

**Constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida frente a
larvas de *Aedes aegypti* do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke**
**Chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity against
Aedes aegypti larvae of *Aniba rosaeodora* Ducke essential oil**
**Componentes químicos, toxicidad, potencial antioxidante y actividad larvicida contra las
larvas de *Aedes aegypti* del aceite esencial *Aniba rosaeodora* Ducke**

Recebido: 15/06/2020 | Revisado: 25/06/2020 | Aceito: 03/07/2020 | Publicado: 18/07/2020

Aline Medeiro Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6227-4566>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: alliny_ferreira@hotmail.com

Victor Elias Mouchrek Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-7292>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: victor.mouchrek@ufma.br

Nilton Silva Costa Mafra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5353-0596>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: nilton.mafra@hotmail.com

Everton Holanda Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-9103>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: everhs16@gmail.com

Paulo Sérgio Santos Júnior

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9628-5594>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: psjr08@gmail.com

Gustavo Oliveira Everton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>

Universidade Federal do Maranhão, Brazil

E-mail: gustavooliveiraeverton@gmail.com

Resumo

Este estudo teve por objetivo determinar os constituintes químicos, toxicidade, potencial antioxidante e atividade larvicida do óleo essencial de *Aniba rosaeodora* Ducke frente a larvas de *Aedes aegypti*. O óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação a 100 ° C por 3h. Os parâmetros físico-químicos foram determinados e a composição química foi obtida por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC / MS). A toxicidade foi realizada através do bioensaio de *Artemia salina* Leach. O ensaio ABTS e DPPH foram utilizados para avaliar a atividade antioxidante e para atividade larvicida submeteu-se larvas de *Aedes aegypti* a soluções do OE em concentrações de 10-100 mg L⁻¹, onde avaliou-se a mortalidade das larvas e determinou-se a CL₅₀ a partir do método de Reed Muech. O principal constituinte químico encontrado no EO de *A. rosaeodora* foi o β-linalool 63,16%, sendo considerado grande promissor para síntese farmacêutica. No ensaio de toxicidade, o LC₅₀ variou de 582 mg L⁻¹ a 282 mg L⁻¹, sendo classificado como não tóxico. O OE apresentou atividade larvicida com CL₅₀ de 41,07 mg L⁻¹ e atividade antioxidante relevante. De acordo com os resultados encontrados, foi possível avaliar que o OE analisado é composto por substâncias que possuem um bom efeito larvicida frente ao *Aedes aegypti*, incentivado assim seu potencial de aplicação.

Palavras-chave: *Aniba*; *Aedes*; Toxicidade.

Abstract

This study aimed to determine the chemical constituents, toxicity, antioxidant potential and larvicidal activity of the essential oil of *Aniba rosaeodora* Ducke against larvae of *Aedes aegypti*. The essential oil (EO) was extracted by hydrodistillation at 100 ° C for 3h. The physicochemical parameters were determined and the chemical composition was obtained by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC / MS). Toxicity was performed through the bioassay of *Artemia salina* Leach. The ABTS and DPPH assays were used to evaluate antioxidant activity and larvicidal activity was submitted to larvae of *Aedes aegypti* to EO solutions at concentrations of 10-100 mgL⁻¹, where the mortality of larvae was evaluated and LC₅₀ was determined using the Reed Muech method. The main chemical constituent found in the EO of *A. rosaeodora* was β-linalool 63.16%, being considered great promising for pharmaceutical synthesis. In the toxicity assay, LC₅₀ ranged from 582 mg L⁻¹ to 282 mgL⁻¹ and was classified as non-toxic. The EO showed larvicidal activity with LC₅₀ of 41.07 mgL⁻¹ and relevant antioxidant activity. According to the results found, it was possible to evaluate

that the OE analyzed is composed of substances that have a good larvicidal effect compared to *Aedes aegypti*, thus encouraging its application potential.

Keywords: *Aniba*; *Aedes*; Toxicity.

Resumen

Este estudio tenía como objetivo determinar los componentes químicos, toxicidad, potencial antioxidante y actividad larvicida del aceite esencial *Aniba rosaeodora* Ducke contra las larvas de *Aedes aegypti*. El aceite esencial (AE) fue extraído por hidrodestilación a 100°C durante 3h. Se determinaron los parámetros fisicoquímicos y la composición química se obtuvo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC / EM). La toxicidad se realizó a través del bioensayo de *Artemia salina* Leach. The ABTS and DPPH assays were used to evaluate antioxidant activity and larvicidal activity was submitted to Larvae of *Aedes aegypti* to EO solutions at concentrations of 10-100 mg L⁻¹, where the mortality of larvae was evaluated and CL₅₀ was determined from the Reed Muech method. The main chemical constituent found in the AE of *A. rosaeodora* was β-linalool 63.16%, being considered great promising for pharmaceutical synthesis. In the toxicity assay, CL₅₀ ranged from 582 mg L⁻¹ to 282 mg L⁻¹ and was classified as non-toxic. The AE showed larvicidal activity with LC₅₀ of 41.07 mg L⁻¹ and relevant antioxidant activity. According to the results found, it was possible to evaluate that the OE analyzed is composed of substances that have a good larvicidal effect against *Aedes aegypti*, thus encouraging its application potential.

Palabras clave: *Aniba*; *Aedes*, Toxicidad.

1. Introdução

O *Aedes aegypti* é o nome científico do mosquito transmissor de doenças comumente nomeadas por arboviroses como a dengue, febre amarela urbana, além da zika e da Chikungunya (Sritabutra; Soonwera 2013). A espécie possui origem africana, em 1955 foi erradicado da história do Brasil, porém devidos a falhas de cobertura e ações de controle, teve seu retorno em 1976, provavelmente por meio de fronteiras e portos. É importante salientar que a dengue está fortemente relacionada com variáveis meteorológicas. A variação sazonal da temperatura e da pluviosidade influenciam a dinâmica do vetor e a incidência da doença em todo o país (Viana; Ignotti, 2013). Nota-se maior ocorrência de casos dessa doença em regiões tropicais e subtropicais (Ootani et al., 2011; Veloso et al., 2015).

