

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství

Dosavadní poznatky o syndromu bílého nosu v USA a Evropě

Bakalářská práce

Autor práce: Veronika Čermáková

Vedoucí práce: Mgr. Oldřich Kopecký, Ph.D.

2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Dosavadní poznatky o syndromu bílého nosu v USA a Evropě vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne:

podpis autora práce

Poděkování

Děkuji své konzultantce, Mgr. Anně Hoffmannové za to, že si udělala čas na opravu mé práce i přes nelehký úkol mateřství. Děkuji Bc. Lence Fričové, že mi pomohla s opravou gramatiky. Dále děkuji Jaroslavu Veselému, díky kterému jsem se mohla zúčastnit zimního sčítání netopýrů.

Souhrn

Syndrom bílého nosu je závažné onemocnění napadající hibernující netopýry. Vizuálním projevem tohoto onemocnění je nárůst bílé psychrofilní houby *Geomyces destructans* na čenichu postižených jedinců. Syndrom bílého nosu byl poprvé popsán v Severní Americe, kde způsobuje masovou mortalitu tamějších netopýrů. Ačkoli se *Geomyces destructans* objevuje i na netopýrech v Evropských zimovištích, mortalita zapříčiněná syndromem bílého nosu zde nebyla prokázána. Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o syndromu bílého nosu se zaměřením na území Severní Ameriky a Evropy, České a Slovenské republiky, popsat postupy doporučené pro sledování tohoto onemocnění, a uvést dosud navrhovaná řešení vedoucí k omezení rozšiřování nákazy, která může mít vliv na rovnováhu ekosystému v Severní Americe.

Ačkoli se vědci problematikou syndromu bílého nosu zabývají již od roku 2006, zůstává stále mnoho nezodpovězených otázek. Jaký je původ *Geomyces destructans*? Jak se tato houba dostala do jeskyň? Jak uvnitř jeskyně napadá netopýry? Jaké je skutečné procento napadených netopýrů v ČR a SR včetně nepřístupných lokalit? Proč syndrom bílého nosu nezpůsobuje v Evropě takovou mortalitu jako v Severní Americe? Na tyto a další otázky by měly odpovědět výsledky studií a pozorování, kterými se v současné době zabývají vědci z celého světa.

Klíčová slova: Syndrom bílého nosu, *Geomyces destructans*, geomykóza, onemocnění netopýrů, plíseň

Summary

White-nose syndrome is a disease affecting hibernating bats. Visual manifestation of this disease is an increase of *Geomyces destructans*, white psychrophilic fungus on the muzzle of affected individuals. White nose syndrome was first discovered in North America, where it causes mass mortality of the local bats. Although *Geomyces destructans* appears on the European hibernating bats too, there is no evidence of mortality caused by white nose syndrome. The aim of this paper is to summarize current knowledge of white nose syndrome, focusing on the North America and Europe, the Czech republic and Slovakia, describe the recommended procedures for monitoring the disease and indicate the solutions proposed to limit spread of infection which can affect the balance ecosystem in North America. Although scientists examine white nose syndrome since 2006, there is still many unanswered questions. What is the origin of *Geomyces destructans*? How the fungus got into the caves? How it infects bats inside the caves? What is the actual percentage of infected bats in the Czech republic and Slovakia including inaccessible sites? Why white nose syndrome does not cause mortality in Europe such as in North America? These and other questions should answer the results of studies and observations, which are currently being analyzed by scientists from all around the world.

Keywords: White nose syndrome, *Geomyces destructans*, geomycosis, bat disease, fungus

Obsah

1. Úvod.....	1
1.1. Taxonomické zařazení.....	2
1.2. Počet letounů ve světě.....	2
1.3. Výskyt letounů ve světě.....	2
1.4. Charakteristické vlastnosti netopýrů.....	3
2. Cíl práce.....	7
3. Literární rešerše.....	8
3.1. Syndrom bílého nosu.....	8
3.2. Geomyces destructans.....	12
3.3. Situace v Severní Americe.....	20
3.4. Situace v Evropě.....	22
3.5. Situace v České republice a na Slovensku.....	25
3.6. Sběr a shromažďování informací o WNS.....	28
3.6.1. Doporučení pro USA.....	28
3.6.2. Doporučení pro Evropu.....	31
3.6.3. Doporučení pro Českou Republiku.....	32
3.7. Navrhovaná opatření.....	36
4. Závěr.....	38
5. Seznam literatury.....	39

1. Úvod

Netopýři jsou nedílnou a nezbytnou součástí ekosystému. Patří mezi letouny – jediné savce, kteří mají schopnost aktivního letu. Populace netopýřů je však na některých místech planety Země, jak uvádí mnohé přírodovědné studie, ohrožena vyhubením. Tento fakt byl podnětem k tvorbě uvedené práce s názvem „Dosavadní poznatky o syndromu bílého nosu v USA a Evropě“.

