

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
AMANDA SANTOS SILVEIRA

O PAPEL DE DIFERENTES FIXADORES NA IDENTIFICAÇÃO DA
COMPOSIÇÃO DA SECREÇÃO DE COLÉTERES

RIO VERDE - GO

2026

AMANDA SANTOS SILVEIRA

**O PAPEL DE DIFERENTES FIXADORES NA IDENTIFICAÇÃO DA
COMPOSIÇÃO DA SECREÇÃO DE COLÉTERES**

Trabalho de Conclusão de Curso (TC) apresentado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (IF Goiano, Campus Rio Verde), como requisito básico para a conclusão do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, sob orientação da Profa. Dra. Valdnéia Casagrande Dalvi.

RIO VERDE - GO

2026

**Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema Integrado de Bibliotecas do IF Goiano - SIBi**

S587o Silveira, Amanda Santos
 O PAPEL DE DIFERENTES FIXADORES NA
IDENTIFICAÇÃO DA COMPOSIÇÃO DA SECREÇÃO DE
COLÉTERES / Amanda Santos Silveira. Rio Verde 2026.

 29f. il.

 Orientadora: Prof^ª. Dra. Valdnéa Casagrande Dalvi.
 Tcc (Bacharel) - Instituto Federal Goiano, curso de 0120054 -
Bacharelado em Ciências Biológicas - Integral - Rio Verde
(2018/1) (Campus Rio Verde).
 I. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO

PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- ☐ Tese (doutorado)
☐ Dissertação (mestrado)
☐ Monografia (especialização)
☒ TCC (graduação)

- ☐ Artigo científico
☐ Capítulo de livro
☐ Livro
☐ Trabalho apresentado em evento

☐ Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

Amanda Santos Silveira

Matrícula:

2021102230540069

Título do trabalho:

O papel de diferentes fixadores na identificação da composição da secreção de coléteres

RESTRIÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial: ☒ Não ☐ Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 13 / 07 / 2026

O documento está sujeito a registro de patente? ☐ Sim ☒ Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? ☐ Sim ☒ Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

gov.br
Documento assinado digitalmente
AMANDA SANTOS SILVEIRA
Data: 03/07/2026 07:56:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rio Verde, Goiás

Local

13 / 07 / 2026

Data

Ciente e de acordo:

gov.br

Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Documento assinado digitalmente

VALDNEA CASAGRANDE DALVI

Data: 03/07/2026 15:19:24-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do(a) orientador(a)

Regulamento de Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) – IF Goiano - Campus Rio Verde

ANEXO V - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos 22 dias do mês de junho de dois mil e vinte e seis às 9:30 horas, reuniu-se a Banca Examinadora composta por: Profa. Dra. Valdnéia Casagrande Dalvi (orientadora), Prof. Dr. Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho (membro interno) e Profa. Dra. Jaqueline Martins Vasconcelos (membro externo), para examinar o Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) intitulado "**O papel de diferentes fixadores na identificação da composição da secreção de coléteres**" de **Amanda Santos Silveira**, estudante do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do IF Goiano – Campus Rio Verde, sob Matrícula nº 2021102230540069. A palavra foi concedida à estudante para a apresentação oral do TC, em seguida houve arguição da candidata pelos membros da Banca Examinadora. Após tal etapa, a Banca Examinadora decidiu pela APROVAÇÃO da estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata, que foi assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Rio Verde, 22 de junho de 2026.

(Assinado eletronicamente)

Valdnéia Casagrande Dalvi

Orientadora

(Assinado eletronicamente)

Sebastião Carvalho Vasconcelos Filho

Membro da Banca Examinadora

(Assinado eletronicamente)

Jaqueline Martins Vasconcelos

Membro da Banca Examinadora

Documento assinado eletronicamente por:

- **Valdnea Casagrande Dalvi, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 22/06/2026 10:50:03.
- **Sebastiao Carvalho Vasconcelos Filho, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 24/06/2026 08:29:27.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 21/06/2026. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 833343

Código de Autenticação: 18794be56f



Documento assinado digitalmente

JAQUELINE MARTINS VASCONCELOS

Data: 24/06/2026 11:31:33-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero expressar minha profunda gratidão aos meus pais. Sei dos esforços e sacrifícios que fizeram para me oferecer essa oportunidade. Vocês sempre me motivaram a me dedicar aos estudos, e sou imensamente agradecida por tudo isso.

A todos os meus amigos que estiveram ao meu lado desde o começo da faculdade: Isabella, Gustavo, Jeviny e Isabel. Agradeço por sempre estarem comigo, pelas fofocas e jogos de ping pong que tornaram essa jornada mais leve e divertida. Um agradecimento especial ao Gustavo e à Isabella pela grande ajuda, apoio e incentivo para não desistir nesta reta final do curso.

Ao IF Goiano, aos professores e a toda a equipe, pelo ensino de qualidade, pelo suporte financeiro e por toda a estrutura oferecida ao longo da minha graduação.

Por fim, gostaria de agradecer à minha orientadora, Profa. Dra. Valdneá. Muito obrigada por ter tido tanta paciência comigo. Apesar das minhas dificuldades, você esteve lá me apoiando.

Muito obrigada a todos!

RESUMO

SILVEIRA, AMANDA SANTOS. **O papel de diferentes fixadores na identificação da composição da secreção de coléteres.** 2026. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Instituto Federal Goiano - campus Rio Verde, Goiás. Rio Verde, Goiás, 2026.

A fixação é uma etapa fundamental na anatomia vegetal, tendo como principal função interromper o metabolismo celular e preservar a integridade estrutural e a composição química dos tecidos o mais próximo possível do seu estado *in vivo*. A escolha do agente fixador é um fator determinante no preparo de amostras, pois diferentes soluções interagem de maneiras distintas com as biomoléculas, podendo interferir na retenção de metabólitos específicos e na formação de artefatos. Diante disso, este projeto analisa se diferentes fixadores histológicos interferem nos resultados de testes histoquímicos em coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). O estudo compara a eficácia de dois fixadores — FAA50 e Formalina Neutra Tamponada (FNT) — na preservação estrutural e na composição histoquímica das secreções dos coléteres. As amostras vegetais foram coletadas, fixadas, desidratadas, incluídas em resina e submetidas a testes histoquímicos para identificação de polissacarídeos, proteínas e compostos fenólicos. As lâminas foram montadas, analisadas e fotografadas. Os coléteres de *G. americana* ocorrem na face interna das estípulas e são do tipo padrão. Polissacarídeos neutros, pectinas, mucopolissacarídeos ácidos e proteínas foram observadas na secreção. Constatamos que a escolha do fixador interfere na preservação das estruturas celulares e na coloração dos resultados dos testes histoquímicos. Os resultados também demonstraram que o FNT teve um desempenho melhor na preservação celular, enquanto o FAA se destacou por intensificar a coloração. Sendo assim, este trabalho enriquece a área da anatomia vegetal ao evidenciar que o tipo do fixador deve ser uma escolha estratégica e alinhada à necessidade do estudo.

Palavras-chave: estruturas secretoras; fixadores; glândulas; histoquímica; polissacarídeos

ABSTRACT

SILVEIRA, AMANDA SANTOS. **The role of different fixatives in the identification of colleter secretion composition.** 2026. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Instituto Federal Goiano - campus Rio Verde, Goiás. Rio Verde, Goiás, 2026.

Fixation is a fundamental step in plant anatomy, with its main function being to halt cellular metabolism and preserve the structural integrity and chemical composition of tissues as close as possible to their *in vivo* state. The choice of fixative agent is a determining factor in sample preparation, as different solutions interact differently with biomolecules, potentially affecting the retention of specific metabolites and the formation of artifacts. In this context, this project analyzes whether different histological fixatives interfere with the results of histochemical tests in the colleters of *Genipa americana* (Rubiaceae). The study compares the efficacy of two fixatives — FAA50 and Buffered Neutral Formalin (BNF) — in preserving the structural and histochemical composition of colleter secretions. The plant samples were collected, fixed, dehydrated, embedded in resin, and subjected to histochemical tests for the identification of polysaccharides, proteins, and phenolic compounds. The slides were mounted, analyzed, and photographed. The colleters of *G. americana* occur on the inner surface of the stipules and are of the standard type. Neutral polysaccharides, pectins, acidic mucopolysaccharides, and proteins were observed in the secretion. We found that the choice of fixative affects the preservation of cellular structures and the staining of histochemical test results. The results also demonstrated that FNT performed better in cell preservation, while the FAA stood out for enhancing staining. Thus, this work enriches the field of plant anatomy by showing that the type of fixative should be a strategic choice aligned with the study's requirements.

Keywords: fixatives; glands; histochemistry; polysaccharides; secretory structures

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA	3
3. MATERIAIS E MÉTODOS	5
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
4.1. Morfoanatomia e composição da secreção dos coléteres de <i>Genipa americana</i>	7
4.2. Comparação entre o material fixado em FAA e FNT	8
4.2.1. Preservação estrutural	8
4.3. Testes para carboidratos.....	11
4.3.1. Reativo de Schiff - PAS.....	11
4.3.2. Vermelho de Rutênio.....	11
4.3.3. Ácido tânico e Cloreto Férrico III	12
4.3.4. Lugol.....	13
4.3.5. Azul de Alciano	13
4.4. Testes para proteínas.....	14
4.4.1. Xylidine Ponceau.....	14
4.5. Testes para compostos fenólicos	14
4.5.1. Cloreto férrico.....	14
5. CONCLUSÃO.....	22
6. REFERÊNCIAS.....	23

1. INTRODUÇÃO

A anatomia vegetal é um ramo da ciência que estuda a estrutura interna dos órgãos vegetais em diferentes estágios de desenvolvimento, com ênfase na organização e função dos tecidos. Essa área é essencial para compreender como as plantas crescem, se adaptam ao ambiente e interagem com fatores ecológicos e evolutivos (Dengler, 2002; Lemos & Chaves, 2022). Conforme destacado por Evert e Esau (2006), a anatomia fornece as bases para interpretar processos como diferenciação celular, formação de meristemas e desenvolvimento de tecidos condutores, fundamentais para a sobrevivência vegetal. O estudo anatômico também tem papel chave na sistemática e na classificação botânica, ao revelar características estruturais úteis para diferenciar grupos taxonômicos (Lopez & Barclay, 2017).

Uma das principais formas de obtenção das imagens para os estudos anatômicos é a confecção de lâminas histológicas. Para tal, as amostras vegetais comumente passam pelo processo de fixação que tem como objetivo interromper o metabolismo celular e preservar a morfologia e composição química da amostra, prevenindo a autólise e a degradação pós coleta (Figueiredo et al., 2007; Ribeiro et al., 2012). Ademais, os fixadores atuam protegendo os tecidos contra alterações durante o processo de inclusão, microtomia e coloração das amostras vegetais, essenciais para obtenção das lâminas histológicas (Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2021).