Nas últimas décadas, verificou-se que as doenças transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti*, principalmente a dengue, tem crescido de forma elevada no mundo inteiro. Há 12 anos a Organização Mundial de Saúde (OMS) já estimava que aproximadamente 1,3 milhões de indivíduos estariam em risco de serem contaminadas pelo vírus da dengue (Who, 2012). Atualmente, estima-se que dois quintos da população mundial, isto é, mais de 2,5 bilhões de pessoas estão sujeitas a serem infectadas pelo vírus da dengue e a OMS calcula que pode haver cerca de 50 milhões de infecções de dengue por ano mundialmente (Zara et al., 2016).

Segundo o Ministério Da Saúde (2019), foi declarado que em 2019, até a 12ª Semana Epidemiológica (30/12/2018 a 23/03/2019), foram registrados 273.193 casos prováveis de dengue no país, o qual teve um crescimento de aproximadamente 382% em relação ao mesmo período do ano de 2018 (71,525 mil).

Notificou-se também o crescimento acelerado nos casos de outras doenças advindas do *Aedes aegypti*, tais como a Zika e a Chikungunya (Silva et al., 2018). Vale ressaltar que mesmo com os avanços tecnológicos em busca por vacinas para essas doenças, apenas para a febre amarela existe uma vacina de longo prazo, aproximadamente 10 anos (Rothman, 2004). Sendo assim, o melhor método de controle é a prevenção, atacando seu vetor urbano (Govindaranja, 2013). O controle vetorial é realizado através da eliminação de locais para oviposição ou a eliminação das larvas (Coller, 2011).

Dentre os métodos empregados para controle das larvas, tem-se que o uso de inseticida organofosforado temefós constitui a principal medida adotada pelo Programa Nacional de Prevenção à Dengue no Brasil e pela Organização Mundial da Saúde (Carvalho et al., 2004; Crivelenti et al., 2011; Prophiro et al., 2011).

Todavia, segundo estudos realizados foram identificadas populações de mosquitos resistentes ao inseticida na Colômbia e também em diversos estados do Brasil, tais como Minas Gerais, Paraíba, Ceará e no Distrito Federal (Carvalho et al., 2004; Lima et al., 2006; Beserra et al., 2007; Maestres et al., 2009, Horta et al., 2011). Diante desse contexto surge então a necessidade de métodos alternativos, principalmente aqueles baseados em recursos naturais, sendo o inseticida devendo ser sustentável, ecologicamente correto, eficaz, possuir baixa toxicidade aos mamíferos e não devendo modificar de forma significativa as características da água (Dias; Moraes, 2014).

Como forma de proteção as plantas produzem metabólitos secundários como os flavonoides, alcaloides e terpenóides que coevoluem com os insetos e micro-organismos, tornando-se fontes naturais de substâncias inseticidas (Simões et al., 2010). Essas substâncias são conhecidas como óleos essenciais (OE's), produzidos no metabolismo secundário das

plantas, sendo uma boa fonte de materiais com ação inseticida, larvicida e repelente (Costa et al., 2005).

Entre as plantas com potenciais medicinais no Brasil e com estudos limitados destaca-se a *Aniba rosaeodora* Ducke, conhecido como pau rosa, pertence à família Lauraceae, descoberta no Brasil em 1925. A espécie é nativa da Amazônia e sua exploração para a extração de OE está em andamento desde 1911 (Azeredo, 1958). Possui como composto majoritário o linalol, que é um monoterpene alcoólico e uma das substâncias mais importantes para a indústria de fragrâncias (Vatanparast et al., 2017). A espécie de *A. rosaeodora* também é conhecida pelo seu potencial antimicrobiano, devido ao alto teor de linalol, o qual é possível atribuir sua atividade antimicrobiana (Cansian et al., 2010) porém possui poucos estudos com relação a atividade larvicida.

Tendo em vista a importância dos OE's e sua ampla aplicação o presente estudo visa determinar os constituintes químicos, toxicidade, atividade antioxidante e o potencial larvicida do óleo essencial de *A. rosaeodora* frente as larvas de *Aedes aegypti*, visando uma alternativa segura, ecologicamente viável e eficiente no combate e controle da população de *Aedes aegypti* no país.

2. Metodologia

2.1. Material vegetal

As amostras do caule de *A. rosaeodora* foram coletados na Reserva Florestal de Ducke do Parque Nacional Instituto de Pesquisas da Amazônia, localizado no Km 26 da Rodovia AM-010 (Manaus-Itacoatiara), no município de Manaus, Amazonas. Os materiais vegetais foram transportados ao Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV / UFMA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foram secos a temperatura ambiente dentro de um período máximo de sete dias. Posteriormente, sendo triturados e sua massa medida para cálculos de rendimento subsequentes.

2.2. Obtenção dos óleos essenciais (OE's)

Para extração dos OE's, utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor.

Foram utilizadas 30g do caule seco de *A. rosaeodora*, adicionando-se água destilada (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o OE extraído. Cada OE foi seco por percolação com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e centrifugado. Essas operações foram realizadas em triplicata e as amostras armazenadas em ampolas de vidro âmbar sob refrigeração de 4°C. Posteriormente submetido as análises.

2.3. Análises Químicas

Os constituintes dos OE's foram identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Foi dissolvido 1,0 mg da amostra em 1000 µL de diclorometano (pureza 99,9%). As condições de análise foram as seguintes: Método: Adams. M; Volume injetado: 0,3 µL; Coluna : Capilar HP-5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano) (Equivalente DB-5MS ou CP-Sil 8CB LB/MS), nas dimensões (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Gás de arraste : He (99,9995); 1,0 mL.min⁻¹; Injetor: 280 °C, modo Split (1:10); Forno : 40 °C (5,0 min.) até 240 °C numa taxa de 4 °C min⁻¹, de 240 °C até 300 °C (7,5 min) numa taxa de 8 °C.min⁻¹); t_R = 60,0 min; Detector : EM; EI (70 eV); Modo varredura (0,5 seg scan⁻¹); Faixa de massas: 40 – 500 daltons (uma); Linha transferência: 280 °C.; Filamento: desligado 0,0 a 4,0 min; Espectrômetro de massas tipo quadrupolo linear. Para a identificação dos compostos na amostra utilizou-se o programa AMDIS (*Automated Mass spectral Deconvolution Mass & Identification System*).

