

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Vyhodnocení biocidní účinnosti esenciálních olejů na klíště  
obecné (*Ixodes ricinus*)**

**Bakalářská práce**

**Jakub Folke  
Chovatelství (ATZP)**

**Vedoucí práce Ing. Martin Kulma Ph.D.**

© 2021 ČZU v Praze



## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Vyhodnocení biocidní účinnosti esenciálních olejů na klíště obecné (*Ixodes ricinus*)" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Martinu Kulmovi, za jeho pevnou, avšak vstřícnou ruku, při vedení této bakalářské práce. Dále bych rád poděkoval kolektivu zaměstnanců Národní referenční laboratoře pro dezinsekcí a deratizaci a Oddělení pro chemickou bezpečnost výrobků při Státním zdravotním ústavu v Praze za jejich pomoc a instruktáž během pokusné části této práce.

# Vyhodnocení biocidní účinnosti esenciálních olejů na klíště obecné (*Ixodes ricinus*)

## Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá možností využití esenciálních olejů smrku ztepilého (*Picea abies*) a šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) jakožto alternativních biocidů proti klíštěti obecnému (*Ixodes ricinus*).

Teoretická část práce obsahuje základní informace o klíštěti obecném (*Ixodes ricinus*) a jeho vlivu na člověka a živočišnou produkci. Dále se zabývá problematikou nyní používaných biocidních přípravků proti klíštěti obecnému a výhodami i nevýhodami použití alternativních biocidů na bázi esenciálních olejů.

V praktické části byl uskutečněn laboratorní test biocidní účinnosti vybraných esenciálních olejů na dospělých samicích posbíraných v terénu metodou vlajkování. Biocidní aktivita byla prokázána u obou esenciálních olejů. Biocidní aktivita byla prokázána u obou esenciálních olejů. Větší biocidní aktivita byla zjištěna u šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*), u které byly spočítány hodnoty LC50= 3,732 ml/L, LC90= 19,741 ml/L, LC95= 25,186 ml/L a LC99= 37,213 ml/L roztoku. U smrku ztepilého (*Picea abies*) byly naměřeny hodnoty LC50= 6,444 ml/L, LC90= 28,072 ml/L, LC95= 35,427 ml/L a LC99= 51,674 ml/L roztoku.

Na základě výsledků provedeného pokusu lze označit oba testované esenciální oleje za akaricidy a doporučit jejich použití v rámci minimalizace použití syntetických biocidů a prevence rezistence u klíšťat. Z tohoto pohledu je žádoucí zaměřit intenzivní výzkum na možnosti vylepšení biocidní účinnosti například mikroenkapsulací či synergickým působením směsi různých silic, stejně jako na dlouhodobé sledování efektu subletálních dávek na cílové členovce. V neposlední řadě je pak nutností vybrat vhodný způsob implementace těchto přípravků v rámci integrovaného managementu hubení škůdců.

**Klíčová slova:** biopesticidy, akaricidy, klíště obecné, esenciální oleje, laboratorní testy biologické účinnosti

# Evaluation of biological effectiveness of essential oils on Castor bean tick (*Ixodes ricinus*)

## Summary

This bachelor thesis deals with the possibility of using the essential oils of Norway spruce (*Picea abies*) and common sage (*Salvia officinalis*) as an alternative biocides against sheep ticks (*Ixodes ricinus*).

The theoretical part of the thesis contains the basic information on the sheep tick (*Ixodes ricinus*) and its importance for humans and animal production. It also reviews the knowledge on currently used biocidal products against ticks and describes the advantages and disadvantages of using alternative biocides based on essential oils.

In the practical part, a laboratory bioassay of the biocidal efficacy of selected essential oils was performed against adult females collected in the field by the flagging. Biocidal activity of both essential oils was proved. Higher biocidal activity was found in case of *Salvia officinalis*, in which LC50= 3,732 ml/L, LC90= 19,741 ml/L, LC95= 25,186 ml/L and LC99= 37,213 ml/L of solution were measured. For spruce, LC50= 6,444 ml/L, LC90= 28,072 ml/L, LC95= 35,427 ml/L and LC99= 51,674 ml/L solution were measured.

Based on the obtained results, both tested essential oil were proved to have an acaricidal effect, and so, they might be used within sustainable tick management as an alternative to synthetic products. Also, their use might prevent the tick resistance to common biocides. Further research on sublethal doses, synergy of uses and improvement of efficacy and persistency, as well as implementation in the field, is therefore highly recommended.

**Keywords:** biopesticides, akaricides, sheep tick, essential oils, laboratory tests of biological efficacy

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod .....</b>	<b>I</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce.....</b>	<b>II</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše.....</b>	<b>III</b>
<b>3.1</b>	<b>Klíště jako vektor nemocí.....</b>	<b>III</b>
3.1.1	Lymeská borelióza .....	IV
3.1.2	Klíšťová encefalitida.....	V
<b>3.2</b>	<b>Klíště jako hrozba pro chov hospodářských zvířat .....</b>	<b>V</b>
<b>3.3</b>	<b>Používaná ochrana .....</b>	<b>VI</b>
3.3.1	Alternativní biocidy– esenciální oleje .....	VII
<b>4</b>	<b>Metodika .....</b>	<b>IX</b>
<b>4.1</b>	<b>Sběr vzorků.....</b>	<b>IX</b>
<b>4.2</b>	<b>Příprava pokusu .....</b>	<b>X</b>
<b>4.3</b>	<b>Metodika pokusu.....</b>	<b>XI</b>
<b>4.4</b>	<b>Vyhodnocení pokusu .....</b>	<b>XII</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>XII</b>
<b>5.1</b>	<b>Mortalita klíšťat.....</b>	<b>XII</b>
<b>5.2</b>	<b>Hodnoty LC .....</b>	<b>XVI</b>
<b>5.3</b>	<b>Výsledky plynové chromatografie .....</b>	<b>XVII</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>XVIII</b>
<b>6.1</b>	<b>Biocidní aktivita .....</b>	<b>XVIII</b>
<b>6.2</b>	<b>Vliv obsahu biologicky aktivních látek .....</b>	<b>XIX</b>
<b>6.3</b>	<b>Porovnání biocidní účinnosti se syntetickými akaricidy .....</b>	<b>XIX</b>
<b>6.4</b>	<b>Kritické body práce.....</b>	<b>XX</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>XXI</b>
<b>8</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>XXII</b>





# 1 Úvod

Klíště obecné (*Ixodes ricinus*) je neustálou zdravotní hrozbou nejen pro lidské zdraví, ale i pro domácí a divoká zvířata a chovy hospodářských zvířat. Přenáší tak zvané klíšťaty přenášené nemoci (nebo TBD, z anglického Tick-Borne diseases), jako jsou lymeská borelióza, klíšťová encefalitida, marseillská horečka, tularémie, bartonelóza, anaplasmóza, babezióza a další. Původci těchto nemocí jsou obsaženi v organismu klíšťat, často v zaživacím ústrojí, a přenášejí se během prisátí klíštěte na jeho hostitele (Dantas-Torres et al. 2012).

V rámci prevence přenosu těchto chorob, respektive prisátí klíštěte na hostitele, se používají biocidní a repelentní přípravky, většinou na syntetické bázi. Boj proti klíšťatům je však neustále obtížnější z důvodu neustálého zvyšování rezistence klíšťat vůči některým látkám, které jsou běžně obsaženy v používaných syntetických, biocidních a repelentních přípravcích. To vede ke zvyšování dávek, nutných na hubení těchto parazitů, čímž se zvyšují i finanční náklady spojené s nákupem a aplikací těchto látek. Dalším problémem je postupné zvyšování zátěže životního prostředí v místě použití oněch biocidních a repelentních látek, mající za následek ohrožení některých živočišných a rostlinných druhů v okolí aplikace (Sangster 2001).

