
IDENTIFICAÇÃO ANATÔMICA DE FOLHA E CAULE DE SALSEIRO:
***Salix humboldtiana* WILLD., SALICACEAE**

LEAF AND STEM ANATOMICAL IDENTIFICATION OF CREOLE WILLOW:
***Salix humboldtiana* WILLD., SALICACEAE**

DUARTE, M. R.¹; CHELLA, L.²

¹Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná (UFPR),

²Bolsista PIBIC/CNPq, Curso de Farmácia, UFPR. Autor para correspondência: Márcia R. Duarte. E-mail: marciard@ufpr.br

RESUMO:

Salix humboldtiana Willd. é uma espécie arbórea pertencente à família Salicaceae, denominada comumente de salseiro, que possui ramos finos e pouco pendentes, e folhas linear-lanceoladas. Na medicina tradicional, a exemplo de outras espécies do gênero, empregam-se folhas e cascas para tratar principalmente febre e reumatismo. Possui salicilatos endógenos, compostos fenólicos e óleo essencial. Este trabalho investigou os caracteres anatômicos de folha e caule de *S. humboldtiana* para contribuir com a identificação microscópica dessa planta medicinal. O material botânico foi fixado, seccionado à mão livre ou em micrótomo e corado. A folha é anfiestomática, com estômatos paracíticos. Há cutícula estriada, epiderme unisseriada, mesófilo isobilateral e nervura central biconvexa percorrida por feixe vascular colateral. O caule revela instalação periférica do felogênio, bainha esclerenquimática incompleta, grupamentos de fibras no floema e raios parenquimáticos estreitos percorrendo o sistema condutor. Idioblastos contendo compostos fenólicos e cristais de oxalato de cálcio, na forma de drusa e prisma, estão presentes na folha e no caule.

Palavras-chave: compostos fenólicos, farmacobotânica, microscopia, planta medicinal, salgueiro-do-rio

ABSTRACT:

Salix humboldtiana Willd. is a tree belonging to Salicaceae, commonly known as creole willow which is slender and has bent shoots and linear-lanceolate leaves. In folk medicine, similarly to other species of the genus, leaves and stem are used to treat fever and rheumatism. It has endogen salicylates, phenolic compounds and essential oil. This work has investigated leaf and stem anatomical characters of *S. humboldtiana* to contribute to the microscopic identification of this medicinal species. The plant material was fixed, sectioned by freehand or microtome and stained. The leaf is amphistomatic with paracytic stomata. There are striate cuticle, uniseriate epidermis, isobilateral mesophyll and biconvex midrib traversed by collateral vascular bundle. The stem exhibits phellogen originated superficially, incomplete sclerenchymatic sheath, groups of fibres in the phloem and narrow parenchymatic rays in the vascular system. Idioblasts containing phenolic compounds and calcium oxalate crystals of druse and prismatic types are present in the leaf and stem.

Keywords: medicinal plant, microscopy, morpho-anatomy, pencil willow, phenolic compounds

1. INTRODUÇÃO

A família Salicaceae está circunscrita à ordem Malpighiales, de acordo com o Grupo de Filogenia das Angiospermas (APG III, 2009), e compreende predominantemente árvores e arbustos decíduos que perdem as folhas no outono-inverno. Os representantes do táxon são dioicos (plantas masculinas ou femininas) e possuem folhas simples, de disposição alterna, com estípulas e margens serradas (JOLY, 1998)

O gênero *Salix* consiste de aproximadamente 450 espécies e híbridos, distribuídos em áreas temperadas e árticas, bem como tropicais e subtropicais, sendo a maioria nativa do Hemisfério Norte, com poucos representantes originários do Hemisfério Sul (GHAHREMANINEJAD et al., 2012).

No Brasil, as espécies mais comuns são introduzidas: *Salix babylonica* L., de origem asiática e denominado de chorão, e *S. x rubens* Schrank, híbrido de duas espécies europeias e conhecido popularmente como vime (CARPANEZZI, TAVARES, SOUZA, 1999). Natural da América do Sul, *S. humboldtiana* Willd. é cultivado como ornamental e utilizado como forragem para gado, cerca-viva, madeira para serraria e celulose, melífero e medicinal. Nos diferentes estados brasileiros, é denominado de salseiro, salgueiro-do-rio e salgueiro-chorão, enquanto que nos países de língua espanhola recebe os nomes de *sauce* e *sauce criollo* (KVIST et al., 2006), e nos de língua inglesa, *pencil willow* e *creole willow* (LIOTTA, 2001; WEED WATCH, 2013).