2.4. Toxicidade

Este ensaio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução salina estoque de cada OE na concentração de 10.000 mg L⁻¹ e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Alíquotas de 5, 50 e 500 µL desta foram transferidas para tubos de ensaio e completados com solução salina já preparadas anteriormente até 5 mL, obtendo-se no final concentrações de 10, 100 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio.

Para o controle do branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo K₂Cr₂O₇ e para o controle negativo 5 mL de uma solução 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas de exposição, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade dos OE's, sendo considerado altamente tóxico quando $CL_{50} \leq 80 \text{ mg L}^{-1}$, moderadamente tóxico para $80 \text{ mg L}^{-1} \leq CL_{50} \leq 250 \text{ mg L}^{-1}$ e levemente tóxico ou atóxico quando $CL_{50} \geq 250 \text{ mg L}^{-1}$. A análise estatística dos dados para o ensaio de toxicidade foi realizada de acordo com o método de Reed&Muench (1938), a partir da tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada, é construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada log da concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL_{50}), pois nesse ponto o número de animais sobreviventes é igual ao número de animais mortos (Colegate; Molyneux, 2007).

2.5. Atividade Antioxidante pelo Método ABTS

Determinou-se a atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico)], de acordo com a metodologia sugerida por RE et al. (1999). O radical $ABTS^{\bullet+}$ foi preparado pela reação de 5,0 mL de uma solução de $3840 \mu\text{g mL}^{-1}$ de ABTS com 88 μL da solução de persulfato de potássio de $37.840 \mu\text{g mL}^{-1}$, a mistura foi deixada em um ambiente escuro por 16 horas. Após formação radical, a mistura foi diluída em etanol até a absorção de $0,7 \pm 0,01$ a 734 nm.

Tomando-se as concentrações do OE (5 a $150 \mu\text{g mL}^{-1}$) preparou-se a mistura de reação com o cátion radical ABTS. Em um ambiente escuro, retirou-se uma alíquota de 30 μL de cada concentração do OE e transferiu-se para tubos de ensaio contendo 3,0 mL do cátion radical ABTS e posteriormente homogeneizou-se em um agitador de tubos e após 6 minutos, realizou-se a absorção da mistura de reação em espectrofotômetro de 734 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical ABTS de acordo com a Equação 1 (Babili et al., 2011), onde ABS_{ABTS} representa a absorção da solução radical ABTS e ABS_{AM} representa a absorção de a amostra.

$$\% \text{Inhibition ABTS} = \frac{ABS_{ABTS} - ABS_{AM}}{ABS_{ABTS}} * 100 \quad (01)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE_{50} e CE_{90} , definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais abts. O OE é considerado ativo quando apresenta $CE_{50} < 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Campos et al., 2003).

2.6. Atividade Antioxidante pelo Método DPPH

A atividade antioxidante total foi analisada através da capacidade dos antioxidantes presentes na amostra em sequestrar o radical estável DPPH●(2,2-difenil-1-picril-hidrazina), de acordo com Brand-Williams (1995). A quantificação da Atividade Antioxidante foi expressa como média \pm desvio-padrão em $\mu\text{MTrolox.g}^{-1}$ extrato (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

Com o intuito de determinar a capacidade antioxidante pelo método DPPH do OE utilizou-se a metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). O radical foi preparado pela dissolução de 3,94 mg de DPPH●(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) em 100 mL de etanol. A partir das concentrações dos OE's (5 a 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi preparada a mistura de reação com o cátion radical ABTS. 50 μL de EO foi misturado a 950 μL de etanol, 2 mL de solução radical DPPH, e completado até 4 mL com etanol, e novamente homogeneizado. A mistura foi deixada para reagir no escuro por 30 minutos e a absorção da mistura de reação foi realizada em espectrofotômetro de 517 nm.

A captura do radical livre foi expressa como um percentual de inibição (%I) da ação radical DPPH de acordo com a Equação 2 adaptada de Babili et al. (2011), onde ABS_{DPPH} representa a absorção da solução radical DPPH e ABS_{DPPH} representa a absorção da amostra.

$$\%InhibitionDPPH = \frac{ABS_{DPPH} - ABS_{AM}}{ABS_{DPPH}} * 100 \quad (02)$$

A partir dos dados obtidos, foram calculadas as concentrações eficientes CE_{50} e CE_{90} , definidas como a concentração da amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais ABTS. O OE é considerado ativo quando apresenta $CE_{50} < 500 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Campos et al., 2003).

2.7. Coleta dos ovos

Os ovos foram coletados na Universidade Federal do Maranhão, Campus Bacanga em São Luís/ MA, através de armadilhas denominadas ovitrampas. Estas consistem de baldes

marrons (500 mL), de polietileno, com 1 mL de levedura de cerveja e 300 mL de água corrente e inserida duas palhetas de Eucatex para a ovoposição do mosquito. As armadilhas foram inspecionadas semanalmente para a substituição das palhetas e recolhimento dos ovos e encaminhados para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais (LOEPAV/UFMA) do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

Inicialmente, os ovos do *Aedes aegypti* foram colocados para eclodir a temperatura ambiente em um aquário circular de vidro contendo água mineral. A identificação da espécie seguiu a metodologia proposta por Forattini (1962). As larvas obtidas foram alimentadas com ração de gato conforme a metodologia de Silva et al., (1995) até atingirem o terceiro e quarto estágio, idade em que foram feitos os experimentos.