A fixação química atua por meio da estabilização das biomoléculas como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, por reações específicas como formação de pontes cruzadas com grupos amina, no caso dos aldeídos ou desnaturação proteica com álcoois (Caputo et al., 2010; Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2021). A escolha do fixador influencia diretamente essas interações: fixadores coagulantes ou não aditivos como etanol e acetona precipitam proteínas sem se ligarem a elas, enquanto fixadores aditivos como o formaldeído se ligam às proteínas formando complexos insolúveis (Werner et al., 2000; Caputo et al., 2010; Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2021). Compostos fenólicos, lipídios e carboidratos respondem de maneira variável conforme o agente utilizado, o pH, a osmolaridade da solução e o tempo de exposição (Caputo et al., 2010; Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2021). Essas reações químicas determinam a preservação dos componentes celulares e, por consequência, a confiabilidade dos testes histoquímicos aplicados posteriormente (Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2021).

Dentre os diferentes fixadores utilizados nos estudos com vegetais o FAA, uma mistura de formaldeído, ácido acético e etanol na proporção 1:1:18 v:v:v, vem sendo utilizado desde o

século XX nos estudos envolvendo microscopia de luz ou óptica (Metcalf & Chalk, 1979; Mauseth, 1988). O formaldeído, fixador aldeído amplamente utilizado na rotina histológica por seu baixo custo e fácil preparo, reage com grupos amina de proteínas, formando pontes metilênicas (ligações cruzadas) que as tornam insolúveis, estabilizando os tecidos na forma de um gel (Werner et al., 2000; O'Leary & Mason, 2004; Santos et al., 2021). Esse processo ocorre com maior eficácia em meio neutro, enquanto ambientes ácidos reduzem sua atividade fixadora ao modificar grupos funcionais essenciais (Berlyn & Miksche, 1976; Caputo et al., 2010; Santos et al., 2021). É importante destacar que o formaldeído comercial é fornecido como solução aquosa a 37% ou 40%, estando predominantemente na forma monomérica. A solução rotineiramente chamada de 'formalina 10%' ou 'formaldeído a 10%' contém, na realidade, 3,7% ou 4% de formaldeído, respectivamente (Caputo et al., 2010; Santos et al., 2021). Embora preserve proteínas e parte dos lipídios, o formaldeído pode gerar artefatos. Além dos pigmentos escuros observados em tecidos com alto conteúdo fenólico (Johansen, 1940; Feder & O'Brien, 1968; Ribeiro et al., 2012), a oxidação do formaldeído na presença de luz e oxigênio (atmosférico e tecidual) forma ácido fórmico, que pode precipitar como um pigmento marrom. Para minimizar a formação deste último artefato, recomenda-se o preparo do fixador em soluções tamponadas (Caputo et al., 2010; Ribeiro et al., 2012).

O álcool etílico, além de ser um agente desidratante amplamente utilizado, atua como fixador primário ao desnaturar proteínas e facilitar sua insolubilização (Berlyn & Miksche, 1976; Ribeiro et al., 2012). Em protocolos modernos, etapas de etanol a 70% por 6 horas melhoram a preservação de tecidos vegetais (Criswell et al., 2024). Contudo, quando usado isoladamente, pode dissolver lipídios e provocar artefatos como retração ou endurecimento tecidual, especialmente em temperaturas elevadas (Ribeiro et al., 2012). Sua ação desnaturante fixa proteínas, mas pode alterar conformações moleculares, afetando ensaios bioquímicos (O'Brien & McCully, 1981). Sua combinação com outros fixadores visa equilibrar esses efeitos e melhorar a preservação celular (Ribeiro et al., 2012).

O ácido acético, no FAA, atua como fixador secundário, penetra rapidamente nas amostras, permeabilizando membranas e facilitando a entrada de formaldeído permitindo rápida fixação de estruturas nucleares sem comprometer os lipídios (Berlyn & Miksche, 1976; Ribeiro et al., 2012). Em baixas concentrações (1-5%), preserva estruturas nucleares, mas em excesso causa dilatação celular (Johansen, 1940). Sua função é potencializada quando integrado a misturas como o FAA favorecendo a estabilização de nucleoproteínas e neutralizando a natureza oxidante de compartimentos celulares como o núcleo (Ribeiro et al., 2012).

Outro fixador que vem sendo empregado nos estudos anatômicos, em especial nos trabalhos com enfoque histoquímico é o FNT, ou seja, a formalina neutra tamponada (Kraus & Arduin, 1997). Esse fixador reduz a formação de produtos de oxidação, o que reduz a formação de artefatos como precipitação de pigmentos marrons e alterações estruturais em tecidos ricos em compostos fenólicos e evita alterações de pH, contribuindo para melhor preservação de estruturas delicadas (Stowell, 1941; Holt, 1961; Caputo et al., 2010; Santos et al., 2021). Assim, o FAA evidencia sua eficácia na estabilização de carboidratos e proteínas por meio da formação de pontes metilênicas, enquanto o FNT, ao evitar alterações de pH, preserva compostos sensíveis, como os alcalóides (Johansen, 1940; Kraus & Arduin, 1997; Werner et al., 2000; Santos et al., 2021).

Após o processo de fixação as amostras vegetais passam por um processo de desidratação em séries alcoólicas gradativas, que variam de 70% a 100% de etanol, permitindo uma transição adequada para a infiltração com parafina ou resina (Berlyn & Miksche, 1976; Ruzin, 1999; Santos et al., 2021). O corte subsequente em micrótomo, com espessuras variando entre 4 e 15 μm , exige precisão técnica para evitar danos às células e garantir a integridade das estruturas (Ribeiro et al., 2012; Santos et al., 2021). Por fim, a coloração diferencial, utilizando reagentes como azul de toluidina, um corante metacromático, em conjunto com testes histoquímicos, como o Ácido Periódico de Schiff (PAS) e o Xylidine Ponceau, permite a identificação e análise dos componentes celulares específicos, enriquecendo a compreensão funcional dos tecidos (Pearse, 1980).

2. JUSTIFICATIVA

Um dos ramos da anatomia vegetal inclui o estudo das estruturas secretoras, amplamente distribuídas nas plantas vasculares. Essas estruturas são classificadas em internas, como idioblastos, ductos, cavidades e laticíferos e externas, como nectários, tricomas glandulares, coléteres, hidatódios, osmóforos, elaióforos, hidropótios e glândulas de sal (Fahn, 1988; 2002). Dependendo do tipo e da posição ocupada no corpo da planta, essas estruturas exercem funções ecológicas e fisiológicas diversas, que vão desde a atração de polinizadores até a proteção contra herbívoros e patógenos (Fahn, 1979; 2002).

Dentro desse contexto, os coléteres destacam-se como estruturas secretoras multicelulares frequentemente associadas a regiões meristemáticas (ápices caulinares,

primórdios foliares, estípulas, brácteas e cálices), podendo ser caduco em órgãos expandidos (Thomas, 1991). Sua função primária é proteger gemas e folhas jovens contra dessecação ou ataque de herbívoros e patógenos (Fahn, 1979; Thomas, 1991; Silva et al., 201) mediante a secreção de substâncias pegajosa, composta principalmente por mucilagem embora outros compostos como resinas, lipídios e proteínas possam ser encontrados (Fahn, 1979; Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000).

A composição da secreção varia conforme o ambiente e o estágio de desenvolvimento. Em espécies de savana (*Palicourea rigida*, *Tocoyena formosa*), predominam lipídios e resinas, formando barreiras hidrofóbicas contra dessecação e radiação solar (Mayer et al., 2011; Mercadante-Simões & Paiva, 2013; Tresmondi et al., 2015). Já em espécies florestais, predominam secreções hidrofílicas, ricas em mucilagem e proteínas, que garantem lubrificação e resistência a patógenos como reportado para *Psychotria hoffmannseggiana* (Miguel et al., 2006; Tresmondi et al., 2015). Além disso, compostos fenólicos e alcalóides são frequentemente detectados em estágios avançados de desenvolvimento, atuando como barreiras químicas contra herbivoria (Vitarelli & Santos, 2009).

Diferenças na composição da secreção entre os estádios de desenvolvimento foliar também são constatadas. Em *Clusia criuva* (Clusiaceae), a secreção varia dinamicamente: nos primórdios foliares, há abundância de polissacarídeos e proteínas, enquanto folhas adultas acumulam fenóis, associados à defesa antioxidante e à senescência (Teixeira et al., 2022). Essa plasticidade na composição química reflete não apenas adaptações a nichos ecológicos específicos, como savanas ou florestas úmidas, mas também respostas a estímulos hormonais e mecânicos durante o desenvolvimento (Mayer et al., 2011; Mercadante-Simões & Paiva, 2013; Judkevich et al., 2017).

Segundo a revisão proposta por Thomas (1991) para coléteres, essas estruturas secretoras são reportadas em cerca de 60 famílias de “Dicotiledôneas”, sendo Rubiaceae (Gentianales) a família com maior número de estudos. Cabe ressaltar que os coléteres compreendem uma das sinapomorfias das Gentianales, na qual estão inseridas as famílias Rubiaceae, Apocynaceae, Gentianaceae, Gelseminaceae e Loganiaceae (Judd et al., 2009).

O estudo dos coléteres, assim como as demais estruturas secretoras, leva em consideração a posição ocupada por estas no corpo da planta, a morfologia e anatomia bem como a composição da secreção (Lersten, 1975; Thomas, 1991). Para certificar a composição da secreção, as quais podem ser de natureza lipofílica e hidrofílica, testes histoquímicos são comumente aplicados. Esses testes permitem identificar grandes classes de compostos químicos

incluindo carboidratos (Johansen, 1940; O'Brien & McCully, 1981), lipídios (Kirk, 1970; Pearse, 1980), proteínas (Mazia et al., 1953; Vidal, 1970), compostos fenólicos (Johansen, 1940; Gabe, 1968) e óleos essenciais (David & Carde, 1964). Podem ser aplicados ora em material fresco, ora em materiais fixados com FAA (Silva et al, 2012) ou com FNT (Feio et al, 2016; Faria et al, 2019). Cabe ressaltar que, no caso dos coléteres, os cortes à mão livre são um entrave devido ao tamanho e formato dessas estruturas secretoras. No caso dos trabalhos que optam pela realização dos testes histoquímicos em material fresco os coléteres e/ou fragmentos de folhas e estípulas são mergulhados por inteiro nos reagentes (Paiva & Machado, 2006; Martins, 2011; Ribeiro et al., 2017).

Assim, diante da diversidade de compostos químicos secretados pelos coléteres a escolha do fixador adequado pode ser determinante para a correta interpretação dos compostos presentes na secreção produzida por essas estruturas secretoras.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Para o presente projeto foram coletadas amostras de três indivíduos de *Genipa americana* (Fig. 1A), conhecida popularmente como jenipapo, uma espécie de Rubiaceae. A coleta foi realizada durante a estação chuvosa, no mês de outubro, na área do Projeto de Recuperação de Áreas de Preservação Permanente de Nascentes do IF Goiano – Campus Rio Verde. Ramos reprodutivos de cada indivíduo foram coletados para confecção de exsiccatas, as quais foram incorporadas no herbário IFRV do IF Goiano, com o número 1758.