O salseiro é uma planta de comportamento heliófito, tolerante a baixas temperaturas e adaptada a terrenos inundáveis, ocorrendo espontaneamente nas matas ciliares. Pode atingir 30m de altura, com ramos finos e pouco pendentes. As folhas (Figura 1A) são linear-lanceoladas e acuminadas no ápice, com cerca de 15 x 1,5cm, margem serrada e pecíolo reduzido (EMBRAPA, 2013).

Na medicina popular, empregam-se folhas e cascas de espécies de *Salix* para tratar principalmente febre, incluindo malária (FREI et al., 1998; DEHARO et al., 2001; BOURDY, CHAVEZ-DE-MICHEL, ROCA-COULTHARD, 2004), reumatismo (LEPORATTI, IVANCHEVA, 2003; GAUTAM, SAKLANI, JACHAK, 2007) e constipação (SCARPA, 2004; MONIGATTI, BUSSMANN, WECKERLE, 2013). Esses efeitos podem ser explicados pelo fato de o táxon possuir considerável teor de salicilatos endógenos, que exibem atividades anti-inflamatória e antinociceptiva, além de elevada quantidade de compostos fenólicos com ação antioxidante (ENAYAT, BANERJEE, 2009). Com relação a este último grupo químico, Santos et al. (2008) confirmaram a predominância de taninos condensados, além de constatarem a presença de óleo essencial (0,1% em folhas dessecadas).

Diante da importância da espécie na terapêutica popular e do pouco conhecimento que se dispõe sobre a mesma, este trabalho objetivou estudar os

aspectos anatômicos de folha e caule de *S. humboldtiana*, a fim de contribuir com a determinação de caracteres para a identificação microscópica dessa planta medicinal.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL BOTÂNICO

Ramos vegetativos foram coletados de exemplares previamente identificados de *S. humboldtiana* na Embrapa Florestas, localizada no município de Colombo, Paraná, nas coordenadas aproximadas de 25°17'S e 49°13'W e na altitude de 950m, no início do outono de 2009. A confirmação taxonômica foi feita no Herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba com base na exsicata MBM 260646 determinada por G. Hatschbach.

2.2. METODOLOGIA

Folhas adultas, coletadas a partir do sexto nó, e caules jovens, obtidos entre 5 e 20cm do ápice caulinar, foram fixados em FAA70 (JOHANSEN, 1940) e posteriormente transferidos para etanol a 70% (BERLYN, MIKSCHE, 1976). Para a montagem de lâminas semipermanentes, o material botânico foi seccionado à mão livre, nos sentidos transversal e longitudinal, corado com azul de astra e fucsina básica (ROESER, 1972). Alternativamente, lâminas permanentes foram feitas com o material desidratado em gradiente etanólico, emblocado em glicol-metacrilato, seccionado em micrótomo e corado com azul de toluidina (O'BRIEN, FEDER, McCULLY, 1964). Para confirmar a ocorrência de compostos fenólicos e a natureza de oxalato de cálcio dos cristais presentes, empregaram-se respectivamente os testes microquímicos baseados na reação com cloreto férrico (JOHANSEN, 1940) e com ácido sulfúrico (OLIVEIRA, AKISUE, 1997).

3. RESULTADOS

A lâmina foliar, em vista frontal da região internervural, exhibe cutícula nitidamente estriada (Figura 1B) revestindo a epiderme, cujas células possuem paredes anticlinais poligonais (Figuras 1C, 1D). Encontram-se estômatos paracíticos (rubiáceos) em ambas as faces epidérmicas (folha anfiestomática), com maior predominância na superfície abaxial (Figuras 1C, 1D).

