



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

**FRANCINALDA XAVIER DE SOUSA**

**ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DE COLÉTERES DE**  
*Genipa americana* L. (RUBIACEAE)

**FORTALEZA**  
**2017**

FRANCINALDA XAVIER DE SOUSA

ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DE COLÉTERES DE  
*Genipa americana* L. (RUBIACEAE)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Emílio 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)

---

- S696a Sousa, Francinalda Xavier de.  
Anatomia e ultraestrutura de coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) / Francinalda Xavier de Sousa. – 2017.  
67 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. Emílio de Castro Miguel.
1. Coléter. 2. *Genipa americana*. 3. Ontogênese. 4. Processo . 5. Secretor. I. Título.

CDD 660.6

---

FRANCINALDA XAVIER DE SOUSA

ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DE COLÉTERES DE

*Genipa americana* L. (RUBIACEAE).

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia de Recursos Naturais.

Aprovada em: 14 / 07 / 2017 .

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Emílio de Castro Miguel (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. João Henrique Chaves (Examinador interno)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Edilson Martins Rodrigues Neto (Examinador externo)  
Centro Universitário Católica de Quixadá (UniCatólica)

Dedico esse trabalho

aos meus Pais:

Gerardo Xavier de Souza (*in memoriam*) e  
Maria Francenice de Sousa (*in memoriam*).

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, antes de tudo, ao Grande Deus, pelo qual tudo veio a existir.

Ao Prof. Dr. Emilio de Castro Miguel, professor do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, pela dedicação, tempo e paciência dispensados a esse projeto como orientador do mesmo, obrigada!

Ao Prof. Dr. Antônio Gomes de Sousa Filho, Coordenador da Central Analítica do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, pela colaboração dispensada a esse projeto.

Ao Prof. Dr. Alejandro Pedro Ayala, pela colaboração na utilização das dependências do Laboratório de Caracterização e Propriedades de Cristais da Universidade Federal do Ceará.

À Prof. Dra. Maria Izabel Galão, pela colaboração na utilização das dependências do Laboratório de Biologia Celular Vegetal da Universidade Federal do Ceará.

Ao Prof. Dr. Odair Pastor Ferreira, pela colaboração na utilização das dependências do Laboratório de Materiais Funcionais Avançados da Universidade Federal do Ceará.

À Amanda Vieira, Francisco Fábio Oliveira de Sousa, Francisco Regivânio do Nascimento Andrade, Marlos de Medeiros Chaves, queridos amigos, a quem agradeço pelas palavras de encorajamento e apoio durante a elaboração desse trabalho.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa da Central Analítica do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará, Francisco Breno Silva Teófilo, Paulo Rafael de Lima Medeiros e Sergimar Kennedy de Paiva Pinheiro, agradeço pela ajuda e parceria desenvolvida ao longo desse mestrado.

Ao meu gerente administrativo na Empreendimentos Pague Menos S.A., Leandro Luiz de Sousa Garufe, por seu apoio e compreensão em todas as etapas que passei para chegar à conclusão desse trabalho.

Às minhas amigas, Adelita Duanra Medeiros do Monte Arnaud e Raquel Araújo de Santiago, ao Sr. Francisco Oliveira, e aos meus colegas de trabalho, Taís Helena Silva e Leandro Silva Cutrim, agradeço a todos pela presteza na coleta das amostras botânicas necessárias ao desenvolvimento dessa pesquisa.

E, por fim, aos meus familiares, Francinaldo Xavier de Sousa e Francinaldo Xavier de Sousa (irmãos), Joelma Gomes de Lima (cunhada), Maria Júlia Lima de Sousa e Francinaldo Xavier de Sousa Filho (sobrinhos), pela compreensão nos momentos de ausência.

“Posso todas as coisas nAquele que me fortalece.”

**Filipenses 4:13**

## RESUMO

A família Rubiaceae ocupa o quarto lugar em todo o reino vegetal, com relação ao número de espécies, após as famílias Orquidaceae, Asteraceae e Leguminosae. Com cerca de 13.143 espécies, abrange em torno de 611 gêneros, dos quais 26 possuem mais de 100 espécies. Sua distribuição geográfica se concentra em regiões quentes, principalmente na área dos trópicos, onde crescem 75% das espécies. Nesse contexto, a espécie *Genipa Americana* L. (Rubiaceae) apresenta grande importância dentro do grupo, tendo em vista sua utilização na recuperação de ecossistemas lacustres, acentuado estudo das características químicas e farmacológicas de seus dois principais ácidos, genipínico e genípico, bem como sua vasta utilização nos mais diversos contextos da indústria alimentícia, de couros, bebidas, tintas, combustíveis, madeiras, dentre outras. Esta pesquisa teve por objetivo caracterizar o coléter presente nas estípulas da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae), de modo a descrever o processo de ontogênese, determinar a micromorfologia e a anatomia, caracterizar o processo de externalização da secreção, e realizar a histoquímica da secreção. A metodologia empregada compreendeu Microscopia Eletrônica de Varredura, Microscopia Ótica e Testes Histoquímicos. Os resultados obtidos foram: Ontogênese em três estágios: inicial, intermediário e final, com os coléteres formados a partir de células da protoderme e do meristema fundamental, através de divisões anticlinais na protoderme e periclinais. Coléteres organizados na base da estípula em formato triangular; tipo padrão; presença de constrição da base; epiderme paliçádica, constituída por células secretoras; eixo central, constituído por células parenquimáticas alongadas, e não vascularizado. Mecanismo secretor apresenta acúmulo de secreção e formação de espaço subcuticular, distensão da cutícula e liberação da secreção via poro secretor apical cuticular. A análise da secreção permitiu caracterizar a natureza mista e confirmar a presença de mucilagem, proteínas, polissacarídeos, lipídeos e compostos fenólicos. O estudo de estruturas secretoras como os coléteres, em muito tem contribuído para a melhor caracterização de representantes em espécies de Rubiaceae, vindo a se tornar uma importante ferramenta de pesquisa.

**Palavras-chave:** Coléter. *Genipa americana*. Ontogênese. Processo secretor.



## ABSTRACT

The Rubiaceae family occupies the fourth place in the whole vegetal kingdom, regarding the number of species, behind the families Orquidaceae, Asteraceae and Leguminosae. With about 13,143 species, covers around 611 genera, of which 26 have more than 100 species. Its geographic distribution is concentrated in hot regions, mainly in tropical areas, where 75% of species grow. In this context, the species *Genipa americana* L. (Rubiaceae) presents great importance within the group, considering its use in the recovery of lacustrine ecosystems, an accentuated study of the chemical and pharmacological characteristics of its two main acids, genipinic and genipic, as well as its wide use in the most diverse contexts of the food industry, leather, beverages, paints, fuels, wood, among others. This research aims to characterize the colleter present in the stipules of *Genipa americana* L. (Rubiaceae), in order to describe the ontogenesis process, determine the micromorphology and anatomy, to characterize the process of secretion release, and to perform the histochemistry of the secretion, in search of the following substances: Starch, Phenolic Compounds, Lipids, Mucilage, Total Polysaccharides, Proteins and Tannins. The methodology used comprised Scanning Electron Microscopy, Optical Microscopy and Histochemical Tests. The results obtained led to the following conclusions: Ontogenesis in three stages: initial, intermediate and final, with the colleters formed from cells of the protoderm and the fundamental meristem, through anticlinal divisions in the protoderm and periclinal; colleters organized in the base of the stipule in a triangular format; standard type; presence of base constriction; palisade epidermis, constituted by secretory cells; central axis, constituted by elongated parenchymatic cells, and non-vascularized. Its secretory mechanism presents an accumulation of secretion and formation of subcuticular space, distension of the cuticle and release of secretion across cuticular secretory pore. The secretion analysis allowed to characterize its mixed nature and confirm the presence of mucilage, proteins, polysaccharides, lipids and phenolic compounds. The study of secretory structures, such as colleters, has greatly contributed to the better characterization of representatives of Rubiaceae species, and has become an important research tool.

**Keywords:** Colleter. *Genipa americana*. Ontogenesis. Secretory process.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura da molécula do ácido genípico.....	17
Figura 2	– Estrutura da molécula do ácido genipínico.....	17
Figura 3	– Árvore, Folha, Flor, Ápice Caulinar Vegetativo e Fruto de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	18
Figura 4	– Representação esquemática de uma folha, apontando caule, bainha, estípula, limbo e pecíolo.....	19
Figura 5	– Estípula e ápice caulinar vegetativo da espécie <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	20
Figura 6	– Coléter do tipo padrão em <i>Bathysa cuspidata</i> (Rubiaceae) – corte (esquerda) em secção longitudinal (direita).....	24
Figura 7	– Coléteres presentes na estípula da espécie <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	24
Figura 8	– Mapa indicativo da área de coleta das amostras da espécie <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	27
Figura 9	– Ontogênese do coléter de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	34
Figura 10	– Estágio Pré-secretor dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	36
Figura 11	– Estágio Secretor dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	38
Figura 12	– Estágio Pós-secretor dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	39
Figura 13	– Estágio Senescente dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	41
Figura 14	– Micromorfologia e Anatomia do coléter de <i>Genipa americana</i> L. Rubiaceae.....	44
Figura 15	– Mecanismo de Secreção do coléter de <i>Genipa americana</i> L. Rubiaceae.....	45

Figura 16 – Teste Histoquímico para detecção de Polissacarídeos Totais nos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae), no Estágio Secretor.....	48
Figura 17 – Teste Histoquímico para detecção de Proteínas nos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae) no Estágio Secretor.....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

At.	Azul de toluidina
Fig.	Figura
HCl	Ácido clorídrico
HMDS	Hexametildisilazano
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MO	Microscopia Ótica
PAS	Ácido Periódico/Reativo de Schiff
XP	Xylidine de Ponceau

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características anatômicas e da micromorfologia da estípula e dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae), nos estágios pré-secretor secretor, pós-secretor e senescente.....	41
Tabela 2 – Testes histoquímicos na secreção dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae), nos estágios pré-secretor, secretor, pós-secretor e senescente.....	49

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	Objetivo geral.....	14
1.1.1	<i>Objetivos específicos</i> .....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	Família Rubiaceae.....	15
2.2.	<i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	17
2.2.1	<i>Descrição Botânica</i> .....	17
2.3	Estípula.....	19
2.4	Secreção e Estruturas Secretoras.....	20
2.5	Coléter.....	21
2.5.1	<i>Definição do coléter</i> .....	21
2.5.2	<i>Função do coléter</i> .....	22
2.5.3	<i>Ocorrência dos coléteres</i> .....	22
2.5.4	<i>Distribuição dos coléteres</i> .....	22
2.5.5	<i>Morfologia dos coléteres</i> .....	23
2.6	Inclusões.....	25
3	METODOLOGIA.....	26
3.1	Área de coleta.....	26
3.2	Material Botânico.....	26
3.3	Microscopia.....	28
3.3.1	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i> .....	28
3.3.2	<i>Microscopia Ótica (MO)</i> .....	28
3.4	Histoquímica.....	29
4	RESULTADOS.....	31
4.1	Ontogênese dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	32
4.2	Estágio Pré-secretor dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	33
4.3	Estágio Secretor dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	36
4.4	Estágio Pós-secretor dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	36
4.5	Estágio Senescente dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	39
4.6	Micromorfologia e Anatomia dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....	42

4.7	<b>Mecanismo de Secreção dos coléteres de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae).....</b>	42
4.8	<b>Histoquímica.....</b>	45
4.8.1	<i>Amido</i> .....	45
4.8.2	<i>Compostos Fenólicos</i> .....	45
4.8.3	<i>Lipídeos</i> .....	45
4.8.4	<i>Mucilagem</i> .....	45
4.8.5	<i>Polissacarídeos Totais</i> .....	46
4.8.6	<i>Proteínas</i> .....	47
4.8.7	<i>Taninos</i> .....	49
5	<b>DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....</b>	50
6	<b>CONCLUSÕES.....</b>	58
6.1	<b>Considerações finais.....</b>	58
6.1.1	<i>Ontogênese</i> .....	58
6.1.2	<i>Origem</i> .....	58
6.1.3	<i>Aspectos da micromorfologia e anatomia externa</i> .....	58
6.1.4	<i>Mecanismo Secretor</i> .....	58
6.1.5	<i>Histoquímica</i> .....	58
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	60

## 1 INTRODUÇÃO

A *caatinga* é um ecossistema exclusivamente brasileiro, ímpar em suas feições, e que se constitui na principal formação vegetal presente na região semiárida.

A despeito de sua notável heterogeneidade em termos da diversidade de espécies (nativas ou espontâneas) ali presentes, boa parte das áreas de caatinga encontra-se em estarrecedor processo de degradação ambiental e intensa desertificação.

Esta degradação é resultado, por exemplo, da expansão de áreas para cultivo agrícola e das recorrentes queimadas, da extração clandestina e comércio ilegal de madeira nativa para fornos de atividades comerciais de pequeno e médio portes (olarias, padarias etc.), de uso e ocupação inadequados do solo, dentre outros.

Dentre as fitofisionomias observadas no bioma caatinga, estão diversas espécies de porte arbóreo, largamente utilizadas pelas comunidades da região do semiárido no tratamento das mais diversas enfermidades, a exemplo da aroeira (*Myracrodruom urundeuva* Allemão), jenipapo (*Genipa americana* L.), jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan.) (CORDEIRO e FÉLIX, 2014).

A *Genipa americana* L. (Rubiaceae), popularmente conhecida como *jenipapo*, pertence à família Rubiaceae, e está presente em várias formações florestais no Brasil, sendo sua disponibilidade e comercialização restritas à sazonalidade (entre Novembro e Dezembro), tendo seu fruto alta perecibilidade (SANTANA NETA, 2014).

A *Genipa americana* L. (Rubiaceae) apresenta importância (a) nutricional, pois é fonte de micronutrientes e compostos fenólicos; (b) econômica, em função da comercialização de alimentos a partir dela produzidos, a exemplo de doces, licores, compotas e geleias; e (c) farmacológica, por conta do uso medicamentoso de suas porções, como o fruto *in natura*, decocção da casca e folhas, suco, licor etc. (LORENZI, 1992 *apud* QUEIROZ, 2009).

A espécie tem também importância ambiental, no que diz respeito à recomposição de matas ciliares, devido às suas características adaptativas, já que suporta longos períodos de alagamento com rápido crescimento e abundante produção de sementes (DURIGAN e NOGUEIRA, 1990 *apud* QUEIROZ, 2009).

Esta é, portanto, uma espécie que tem reais potencialidades de ampliação de suas variadas aplicações, o que motivou a escolha da *Genipa americana* L. (Rubiaceae) para a realização deste estudo, contribuindo para o enriquecimento do conhecimento científico a ela relacionado, de modo que venha a se tornar ferramenta de apoio para estudos de caracterização e distinção taxonômica entre as diferentes espécies do grupo.



## 1.1 Objetivo geral

Esta pesquisa tem por objetivo geral caracterizar os coléteres presentes nas estípulas da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae), com relação à micromorfologia e anatomia.

### 1.1.1 *Objetivos específicos*

Como objetivos específicos, são apresentados os seguintes:

- (a) Descrever o processo de ontogênese do coléter de *Genipa americana* L. (Rubiaceae);
- (b) Caracterizar a micromorfologia e anatomia do coléter de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) nos diferentes estágios de desenvolvimento;
- (c) Caracterizar o processo de externalização da secreção no coléter de *Genipa americana* L. (Rubiaceae); e
- (d) Realizar o estudo histoquímico da secreção presente no coléter de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), e evidenciar a possível presença das seguintes substâncias: Amido, Compostos Fenólicos, Lipídeos, Mucilagem, Polissacarídeos Totais, Proteínas e Taninos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Família Rubiaceae

A família Rubiaceae ocupa o quarto lugar em todo o reino vegetal, com relação ao número de espécies, apresentando cerca de 13.143 espécies, situando-se no *ranking* geral deste reino após as famílias Orquidaceae, Asteraceae e Leguminosae, abrangendo em torno de 611 gêneros, dos quais 26 têm mais de 100 espécies (DAVIS, 2006).

Sua distribuição geográfica está concentrada em regiões de clima quente, principalmente na área dos trópicos, onde se desenvolvem 75% das espécies. O maior número de espécies se concentra na América do Sul, com cerca de 1.200 (30%) espécies documentadas, seguida pela Ásia, com 1.000 (25%), no qual a Malásia detém cerca de 607 (15%) (CHIQUEIRE *et al.*, 2004).

No Brasil, esta família está representada por 18 tribos, 101 gêneros e 1.010 espécies, com ampla distribuição nos biomas da Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga, tendo este último presença de 25 gêneros. Os gêneros com maior número de espécies são: *Alibertia*, *Psychotria*, *Palicourea* e *Tocoyena* (MENDONÇA *et al.*, 2013).

Segundo Delprete e Jardim (2012), a classificação da família Rubiaceae sofreu inúmeras reorganizações, devido à influência de estudos filogenéticos moleculares, e de estudos florísticos, bem como revisões taxonômicas sobre Rubiaceae Neotropicais, recentemente produzidas.

Entre os gêneros mais importantes, devido à intensa utilização na culinária, e atividades medicamentosa, têxtil e madeireira, destacam-se: *Coffea* (café), *Genipa* spp (jenipapo, bebida), *Cinchona* (quinina, alcaloide), *Psychotria* (ipecacuanha, expectorante), *Pausinystalia* (Ioimbina, potenciador sexual), *Rubia* (corante), *Uncaria* spp. (anti-inflamatório, imunostimulador), *Calycophyllum* spp. (madeira de limão), *Neolamarckia* (madeira). Além destas, são também encontradas as plantas ornamentais tropicais, representadas pelos gêneros *Ixora*, *Gardenia*, *Mussaenda*, *Portlandia* e *Serissa* (GOVAERTS *et al.*, 2016).

