

Ефективність дії природних акарицидів на імаго іксодових кліщів (*Ixodes ricinus*)

Воронова Н. В., Горбань В. В., Богаткіна В. А.

ORCID: 0000-0002-0186-7584;

Запорізький національний університет, Україна

180270n@gmail.com

Ключові слова:

іксодові кліщі, акарициди,
репеленти, ефірні олії

Необхідність обмеження популяцій іксодових кліщів – одне з найважливіших завдань сучасної науки в напрямі пошуку більш сильних, ефективних та екологічно безпечних акарицидів. Нами досліджено хімічний склад ефірних олій *Salvia officinalis* L., *Thymus serpyllum* L. та *Pinus sylvestris* L. та їхні потенційні акарицидні властивості проти іксодових кліщів. Досліджено 730 екземплярів іксодових кліщів, зібраних стандартним методом на прапор у період із травня 2018 року по червень 2019 року в біогеоценозах Запорізької області. Результати досліджень показали акарицидну дію ефірних олій шавлії, лікарської та чабрецю повзучого. Так, LD₅₀, розрахований для ефірної олії шавлії склав 3,0% за 24 години, а для чабрецю – 1,0% за 2 години. Ефірна олія сосни звичайної виявила себе як аттрактант. Зроблено припущення, що ефірні олії є перспективними як альтернативні препарати для обмеження чисельності іксодових кліщів на територіях, де склалися умови інфікування кліщовими інфекціями.

The efficacy of natural acaricide application against ixodidae (*Ixodes ricinus*)

Voronova N. V., Horban V. V., Bohatkina V. A.

Zaporizhzhia National University, Ukraine

Key words:

Ixodes ticks, acaricides,
repellents, essential oils

This article presents the results of experimental studies on refined methods of controlling *Ixodes* tick populations via the utilization of potent and effective acaricides. In order to determine potential acaricidal properties essential oils from the *Salvia officinalis* L., *Thymus serpyllum* L., and *Pinus sylvestris* L. plants were selected. In order to extract the essential oils steam distillation was used, which takes advantage of the volatility of a compound to evaporate when heated with steam and the hydrophobicity of the compound to separate into an oil phase during condensation. The composition of the essential oils was studied by gas chromatography. The search for more potent and effective acaricides that can be used to limit populations of *Ixodes* ticks is one of the most important tasks of modern science. The purpose of our work was to suggest the use of new methods of eliminating or controlling the tick population in the Zaporizhzhia region. The main advantage of this new proposed method, in comparison with existing strategies, is environmental safety. Experimentation involving 730 specimens in the Zaporizhzhia region began in May, 2018 and ended in June, 2019. Through our experiments, we determined the viability of *Salvia officinalis* L and *Thymus serpyllum* L essential oils as potential acaricides. The LD 50 calculated for both essential oils was 3% in 24 hours and 1% in 2 hours, respectively. The agent used to attract the ticks was pine extract. Thus, we suppose that the implementation of these essential oils as acaricides reduce tick populations, thereby limiting the chance of contracting tick-borne diseases. Our tests demonstrate that *Salvia officinalis* L., and *Thymus serpyllum* L. are the most effective repellants amongst the rest of the examined plants. The essential oils of these plants, when used as a solvent, had a more powerful influence upon *Ixodidae*. The results indicate that essential oils could be used to counter the tick populations in areas with higher incidences of tick-borne infection.

Вступ

Хвороби, що передаються іксодовими кліщами, становлять небезпеку для здоров'я населення та тварин у всьому світі^{1,2}. Швидкі глобальні зміни, з якими стикається наша планета, особливо ті, що опосередковані людиною, також впливають на екологію та епідеміологію інфекційних захворювань, включаючи кліщові захворювання³. Іксодиди почали активно опановувати нові екологічні ніші, й зросла можливість контакту людей з цими переносниками та ймовірність зараження їх збудниками трансмісивних інфекцій. У США, незважаючи на значні зусилля, в останні десятиліття щодо поліпшення нагляду та контролю над іксодовим кліщовим бореліозом, як і раніше, Лайм бореліоз, залишається найбільш поширеним захворюванням, що передається кліщами. За офіційними даними, щороку до центру з контролю за захворюваністю надходить інформація про 30000 випадків Лайм бореліозу (Centers for Disease Control and Prevention, CDC. 24/7. <https://www.cdc.gov/lyme/stats/tables.html>).

У Канаді після впровадження офіційного моніторингу за Лайм бореліозом у 2009 році кількість зареєстрованих випадків збільшилася більш ніж у десятки разів – із 144 випадків до 2025 випадків, зафіксованих у 2017 році⁴.

Щодо ситуації в Європі вчені проаналізували статистичні дані щодо випадків захворюваності на Лайм бореліоз. Так, було з'ясовано, що Центральна Європа має найвищі показники випадків цієї хвороби. Так, у Словенії середні показники захворюваності склали понад 130/100000. У країнах, що межують з Україною, таких як Польща та Словаччина, ці показники були нижчими – 16/100000⁵.

Учені з України проаналізували епідеміологічну ситуацію щодо захворюваності на Лайм бореліоз на території України⁶. Результати досліджень виявили природні вогнища захворюваності цієї хвороби щонайменше у 8 регіонах. Білецька Г. В. та інші виявили, що основним вектором поширення збудників цієї хвороби є *Ixodes ricinus*.