Em secção transversal, a cutícula revela-se moderadamente espessada (Figura 2B) e a epiderme constituída por uma única camada de células. Os estômatos estão inseridos no mesmo nível das células adjacentes (Figuras 2A, 2B). O mesofilo

tende ao padrão isobilateral, consistindo de três ou quatro estratos de parênquima paliádico junto a ambas as faces epidérmicas, sendo que as células nas proximidades da superfície adaxial são comparativamente mais alongadas, e de um ou dois estratos de parênquima esponjoso na região mediana (Figura 2B). Idioblastos contendo compostos fenólicos (Figuras 2A, 2B) e cristais de oxalato de cálcio, usualmente na forma de drusa, distribuem-se no mesófilo (Figura 2B). Neste ainda encontram-se feixes vasculares de pequeno e médio porte, do tipo colateral, envoltos por uma bainha parenquimática de conteúdo fenólico (Figuras 2A, 2B). Nos feixes de médio porte, ocorrem calotas esclerenquimáticas apostas ao xilema e ao floema (Figura 2B).

A nervura central possui secção transversal biconvexa, com curvaturas semelhantes e pouco proeminentes em ambas as superfícies (Figura 2A). As paredes periclinais externas das células epidérmicas são convexas, favorecendo a formação de flanges cuticulares (Figuras 2D, 2E). Subjacente à epiderme unisseriada, há algumas camadas de colênquima angular-anular (Figuras 2A, 2D, 2E) e, em meio ao parênquima fundamental, ocorre um feixe vascular colateral, que tende ao arranjo circular devido à aposição de reduzidas camadas de xilema e floema junto à face adaxial (Figuras 2C, 2D). O conjunto todo é circundado por uma bainha esclerenquimática praticamente completa (Figuras 2A, 2D, 2E). Numerosos idioblastos contendo compostos fenólicos localizam-se no feixe vascular e ao redor do mesmo (Figuras 2A, 2C-2E). Cristais de oxalato de cálcio na forma de drusa e prisma estão presentes (Figura 2D).

O caule, em estrutura secundária inicial, mostra epiderme persistente (Figuras 3A-3C) recoberta por cutícula espessada e instalação periférica do felogênio (Figura 3C). No córtex, observam-se alguns estratos de parênquima cortical, em meio ao qual são identificados idioblastos com compostos fenólicos (Figuras 3A-3C) e cristais de oxalato de cálcio do tipo drusa e prisma (Figura 3C). A bainha esclerenquimática é incompleta, sendo representada por grupamentos de fibras (Figuras 3A-3C). Conjuntos menores dessas células de sustentação ocorrem no floema (Figuras 3B, 3D). Uma zona cambial evidente divisa o floema e o xilema (Figura 3D), ambos percorridos por raios parenquimáticos estreitos contendo compostos fenólicos. O xilema é completamente lignificado e possui elementos traqueais de lúmen maior que os demais integrantes do sistema e que se dispõem preferentemente de modo isolado (Figuras 3A, 3B, 3D). Na região central, nota-se medula parenquimática (Figura 3A) apresentando amiloplastos.

4. DISCUSSÃO

De um modo geral, os resultados deste trabalho são compatíveis com o relato de Arambarri et al. (2009), cuja pesquisa enfocou a anatomia foliar de diversas

espécies vegetais, incluindo-se *S. humboldtiana*. Cutícula estriada, estômatos paracíticos em ambas as superfícies foliares, nervura central biconvexa percorrida por feixe vascular com disposição próxima da circular e cristais de oxalato de cálcio são características verificadas em ambas as investigações.

No entanto, a descrição de mesofilo com estrutura isobilateral incipiente (dorsiventral atípico) mencionada por Arambarri et al. (2009) diverge do padrão notadamente isobilateral observado neste estudo. Dados contraditórios também foram reportados por Waldhoff (2003), ao observar somente parênquima paliçádico, com ausência de parênquima esponjoso em toda a extensão do mesofilo de *S. humboldtiana*. Na opinião de Metcalfe e Chalk (1950), os membros da família Salicaceae usualmente apresentam mesofilo dorsiventral, embora estrutura isobilateral tenha sido registrada em espécies de *Salix*, tais como *S. alba* L., *S. babylonica* L. e *S. purpurea* L. Ainda, segundo esses autores (METCALFE, CHALK, 1950), a família se caracteriza por apresentar folha anfiestomática com predominância de estômatos paracíticos (rubiáceos), em concordância com o observado na espécie em questão.