Ramos vegetativos contendo o meristema apical caulinar, protegidos por estípulas e folhas jovens (Fig. 1B, C) foram coletados em campo e as amostras foram fixadas em FAA50 (formaldeído, ácido acético e álcool 50% - 1:1:18) (Johansen, 1940) e FNT (formalina neutra tamponada) (Kraus & Arduin 1997, modificado), ambos por 48 horas. A lavagem dos fixadores respeitou os protocolos específicos até acondicionamento em álcool 70%. Em seguida, as amostras de ambos os fixadores foram transferidas para álcool etílico 85% e 95%, respectivamente, por duas horas cada; pré-incluídas em resina + álcool (1:1) por 2 dias e incluídas em resina do tipo metacrilato (Leica Instruments, Heidelberg, Germany) por 12 dias. Os blocos foram confeccionados com resina base + endurecedor, na proporção 15:1, conforme recomendação do fabricante. Os blocos foram armazenados em frascos contendo sílica gel para posterior seccionamento.

As seções, com espessura de 5 µm, foram obtidas em planos longitudinal e transversal em micrótomo rotativo (Modelo 1508R, Logen Scientific), com utilização de lâminas de aço descartáveis de baixo perfil. Em seguida, as lâminas passaram por uma triagem e foram selecionadas para as etapas seguintes de coloração e realização dos testes histoquímicos. Parte das lâminas foi corada com Azul de Toluidina preparado em tampão MacIrvine pH 4,7 (O'Brien et al., 1964) e, em seguida, as lâminas foram montadas com resina sintética (Permunt-Fisher). Outra parte das lâminas foram submetidas a diferentes testes histoquímicos incluindo:

- Ácido Periódico de Schiff/PAS (O'Brien & McCully, 1981): as lâminas foram primeiramente tratadas com solução aquosa de ácido periódico 0,5% por 9 minutos e, em seguida, lavadas 3 vezes em água destilada por 3 minutos cada. Após isso, foram submetidas ao reagente de Schiff (Sigma) por 30 minutos no escuro, lavadas 3 vezes em água sulfurosa (metabissulfito de sódio) por 3 minutos cada. Por fim, as lâminas foram lavadas rapidamente em água. Após secagem, as lâminas foram montadas com resina sintética do tipo Permunt.
- Vermelho de rutênio (Johansen, 1940): as lâminas foram submetidas ao reagente de Vermelho de Rutênio por 10 minutos e, lavadas rapidamente em água destilada. Após secagem, as lâminas foram montadas com resina sintética do tipo Permunt.
- Lugol (Johansen, 1940): as lâminas foram submetidas ao reagente de Lugol por 5 minutos e lavadas em água destilada em seguida. As lâminas foram montadas em meio hidratado (água).
- Azul de Alciano (Pearse, 1980): as lâminas foram submetidas ao reagente de Azul de Alciano por 30 minutos e lavadas em água destilada em seguida por 5 minutos. Após secagem, as lâminas foram montadas com resina sintética do tipo Permunt.
- Ácido Tânico/ Cloreto Férrico III (Pizzolato & Lillies, 1973): as lâminas foram submetidas ao reagente de Ácido Tânico a 5% por 10 minutos e lavadas rapidamente com água destilada. Em seguida, as lâminas foram submetidas ao reagente de Cloreto Férrico III a 3% por 1 minuto e lavadas rapidamente com água destilada. Após secagem, as lâminas foram montadas com resina sintética do tipo Permunt.
- Xylidine Ponceau (Vidal, 1970): as lâminas foram submetidas ao reagente de Xylidine Ponceau por 15 minutos; lavadas com ácido acético 3% por 5 minutos e lavadas rapidamente em água. Após secagem, as lâminas foram montadas com resina sintética do tipo Permunt.

- Cloreto férrico (Johansen, 1940): as lâminas foram submetidas ao reagente de Cloreto Férrico de 15 minutos e lavadas rapidamente em água. Após secagem, as lâminas foram montadas em meio hidratado (água).

Por fim, as lâminas foram analisadas em microscopia óptica utilizando o microscópio Olympus (modelo BX61) equipado com sistema de captura de imagens, câmera DP-72.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Morfoanatomia e composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana*

Genipa americana apresenta estípulas interpeciolares encobrindo as folhas jovens e o meristema apical caulinar (Fig. 1B, D). As estípulas são triangulares, com coloração esverdeada quando jovens (Fig. 1B), de aspecto foliáceo (Fig. 1D), sendo caducas nos estádios mais avançados de desenvolvimento. Em campo, observa-se uma secreção abundante, de coloração esbranquiçada (Fig. 1E) encobrindo as estípulas. A presença de estípulas é um caráter taxonômico para a família Rubiaceae (Judd et al., 2009; Souza, 2017).

Os coléteres se localizam na porção interna das estípulas, no terço basal (Fig. 1F, H), apresentando coloração geralmente esbranquiçada (Fig. 1G) ou levemente amarronzada (Fig. 1H). Essa mudança de coloração está frequentemente associada à senescência e é amplamente documentada em espécies de Gentianales, como em Rubiaceae (Tresmondi et al., 2015), Gentianaceae (Dalvi et al., 2014), Apocynaceae (Martins, 2011) e Loganiaceae (Thomas, 1991; Dalvi et al., 2025), refletindo alterações metabólicas durante o desenvolvimento (Thomas, 1991).

Anatomicamente, os coléteres de *G. americana* são formados por um eixo central de células parenquimáticas alongadas, desprovido de vascularização, circundado por uma epiderme secretora de células paliçádicas (Fig. 2). Essa organização é típica de coléteres do tipo padrão, caracterizados pela constrição basal, alargamento mediano e ápice afilado (Thomas, 1991; Miguel et al., 2006), comuns em Rubiaceae (Lersten, 1974; Miguel et al., 2006). Os coléteres são abundantes (Fig. 2A), pedunculados e recobertos por cutícula (Fig. 2D). As células do eixo central exibem conteúdo citoplasmático menos denso e espaços intercelulares (Fig. 2C), o que facilita o armazenamento temporário de secreções antes da exsudação, conforme observado em outras Rubiaceae (Miguel et al., 2006; Tresmondi et al., 2015).

A secreção é composta por polissacarídeos gerais (PAS-positivos; Fig. 3), essenciais para a formação de mucilagem. Essa fração hidrofílica atua na lubrificação e proteção dos meristemas contra dessecação, sendo uma função conservada em coléteres de eudicotiledôneas (Fahn, 1979; Thomas, 1991; Teixeira et al., 2022). Outros compostos incluem pectinas (vermelho de rutênio; Fig. 4), mucilagens (ácido tânico + FeCl₃; Fig. 5), mucopolissacarídeos ácidos (azul de alciano; Fig. 7) e proteínas (Xylidine Ponceau; Fig. 8), caracterizando uma secreção mista, semelhante à reportada em *Bathysa nicholsonii* (Rubiaceae). Mucilagens ácidas garantem retenção hídrica e microambiente úmido (Teixeira et al., 2022), enquanto proteínas inibem patógenos, como demonstrado em estudos bioquímicos com coléteres de Rubiaceae (Miguel et al., 2006). Compostos fenólicos (Fig. 9) e amido (Fig. 6) estão ausentes na secreção, sendo detectados apenas como componentes estruturais ou em estágios pós-secretores. Essa distinção é crucial, pois fenóis acumulam-se especificamente durante a senescência dos coléteres, associados à proteção dos tecidos, conforme observado em *Macrocarpaea obtusifolia* (Dalvi et al., 2014) e *Odontadenia lutea* (Martins, 2011).

4.2. Comparação entre o material fixado em FAA e FNT

4.2.1. Preservação estrutural

Em relação à preservação estrutural, observou-se que as amostras fixadas em FNT apresentaram cortes histológicos mais organizados e com um menor número de coléteres desprendidos quando comparadas àquelas submetidas ao FAA. Além disso, também foi possível observar algumas diferenças na coloração com azul de toluidina (Fig. 2). Nas amostras fixadas em FAA, os tecidos coraram-se em um azul escuro e com tons arroxeados (Fig. 2F), evidenciando a forte reação metacromática do corante com os compostos do tecido (O'Brien et al., 1964; Pearse, 1980). Por outro lado, o material fixado em FNT exibiu uma coloração azul mais clara que no FAA e sem a presença dos tons de roxo observados no FAA (Fig. 2C, D).