У попередній публікації ми також повідомляли, що в Запорізькій області існують умови для інфікування збудниками хвороб, які переносять іксодові кліщі: Лайм бореліоз, кліщовий енцефаліт (КЕ), Крим-Конго геморагічна лихоманка, лихоманка Західного Нілу та вірус Батаї. У *I. ricinus* антиген борелій та вірусу КЕ виявлено відповідно в 6,3% та 13,3% досліджуваних особин⁷.

Так, одним із наймасовіших видів іксодових кліщів на території Запорізької області є *Ixodes ricinus*⁸. Цей вид майже рівномірно розподілений і в природних, і в штучних лісових біогеоценозах зони дослідження.

Зважаючи на ці факти, обмеження чисельності іксодових кліщів є одним із найважливіших завдань ветеринарної науки та вимагає пошуку нових, екологічних та високоефективних акарицидів^{9,10}. Вважається, що застосування рослинних екстрактів, окремо або в комбінації, може знизити стійкість кліщів до акарицидних продуктів¹¹.

Із літературних джерел відомо¹², що склад ефірних олій залежить від віку рослини, пори року та кліматичних умов, тобто умов зростання загалом. Метою нашої роботи є виявлення рослини місцевої флори та ефективні концентрації ефірних олій, які виявляють акарицидну активність щодо імаго *I. ricinus*. А також з'ясувати домінуючі сполуки компонентного складу легкої фракції ефірних олій, які можуть вважатися потенційними акарицидами.

Матеріали та методи

Об'єкт дослідження – іксодові кліщі *Ixodes ricinus* природних і штучних лісових насаджень Запорізької області. Збори імаго проводилися згідно із загальноприйнятими методиками на прапор¹³. Цей метод був нами удосконалений за методикою Rulison та ін.¹⁴, що дозволило зібрати більшу кількість кліщів. У біогеоценозах фіксували рослини, із яких були зібрані кліщі.

У лабораторних умовах голодних кліщів зберігали в пробірках із кришкою ємністю 10 мл, у яку попередньо розміщали шматок вологого стерильного бинта. На пробірці фіксували місце збору, дату і час, проводили ідентифікацію кліщів за визначником¹⁵.

Ефірна олія була одержана із сировини рослин, зібраних у місцях мешкання іксодових кліщів у природних і штучних біогеоценозах Запорізької області: шавлії лікарської (*Salvia officinalis* L.), чабрецю повзучого (*Thymus serpyllum* L.), сосни звичайної (*Pinus sylvestris* L.), методом перегонки з водяною парою за методикою, згідно з вимогами Європейської Фармакопеї¹⁶. Отримані ефірні олії розводили у воді, що містила 2,0 % емульгуючого агента (СПЕН 80) у потрібних концентраціях. Розчини зберігалися до одного тижня при 4°C. Перед тим як застосовувати в експерименті, флакон енергійно струшували упродовж 2 хв.

Для розділення, ідентифікації та кількості визначених компонентів в ефірних оліях ми застосовували газову хроматографію з полуменево-іонізаційним детектором «Agilent Technology» (модель 7890), яка швидко й точно ідентифікує кількість компонентів, наявних у складних системах, що містять багато летких компонентів. Для відділення летких речовин використовували капілярну колонку з плавленого кварцу DB-WAX (внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина плівки 0,25 мм і довжина 60 м). Програмування температури складало 65°C (10 хв), потім від 65°C до 220°C (30 хв), та витримували при 220°C упродовж 10 хв. Температуру інжектора підтримували на рівні 220°C, а як газ-носії використовували гелій зі швидкістю потоку 1,5 мл/хв та з поділом 1:100. Ідентифікацію речовин проводили за часом утримання стандартних зразків (Sigma-Aldrich).

Отримані ефірні олії чабрецю повзучого, шавлії лікарської та сосни звичайної оцінювали на предмет потенційної акарицидної активності щодо самиць імаго кліщів *Ixodes ricinus* при місцевому застосуванні, а також проводили тести щодо відповіді на дозування запахової стимуляції та оцінювали рівень смертності через 2, 5 та 24 години впливу.

Для перевірки акарицидних властивостей ефірної олії при вдиханні використовували метод, що був запропонований вченими¹⁷, із незначними модифікаціями. Імаго кліщів розміщували в

циліндричні ємності місткістю 25 мл із тампоном із собачої вовни, що був підвішений на кришці. Тампони з чотирьох ємностей замочували в різних концентраціях – 0,5%, 1%, 3%, 5% розчину ефірної олії з емульгуючим агентом, а п'яту використовували для контролю. Для підтримки відповідного рівня вологості в ємності знаходився змочений водою фільтрувальний папір.

Усі біологічні дослідження проводили в лабораторних умовах при температурі 25±1°C при відносній вологості 65±5% та 12-годинному фотоперіоді.

Гостру токсичність основних летких компонентів встановлювали зазначеним методом розведення ефірних олій. Під час досліду враховували загальний стан і загибель кліщів. LD₅₀ розраховували за формулою Г. Кербера¹⁸:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(Z \times D)}{m},$$

де: LD 100 – доза, від якої загинули всі тварини;

Σ – символ суми;

Z – половина загальної кількості тварин, які загинули від двох наступних доз;

D – різниця числового значення двох доз, які стоять поруч;

m – кількість тварин у групі на кожну дозу.