Para Ghahremaninejad et al. (2012), autores que analisaram aspectos de significância taxonômica na epiderme foliar de dezenas de espécies de *Salix*, o contorno das células epidérmicas confirmou-se como poligonal, porém estômatos paracíticos não foram exclusivos, já que se identificaram diversos padrões relacionados. Nessa mesma investigação (GHAHREMANINEJAD et al., 2012), os pesquisadores verificaram que a maioria das espécies enquadrou-se na categoria de folha anfiestomática, sendo que poucas mostraram estômatos restritos à face abaxial.

Com relação à organização caulinar, os caracteres observados no presente estudo são coincidentes com as características apontadas para Salicaceae, com destaque para instalação periférica do felogênio, grupamentos de fibras no floema e raios parenquimáticos estreitos percorrendo o sistema condutor (METCALFE, CHALK, 1950). Adicionalmente, a ocorrência de idioblastos contendo compostos fenólicos e cristais de oxalato de cálcio, na forma de drusa e de prisma, tanto na folha como no caule é descrita como usual para espécies do gênero, tal como verificado nesta análise.

Os variados aspectos estruturais das espécies de *Salix* levaram vários autores à conclusão de que o gênero mostra considerável diversidade morfológica, devido à alta plasticidade fenotípica (GHAHREMANINEJAD et al., 2012). Essa constatação dificulta a identificação diagnóstica, o que foi corroborado por Chen, Sun e Yang (2008), ao estudarem principalmente representantes de *Salix* e *Populus*. Portanto, pode-se concluir que a identificação microscópica de folha e caule de *S. humboldtiana* deve levar em conta o conjunto de caracteres anatômicos descritos e, preferentemente, ser aliada a caracterizações fitoquímicas complementares.

5. AGRADECIMENTOS

Aos taxonomistas do Museu Botânico Municipal de Curitiba pela confirmação da identidade da espécie a ao PIBIC/CNPq pela bolsa concedida a L. Chella.

6. REFERÊNCIAS

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Bot. J. Linn. Soc.**, Oxford, v. 161, p. 105-121, 2009.

ARAMBARRI, A. M.; FREIRE, S. E.; BAYÓN, N. D.; COLARES, M. N.; MONTI, C.; NOVOA, M. C.; HERNÁNDEZ, M. P. Morfoanatomía foliar de árboles medicinales de la Provincia Biogeográfica de las Yungas (Argentina). **Bol. Latinoam. Caribe Plant. Med. Arom.**, Santiago, v. 8, n. 5, p. 342-379, 2009.

BERLYN, G. P.; MIKSCHE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Ames: Iowa State University Press, 1976. 326p.

BOURDY, G.; CHAVEZ-DE-MICHEL, L. R.; ROCA-COULTHARD, A. Pharmacopoeia in a shamanistic society: the Izocéño-Guaraní (Bolivian Chaco). **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 91, p. 189-208, 2004.

CARPANEZZI, A. A.; TAVARES, F. R.; SOUZA, V. A. Informações sobre a estaquia do salseiro (*Salix humboldtiana* Willd.). **Circular Téc.**, Colombo, v. 33, p. 1-15, 1999.

CHEN, J.-H.; SUN, H.; YANG, Y.-P. Comparative morphology of leaf epidermis of *Salix* (Salicaceae) with special emphasis on sections *Lindleyanae* and *Retusae*. **Bot. J. Linn. Soc.**, Oxford, v. 157, p. 311-322, 2008.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUÑOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. Part V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 77, p. 91-98, 2001.

EMBRAPA. Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. 26 nov 2013 <http://www.cnpf.embrapa.br/pesquisa/efb/temp/index_especies.htm>.

ENAYAT, S.; BANERJEE, S. Comparative antioxidant activity of extracts from leaves,

bark and catkins of *Salix aegyptiaca* sp. **Food Chem.**, London, v. 116, p. 23-28, 2009.

FREI, B.; BALTISBERGER, M.; STICHER, O.; HEINRICH, M. Medical ethnobotany of APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Bot. J. Linn. Soc.**, Oxford, v. 161, p. 105-121, 2009.

GAUTAM, R.; SAKLANI, A.; JACHAK, S. M. Indian medicinal plant as a source of antimycobacterial agents. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 110, p. 200-234, 2007.