Při hledání vhodné alternativy v boji proti těmto parazitům se již dlouhou dobu přihlíží k přírodním rostlinným olejům. Tyto oleje nabízí podobné vlastnosti jako látky obsažené v nyní používaných biocidních, respektive repelentních, látkách a nepředstavují markatní hrozbu pro mikroklima v místě jejich použití. Extrakce těchto olejů z rostlin je zatím ovšem složitější a nákladnější než produkce syntetických látek, obsažených v běžně používaných biocidních a repelentních přípravcích, a proto se velice špatně prosazují na trhu, kde dnes zauímají méně než 2 % z dostupných výrobků (Isman 2000). Z toho důvodu byla tato práce zaměřena na oleje ze šalvěje lékařské a smrku ztepilého, které jsou velmi dobře dostupné (pěstovatelné) a v případě smrku se jedná o vedlejší (odpadní) materiál z dřevařské produkce. Tudíž se jedná o varianty, které by při optimalizaci procesu produkce mohly býti nadějnými a cenově dostupnými alternativními akaricidy.

## **2 Cíl práce**

Cílem práce je zjistit akaricidní účinek vybraných esenciálních olejů na klíště obecné a porovnat je se syntetickými biocidy.

### 3 Literární rešerše

Klíště obecné (*Ixodes ricinus*) je typickým a nejrozšířenějším zástupcem čeledi klíšatovitých (*Ixodidae*) třídy pavoukoců (*Arachnida*) kmene členoců (*Arthropoda*). Tělo klíšat se skládá ze dvou hlavních částí – hlavičky (*gnathosoma*) a vlastního těla (*idiosoma*). Samička je žlutohnědá, velká až 4 mm. V nasátém stavu dosahuje délky až 11 mm a její barva se změní na fialovou. Červenohnědě zbarvení samci jsou jen asi 2 mm dlouzí. Samci mají tělní část krytou chitinizovaným štítem (*scutum*) a nepřijímají žádnou potravu. Samice mají štít pouze do jedné třetiny délky těla a zbytek těla je kryt kožovitou kutikulou, jež umožňuje mnohonásobné zvětšení samice při nasátí krve. Ústní ústrojí samice je dobře viditelné. Jeho základem je chobot (*hypostom*), který je opatřen zpětně zahnutými háčky. Ústrojí dále tvoří dvě klíškovitá kusadla (*chelicery*), rovněž vybavené nazpět zahnutými háčky. Tímto ústrojím klíšte nařizne pokožku hostitele a pevně se k němu přichytí. Při sání uvolňuje samice do hostitele enzym ixodin, který zamezuje srážení krve (Gardiner & Gettinby 1983, Lang et al. 1971).

Na spodní straně těla má dopředu klíšte čtyři páry nohou. Trávicí soustava samic je přizpůsobena parazitickému způsobu života. Na střevě jsou postranní laloky, které slouží jako zásobárna nasáté krve. Klíšata dýchají vzdušnicemi. Dýchací otvory se nacházejí po stranách na čtvrtém páru nohou. V cévní soustavě je vyvinuto srdce (Lang et al. 1971).

Klíště obecné má 4 životní stádia, počínaje vajíčkem, ze kterého se vyvinou larvy. Larvy se uchytí na prvního hostitele, ze kterého sají krev zhruba tři dny. Poté odpadnou na zem a začnou proměnu do stádia nymfy, která trvá několik měsíců. Po této době se vzniklá nymfa uchytí na dalšího hostitele, kde saje krev asi po dobu pěti dní. Následně opět odpadne a začne vývoj v dospělce. Dospělá samice hledá posledního, třetího hostitele, kde saje krev až týden. Poté odpadne, klade vajíčka a umírá. Samci klíšte krev nesají, hledají hostitele pouze pro účely spáření se se samicí na něm a po spáření rovněž umírají. Pro přežití a vývoj do každé fáze potřebují klíšata minimálně 85% vlhkost půdy (Stanek et al. 2012).

#### 3.1 Klíšte jako vektor nemoci

Klíšata jsou potenciálními přenašeči nejvíce patogenů ze všech krevsajících druhů členoců (Benelli et al. 2016) a jím přenášené nemoci jsou jedním z velkých problémů, se kterými se lidstvo potýká. Choroby, jejichž původci jsou klíšaty velice často přenášeny ohrožují zdraví lidí, domácích zvířat i hospodářských zvířat a divoké zvěře.

Klíště obecné je první členovec, u kterého byl prokázán přenos patogenů a dnes je spolu s komáry považováno za největšího přenašeče těchto patogenů na lidi a zvířata (Dantas-Torres et al. 2012). Klíšťata *Ixodes ricinus* jsou častým faktorem celkových metabolických onemocnění. Vedle nejčastější lymeské boreliózy a klíšťové encefalitidy jím mohou být přenášeny i patogeny, způsobující anaplasmózu (*Anaplasma fagocytophilum*), tularemii (*Francisella tularensis*), babesiózu (*Babesia divergens*), rikettsiózu (*Coxiella burnetii*) nebo bartonelózu (*Bartonella henselae*) (Dantas-Torres et al. 2012). Promořenost klíšťat patogeny se odvíjí hlavně od mikroklimatických a podmínek lokace a přítomnosti vhodné vegetace a hostitelů v dané lokaci (Süss et al. 2008).

Volně žijící divoká zvířata (hlavně malí savci) hrají v šíření klíšťat a klíšťaty přenášených chorob klíčovou roli. Volným pohybem těchto zvířat se totiž klíšťata šíří do větších vzdáleností a šíří se tak i potenciální nákaza klíšťaty přenášenými chorobami (Cull et al. 2017).

### 3.1.1 Lymeská borelióza

Zdaleka nejčastějším klíšťaty způsobeným onemocněním je Lymeská borelióza (Medlock et al. 2008). Její původce *Borrelia burgdorferi* se nachází v trávicí soustavě klíštěte a je v inaktivním stavu. Aktivuje se po přisátí klíštěte na hostitele, začne se množit a mění svůj fenotyp, kdy dochází k expresi vnějších proteinů (ospC), který jim umožní vstoupit do slinných žláz klíštěte a dochází k přenosu. Tento proces je zdlouhavý a udává se, že k přenosu boreliózy dochází nejméně po deseti hodinách od přisátí klíštěte, často však až po dni i déle. Za největší rezervoár boreliózy se považují malí savci jako myši, myšice, hraboši a podobně (Stanek et al. 2012).

Během výzkumu výskytu klíšťat infikovaných bakterií *Borrelia burgdorferi* na území České republiky RNDr. Kateřiny Kybicové Ph.D. z roku 2017 bylo testováno 526 klíšťat, sesbíraných na třech lokacích (městský park v Praze- Hostivaři, v okolí vesnice Stupno a na Králickém Sněžníku) na přítomnost *Borrelia burgdorferi* a u 91 (17,3 %) klíšťat byla přítomnost této bakterie prokázána. Největší promořenost byla prokázána u nymf a to u 63 z 213 testovaných (29,6 %) U samic bylo pozitivních 20 ze 107 testovaných (18,7 %) a nejnižší promořenost byla zjištěna u adultních samečů, kdy bylo pozitivních 8 ze 107 testovaných (7,5 %) (Kybicová et al. 2017).

### 3.1.2 Klíšťová encefalitida

Dalším velice častým onemocněním způsobeným klíšťaty je klíšťová encefalitida. Jejím původcem je RNA virus rodu *Flaviviridae*. Jelikož se virus nachází ve slinách, k přenosu dochází téměř okamžitě po přisátí klíšťete na hostitele. Během sání se virus ve slinách namnoží deseti- až stonásobně (Lindquist & Vapalahti 2008).

Výzkum Dr. Höniga z roku 2015 testoval 20 057 klíšťat, z nichž 64 bylo pozitivně testováno na přítomnost klíšťové encefalidity (0,32 %). Z toho většinu tvoří dospělci v počtu 10 pozitivních ze všech 1 228 testovaných (0,73 %). Nymf bylo pozitivně testováno 54 z 18 829 (0,29 %); (Hönig et al. 2015).

Z důvodu rozšiřování a narůstání případů těchto chorob se v posledních letech zvýšil zájem o repelentní i biocidní přípravky proti klíšťatům (Kröber et al. 2013).