Результати вимірювань обробляли з використанням програми PAST 3.25. Для порівняння середніх значень використовували ANOVA та двосторонній рівень значимості. Критичний рівень статистичної значимості приймався рівним 0,05. Результати спостережень описували як середнє значення ± стандартна похибка ($x \pm se$) отриманих щонайменше для десяти незалежних експериментів.

Розрахунок середньосмертельної дози проводили методом найменших квадратів із використанням регресійного аналізу.

Результати

У травні-червні 2018-2019 рр. нами було зібрано 730 екземплярів самиць кліщів *I. ricinus* у природних та штучних біогеоценозах Запорізької області, на яких було вивчено акарицидні властивості ефірних олій, що були отримані з трьох видів рослин місцевої флори: *Salvia officinalis*, *Thymus serpyllum* та *Pinus sylvestris*.

Здатність виявляти акарицидні властивості проти імаго кліща *Ixodes ricinus* показана в таблиці 1. Різні розведення двох ефірних олій спровокували гостру токсичність при застосуванні їх до імаго кліщів. Ефірна олія чабрецю повзучого виявляє більшу акарицидну дію (дуже високий рівень смертності за короткий час), порівняно з олією шавлії лікарської, а олія сосни звичайної проявляє себе як аттрактант (самиці іксодових кліщів скупчувались біля вонни, що попередньо була оброблена цією олією). За умови визначення параметрів гострої токсичності встановлено, що загибель кліщів починалася вже в перші години дії препарату. Під час спостереження за кліщами відзначали пригнічення загального стану, кліщі були менш активними.

Показники смертності LD100 спостерігалися у всіх випробуваних дозах олії чабрецю (1,0 %, 3,0 %, 5,0 %), і ця токсичність спостерігалася вже на 2 години після початку експерименту. Отже, 1,0 % розчин ефірної олії за 24 години вже був ефективним, у наслідок чого подальше збільшення концентрації ефірної олії в препараті не мало сенсу. Ефірна олія шавлії лікарської також спровокувала рівень смертності 90 % при концентрації застосовуваних емульсій 5,0 % ефірної олії. При такому дозуванні гостра токсичність спостерігалася через 24 години після початку експерименту. Більш низькі концентрації ефірної олії шавлії були неефективними, при них смертність кліщів сягала 30 % (табл. 1).

Таблиця 1– Смертність імаго самиць іксодових кліщів *I. ricinus* від дії ефірної олії ($\bar{x} \pm SE$, n = 10)

Концентрація олії	2 години	5 годин	24 години
Контрольний дослід	0,0±0,0	0,0±0,0	2,0±2,3
<i>Олія Salvia officinalis</i>			
1%	9,7±2,9	10,0±3,1	28,7±3,6
3%	26,7±3,1	35,0±6,9	67,3±10,8
5%	29,3±3,8	48,3±5,5	82,7±9,3*
<i>Олія Thymus serpyllum</i>			
1%	50,3±6,8	73,3±11,1*	97,7±2,2*
3%	89,7±6,6*	98,7±2,4*	99,0±1,7*
5%	100±0,0*	99,7±0,0*	100±0,0*
<i>Олія Pinus sylvestris</i>			
1%	0,0±0,0	2,0±1,9	2,0±2,3
3%	0,0±0,0	2,4±1,7	2,8±1,9
5%	0,0±0,0	3,2±2,8	3,2±2,8

Примітки: * – суттєва різниця відносно до контрольного дослідження ANOVA (p = <0,0001).

Кількісний вміст ефірної олії, отриманий паровою перегонкою зі свіжого рослинного матеріалу для *Salvia officinalis*, *Thymus serpyllum* та *Pinus sylvestris*, складав 15,5 мл/кг, 9,2 мл/кг та 5,8 мл/кг відповідно. Аналізом GC – FID у шавлії лікарської та в сосни звичайної ідентифіковано – 11, а в чабрецю повзучого – 10 летких компонентів. Усі досліджувані олії мають основні спільні сполуки, такі як цимен та борнілацетат у різних пропорціях, що певною мірою впливає на їхні акарицидні властивості щодо кліщів (рис. 1-3).

Ми дослідили ефірні олії на наявність 25 летких компонентів. Досліджувані компоненти ефірних олій ідентифікували в процесі хроматографії за результатами порівняння зі стандартними зразками. Олії, що виявляли більші акарицидні властивості, мали подібний склад.

Головними хімічними сполуками в шавлії лікарської (*Salvia officinalis*) виявилися: терпінен-4-ол, що складала 34,6 % від загального вмісту летких компонентів ефірної олії та камфора – 39 %, тоді як у ефірній олії чабрецю повзучого (*Thymus serpyllum*) терпінен-4-ол

складав лише 1,6 % але р-цимен та тімол мали значну перевагу 22,9 % та 29,7 % відповідно. Отже, спільними сполуками виявилися терпінен-4-ол, борніл ацетат, сабініл ацетат, альфа-терпініл ацетат та борнеол. Домінуючими сполуками

компонентного складу леткої фракції ефірної олії сосни звичайної, яка в наших експериментах виявила себе як аттрактант, є α -пінен та карен, що склали 33,6 % та 38,7 % відповідно.