Předkládaná práce se zabývá problematikou onemocnění, které je v anglických literárních zdrojích pojmenováno jako White - nose syndrome (WNS), v českém jazyce označováno jako syndrom bílého nosu. Toto onemocnění je způsobeno nově popsáním druhem houby, *Geomyces destructans*. Houba napadá hibernující netopýry v Evropě a v Severní Americe. Na území USA a Kanady toto onemocnění v současné době ohrožuje populace netopýřů, některým druhům netopýřů hrozí lokální vymření během několika let.

Syndrom bílého nosu se stal pro netopýry velmi vážnou hrozbou především díky rychlému, nekontrolovatelnému šíření a smrtícím účinkům. Od roku 2006 do současnosti na území Severní Ameriky toto onemocnění zapříčinilo úhyn více než 1 milionu netopýřů (Moriarty, 2011).

Syndrom bílého nosu se mezi vědci stává stále diskutovanějším tématem a celosvětovým problémem. Každý pokles netopýří populace totiž může dlouhodobě ohrozit stabilitu a rovnováhu ekosystémů. Netopýři zabírají velmi důležitou ekologickou niku, a to hlavně díky faktu, že zhruba 7 z 10 druhů netopýřů je insektivorních, tedy hmyzožravých. Ve dne je létající hmyz loven různými druhy hmyzožravých ptáků, v noci a za soumraku loví hmyz právě netopýři. Jeskynní druhy netopýřů, které mohou tvořit statisícové až milionové kolonie, navíc produkují guáno, netopýří trus, čímž umožňují existenci mnoha živočišných a rostlinných organismů, které se guánem živí, nebo jsou na něm jinak existenčně závislí.

Práce je literární rešerší shromažďující základní informace o syndromu bílého nosu a o houbě *Geomyces destructans*, která je s tímto onemocněním úzce spjata. V práci jsou zároveň popsány doporučené postupy při shromažďování informací v jednotlivých regionech, kterými jsou Severní Amerika, Evropa, a Česká a Slovenská republika. Při psaní práce bylo nutné přeložit některá anglická označení druhů netopýřů vyskytujících se na území Severní Ameriky do českého jazyka. Pro tento účel byla použita práce s názvem České vernakulární jmenosloví netopýřů. I. Návrh úplného jmenosloví, kterou vypracoval Benda (2010).

Nejprve zde bude uvedeno několik základních informací o netopýrech.

1.1. Taxonomické zařazení

V současnosti se řád letouni (Chiroptera) rozděluje do dvou podřádů: Pteropodiformes (Yinpterochiroptera) a Vespertilioniformes (Yangochiroptera). Netopýři, na které je tato práce zaměřena, patří do soustavy živých organismů (Vitae), doména jaderní (Eukaryota), nadříše Unikonta, říše Animalia, podříše Eumetazoa, oddělení trojlistí (Triblastica), pododdělení druhoústí (Deuterostomia), kmen strunatci (Chordata), podkmen obratlovci (Vertebrata), infrakmen čelistnatí (Gnathostomata), nadtřída čtyřnožci (Tetrapoda), třída savci (Mammalia), podtřída živorodí (Theria), infratřída placentálové (Eutheria), řád letouni (Chiroptera), podřád netopýrotvaří (Vespertilioniformes), dříve označovaní jako praví netopýři (Microchiroptera).

1.2. Počet letounů ve světě

V letech 1992 a 2001 vydala Mezinárodní unie pro ochranu přírody (IUCN) dvě monografické studie o létajících savcích. První publikace se týká 161 druhů kaloňů (Megachiroptera), druhá pojednává o 834 druzích netopýřů (Microchiroptera). Podle těchto prací tedy na světě žije celkem 995 druhů letounů (Chiroptera), což je mezi recentními savci nejvíc po hlodavcích. Počet 995 však není konečný, stále jsou objevovány druhy nové, a to dokonce i v Evropě. Můžeme odhadovat, že netopýřů a kaloňů je ve skutečnosti hodně přes tisíc druhů. (Vlašín a Málková, 2004).

1.3. Výskyt letounů ve světě

Letouni obývají planetu Zemi již přes 60 milionů let. Vyskytují se kosmopolitně, kromě polárních oblastí a některých oceánských ostrovů.

Letouni jsou jediným řádem savců schopným aktivního letu, což zapříčinilo jejich kosmopolitní rozšíření s centrem diverzity v tropech, kde jsou rovněž abundance a hustotní škály letounů mnohem vyšší než v temperátních oblastech (Horáček, 1986).