Dentre as espécies, são encontradas árvores, arbustos ou ervas, lianas ou epífitas. Já dentre as características morfológicas, são verificadas: estípulas interpeciolares, persistentes ou decíduas; folhas simples, opostas ou verticiladas, inteiras, decussadas ou, às vezes, dísticas, geralmente pecioladas, glabras ou pubescentes. Podem ocorrer domácias pequenas, nas axilas abaxiais das nervuras laterais (MENDONÇA *et al.*, 2013).

Segundo Mendonça *et al.* (2013), as inflorescências podem ser terminais ou axilares, cimosas, paniculadas, racemiformes, tirsoides, capitadas ou, às vezes, reduzidas a uma flor solitária, sésseis ou pedunculadas, com brácteas e bractéolas, por vezes bem desenvolvidas e vistosas. Apresenta flores bissexuais ou, às vezes, unissexuais, actinomorfas ou raramente zigomorfas, frequentemente dísticas, por vezes, protogínicas.

As sementes vão de uma ou duas, por vezes, aparecendo frutos com grande número delas, apresentando as mesmas tamanho variável, forma plana, subglobosa, cilíndrica ou angulosa, sendo aladas ou não. O endosperma é bem desenvolvido, raramente ausente.

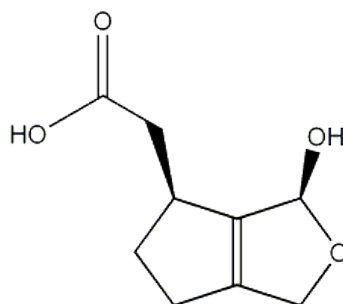
A importância ecológica das Rubiaceae reside em sua abundância, diversidade e presença em todos os extratos vegetais, sendo, devido a isso, muito utilizadas como um canal para estudos ecológicos e do estado de conservação da vegetação tropical, principalmente em composição florística e sociológica.

Quando comparadas às outras grandes Famílias de plantas (Orchidaceae e Leguminosae), a Rubiaceae é a família mais adequada para ser usada em análise ecológica, porque as Orchidaceae são principalmente herbáceas, e as Leguminosae são taxonomicamente menos estudadas que as Rubiaceae. Além disso, as Rubiaceae, juntamente com as Melastomataceae, são a família que fornece mais frutas comestíveis para aves tropicais (BREMER e ERIKSSON, 1992).

A espécie *G. americana* L. (Rubiaceae) apresenta grande importância dentro do grupo, em razão de sua utilização na recuperação de ecossistemas lacustres (ORWA *et al.*, 2009), de um acentuado estudo das características químicas e farmacológicas de seus dois principais ácidos – genípico e genipínico –, com reconhecida atividade antimicrobiana (TALLENT, 1964), tendo ainda vasta utilização nos mais diversos contextos tanto da indústria alimentícia, quanto na de couros, bebidas, tintas, combustível e madeiras (ORWA *et al.*, 2009).

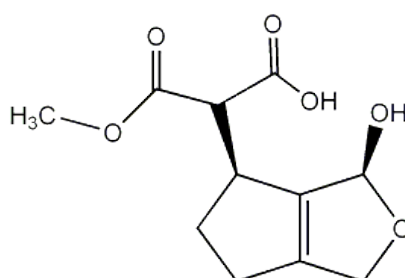
A Figura 1, a seguir, apresenta a estrutura química da molécula de ácido genípico, e a Figura 2, mais adiante, a estrutura da molécula do ácido genipínico.

Figura 1 – Estrutura da molécula de ácido genípico.



Fonte: TALLENT (1964).

Figura 2 – Estrutura da molécula de ácido genipínico.



Fonte: TALLENT (1964).

## 2.2 *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

### 2.2.1 *Descrição Botânica*

Trata-se de uma árvore decídua, de pequeno a médio porte, medindo de 8-20 m de altura, ocasionalmente até 30 m, e com diâmetro de 30-80 cm. O tronco é geralmente alto e em linha reta, com copa densa, e os galhos mais baixos, mais ou menos horizontais. A casca é grossa e lisa (LORENZI, 2000).

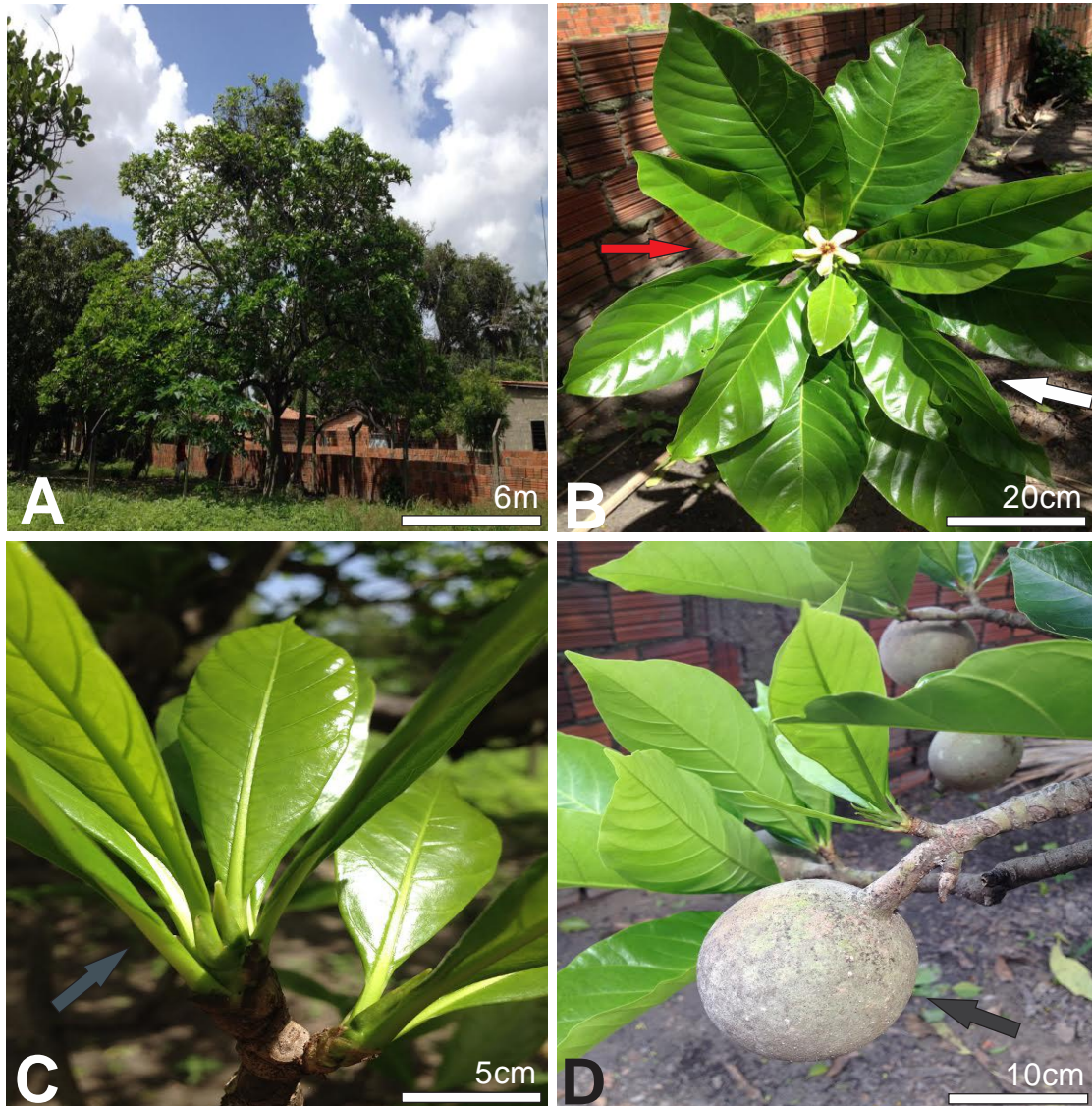
As folhas são simples, opostas, oblongo-obovatas, medindo cerca de 10-35 cm de comprimento por 4-13 cm de largura, com pecíolo curto, às vezes, ligeiramente dentadas, com nervura central esbranquiçada proeminente, agrupadas na extremidade dos ramos. Para cada par de folhas, existem dois pares de estípulas triangulares que, muitas vezes, deixam cicatrizes muito distintas ao cair (FAO, 1986; ORWA *et al.*, 2009).

As flores são bissexuais, pequenas (4 centímetros de largura), levemente perfumadas de coloração amarelo-branco, tubulares e contendo 5 pétalas. Elas são suportadas em suma, ramificadas, de inflorescências terminais (FIGUEIREDO *et al.*, 1986; ORWA *et al.*, 2009).

O fruto é uma grande baga, elíptica ou arredondada-oval, afinando rapidamente para a haste final. Medindo 9-15 cm de comprimento por 7-9 cm de largura, cada fruto pesa entre 200g e 400g. Tem uma pele de couro fino, e um mesocarpo amarelo-castanho suave, de cerca de 1-2 cm de espessura. Existem até 300 sementes por fruto. As sementes são duras, lisas, de cor castanho escuro, medindo de 10-12 mm de comprimento, sendo cobertos com o interior fibroso do mesocarpo (FIGUEIREDO *et al.*, 1986; ORWA *et al.*, 2009).

A Figura 3 mostra detalhes de diferentes partes da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae): árvore, folha, flor, ápice caulinar vegetativo e fruto.

Figura 3 – Árvore, Folha, Flor, Ápice Caulinar Vegetativo e Fruto de *Genipa americana* L. (Rubiaceae).



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A – Árvore; B – Folha (seta branca) e Flor (seta vermelha); C – Ápice Caulinar Vegetativo (seta cinza, canto inferior esquerdo); e D – Fruto (seta preta, canto inferior direito).

### 2.3 Estípula

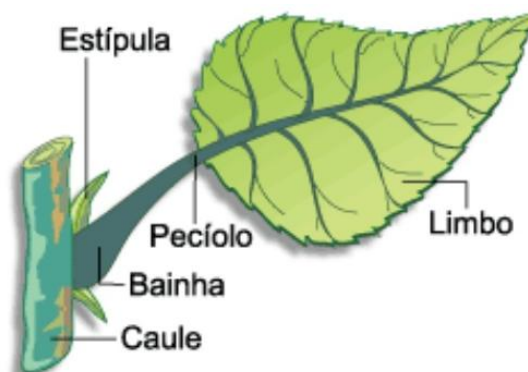
São estruturas anatômicas que têm como finalidade revestir e proteger os primórdios foliares e o ápice caulinar vegetativo de plantas (MAYER *et al.*, 2013). Localizam-se na parte basal das folhas, em ambos os lados de inserção na mesma. Seu surgimento e desenvolvimento se dão desde o início da formação da folha, acompanhando-a em todos os estágios, e repetindo-se de maneira periódica, desde a porção apical, seguindo o intercalamento basal (WEBERLING, 2006).

Existem em diferentes formas: foliáceas, livres, adnatas, internas, externas, opostas, contrapostas, triangulares. Em alguns casos, apresentam-se assimétricas, em formato de espinhos, e ocorrem também as formas mais rudimentares (WEBERLING, 2006).

A presença ou ausência têm sido utilizadas para descrever a taxonomia sistemática de plantas da ordem das Angiospermas, notadamente o grupo das Rubiaceae, devido à sua constância na família, que as distingue da maioria das outras, em particular das Asteridae. Neste grupo, caracterizam-se por serem principalmente fundidas a uma estrutura interpeciolar em ambos os lados do caule e entre as folhas opostas. Aquelas em formato laminar ou fundidas em um cone, geralmente revestem os nós mais jovens, protegendo o ápice crescente em toda sua extensão (ROBBRECHT, 1988).

Os tipos principais encontrados no grupo são: triangulares, ovatas, bulatas, bífidas, multífidas e em formato de bainha. Verifica-se que, após o crescimento do ápice, as mesmas podem permanecer ligadas ao caule ou não – o que as caracterizam como sendo persistentes ou decíduas, respectivamente (ROBBRECHT, 1988). A Figura 4 mostra a representação esquemática de uma folha, apontando as estruturas: caule, bainha, estípula, limbo e pecíolo.

Figura 4 – Representação esquemática de uma folha, apontando caule, bainha, estípula, limbo e pecíolo.



Fonte: Adaptado de Google (2017).



A Figura 5 mostra a estípula e o ápice caulinar vegetativo da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae).

Figura 5 – Estípula e ápice caulinar vegetativo da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae).



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: Estípula (círculo); ápice caulinar vegetativo (seta cinza).

## 2.4 Secreção e Estruturas Secretoras

As plantas produzem variados tipos de secreções. Estas podem ser constituídas de soluções aquosas ou também conter outros constituintes, como sais, aminoácidos e açúcares, ou se comportarem como misturas complexas, podendo conter metabólitos primários (proteínas, polissacarídeos e pectinas), ou ainda, metabólitos primários e secundários (terpenóides, fenilpropanóides e alcalóides). Em adição, outras secreções podem conter variada quantidade de compostos, podendo alguns serem biologicamente ativos (FIGUEIREDO *et al.*, 2006).

Estas secreções podem ser sintetizadas ou simplesmente acumuladas e eliminadas em células especializadas, as quais podem ocorrer isoladamente, como os idioblastos secretores, ou se constituírem de estruturas glandulares altamente diferenciadas, como os tricomas, as emergências, as bolsas e os canais laticíferos. Estas estruturas

apresentam uma alta diversidade morfológica, e acredita-se que os tipos de secreções produzidas por estas não tenham correlação com a morfologia das mesmas (FAHN, 1979; FAHN, 1990; METCALFE e CHALK, 1983; DICKISON, 2000).

O processo de formação de secreção é considerado bastante complexo, podendo incluir a síntese e o isolamento de determinadas substâncias em compartimentos do protoplasto da célula secretora, e posterior liberação para espaços intercelulares ou para a superfície externa do corpo do vegetal (CASTRO e MACHADO, 2006).

Nesse contexto, as estruturas secretoras estão divididas em duas categorias: estruturas secretoras externas, cujo exsudato é liberado para o ambiente externo, e estruturas secretoras internas, localizadas no interior da planta, cujo exsudato é liberado para o ambiente externo somente quando há injúria do órgão (CARDOSO, 2011).

As estruturas secretoras externas estão representadas pelos seguintes elementos: coléteres, nectários extraflorais, nectários florais, hidropótios, hidatódios, glândulas de sal, glândulas digestivas, tricomas urticantes, osmóforos e os elaióforos. As estruturas secretoras internas compreendem os seguintes tipos: idioblastos, canais e cavidades (dutos e bolsas), e os canais laticíferos (CARDOSO, 2011).

Em Rubiaceae, as estruturas secretoras têm importância no “taxa” durante os estudos de classificação de novas espécies, tendo notável participação o estudo dos coléteres, bem como a natureza da secreção particularmente, produzida pelos mesmos, nos mais diferentes representantes dentro do grupo.

A secreção de mucilagem é uma propriedade comum de muitas espécies vegetais, e pode ser realizada por organismos diversos como, por exemplo: raízes, plantas carnívoras, glândulas, órgãos reprodutivos, e no contexto geral das Rubiaceae, os coléteres tem especial participação (DEXHEIMER e GUENIN, 1981; THOMAS, 1991).

## **2.5 Coléter**

### **2.5.1 *Definição do coléter***

Os coléteres são estruturas secretoras caracterizadas por um eixo central alongado formado por parênquima fundamental, cercado por uma camada de células epidérmicas em formato de paliçada (CUNHA e VIEIRA, 1997). Este tecido é formado apenas por células secretoras (THOMAS, 1991).



Dentre algumas definições, pode-se destacar: "*shaggy hairs*" (SOLEREDER, 1908), "*glandular shaggy hairs*" (METCALFE e CHALK, 1979) e "*squamellae*" (RAMAYA e BAHADUR, 1968).

De acordo com estudos realizados na família Apocinaceae, acredita-se que a origem dos coléteres deriva tanto de tecidos germinativos da epiderme, como também de células das camadas subepidérmicas (RAMAYA e BAHADUR, 1968).

Os coléteres são diferenciados das demais estruturas secretoras através da composição do exsudato, que pode ser constituído unicamente por mucilagem (FAHN, 1979; THOMAS, 1991) ou uma mistura de mucilagem e substâncias lipofílicas (FAHN, 1979; FAHN, 1990; KRONESTEDT-ROBARDS e ROBARDS, 1991).

### **2.5.2 Função do coléter**

Acredita-se que a função dos coléteres seja proteger o ápice germinativo e as gemas laterais dos processos físicos e dos mecanismos químicos de agressão, como também diminuir a perda de água de algumas partes da planta.

Também já foi demonstrada sua propriedade fungicida *in vitro*, contra esporos patogênicos, bem como uma função nutricional, quando da observação de um ciclo simbiótico entre bactérias presentes na secreção de nódulos foliares (HORNER e LERSTEN, 1968; LERSTEN, 1975; MIGUEL *et al.*, 2006; MIGUEL, 2009).

### **2.5.3 Ocorrência dos coléteres**

Os coléteres ocorrem em diferentes regiões nas plantas, desde a estípula (adaxial) em Rubiaceae, nas flores, na superfície adaxial e abaxial de folhas ou nas margens, podendo aparecer associados aos tricomas e também ao cálice, pecíolos, nas brácteas, bractéolas e também em corolas (THOMAS, 1991; GONZALEZ, 1998).