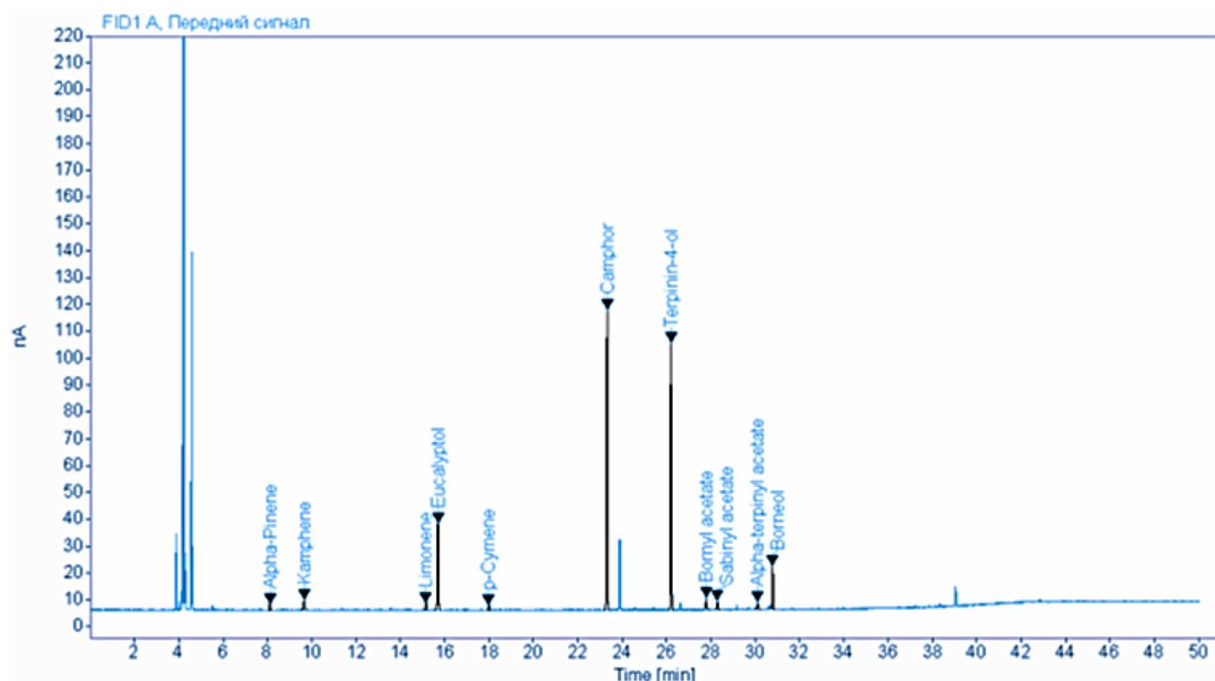


Рис. 1. Хроматограма ефірної олії *Salvia officinalis*

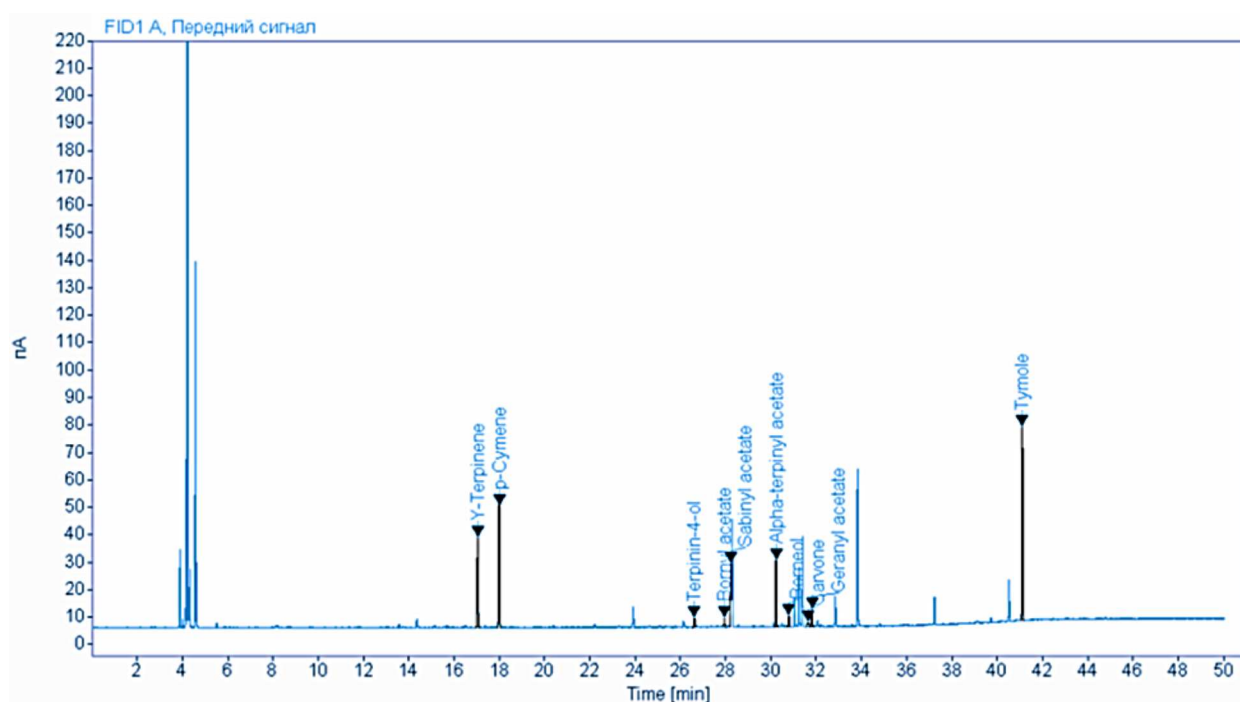


Рис. 2. Хроматограма ефірної олії *Thymus serpyllum*

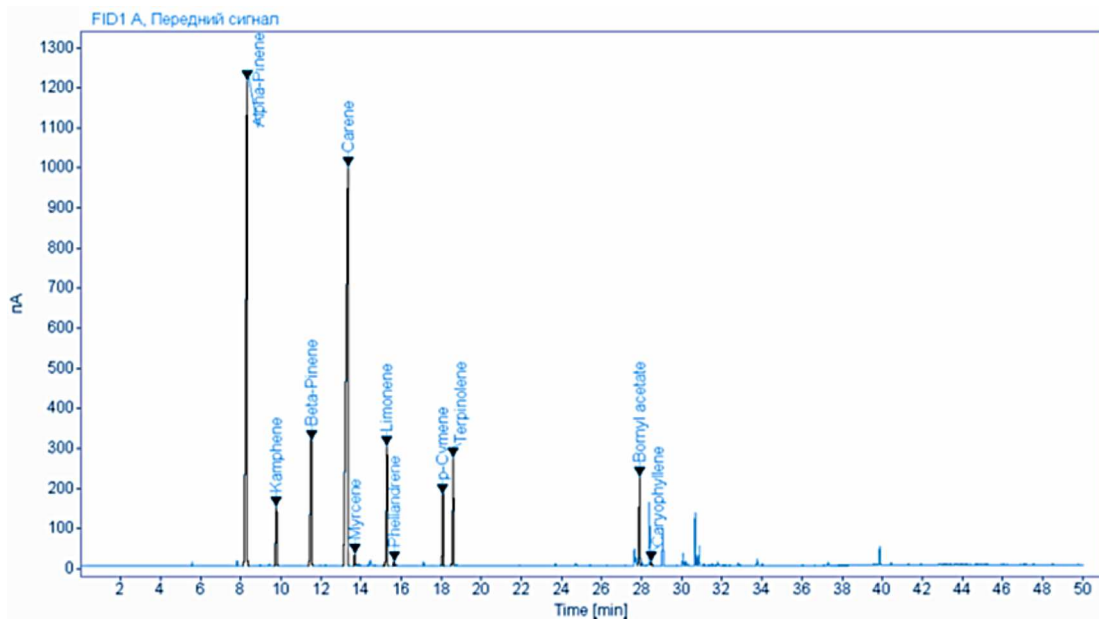


Рис. 3. Хроматограма ефірної олії *Pinus sylvestris*

Обговорення

Результати досліджень акарицидного потенціалу олій рослинного походження показали, що акарицидну дію має сполучення і концентрація біологічно активних речовин. Однак слід зазначити, для груп біологічно активних речовин із помітною акарицидною дією характерною є наявність у складі терпеноїдів – монотерпенів і сесквітерпенів.

Композиційний склад ефірних олій частково збігається з офіційними даними щодо композиційного складу олій досліджуваних рослин¹⁶.

Але слід зазначити, що наші дослідження щодо композиційного складу *Salvia officinalis* відрізняються від попередніх досліджень¹⁹. Так, новим виявилось те, що домінуючими сполуками є терпінен-4-ол та камфора, тоді як у нашому дослідженні основною сполукою виявився евкаліптол. Учені Житомирського національного агроекологічного університету в публікації щодо композиційного складу *Salvia officinalis* зазначили, що в сировині, що досліджувалася в умовах ботанічного саду, виявлено 13 компонентів, із яких домінуючими виявилися такі сполуки, як ліналоол (65,877%), α -терпінеол (19,674), тимол (4,553), гераніол (3,617%), що так само відрізняється від наших результатів²⁰. На нашу думку, цю відмінність частково