GHAHREMANINEJAD, F.; KHALILI, Z.; MAASSOUMI, A. A.; MIRZAIE-NODOUSHAN, H.; RIAHI, M. Leaf epidermal features of *Salix* species (Salicaceae) and their systematic significance. **Am. J. Bot.**, St. Louis, v. 99, n. 4, p. 769-777, 2012.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book, 1940. 523p.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 1998. 777p.

KVIST, L. P.; CHRISTENSEN, S. B.; RASMUSSEN, H. B.; MEJIA, K.; GONZALEZ, A. Identification and evaluation of Peruvian plants used to treat malaria and leishmaniasis. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 106, p. 390-402, 2006.

LEPORATTI, M. L.; IVANCHEVA, S. Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 87, p. 123-142, 2003.

LIOTTA, J. Rasgos biológicos de *Salix humboldtiana* Willd. y régimen de pulsos de inundación. **Intercien.**, Caracas, v. 29, n. 9, p. 397-403, 2001.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy, with notes on economic uses**. Oxford: Clarendon, 1950. 2 v. 1500p.

MONIGATTI, M.; BUSSMANN, R. W.; WECKERLE, C. S. Medicinal plant use in two Andean communities located at different altitudes in the Bolívar Province, Peru. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 145, p. 450-464, 2013.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; McCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, Vienna, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de farmacobotânica**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1997. 178p.

PLANT LIST. A working list of all plant species. 26 Nov 2013 <<http://www.theplantlist.org/>>.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, Stuttgart, v. 61, n. 2, p. 33-36, 1972.

SANTOS, B. R.; PAIVA, R.; SOARES, F. P.; NOGUEIRA, R. C.; EMRICH, E. B.; SILVA, D. P. C. Aspectos fitoquímicos de tecidos foliares de *Salix*. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 20, n. 1, p. 1-5, 2008.

SCARPA, G. F. Medicinal plants used by the Criollos of Northwestern Argentine Chaco. **J. Ethnopharmacol.**, Limerick, v. 91, p. 115-135, 2004.

WALDHOFF, D. Leaf structure in trees of Central Amazonian floodplain forests (Brazil). **Amazoniana**, Manaus, v. 17, n. 3/4, p. 451-469, 2003.

WEED WATCH. Your alert to new and emerging threats. Pencil willow (*Salix humboldtiana* "Pyramidalis"). 26 Nov 2013 <<http://www.technigro.com.au/documents/WW%20Pencil%20willow.pdf>>.