2.8. Atividade larvicida

Os ensaios para atividade larvicida foram realizados de acordo com a metodologia adaptada proposta por Silva (2006). Inicialmente, foi preparada uma solução mãe de 100 mg L⁻¹ de cada um dos OE's sendo diluídas em solução de DMSO 2%. Desta solução, foram preparadas cinco diluições nas concentrações 10, 20, 50, 70 e 90 mg L⁻¹. A cada concentração foram adicionadas 10 larvas na proporção 1 mL por larva.

Todos os testes foram realizados em triplicatas e como controle negativo foi utilizado uma solução formada de DMSO 2%, e como controle positivo, uma solução de temefós (O,O,O',O'- tetrametil O,O'-tiodi-p-fenileno bis (fosforotioato) a 100 ppm, equivalente a concentração utilizada pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) para o controle larvicida do vetor, além do Novaluron (\pm -1-[3-cloro-4-(1-1-3-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy) phenyl-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea a 0,02 mg L⁻¹, dose adotada pelo ministério da Saúde, que indica pelo OMS no intervalo de 0,01 a 0,05mg L⁻¹.

Após 24h realizou-se a contagem de vivas e mortas, sendo que foram consideradas mortas, as larvas que não reagiram ao toque após 24 horas do início do experimento. Para quantificação da eficiência dos OE's foi aplicado o teste estatístico de Probit (Finney, 1952).

3. Resultados e Discussão

3.1. Perfil químico

Os parâmetros físico-químicos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do OE de *A. rosaeodora*.

Parâmetros físico-químicos	OE de <i>A. rosaeodora</i>
Densidade (g mL ⁻¹)	0,8660
Solubilidade (EtOH 70%)	1:2
Cor	Amarelo
Índice de refração (nD 25°C)	1,4660
Rendimento (%)	1,87

Fonte: Autores

Na Tabela 1 foi observado um rendimento de 1,87% no OE de *A. rosaeodora*. Este valor mostrou-se superior ao resultado encontrado por May et al. (2004) e Lara (2012) onde relatam que o rendimento do OE de *A. rosaeodora* pode variar de 1 a 1,2%. Contudo, segundo Takeda (2008) o rendimento do OE *A. rosaeodora* varia de 2,24% para os galhos e 3,37% para as folhas em plantio de cinco anos, tornando-os potenciais para produção industrial. Vale salientar que no presente estudo, o OE foi extraído do caule e apresentou rendimento satisfatório, o que incentiva sua extração e aplicação.

A Tabela 2 apresenta os constituintes identificados no OE de *A. rosaeodora*.

Tabela 2: Constituintes químicos identificados no OE de *A. rosaeodora*.

Pico	¹ tr (min)	COMPOSTO (NIST 08)	%
2	8,797	α -pinene	2,50
6	9,671	2,2,6-trimethyl-6-vinyltetrahydropyran	4,52
11	10,896	d-limonene	4,00
12	10,960	Eucalyptol	2,80
16	11,698	trans-furan linalool oxide	9,73
17	11,988	cis-furan linalool oxide	7,69
18	12,268	β -linalool	63,16
Outros			5,6

Nota: ¹tr: Tempo de retenção dos compostos na coluna em minutos; Fonte: Autores.

As substâncias identificadas na CG/EM estão contidas na Tabela 2, é possível destacar o β -linalool como sendo o composto majoritário (63,15%), seguido por trans-furan linalool oxide (9,73%) e cis-furan linalool oxide (7,69%).

Essas informações estão de acordo com as encontradas na literatura destacada por Teles et al., (2015) e Cunha et al. (2011), que encontraram também um elevado teor de linalol (89,34%). Cunha et al. (2011) ressaltam que a influência sazonal pode interferir no teor de linalol presente nas folhas e galhos do EO de *A. rosaeodora*.

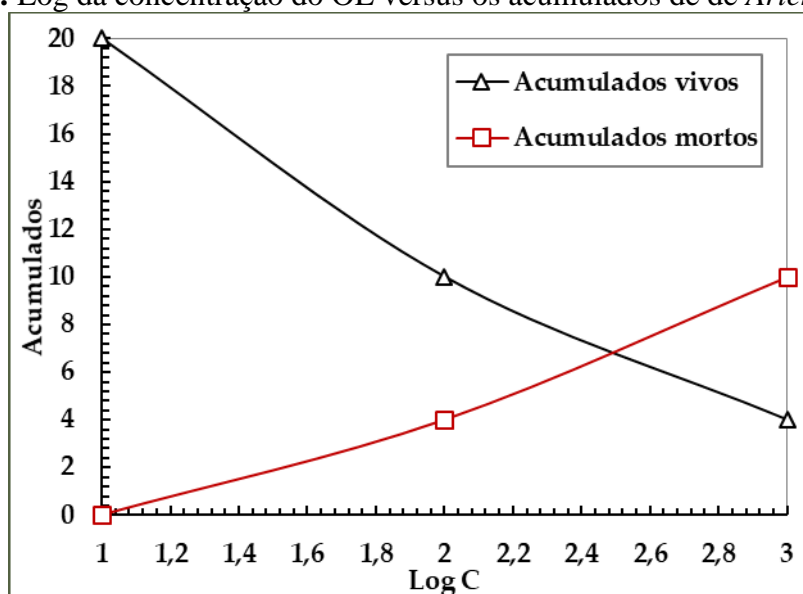
A influência sazonal pode ser comprovada pelo estudo realizado por Pimentel et al., (2018), onde analisaram o OE extraído de folhas e galhos de *A. rosaeodora* coletados nas

estações chuvosa e seca, os quais apresentaram quantificação e diferenças qualitativas nas composições químicas. A quantificação por padrão externo mostrou maior concentração de linalol no período chuvoso ($74,4 \pm 3,9\%$ nas folhas e $81,8 \pm 5,7\%$ nos galhos) do que no período seco ($47,5 \pm 2,2$ nas folhas e $49,2 \pm 1,6\%$ nos ramos), encontrou-se ainda a presença de 15 compostos no OE das folhas durante a estação chuvosa, enquanto o OE dos galhos continha 11 compostos. Confirmando a presença de um número satisfatório de constituintes químicos presente neste OE. No presente trabalho, foi possível encontrar 28 compostos, sendo condizente com a literatura.