### **2.5.4 Distribuição dos coléteres**

Os coléteres podem localizar-se na porção central das estípulas ou do cálice, na margem ou arranjados um a um, ou em formato de rolos na base da estípula, distribuídos em linha reta ou formando dois triângulos (KLEIN *et al.*, 2004; MIGUEL *et al.*, 2006).

### 2.5.5 *Morfologia dos coléteres*

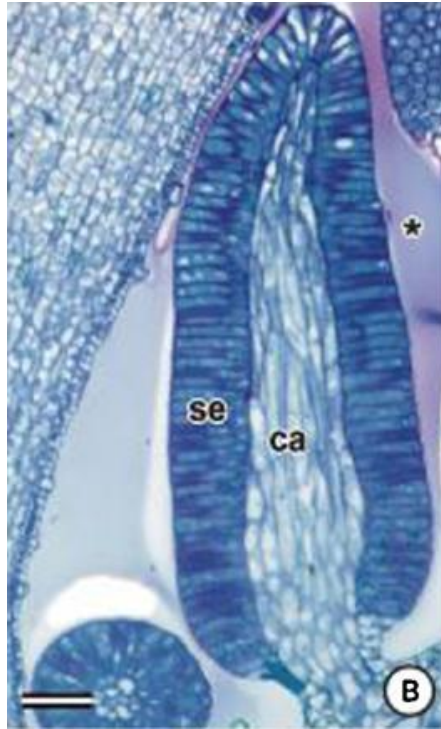
Alguns tipos principais estudados em espécies de Rubiaceae apresentam a seguinte nomenclatura: alado (aspecto sugere que o coléter não tenha conexão à estípula, através de pedúnculo), clavado (em formato de clave), dendróide (exibem aspecto ramificado), escova (formato de escova), estipular (ocorrem nas estípulas e podem variar do formato triangular a quadrado na base, circular a elíptico no ápice, podendo ter um estreitamento basal, especialmente marcado na face interna) e filiforme (organização lembra finos fios de cabelo) (HORNER e LERSTEN, 1968).

Existem ainda os do tipo lacrimiforme (apresenta similaridade ao tipo padrão, sendo que a diferença consiste no formato do corpo, podendo apresentar-se como a própria classificação sugere – em formato de lágrima ou cônico, com ápice geralmente, curvo), laminar (finos e com aspecto de lâmina), padrão (com formato semelhante a dedos, exibindo pedúnculo curto e uma longa cabeça secretora), reduzido (com as mesmas características do padrão, porém, de tamanho menor), séssil (apresentam-se, geralmente, em formato hemisférico, com eixo central de mesmo formato e ligeiramente cônico) (LERSTEN, 1974a; LERSTEN, 1974b; THOMAS, 1991).

O tipo padrão tem como características a presença de um eixo central de células parenquimáticas, cercado por uma epiderme secretora em formato de paliçada (THOMAS, 1991), sendo este o tipo mais frequente e comum em espécies de Rubiaceae, apresentando algumas variações entre as espécies, com base no tamanho e na presença de constrição da base, cuja descrição segue: cônico, obstrutivo, cilíndrico, arredondado e em formato de almofada (ROBBRECHT, 1988).

A Figura 6, a seguir, apresenta um coléter do tipo padrão em *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae). Já a Figura 7 mostra os coléteres presentes na estípula da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae).

Figura 6 – Coléter do tipo padrão em *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae) – em corte (esquerda) e em secção longitudinal (direita).

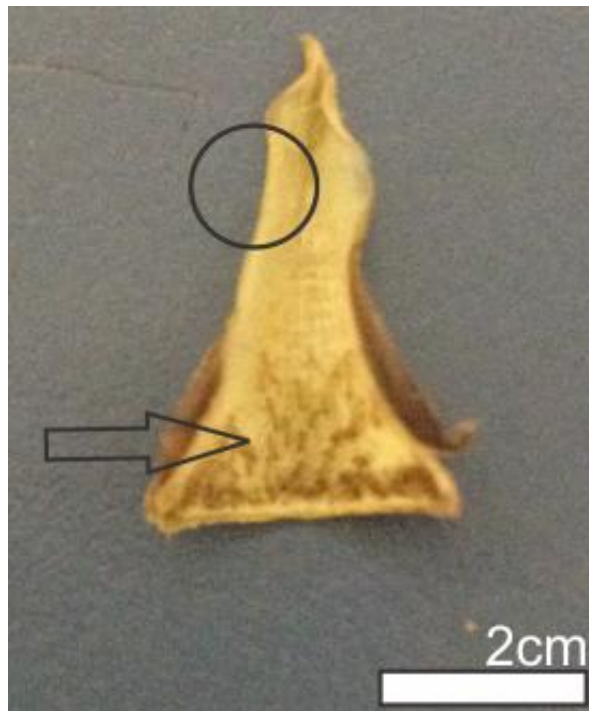


Fonte: Adaptado de Coelho *et al.* (2009).

Legenda: \*: coléter; es: epitélio secretor; ec: eixo central.

Imagem obtida por MO.

Figura 7 – Coléteres presentes na estípula da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae).



Fonte: Elaborado pela Autora.

Estípula (círculo); coléteres (seta vazada).

## 2.6 Inclusões

Em Rubiaceae, a ocorrência de cristais de oxalato de cálcio conta com estudos prévios, datados do século XX. Solereder (1893) determinou tanto a natureza química destes cristais, como também a ocorrência em toda a família.

A classificação morfológica dos cristais encontrados no grupo permanece a mesma até hoje, e tem sua descrição da seguinte forma: ráfides (feixes de cristais em forma de agulha, mais ou menos paralelos), estilóides (grandes cristais solitários alongados), areia de cristal (partículas diminutas), drusas (agregações com formato estelares a esféricas) e agulhas de cristal solitárias (ROBBRECHT, 1988).

Estes cristais têm a função de proteção da casca das plantas contra a ação de invertebrados ou a herbivoria de vertebrados, como também podem fazer com que o oxalato seja inviável para as células das plantas, especificamente no caso das ráfides, estruturas muito presentes em Rubiaceae (NAKATA, 2003; MIGUEL, 2009).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Área de Coleta

As amostras de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) utilizadas nesta pesquisa foram coletadas de árvores nativas, localizadas em área pública no Distrito de Caponga da Bernarda, município de Aquiraz, Estado do Ceará, sob coordenadas de localização: 38°21'20.4" O e 4°03'39.4" S; conforme pode ser visualizado na Figura 8.

#### 3.2 Material Botânico

Ápices caulinares de indivíduos adultos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), incluindo as estípulas e o meristema apical caulinar, foram coletados com o auxílio de podão. Amostras-testemunho foram depositadas no Herbário Prisco Bezerra, da Universidade Federal do Ceará, tendo como número de depósito a exsicata 59805. As estípulas foram dissecadas dos ápices caulinares com o uso de bisturis e pinças.

Para a microscopia, o material foi fixado quimicamente no laboratório, acondicionado de maneira a preservar as estruturas à temperatura ambiente, para a posterior realização dos procedimentos.

Na identificação das estípulas, seguiu-se descrição proposta por Klein (2002), em que o par de estípulas mais próximo ao meristema apical caulinar foi denominado estípulas do primeiro nó, o par seguinte, como do segundo nó, e assim por diante.

Para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram utilizados 4 indivíduos adultos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), os quais originaram 30 amostras.

Para a Microscopia Ótica (MO) e Histoquímica foram utilizados 3 indivíduos adultos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), os quais originaram 24 amostras.

Figura 8 – Mapa indicativo da área de coleta das amostras da espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae).



Fonte: Adaptado de Google Maps (2017).

Legenda: A – Brasil; B – Estado do Ceará; C – Município de Aquiraz; e D – Distrito de Caponga da Bernarda.

### 3.3 Microscopia

#### 3.3.1 *Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)*

Fragmentos da base da estípula contendo coléteres foram fixados em solução aquosa contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4,0%, diluídos em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH ~ 7,2, sob temperatura ambiente, durante 6 horas.

Após esse período, as amostras foram lavadas por 90 minutos (3x), em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, seguindo-se, então, a etapa de desidratação, em uma série etanólica ascendente [50%, 70%, 90%, 100%, 100%, 100%].

Após a desidratação, as amostras foram secas com HMDS (Hexametildisilazano) em acetona nas proporções 1:1, pelo intervalo de tempo de 2 horas. Após esse período, as amostras foram deixadas em HMDS Puro (*Overnight*).

Fragmentos secos de estípula e ápices contendo coléteres foram aderidos com fita adesiva de carbono dupla-face (3M) em suportes adequados. As amostras foram cobertas por metalização com uma camada de aproximadamente 20 nm de ouro, utilizando-se aparelho METALIZADORA QUORUM R Q 150 T ES.

A observação e documentação digital foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (QUANTA FEG - 450) a uma aceleração de voltagem de 15 kV ou 20 kV.

#### 3.3.2 *Microscopia Ótica (MO)*

Fragmentos da base da estípula, contendo coléteres, foram fixados em solução aquosa contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4,0 % diluídos em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH ~ 7,2, sob temperatura ambiente, durante 2 horas.

Após esse período, as amostras foram lavadas por 90 minutos (3x), em álcool 50%, seguindo-se, então, à etapa de desidratação em uma série etanólica ascendente [50%, 60%, 70%, 100%]. Os fragmentos foram, então, infiltrados e polimerizados com historesina, de acordo com as instruções do fabricante (Historesin Kit, da Leica).

Foram, então, obtidas secções finas (4  $\mu$ m) usando um Micrótopo (Leica RM 2265). Após serem colocadas em lâminas de microscópio, as peças foram coradas com azul de toluidina 0,05% em Tampão fosfato 0,05 M durante 30 min. Lâminas permanentes foram montadas com VERNIZ®.

O material foi examinado e a documentação analógica foi realizada em um microscópio óptico OLYMPUS UC30. Dados digitais foram obtidos no mesmo equipamento, utilizando-se uma câmera digitalizadora Model UC30 e o *software* CELL B.

### 3.4 Histoquímica

Fragmentos da base da estípula, contendo coléteres, foram fixados em solução aquosa contendo glutaraldeído 2,5%, formaldeído 4,0%, diluídos em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH ~ 7,2, sob temperatura ambiente, durante 2 horas.

Após esse período, as amostras foram lavadas por 90 minutos (3x), em álcool 50%, passando-se à etapa de desidratação, em uma série etanólica ascendente [50%, 60%, 70%, 100%]. Os fragmentos foram infiltrados e polimerizados com historesina, de acordo com as instruções do fabricante (Historesin Kit, da Leica).

Foram obtidas secções finas (4 µm) usando um Micrótomo (Leica RM 2265). Após serem colocadas em lâminas de microscópio, as peças foram submetidas aos seguintes corantes:

- (a) Lugol (amido), que cora o Amido presente nas amostras nas cores roxo ou castanho;
- (b) Dicromato de potássio 10% (compostos fenólicos), que cora os Compostos Fenólicos presentes nas amostras em tons de castanho avermelhado a castanho escuro;
- (c) Sudan Black B (lipídeos), que cora os Lipídeos presentes nas amostras em negro;
- (d) Ácido tânico 5% + Tricloreto de ferro 3% (mucilagem), que cora as Mucilagens presentes nas amostras de negro;
- (e) Ácido periódico/Reativo de Schiff (polissacarídeos totais), que cora os Polissacarídeos Totais presentes nas amostras de rosa; e
- (f) Xylidine de Ponceau (proteínas), que cora as Proteínas presentes nas amostras de vermelho e Vanilina Clorídrica 0,5% + Ácido Clorídrico (HCL) 9% (taninos), que cora os Taninos presentes nas amostras em tons de vermelho a castanho.



Os testes histoquímicos para detecção das substâncias foram realizados nos quatro estágios de desenvolvimento do coléter de *Genipa americana* L. (Rubiaceae): (i) Pré-secretor; (ii) Secretor; (iii) Pós-secretor; e (iv) Senescente. Lâminas permanentes foram montadas com VERNIZ®.

O material foi examinado, e a documentação digital foi realizada usando um microscópio óptico OLYMPUS UC30, com os dados digitais sendo obtidos no mesmo equipamento, utilizando-se câmera digitalizadora Model UC30 e o *software* CELL B.

#### 4 RESULTADOS

A observação dos coléteres presentes nas estípulas de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em diferentes nós, seguindo a classificação proposta por Klein (2002), permitiu definir quatro estágios de desenvolvimento para os mesmos, sendo estes: Estágio Pré-secretor, Secretor, Pós-secretor e Senescente.

Os estágios de desenvolvimento foram definidos a partir da visualização das seguintes características: (a) relacionadas à Estípula: aspecto celular, ocorrência de feixe vascular; e (b) ligadas ao Coléter: estrutura e forma da cutícula, constrição da base, aspecto das células que compõe a epiderme paliçádica e o eixo central; e (c) presença de secreção.

Verificou-se que, à medida que os estágios foram definidos, o grupo de características citadas anteriormente apresentou-se de maneira diferenciada, de acordo com a observação dos coléteres.

No Estágio Pré-secretor, foram evidenciadas as seguintes características: A estípula se apresentou com a superfície celular lisa e intacta, com células de aspecto homogêneo, com presença de feixe vascular.

Os coléteres localizados na base da estípula encontravam-se bem desenvolvidos, com cutícula de aspecto liso e intacto, ocorrência de constrição da base, células da epiderme paliçádica e do eixo central sendo bem delimitadas, túrgidas com núcleo evidente e citoplasma denso, com cutícula distendida.

Foi observada a presença de secreção, tanto em meio externo quanto no interior dos coléteres, apesar destes se encontrarem no Estágio Pré-secretor, com os eventos ocorrendo de maneira dinâmica, de modo que podem haver coléteres pré-secretores coexistindo no mesmo nó com os secretores, o que justifica o fato da presença de secreção no meio externo.

No Estágio Secretor, foram encontradas as seguintes características: estípula já se apresentando com a superfície celular de aspecto enrugado, com células heterogêneas, em processo de vacuolização, presença de feixe vascular e idioblastos secretores.

Os coléteres encontravam-se localizados na base da estípula, em notável processo secretor, estando imersos em secreção, com as células da epiderme paliçádica e do eixo central bem delimitadas, túrgidas, também com núcleo evidente, com citoplasma denso, e extravasamento de secreção através de um poro secretor, localizado no ápice da cabeça do coléter.

A cutícula apresentou aspecto celular diferenciado, quando comparado ao encontrado no Estágio Secretor – liso e intacto, nesse caso, já bastante distendida em virtude do processo secretor em si.

No Estágio Pós-secretor, foram evidenciadas as características que se seguem: a estípula nesse estágio já havia iniciado o processo de desgaste, sendo evidenciados feixes vasculares e idioblastos secretores com células de aspecto heterogêneo, entrando em colapso, com início do processo de retração celular e vacuolização.

Os coléteres localizados na base da estípula estavam em processo final de secreção, com cutícula de aspecto enrugado, distendida, porém, um pouco retraída, ocorrência da constrição da base, caracterizando nesse caso, o início do processo de senescência, células da epiderme paliçádica e do eixo central com citoplasma desorganizado/irregular, retraído, cutícula retraída, distendida, impossibilidade de visualização dos núcleos celulares.

No Estágio Senescente, o conjunto de características encontradas foi o seguinte: a estípula já se encontrava bastante enrugada, em processo de desgaste acentuado, com células heterogêneas em processo avançado de vacuolização. Também os feixes vasculares e idioblastos secretores se encontravam com células de aspecto heterogêneo.

Os coléteres estavam localizados na base da estípula, em avançado processo de senescência, cutícula envelhecida e em processo de desgaste, ocorrência de resquícios de secreção, constrição da base evidente, caracterizando processo final de senescência, células da epiderme paliçádica e do eixo central em avançado processo de colapso, citoplasma desorganizado, com células retraídas, cutícula retraída, levemente distendida, também impossibilidade de visualização dos núcleos celulares.

#### **4.1 Ontogênese dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)**

No processo de Ontogênese dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), foram encontrados os estágios de desenvolvimento do coléter do tipo padrão, definidos em: Inicial, Intermediário e Final, conforme pode ser visualizado na Figura 9, mais adiante.

No início do processo de desenvolvimento do coléter, foram encontradas as células da epiderme (ver seta azul na Figura 9, quadros A, B, C, D e F), a protoderme e do tecido subjacente no coléter em formação, com ocorrência de divisão anticlinal, cujas células precursoras da formação do coléter na epiderme apresentaram núcleo celular evidente (ver seta laranja na Figura 9, quadros A e D).

Nos estágios intermediários de desenvolvimento, foram observadas células da epiderme paliçádica e do eixo central bem caracterizadas, com núcleos celulares evidentes, com tecido da protoderme em divisão anticlinal (ver Figura 9, quadros E, F e G).

Foram encontrados coléteres em diferentes estágios de desenvolvimento – coléteres em estágio inicial (1), estágio intermediário (2) e em estágio final (3), já totalmente formados.

Foi observada considerável expansão das células do eixo central, das células da epiderme paliçádica, já bem caracterizadas, com núcleos celulares evidentes, com a cutícula distendida, e a ocorrência de secreção. A estípula bem caracterizada, de aspecto celular homogêneo, apresentou ocorrência de feixe vascular (Figura 9, quadro H).