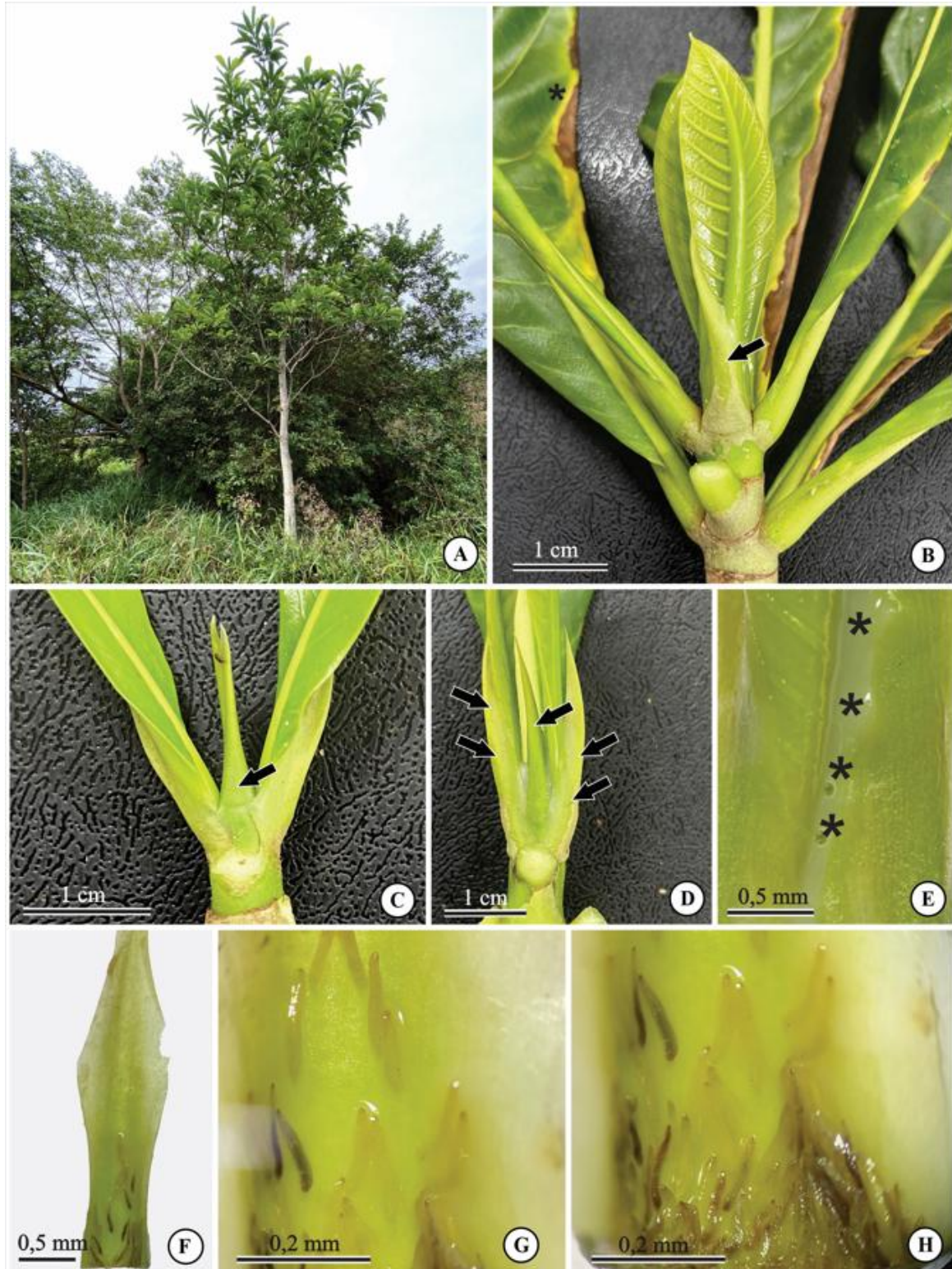


Fig. 1: Aspectos morfológicos de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A) Aspecto de um dos indivíduos amostrados. (B e C) Ápice caulinar vegetativo com estípulas (setas pretas). (D) Detalhe da secreção associada ao ápice caulinar (seta preta). (E) Acúmulo de secreção com coloração esbranquiçada (asteriscos). (F) Visão geral da estípula com os coléteres. (G) Detalhe da porção secretora de coléteres esbranquiçados. (H) Detalhe da porção secretora de coléteres levemente escurecidos.

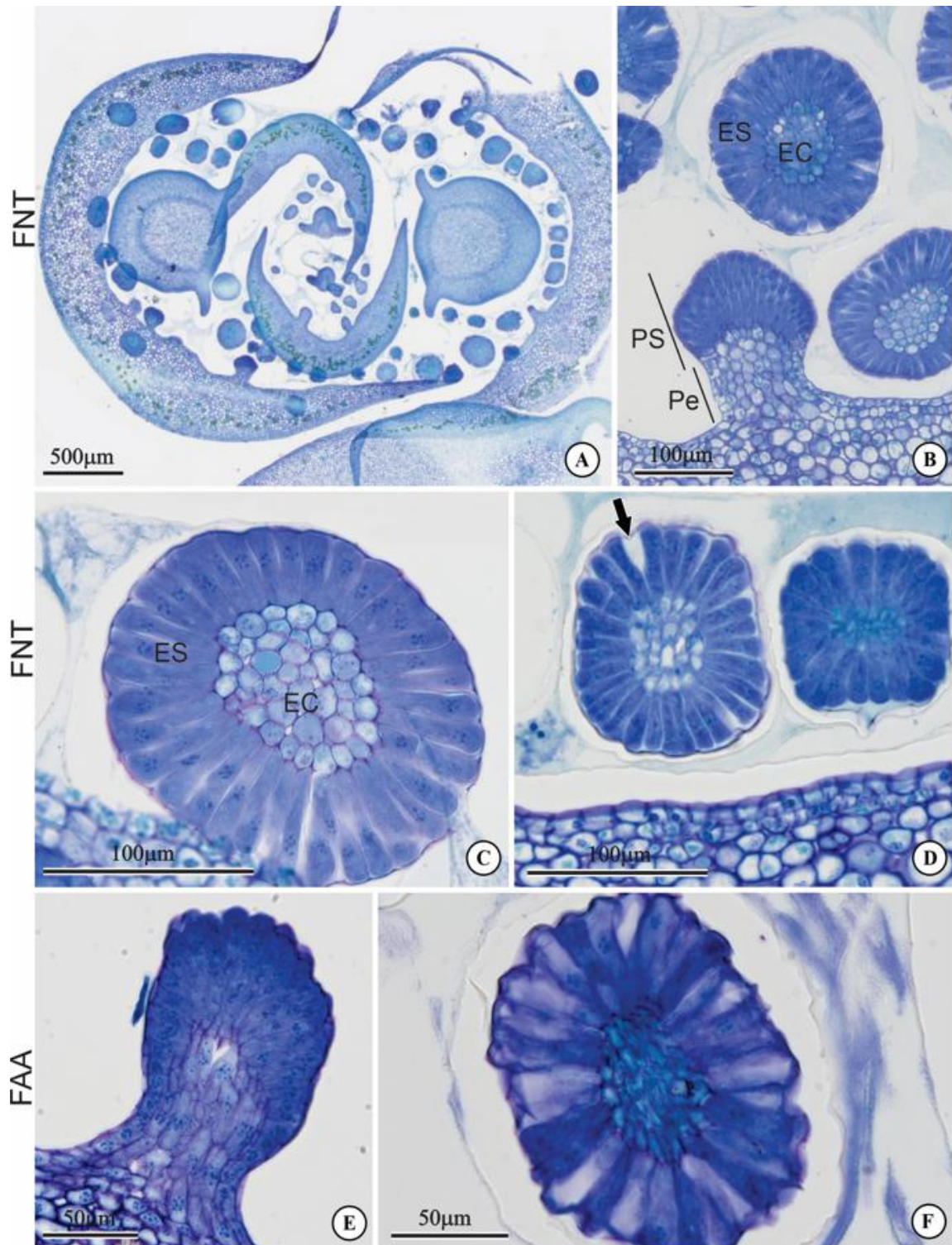


Fig. 2: Cortes transversais dos ápices caulinares, corados com azul de Toluidina, evidenciando a anatomia dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A - D) Fixação em FNT. (E - F) Fixação em FAA. (A) Secção transversal da estípula evidenciando os coléteres. (B) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (C) Detalhe de células secretoras, com citoplasma denso e do eixo central, com conteúdo hialino. (D) Cutícula (seta preta) bem evidente. (E) Detalhe de coléter no estágio de diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras (F) Detalhe de células da epiderme secretora e do eixo central. (ES) Epiderme secretora, (EC) Eixo central.

4.3. Testes para carboidratos

4.3.1. Reativo de Schiff - PAS

A aplicação do teste de PAS revelou diferenças significativas no padrão de coloração entre os fixadores (Fig. 3). Nas amostras fixadas em FAA, observou-se coloração variando do roxo ao roxo escuro, com tonalidade muito forte em coléteres mais desenvolvidos e mais fraca em coléteres menos desenvolvidos (Fig. 3E). Em contraste, o FNT demonstrou homogeneidade superior na coloração, com epiderme em roxo médio a escuro e eixo central em roxo claro (Fig. 3C). Este comportamento está alinhado à sua capacidade de estabilizar matrizes polissacarídicas via pontes cruzadas (Caputo et al., 2010; Crang, 2018; Santos et al., 2021).

O teste de PAS confirmou a natureza polissacarídica dominante da secreção desde estágios iniciais (Fahn, 1979; Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000), com reatividade mais intensa no FNT (Fig. 3C). A secreção extracelular foi preservada neste fixador (roxo escuro intenso), enquanto no FAA apresentou-se escassa (Fig. 3F). Esta disparidade evidencia a perda seletiva de mucilagens hidrossolúveis durante fixação alcoólica (Miguel et al., 2006; Tresmondi et al., 2015; Santos et al., 2021). A predominância de polissacarídeos na secreção, verificada desde fases juvenis, sustenta a função primordial dos coléteres na proteção do meristema apical contra dessecação e estresses bióticos (Fahn, 1979; Dalvi et al., 2014).

4.3.2. Vermelho de Rutênio

No FAA, a coloração ocorreu predominantemente nos coléteres mais desenvolvidos na cor rosa escuro (Fig. 4G), enquanto os coléteres em fase inicial de formação ficaram com um tom rosa bem claro (Fig. 4F). O eixo central apresentou-se sem cor, mas com limites celulares visíveis (Fig. 4F). Além dessa diferença ontogenética entre coléteres mais desenvolvidos e menos desenvolvidos, observou-se também uma maior heterogeneidade de coloração, com alguns coléteres apresentando coloração muito clara e poucos exibindo tonalidades bem escuras (Fig. 4E, F).

No FNT, a coloração foi mais abrangente, variando do rosa médio ao escuro em todos os coléteres (Fig. 4A), com o eixo central corando-se de rosa claro a médio (Fig. 4C). Assim como observado no teste de PAS, o FNT promoveu uma maior homogeneidade na coloração dos coléteres, de modo que a maioria dos coléteres apresentaram tonalidades muito semelhantes entre si (Fig. 4A), em contraste com o padrão heterogêneo registrado no FAA (Fig. 4E, F).

Em ambos os fixadores, foi possível distinguir com clareza tanto o eixo central e a epiderme secretora dos coléteres quanto a separação das células nas duas regiões (Fig. 4C,G), porém, no FAA essa distinção foi mais acentuada, com a epiderme intensamente corada contrastando com um eixo central praticamente incolor (Fig. 4G). A ausência de coloração no eixo central no FAA sugere baixa concentração de pectinas, enquanto a marcação no FNT indica preservação de matrizes polissacarídicas hidratadas (Fahn, 1979; Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000; Santos et al., 2021). A forte marcação na epiderme confirma a síntese de polissacarídeos ácidos (Zanotti et al., 2020). Além disso, essa marcação ressalta o papel ecológico dos coléteres: polissacarídeos ácidos formam um gel hidrofílico que protege meristemas contra dessecação e atua como barreira física contra patógenos (Thomas, 1991; Miguel et al., 2006).

4.3.3. Ácido tânico e Cloreto Férrico III

Nas amostras fixadas em FAA, observou-se fraca reatividade em tons de cinza médio a escuro, com má preservação estrutural: coléteres desfocados e corte desorganizado (Fig. 5D). Por outro lado, nas amostras fixadas em FNT, a reação foi negativa com tons de cinza claro, porém com excelente preservação morfológica, permitindo distinguir claramente o eixo central (cinza claro) da epiderme secretora (cinza médio) (Fig. 5A, B).

O teste de ácido tânico-cloreto férrico é amplamente utilizado para detecção de mucilagens, que se coram em preto intenso quando positivas (Pizzolato & Lillie, 1973; Tresmondi et al., 2015). A ausência desta coloração característica em ambos os fixadores indica que não houve detecção de mucilagens extracelulares.