Příloha č. 1, Současné světové rozšíření letounů



Zdroj:

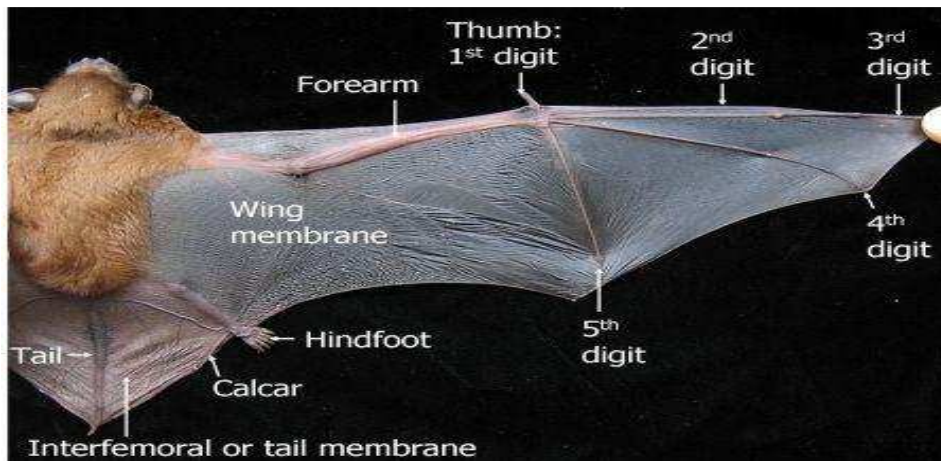
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a0/Bat_range.png/220px-Bat_range.png

1.4. Charakteristické vlastnosti netopýrů

Aktivní let netopýrům umožňuje dokonale přizpůsobená přední končetina a létací blána. Přední končetina se vyvinula v křídlo tak, že se prodloužila pažní kost a hlavně předloktí a články 4 prstů, mezi kterými je napjata létací blána. Létací blána je velmi pevná a přitom měkká a elastická kožní řasa, protkaná četnými cévami a nervy. Je porostlá velmi krátkými takřka průhlednými chlupy, takže na první pohled působí jako zcela holá. U některých druhů netopýrů, např. netopýra řasnatého nebo brvitého, bývají okraje ocasní létací blány porostlé delšími chlupy nebo i tuhými brvami. (Vlašín a Málková, 2004).

Létací blána se táhne od krku k přední končetině (propatagium), mezi dlouhým předloktím, tělem a zadníma nohama (plagiopatagium) a také od nohou k ocasu (uropatagium) (Anděra, 1997).

Příloha č. 2, morfologie křídla netopýra



Tail – ocas, Interfemorolor tail membrane – uropataguim, Calcar - ostruha, Hindfoot – zadní končetina, Wing membrane – plagiopatagium, 5th digit – pátý prst, 4th digit – čtvrtý prst, 3rd digit – třetí prst, 2nd digit – druhý prst, Thumb: 1st digit – první prst, Forearm – předloktí.

Zdroj: <http://www.ttu-mbea.org/learn-about-bats/bat-anatomy/>

Kromě létací blány se anatomie letounů přizpůsobila aktivnímu letu také pneumatizací kostí a utvářením některých svalových skupin.

Pohyb křídel umožňují zejména mohutné svaly na hrudníku. Svaly pohybující prsty pak dovolují měnit tvar a napětí křídla, a významně tak ovlivňují manévrovací schopnosti. Let netopýrů je energeticky velmi náročný proces, který představuje 60 až 80 % celkových energetických výdajů (Málková a Vlašín, 2004).

Díky aktivnímu letu mohou netopýři lovit ve vzduchu. Ve dne by však tuto ekologickou niku sdíleli s ptáky, s jejichž hmyzožravými zástupci by si potravně konkurovali. Navíc by netopýřům hrozilo nebezpečí predace ze strany dravých, nebo všežravých ptáků. Predační chování ptáka vůči netopýrovi pozoroval Pačenovský (2006): Útok straky obecné (*Pica pica*) na netopýra rezavého (*Nyctalus noctula*) byl pozorován ve stromořadí letitých stromů podél starého náhonu v Košicích dne 21. března 2006 ve 2 hodiny odpoledne. Straka se snažila chytit netopýra rezavého z kmene javoru. Straka odletěla, až poté co se pozorovatel přiblížil k místu střetu. Netopýr se po útoku ozýval velmi silným voláním a následně spadl na zem.