#### **4.2 Estágio Pré-secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)**

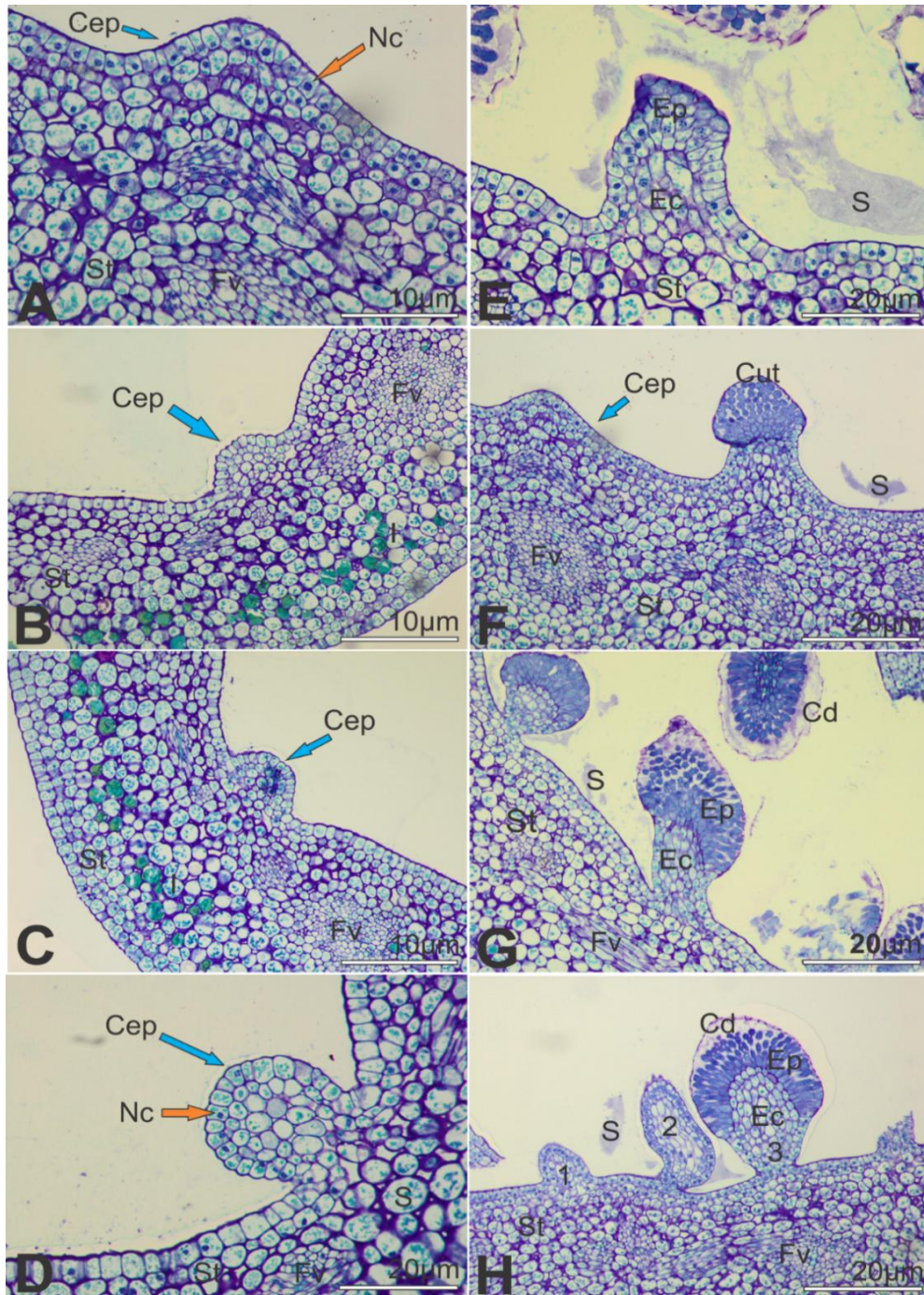
Conforme mostra a Figura 10, no Estágio Pré-secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), foi encontrado um grupo de coléteres localizados na base da estípula (Figura 10, quadro A), nos quais foram observados coléter túrgido, cutícula com aspecto liso, intacto, porém, denotando algum grau de distensão, devido ao acúmulo de secreção, apontando para passagem ao Estágio Secretor.

Foi verificada também a presença da constrição da base nos coléteres presentes neste estágio (Figura 10, quadro B). Foi visualizada a estípula íntegra, sem grau de rugosidade aparente (Figura 10, quadro C).

Foram encontradas células secretoras da epiderme paliçádica, com aspecto túrgido, apresentando citoplasma denso, as células que compõem o eixo central, com características semelhantes, observando-se a distensão da cutícula (Figura 10, quadros D e E).

Com relação às características da estípula, foi evidenciada sua natureza íntegra, apresentando células bem estruturadas, não denotando grau de rugosidade, tendo sido também observada a presença de feixe vascular, idioblastos secretores e a característica de homogeneidade celular (Figura 10, quadro F).

Figura 9 – Ontogênese do coléter de *Genipa americana* L. Rubiaceae<sup>1</sup>.



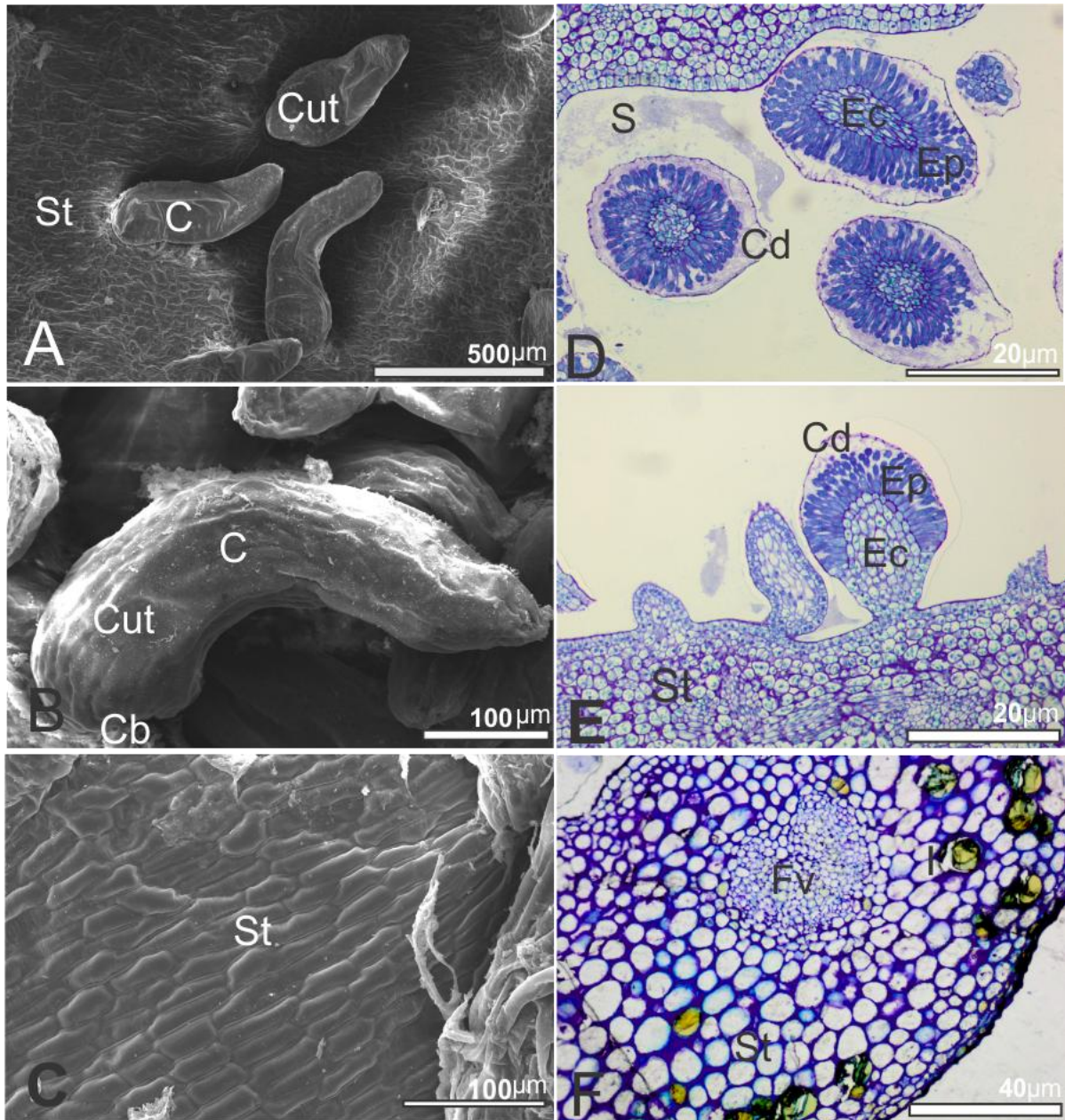
Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A a H - Microscopia Ótica At. 0,05%. C: coléter, Cep: células da epiderme, Cut: cutícula, Cob: coléter em brotamento, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçada, Fv: feixe vascular, Nc: núcleo, Pc: parede celular, S: secreção, St: estípula. Barras A a C: 10x. Barras D a H: 20µm.

<sup>1</sup> Na Figura, A, B e C representam estágios iniciais de formação do coléter padrão (cortes transversais). D representa o início do desenvolvimento do coléter (seta azul claro: células da epiderme em coléter brotando), com núcleos evidentes (seta laranja), e vacuolização das células do interior. E, F e G representam estágios intermediários de desenvolvimento dos coléteres (cortes longitudinal e transversal), secreção presente. H representa coléteres em diferentes estágios: (1) processo inicial; (2) durante o desenvolvimento (células do interior do eixo central se tornam vacuoladas); e (3) coléter maduro em estágio inicial de secreção (cortes em secção transversal).



Figura 10 – Estágio Pré-secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)<sup>2</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A, B e C - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). D, E e F - (Microscopia Ótica At. 0,05%). C: coléter, Cut: cutícula, Cb: constrição da base, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçádica, Fv: feixe vascular, I: idioblastos, S: Secreção, St: estípula. Barras: A: 500 μm, B, C: 100 μm, D, E: 20 μm e F: 40 μm.

<sup>2</sup> Na Figura, A representa o grupo de coléteres localizados na base da estípula, onde se pode notar a ausência de secreção. B representa o coléter desenvolvido, cutícula com aspecto intacto, e evidência da constrição da base. C representa a estípula com superfície celular lisa e intacta. D (corte transversal) e E (corte longitudinal) representam coléteres desenvolvidos. Observar epiderme paliçádica, eixo central, cutícula distendida, células túrgidas com núcleo evidente e citoplasma denso. F (corte transversal) representa a estípula, com presença de feixe vascular, idioblastos secretores, e aspecto celular homogêneo.

### 4.3 Estágio Secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

Conforme pode ser observado na Figura 11, mais adiante, no Estágio Secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), foi encontrado um conjunto de coléteres localizados na base da estípula, imersos em secreção, com o coléter (corte transversal) mostrando as células da epiderme paliçádica e do eixo central, onde também foi detectada a evidência de poro secretor no ápice do coléter (ver Figura 11, quadro A).

Também foi evidenciada a presença de um coléter em processo secretor (Figura 11, quadro B), apresentando cutícula de aspecto diferenciado, com visualização do aspecto enrugado da estípula e a presença de secreção no meio (Figura 11, quadro C).

Foram observados coléteres em processo secretor (Figura 5, quadros D e E), com células túrgidas, citoplasma denso, ocorrência de extravasamento de secreção, com a cutícula já apresentando aspecto diferenciado – lisa, porém distendida, indicando atividade secretora.

A estípula apresentou ocorrência de feixe vascular, idioblastos secretores, já com aspecto celular heterogêneo (vacuolização) (Figura 11, quadro F).

### 4.4 Estágio Pós-secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

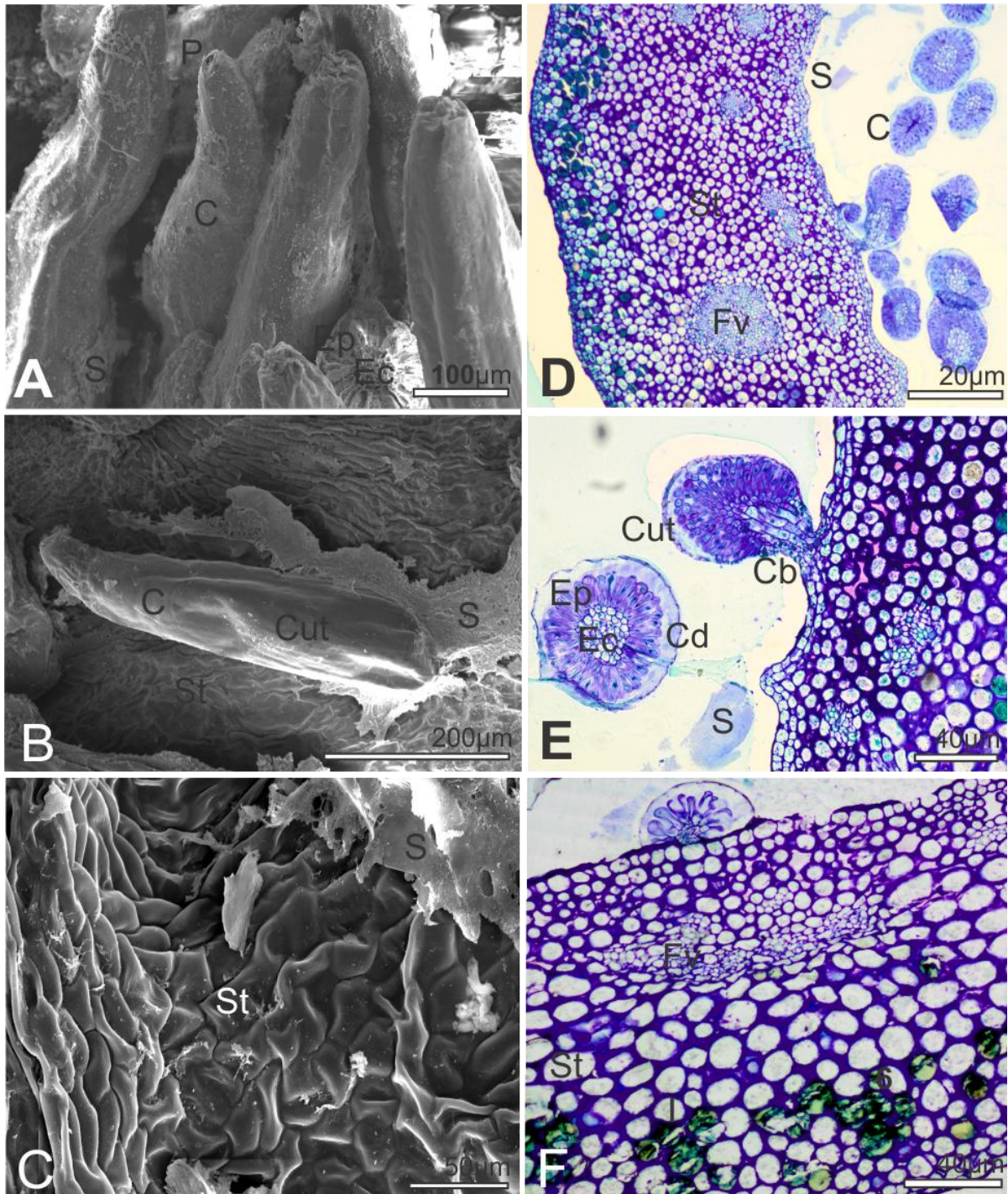
No Estágio Pós-secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) (ver Figura 12), foram verificados coléteres localizados na base da estípula em processo final de secreção, coléteres pós-secretores (Figura 12, quadro A), com evidência de constrição da base, indicando nesse estágio o início do processo de senescência, com formação do meristema de abscisão, a cutícula com aspecto enrugado e também presença de poro secretor no ápice do coléter (Figura 12, quadro B).

Evidenciou-se a estípula em avançado processo de desgaste (Figura 12, quadro C), e a ocorrência de coléteres pós-secretores apresentando células da epiderme paliçádica e do eixo central com citoplasma retraído (Figura 12, quadro D), além da visualização da constrição da base, e ocorrência de feixe vascular com células entrando em colapso (Figura 12, quadro E).

Denotou-se também o aspecto celular heterogêneo e a retração das células da estípula em processo de vacuolização, e a presença de idioblastos secretores (Figura 12, quadro F).