3.2. Toxicidade

A Figura 1 apresenta a curva acumulada de mortos e vivos de *Artemia salina* versus logaritmo da concentração diante da ação do OE.

Figura 1: Log da concentração do OE versus os acumulados de de *Artemia salina*.



Fonte: Autores

De acordo com a Figura 1, é possível observar a interseção das curvas em 2,45 e CL_{50} em $282 \text{ mg L}^{-1} \pm 2,95 \text{ mg L}^{-1}$ e segundo Dolabela (1997) é classificado como não tóxico. Os estudos na literatura referentes a toxicidade pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach frente ao OE de *A. roseodora* ainda se encontram escassos e pouco divulgados.

Logo, os resultados referentes à toxicidade foram comparados a estudos que apresentam o linalol como componente majoritário. Ramos et al. (2017) utilizaram a cromatografia gasosa

acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) e identificaram o linalol (51,8%) como componente majoritário do OE de *Mentha piperita* e na avaliação da toxicidade pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach obtiveram a CL_{50} 414,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$ classificando o OE como atóxico.

A composição química correlaciona o composto majoritário linalol como atóxico sendo empregado na área médica, justificando o resultado encontrado da classificação do mesmo. Fujiwara et al. (2017) verificaram a toxicidade do linalol pelo bioensaio de toxicidade preliminar in vitro de *Artemia salina* obtendo a CL_{50} 275,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ classificando o composto linalol como atóxico.

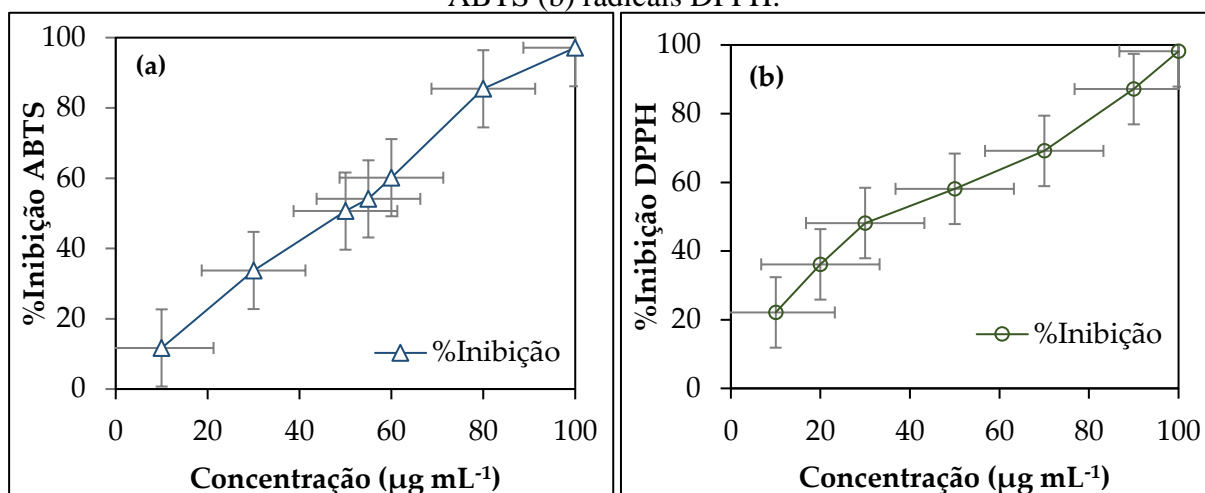
Resultados semelhantes também foram observados por Brasil et al. (2009) ao analisarem o OE da casca de tronco de *Croton palanostigma*, cujo o linalol era o componente majoritário e através do bioensaio de *Artemia salina* verificaram uma CL_{50} 371 $\mu\text{g mL}^{-1}$, confirmando atoxicidade do OE utilizado. Goel et al. (2019) afirmam que o linalol é atóxico, confirmando assim a aplicabilidade como ferramenta para manipulação em células cancerígenas, por apresentar um efeito citostático (Rodenak-Kladiniew et al., 2018). Assim pode-se afirmar que os OE's atóxicos também podem ter uma relativa eficiência em propriedades antimicrobianas em contraste ao que foi afirmado por Machae et al. (1988), onde os autores afirmam que quanto maior a toxicidade melhores serão as propriedades antimicrobianas do OE.

3.3. Atividade Antioxidante

3.4.

A Figura 2 mostra a representação gráfica que relaciona a concentração de OE em $\mu\text{g L}^{-1}$ e a porcentagem de inibição do radical ABTS e DPPH. As equações das retas obtidas pelo teste ABTS (Figura 1a) foram $y = 0,9692x + 2,8203$ ($R^2 = 0,9917$) e para o teste DPPH (Figura 2b), as equações das linhas foram $y = 0,7693x + 19,184$ ($R^2 = 0,9817$). A partir dessas equações, calculou-se os respectivos valores da concentração efetiva (CE_{50} e CE_{90}).

Figura 2: Concentração do OE de *A. rosaeodora* versus a inibição percentual de (a) radicais ABTS (b) radicais DPPH.



Fonte: Autores

Os resultados dos cálculos dos potenciais antioxidantes de OE de *A. rosaeodora* descritos na Tabela 3, foram interpretados com base na concentração eficiente CE₅₀ e CE₉₀, em mg L⁻¹. A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos para a capacidade antioxidante dos OE.

Tabela 3: Capacidade antioxidante do OE quantificada em CE₅₀ e CE₉₀.

EO	Metodo	IC ₅₀ mg L ⁻¹	IC ₉₀ mg L ⁻¹
<i>A. rosaeodora</i>	ABTS	48,67	89,94
	DPPH	40,06	92,05

Fonte: Autores

Segundo Sousa et al. (2007), quanto menor o valor de CE₅₀, maior a atividade antioxidante do composto vegetal, pois é necessária uma menor concentração de óleo para reduzir o radical DPPH e ABTS em 50%. Assim, ao analisar a Tabela 4, verificou-se que o OE de *A. rosaeodora* apresentou melhor atividade antioxidante pelo método DPPH no CE₅₀.