можна пояснити часом збору сировини та екологічними відмінностями місць дослідження. Що стосується ефірної олії *Thymus serpyllum* наші дослідження підтверджують дані Віталія Кирилова та ін²¹, щодо хімічного складу. У їхніх дослідженнях основними компонентами олії виявилися тимол (5,11–58,25%), карвакрол (1,22–55,85%), р-цимен (1,28–25,46%). Компонентний склад легкої фракції ефірної олії *Pinus sylvestris* від офіційних досліджень¹⁶ відрізнявся лише відсотковим співвідношенням.

Спираючися на попередньо отримані нами дані, гіпотетично можна стверджувати, що леткі речовини, що входять до складу ефірних олій, є потенційними акарицидами²².

Вплив ефірної олії та її окремих компонентів на іксодових кліщів уперше описано в 1992 році²³ групою авторів, якими були виявлено репелентні якості парів ацетонових екстрактів перцю духмяного, бруньок тополі, липи, осики та вільхи. Авторами Alekseev A. N.; Burenkova L. A.; Chunikhin S. P. доведено, що в парах атрактантів розвиток кліщів прискорюється, їхня маса тіла збільшується, репеленти ж чинять протилежний вплив. У наших дослідах ефірна олія сосни проявляє себе як атрактант, що підтверджує попередні

спостереження²⁴, у яких лісова хвоя є атрактантом для кліщів *I. ricinus*.