Figura 11 – Estágio Secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)<sup>3</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

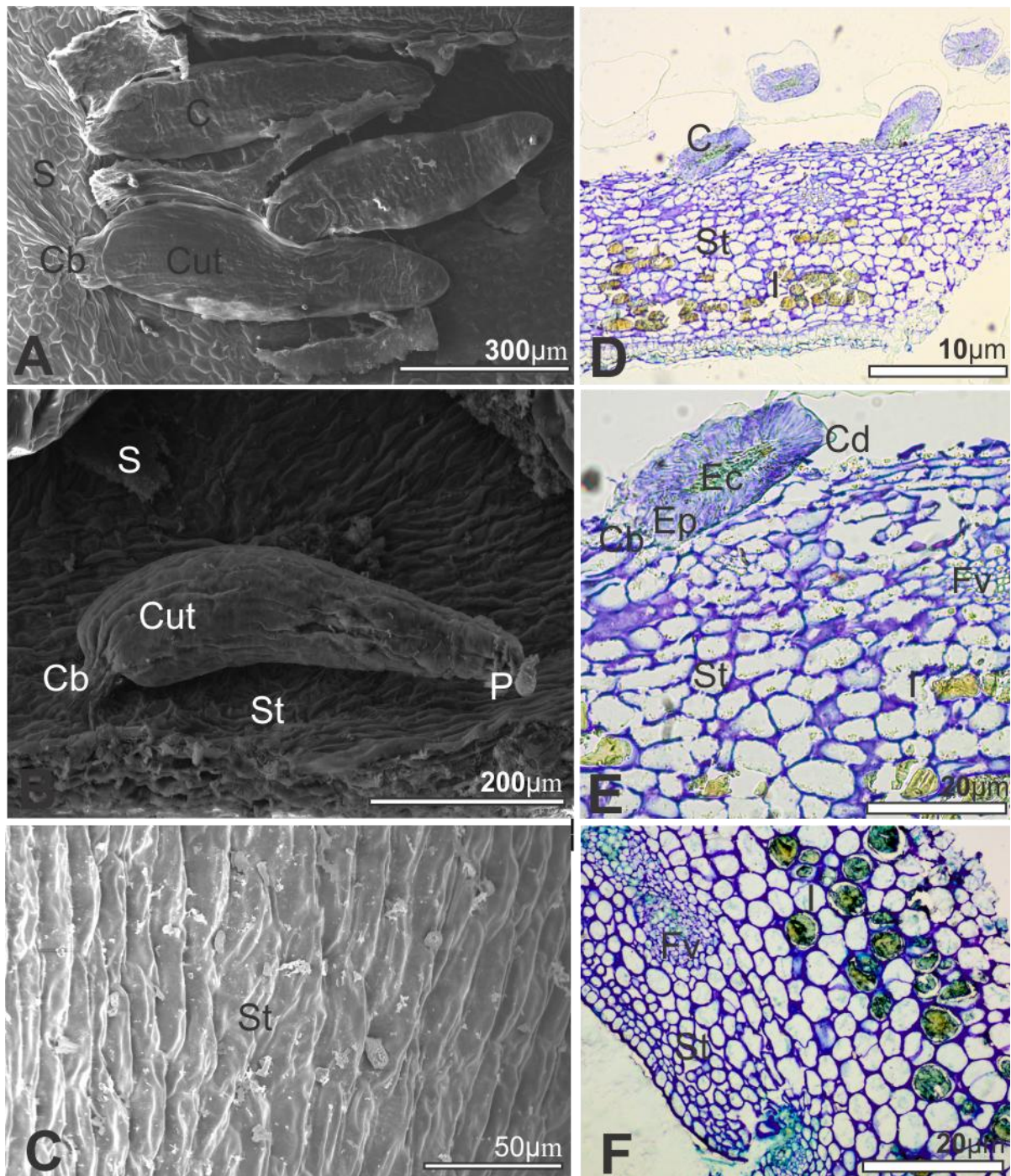
Legenda: A, B e C - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). D, E e F - (Microscopia Ótica At. 0,05%).

C: coléter, Cut: cutícula, Cb: constrição da base, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçádica, Fv: feixe vascular, I: idioblastos, P: poro secretor, S: secreção, St: estípula. Barras: A: 100 μm, B: 200 μm, C: 50 μm, D: 20 μm e E, F: 40 μm.

<sup>3</sup> Na Figura, A representa coléteres localizados na base da estípula imersos em secreção, coléter (corte transversal), mostrando células do eixo central e epiderme paliçádica, evidência de poro secretor com extravasamento da secreção. B representa coléter secretando, cutícula com aspecto diferenciado. C representa estípula com superfície enrugada. D e E (corte longitudinal e transversal) representa coléteres secretadores: células secretoras túrgidas, com citoplasma denso, extravasamento de secreção. F representa estípula com presença de feixe vascular, idioblastos secretadores, aspecto celular heterogêneo, vacuolização.



Figura 12 – Estágio Pós-secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)<sup>4</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A e B e C - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). C, D e F - (Microscopia Ótica At. 0,05%). C: coléter, Cut: cutícula, Cb: constrição da base, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçada, Fv: feixe vascular, I: idioblastos, P: poro secretor, S: secreção, St: estípula. Barras: A: 300 µm, B: 200 µm, C: 50 µm, D: 10 µm e E, F: 20 µm..

<sup>4</sup> Na Figura, A representa coléteres localizados na base da estípula em processo final de secreção. B representa Coléter em estágio final de secreção, constrição da base evidenciando início do processo de senescência, cutícula enrugada. C representa a estípula em avançado processo de desgaste. D, E e F (corte longitudinal e transversal) representam coléteres Pós-secretores: células da epiderme paliçada e do eixo central com citoplasma retraído, constrição da base evidente, feixe vascular com células entrando em colapso, idioblastos secretores, aspecto celular heterogêneo, retração das células da estípula em processo de vacuolização.

#### 4.5 Estágio Senescente dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

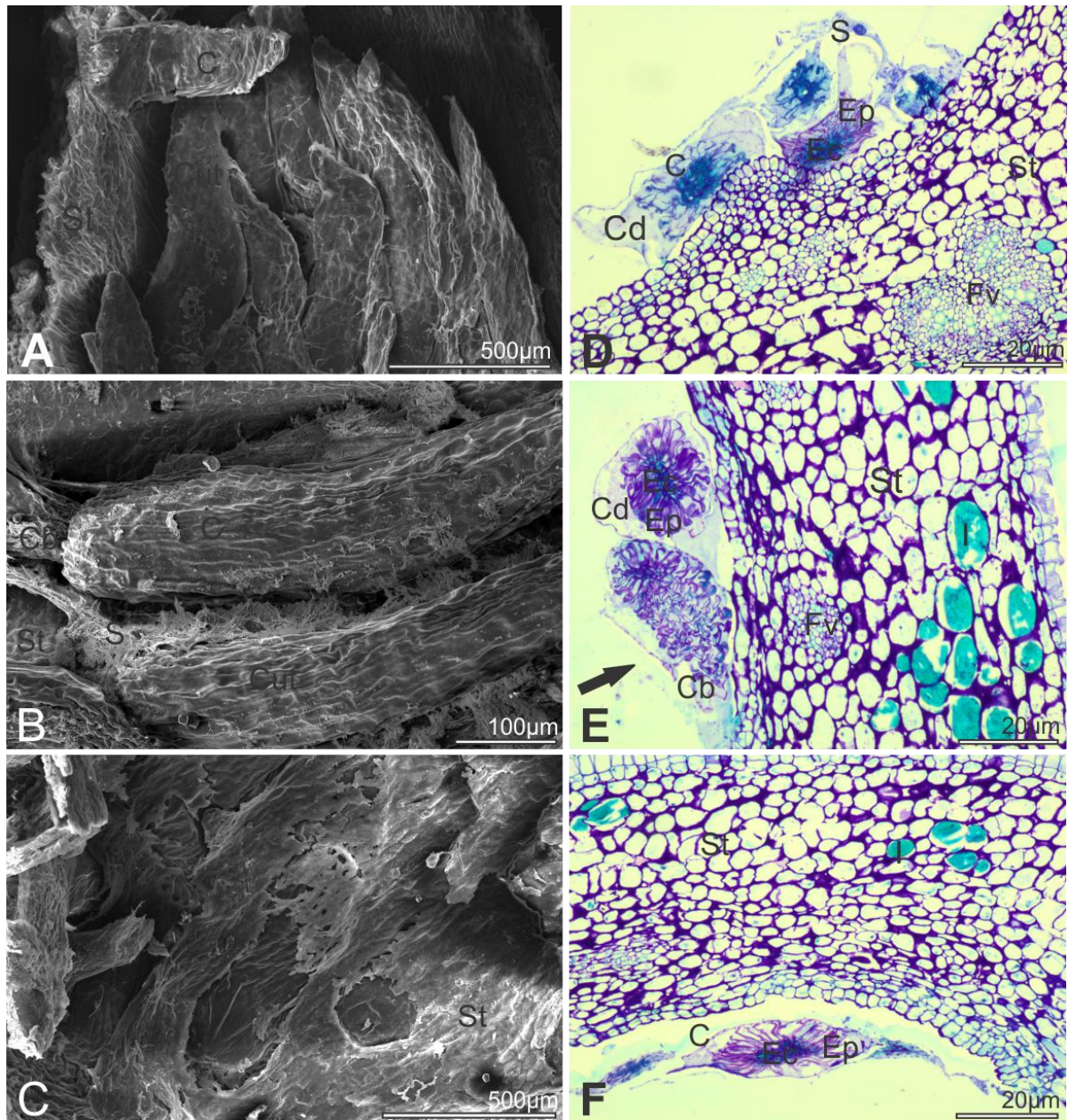
No Estágio Senescente dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) (ver Figura 13, adiante), foram encontrados coléteres localizados na base da estípula em avançado processo de senescência, com cutícula envelhecida, rugosa, em processo de desgaste (Figura 13, quadro A).

Ainda nesse estágio, verificou-se, em coléter senescente, a cutícula desgastada, resquícios de secreção, a presença da constrição da base, caracterizando o estágio de senescência, com meristema de abscisão já totalmente formado (Figura 13, quadro B), e a estípula já bastante enrugada, em processo de desgaste acentuado (Figura 13, quadro C).

Foi possível verificar as células da epiderme paliçádica e do eixo central em avançado processo de colapso, cutícula distendida de aspecto cisalhado/enrugado (Figura 13, quadro D), com a ocorrência de constrição da base (ver seta preta na Figura 13, quadro E) e a estípula com células heterogêneas em avançado processo de desgaste, com ocorrência de vacuolização (Figura 13, quadro F).



Figura 13 – Estágio Senescente dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)<sup>5</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A, B e C - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). D, E e F - (Microscopia Ótica At. 0,05%).

C: coléter, Cut: cutícula, Cb: constrição da base, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçádica, Fv: feixe vascular, I: idioblastos, S: secreção, St: estípula. Barras: A: 500 μm, B: 100 μm, C: 500 μm, D, E e F: 20 μm.

<sup>5</sup> Na Figura, A representa os coléteres localizados na base da estípula em avançado processo de senescência, cutícula envelhecida e em processo de desgaste. B representa o coléter senescente, cutícula desgastada, resquícios de secreção, constrição da base evidente. C: Estípula enrugada, processo de desgaste acentuado. D, E e F (corte longitudinal e transversal) representam os coléteres senescentes: células da epiderme paliçádica e do eixo central em avançado processo de colapso, cutícula distendida, constrição da base, estípula com células heterogêneas em processo avançado de vacuolização.

As características descritas nos itens 4.2 a 4.5 encontram-se resumidas na Tabela 1, a seguir.

Tabela 1 – Características anatômicas e da micromorfologia da estípula e dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), nos estágios pré-secretor, secretor, pós-secretor e senescente.

Estrutura	Estágio				
	Pré-secretor	Secretor	Pós-secretor	Senescente	
Estípula	<b>Células</b>	Homogêneas	Heterogêneas Vacuolização	Heterogêneas Vacuolização	Heterogêneas Vacuolização
	<b>Idioblastos secretores</b>	Presente	Presente	Presente	Presente
	<b>Feixe vascular</b>	Presente	Presente	Presente	Presente
	<b>Superfície</b>	Lisa, Rugosidade mínima	Rugosidade	Desgaste	Desgaste
Coléter	<b>Cutícula</b>	Lisa Intacta	Distendida	Cisalhada Distendida Retraída	Envelhecida Distendida Retração
	<b>Constricção da base</b>	Presente	Presente	Presente	Presente
	<b>Epiderme paliçádica</b>	Células túrgidas	Células túrgidas	Células Irregulares	Células colapsadas
	<b>Eixo central</b>	Células túrgidas	Células túrgidas	Células Irregulares	Células colapsadas
	<b>Citoplasma</b>	Denso	Denso	Irregular Retraído	Irregular Retraído
	<b>Núcleo</b>	Evidente	Evidente	Irregular Retraído	Irregular Retraído
Secreção	<b>Coléter</b>	++++	+++	++	+
	<b>Meio Externo</b>	+	++++	+++	+

Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: (+): Reação; (++): Reação Leve; (+++): Reação Forte; e (++++): Reação Muito Forte.

#### 4.6 Micromorfologia e Anatomia dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

Conforme pode ser visualizado na Figura 14, em relação à Micromorfologia e Anatomia dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), foram observados coléteres localizados na base da estípula arranjados em triângulos (Figura 14, quadro A). Os mesmos foram classificados como sendo do tipo padrão – abaulado na extremidade inferior e ligeiramente afunilando para a extremidade superior em direção ao ápice.

Verificou-se a presença de coléter secretando, com visualização da constrição da base (ver seta branca na Figura 14, quadro B) e um poro secretor no ápice do coléter. Foi visualizada a cutícula distendida, em virtude do processo secretor (Figura 14, quadro C).

Foi evidenciada a presença da constrição da base (ver seta preta na Figura 12, quadro D), ligando o coléter à estípula. Nestes coléteres, foi observado arranjo celular composto por células secretoras constituintes da epiderme paliçádica. Logo abaixo desse arcabouço, foram evidenciadas as células que constituem o eixo central. Ambos os grupos apresentavam células bem delimitadas com núcleos evidentes.

Verificou-se a cutícula distendida em torno do coléter, em virtude da presença de secreção, encontrada também na região externa à estrutura. Na estípula, foi evidenciada a presença de feixe vascular e de idioblastos secretores.

Estas características foram observadas no Estágio Secretor (Figura 14, quadros A, C e D) e Pós-secretor (Figura 14, quadro B) dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae).

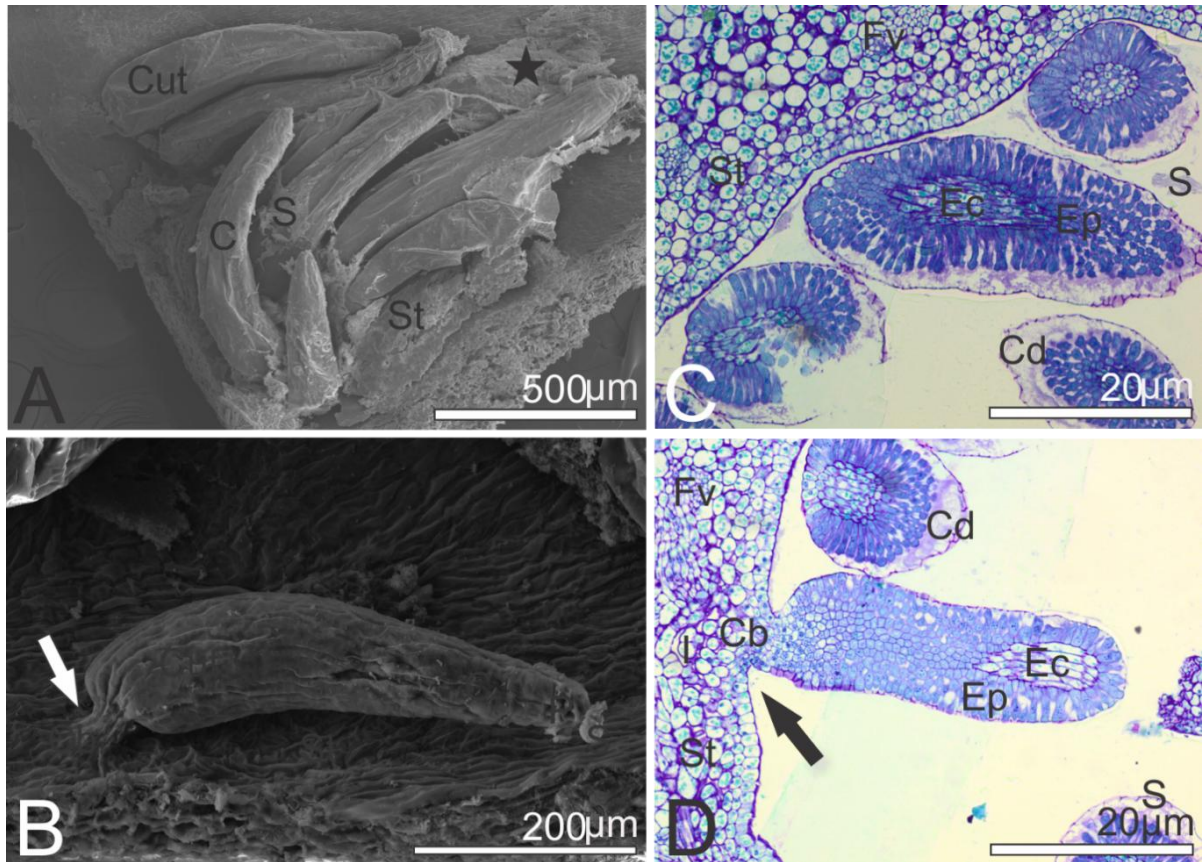
#### 4.7 Mecanismo de Secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)

O Mecanismo de Secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) (ver Figura 15) caracteriza-se pela existência de coléteres que, durante o processo secretor, apresentam a ocorrência de acúmulo de secreção em volta do ápice, com evidência de poro secretor característico (Figura 15, quadros A e B), ocorrendo formação de espaços vazios entre as células (vacuolização), acentuada distensão da cutícula, observando-se a retração do citoplasma, com a formação de espaço subcuticular, e ocorrência de constrição da base, com formação de meristema de abscisão (Figura 15, quadro C).

Com relação ao aspecto celular do coléter secretor, foram evidenciadas células da epiderme paliçádica bem distendidas, juntamente com a cutícula, com formação de espaços vazios entre as células por extravasamento da secreção, e as células do eixo central com aspecto desorganizado (Figura 15, quadros C e D).



Figura 14 – Micromorfologia e Anatomia do coléter de *Genipa americana* L. Rubiaceae<sup>6</sup>.