## 3.2 Klíšťe jako hrozba pro chov hospodářských zvířat

Chov hospodářských zvířat je jedním ze stěžejních odvětví vyspělé společnosti. Uspokojuje nejen biologické potřeby populace skrze živočišné produkty, ale rovněž je neoddelitelnou součástí ekonomiky a půdního hospodářství téměř všech vyspělých a rozvojových zemí světa (De Castro 1997).

Krevní parazité obecně jsou velkou hrozbou venkovních chovů zvířat na celé planetě. Uvádí se, že nejméně 80 % veškeré světové populace dobytka v pastevních chovech má vysoké riziko nákazy minimálně jednou z klíšťaty přenášených chorob.

V chovu hospodářských zvířat je klíšťe velice častým vektorem infekčních chorob. Ty tak nepřímo ohrožují i člověka, jelikož při nákaze hospodářských zvířat je ohrožena kvalita živočišných produktů a potravin z nich získaných (syrové maso či mléko) a tím potenciálně ohrožují i zdraví jejich konzumentů (De Castro 1997). Je například prokázáno, že požití syrového, nepasterovaného mléka nebo nedostatečně tepelně opracovaného masa od zvířete nakaženého klíšťovou encefalitidou může klíšťovou encefalitidou nakazit i člověka. Všechny tyto problémy způsobují ekonomické ztráty v řádu miliard korun po celém světě, hlavně v tropických a subtropických oblastech (Lindquist & Vapalahti 2008, Salman et al. 2020).

Klíšťe obecné (*Ixodes ricinus*) představuje velké nebezpečí pro zdraví zvířat. Jen jeho pouhá přítomnost v chovu může způsobit stres, ztrátu krve nebo poškození srsti, respektive kůže nebo otevření ran, skrze které hrozí nákaza sekundární infekcí z vnějšího prostředí. Větší hrozbou je ovšem jejich nepřímý vliv na hospodářská zvířata, tedy infekce jednou z klíšťaty přenášených chorob, například klíšťovou encefalitidou nebo babeziózou (Pavela et al. 2016).

Tyto faktory jsou extrémním problémem v rozvojových zemích, které mají omezené možnosti pěstování rostlin, kvůli nedostatku vody a suchu a závisí tedy z majoritní části na extenzivním chovu zvířat. Jde hlavně o oblasti subsaharské Afriky, Asie a Jižní Ameriky (Benelli et al. 2016), (Minjauw & McLeod 2003), (Naqvi et al. 2017). V Africe je klíště dokonce řazeno mezi největší problémy živočišné produkce, spolu s mouchami tse-tse a trypanozomami (Young et al. 1988).

Těmto ztrátám je možné zabránit pouze úspěšným snížením počtu klíšťat v oblasti chovu. Pro tyto účely se nejčastěji používají syntetické látky na bázi organofosfátů, amidinů, pyrethroidů a avermektinu. Ty mají ovšem veliké nevýhody. Znečišťují okolní ekosystém, zanechávají rezidua v mase a mléce a klíšťata si proti nim vytváří rezistenci. (De Castro 1997).

### 3.3 Používaná ochrana

Ochrana zvířat před klíšťaty, respektive klíšťaty přenášenými chorobami je velkou výzvou pro národní i nadnárodní organizace a je zásadní pro bezpečnost potravin a udržitelnou a ekonomicky i environmentálně přijatelnou živočišnou produkci (Benelli 2019).

Aktivní ochrana proti klíšťatům dříve spočívala v plošném postřiku syntetických biocidů, které jsou sice účinné, ale rovněž svou toxicitou ohrožují necílené živočichy a rostliny a způsobují zdravotní problémy lidí i zvířat. Používaly se tekuté a granulované formy karbarylu (1-naftylmethylkarbamát), cyfluthrinu ([*(R)*]-kyano-[4-fluor-3-(fenoxy)fenyl]methyl) (1*R*,3*R*)-3-(2,2-dichlorethenyl)-2,2-dimethylcyklopropan-1-karboxylát), diazoninu (O,O-diethyl-O-[4-methyl-6-(propan-2-yl)pyrimidin-2-yl]fosforthoát) a chloropyrifu (O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichlor-2-pyridyl)-fosforthoát) (Dolan et al. 2007).

Ty však svou vysokou toxicitou způsobují svědění, pálení, slabost, nauzeu, křeče i poruchy vývoje plodu. Navíc jsou toxické i pro některé necílové skupiny živočichů – cyfluthrin je velmi toxický pro ryby, karbaryl pro korýše a diazinon pro ptáky.

V některých zemích jsou kvůli své toxicitě od roku 2004 zakázány (Barahona & Sánchez-Fortún 1999, Soni et al. 2011, Eaton et al. 2008).

Dalším problémem je, že dlouhodobé užívání syntetických biocidů způsobilo, že si klíšťata proti těmto přípravkům vytvořila do jisté míry odolnost neboli rezistenci (Kaplan & Vidyashankar 2012, Banumathi et al. 2017).

Rezistence obecně znamená schopnost cílových organismů přežít takovou dávkou biocidní látky, která by je běžně usmrtila. Formálně je definována jako posun v náchylnosti jedince

k dané látce (Kaplan & Vidyashankar 2012). V přímém vztahu k akaricidům či jiným látkám k hubení škůdců je definována jako selhání látek sloužících k těmto účelům (Sangster 2001).

Rozeznávají se tři základní typy rezistence. Rezistence získaná, jež je definována jako rezistence, jež je výsledkem dědičného snížení citlivosti k dané látce postupem času, křížová rezistence, která je rezistencí proti více biocidům se stejným mechanismem účinku a vícenásobná rezistence, jež je definována jako rezistence proti více druhům látek i přes to, že mají různé mechanismy účinku (Chapman 1997).

Jedním z oblíbených způsobů ochrany pastevních chovů zvířat je také pěstování aromatických trav a rostlin, které samy klíšťata odpuzují nebo jiným způsobem brání jejich šíření (například stylosanty, andropogony nebo melasové trávy). Nevýhodou tohoto způsobu ochrany hospodářských zvířat proti klíšťatům je, že tyto rostliny nesplňují nutriční požadavky chovatelů zvířat (Soares et al. 2010, Abbas et al. 2014).

### **3.3.1 Alternativní biocidy– esenciální oleje**

Esenciální oleje jsou nestabilní přírodní látky, tvořené aromatickými rostlinami jako sekundární metabolity, které slouží primárně k ochraně rostliny proti napadení virem, bakteriemi a houbami (plísněmi). Jejich složení a vlastnosti se liší v závislosti na druhu a vývojovém stádiu rostliny. Některé esenciální oleje díky své aromaticčnosti přitahují hmyz a pomáhají tak hmyzosnubným rostlinám množit se, jiné mohou mít repelentní nebo dokonce akaricidní efekt (Salman et al. 2020).

Z chemického hlediska jsou hlavně směsí terpenů, fenolů a fenylypropanů s přidanými látkami, jež zahrnují sloučeniny uhlovodíku, síry a dusíku. Celkem obsahují 20 až 60 různých látek, specifických pro každou rostlinu a její vývojové stádium (Salman et al. 2020).

Kvůli veřejným obavám ohledně dlouhodobých dopadů syntetických biocidů na životní prostředí, zejména v Evropě a severní Americe, se na trhu začaly objevovat i přípravky na přírodní bázi (Regnault-Roger et al. 1993). Biocidní přípravky na bakteriální i rostlinné bázi zahrnovaly k roku 2000 každý zhruba 1 % globálního trhu s insekticidy. Toto procento se ovšem razantně zvýšilo po zákazu organofosfátů a karbamátů (Salman et al. 2020). Kvůli složité extrakci esenciálních olejů z rostlin, jsou ovšem biocidy na bázi esenciálních olejů drahé, a proto na trhu stále z velké části převládají biocidy průmyslové (Regnault-Roger et al. 2012, Salman et al. 2020).

Biologická aktivita esenciálních olejů byla prokázána a demonstrována na vybraných škůdcích. Z dvaadvaceti esenciálních olejů, testovaných na zrnokazu fazolovém se jako

nejtoxicičtější ukázaly ty oleje, které byly bohaté na fenoly thymol a karbarol a ty, bohaté na terpinen-4-ol (Regnault-Roger et al. 2012; Isman 2000).