Proto, aby se netopýři vyhnuli těmto predacím, loví potravu v noci, kdy je riziková skupina ptáků neaktivní. Pro dokonalou orientaci ve tmě se u netopýřů vyvinula schopnost vnímání a vydávání vysokofrekvenčních zvuků, známá jako echolokace.

Echolokace je vysoce vyvinutá technika sonaru (Sound Navigation And Ranging – zařízení ke zjišťování polohy objektů, tedy ultrazvukový lokátor), které využívá zvukové frekvence okolo 20 000 Hz (20 kHz). Tyto frekvence jsou vysoko nad horním prahem zvuku vnímaného lidským uchem. Schopnost echolokace u netopýřů poprvé pokládali za možnou italský zoolog prof. Lazzaro Spallanzani a švýcarský chirurg Charles Jurine v roce 1790. Tuto domněnku však potvrdil až v roce 1938 první záznam ultrazvukových signálů netopýřů, který pořídili harvardský student Donald Griffin a fyzik George W. Pierce (Shuker, 2005).

Protože se u každého druhu netopýřů vyvinuly signály o vlastním kmitočtu, odlišují se většinou výrazně vzhledem a stavbou ušních boltců opatřených ušní záklopkou (víčkem, tragus) a vzhledem obličeje (Reichholf, 1996). Nejmarkantnější rozdíl je patrný mezi čeledí vrápencovití (Rhinolophidae) a ostatními čeleděmi. Vrápencovití zvukový signál směřují pomocí blanitých výrůstků na čenichu a nemají ušní víčko. Jejich sonar je vysoce výkonný a vrápencovití jím zaznamenávají mnohem menší překážky než jiné čeledi netopýřů. Blanitý výrůstek na čenichu a absence ušního víčka se vyskytuje také u čeledi pavrápencovití (Hipposideridae). Někteří autoři je však řadí do vrápencovitých jako podčeleď.

Další schopnost netopýřů, která je významně odlišuje od většiny savců, je schopnost pravého zimního spánku, hibernace. Ta úzce souvisí s životním cyklem netopýřů, hlavně v podnebí mírného pásma.

Svým životním cyklem, který je u jednotlivých druhů velmi podobný, se netopýři žijící na území České republiky přizpůsobili střídání čtyř ročních období. Od dubna do srpna vytváří samice netopýřů seskupení označovaná jako letní kolonie. Kolonii mohou tvořit desítky až stovky samic. Během června a července rodí samice v koloniích mláďata. Během měsíce srpna se letní kolonie postupně rozpadají a začíná období tzv. podzimních přeletů, které trvá přibližně do října. Během listopadu se začínají netopýři stěhovat do zimních úkrytů, kterými jsou především různé sklepy, staré štoly a jeskyně. Zde postupně upadají do stavu tzv. hibernace, kdy se snižuje jejich tělesná teplota a zpomalují se všechny životní procesy. Od konce února a během března opouštějí netopýři zimoviště a nastává období tzv. jarních přeletů, kdy opět využívají různé přechodné úkryty. V průběhu dubna se pak opět postupně formují letní kolonie (Viktora a kol., 2008).

Netopýři využívají různé typy úkrytů celoročně a tráví v nich značnou část svého života. Využívají je jednak k odpočinku, zpracování a trávení ulovené potravy, k rozmnožování, a také tyto úkryty mohou využívat v zimním období k hibernaci (Kunz, 2003).

Právě díky hibernaci jsou však některé druhy netopýřů v současné době vážně ohroženy. Objevilo se u nich totiž vysoce infekční onemocnění zvané White-nose syndrom neboli syndrom bílého nosu. Snižování stavů netopýřů je vážným ekologickým problémem.

Netopýři po celém světě hrají důležitou roli v ekologii hlavně ve vztahu k hmyzu, opylování rostlin a šíření semen. Pokles netopýří populace v Severní Americe by mohl mít vážné ekologické důsledky společně s chytridiomykózou, smrtící kožní infekcí, která nedávno způsobila globální snižování stavu populací obojživelníků (Skerratt et al., 2007).

Pokud se syndrom bílého nosu nepodaří zastavit nebo zmírnit jeho následky, mohlo by to vést k velkému zásahu do ekologické rovnováhy na celém světě.

2. Cíl práce

Cílem předkládané práce je shrnout dosavadní poznatky o syndromu bílého nosu vyskytujícího se na území Severní Ameriky a Evropy, popsat postupy doporučené pro sledování tohoto onemocnění, a uvést dosud navrhovaná řešení vedoucí k omezení rozšiřování nákazy, která může mít vliv na rovnováhu ekosystému v Severní Americe.