4.3.4. Lugol

O teste de Lugol, utilizado para detecção de amido, não evidenciou coloração azul-escura/preta em nenhum dos fixadores (Fig. 6A, C), indicando ausência de grânulos de amido. Tanto no FAA quanto no FNT, os tecidos exibiram coloração marrom clara, característica do reagente de iodo em meio não reativo (Fig. 6B, D). A ausência de reservas de amido nesta fase sugere que os carboidratos são direcionados metabolicamente para a síntese do exsudato, possivelmente na forma de açúcares solúveis ou precursores de polissacarídeos secretórios (Fahn, 1988; Tresmondi et al., 2015). Essa observação alinha-se com estudos em Rubiaceae,

onde coléteres jovens exibem plastídios sem amido, associados à alta atividade de hidrólise (Thomas, 1991; Appezzato-da-Glória & Estelita, 2000). Em *Caryocar brasiliense*, a ausência de amido em coléteres jovens reforça a alocação de recursos para secreção em espécies tropicais (Paiva & Machado, 2006). Ambos os fixadores preservaram a integridade celular sem gerar artefatos que imitem positividade (Feder & O'Brien, 1968; Kraus & Arduin, 1997; Santos et al., 2021).

A ausência de secreção corada é esperada, pois o Lugol não detecta mucilagens extracelulares, que requerem testes específicos para polissacarídeos ácidos (Caputo et al., 2010; Santos et al., 2021).

4.3.5. Azul de Alciano

Nas amostras fixadas em FAA, a coloração com azul de alciano foi azul médio na epiderme, com o eixo central quase incolor, porém com delimitação celular nítida, proporcionando ótimo contraste (Fig. 7F). No FNT, a coloração foi azul médio e uniforme, com o eixo central e a epiderme apresentando tonalidades similares, ainda que a visualização celular permanecesse possível (Fig. 7C, D).

O padrão obtido é consistente com o princípio da coloração com azul de alciano, que marca seletivamente mucopolissacarídeos ácidos em tons de azul (Lev & Spicer, 1964; Santos et al., 2021) reforça que ambos os fixadores foram capazes de preservar adequadamente esse componente da secreção.

4.4. Testes para proteínas

4.4.1. Xylidine Ponceau

O teste de Xylidine Ponceau (XP) foi aplicado para a detecção de proteínas totais (O'Brien & McCully, 1981). A identificação de compostos proteicos é fundamental, pois estes podem atuar tanto como componentes estruturais da mucilagem quanto como agentes de defesa antimicrobiana no exsudato de coléteres (Klein et al., 2004; Miguel et al., 2006).

No material em FAA, a coloração foi vermelho escuro, sendo mais intensa nos coléteres mais desenvolvidos (Fig. 8E, F). A epiderme secretora corou-se mais escura que o eixo central. No FNT, os coléteres coraram-se em um vermelho médio-escuro, com a epiderme também mais

escura que o eixo central (Fig. 8B, C). Isso pode confirmar a natureza mista da secreção e a alta atividade do maquinário de síntese protéica nas células epidérmicas (Miguel et al., 2006). O FAA é altamente eficaz em coagular e reter conteúdos protéicos densos, evidenciando os núcleos, enquanto o FNT preserva a matriz de forma mais branda, o que pode justificar a menor intensidade de cor (O'Brien & McCully, 1981; Ribeiro et al., 2012).

A secreção extracelular corou-se em ambos os tratamentos (Fig. 8B, E). Contudo, observou-se uma maior quantidade de secreção retida nas lâminas fixadas em FNT (Fig. 8B) em comparação ao FAA (Fig. 8E). Esse resultado sugere que o exsudato possui componentes proteicos (possivelmente enzimas de defesa) que são eficientemente estabilizados pelas pontes cruzadas do formaldeído, evitando sua lavagem, enquanto a precipitação alcoólica do FAA pode ter sido agressiva demais, fragmentando parte dessa rede protéica externa (Klein et al., 2004; Souza, 2017).

4.5. Testes para compostos fenólicos

4.5.1. Cloreto férrico

O teste de cloreto férrico, utilizado para a detecção de compostos fenólicos, não apresentou a coloração escura característica em nenhum dos fixadores no estágio jovem (Fig. 9). Tanto no FAA quanto no FNT, os coléteres não exibiram reatividade positiva, apresentando apenas tons translúcidos ou levemente amarelados. A ausência de compostos fenólicos nesta fase indica que os coléteres estão em plena atividade secretora, visto que a síntese e o acúmulo desses metabólitos em *Genipa americana* ocorrem predominantemente nos estágios pós-secretor e senescente, marcando os eventos finais de degradação da glândula e atuando como defesa química tardia (Coelho et al., 2013; Souza, 2017). Ambos os fixadores se comportaram de maneira neutra, não gerando artefatos que pudessem ser confundidos com positividade (Kraus & Arduin, 1997).

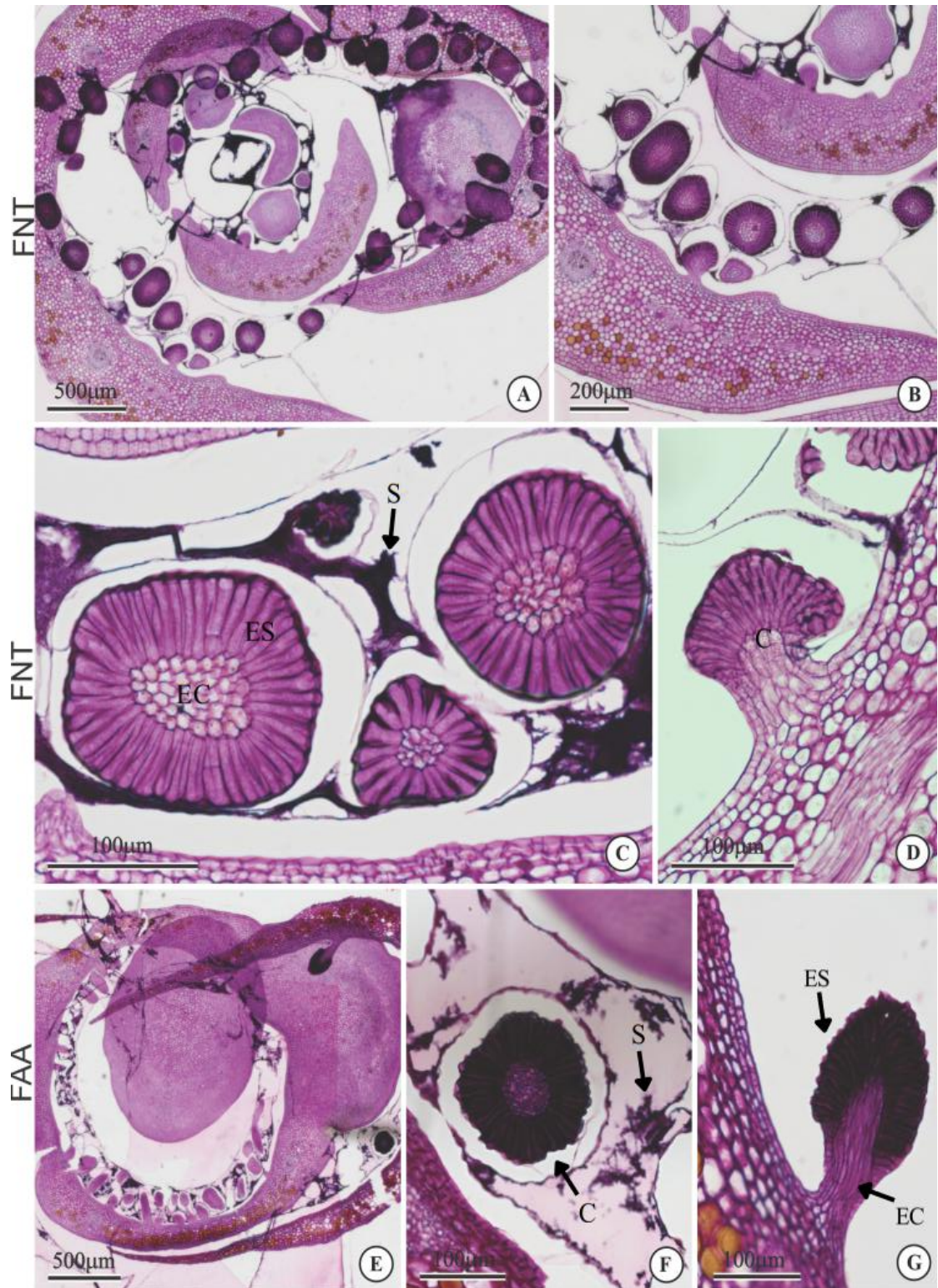


Fig. 3: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com PAS, evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A - D) Fixação em FNT. (E - G) Fixação em FAA. (A, B, E) Secção transversal da estípula evidenciando a grande quantidade de coléteres. (C) Detalhe de coléteres com células do epitélio secretor e do eixo central bem definidas e túrgidas, além da secreção extracelular. (D) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (F) Detalhe do coléter com pequena diferenciação entre as células do epitélio secretor e do eixo central. (G) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (S) Secreção.