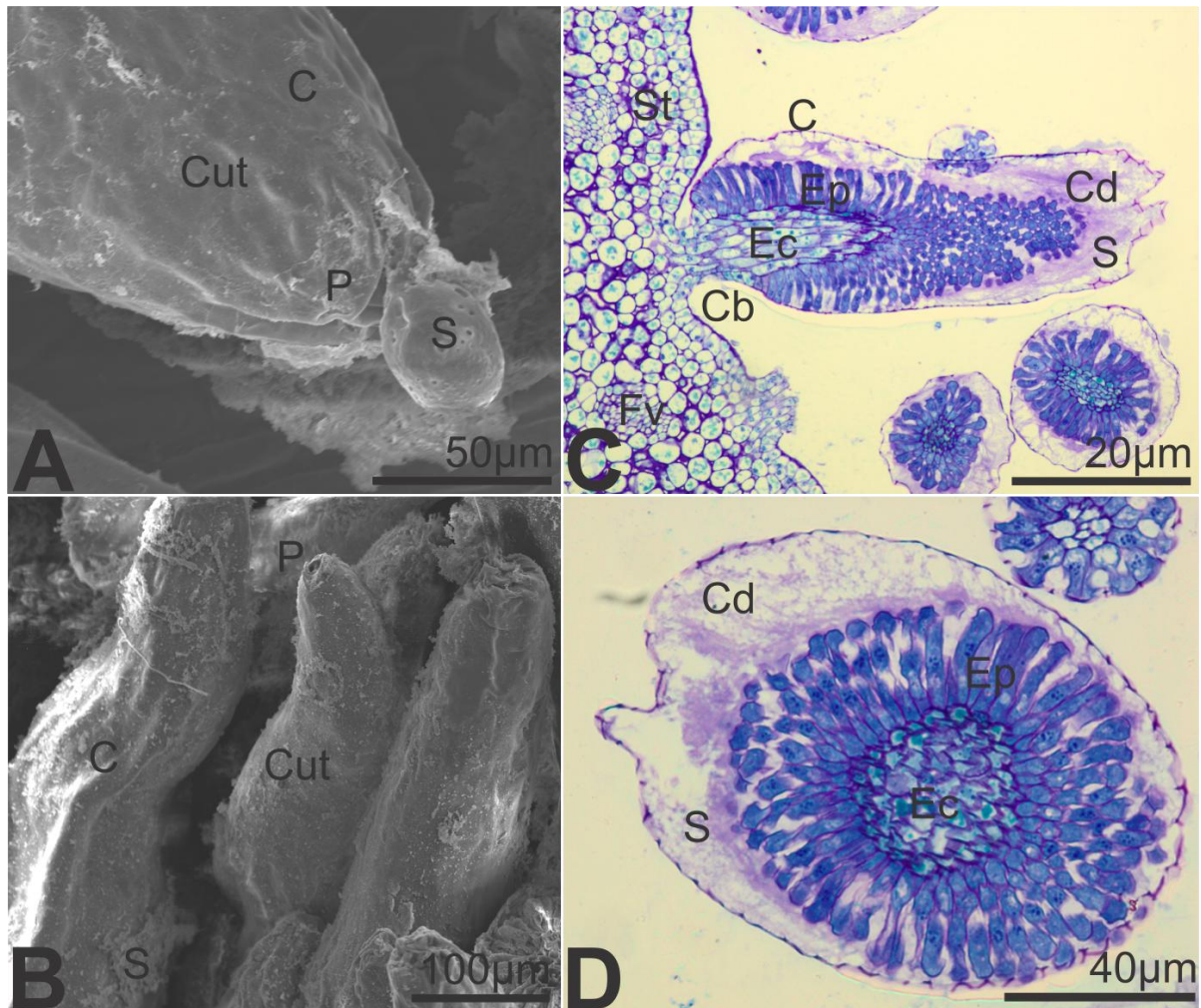


Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A e B - MEV (Microscopia Eletrônica de Varredura). C e D - (Microscopia Ótica At. 0,05%). C: coléter, Cut: cutícula, Cb: constrição da base, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçádica, Fv: feixe vascular, I: idioblastos, S: secreção, St: estípula. Barras: A: 500 µm, B: 200 µm, C, D: 20µm .

<sup>6</sup> Na Figura, A representa o grupo de coléteres localizados na base da estípula em formato de triângulo, observar presença de secreção (estrela). B representa o coléter secretando, notar constrição da base (seta branca). C representa coléteres com visualização evidente da cutícula distendida, presença de secreção, estípula bem preservada, eixo central do coléter bem delimitado com núcleos celulares evidentes (corte transversal). D representa o coléter com constrição da base (seta preta), estípula bem preservada, epiderme paliçádica e eixo central com células contendo núcleos evidentes (corte longitudinal e transversal).

Figura 15 – Mecanismo de Secreção do coléter de *Genipa americana* L. Rubiaceae<sup>7</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A e B - M. E. V. (Microscopia eletrônica de varredura). C e D - M. O. (Microscopia ótica At. 0,05).

C: coléter, Cut: cutícula, Cb: constrição da base, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçádica, Fv: feixe vascular, P: poro, S: secreção, St: estípula. Barras: A: 50 µm, B: 100 µm, C: 20 µm, D: 40 µm.

<sup>7</sup> Na Figura, A representa o coléter secretando (detalhe ápice da cabeça do coléter. (Notar saída da secreção via poro secretor). B representa o grupo de coléteres durante processo secretor, com visualização de ápice secretor. C representa coléteres em secreção. Notar acúmulo de secreção em volta do ápice da cabeça do coléter e formação de espaços vazios entre as células (vacuolização), com a secreção em extravasamento (corte longitudinal e transversal), estípula preservada. D representa o coléter secretor. Espaçamento entre as células com deslocamento de secreção juntamente com a cutícula distendida. Células do eixo central bem preservadas (corte transversal).

## 4.8 Histoquímica

### 4.8.1 *Amido*

A presença de amido não foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), em nenhum dos estágios de desenvolvimento.

### 4.8.2 *Compostos Fenólicos*

A presença de Compostos Fenólicos foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), nos estágios Pós-secretor e Senescente. Dois grupos de células apresentaram reatividade – as Células do Eixo central e as Células secretoras, ambos os grupos abrangendo as seguintes estruturas: a Parede celular, o Vacúolo, o Citoplasma e Núcleo. A reatividade foi leve para o Estágio Pós-secretor, e acentuada para o Estágio Senescente. Para a Secreção isoladamente, o resultado foi de reatividade acentuada.

### 4.8.3 *Lipídeos*

A presença de Lipídeos foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) nos Estágios Pré-secretor e Secretor. No Estágio Pré-secretor, foram evidenciadas: reatividade positiva para as células da Protoderme e do Meristema fundamental, abrangendo Parede celular, Citoplasma e Núcleo; reatividade leve para a Parede Celular e o Citoplasma; e reatividade acentuada para o Núcleo.

No Estágio Secretor, foram evidenciadas: reatividade positiva para as células do Eixo central e Células Secretoras, ambos os grupos abrangendo Parede celular e Citoplasma, com reatividade leve em ambas as estruturas; e Núcleo com reatividade acentuada para as Células do Eixo Central e leve para as Células Secretoras.

### 4.8.4 *Mucilagem*

A presença de Mucilagem foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) nos Estágios Pré-secretor e Secretor. No Estágio Pré-secretor,



foram evidenciadas reatividade positiva para as células da Protoderme e do Meristema Fundamental, abrangendo Espaço parede/célula com reatividade acentuada, e Citoplasma com reatividade leve, para ambos os grupos.

No Estágio Secretor, foram evidenciadas reatividade positiva para as células do Eixo central e Células Secretoras, ambos os grupos abrangendo Espaço parede/célula e Citoplasma, com reatividade acentuada.

#### **4.8.5 Polissacarídeos Totais**

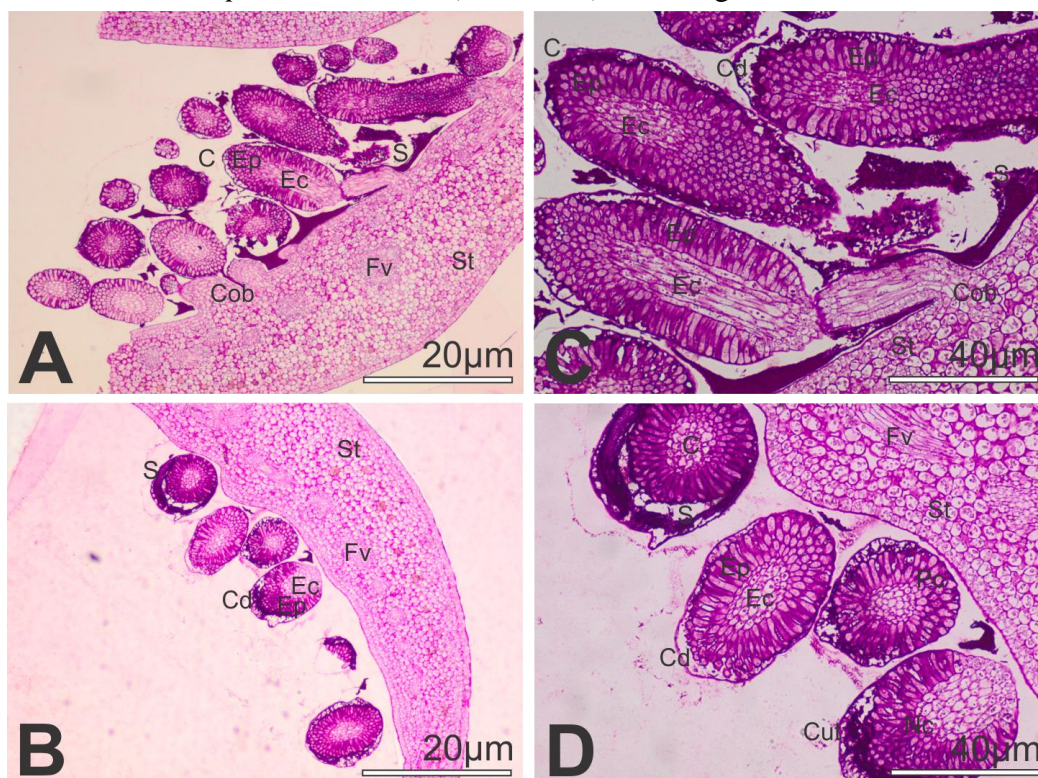
A presença de Polissacarídeos Totais foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) nos Estágios Pré-secretor e Secretor. No Estágio Pré-secretor, foram evidenciadas reatividade positiva para as células da Protoderme e do Meristema Fundamental, abrangendo Parede Celular, com reatividade acentuada, e Núcleo, com reatividade forte.

No Estágio Secretor, foram evidenciadas reatividade positiva para as células do Eixo central e Células Secretoras, ambos os grupos abrangendo Parede Celular, com reatividade acentuada, e Núcleo, com reatividade forte. Isoladamente, a Secreção revelou reatividade forte para a presença de polissacarídeos.

A Histoquímica para a detecção de Polissacarídeos totais na coloração de PAS (Figura 16) revelou o Estágio Secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae). Foram observados coléteres localizados na base da estípula, com a cutícula distendida, presença de feixe vascular, secreção, e a observação de um coléter brotando na base da estípula (Figura 16, quadros A e B).

Os coléteres apresentaram reatividade positiva no teste para as Células do Eixo central (parede celular e núcleo), para as Células secretoras (parede celular e núcleo), e para a Secreção (Figura 16, quadros C e D).

Figura 16 – Teste Histoquímico para detecção de Polissacarídeos Totais nos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), no Estágio Secretor<sup>8</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A, B, C e D - (Microsc. Ótica PAS – Ác. Periódico/Reativo de Schiff). C: coléter, Cut: cutícula, Cob: coléter em brotamento, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliçádica, Fv: feixe vascular, Nc: núcleo, Pc: parede celular, S: secreção, St: estípula. Barras: A e B: 20 µm, C e D: 40 µm.

#### 4.8.6 Proteínas

A presença de Proteínas foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) nos Estágios Pré-secretor e Secretor. No Estágio Pré-secretor, foram evidenciadas reatividade positiva para as células da Protoderme e do Meristema Fundamental, abrangendo a Parede Celular (com reatividade leve), e Núcleo (com reatividade acentuada).

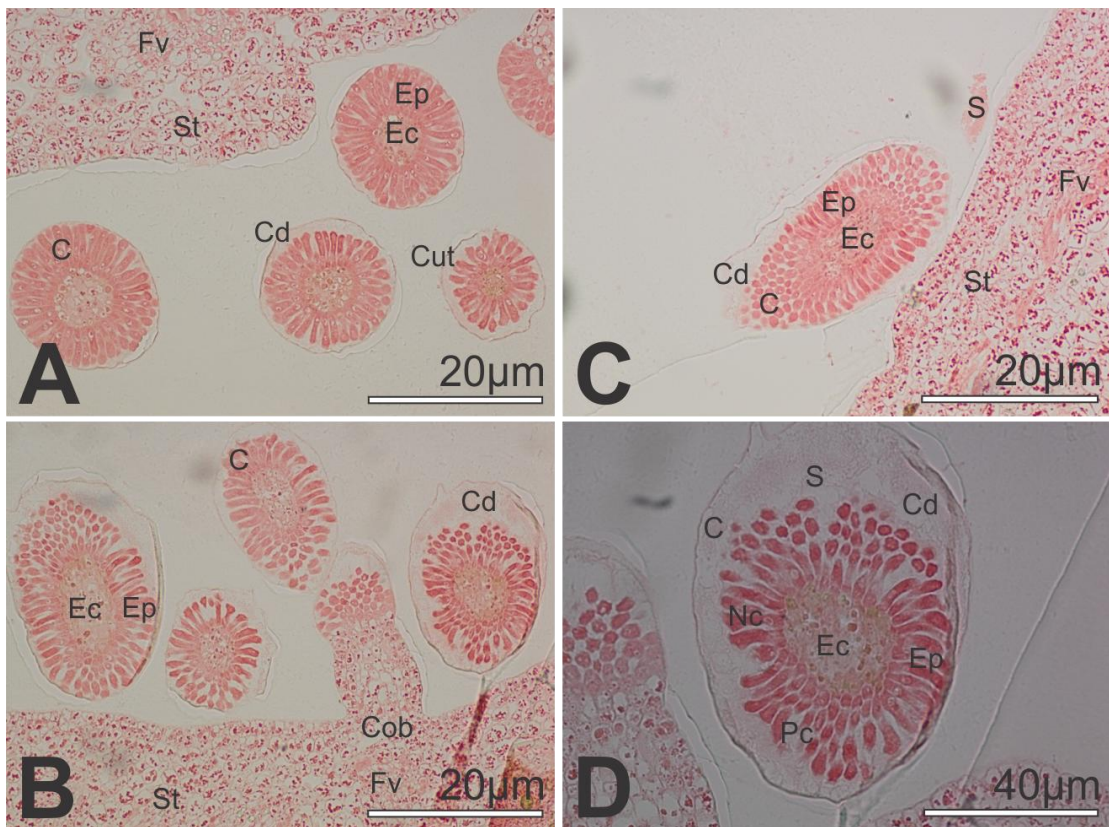
No Estágio Secretor, foram evidenciadas reatividade positiva para as células do Eixo central e Células Secretoras, ambos os grupos abrangendo as seguintes estruturas: Parede Celular (com reatividade leve) e Núcleo (com reatividade acentuada). Isoladamente, a Secreção revelou reatividade leve para a presença de polissacarídeos.

<sup>8</sup> Na Figura, A e B (corte longitudinal e transversal) representam os coléteres localizados na base da estípula. Observar cutícula distendida, feixe vascular, secreção, presença de coléter em brotamento na base da estípula. C e D (corte longitudinal e transversal) representam os coléteres. Observar a reatividade positiva do teste para Células do eixo central (parede celular e núcleo) e Células secretoras (parede celular e núcleo). Secreção.

A Figura 17 exibe a Histoquímica para a detecção de Proteínas na coloração de Xylidine de Ponceau no Estágio Secretor dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), tendo sido observados coléteres localizados na base da estípula, com a cutícula distendida, bem como a ocorrência de feixe vascular, presença de secreção, e a observação de um coléter em brotamento na base da estípula (Figura 17, quadros A e B).

Os coléteres apresentaram reatividade positiva no teste para as Células do Eixo central (parede celular e núcleo), Células secretoras (parede celular e núcleo), e para a Secreção (Figura 17, quadros C e D).

Figura 17 – Teste Histoquímico para detecção de Proteínas nos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) no Estágio Secretor<sup>9</sup>.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: A, B, C e D - (Microscopia Ótica XP - Xylidine de Ponceau). C: coléter, Cut: cutícula, Cob: coléter em brotamento, Cd: cutícula distendida, Ec: eixo central, Ep: epiderme paliádica, Fv: feixe vascular, Nc: núcleo, Pc: parede celular, S: secreção, St: estípula. Barras: A, B e C: 20 µm, D: 40 µm.

<sup>9</sup> Na Figura , A e B representam os cortes longitudinal e transversal dos Coléteres localizados na base da estípula. Nestes cortes, observar cutícula distendida, feixe vascular, presença de coléter em brotamento na base da estípula. Já C e D representam os cortes longitudinal e transversal dos Coléteres, onde pode ser notada a reatividade positiva do teste para as células do eixo central (parede celular e núcleo) e células secretoras (parede celular e núcleo). Secreção: reatividade leve.