Největší výhodou použití esenciálních olejů jakožto biocidů je jejich minimální zátěž na životní prostředí. Některé látky (karvakrol, pulegon) ukázaly lehkou toxicitu. Při testech na myších byla dávka dvou až tří gramů na kilogram potravy letální z padesáti procent. Avšak při adekvátním zředění roztoku biocidu je letalita nulová. Při výzkumu toxického působení esenciálních olejů na statické vody byl nejtoxicičtější látkou eugenol. Avšak i po šestadevadesáti hodinovém testu byla letalita testovaného subjektu, pstruha duhového 1500krát nižší než při použití průmyslových biocidů (Isman 2000, Stroh et al. 1998).

Další velkou výhodou biocidů na bázi esenciálních olejů je jejich velice krátká doba biodegradace, která cíleným organismům téměř znemožňuje tvorbu rezistence k těmto látkám (Benelli et al. 2016).

Řada studií prokazuje rovněž vysokou repelentní účinnost esenciálních olejů vůči klíšťatům (Thorsell et al. 2006, Soares et al. 2010).

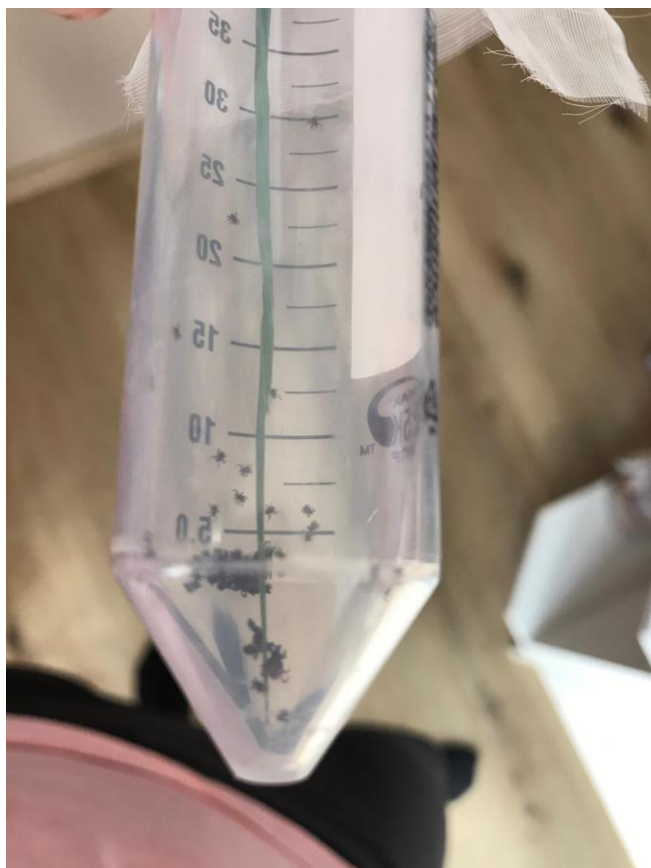


## 4 Metodika

Metodika výzkumu alternativních repelentů probíhala ve dvou fázích. Nejprve byla klíšťata nachytána ve volné přírodě metodou vlajkování a následně byla provedena testace samotných esenciálních olejů v laboratoři. Vzorky samotných esenciálních olejů byly podrobeny plynové chromatografii v rámci spolupráce s Oddělením pro chemickou bezpečnost výrobků ve Státním zdravotním ústavu.

### 4.1 Sběr vzorků

Klíšťata byla sbírána metodou vlajkování. Tato metoda využívá znalost vývojového cyklu klíštěte obecného, kdy jdou klíšťata sbírána během čekání na hostitele na vrcholku porostu na prapor z flanelové látky o rozměru 1 m<sup>2</sup> se středně dlouhým vlasem. Vláním praporu po porostu se klíště chytí na vlajku a následně je sebráno entomologickou pinzetou a vloženo do kónické zkumavky. Pro pokus byly chytány pouze samičí jedinci klíšťat. Entomologická pinzeta je plochá pinzeta z měkkého kovu, která umožňuje sběr entomologických vzorků bez většího rizika poranění sbíraného subjektu. Kónická zkumavka (takzvaná „falkonka“) je zkumavka o objemu 15 až 50 ml, určená pro odběr entomologických vzorků (viz Obrázek 1). Sběr klíšťat probíhal na několika lokalitách v Praze. V okolí naučné stezky Housle (50.1248714 N, 14.3598931 E) a Kunraticém lese (50.0250564 N, 14.4759994 E). Do zkumavky byla navíc vložena rostlinná biomasa, například list stromu, případně trávy, kvůli udržení minimální 80% vlhkosti, kterou klíšťata vyžadují k přežití. Po převozu bylo do uzávěru zkumavky vyvrtáno několik dýchacích otvorů, kvůli přístupu vzduchu. Mezi víko a závit zkumavky byl vložen čtverec jemné látky, aby se zamezilo úniku klíšťat skrz otvory ve víku. Takto upravené zkumavky byly uloženy v exsikátoru, s vlhkou vatou zajišťující 90 – 100 % vlhkost, v Národní referenční laboratoře pro desinsekcí a deratizaci státního zdravotního ústavu v Praze (NRL DD).



Obrázek 1: vzorky sezbíraných jedinců klíštěte obecného během transportu do národní referenční laboratoře. (Foto: Autor práce)