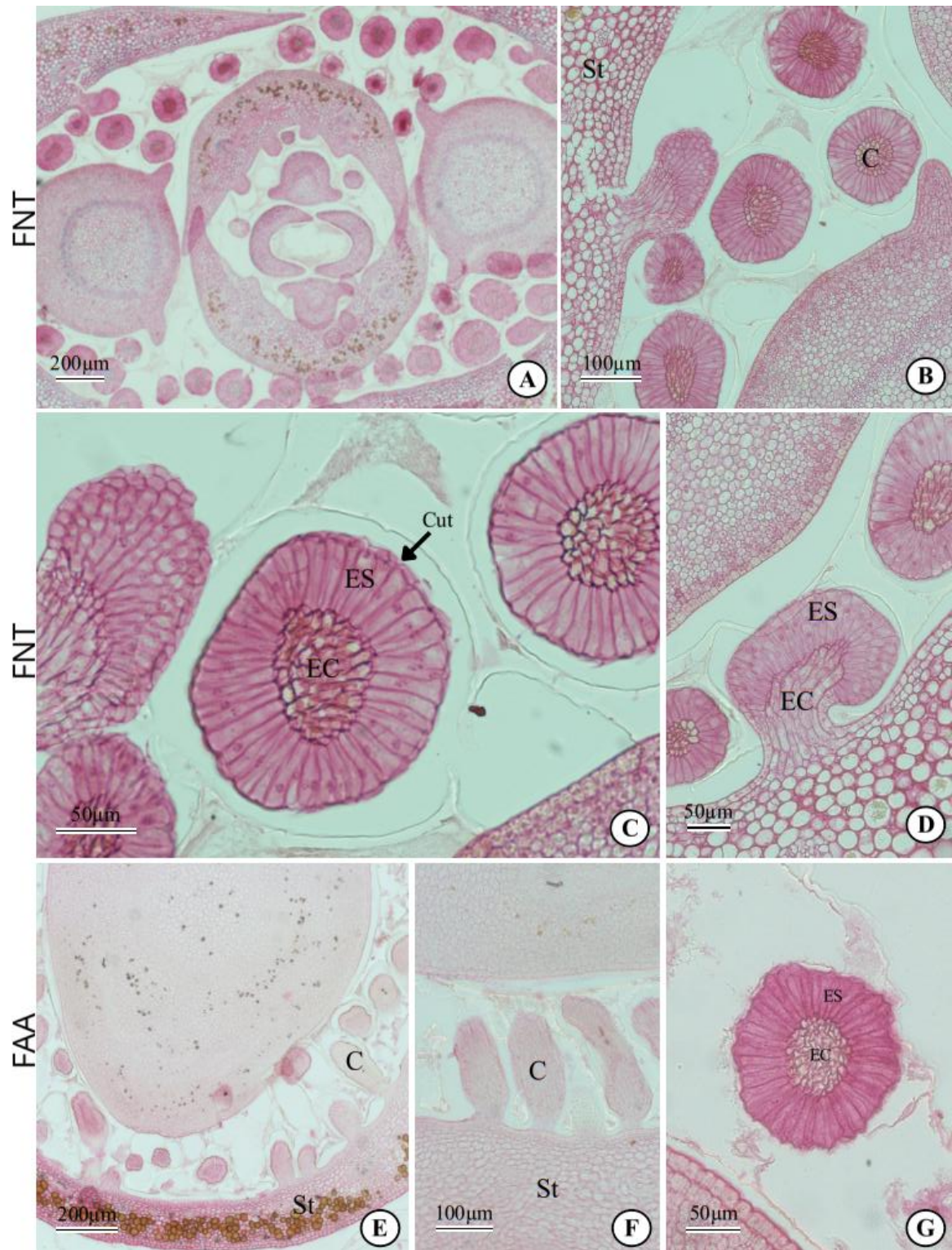


Fig. 4: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com vermelho de rutênio, evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A - D) Fixação em FNT. (E - G) Fixação em FAA. (A, B, E) Secção transversal da estípula evidenciando a grande quantidade de coléteres. (C) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central túrgidas. (D, F) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (G) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem definidas e túrgidas. (C) Coléter, (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (St) Estípula, (Cut) Cutícula.

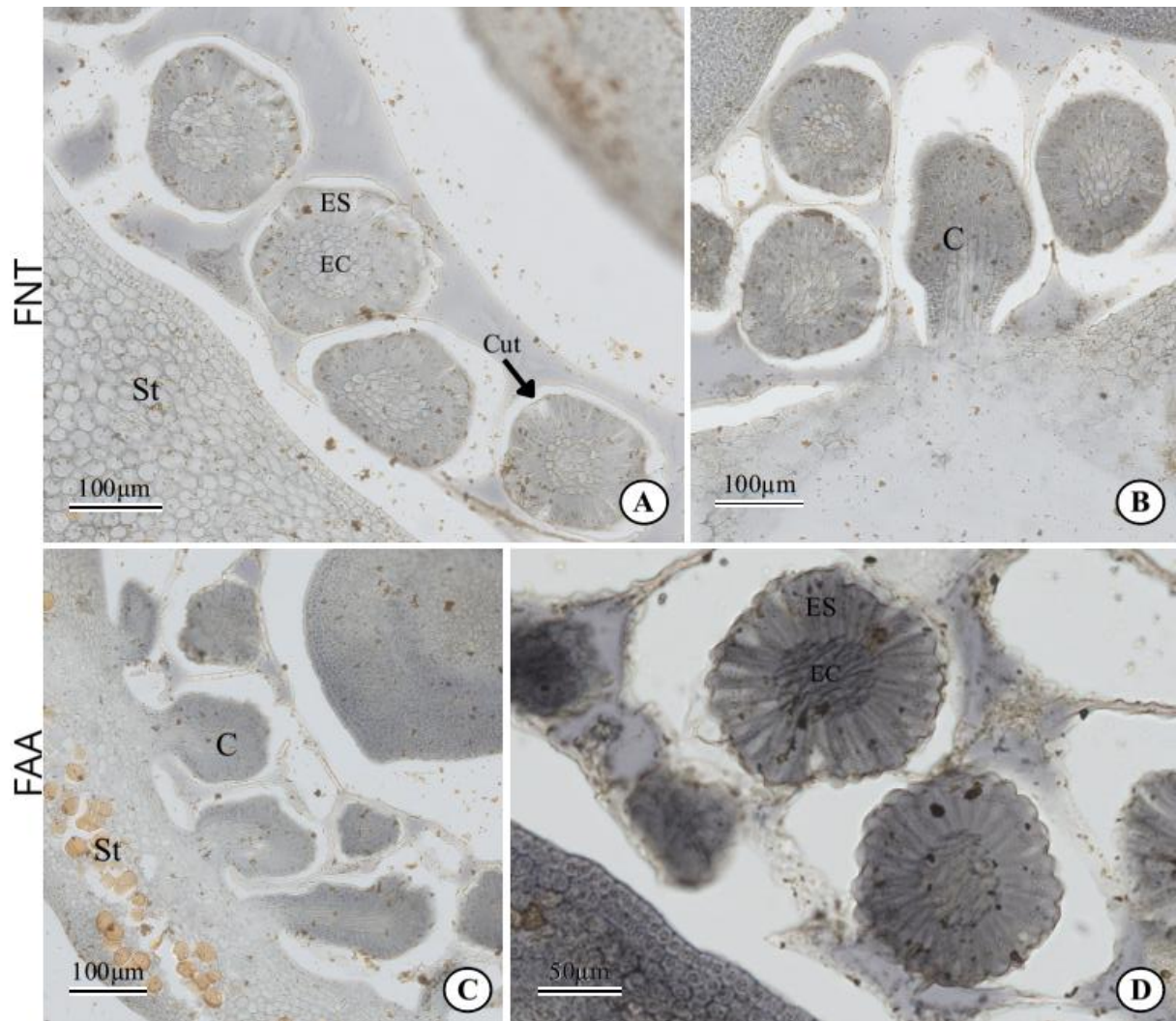


Fig. 5: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com ácido tânico + cloreto férrico, evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A, B) Fixação em FNT. (C,D) Fixação em FAA. (A) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e também com cutícula evidente. (B,C) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (D) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central túrgidas. (C) Coléter, (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (St) Estípula, (Cut) Cutícula.

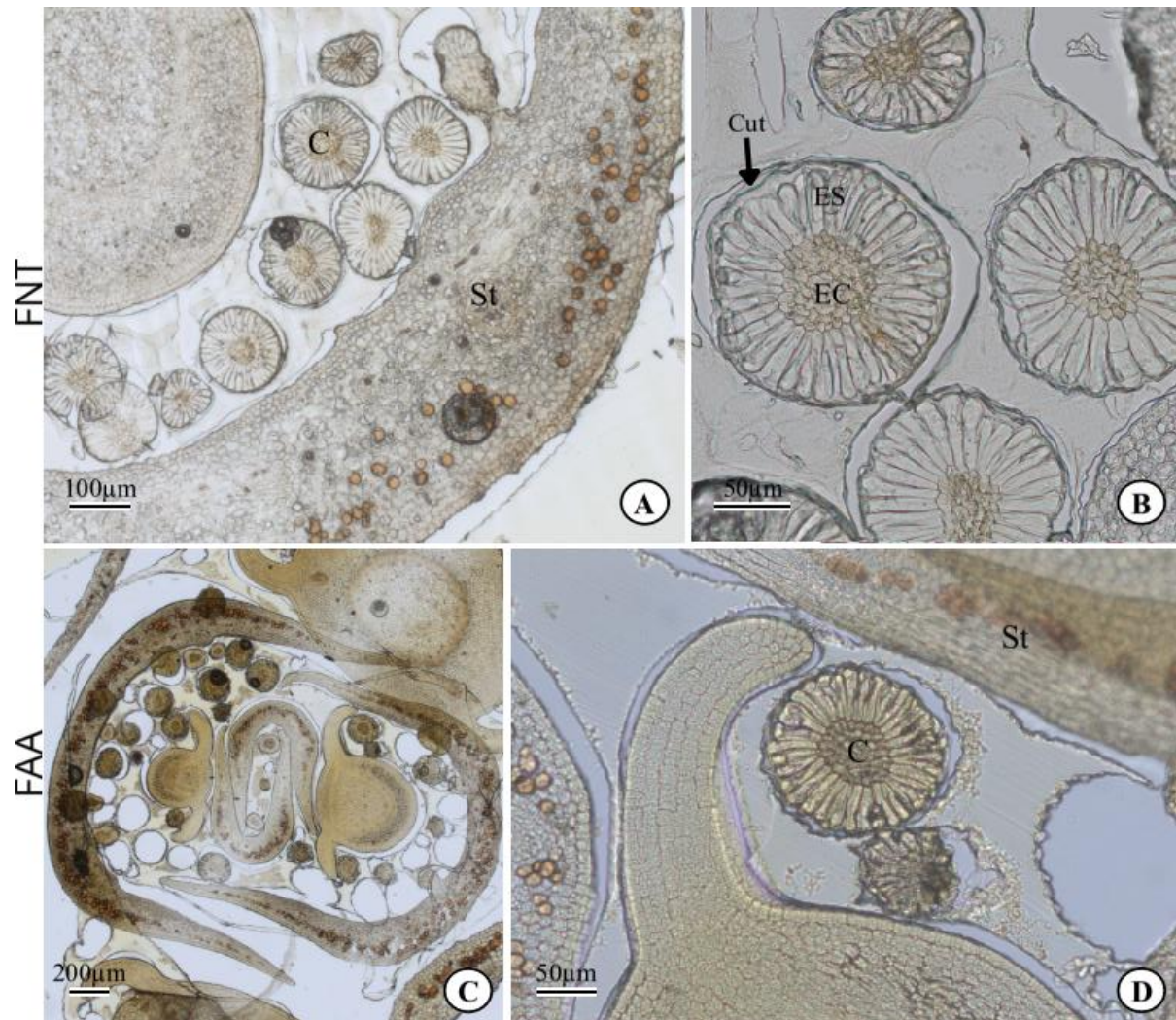


Fig. 6: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com lugol, evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A, B) Fixação em FNT. (C,D) Fixação em FAA. (A,B) Secção transversal da estípula evidenciando a grande quantidade de coléteres. (D) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central túrgidas. (C) Coléter, (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (St) Estípula, (Cut) Cutícula.