Що стосується сучасних досліджень акарицидних властивостей ефірних олій, то досвід закордонних учених¹⁰, які вивчали репелентний ефект – вплив одинадцяти ефірних олій на дорослих кліщів *Dermacentor reticulatus* показав, що найбільш ефективними виявилися ефірні олії гвоздики, чабрецю повзучого та садового. Вони мали репелентні властивості на 83, 82 і 68 % кліщів при розведенні 3 % відповідно. Дані, що стосуються акарицидних та репелентних властивостей будь-яких рослинних екстрактів, або ефірної олії проти імаго *Ixodes ricinus*, у літературі майже відсутні, є лише кілька публікацій²⁵. Дослідження щодо ефективності ефірних олій проти німфальної фази розвитку іксодових кліщів виявили позитивні результати до олії чайного дерева (*Melaleuca alternifolia* Ch.). Крім того, дослідження вчених показали акарицидні та репелентні властивості щодо німф *I. ricinus*^{17,26} таких рослин, як восковик болотний (*Myrica gale* L.), багно звичайне (*Rhododendron tomentosum*) та полин гіркий (*Artemisia absinthium* L.). Олії лаванди (*Lavandula angustifolia*) та герані (*Geranium sylvaticum*) у концентрації понад 30 % у 1,2 пропандіолі виявляють 100 % репелентні властивості щодо німф *I. ricinus*, які перебувають у стані пошуку хазяїна²⁷. У дослідженні⁹ було оцінено репелентні властивості 11 рослинних ефірних олій. Найефективнішою в лабораторному дослідженні виявилися олія *C. dioscoridis*, тому вважається, що ця рослина може бути корисним джерелом хімічних речовин для обмеження чисельності членистоногих, які мають ветеринарне значення. У дослідженнях інших учених²⁸ є інформація щодо акарицидних властивостей ефірних олій лівійських рослин *Salvadora persica* та *Rosmarinus officinalis*. Ефірні олії з концентрацією 0,5 мкл/мл та 1 мкл/мл в ацетоні демонстрували 20 % та 100 % смертність кліщів відповідно після 5 годин впливу.

Вивчення інсектицидних властивостей ефірних олій щодо інших кровосисних комарів та шкідників сільськогосподарства також є актуальним. Так, наприклад, проти комарів *Ae. aegypti*²⁹ –

ефірної олії *Lavandula angustifolia*, проти зернових довгоносиків – *Sitophilus granarius*³⁰; акарицидних властивостей летких компонентів різних ефірних олій³¹.

Для України подібні дослідження є новими. У напрямі вивчення впливу ефірних олій на біологію комах-шкідників є лише кілька публікацій. Зокрема, дослідники Дніпровського університету ім. О. Гончара: Martynov V. O.; Titov O. G.; Kolombar T. M.; Brygadyrenko V. V., досліджували вплив 20 ефірних олій на міграційну активність імаго *Tribolium confusum*³².

Отже, перспективним науковим напрямом є пошук нових натуральних репелентів щодо кровосисних членистоногих із використанням активних компонентів рослин, що зростають у своїх місцях мешкання для пошуку нових ефективних методів контролю за їх чисельністю в конкретних природних умовах.

Висновки

Ефірні олії *Salviae officinalis* L. призводили до смертності іксодових кліщів при збільшенні дози та часу утримання, а *Thymus serpyllum* L. виявляли помітну акарицидну дію й на низьких концентраціях.

У *Salviae officinalis* L. та у *Pinus sylvestris* L. ідентифіковано – 11, а у *Thymus serpyllum* L. – 10 летких компонентів, із яких виділено основні спільні сполуки, такі як цимен та борнілацетат у різних пропорціях, що, імовірно, впливає на їхні акарицидні властивості щодо іксодових кліщів.

Можна припустити, що основними хімічними сполуками ефірних олій, які виявляли акарицидну дію є терпінен-4-ол та камфора, у *Salviae officinalis* L., а у *Thymus serpyllum* L. – р-цимен та тимол.

Домінуючими сполуками компонентного складу легкої фракції ефірної олії, що виявляла себе як атрактант (*Pinus sylvestris* L.) є α -пінен та карен.

Результати наших досліджень можна враховувати при розробці нових репелентних препаратів та застосовувати їх як альтернативу звичайним хімічним. Для біогеоценозів Запорізької області рекомендується використання активних компонентів ефірних олій представників місцевої флори *Salviae officinalis* L. та *Thymus serpyllum* L.

Зважаючи на акарицидну активність олій чабрецю та шавлії, необхідно проведення подальших досліджень, щоб оцінити сприйнятливість кліща до цих природних продуктів у польових умовах та вивчити їхню дію на плодючість, а також їхню контактну та залишкову токсичність.

Отримані результати можуть дати нове розуміння можливого застосування ефірних олій у складі препаратів акарицидної та репелентної дії з низьким впливом на навколишнє середовище, а також здоров'я людини та тварин.