Em busca de literatura, não foi possível encontrar estudos sobre a atividade antioxidante do OE de *A. rosaeodora* o que ressalta a importância deste trabalho. Entretanto, foi possível encontrar estudos que relatam o composto majoritário do OE *A. rosaeodora* (linalol) como agente antioxidante. Segundo estudos realizados por Sepahvand et al., (2014), encontraram no OE de *Salvia sclareoides* os compostos majoritários Linalol (27,6%) e β-cariofileno (16,6%),

os quais apresentaram boa atividade antioxidante no Teste de DPPH e propriedades antibacterianas.

Posteriormente, Jabir et al. (2018) estudaram de forma isolada o monoterpene linalol, principal constituinte do OE de *A. rosaeodora*, quanto a atividade antioxidante, pelos métodos DPPH e Peróxido de Hidrogênio, e obtiveram bons resultados quando comparados ao antioxidante padrão. A atividade antioxidante dos terpenos pode ser atribuída à presença de ligações duplas conjugadas, por um mecanismo de quebra de cadeia, para a remoção de radicais livres (Wojtunik, et al., 2014), sendo definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo atuar em alimentos ou sistemas biológicos (Sousa et al., 2007; Alves et al., 2010).

3.5. Atividade Larvicida

De acordo com vários estudos realizados mundialmente pode-se destacar que alguns OE's de plantas não têm apenas a capacidade de repelir insetos, mas apresentam também ação inseticida através do contato direto ou pelas vias respiratórias dos insetos (Corrêa; Salgado, 2011) e a atividade larvicida no combate as larvas do mosquito *Aedes aegypti* do OE de *A. rosaeodora* e os dados obtidos por meio do ensaio de concentrações estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4: Atividade larvicida do OE de *A. rosaeodora*.

Log da concentração	n	Mortos	CL ₅₀	Σ	χ ²	R ²
1,48	20	6				
1,60	20	10				
1,70	20	12	41,07			
1,85	20	16	(33,37-50,56)	0,2480	0,9980*	0,9840
1,90	20	18				
2,00	20	20				

Onde:*= não significativo, indica bom ajuste de curva; n= números de indivíduos por solução; σ= desvio padrão; χ²= chi quadrado; R²= coeficiente de linearidade; Fonte: Autores

Segundo Dias&Moraes (2014), o potencial larvicida é classificado de acordo com os critérios baseados na concentração letal (CL), os OE's que obtém CL₅₀ >100mg L⁻¹, são considerados não ativos, os que obtém CL₅₀ <100 mg L⁻¹ são considerados ativos e os que obtém

CL₅₀ <50mg/L são altamente ativos. Desta forma, o OE de *A. rosaeodora* mostrou ação larvicida altamente eficiente, por manter a CL₅₀ abaixo dos 50 mg L⁻¹, incentivando seu potencial e uso.

De acordo com os resultados obtidos, é possível observar o potencial larvicida presente no OE de *A. rosaeodora*. O bioensaio não apresentou a formação de pupa ou até mesmo qualquer intermediário, apenas resultou na eliminação total das larvas. Tem-se ainda que os ensaios de controle não resultaram em mortalidade, o qual pode-se indicar os efeitos inócuos do solvente. O OE de *A. rosaeodora* é conhecido pelo seu alto teor de linalol, o qual possui diversas atividades biológicas, dentre elas a ação larvicida. O linalol é um exemplo de um terpenóide que opera em conjunto com outros compostos no sistema colinérgico de insetos, promovendo a rápida quebra do sistema nervoso. (Pandey et al., 2013).

Em estudos realizados por Knio et al., (2008), esses autores ao estudarem os compostos majoritários das principais ervas usadas no Líbano contra *Ochelerotatus caspius* que foram: timol, sabineno, carvacol, anetol e linalol, determinaram que todos os compostos estudados mostraram fortes propriedades larvicidas. Mais recente, estudos realizados por Tabari et al., (2017) sobre a toxicidade do OE de *Pelargonium roseum* e dos compostos isolados: β-citronelol, geraniol e linalol em adultos, larvas e ovos de *C. pipens*, concluíram que os compostos possuem boa ação larvicida e ovicida, uma atividade mais branda contra adultos, apresentando ao final, maior toxicidade para o geraniol e menor para o linalol.

Estudo químico de uma das espécies do gênero *Aniba*, mostraram que os compostos isolados exibiram elevada atividade larvicida sobre a espécie de mosquito *Aedes aegypti*. Segundo Teles et al., (2017) ao analisarem a atividade larvicida do OE de *Aniba duckei* Kostermans, para os padrões de linalol (dl-linalol e l-linalol), componente principal do óleo essencial de *Aniba duckei* Kostermans, tem-se que o l-linalol matou 100% das larvas em concentrações mais baixas, de 350 µg mL⁻¹, onde o óleo sozinho atingiu apenas 100% a 400 µg mL⁻¹ e o dl-linalol não atingiu esse nível na faixa de concentração analisada. Assim, concluíram que o linalol responsável pela atividade larvicida deve ser o l-linalol.

Vale ressaltar que o potencial tóxico de OE's e os seus componentes contra o *Aedes aegypti* pode variar significativamente de acordo com os fatores intrínsecos e extrínsecos, espécies de plantas, partes de plantas, idade de fabricação, quimiotipos e as condições geográficas (tal como temporada de ocorrência, precipitação, porcentagem de umidade, temperatura, luz solar, e altitude), em que a planta foi recolhida, a fonte de larvas, e os métodos utilizados, em geral, para induzir diferentes respostas larvais (Dias&Moraes, 2014).