#### 4.8.7 Taninos

A presença de Taninos não foi detectada na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), em nenhum dos estágios de desenvolvimento. Os resultados obtidos para os Testes Histoquímicos, realizados na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), se encontram resumidos na Tabela 2.

Tabela 2 – Testes histoquímicos na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), nos estágios pré-secretor, secretor, pós-secretor e senescente.

			Am	CFe	Li	Mu	Pol	Prot	Tan
Estágio Pré - Secretor	Protoderme	Espaço Parede/Célula	-	-	-	++	-	-	-
		Parede celular	-	-	+	-	++	+	-
		Citoplasma	-	-	+	+	-	-	-
		Núcleo	-	-	++	-	+++	++	-
	Meristema Fundamental	Espaço Parede/Célula	-	-	-	++	-	-	-
		Parede celular	-	-	+	-	++	+	-
		Citoplasma	-	-	+	+	-	-	-
		Núcleo	-	-	++	-	+++	++	-
Estágio Secretor	Eixo Central	Espaço Parede/Célula	-	-	-	++	-	-	-
		Parede celular	-	-	+	-	++	+	-
		Vacúolo	-	-	-	-	-	-	-
		Citoplasma	-	-	+	++	-	-	-
	Células secretoras	Núcleo	-	-	++	-	+++	++	-
		Espaço Parede/Célula	-	-	-	++	-	-	-
		Parede celular	-	-	+	-	++	+	-
		Vacúolo	-	-	-	-	-	-	-
Estágio Pós-Secretor	Eixo Central	Citoplasma	-	-	+	++	-	-	-
		Núcleo	-	-	+	-	+++	++	-
		Parede celular	-	+	-	-	-	-	-
		Vacúolo	-	+	-	-	-	-	-
	Células secretoras	Citoplasma	-	+	-	-	-	-	-
		Núcleo	-	+	-	-	-	-	-
		Parede celular	-	+	-	-	-	-	-
		Vacúolo	-	+	-	-	-	-	-
Secreção		-	-	-	-	+++	+	-	
Estágio Senescente	Eixo Central	Parede celular	-	++	-	-	-	-	-
		Vacúolo	-	++	-	-	-	-	-
		Citoplasma	-	++	-	-	-	-	-
		Núcleo	-	++	-	-	-	-	-
	Células secretoras	Parede celular	-	++	-	-	-	-	-
		Vacúolo	-	++	-	-	-	-	-
		Citoplasma	-	++	-	-	-	-	-
		Núcleo	-	++	-	-	-	-	-
Secreção		-	++	-	-	-	-	-	

Fonte: Elaborado pela Autora.

Legenda: Am: amidos; CFe: compostos fenólicos; Li: lipídios; Mu: mucilagem; Pol: polissacarídeos; Prot: proteínas; Tan: taninos. (+): Reação; (++) : Reação Leve; (+++) : Reação Forte; e (-): Não reagiu.

## 5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Na ontogênese dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), conforme observado, foram definidos três estágios de desenvolvimento: inicial, intermediário e final.

No estágio inicial, com as células em divisões anticlinais, seguidas pelas periclinais, verificou-se a formação do coléter inicial, com a evidência das células da protoderme, tanto do lado abaxial, dando origem a epiderme paliçádica, quanto do lado adaxial, as células subprotodérmicas, que levam à formação das células do eixo central (PATEL e ZAVERI, 1975; DAVE *et al.*, 1987), percebendo-se o citoplasma e também os núcleos nos dois conjuntos celulares, bem como o aspecto vacuolado das células do eixo central em formação.

Divergindo desse padrão de formação, foram encontradas na espécie *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae) (PAIVA e MACHADO, 2006) e em *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae) (PAIVA, 2009), a formação dos coléteres com a participação de tecidos oriundos apenas da protoderme, sem a participação de tecidos internos, de modo que as células protodérmicas se expandem em direção anticlinal e passam a sucessivas divisões periclinais, e em diferentes planos, dando origem ao coléter final do tipo alongado-cúbico na espécie *Hymenaea stigonocarpa*, e clavado em *Copaifera langsdorffii*.

No Estágio Intermediário, verificou-se a continuação do processo de expansão do coléter, com a mesma sequência de divisões que levam à formação do coléter estipular do tipo padrão, verificando-se que o aspecto colunar das células da epiderme paliçádica já se torna bem mais evidente, como também as células do eixo central já se mostram bem mais organizadas, verificando-se a presença da cutícula e de secreção no ápice da cabeça do coléter.

No Estágio Final, foi visualizado um coléter maduro, em estágio inicial de secreção, com células da epiderme paliçádica de aspecto colunar, e do eixo central organizadas, bem delimitadas, ambas com citoplasma e núcleos visualizáveis, com cutícula bem distendida, caracterizando o início do processo de liberação da secreção.

Em espécies de Rubiaceae, esse padrão de desenvolvimento foi descrito em *Pentas lanceolata* (MURAVNIK *et al.*, 2014) para os coléteres do tipo padrão, como também em outros grupos, a exemplo do ocorrido em coléteres dos tipos padrão, sésseis e trocleariformes, em espécies de *Turnera* e *Piriqueta* (Turneraceae) (GONZALEZ, 1998), acreditando-se que todos os tipos tenham o mesmo padrão de formação.



A investigação e caracterização dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae), com relação à Micromorfologia e a Anatomia destes, propiciaram identificar as características a seguir, e o padrão de organização e classificação Anatômica, segundo proposto por Robbrecht (1988) e Thomas (1991).

Foram observados coléteres organizados na base da estípula (superfície adaxial). Esse padrão de ocorrência foi descrito em espécies de Rubiaceae conforme as observações em *Psychotria bacteriophila* (HORNER e LERSTEN, 1968), *Pavetta*, *Neorosea* e *Tricalysia* (LERSTEN, 1974a; LERSTEN, 1975), como também em outras espécies como as do gênero *Rhizophora mangle* (LERSTEN e CURTIS, 1974), e em algumas espécies de Polygonaceae (METCALFE e CHALK, 1979).

Em estudos, conforme os observados nas espécies de *Simira glaziovii* (K. Schum.). Steyerm, *Simira pikia* (K. Schum.). Steyerm e *Simira rubra* (Mart.). Steyerm (KLEIN *et al.*, 2004). O arranjo dos coléteres na base da estípula se dá de forma triangular, e eles se apresentam com formato abaulado na extremidade inferior e ligeiramente afunilando para a extremidade superior em direção ao ápice, caracterizando o tipo padrão, conforme definido por (LERSTEN, 1974a), tendo sido também observada a presença da constrição da base.

Em Rubiaceae, essa observação caracteriza o tipo padrão, sendo que a diferenciação entre as espécies se dá pela presença e tamanho da constrição (ROBBRECHT, 1988). A ocorrência da constrição da base foi observada em espécies de Rubiaceae do gênero *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013), *Psychotria carthagenensis* Jacq (VITARELLI e SANTOS, 2009), *Simira* Aubl (Klein *et al.*, 2004), como também em outras espécies, *Prestonia coalita* (RIO *et al.*, 2002) – Apocynaceae, e em *Caryocar brasiliensis* (PAIVA e MACHADO, 2006) – Caryocaraceae.

Não foi observada a ocorrência de vascularização nos coléteres, conforme o relatado na espécie *Alibertia sessilis* (Vell.) K. Schum (BARREIRO e MACHADO, 2007), uma espécie não-nodulada de Rubiaceae, o mesmo ocorrendo em outros grupos taxonômicos, como observada em *Plumeria rubra* (MOHAN e INANDAR, 1986) e em *Allamanda cathartica* (THOMAS e DAVE, 1989), *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae) (PAIVA e MACHADO, 2006), *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae, Caesalpinioideae) (PAIVA e MACHADO, 2006), como também para os coléteres encontrados em *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae) (MERCADANTE-SIMÕES e PAIVA, 2013). Foi evidenciada a ocorrência de idioblastos secretores na estípula e também de feixes vasculares.

Em linhas gerais, as características encontradas no coléter estudado foram as mesmas observadas para as da espécie *Psychotria carthagenensis* Jacq (Rubiaceae) (VITARELLI e SANTOS, 2009) – tipo padrão, células secretoras constituintes da epiderme paliçádica, ocorrência de eixo central, composto por células parenquimáticas alongadas, características essas também encontradas nos grupos taxonômicos representados por *Mandevilla Lindl.* (Apocynaceae) (APPEZZATO-DA-GLORIA e ESTELITA, 2000) e em *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae) (PAIVA e MACHADO, 2006).

Acredita-se que a origem dos coléteres em *Genipa americana* L. (Rubiaceae) tenha a participação de tecidos oriundos da protoderme e do meristema fundamental, em virtude da ocorrência de células secretoras constituintes da epiderme paliçádica, que “alberga” o grupo de células compostas do eixo central – parenquimáticas e alongadas, em arranjo de aspecto colunar, conforme os estudos de Thomas (1991) e Klein *et al.* (2004), tendo o mesmo sido observado em *Psychotria carthagenensis* Jacq (Rubiaceae) (VITARELLI e SANTOS, 2009) e ainda conforme o relatado em *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae) (PAIVA e MACHADO, 2006), cuja observação classifica os coléteres como emergências e não tricomas, conforme Solereder (1908).

As características anatômicas e da micromorfologia (mostradas na Tabela 1) têm sido encontradas em alguns representantes da Família Rubiaceae, como, por exemplo, nos coléteres vistos em espécies de *Bathysa gymnocarpa* e *B. stipulata* (MIGUEL, 2010), *Simira* (KLEIN *et al.*, 2004), *Bathysa nicholsonii* K. Schum (MIGUEL *et al.*, 2006), *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013), como também em outros grupos taxonômicos, como, por exemplo, em *Mandevilla illustris* e *M. velutina*, Apocynaceae (APPEZZATO-DA-GLORIA e ESTELITA, 2000).

Algumas características anatômicas e da micromorfologia da estípula e do coléter diferenciam os estágios, e dão indícios da passagem de um estágio para o outro, de acordo com as características contidas na Tabela 1, conforme descrito a seguir: com relação às características da Estípula, do Estágio Pré-secretor para o Secretor, verifica-se que a mudança do aspecto das células de homogêneo a heterogêneo e a ocorrência de vacuolização marcam a passagem entre esses dois estágios, permanecendo nos estágios seguintes.

Os idioblastos secretores e os feixes vasculares permanecem visualizáveis, contudo, o aspecto mais preponderante entre os quatro estágios está relacionado ao desgaste da superfície da estípula, que, no Estágio Pré-secretor se encontra lisa, com rugosidades mínimas, no Estágio Secretor já se percebe rugosidade crescente, acentuando-se nos Estágios Pós-secretor (desgaste), e no Estágio Senescente (desgaste).

A ocorrência e observação desse achado marca a evolução anatômica da estípula em direção ao processo de senescência, à medida que o processo secretor dos coléteres evolui. Comparativamente, para a espécie *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013), foi observada a mudança de coloração dos coléteres como também da estípula, conforme a evolução do processo secretor e senescente evoluía paralelamente.

Com relação às características do Coléter, verificou-se que a cutícula apresenta diferenças que se tornam acentuadas à medida que o coléter avança entre os estágios. No Estágio Pré-secretor, apresenta-se com aspecto liso e intacto, com suave distensão – evidência encontrada nos coléteres de Turneraceae (GONZALEZ, 1998), marcando a passagem ao estágio seguinte.

No Estágio Secretor, o aspecto mais marcante é a distensão da mesma – fato a que se atribui o processo secretor em si. No Estágio Pós-secretor, em virtude das características desse estágio, que serve de intermédio entre os Estágios Secretor e Senescente, observa-se uma cutícula com aspectos de rugosidade, distendida e com início de retração, o que caracteriza esse estágio em si – marcando o final do processo secretor.

No Estágio Senescente, evidencia-se que a cutícula apresenta as características de retração e distensão presentes, porém já se encontra bastante envelhecida – marcando, de fato, a senescência. Foi evidenciado para os coléteres das espécies *Bathysa gymnocarpa* e *B. stipulata* (Rubiaceae) (MIGUEL *et al.*, 2010), e também para *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013), que a cutícula também sofre alterações à medida que o processo secretor e de senescência avançam nessas espécies.

Observa-se ainda que o achado referente à distensão da cutícula nos Estágios Pré-secretor e Secretor revela a formação de um espaço subcuticular, que se mostra de forma evidente nos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae). Esse espaço, criado em virtude do deslocamento da cutícula, ocorre devido ao processo secretor em si, tendendo a retração nos Estágios seguintes – Pós-secretor e Senescente –, marcando os momentos finais do processo secretor nessas estruturas.

Tais observações foram encontradas para as espécies de Rubiaceae em *Bathysa gymnocarpa* e *B. stipulata* (Rubiaceae) (MIGUEL *et al.*, 2010), e também para *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013) e ainda conforme o observado em *Caryocar brasiliensis* (PAIVA e MACHADO, 2006) – Caryocaraceae. A formação desse espaço subcuticular primordialmente tem como função o acúmulo dos produtos oriundos da atividade secretora da estrutura.

Com relação à característica da presença de constrição da base, essa evidência se faz presente em todos os estágios estudados. Contudo, verifica-se que há uma forte correlação



entre a ocorrência da constrição da base e a formação do meristema de abscisão do coléter, que, no caso estudado, verificou-se ter início no Estágio Pós-secretor, permanecendo no Estágio Senescente, o que marca a passagem entre esses estágios.

A ocorrência da constrição da base tem sido relatada em várias espécies de Rubiaceae, contudo, para a espécie *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) (PINHEIRO *et al.*, 2015), esse padrão de ligação do coléter à estípula não foi relatado.

Sabe-se que o processo de senescência dos coléteres inicia-se na epiderme apical e finaliza na basal em sua região central, sendo de origem centrípeta, com início pelas paredes celulares da epiderme, conforme os estudos de Thomas e Dave (1989) e Miguel (2009), tendo também sido relatado em *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae) (PAIVA, 2012) e em *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae) (MERCADANTE-SIMÕES e PAIVA, 2013).

Com relação às células que compõem a micromorfologia do coléter internamente – Células da Epiderme Paliçádica e do Eixo Central – verificou-se que o aspecto do arcabouço celular dos dois grupos se apresenta semelhante nos Estágios Pré-secretor e Secretor – Células túrgidas –, caracterizando o início e a ocorrência do processo de secreção.

Nos Estágios Pós-secretor e Senescente, percebem-se células de aspecto irregular a colapsado, definindo o final do processo secretor e o início da fase de senescência. Estas características também foram observadas para os coléteres da espécie *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013).

Da mesma forma, o Citoplasma e o Núcleo dessas células apresentaram características iguais nos Estágios Pré-secretor e Secretor, encontrando-se bastante densos e com visualização evidente, enquanto que, nos Estágios Pós-secretor e Senescente, verificou-se aspecto irregular e retração, causando perda da visualização dessas estruturas, tendo sido observado o mesmo para a espécie *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013).

A presença da Secreção marca todos os quatro estágios, tanto no Coléter em si quanto na região externa ao mesmo. No Estágio Pré-secretor, ocorre presença abundante de secreção no interior do coléter, a qual vai decaindo à medida que o processo secretor avança em direção aos demais estágios: Secretor, Pós-secretor e Senescente.

O contrário ocorre no meio externo à estrutura, com presença mínima de secreção no Estágio Pré-secretor, que vai aumentando à medida que os demais estágios iniciam. Isto é o esperado, tendo em vista que o propósito do processo secretor é lançar a secreção em regiões internas da planta, ou no meio externo à estrutura, cumprindo o seu papel fisiológico (CASTRO e MACHADO, 2016).

O Mecanismo de Secreção proposto para os coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) consiste no achado de um poro apical cuticular, através do qual a secreção é externalizada.

Verificou-se que, mesmo antes do início do processo de extravasamento da secreção, a cutícula já se encontra em distensão, com formação de espaço subcuticular, caracterizando essa fase e denotando o acúmulo de secreção na estrutura, em vias de extravasamento. A presença de poros e de rupturas na superfície do corpo do coléter não foi evidenciada.

Um mecanismo de secreção semelhante ao observado para *Genipa americana* L. (Rubiaceae) foi descrito para a *Bathysa cuspidata* (COELHO *et al.*, 2013), consistindo na observação de gotas de secreção no ápice do coléter, sem, contudo, ter sido evidenciada a presença de poros ou rupturas. A ocorrência de mecanismo secretor através da existência de poro apical cuticular foi relatada em outros grupos taxonômicos, como, por exemplo, em Turneraceae em coléteres do tipo padrão (GONZALEZ, 1998).

Mecanismos de secreção diferentes foram relatados também em Rubiaceae, de acordo com os estudos realizados em *Bathysa nicholsonii* K. Schum (MIGUEL *et al.*, 2006; MIGUEL *et al.*, 2017), *Psycotria nuda* (MIGUEL, 2009) e *Bathysa gymnocarpa* e *B. stipulata* (MIGUEL *et al.*, 2010), consistindo na formação de cavidades secretoras na parede celular externa.

Esta organização em camadas possibilitaria a saída da secreção através dos espaços formados nessas cavidades, sem ruptura da cutícula e sem a observação de mudanças drásticas na cutícula das células epidérmicas durante todo o processo secretor, com tal mecanismo consistindo na permeabilidade através da cutícula.

Em estudos recentes, realizados em *Bathysa nicholsonii* K. Schum (MIGUEL *et al.*, 2017), observou-se que durante o mecanismo secretor ocorrem mudanças tanto na parede celular dos coléteres, quanto na secreção, essas mudanças estruturais possibilitam a ocorrência do processo secretor.