7-FIGURAS

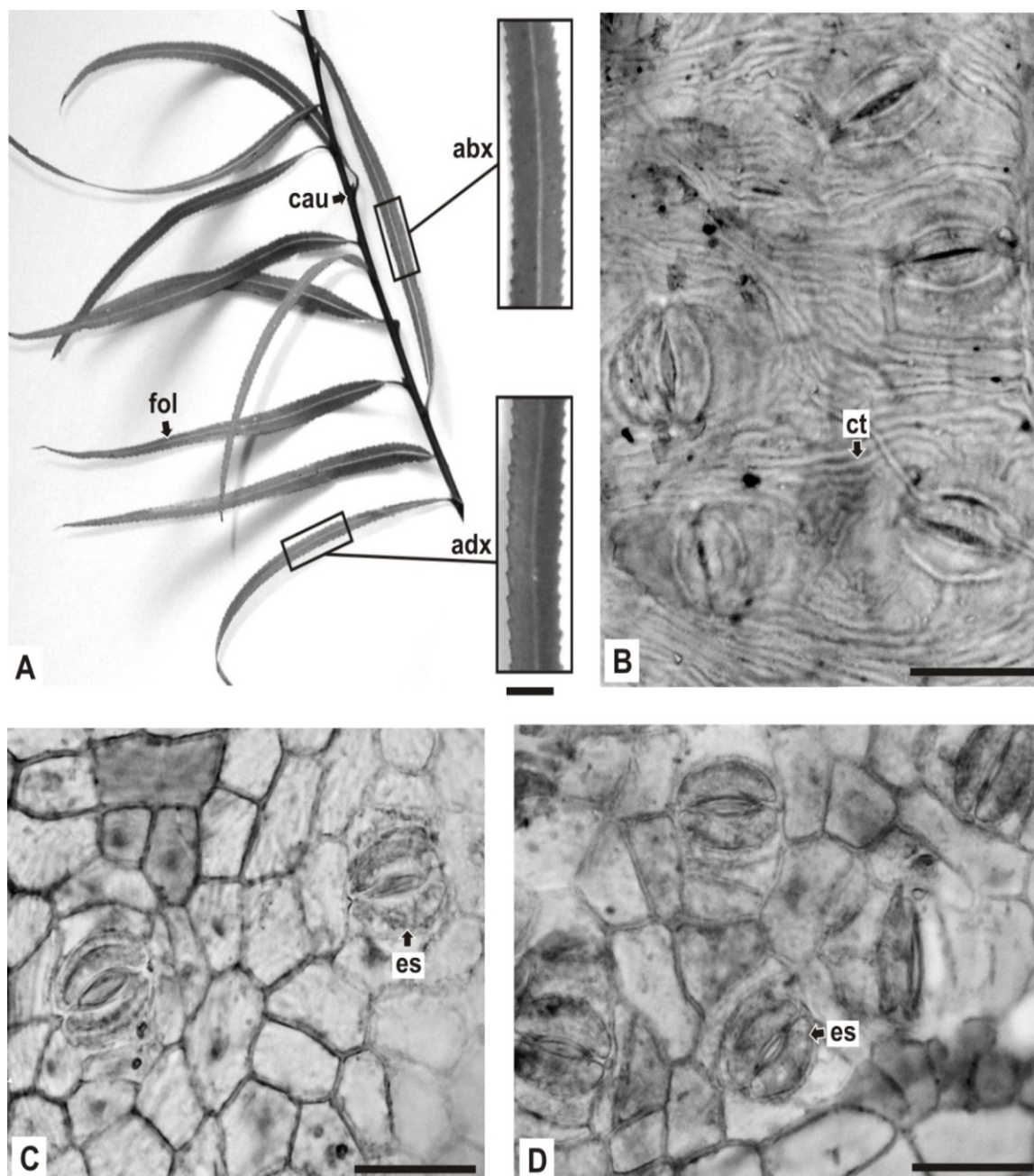


FIGURA 1A-D. *Salix humboldtiana* WILLD., SALICACEAE: A. RAMO VEGETATIVO, MOSTRANDO FOLHAS ALTERNAS E SIMPLES, E PORMENOR DAS SUPERFÍCIES FOLIARES; B. DETALHE DA CUTÍCULA ESTRIADA REVESTINDO A EPIDERME; C, D. VISTA FRONTAL DA EPIDERME FOLIAR, FACES ADAXIAL E ABAXIAL, RESPECTIVAMENTE, INDICANDO ESTÔMATOS PARACÍTICOS. ABREVIATURAS: **cau** – CAULE, **ct** – CUTÍCULA, **abx** – ABAXIAL, **adx** – ADAXIAL, **es** – ESTÔMATO, **fol** - FOLHA. BARRA = 1cm (A), 20µm (B-D)