3. Literární rešerše

3.1. Syndrom bílého nosu

Geomykóza netopýrů neboli syndrom bílého nosu (WNS) je smrtelné onemocnění netopýrů vznikající během hibernace a je charakterizováno kožní infekcí přezimujících netopýrů. Etiologickým agens tohoto syndromu je psychrofilní houba *Geomyces destructans*, která napadá neosrstěné části těla netopýrů, hlavně pak křídelní membránu. Informace o patogenезi a způsobu přenosu této houby dosud nebyly zjištěny (Foley et al., 2011; Chaturvedi S. et al., 2011b; Lindner et al., 2011).

Jak uvedl Blehert (2012) ve své přednášce v USGS - National Wildlife Health Center u příležitosti semináře o WNS, syndrom bílého nosu je velmi unikátní a neobvyklé onemocnění napadající divoké hibernující netopýry, které si zatím nenašlo cestu k napadení člověka nebo domácích a hospodářských zvířat.

Onemocnění bylo původně biology pojmenováno jako „fuzzy muzzle“ (chlupatý čenich), díky viditelné přítomnosti nárůstu bílé houby kolem čenichu, uší a křídelních blan napadených netopýrů (Castle and Cryan, 2012). Kolonizace kůže houbou *Geomyces destructans* je spojena s charakteristickými kožními lézemi, které se objevují pouze v souvislosti s patologickým nálezem WNS (Lorch, 2011).

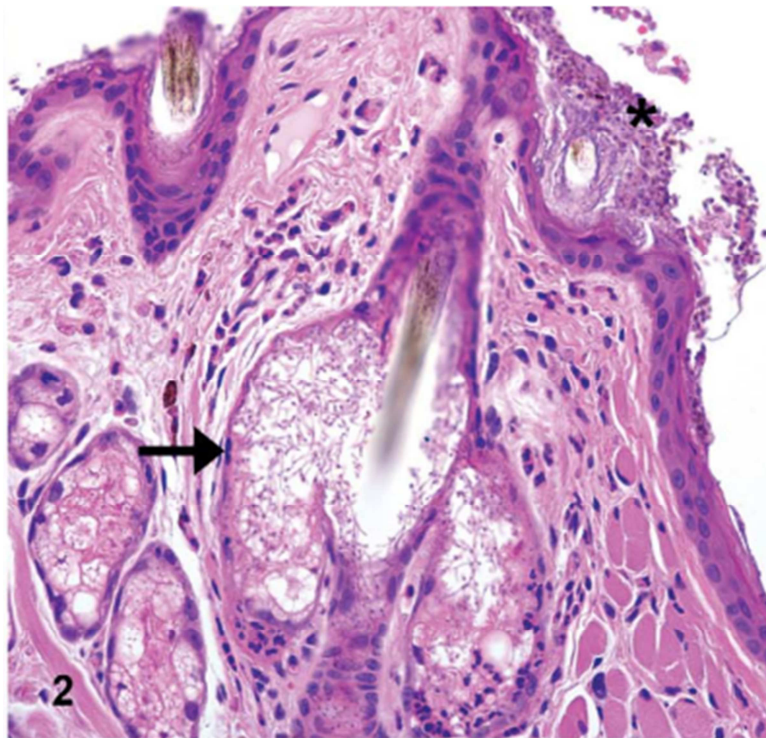
Martínková et al. (2010) popisují průběh onemocnění takto: během hibernace, kdy teplota těla hibernujících netopýrů klesne na teplotu okolí v podzemním úkrytu, mycelia houby mohou růst na povrchu kůže těchto zvířat. Houba napadá chlupové folikuly a přilehlé žlázy, nebo poškozují epidermis odhalené kůže na uších, čenichu a membráně na křídlech. Konkrétní etiologie této plísňové infekce je neznámá, ale netopýři se probudí z hibernace. Jelikož probouzení z režimu spánku je energeticky náročné, je pravděpodobné, že WNS vede k rychlému vymizení tukových rezerv, zhoršení tělesné kondice a často ke zvýšené úmrtnosti v důsledku hladovění. Netopýři předčasně vylétají z úkrytů a pokouší se nalézt potravu, což v zimě způsobuje omrzliny a následné nekrózy membrány křídla. Léze hub současně infikované Gram-negativními bakteriemi vykazují nekrózy a puchýřky, což vede k poškození membrány křídla a ohrožení schopnosti letu. Ačkoli všem detailům nákazy ještě není zcela porozuměno, připouští se, že WNS představuje vážné ohrožení populací netopýrů v Severní Americe.