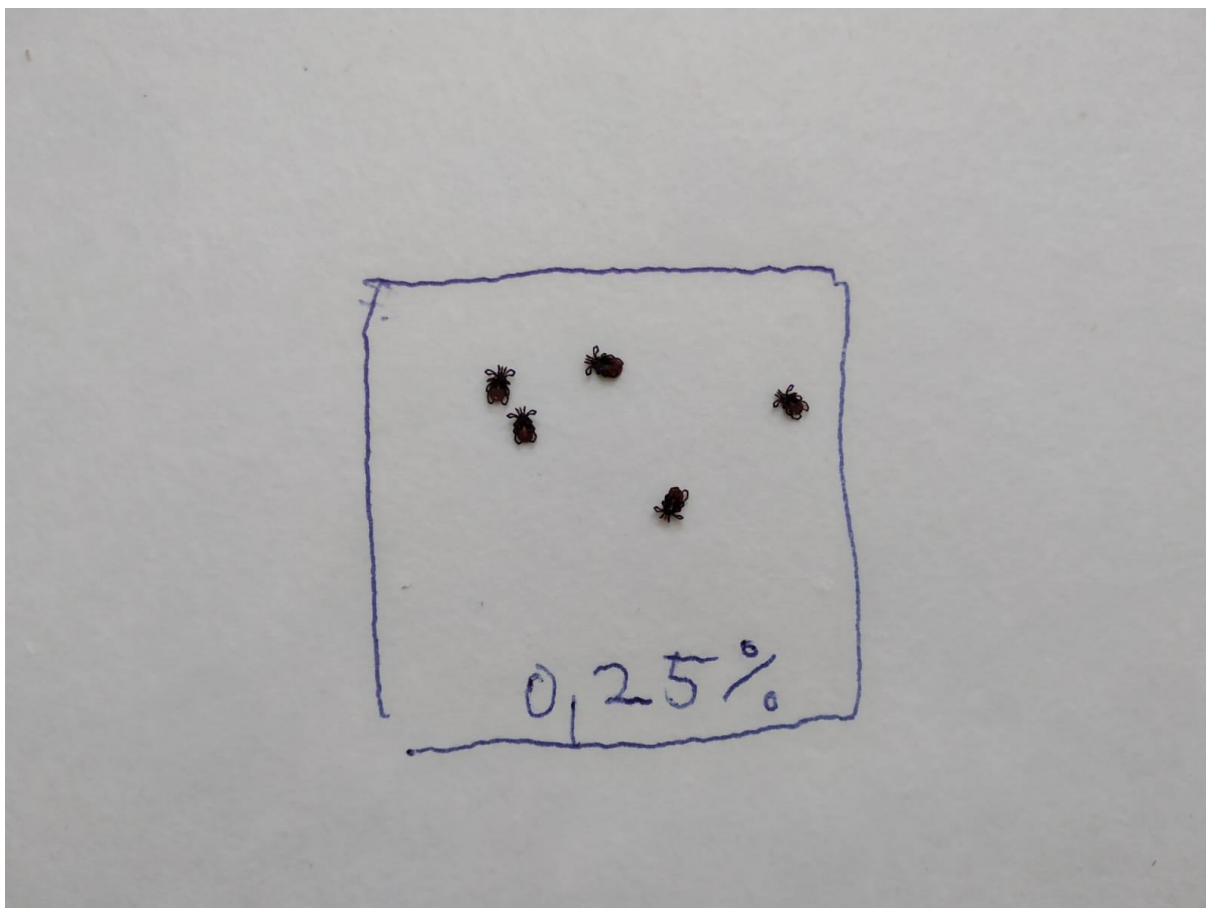
## 4.2 Příprava pokusu

Pokus i jeho příprava probíhaly v laboratorních podmínkách (teplota  $25 \pm 2$  °C, vlhkost 40–60 %) v NRL DD. Klíšťata byla vyjmuta z exsikátoru a umístěna do petriho misky. Na vnitřní okraj misky se pomocí vatové tyčinky nanasla vrstva fluonu (Ethen-tetrafluorethen), který díky své poréznosti zamezuje klíšťatům přejít přes okraj petriho misky. Byla připravena jedna, zatím prázdná petriho miska rovněž ošetřená fluonem na otestovaná klíšťata. V další fázi byl namíchán roztok konkrétního esenciálního oleje o konkrétní koncentraci do kádinky na ml. Pro pokus byly použity oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) a šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) o koncentracích 8 %, 4 %, 2 %, 1 %, 0,5 % a 0,25 %. Použité esenciální oleje byly značky Epam (Praha, Česká republika). Kvůli rozdílné hustotě vody a esenciálních olejů byl do roztoku přidán emulgátor Tween 20 (Sigma Aldrich, Praha, Česká republika), a to v množství 2 % z roztoku. Pro 10 ml 8% roztoku bylo tedy smícháno 9 ml destilované vody, 0,8 ml konkrétního esenciálního oleje a 0,2 ml tweenu, pro 10 ml 4% roztoku bylo smícháno 9,4 ml destilované vody, 0,4 ml esenciálního oleje a 0,2 ml tweenu, pro 0,2% roztok bylo použito 9,6 ml destilované vody, 0,2 ml esenciálního oleje a 0,2 ml tweenu, pro 1% roztok bylo použito 9,7

ml destilované vody, 0,1 ml esenciálního oleje a 0,2 ml tweenu, pro 0,5% roztok bylo použito 9,75 ml destilované vody, 0,05 ml esenciálního oleje a 0,2 ml tweenu a pro 0,25% roztok bylo použito 9,775 ml destilované vody, 0,025 ml konkrétního esenciálního oleje a 0,2 ml tweenu. Pro namíchání byly použity automatické mikropipety do 1000  $\mu$ l a 200  $\mu$ l, ruční skleněné pipety do 2 a 5 ml. Celý proces přípravy probíhá na savém podkladu, v tomto případě byl použit filtrační papír. Připravena byla rovněž kádinka se směsí ethanolu a benzínu k desinfekci nástrojů. Připraven byl také papír z buničiny, určený k sušení testovaných klíšťat. V poslední řadě se připravily zkumavky na uchování otestovaných jedinců.

### **4.3 Metodika pokusu**

Jednotliví jedinci klíšťat v petriho misce byli uchopení entomologickou pinzetou a ponořeni na dvě sekundy do roztoku esenciálního oleje. Poté byly položeny na buničinu, aby došlo k osušení (< 30 sekund). Poté byla klíšťata vložena do falkonky, která byla popsána datem testování, počtem jedinců v ní (v tomto případě zpravidla deset) a druhem testovaného oleje (smrk/šalvěj). Celkem bylo otestováno 424 samic klíštěte obecného, z toho 179 pro efekt roztoku šalvěje lékařské a 185 pro efekt roztoku smrku ztepilého. Dalších 60 klíšťat bylo testováno ponořením do směsi destilované vody a Tweenu 20 jako negativní kontrola. Po dokončení testu byly falkonky s testovanými klíšťaty vloženy do exsikátoru a po 24 hodinách byl zaznamenán počet uhynulých jedinců. Je důležité, aby testovaná klíšťata nebyla vložena do stejného exsikátoru s klíšťaty před testováním, aby nedošlo ke znehodnocení vlivem těkavosti potenciálně přítomných látek z již otestovaných klíšťat. Testování bylo provedeno ve třech opakováních ( $n = 9 - 12$  klíšťat) v každé koncentraci a ukončeno, když letalita klíšťat poklesla pod 50 %.



Obrázek 2: vyhodnocování mortality jednoho z esenciálních olejů. (Foto: Ing. Martin Kulma Ph.D.) – odečet mrtvých samic při koncentraci 0,25.

#### 4.4 Vyhodnocení pokusu

Výsledná data byla zpracována v programu Rstudio (Boston, USA). Pomocí tohoto programu byly vypočteny hodnoty LC50, LC90, LC95 a LC99. Ostatní výsledky byly zpracovány v programu Microsoft Excel.

### 5 Výsledky

#### 5.1 Mortalita klíšťat

Oba testované esenciální oleje dosáhly stoprocentní mortality testovaných jedinců *Ixodes ricinus* při koncentraci 8 %. Při koncentracích 4 %, 2 %, 1 % a 0,5 % měl pak efektivnější akaricidní účinek esenciální olej z šalvěje lékařské. Pouze v koncentraci 0,25 % byl silnější účinek smrkového esenciálního oleje.

**Tabulka 1:** mortalita testovaného esenciálního oleje šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) při koncentraci 8 %

Šalvěj 8%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	0	10	100,00%
2.pokus	0	10	100,00%
3.pokus	0	10	100,00%
celkem	0	30	100,00%

**Tabulka 2:** mortalita testovaného esenciálního oleje šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) při koncentraci 4 %

Šalvěj 4%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	1	9	90,00%
2.pokus	0	11	100,00%
3.pokus	0	10	100,00%
celkem	1	30	96,77%

**Tabulka 3:** mortalita testovaného esenciálního oleje šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) při koncentraci 2 %

Šalvěj 2%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	2	8	80,00%
2.pokus	1	9	90,00%
3.pokus	0	10	100,00%
celkem	3	27	90,00%

**Tabulka 4:** mortalita testovaného esenciálního oleje šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) při koncentraci 1 %

Šalvěj 1%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	1	9	90,00%
2.pokus	2	8	80,00%
3.pokus	2	7	77,78%
celkem	5	24	82,76%

**Tabulka 5:** mortalita testovaného esenciálního oleje šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) při koncentraci 0,5 %

Šalvěj 0,5%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	3	7	70,00%
2.pokus	2	8	80,00%
3.pokus	4	5	55,56%
celkem	9	20	68,97%

**Tabulka 6:** mortalita testovaného esenciálního oleje šalvěže lékařské (*Salvia officinalis*) při koncentraci 0,25 %

Šalvěj 0,25%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	5	5	50,00%
2.pokus	9	1	10,00%
3.pokus	8	2	20,00%
celkem	22	8	26,67%

**Tabulka 7:** mortalita testovaného esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) při koncentraci 8 %

Smrk 8%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	0	10	100,00%
2.pokus	0	10	100,00%
3.pokus	0	10	100,00%
celkem	0	30	100,00%

**Tabulka 8:** mortalita testovaného esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) při koncentraci 4 %

Smrk 4%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	1	11	91,67%
2.pokus	1	11	91,67%
3.pokus	0	12	100,00%
celkem	2	34	94,44%

**Tabulka 9:** mortalita testovaného esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) při koncentraci 2 %

Smrk 2%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	2	9	81,82%
2.pokus	1	8	88,89%
3.pokus	2	10	83,33%
celkem	5	27	84,38%