Література

- (1) Marchant, A.; Le Coupanec, A.; Joly, C.; Perthame, E.; Sertour, N.; Garnier, M.; Godard, V.; Ferquel, E.; Choumet, V. Infection of *Ixodes Ricinus* by *Borrelia Burgdorferi* Sensu Lato in Peri-Urban Forests of France. *PLoS One* **2017**, *12* (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183543>.
- (2) Kowalec, M.; Szewczyk, T.; Welc-Faleciak, R.; Sinski, E.; Karbowski, G.; Bajer, A. Rickettsiales Occurrence and Co-Occurrence in *Ixodes Ricinus* Ticks in Natural and Urban Areas. *Microb. Ecol.* **2019**, *77* (4), 890–904. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1269-y>.
- (3) Allen, H. C.; Welliver, R. C.; Fogarty, M. W.; Gessouroun, M. E.; Henry, E. D. Intravenous Immunoglobulin Therapy for Cerebral Vasculitis Associated with Rocky Mountain Spotted Fever. *J. Pediatr. INTENSIVE CARE* **2017**, *6* (2), 142–144. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1587327>.
- (4) Ogden, N. H.; Bouchard, C.; Badcock, J.; Drebot, M. A.; Elias, S. P.; Hatcher, T. F.; Koffi, J. K.; Leighton, P. A.; Lindsay, L. R.; Lubelczyk, C. B. et al. What Is the Real Number of Lyme Disease Cases in Canada? *BMC Public Health* **2019**, *19*. <https://doi.org/10.1186/s12889-019-7219-x>.
- (5) Andreychyn, M.; Pańczuk, A.; Shkilna, M.; Tokarska-Rodak, M.; Korda, M.; Koziół-Montewka, M.; Klishch, I. Epidemiological Situation of Lyme Borreliosis and Diagnosis Standards in Poland and Ukraine. *Heal. Probl. Civiliz.* **2017**, *11* (3), 190–194. <https://doi.org/10.5114/hpc.2017.69020>.
- (6) Biletska, H.; Podavalenko, L.; Semenushyn, O.; Lozynskyj, I.; Tarasyuk, O. Study of Lyme Borreliosis in Ukraine. *Int. J. Med. Microbiol.* **2008**, *298* (44), 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.04.004>.
- (7) Воронова, Н.В.; Горбань, В.В.; Лугинін, М. С. Епідеміологічне Значення Кровосисних Членистоногих Реакційних Зон Північно-Західного Приазов'я. *Вісник Запорізького державного університету. Біологічні науки* **2009**, *2*, 126–131.
- (8) Воронова, Н.В.; Горбань, В.В.; Лугинін, М. С. Розподіл Іксодових Кліщів За Біогеоценозами Лісових Насаджань Запорізької Облaсті. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* **2011**, *1*, 17–25.
- (9) El-Seedi, H. R.; Azeem, M.; Khalil, N. S.; Sakr, H. H.; Khalifa, S. A. M.; Awang, K.; Saeed, A.; Farag, M. A.; AlAjmi, M. F.; Palsson, K. et al.; Saeed, A.; Farag, M. A.; AlAjmi, M. F.; Palsson, K.; Borg-Karlson, A.-K. Essential Oils of Aromatic Egyptian Plants Repel Nymphs of the Tick *Ixodes Ricinus* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* **2017**, *73* (1), 139–157. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0165-3>.
- (10) Stefanidesova, K.; Skultety, L.; Sparagano, O. A. E.; Špitalká E. The Repellent Efficacy of Eleven Essential Oils against Adult Dermacentor Reticulatus Ticks. *Ticks Tick. Borne. Dis.* **2017**, *8* (5), 780–786. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.06.003>.
- (11) Lazcano Diaz, E.; Padilla Camberos, E.; Castillo Herrera, G. A.; Estarron Espinosa, M.; Espinosa Andrews, H.; Paniagua Buelnas, N. A.; Gutierrez Ortega, A.; Martinez Velazquez, M. Development of Essential Oil-Based Phyto-Formulations to Control the Cattle Tick *Rhipicephalus Microplus* Using a Mixture Design Approach. *Exp. Parasitol.* **2019**, *201*, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.008>.
- (12) Rashidi S.; Eikani M.; Ardjmand M. Extraction of *Hyssopus Officinalis* L. Essential Oil Using Instant Controlled Pressure Drop Process. *J. Chromatogr.* **2019**, *1579*, 9–19. <https://doi.org/http://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.10.020>.
- (13) Кузнецов В. Г. К Методике Сбора и Хранения Иксодовых Клещей. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни* **1968**, *3*, 99–101.
- (14) Rulison, E. L.; Kuczaj, I.; Pang, G.; Hickling, G. J.; Tsao, J. I.; Ginsberg, H. S. Flagging versus Dragging as Sampling Methods for Nymphal *Ixodes Scapularis* (Acari: Ixodidae). *J. Vector Ecol.* **2013**, *38* (1), 163–167. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2013.12022.x>.