Příloha č. 3, léze na uchu netopýra



(Martínková et al., 2010)

Příloha č. 4, histologický nález *G. destructans*



(Courtin et al., 2010)

Reichard a Kunz (2009) se ve své práci vyjádřili podobně: v zimovišti netopýři postižení WNS obvykle vykazují nárůst bílé psychrofilní houby (*Geomyces destructans*) na nose, křídlech a uších, mnoho jedinců předčasně uhynie vyhladověním kvůli vyčerpání tukových zásob.

Otázkou ovšem zůstává, jak se plíseň dostává na tělo netopýřů a jak způsobuje snížení jejich imunity.

Blehert (2012) vidí vstupní bránu pro syndrom bílého nosu v křídelní bláně netopýřů. Létací blána netopýřům umožňuje, kromě létání, také termoregulaci, hospodaření s vodou, výměnu plynů s okolím a regulaci krevního tlaku a to zejména v období hibernace. Vážné narušení létací blány hibernujících netopýřů může v konečném důsledku přispět k tomu, že syndrom bílého nosu vede k úhynu netopýřů.

Mnozí uhynulí a umírající netopýři byli vyhublí, což přivedlo vědce k myšlence, že plíseň nějak narušuje jejich hibernaci, nutí je zpracovat velké množství energie a v důsledku toho netopýři hladoví a opouštějí jeskyně, aby si našli potravu. Během zimy si však žádnou potravu najít nemohou. Tuto myšlenku však narušuje zjištění, že někteří netopýři opouštějící jeskyně vypadají zdraví a zdá se, že prchají před infikovanými jedinci (Vyn, 2009).

Toto chování není u netopýřů obvyklé, a proto se vědci začali zabývat vztahy mezi syndromem bílého nosu a nestandardním, aberantním, chováním netopýřů.

Aberantní chování pozorované u netopýřů v místech postižených syndromem bílého nosu může zahrnovat: velké množství netopýřů pohybujících se po zimovišti a vyhledávajících úkryty blízko vchodů do nich nebo v neobvykle chladných oblastech zimovišť. Rovněž lze pozorovat velké množství netopýřů létajících během dne mimo zimoviště uprostřed zimy, obecnou absenci reagování na rušení lidmi, velký počet uhynulých netopýřů a to jak v prostorech zimoviště, tak u vchodů do zimovišť. U postiženého zimoviště se nemusí projevit všechny tyto příznaky, což platí zejména o úmrtnosti v počátečním stadiu vzniku nemoci (Castle and Cryan, 2012).

Právě takové nestandardní chování pozoroval Vyn (2009) v blízkosti komplexu jeskyň na území USA v zimě roku 2009. Byli zde pozorováni netopýři, kteří by měli být v hluboké hibernaci a místo toho poletovali kolem vstupu do zimoviště za denního světla uprostřed zimy a hynuli ve sněhu. První, čeho si lze všimnout u vstupu do zimovišť, jsou klustry netopýřů tisknoucích se ke skále mimo jeskyni. Byl pozorován netopýř létající okolo vchodu, který se

připojil ke klastru netopýrů ve štěrbině skály. Všichni ostatní netopýři v tomto klastru byli mrtví. Jeden po druhém se vtěsnali do skuliny ve skále, aby se navzájem zahřáli, a všichni tam umrzli.

Úmrtnost spojená se syndromem bílého nosu zapříčiňuje regionální populační kolaps a je pravděpodobné, že způsobí regionální vymření netopýra hnědavého (*Myotis lucifugus*), dříve jednoho z nejrozšířenějších druhů netopýrů v severní Americe. Nová onemocnění mají vážné dopady na volně žijící populace, které pak mohou silně ovlivnit integritu ekosystémů (Frick et al., 2010).

O fyziologických účincích tohoto onemocnění na netopýry je známo jen velmi málo a dosud nebyla navržena žádná opatření proti související pomalé smrti netopýrů (Boyles and Willis, 2010).

Existuje naléhavá potřeba pochopit patogenезi geomykózy a připravit opatření k zastavení a zvrácení potenciálního masového vymírání netopýrů (Chaturvedi S. et al., 2011b).