**Tabulka 10:** mortalita testovaného esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) při koncentraci 1 %

Smrk 1%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	4	6	60,00%
2.pokus	3	6	66,67%
3.pokus	5	5	50,00%
celkem	11	16	59,26%

**Tabulka 11:** mortalita testovaného esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) při koncentraci 0,5 %

Smrk 0,5%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	4	6	60,00%
2.pokus	6	4	40,00%
3.pokus	5	5	50,00%
celkem	15	15	50,00%

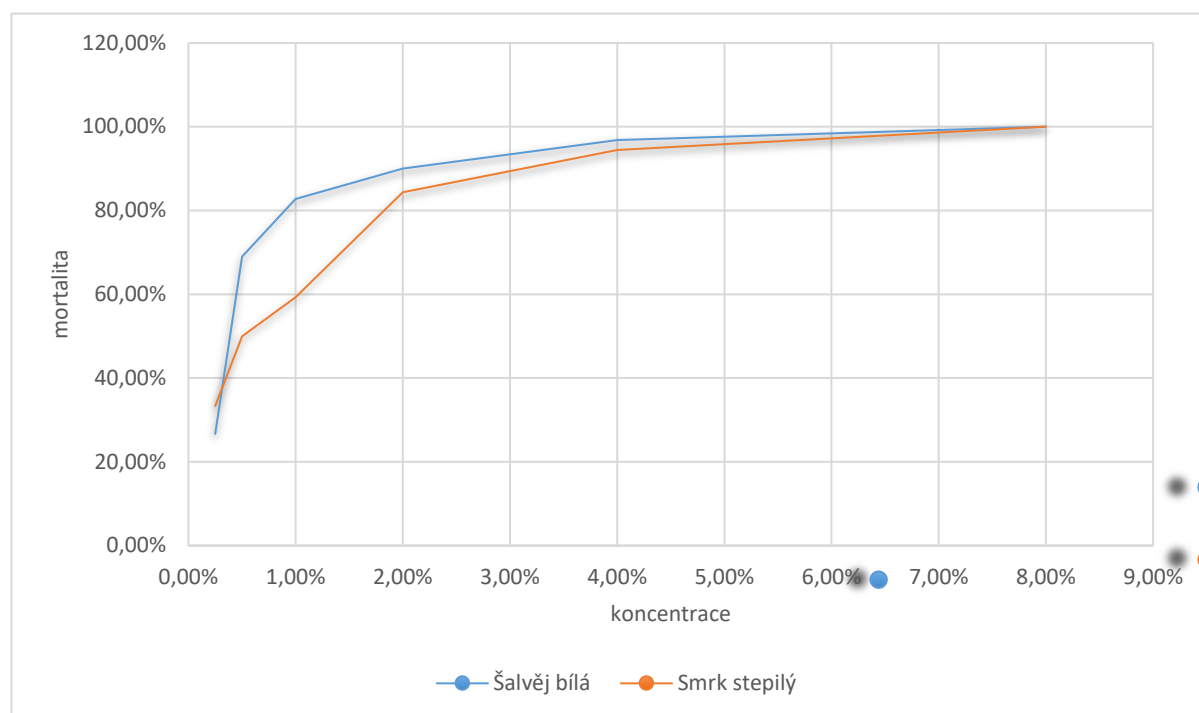
**Tabulka 12:** mortalita testovaného esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*) při koncentraci 0,25 %

Smrk 0,25%	Živá	Mrtvá	Mortalita
1.pokus	5	5	50,00%
2.pokus	7	3	30,00%
3.pokus	8	2	20,00%
celkem	20	10	33,33%

**Tabulka 13:** účinnost testovaných esenciálních olejů šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) a smrku ztepilého (*Picea abies*) na klíště obecné (*Ixodes ricinus*) při různých koncentracích (8%, 4%, 2%, 1%, 0,5% a 0,25%)

koncentrace	Šalvěj lékařská	smrk ztepilý
8,00%	100,00%	100,00%
4,00%	96,77%	94,44%
2,00%	90,00%	84,38%
1,00%	82,76%	59,26%
0,50%	68,97%	50,00%
0,25%	26,67%	33,33%

**Graf 1:** Porovnání účinnosti testovaných esenciálních olejů smrku ztepilého (*Picea abies*) a šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*).



## 5.2 Hodnoty LC

Hodnoty LC50, LC90, LC95 a LC99 byly vypočítány v programu STATISTICA dosazením zjištěné mortality.

**Tabulka 14:** Hodnoty LC50, LC90, LC95 a LC99 testovaného oleje smrku ztepilého (*Picea abies*), vypočítány pomocí programu Rstudio. Hodnoty jsou uvedeny v ml/L.

Chi-kvadrát test dobré přiléhavosti: 0,01768

Stupně volnosti: 4

Signifikance p = 0,99996

LC	LC vypočtená	Standard Error	Dolní mez (95%)	Horní mez (95%)
LC50	6,444	1,984	2,555	10,333
LC90	28,072	4,261	19,720	36,424
LC95	35,427	5,693	24,268	46,585
LC99	51,674	8,991	34,052	69,297



**Tabulka 15:** Hodnoty LC50, LC90, LC95 a LC99 testovaného oleje šalvěže lékařské (*Salvia officinalis*), vypočítány pomocí programu Rstudio. Hodnoty jsou uvedeny v ml/L.

Chí-kvadrát test dobré přiléhavosti: 0,12191

Stupně volnosti: 4

Signifikance  $p = 0,99822$

LD	LD vypočtená	Standard Error	Dolní mez (95%)	Horní mez (95%)
LC50	3,732	1,742	0,318	7,146
LC90	19,741	3,316	13,243	26,240
LC95	25,186	4,530	16,307	34,064
LC99	37,213	7,338	22,830	51,595

Biocidní aktivita byla prokázána u obou esenciálních olejů. Větší biocidní aktivita byla zjištěna u šalvěže lékařské (*Salvia officinalis*), u které byly spočítány hodnoty LC50= 3,732 ml/L, LC90= 19,741 ml/L, LC95= 25,186 ml/L a LC99= 37,213 ml/L roztoku. U smrku ztepilého (*Picea abies*) byly naměřeny hodnoty LC50= 6,444 ml/L, LC90= 28,072 ml/L, LC95= 35,427 ml/L a LC99= 51,674 ml/L roztoku.

### 5.3 Výsledky plynové chromatografie

Majoritními prvky v esenciálním oleji z šalvěže lékařské byl bergamol, citronellol a terpineol (Tabulka 16). U smrkového esenciálního oleje byl dominantní substancí bornyl acetát následován terpineolem (Tabulka 17).

**Tabulka 16:** primární chemické složení esenciálního oleje šalvěže lékařské (*Salvia officinalis*)

Chemické složení esenciálního oleje Šalvěže lékařské ( <i>Salvia officinalis</i> )		
Látka	doba retence (min)	Obsah (%)
Linalool	13,43	25,5
Terpineol	17,24	3,7
Citronellol	19,44	3,8
Bergamol	20,51	54,5

**Tabulka 17:** primární chemické složení esenciálního oleje smrku ztepilého (*Picea abies*)

Chemické složení esenciálního oleje smrku ztepilého ( <i>Picea abies</i> )		
Látka	doba retence (min)	Obsah (%)
Alfa-pinen	6,53	23,5
Kafr	15,05	8,5
terpineol	17,21	1,1
Bornyl acetát	21,64	33,1

## 6 Diskuze

### 6.1 Biocidní aktivita

Ze získaných výsledků a lze soudit, že esenciální oleje rostlin mají biocidní vlastnosti a jejich míra závisí na koncentraci použitého esenciálního oleje v roztoku. Při aplikaci 8% roztoků esenciálních olejů dochází spolehlivě k úmrtí všech testovaných jedinců klíšťat. Při aplikaci 0,25% roztoku esenciálního oleje dochází k úmrtí jen u méně než poloviny testovaných jedinců. Při kontrolní skupině klíšťat, na které byl aplikován 0% roztok testovaných esenciálních olejů, byla mortalita nulová. To prokazuje biocidní účinek těchto olejů.