Ainda para *Alseis pickelii* (TULLII *et al.*, 2013), o processo secretor consiste na ruptura da cutícula via pressão exercida pelo acúmulo de secreção em espaços subcuticulares. Já para o observado em *Tocoyena bullata* (MIGUEL *et al.*, 2016), consiste na liberação da secreção via ruptura da cutícula; o mesmo, foi observado para *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) (PINHEIRO *et al.*, 2015).

Em outras espécies, conforme os estudos em *Allamanda cathartica* (Apocynaceae), de Thomas e Dave (1989), e em *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) e *Hymenaea*

*stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae), de Paiva e Machado (2006a, 2006b), supõe-se que a via de liberação de secreção consiste na ruptura da cutícula via pressão exercida pelo acúmulo de secreção em espaços subcuticulares, conforme descrito anteriormente para espécies de Rubiaceae. Essa observação também foi relatada nos estudos da espécie *Plumeria rubra* L. (MOHAN e INAMDAR, 1986) e em *Pterodon pubescens* Benth. e *Pterodon polygalaeflorus* Benth. (Fabaceae-Papilionoideae) (PAIVA *et al.*, 2001).

A Histoquímica na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) confirmou a presença de parte dos compostos estudados (conforme Tabela 2). Sendo assim, Compostos Fenólicos foram confirmados nos Estágios Pós-secretor e Senescente; Lipídeos e Mucilagem foram confirmados nos Estágios Pré-secretor e Secretor; Polissacarídeos e Proteínas nos Estágios Pré-secretor e Secretor; e Polissacarídeos e Proteínas na Secreção. Não foram encontrados sinais da presença de Amidos e Taninos.

A secreção encontrada nos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) caracteriza-se por ser de natureza mista, compreendendo a presença de mucilagem, proteínas, polissacarídeos e lipídeos nos estágios iniciais de secreção, e de Compostos Fenólicos nos estágios finais.

Ressalta-se que o fator primordial de diferenciação entre os coléteres e as demais estruturas secretoras reside no fato da composição do exsudato, o qual pode apresentar constituição unicamente mucilagínosa – compostos de natureza hidrofílica (FAHN, 1979; THOMAS, 1991), ou conter uma mistura de mucilagem e substâncias lipofílicas – resinas (FAHN 1979; FAHN, 1990; KRONESTEDT- ROBARDS e ROBARDS, 1991).

Achados semelhantes com relação à presença de mucilagem, proteínas, polissacarídeos e lipídeos em Rubiaceae foram relatados para as espécies, *Psychothria nuda* (MIGUEL, 2009), *Bathysa gymnocarpa* e *B. stipulata* (MIGUEL *et al.*, 2010), *Bathysa cuspidata* (COELHO *et al.*, 2013), cuja composição da secreção rica em substâncias hidrofílicas estaria mais ligada à proteção das estruturas em desenvolvimento.

Já para a espécie *Simira glaziovii* (KLEIN *et al.*, 2004), a presença de proteínas estaria, por sua vez, relacionada à proteção contra microrganismos. Além da proteção contra patógenos, a ocorrência de proteínas no exsudato estaria ligada também à atividade antifúngica, conforme o relatado para a espécie *Bathysa nicholsonii* K. Schum (MIGUEL *et al.*, 2006).

Os achados relativos à presença de lipídeos na secreção dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) assemelham-se aos encontrados para *B. stipulata* (MIGUEL *et al.*, 2010), tendo sido encontradas vesículas lipídicas próximas à parede celular. Já para as células

do eixo central e do epitélio secretor, o achado foi comparável ao encontrado em *Bathysa cuspidata* (COELHO *et al.*, 2013), a despeito da técnica utilizada.

A ocorrência de compostos fenólicos nos estágios finais da atividade secretora dos coléteres de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) marca o processo de senescência, caracterizando os eventos finais do processo secretor em si, conforme verificado em Rubiaceae, na espécie *Bathysa cuspidata* (COELHO *et al.*, 2013), no qual, verifica-se a degradação das organelas e membranas e o escurecimento do citoplasma, com mudança de coloração dos coléteres.

Estas características foram relatadas também para outras espécies, como, por exemplo, em *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Apocynaceae) (APPEZZATO-DA-GLORIA e ESTELITA, 2000) e *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) (PAIVA e MACHADO, 2006b).

Por outro lado, a presença de compostos fenólicos produzidos durante o processo secretor, e acumulados em vacúolos para posterior utilização, estaria ligada ao desempenho de função protetora contra herbivoria, nesse caso, uma defesa química, conforme observado em *Cariniana estrellensis* (Lecythydaceae) (PAIVA, 2012).

## 6 CONCLUSÕES

Neste capítulo final, são apresentadas as considerações finais do trabalho, ressaltando os resultados obtidos com a aplicação das técnicas de pesquisa adotadas.

### 6.1 Considerações finais

#### 6.1.1 *Ontogênese*

- ✓ Diferenciação em três estágios: inicial, intermediário e final, com ocorrência de divisões anticlinais na protoderme: células do lado abaxial dão origem à epiderme paliçádica, e as do lado adaxial – subprotodérmicas, ao eixo central; e
- ✓ Ocorrência de divisões periclinais.

#### 6.1.2 *Origem*

- ✓ Mista: a partir de células da protoderme e do meristema fundamental.

#### 6.1.3 *Aspectos da micromorfologia e anatomia externa*

- ✓ Coléteres organizados na base da estípula em formato triangular;
- ✓ Coléteres do tipo padrão;
- ✓ Presença de constrição da base;
- ✓ Epiderme paliçádica, constituída por células secretoras; e
- ✓ Eixo central: constituído por células parenquimáticas alongadas, não-vascularizado.

#### 6.1.4 *Mecanismo Secretor*

- ✓ Caracterizado por acúmulo de secreção, com formação de espaço subcuticular, distensão da cutícula, e liberação da secreção via poro secretor apical cuticular.

#### 6.1.5 *Histoquímica*

- ✓ Natureza da secreção: mista;
- ✓ Confirmação da presença dos seguintes compostos: mucilagem, proteínas, polissacarídeos, lipídeos, nos estágios iniciais de secreção; e
- ✓ Compostos Fenólicos, nos estágios finais de secreção.

A espécie *Genipa americana* L. (Rubiaceae) exhibe a presença de coléteres cujas características encontradas, não divergem da maioria dos coléteres estudados tanto em espécies de Rubiaceae, como também em espécies de outros grupos taxonômicos, trazendo este estudo informações que vem enriquecer a pesquisa nessa área.

## REFERÊNCIAS

- APPEZZATO-DA-GLORIA, B.; ESTELITA, M. E. M.. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* e *M. velutina* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, 23: 113-120, 2000.
- BARREIRO, D. P.; MACHADO, S. R.. Coléteres dendróides em *Alibertia sessilis* (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n.3, p.387-399, jul.-set. 2007.
- BREMER, B.; ERIKSSON, O.. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. **Biological Journal of the Linnean Society**, 47: 79-95, 1992.
- CARDOSO, P. R. Estruturas secretoras em plantas. **INSTITUTO DE BOTÂNICA – IBt Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Estágio de Docência CAPES, 2011.**
- CASTRO, M; MACHADO, M.. Células e tecidos secretores. **In: Anatomia vegetal (Appezzato-da-Glória, B & Carmello-Guerreiro, SM eds)**. Universidade Federal de Viçosa, 2ed. 2006.
- CHIQUIERI, A.; DI MAIO, F. R.; PEIXOTO, A. L.. A distribuição geográfica da família Rubiaceae Juss. na Flora Brasiliensis de Martius. **Rodriguésia**, 55 (84): 47-57, 2004.
- COELHO, V. P. 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**, 208 (2013) 579– 590. 2013.
- CORDEIRO, J. M. P.; FÉLIX, L. P.. Conhecimento botânico medicinal sobre espécies vegetais nativas da caatinga e plantas espontâneas no agreste da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.685-692, 2014.
- CUNHA, M.; VIEIRA, R. C.. Anatomia foliar de *Psychotria velloziana* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, 49: 39-50, 1997.
- DAVE, Y.; THOMAS, Y. V.; KURIACHEN, P. M. Structure and development of colleters in *Aganosma caryophyllata* G. Don. **Pakistan Journal of Botany**, v. 19, p. 243–248, 1987.
- DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D. M.; RUHSAM, M.; MOAT, J.; BRUMMITT, N. A.. A Global Assessment of Distribution, Diversity, Endemism, and Taxonomic Effort in the Rubiaceae – **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 96(1):68-78, 2006.
- DELPRETE, P. G.; JARDIM, J. G.. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v. 63(1): 101-128, 2012.
- DEXHEIMER, J.; GUENIN, F. Étude de la sécrétion de mucilage par le trichomes stipulaires de *Psychotria bacteriophylla* (Rubiaceae). **Cytologia**, v. 46:731-747, 1981.
- DICKISON, W.C. **Integrative Plant Anatomy**. Academic Press, New York, 2000.

- FAHN, A. **Secretory Tissues in Plants**. Academic Press, London, New York, San Francisco. 1979.
- FAHN, A. **Plant Anatomy**. 4<sup>th</sup> Edition. Pergamon Press, Oxford. 1990.
- FAO. **Food and fruit-bearing forest species 3: Examples from Latin America**. 1986.
- FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, E. G. (Eds). Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Medicinais. **Curso Teórico-Prático, pp. 19-28, Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Centro de Biotecnologia Vegetal**, Lisboa, Portugal. 2006.
- FIGUEIREDO, R. W. D.; MAIA, G. A.; et al. Physical and chemical characteristics of genipap (*Genipa americana*) fruit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21(4):421-428, 1986.
- GONZALEZ, A. M. Colleters in *Turnera* and *Piriqueta* (Turneraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 128:215-228, 1998.
- GOVAERTS, R., RUHSAM, M., ANDERSSON, L., ROBBRECHT, E., BRIDSON, D., DAVIS, A., SCHANZER, I. & SONKÉ, B. (2016). **World Checklist of Rubiaceae**. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <<http://www.kew.org/wcsp/rubiaceae/>> accessed 05 November 2016.
- HORNER, H. T.; LERSTEN, N. R.. Development, structure and function of secretory trichomes in *Psychotria bacteriophila* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v. 55, 1089 – 1099, 1968.
- KLEIN, D. E. **Aspectos estruturais e bioquímicos de coléteres para o gênero *Simira* Aubl. (Rubiaceae)**. Tese (Mestrado em Biociências e Biotecnologia – Biologia Celular e Tecidual). Campos dos Goytacazes, RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2002, 63 p.
- KLEIN, D. E.; GOMES, V. M.; SILVA-NETO, S. J.; CUNHA, M.. The structure of colleters in several species of *Simira* (Rubiaceae). **Annals of Botany**, v. 94: 733-740, 2004.
- KRONESTEDT-ROBARDS, E.; ROBARDS, A.. Exocytosis in gland cells. In Endocytosis, exocytosis and vesicle traffic in plants. **Cambridge University Press, Cambridge**, p.199–232, 1991.
- LERSTEN, N. R.. Colleter morphology in *Pavetta*, *Neorosea* and *Tricalysia* (Rubiaceae) and its relationship to the bacterial leaf nodule symbiosis. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 69:125- 136, 1974a.
- LERSTEN, N. R.. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v. 61:973-901, 1974b.
- LERSTEN, N. R. Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. **Botanical Journal of the Linnaean Society**, v. 71:311–319, 1975.



LERSTEN, N. R.; CURTIS, J. D.. Colleter anatomy in red mangrove, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae). **Canadian Journal of Botany**, v. 52:2277-2278, 1974.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas nativas do Brasil. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**, 2000.

MAYER, J. L. S.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; MAZZAFERA, P.. A functional role for the colleters of coffee flowers. **Annals of Botany Plants**, 2013.

MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P.; SEIXAS, E. N. C.; SANTOS, M. A. F.. Rubiaceae: Aspectos ecológicos e reprodutivos. **Universidade Regional do Cariri – URCA, Caderno de Cultura e Ciência, Ano VIII**, v.12, n.2, Dez. 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. 336:400–406, 2013.

METCALFE, C. R.; CHALK, L.. **Anatomy of the dicotyledons**. Vol. I. Oxford: Clarendon Press, 1979.

METCALFE, C. R.; CHALK, L.. **Anatomy of the Dicotyledons**. Vol. II. Wood Structure and Conclusion of General Introduction. 2nd. Edn. Clarendon Press, Oxford. 1983.

MIGUEL, E. C. Stipular colleter in *Psychotria nuda* (Cham. & Schhtok) Wawra (Rubiaceae): Micromorfology, anatomy, and crystals microanalysis. **Acta Botânica Brasilica**, v. 23(4): 1034-1039, 2009.

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

MIGUEL, E. C.; KLEIN, D. E.; OLIVEIRA, M. A.; 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, jul.-set. 2010.

MIGUEL, E. C.; CUNHA, M.; MIGUEL, T. B. A. R.; BARROS, C. F.. Ontogenesis secretion and senescence of *Tocoyena bullata* (Vell.) Mart (Rubiaceae) colleters. **Plant Biology**. German Botanical Society and The Royal Botanical Society of the Netherlands, 2016.

MIGUEL, E. C.; P. SAULO; BARROS, C. F.; Z. HUMBERTO; GOMES, V. M.; MIGUENS, F. C.; CUNHA, M.. Outer cell wall structure and the secretion mechanism of colleters of *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae). **Acta Botânica Brasília**, 2017.

MOHAN, J. S. S.; INAMDAR, J. A.. Ultrastructure and secretion of extrafloral nectaries of *Plumeria rubra* L. **Annals of Botany**, v. 57: 389-401, 1986.

MURAVNIK, L. E. et al. Development, structure and secretion compounds of stipule colleters in *Pentas lanceolata* (Rubiaceae). **South African Journal of Botany**, v. 93, p. 27-36, 2014.

NAKATA, P.A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. **Plant Science**, v. 164, p. 901-909, 2003.

ORWA, C.; MUTUA, A.; KINDT, R.; JAMNADASS, R.; ANTHONY, S.. **Agroforestry Database: a tree reference and selection guide**. 2009.

PAIVA, E. A. S. Occurrence, structure and functional aspects of the colleters of *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Comptes Rendus Biologies**, v. 332, p. 1078–1084, 2009.

PAIVA, E. A. S. Colleters in *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae): structure, secretion and evidences for young leaf protection. **Journal of the Torrey Botanical Society**, v. 139, p.1–8, 2012.

PAIVA, E. A. S.; MACHADO, S. R.. Colleters in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) ontogenesis, ultrastructure and secretion. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, p. 301–308, 2006a.

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

PAIVA, E. A. S.; MORAIS, H. C.; ISAIAS, R. M. S.; ROCHA, D. M. S.; OLIVEIRA, P. E. Occurrence and structure of extrafloral nectaries in *Pterodon pubescens* Benth. and *Pterodon polygalaeflorus* Benth. (Fabaceae-Papilionoideae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 219–224, 2001.

PATEL, J. D.; ZAVERI, M.. Development of leaf and stipular glands in *Coffea arabica*. **Flora**, v. 164, p. 11–18, 1975.

PINHEIRO, S. K.; SOUSA, F. X.; MEDEIROS, P. R. L.; MIGUEL, T. B. A. R.; MIGUEL, E. C.. ENVIRONMENTAL SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (ESEM) OF *Morinda citrifolia* L. (Rubiaceae) COLLETTERS. **Acta Biomédica Brasiliensia**, v. 6, nº 2, 2015.

QUEIROZ, S. E. E. **Mecanismo e controle da germinação de sementes de *Genipa americana* L.**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

RAMAYA, N.; BAHADUR, B.. Morphology of the "squamellae" in the light of their ontogeny. **Current Science**, v. 37:520-522, p.64- 66, 1968.

RIO, M. C. S.; CASTRO, M. M.; KINOSHITA, L. S.. Distribuição e Caracterização anatômica dos coleteres foliares de *Prestonia coalita* (Vell.) Woodson (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, p. 339-349, 2002.

ROBBRECHT, E. Tropical Woody Rubiaceae. Characteristic fractures and progressions. Contributions to a new subfamilial classification. **Opera Botanica Belgica**, v. 1, p. 1 – 271, 1988.

SANTANA NETA, L. G. **Caracterização e avaliação do potencial de bioativos e atividade antioxidantes de *Genipa americana* L. desidratado**. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Escola de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

SOLEREDER, H. Ein Beitrag zur anatomischen Charakteristik und zur Systematik der Rubiaceen. **Bulletín de l'Herbier Boissier**, v. 1: 167-183, p. 53, 57, 58, 62, 64, 141, 1893.

SOLEREDER, H. **Systematic anatomy of the dicotyledons**. xxii + 1182 p. Oxford, Clarendon, p.64, 1908.

TALLENT, W.H. Two new antibiotic cyclopentanoid monoterpenes of plant origin ***Tetrahedron***, v. 20, n. 7, p. 1781-1787, 1964.

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

THOMAS, V.; DAVE, Y.. Histochemistry and senescence of colleters of *Alamanda cathartica* (Apocynaceae). **Annals of Botany**, v. 64, p. 201-203, 1989.

TULLII, C. F.; MIGUEL, E. C.; LIMA, N. B.; FERNANDES, K. V. S.; GOMES, V. M.; CUNHA, M. Characterization of stipular colleters of *Alseis pickelii* Pilger et Shmale (Rubiaceae). **Botany**, 2013.

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

WEBERLING, F. Las Estípulas como Caracteres Sistemáticos Confiables. **Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica**, v. 41 n. 1-2, p. 127-150, 2006.