Příloha č. 5, nekompletní projevy syndromu bílého nosu



Zdroj: <http://wns2010.webnode.cz>

Příloha č. 6, úplný projev syndromu bílého nosu



Zdroj: <http://wns2010.webnode.cz>

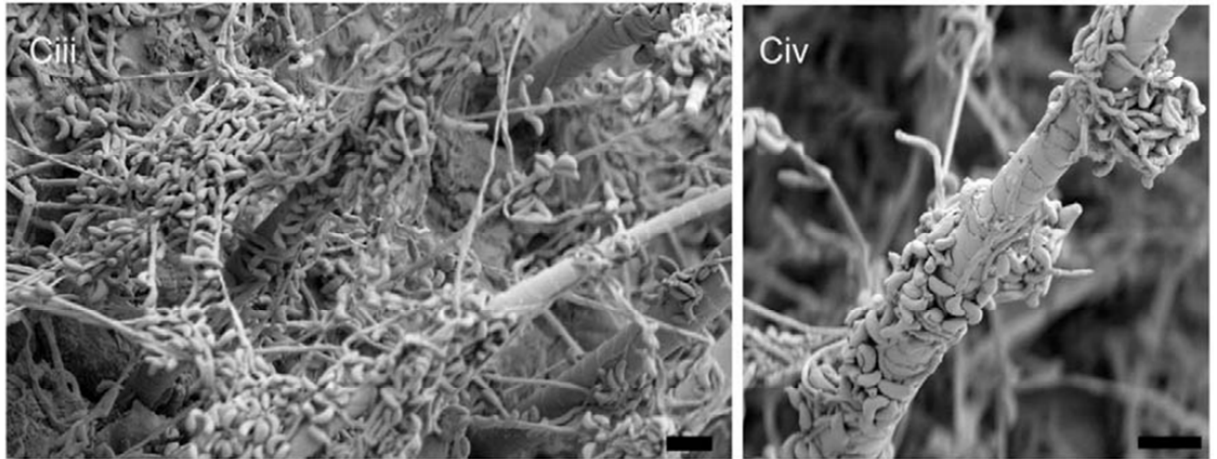
3.2. *Geomyces destructans*

Kochkina et al. (2007) uvádějí, že původcem syndromu bílého nosu je nově popsáný druh houby *Geomyces destructans*, který byl později na základě molekulárních analýz identifikován jako vnitřní taxon druhu *Geomyces pannorum*, jedné z nejrozšířenějších hub půdních společenstev severní polokoule.

Geomyces destructans je také označována jako *Chrysosporidium destructans*. Je to jedna z nejběžnějších hub světa, zejména v mírných a chladných oblastech, včetně Antarktidy, kde tvoří základní složku půdních společenstev. Tato houba vykazuje extrémně pomalý růst v úzkém teplotním rozmezí. Má slabá krátká mycelia, ale velmi bohatou produkci spor. Její spory jsou velké a mají charakteristický tvar, což jim značně znemožňuje přenos vzduchem. Spory jsou však značně přilnavé, a jejich přenos tedy probíhá pravděpodobně kontaktem mezi

jedinci. *Geomyces destructans* je keratinofilní, rozkládá kutikulární šupiny chlupů na těle netopýrů a to včetně odumřelých a na zem spadlých chlupů.

Příloha č. 7, nárůst *Geomyces destructans* na chlucích netopýrů



(Chaturvedi et al., 2010)

Andrle (2011) se domnívá, že se chladnomilná a v podstatě neškodná houba *Geomyces destructans* šíří ze zeminy ve štolách a jeskyních do okolí pod vlivem globálního oteplování. Houba napadá povrchové vrstvy pokožky a chlupů netopýrů a patrně jim způsobuje pouze povrchová poranění, která, jednoduše řečeno, netopýra budí. Je-li však takových netopýrů více na jednom zimovišti a zimují-li ve velkých klastrech stovek či tisíců kusů, mohou častým buzením vyčerpávat své zásoby energie pro zimování a ve velkém počtu hynout.

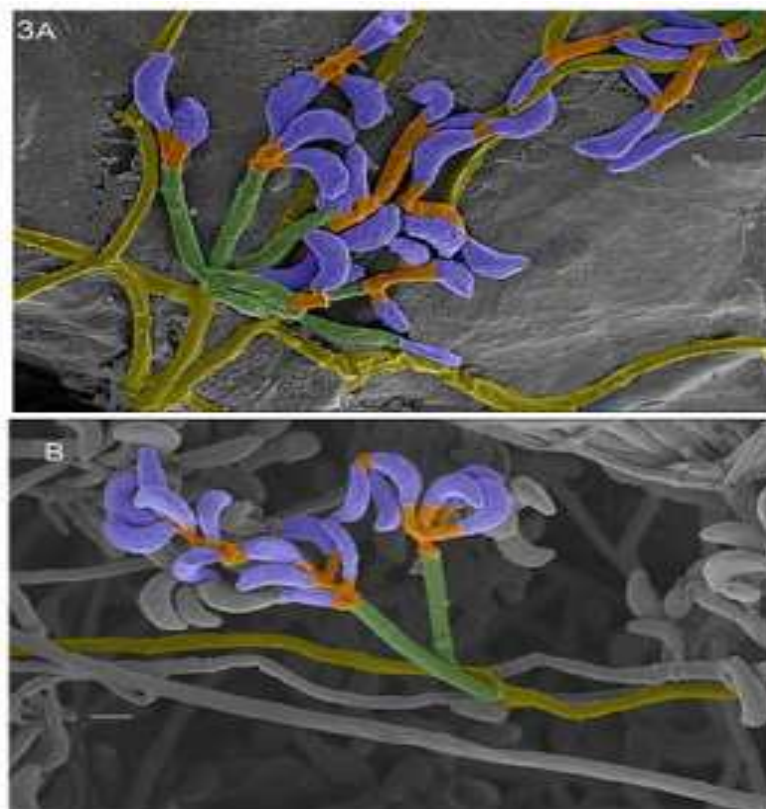
Původ houby *Geomyces destructans* není zcela objasněn, ale spekuluje se, že by mohla pocházet z Evropy, kde by se měla vyskytovat již mnoho let, a do Ameriky by mohla být přenesena člověkem například na jeho oděvu (např. Blehert, 2012).