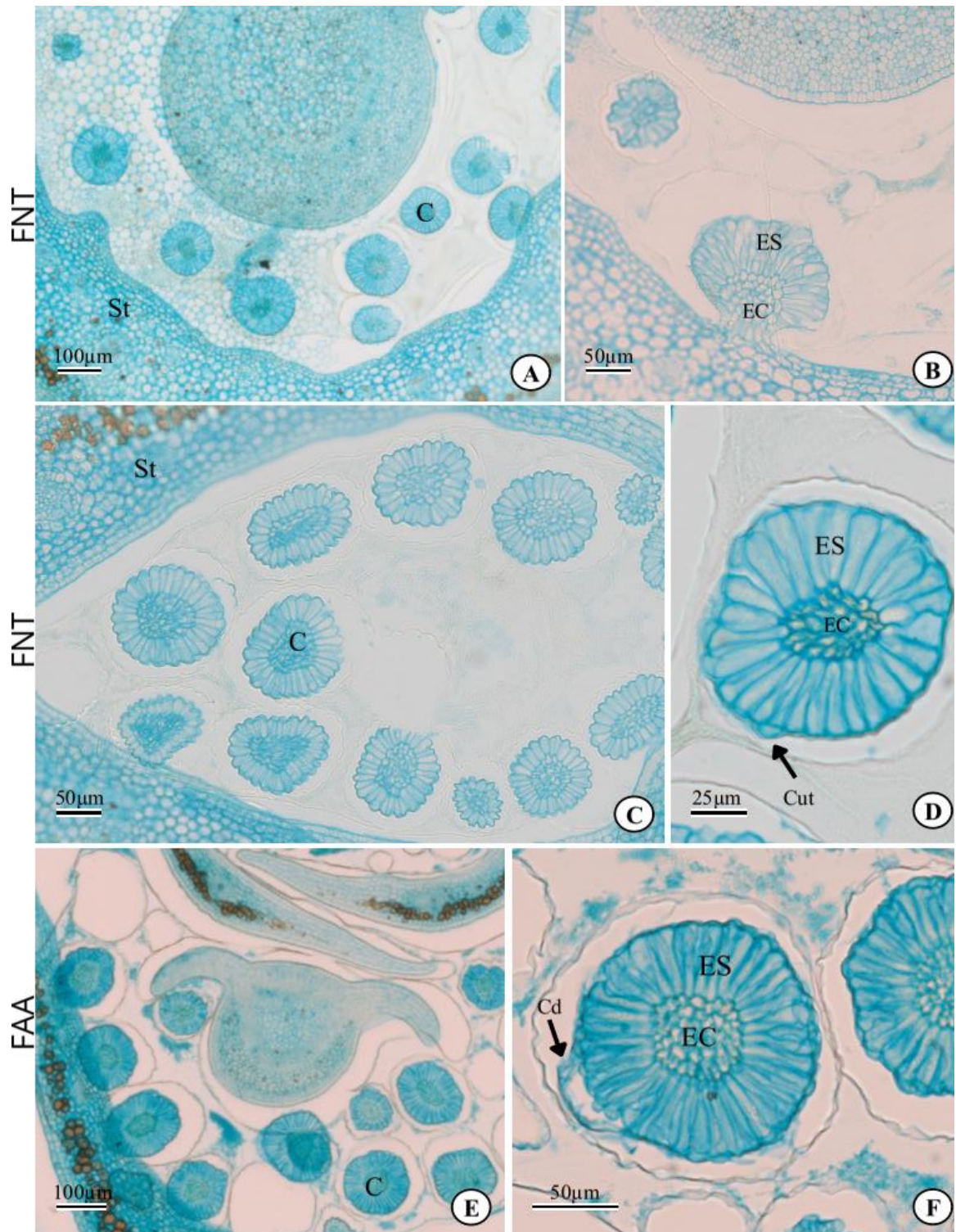


Fig. 7: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com azul de alciano, evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A - D) Fixação em FNT. (E,F) Fixação em FAA. (A,C,E) Secção transversal da estípula evidenciando a grande quantidade de coléteres. (B) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (D) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e também com cutícula evidente. (F) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e também com cutícula distendida evidente. (C) Coléter, (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (St) Estípula, (Cut) Cutícula, (Cd) Cutícula distendida.

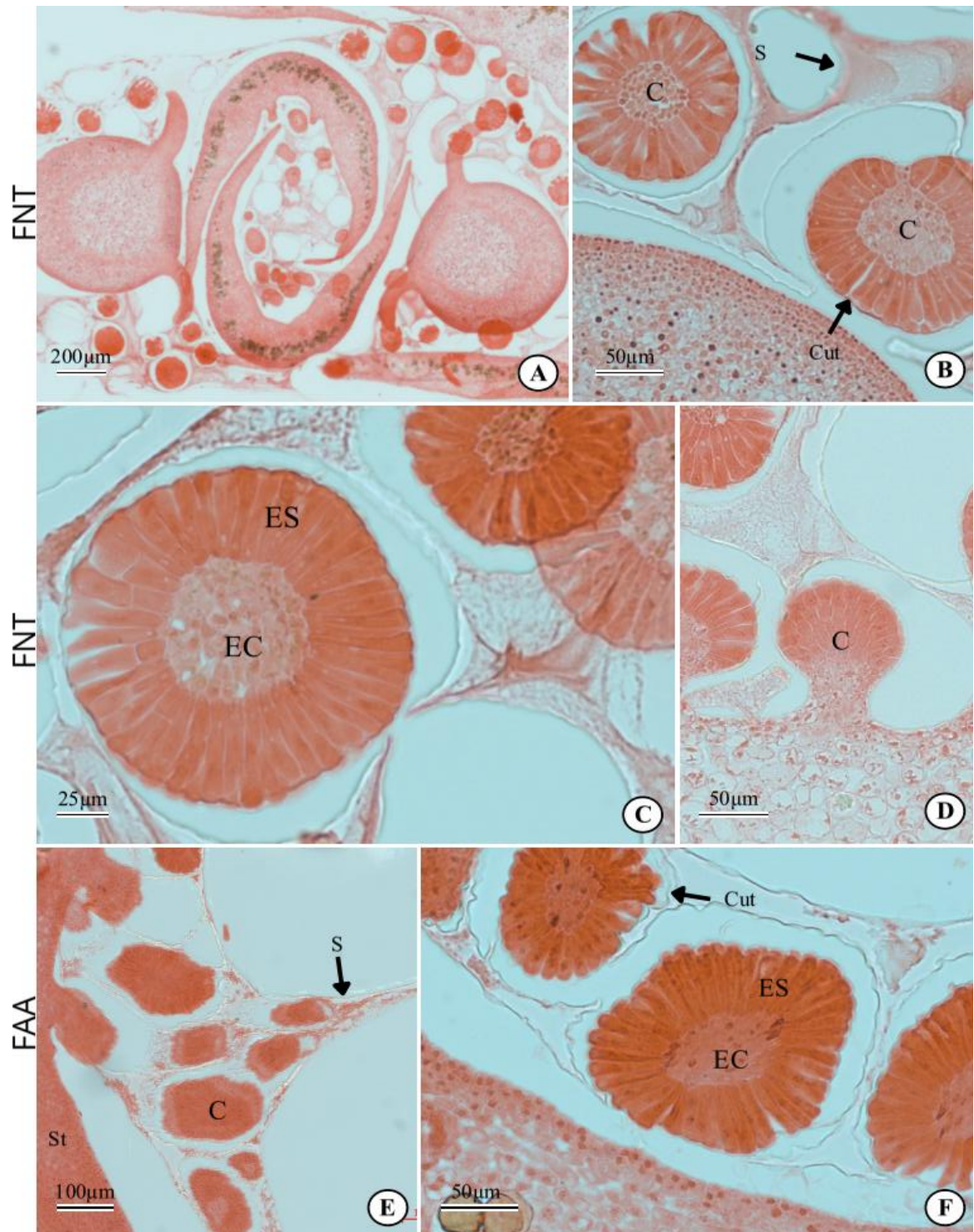


Fig. 8: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com Xylidine Ponceau (XP), evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). . (A - D) Fixação em FNT. (E,F) Fixação em FAA. (A,E) Secção transversal da estípula evidenciando a grande quantidade de coléteres. (B) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e bem definidas, com cutícula e secreção evidentes.(C) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e bem definidas. (D) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (F) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e também com cutícula evidente.(F) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central bem túrgidas e também com cutícula distendida evidente. (C) Coléter, (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (St) Estípula, (Cut) Cutícula.

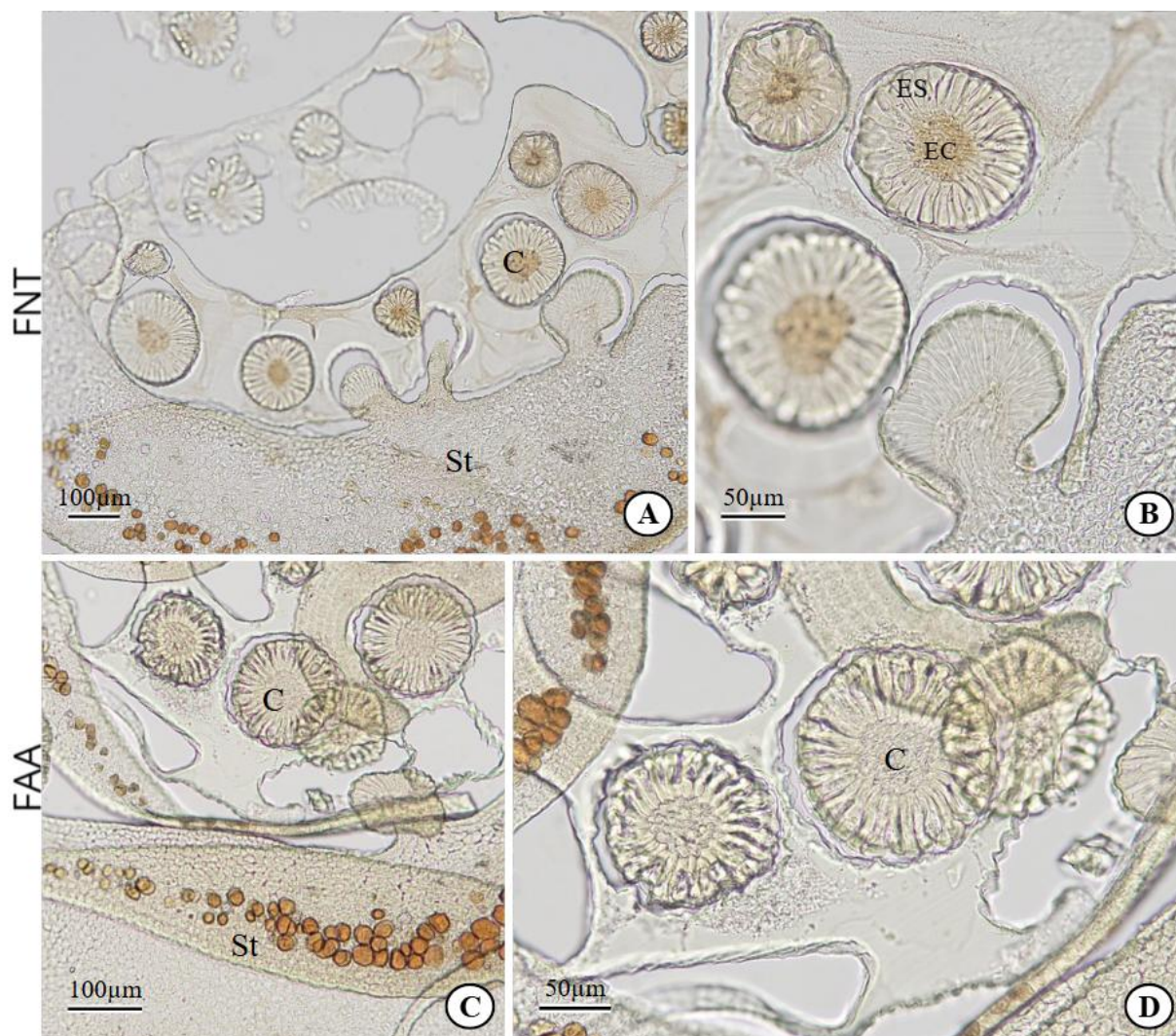


Fig. 9: Cortes transversais dos ápices caulinares, submetidos a reação com cloreto férrico, evidenciando a composição da secreção dos coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). (A, B) Fixação em FNT. (C, D) Fixação em FAA. (A,C) Secção transversal da estípula evidenciando a quantidade de coléteres. (B) Diferenciação inicial de células do eixo central e células secretoras. (D) Detalhe de células do epitélio secretor e do eixo central. (C) Coléter, (ES) Epitélio secretor, (EC) Eixo central, (St) Estípula.