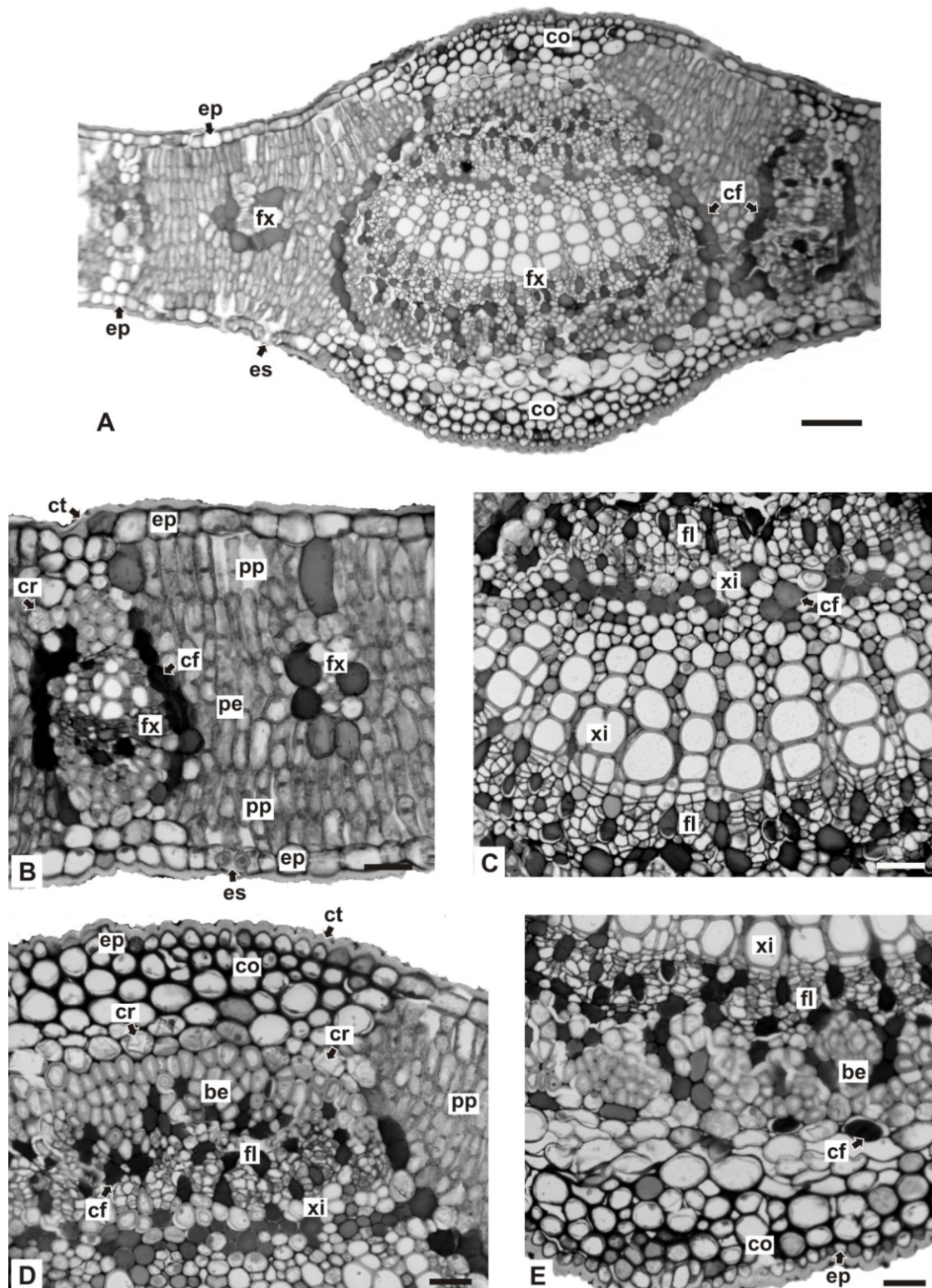


FIGURA 2A-E. *Salix humboldtiana* WILLD., SALICACEAE, SECÇÃO TRANSVERSAL DA LÂMINA FOLIAR: A. ASPECTO DA NERVURA CENTRAL E PARTE DA REGIÃO INTERNERVURAL; B. EPIDERME, MESOFILO E FEIXES VASCULARES DE PEQUENO PORTE EM DETALHE; C-E.. PORMENOR DA NERVURA CENTRAL, NA ÁREA DO SISTEMA VASCULAR E JUNTO ÀS FACES ADAXIAL E ABAXIAL. ABREVIATURAS: **be** – BAINHA ESCLERENQUIMÁTICA, **cf** – COMPOSTOS FENÓLICOS, **co** - COLÊNQUIMA, **cr** – CRISTAL DE OXALATO DE CÁLCIO, **ct** - CUTÍCULA, **ep** - EPIDERME, **es** - ESTÔMATO, **fl** - FLOEMA, **fx** – FEIXE VASCULAR, **pe** – PARÊNQUIMA ESPONJOSO, **pp** - PARÊNQUIMA PALIÇÁDICO, **xi** – XILEMA. BARRA = 50µm (A), 20µm (B-E)