Během experimentu, o kterém tato práce pojednává byla prokázána vyšší biocidní účinnost esenciálního oleje šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) než u smrku ztepilého (*Picea abies*), kdy zjištěná LC50 šalvěje lékařské (0,321mg/ml) je více než dvakrát nižší než LC50 smrku ztepilého (0,8304). Rovněž hodnoty LC90, LC95 a LC99 potvrzují fakt, že esenciální olej šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) má daleko lepší biocidní potenciál než esenciální olej smrku ztepilého.

Několik vědeckých prací rovněž potvrzuje biocidní účinnost esenciálních olejů nejen ke klíštěti obecnému. Například Dolan et al. (2007) potvrdil biocidní účinek tří esenciálních olejů a to pazeravu sbíhavého (*Calocedrus ducurrens*), cypřišku Lawsonova (*Chameacyparis lawsoniana*) a jalovce západního (*Juniperus occidentalis*) na klíště obecné (*Ixodes ricinus*), komára tropického (*Aedes aegypti*) a blechu morovou (*Xenopsylla cheopis*). Z těchto tří byla největší biocidní aktivita vůči klíštěti obecnému zjištěna u pazeravu sbíhavého (*Calocedrus ducurrens*) s hodnotou LC 50 zhruba 0,096 mg/ml roztoku, přičemž cypřišek Lawsonův a jalovec západní měli oba hodnotu LC 50 okolo 0,3mg/ml.

Lee et al. (2004) ve své práci testoval biocidní účinek esenciálních olejů několika druhů rostlin z čeledi myrtovitých na pilousi rýžovém (*Sitophilus oryzae*). Z dvaadvaceti vybraných rostlin projevilo silný biocidní účinek pouze šest, a to máta peprná (*Eucalyptus nicholii*), blahovičnick codonocarpa (*Eucalyptus codonocarpa*), štetkovec siberní (*Callistemon sieberi*), kajeput třpytný (*Melaleuca fulgens*), blahovičnick blakelyův (*Eucalyptus blakelyi*) a kajeput

armilaris (*Melaleuca armillaris*). LC50 těchto druhů byla 29.0, 19.0, 27.3, 28.6, 31.2 a 30.6 µl/l vzduchu. Tyto výsledky indikují, že esenciální oleje rostlin nemají biocidní potenciál na stejné úrovni.

## 6.2 Vliv obsahu biologicky aktivních látek

Míra biocidní účinnosti závisí na koncentraci biologicky aktivních látek, která je velice různorodá. Plynová chromatografie prokázala přítomnost několika biologicky aktivních látek v obou testovaných esenciálních olejích. Jmenovitě se jedná o terpineol, což je biologicky aktivní látka ze skupiny terpenů, která byla nalezena v obou testovaných esenciálních olejích. V esenciálním oleji šalvěže lékařské (*Salvia officinalis*) byla jeho koncentrace 3,7 % ze vzorku a v esenciálním oleji smrku ztepilého (*Picea abies*) byla jeho koncentrace 1,1 %. V šalvěži lékařské (*Salvia officinalis*) byl pak nalezen i obsah bergamolu v koncentraci 54,5 % vzorku a obsah linaloolu v koncentraci 25,5 % vzorku. V esenciálním oleji smrku ztepilého byl pak mimo jiné nalezen alfa-pinen v koncentraci 23,5 % ze vzorku. Všechny výše zmíněné látky patří do skupiny terpenů, u kterých jsou prokázány biocidní účinky (Cardoso et al. 2020). Můžeme tedy konstatovat, že koncentrace těchto látek ze skupiny terpenů v esenciálních olejích ovlivňuje jejich biocidní, respektive akaricidní vlastnosti.

Toto tvrzení potvrzuje Coskun et al. (2008), který ve svém experimentu využívá přítomnosti karvakrolu v esenciálním oleji Oregana řeckého (*Origanum onites*) k demonstraci jeho biocidního účinku vůči zástupci čeledi klíšťatovitých (*Rhipicephalus turanicus*). Z dalších experimentů například Andreotti et al. (2013) uvádí úspěšné využití esenciálního oleje Aksamitníku menšího (*Tagetes minuta*) v chovu hospodářských zvířat, coby ochranu proti Pijákovi tropickému (*Rhipicephalus mikropus*), díky obsahu dihydro tagetonu, limonenu či beta-ocimenu. Všechny tyto zjištěné biologicky aktivní látky obsahují terpenové skupiny, nebo se samy mezi terpeny řadí. Proto lze soudit, že biocidní, respektive akaricidní či pesticidní účinek esenciálních olejů se odvíjí mimo jiné od množství v nich obsažených terpenových látek.

## 6.3 Porovnání biocidní účinnosti se syntetickými akaricidy

V porovnání se syntetickými akaricidy jsou přírodní akaricidy, respektive biocidy všeobecně méně efektivní. To dokládá například práce Gashouta et al. (2018), v rámci které se porovnával biocidní účinek přírodních látek a syntetických akaricidů na včelách. Z přírodních látek zde měl nejvyšší účinnost thymol, jež se řadí opět do skupiny terpenů a je složkou řady

esenciálních olejů (Salman et al. 2020b), přičemž LC 50 byla v jeho případě 51.250 µg na včelu, což je mnohonásobně vyšší dávka, než u testovaných syntetických akaricidů, u nichž byly stanoveny LC 50 v hodnotách 0,448 µg na včelu (Tau-fluvilinát), 1,984 µg na včelu (Amitraz) a 6,232 µg na včelu (Kumafos). Z toho se dá vyvodit, že přestože esenciální oleje s vysokým obsahem terpenových látek mají akaricidní potenciál, syntetické akaricidy jsou v tomto ohledu mnohokrát efektivnější.

## **6.4 Kritické body práce**

Absence jednotné metodiky podobných testů a hodnocení je velkým problémem v této, ale i dalších pracích. Metodika je pochopitelně důležitým faktorem při testování biocidních vlastností esenciálních olejů. Protože neexistuje standardizovaná metodika pro podobné testy či výzkumy, různé studie využívají různé metodické postupy při testování biocidní aktivity esenciálních olejů a tím vzniká nesoulad. Například experiment, provedený v rámci této bakalářské práce, využívá metodiku inspirovanou prací Jia et al. (2018) s několika úpravami, při které byli testovaní jedinci klíšťat v přímém kontaktu se standardizovaným roztokem daného esenciálního oleje na pět sekund, zatímco při obdobném imerzním testu v práci Salmana et al. (2020) byli testovaní jedinci klíšťat v kontaktu s testovaným esenciálním olejem pět minut.

## 7 Závěr

Tato práce popisuje experiment, jež měl za úkol vyhodnotit biocidní účinnost esenciálních olejů smrku ztepilého (*Picea abies*) a šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*) vůči Klíštěti obecnému (*Ixodes ricinus*), členovci, který je neoddělitelně spjatý s přenášením nejrůznějších nemocí a patogenů na lidi, divokou zvěř a hospodářská zvířata. Biocidní aktivita byla prokázána u obou esenciálních olejů. Větší biocidní aktivita byla zjištěna u šalvěje lékařské (*Salvia officinalis*), u které byly spočítány hodnoty LC50= 3,732 ml/L, LC90= 19,741 ml/L, LC95= 25,186 ml/L a LC99= 37,213 ml/L roztoku. U smrku ztepilého (*Picea abies*) byly naměřeny hodnoty LC50= 6,444 ml/L, LC90= 28,072 ml/L, LC95= 35,427 ml/L a LC99= 51,674 ml/L roztoku.

Během experimentu bylo prokázáno, že tyto oleje se dají využít jako alternativní biopesticidy, ale efektivitou se ovšem nedokážou vyrovnat syntetickým biocidním přípravkům. Na druhou stranu, na rozdíl od syntetických přípravků, neohrožují životní prostředí a necílové živočišné druhy.

Využití esenciálních olejů rostlin, jakožto alternativních biocidů proti klíštěti obecnému je velice perspektivní disciplína, avšak v první řadě je zapotřebí sjednotit metodiku jejich výzkumů a získat více dat.

