walls by Toluidine Blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 367–373, 1964.

PACINI, E.; NEPI, M.; VESPRINI, J. L. Nectar biodiversity: a short review. **Plant Systematics and Evolution**, v. 238, p. 7–22, 2003.

PAIVA, E. A. S. Occurrence, structure and functional aspects of the colleters of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Comptes Rendus - Biologies**, v. 332, n. 12, p. 1078–1084, 2009. Elsevier Masson SAS. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.crv.2009.08.003>>. .

PAIVA, E. A. S. Colleters in *Cariniana estrellensis* (Lecythydaceae): structure, secretion and evidences for young leaf protection. , v. 139, n. 1, p. 1–8, 2012.

PAIVA, E. A. S.; MACHADO, S. . R. Colleters in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) ontogenesis, ultrastructure and secretion. **Brazilian journal of biology . Revista brasleira de biologia**, v. 66, n. 1B, p. 301–308, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16710522>>. .

PAIVA, E. A. S.; MACHADO, S. R. M. Ontogenesis, structure and ultrastructure of *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) colleters. **Revista de Biologia Tropical**, v. 54, n. 3, p. 943–950, 2006.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology** . 4.ed. 1980.

PINHEIRO, S. K. DE P.; SOUSA, F. X. DE; MEDEIROS, P. R. L. DE; MIGUEL, T. B. A. R.; MIGUEL, E. DE C. ENVIRONMENTAL SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (ESEM) OF *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) COLLETTERS. **Acta Biomédica Brasiliensia**, v. 6, p. 129–140, 2015.

PIZZOLATO, T. D.; LILLIE, R. D. Mayer's tannic acid -ferric chloride stain for mucins. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, v. 21, p. 56–64, 1973.

RIO, M. C. S.; CASTRO, M. M.; KINOSHITA, L. S. Distribuição e caracterização anatômica dos coléteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae) 1. **Revista Brasil. Bot.**, v. 2, n. Thomas 1991, p. 339–349, 2002.

RIO, M. C. S.; KINOSHITA, L. S.; CASTRO, M. M. Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G. Mey. (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 4, p. 713–726, 2005.

ROCHA, J. F.; PIMENTEL, R. R.; MACHADO, S. R. Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p.

751–763, 2011.

SILVA, C. J.; BARBOSA, L. C. D. A.; MARQUES, A. E.; et al. Anatomical characterisation of the foliar colleters in Myrtoideae (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 60, n. 8, p. 707–717, 2012.

SIMÕES, A. O.; CASTRO, M. DE M.; KINOSHITA, L. S. Calycine colleters of seven species of Apocynaceae (Apocynoideae) from Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. August, 2016.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch — composition , fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151–165, 2004.

THOMAS. V. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. **Annals of Botany**, v. 68, p. 287 – 305, 1991.

THOMAS, V.; DAVE, Y. Structure and necrosis of stipular colleters in *Mitragyna parvifolia* (Rubiaceae). **Belgian Journal of Botany**, v. 123, p. 67–72, 1990.

TRESMONDI, F.; NOGUEIRA, A.; GUIMARÃES, E.; MACHADO, S. R. Morphology, secretion composition, and ecological aspects of stipular colleters in Rubiaceae species from tropical forest and savanna. **The Science of Nature**, v. 102, n. 11–12, p. 73, 2015. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00114-015-1320-5>>. .

VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour : a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 245–266, 2004.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with xyloidine ponceau. **Ann histoch.**, v. 15, p. 289–296, 1970.

VITARELLI, N. C.; RIINA, R.; CARUZO, M. B. R.; et al. Foliar secretory structures in Crotonae (Euphorbiaceae): Diversity, anatomy, and evolutionary significance. **American Journal of Botany**, v. 102, n. 6, p. 833–847, 2015. Disponível em: <<http://www.amjbot.org/cgi/doi/10.3732/ajb.1500017>>. .

VITARELLI, N. C.; SANTOS, M. Anatomia de estípulas e coléteres de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 4, p. 923–928, 2009.

WANG, M.-Y.; WEST, B. J.; JENSEN, C. J.; et al. *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 12, p. 1127–1141, 2002.

WESTERN, T. L.; SKINNER, D. J.; HAUGHN, G. W. Differentiation of Mucilage Secretory Cells of the *Arabidopsis* Seed Coat. **Plant Physiology**, v. 122, n. 2, p. 345–356, 2000. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/122/2/345.short>>. .

ZIN, M. Z.; ABDUL-HAMID, A.; OSMAN, A. Antioxidant activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L .) root , fruit , and leaf. **Food Chemistry**, v. 78, p. 227–231, 2002.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (org.). In: E. da U. P. A. E. da UFRGS (Org.); **Farmacognosia : da planta ao medicamento**. 5^o ed, v. 5, p.577–614, 2004. Porto Alegre, Florianópolis.