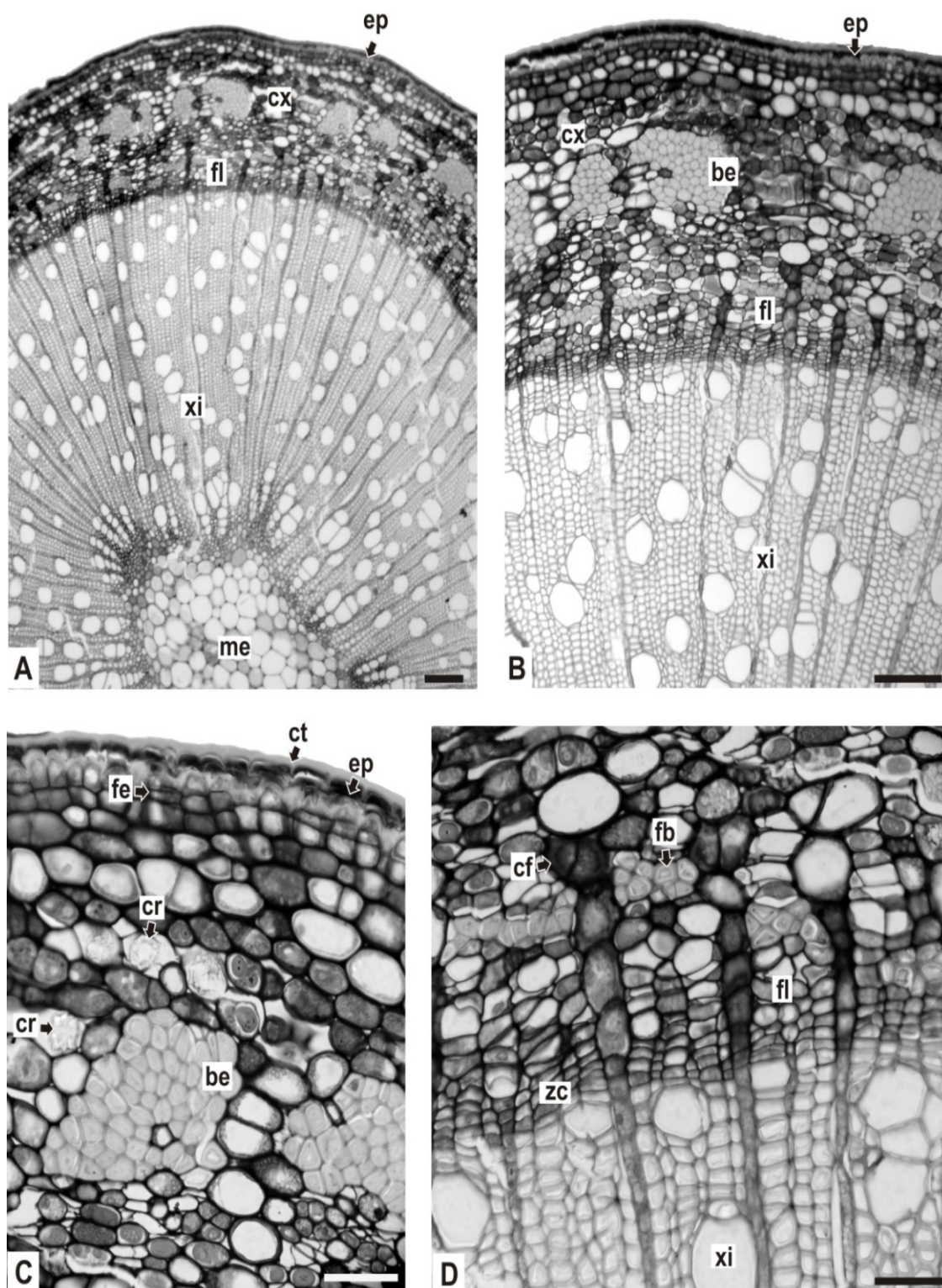


FIGURA 3A-D. *Salix humboldtiana* WILLD., SALICACEAE, SECÇÃO TRANSVERSAL CAULINAR: A, B. ASPECTO GERAL DO CAULE EM CRESCIMENTO SECUNDÁRIO INICIAL; C, D. DETALHE DA REGIÃO CORTICAL E CILINDRO VASCULAR. ABREVIATURAS: **be** – BAINHA ESCLERENQUIMÁTICA, **cf** – COMPOSTOS FENÓLICOS, **co** – COLÊNQUIMA, **cr** – CRISTAL DE OXALATO DE CÁLCIO, **ct** – CUTÍCULA, **cx** – CÓRTEX, **ep** – EPIDERME, **fb** – FIBRA, **fe** – FELOGÊNIO, **fl** – FLOEMA, **me** – MEDULA, **xi** – XILEMA, **zc** – ZONA CAMBIAL. BARRA = 100µm (A), 50µm (B), 20µm (C, D)