## 8 Literatura

- Abbas RZ, Zaman MA, Colwell DD, Gilleard J, Iqbal Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. *Veterinary parasitology* 203(1-2): 6-20.
- Andreotti R, Garcia MV, Cunha RC, Barros JC. 2013. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in a cattle pen trial. *Veterinary Parasitology* **197**:341–345.
- Banumathi B, Vaseeharan B, Rajasekar P, Prabhu NM, Ramasamy P, Murugan K, Canale A, Benelli G. 2017, September 15. Exploitation of chemical, herbal and nanoformulated acaricides to control the cattle tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* – A review. *Veterinary parasitology* 244:102-110.
- Barahona M V., Sánchez-Fortún S. 1999. Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso-OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity. *Environmental Pollution* **104**:469–476.
- Benelli G. 2019, July 1. Managing mosquitoes and ticks in a rapidly changing world – Facts and trends. *Saudi Journal of Biological Sciences* **26**(5): 921-929.
- Benelli G, Pavela R, Canale A, Mehlhorn H. 2016, July 1. Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases? *Parasitology research* **115**(7): 2545-2560.
- Cardoso A dos S, Santos EGG, Lima A da S, Temeyer KB, Pérez de León AA, Costa LM, Soares AM dos S. 2020. Terpenes on *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: Acaricidal activity and acetylcholinesterase inhibition. *Veterinary Parasitology* **280**:109090.
- Chapman HD. 1997, June 12. Biochemical, genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. *Avian pathology* **26**(2): 221–224.
- Coskun S, Girisgin O, Kürkcüoğlu M, Malyer H, Girisgin AO, Kırmıer N, Baser KH. 2008. Acaricidal efficacy of *Origanum onites* L. essential oil against *Rhipicephalus turanicus* (Ixodidae). *Parasitology Research* **103**:259–261.
- Cull B, Vaux AGC, Ottowell LJ, Gillingham EL, Medlock JM. 2017. Tick infestation of small mammals in an English woodland. *Journal of Vector Ecology* **42**:74–83.
- Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. 2012, October. Ticks and tick-borne diseases: A One Health perspective. *Trends in Parasitology* **28**(10): 437–446.
- De Castro JJ. 1997. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. Pages 77–97 *Veterinary Parasitology* **71**(2-3): 77–97.
- Dolan MC, Dietrich G, Panella NA, Montenieri JA, Karchesy JJ. 2007a. Biocidal activity of three wood essential oils against *Ixodes scapularis* (acari: Ixodidae), *Xenopsylla cheopis* (siphonaptera: Pulicidae), and *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae). *Journal of Economic Entomology* **100**:622–625.
- Eaton DL et al. 2008, September 21. Review of the toxicology of chlorpyrifos with an emphasis on human exposure and neurodevelopment. *Critical Reviews in Toxicology* **38**(2): 1–125
- Garcia MV, Matias J, Barros JC, de Lima DP, Lopes R da S, Andreotti R. 2012. Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effect on ticks. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* **21**:405–411.
- Gardiner WP, Gettinby G. 1983. A weather-based prediction model for the life-cycle of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. *Veterinary Parasitology* **13**:77–84.
- Gashout HA, Goodwin PH, Guzman-Novoa E. 2018. Lethality of synthetic and natural acaricides to worker honey bees (*Apis mellifera*) and their impact on the expression of health and detoxification-related genes. *Environmental Science and Pollution Research* **25**:34730–34739.

- Hönig V et al. 2015. Ticks and tick-borne pathogens in South Bohemia (Czech Republic) - Spatial variability in *Ixodes ricinus* abundance, *Borrelia burgdorferi* and tick-borne encephalitis virus prevalence. *Ticks and Tick-borne Diseases* **6**:559–567.
- Isman MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* **19**(8–10): 603–608
- Jia M, He Q, Wang W, Dai J, Zhu L. 2018. Chemical composition and acaricidal activity of *Arisaema anurans* essential oil and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology* **261**:59–66.
- Kaplan RM, Vidyashankar AN. 2012. An inconvenient truth: Global worming and anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology* **186**:70–78.
- Kröber T, Bourquin M, Guerin PM. 2013. A standardised in vivo and in vitro test method for evaluating tick repellents. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **107**:160–168.
- Kybicová K, Bašťová K, Malý M. 2017. Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Anaplasma phagocytophilum* in questing ticks *Ixodes ricinus* from the Czech Republic. *Ticks and Tick-borne Diseases* **8**:483–487.
- Lang J., Pravda O., Doskočil J., Hůrka K. 1971, Zoologie 1, SPN, Praha
- Lee BH, Annis PC, Tumaalii F, Choi WS. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research* **40**:553–564.
- Lindquist L, Vapalahti O. 2008, May. Tick-borne encephalitis. *THE LANCET* **371**(9627): 1861–1871
- Medlock JM, Pietzsch ME, Rice NVP, Jones L, Kerrod E, Avenell D, Los S, Ratcliffe N, Leach S, Butt T. 2008. Investigation of ecological and environmental determinants for the presence of questing *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) on Gower, South Wales. *Journal of Medical Entomology* **45**:314–325.
- Minjauw B, McLeod A. 2003. Tick-borne diseases and poverty: the impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihoods of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa. Tick-borne diseases and poverty: the impact of ticks and tick-borne diseases on the livelihoods of small-scale and marginal livestock owners in India and eastern and southern Africa. DFID Animal Health Programme, Centre for Tropical Veterinary Medicine.
- Naqvi MA ul H, Khan MK, Iqbal Z, Rizwan HM, Khan MN, Naqvi SZ, Zafar A, Sindhu Z ud D, Abbas RZ, Abbas A. 2017. Prevalence and associated risk factors of haemoparasites, and their effects on hematological profile in domesticated chickens in District Layyah, Punjab, Pakistan. *Preventive Veterinary Medicine* **143**:49–53.
- Pavela R, Canale A, Mehlhorn H, Benelli G. 2016, December 1. Application of ethnobotanical repellents and acaricides in prevention, control and management of livestock ticks: A review. *Research in Veterinary Science* **109**: 1–9
- Regnault-Roger C, Hamraoui A, Holeman M, Theron E, Pinel R. 1993. Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *Acanthoscelides Obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Chemical Ecology* **19**:1233–1244.
- Regnault-Roger C, Vincent C, Arnason JT. 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology* **57**:405–424.
- Salman M, Abbas RZ, Israr M, Abbas A, Mehmood K, Khan MK, Sindhu Z ud D, Hussain R, Saleemi MK, Shah S. 2020, July 1. Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. *Veterinary Parasitology* **283**
- Sangster NC. 2001. Managing parasiticide resistance. *Veterinary Parasitology* **98**:89–109.
- Soares SF, Borges LMF, de Sousa Braga R, Ferreira LL, Louly CCB, Tresvenzol LMF, de Paula JR, Ferri PH. 2010. Repellent activity of plant-derived compounds against

- Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. *Veterinary Parasitology* **167**:67–73.
- Soni I, Syed F, Bhatnagar P, Mathur R. 2011. Perinatal toxicity of cyfluthrin in mice: Developmental and behavioral effects. *Human and Experimental Toxicology* **30**:1096–1105.
- Stanek G, Wormser GP, Gray J, Strle F. 2012. Lyme borreliosis. *THE LANCET* **379**(9816): 461–473.
- Stroh J, Wan MT, Isman MB, Moul DJ. 1998. Evaluation of the acute toxicity to juvenile pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils, a formulated product, and the carrier. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **60**:923–930.
- Süss J, Klaus C, Gerstengarbe FW, Werner PC. 2008, January 1. What makes ticks tick? Climate change, ticks, and tick-borne diseases. *Journal of Travel Medicine* **15**(1): 39–45.
- Thorsell W, Mikiver A, Tunón H. 2006. Repelling properties of some plant materials on the tick *Ixodes ricinus* L. *Phytomedicine* **13**:132–134.
- Young AS, Grocock CM, Kariuki DP. 1988. Integrated control of ticks and tick-borne diseases of cattle in Africa. *Parasitology* **96**:403–432.