5. CONCLUSÃO

A comparação entre os fixadores FAA (formaldeído - ácido acético - álcool etílico) e FNT (Formalina Neutra Tamponada) evidenciou algumas diferenças na preservação de estruturas e na coloração dos coléteres jovens de *Genipa americana*. O FNT demonstrou superioridade na manutenção da integridade celular e da organização tecidual, favorecendo uma melhor visualização da arquitetura do eixo central e da epiderme secretora. Por sua vez, o FAA destacou-se pela maior intensidade de coloração nos testes histoquímicos quando positivos,

embora tenha acarretado maior colapso celular e perda de detalhes finos. Recomenda-se que investigações comparativas em outros estágios ontogênicos dos coléteres sejam realizadas para confirmar tais diferenças entre os fixadores.

6. REFERÊNCIAS

APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; ESTELITA, M. E. M. Development, structure and distribution of colleters in *Mandevilla illustris* and *M. velutina* (Apocynaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, p. 113–120, 1 jun. 2000.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. Botanical microtechnique and cytochemistry. Ames: **Iowa State University Press**, 1976.

CAPUTO, L. F. et al. Técnicas histológicas. In: MOLINARI, S. L. M. (org.). Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. Rio de Janeiro: **EPSJV, Fiocruz**, 2010. p. 121-156.

COELHO, V. P. M.; SILVA, C. I. F.; CAVALCANTI, T. B. Colleters in *Bathysa cuspidata* (Rubiaceae): development, anatomy and chemical aspects of secretion. **Flora**, v. 208, n. 10-12, p. 579-590, 2013.

CRANG, R.; LYSACK, S. Plant anatomy: a concept-based approach to the structure of seed plants. Cham: **Springer**, 2018.

CRISWELL, S.; GAYLORD, B.; PITZER, C. R. Histological methods for plant tissues. **Journal of Histotechnology**, p. 1–10, 2 set. 2024.

DALVI, V. C. et al. Foliar colleters in *Macrocarpaea obtusifolia* (Gentianaceae): anatomy, ontogenesis and secretion. **Botany**, v. 92, n. 6, p. 409-417, 2014.

DALVI, V. C.; SANTANA-TOMAZ, J.; AZEVEDO, A. A. Colleters in *Antonia ovata* (Loganiaceae): expanding the perspective within Gentianales. **Flora**, v. 330, p. 152784, set. 2025.

DAVID, R.; CARDE, J. P. Coloration différentielle des inclusions lipidique et terpeniques des pseudophylles du Pin maritime au moyen du reactif Nadi. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Paris**, v. 258, p. 1338-1340, 1964.

DENGLER, N. G. An integral part of botany. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 2, p. 369-373, 2002.

EVERT, R. F. Esau's plant anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development. 3. ed. **Hoboken: Wiley**, 2006.

FAHN, A. Secretory tissues in plants. London: **Academic Press**, 1979.

FAHN, A. Secretory tissues in vascular plants. **New Phytologist**, v. 108, n. 3, p. 229-257, 1988.

FAHN, A. Functions and location of secretory tissues in plants and their possible evolutionary trends. **Israel Journal of Plant Sciences**, v. 50, supl. 1, p. S59-S64, 2002.

FARIA, D. N. S. et al. Morphology, anatomy, and exudates of stipular colleters in *Casearia Jacq.* (Salicaceae) across two tropical plant communities. **Acta Botanica Brasilica**, v. 33, n. 3, p. 427-437, 2019.

FEDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique: some principles and new methods. **American Journal of Botany**, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.

FEIO, A. C.; RIINA, R.; MEIRA, R. M. S. A. Secretory structures in leaves and flowers of two dragon's blood Croton (Euphorbiaceae): new evidence and interpretations. **International Journal of Plant Sciences**, v. 177, n. 6, p. 511-522, 2016.

FIGUEIREDO, A. C. S. et al. Histoquímica e citoquímica em plantas: princípios e protocolos. Lisboa: **Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa**, 2007.

GABE, M. Histological techniques. Paris: Masson, 1968.

HOLT, S. J.; HICKS, R. M. Studies On Formalin Fixation For Electron Microscopy And Cytochemical Staining Purposes. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 11, n. 1, p. 31–45, 1 out. 1961.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. New York: **McGraw-Hill**, 1940.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético. 3. ed. Porto Alegre: **Artmed**, 2009.

JUDKEVICH, M. D.; SALAS, R. M.; GONZALEZ, A. M. Colleters in *American Spermacoceae* genera (Rubiaceae): morphoanatomical and evolutionary aspects. **International Journal of Plant Sciences**, v. 178, n. 9, p. 706-724, 2017.

KIRK JR., P. W. Neutral red as a lipid fluorochrome. **Stain Technology**, v. 45, n. 1, p. 1-4, 1970.

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, Oxford**, v. 94, n. 5, p. 733-740, 2004.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: **EDUR**, 1997.

LEMO, J. R.; EDSON-CHAVES, B. Morfologia e Anatomia Vegetal: Uma Abordagem Prática. Teresina: **EDUFPI**, 2022.

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, n. 9, p. 973-981, 1974.

LERSTEN, N. R. Colleter types in Rubiaceae, especially in relation to the bacterial leaf nodule symbiosis. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 71, n. 4, p. 311-329, 1975.

LEV, R.; SPICER, S. S. Specific Staining of Sulfate Groups with Alcian Blue at Low pH. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, n. 12, p. 309, 1964.

LOPEZ, F. B.; BARCLAY, G. F. Plant anatomy and physiology. In: LOPEZ, F. B. (ed.). Plant science: concepts, tools and methods. [S. l.]: **Elsevier**, 2017. p. 85-114.

MARTINS, F. M. Leaf and calycine colleters in *Odontadenia lutea* (Apocynaceae - Apocynoideae - Odontadenieae): their structure and histochemistry. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 35, n. 1, p. 59-69, 2011.

MAUSETH, J. D. Plant Anatomy. Menlo Park: **Benjamin/Cummings Publishing Company**, 1988.

MAYER JLS, CARDOSO-GUSTAVSON P., APPEZZATO-DA-GLÓRIA B. Colleters em monocotiledôneas: Novo registro para Orchidaceae. **Flora**. 2011

MAZIA, D.; BREWER, P. A.; ALFERT, M. The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromphenol blue. **The Biological Bulletin**, v. 104, n. 1, p. 57-67, 1953.

MERCADANTE-SIMÕES M.O., PAIVA EAS. Coletores foliares em *Tontelea micrantha* (Celastraceae, Salacioideae): aspectos ecológicos, morfológicos e estruturais. **CR Biol**. 2013

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons. 2. ed. Oxford: **Clarendon Press**, 1979. v. 1.

MIGUEL, E. C. et al. Colleters in *Bathysa nicholsonii* K. Schum. (Rubiaceae): ultrastructure, secretion protein composition, and antifungal activity. **Plant Biology**, v. 8, n. 5, p. 715-722, 2006.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.

O'BRIEN, T. P.; MCCULLY, M. E. The study of plant structure: principles and selected methods. Melbourne: **Termarcaphi Pty. Ltd.**, 1981.

O'LEARY, T. J.; MASON, J. T. A molecular mechanism of formalin fixation and antigen retrieval. **American journal of clinical pathology**, v. 122, n. 1, p. 154; author reply 154-5, jul. 2004.

PAIVA, E.A.S. & MACHADO, S.R. 2006. Colleters in *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae), ontogenesis, ultrastructure and secretion. **Brazilian Journal of Biology** 66: 301-308.

PEARSE, A. G. E. Histochemistry: theoretical and applied. 4. ed. London: **Churchill Livingstone**, 1980. v. 2.

PIZZOLATO, P.; LILLIE, R. D. Mayer's Tannic Acid-Ferric Chloride Stain For Mucins. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 21, n. 1, p. 56–64, jan. 1973.

RIBEIRO, C.A.O.; REIS FILHO, H.S.; GRÖTZNER, S.B. Técnicas e Métodos para Utilização Prática de Microscopia. 1 ed. Rio de Janeiro: **Editora Santos/Editora Guanabara Koogan**, 2012.

RIBEIRO, J. C.; JOSE, M.; DEMARCO, D. Colleters in Asclepiadoideae (Apocynaceae): Protection of Meristems against Desiccation and New Functions Assigned. **International Journal Of Plant Sciences**, v. 178, n. 6, p. 465-478, 2017.

RUZIN, S. E. Plant microtechnique and microscopy. Oxford: **Oxford University Press**, 1999.

SANTOS, K. R. P. dos et al. Manual de técnica histológica de rotina e de colorações. Vitória de Santo Antão: **Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória**, 2021. 32 p.

SILVA, C. J. et al. Anatomical characterisation of the foliar colleters in Myrtoideae (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 60, n. 8, p. 707-717, 2012.

SOUZA, F. X. Anatomia e ultraestrutura de coléteres de *Genipa americana* (Rubiaceae). **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 35, p. 59-67, 2017.

STOWELL, R. E. Effect on Tissue Volume of Various Methods of Fixation, Dehydration, and Embedding. **Stain Technology**, v. 16, n. 2, p. 67–83, jan. 1941.

TEIXEIRA, R. S. et al. Development, structure, and secretion of leaf colleters in *Clusia criuva* Cambess. subsp. *criuva* (Clusiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 199, n. 1, p. 1-15, 2022.

THOMAS, V. Structural, functional and phylogenetic aspects of the colleter. **Annals of Botany**, v. 68, n. 3, p. 287-305, 1991.

TRESMONDI, F. et al. Morphology, secretion composition, and ecological aspects of stipular colleters in Rubiaceae species from tropical forest and savanna. **Naturwissenschaften**, v. 102, n. 11-12, p. 73, 2015.

VIDAL, B. C. Dichroism in collagen bundles stained with xylidine-Ponceau 2R. **Annales d'Histochimie**, v. 15, n. 4, p. 289-296, 1970.

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

WERNER, M. et al. Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 24, n. 7, p. 1016-1019, 2000.

ZANOTTI, A. et al. Leaf and sepal colleters in *Calolisianthus speciosus* Gilg (Gentianaceae): a morphoanatomical comparative analysis and mechanisms of exudation. **Acta Botanica Brasilica**, v. 35, p. 445–455, 22 nov. 2020.