4. Considerações Finais

Portanto, através dos resultados obtidos, foi possível classificar o OE de *A. rosaeodora* como não tóxico, pois obteve-se a variação da LC_{50} em torno de 582 mg L^{-1} e 282 mg L^{-1} , determinou-se o linalol (63,16%) como sendo o composto majoritário e grande promissor nos resultados da ação antioxidante e ainda apresentou-se ação larvicida altamente eficiente, por manter a CL_{50} abaixo dos 50 mg L^{-1} , o valor da CL_{50} encontrado foi de $41,07 \text{ mg L}^{-1}$. Com base nesses resultados, conclui-se que o OE de *A. rosaeodora* é composto por substâncias que propiciam e incentivam sua aplicação em virtude de seus potenciais para atividade biológica larvicida.

Referências

- Alves, C. Q., David, J. M., David, J. P., Bahia, M. V., & Aguiar, R. M. (2010). Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química Nova*, 33(10), 2202-2210.
- Azeredo, O. B. (1958). Instituto de Óleos, Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas. Ministério da Agricultura, 15, 137.
- Beserra, E. B., Fernandes, C. R., Queiroga, M. D. F., & Castro Jr, F. P. D. (2007). Resistência de populações de *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) ao organofosforado temefós na Paraíba. *Neotropical Entomology*, 36(2), 303-307.
- Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., & Myers, M. F. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, 496(7446), 504-507.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brasil, D. D. S. B., Muller, A. H., Guilhon, G. M. S., Alves, C. N., Andrade, E. H. A., Silva, J. K. R. D., & Maia, J. G. (2009). Essential oil composition of *Croton palanostigma* Klotzsch from north Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20(6), 1188-1192.

Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.

Cansian, R. L., Mossi, A. J., Oliveira, D. D., Toniazzo, G., Treichel, H., Paroul, N., & Serafini, L. A. (2010). Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). *Food Science and Technology*, 30(2), 378-384.

Carvalho, M. D. S. L. D., Caldas, E. D., Degallier, N., Vilarinhos, P. D. T. R., Souza, L. C. K. R. D., Yoshizawa, M. A. C., & Oliveira, C. D. (2004). Suscetibilidade de larvas de *Aedes aegypti* ao inseticida temefós no Distrito Federal. *Revista de Saúde Pública*, 38, 623-629.

Coller, B. A. G., & Clements, D. E. (2011). Dengue vaccines: progress and challenges. *Current opinion in immunology*, 23(3), 391-398.

Corrêa, J. C. R., & Salgado, H. R. N. (2011). Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(4), 500-506

Costa, J. G. M., Rodrigues, F. F. G., Angélico, E. C., Silva, M. R., Mota, M. L., Santos, N. K. A., & Lemos, T. L. G. (2005). Chemical-biological study of the essential oils of *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* and *Syzigium aromaticum* against larvae of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Rev Bras Farmacogn*, 15(4), 304-9.

Colegate, S. M., & Molyneux, R. J. (Eds.). (2007). *Bioactive natural products: detection, isolation, and structural determination*. CRC press.

Crivelenti, L. Z., Guilherme, L. C., Morelli, S., & Borin, S. (2010). Toxicidade do inseticida Organofosforado Abate® em alevinos de *Poecilia reticulata*. *Embrapa Meio-Norte-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.

Cunha, L.C. N. (2011). Influência sazonal no teor de linalol do óleo essencial da *Aniba duckei* Kostermans cultivada em ambiente natural na reserva florestal Ducke. *Ciência e Natura*, 33(1), 7-15.

Dias, C. N., & Moraes, D. F. C. (2014). Essential oils and their compounds as *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) larvicides. *Parasitology research*, 113(2), 565-592.

Dolabela, M. F. (1997). Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti *Trypanossoma cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Master's Degree dissertation, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil.

Forattini, O. P. (1962). *Entomologia medica vol. I* Faculdade de Higiene e Saude Publica. Sao Paulo, Brazil. pp.

Fujiwara, G. M., Annies, V., de Oliveira, C. F., Lara, R. A., Gabriel, M. M., Betim, F. C., & Miguel, M. D. (2017). Evaluation of larvicidal activity and ecotoxicity of linalool, methyl cinnamate and methyl cinnamate/linalool in combination against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 139, 238-244.

Goel, T., Wang, R., Martin, S., Lanphear, E., & Collins, E. M. S. (2019). Linalool acts as a fast and reversible anesthetic in *Hydra*. *PloS one*, 14(10).

Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M., & Yogalakshmi, K. (2013). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology*, 134(1), 7-11.

Horta, M. A. P., Castro, F. I., Rosa, C. S., Daniel, M. C., & Melo, A. L. (2011). Resistance of *Aedes aegypti* (L.)(Diptera: Culicidae) to temephos in Brazil: a revision and new data for Minas Gerais state. *BioAssay*, 6.

Jabir, M. S., Taha, A. A., & Sahib, U. I. (2018). Antioxidant activity of Linalool. *Engineering and Technology Journal*, 36(1 Part (B) Scientific), 64-67.

Knio, K. M., Usta, J., Dagher, S., Zournajian, H., & Kreydiyyeh, S. (2008). Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresource technology*, 99(4), 763-768.

Lara, C. S. (2012). Produção e variabilidade química do óleo essencial de folhas e galhos finos de pau-rosa (*Aniba roseodora* Ducke.) em duas populações naturais localizadas na Amazônia Central.

Lima, E. P., Oliveira Filho, A. M. D., Lima, J. W. D. O., Ramos Júnior, A. N., Cavalcanti, L. P. D. G., & Pontes, R. J. S. (2006). Resistência do *Aedes aegypti* ao temefós em municípios do estado do Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39(3), 259-263.

MacBae, W. D., Hudson, J. B., & Towers, G. H. N. (1988). Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 22(2), 143-172.

Maestres, R., Rey, G., de las Salas, J., Vergara, C., Santacoloma, L., & Goenaga, S. (2009). Susceptibility of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) to temephos in Atlántico-Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 35(2), 202-205.

May, P. H., & Barata, L. E. (2004). Rosewood exploitation in the Brazilian Amazon: options for sustainable production. *Economic Botany*, 58(2), 257-265.

Mesquita Teles, R. D., Filho, V. E. M., & de Souza, A. G. (2017). Chemical Characterization and Larvicidal Activity of Essential Oil from *Aniba duckei* Kostermans against *Aedes aegypti*. *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res*, 3(6), 1495-1499.

Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. J., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*, 45(05), 31-34.

Ministério Da Saúde, B. (2019). boletim epidemiológico ministério da saúde. Acesso em 14 Junho de 2020, em <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/abril/30/2019-013-Monitoramento-dos-casos-de-arboviroses-urbanas-transmitidas-pelo-Aedes-publicacao.pdf>

Ootani, M. A., Ramos, A. C. C., de Azevedo, E. B., de Oliveira Garcia, B., dos Santos, S. F., & de Sousa Aguiar, R. W. (2011). Avaliação da toxicidade de estirpes de *Bacillus thuringiensis* para *Aedes aegypti* Linneus,(Díptera: Culicidae). *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2), 37-43.

Pandey, S. K., Tandon, S., Ahmad, A., Singh, A. K., & Tripathi, A. K. (2013). Structure activity relationships of monoterpenes and acetyl derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. *Pest management science*, 69(11), 1235-1238.

Pimentel, R. B., Souza, D. P., Albuquerque, P. M., Fernandes, A. V., Santos, A. S., Duvoisin Jr, S., & Gonçalves, J. F. (2018). Variability and antifungal activity of volatile compounds from *Aniba rosaeodora* Ducke, harvested from Central Amazonia in two different seasons. *Industrial Crops and Products*, 123, 1-9.

Prophiro, J. S., Silva, O. S., Luna, J. E. D., Piccoli, C. F., Kanis, L. A., & Silva, M. A. N. (2011). *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(3), 300-305.

Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American journal of epidemiology*, 27(3), 493-497.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

Rodenak-Kladniew, B., Castro, A., Stärkel, P., De Saeger, C., de Bravo, M. G., & Crespo, R. (2018). Linalool induces cell cycle arrest and apoptosis in HepG2 cells through oxidative stress generation and modulation of Ras/MAPK and Akt/mTOR pathways. *Life sciences*, 199, 48-59.

Rothman, A. L. (2004). Dengue: defining protective versus pathologic immunity. *The Journal of clinical investigation*, 113(7), 946-951.

Sepahvand, R., Delfan, B., Ghanbarzadeh, S., Rashidipour, M., Veiskarami, G. H., & Ghasemian-Yadegari, J. (2014). Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S491-S496.

Silva, H. H. G. D., Silva, I. G. D., Elias, C. N., Lemos, S. P. S., & Rocha, A. P. (1995). Idade fisiológica dos ovos de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762)(Diptera, Culicidae).

Silva, W. J. D. (2006). Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.

Silva, N. M. D., Teixeira, R. A. G., Cardoso, C. G., Siqueira Junior, J. B., Coelho, G. E., & Oliveira, E. S. F. D. (2018). Vigilância de Chikungunya no Brasil: desafios no contexto da Saúde Pública. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 27, e2017127.

Silva Ramos, R., Rodrigues, A. B., Farias, A. L., Simões, R. C., Pinheiro, M. T., Ferreira, R. M., Costa Barbosa, L. M., Picanço Souto, R. N., Fernandes, J. B., Santos, L. D., & Almeida, S. S. (2017). Chemical Composition and *In Vitro* Antioxidant, Cytotoxic, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). *TheScientificWorldJournal*, 2017,4927214.

Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., & Pedrovick, P. R. (2010). Farmacognosia: da planta ao medicamento [Pharmacognosy: from the Plant to the Drug]. UFRGS: Porto Alegre, Barzil.

Sritabutra, D., & Soonwera, M. (2013). Repellent activity of herbal essential oils against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(4), 271–276. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60069-9](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60069-9)

Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S. D., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., ... & Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química nova*, 30(2), 351-355.

Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Maggi, F., & Benelli, G. (2017). Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary parasitology*, 245, 86-91

Takeda, P. S. (2008). Avaliação de biomassa e óleo de rebrotas de galhos e folhas de pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke) em plantios comerciais submetidos à poda e adubação. Dissertação de Mestrado, INPA/UFAM.

Tamm, L., Thürig, B., Fliessbach, A., Goltlieb, A. E., Karavani, S., & Cohen, Y. (2011). Elicitors and soil management to induce resistance against fungal plant diseases. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 58(3-4), 131-137.

Teixeira, M. D. G., & Barreto, M. L. (1996). Porque devemos, de novo, erradicar o *Aedes aegypti*. *Ciência & Saúde Coletiva*, 1, 122-136.

Teles, R. D. M., Filho, V. E. M., & Mouchrek, A. N. (2015). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Aniba duckei* Kosterman.

Vatanparast, J., Bazleh, S., & Janahmadi, M. (2017). The effects of linalool on the excitability of central neurons of snail *Caucasotachea atrolabiata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 192, 33-39

Veloso, R. A., Castro, H. G., Cardoso, D. P., Chagas, L. F. B., Freitas, A., & Júnior, C. (2015). Óleos essenciais de manjeriço e capim citronela no controle de larvas de *Aedes aegypti*. *Essential oils of basil and citronella grass in the control of larvae of Aedes aegypti*. *Revista Verde (Pombal-PB-Brasil)* v, 10(2), 101-105.

Viana, D. V., & Ignotti, E. (2013). A ocorrência da dengue e variações meteorológicas no Brasil: revisão sistemática. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 16(2), 240-256. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2013000200002>

Wojtunik, K. A., Ciesla, L. M., & Waksmundzka-Hajnos, M. (2014). Model studies on the antioxidant activity of common terpenoid constituents of essential oils by means of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(37), 9088-9094.

World Health Organization. (2012). Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020.

Zara, A. L. D. S. A., Santos, S. M. D., Fernandes-Oliveira, E. S., Carvalho, R. G., & Coelho, G. E. (2016). Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 25, 391-404.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Aline Medeiro Ferreira– 20%

Victor Elias Mouchrek Filho – 20%

Nilton Silva Costa Mafra– 13,3%

Everton Holanda Sales– 13,3%

Paulo Sérgio Santos Júnior – 13,3%

Gustavo Oliveira Everton– 20%