- (15) Ємчук Є. М. *Фауна України. Іксодові Кліщі*, Том 25.; Київ: Видавництво АН Української РСР, **1960**; pp 33-74.
- (16) European Pharmacopoeia; 9.1, Ed.; **2016**; pp 285–286.
- (17) Iori, A.; Grazioli, D.; Gentile, E.; Marano, G.; Salvatore, G. Acaricidal Properties of the Essential Oil of *Melaleuca Alternifolia* Cheel (Tea Tree Oil) against Nymphs of *Ixodes Ricinus*. *Vet. Parasitol.* **2005**, *129* (1–2), 173–176. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.035>.
- (18) Коцюмбас І. Я. Доклінічні Дослідження Ветеринарних Лікарських Засобів. *Львів Трі*; **2006**; pp 136–165.
- (19) Abu Darwish, M.; Cabral, C.; Ferreira, I.; Gonçalves, M.; Cavaleiro, C.; Cruz, M.; Al-Bdour, T.; Salgueiro, L. Essential Oil of Common Sage (*Salvia Officinalis* L.) from Jordan: Assessment of Safety in Mammalian Cells and Its Antifungal and Anti-Inflammatory Potential. *Biomed Res. Int.* **2013**, *2013*, 538940. <https://doi.org/10.1155/2013/538940>.
- (20) Котюк Л. А., Рахметов Р. Д. Біологічно Активні Речовини *Salvia Officinalis* L. та *Salvia Sclarea* L. при Зростанні в Умовах Ботанічного Саду ЖНАЕУ. *Ботанічні сади проблеми інтродукції та збереження рослинного різноманіття матеріали Всеукр. наук. конф., 10–11 жовт. 2013 р* **2013**, 84–89.
- (21) Kirillov, V.; Stikhareva, T.; Mukanov, B.; Chebotko, N.; Ryazantsev, O.; Atazhanova, G.; Adekenov, S. Composition of the Essential Oil of *Thymus Serpyllum* L. from Northern Kazakhstan. *J. Essent. Oil Bear. Plants* **2016**, *19* (1), 212–222. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2015.1010600>.
- (22) Voronova N.V.; Gorban V.V.; Bogatkina V.A.; Lyginin N. S. Investigation and Detection of New Methods of Controlling and Abolition the Ticks in Urbanized Landscapes of Zaporozhzhya Region; Sciences, T. N. E. C. on B. and M., Ed.; The Ninth European Conference on Biology and Medical Sciences, **2016**; pp 109–111.
- (23) Alekseev, A.N.; Burenkova, L.A.; Chunikhin, S. Plant Odors as Determinants of Behaviour and Development Rate of Ixodids, Vector of Diseases. *Parazitologiya* **1992**, *26* (1), 20–32.
- (24) Оленев Н. О. Новые Данные о Влиянии Фитонцидов Высших Растений На Паразитических Клещей и Насекомых. *ДАН СССР*. **1950**, *75*, 149–151.
- (25) Kulma, M.; Bubová, T.; Kopecký, O.; Rettich, F. Lavender, Eucalyptus, and Orange Essential Oils as Repellents against *Ixodes Ricinus* Females. *Sci. Agric. Bohem.* **2017**, *48*, 76–81. <https://doi.org/10.1515/sab-2017-001>.
- (26) Jaenson, T. G. T.; Palsson, K.; Borg-Karlson, A. K. Evaluation of Extracts and Oils of Tick-Repellent Plants from Sweden. *Med. Vet. Entomol.* **2005**, *19* (4), 345–352. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2005.00578.x>.
- (27) Jaenson, T.; Carboui, S.; Palsson, K. Repellency of Oils of Lemon Eucalyptus, Geranium, and Lavender and the Mosquito Repellent MyggA Natural to *Ixodes Ricinus* (Acari: Ixodidae) in the Laboratory and Field. *J. Med. Entomol.* **2006**, *43* (4), 731–736. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)43\[731:ROOOLE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43[731:ROOOLE]2.0.CO;2).
- (28) Elmhalli, F.; Garboui, S. S.; Borg-Karlson, A.-K.; Mozuraitis, R.; Baldauf, S. L.; Grandi, G. The Repellency and Toxicity Effects of Essential Oils from the Libyan Plants *Salvadora Persica* and *Rosmarinus Officinalis* against Nymphs of *Ixodes Ricinus*. *Exp. Appl. Acarol.* **2019**, *77* (4), 585–599. <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00373-5>.
- (29) Rios, N.; Stashenko, E. E.; Duque, J. E. Evaluation of the Insecticidal Activity of Essential Oils and Their Mixtures against *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae). *Rev. Bras. Entomol.* **2017**, *61* (4), 307–311. <https://doi.org/10.1016/j.rbe.2017.08.005>.
- (30) Germinara, G. S.; Di Stefano, M. G.; De Acutis, L.; Pati, S.; Delfine, S.; De Cristofaro, A.; Rotundo, G. Bioactivities of *Lavandula Angustifolia* Essential Oil against the Stored Grain Pest *Sitophilus Granarius*. *Bull. Insectology* **2017**, *70* (1), 129–138.
- (31) de Monteiro, C. M.; Maturano, R.; Daemon, E.; Aragao Catunda-Junior, F. E.; Calmon, F.; Senra, T. de S.; Faza, A.; de Carvalho, M. G. Acaricidal Activity of Eugenol on *Rhipicephalus Microplus* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor Nitens* (Acari: Ixodidae) Larvae. *Parasitol. Res.* **2012**, *111* (3), 1295–1300. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2964-0>.
- (32) Martynov, V. O.; Titov, O. G.; Kolombar, T. M.; Brygadyrenko, V. V. Influence of Essential Oils of Plants on the Migration Activity of *Tribolium Confusum* (Coleoptera, Tenebrionidae). *Biosyst. Divers.* **2019**, *27* (2), 177–185. <https://doi.org/10.15421/011924>.