Houba napadá chlupové folikuly s přidruženými žlázami, na nichž vytváří bělavé povlaky houbových hyf. Na neosrstěných místech, zejména na uších a křídlech způsobuje hluboké epidermální léze. Doposud není zcela objasněno, jakým způsobem tato houba napadá netopýry, ani jakým mechanismem způsobuje úhyn stovek tisíců jedinců. Nicméně se předpokládá, že zásadní význam na zhoršení fyzické kondice napadených netopýrů má především poškození křídel a zvýšená frekvence probouzení netopýrů v průběhu hibernace (Reichard and Kunz, 2009).

Přirozený cyklus zimního spánku umožnil *G. destructans* aby se stala velmi úspěšným patogenem netopýrů. Hibernace, která se vyznačuje dlouhými cykly hluboké strnulosti a

občasným vzrušením, je strategie netopýrů k maximalizaci pravděpodobnosti přežití v sezónních obdobích s tvrdými podmínkami jako je nedostatek potravy a/nebo vody. Během spánku jsou imunita a metabolismus dramaticky sníženy nebo dokonce inhibovány, což doprovází pokles tělesné teploty. Teplota hibernujících netopýrů je ideální pro maximální růst *G. destructans* (přibližně 1 až 15 °C). Kromě fyziologických změn se u některých druhů netopýrů vyvinuly různé strategie chování vedoucí k maximalizaci šance na přežití během zimního spánku, jako je vyhledávání vlhkých oblastí v zimovišti nebo tvoření velkých shluků za účelem snížení ztráty energie a vlhkosti. Toto chování by mohlo přispívat ke kolonizaci plísní díky zvýšené vlhkosti a kontaktu s infikovanými jedinci. Kromě toho přirozené snížení imunitní funkce u přezimujících druhů netopýrů usnadňuje *G. destructans* napadení tělesné tkáně bez konfrontace s imunitní odpovědí, což činí ze zimujícího netopýra ideálního hostitele, který poskytuje živiny, takže se infekce může bez odporu rozšiřovat (Cryan et al., 2010).

Příloha č. 8, morfologie *G. destructans*



(Chaturvedi et al., 2010)

Výzkum nově objevené *Geomyces destructans* byl nejprve zaměřen na molekulárně – genetická vyšetření. Řada vědců se však zaměřila na výzkum morfologických vlastností této houby. Mezi prvními se tímto výzkumem zabývali Meteyer et al. (2009). Ti ve své práci s názvem Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in bats uvedli, že důležitými vlastnostmi *Geomyces destructans* jsou tvar konidií, velmi pomalý růst na umělých médiích a adaptace na chladné prostředí, kdy houba neroste při teplotě 24 °C, nebo vyšší. Tato houba byla v současné době identifikována pouze z tkání netopýřů, kde infikovala živou tkáň.

Od roku 2009 však byly učiněny další kultivace a houba *Geomyces destructans* byla kultivována i ze stěn jeskyní a štol, tedy zimovišť netopýřů. Kultivace provádělo mnoho vědců s velmi obdobnými výsledky. Shodují se především v tom, že *Geomyces destructans* se daří při nízkých teplotách (5 – 14 °C; 40 – 55 °F) a při vysoké vlhkosti vzduchu (> 90%), což jsou podmínky, ve kterých netopýři přezimují (Castle and Cryan, 2012).

Blehert et al., (2009) houbu izolovali z 10 netopýřů s histologicky průkazným syndromem bílého nosu a s tím spojenou kožní plísňovou infekcí. Tito netopýři byli shromážděni mezi 1. únorem a 1. dubnem 2008 ze všech států, v nichž byl potvrzen region syndromu bílého nosu. Výrazně zakřivené konidie izolátů byly totožné s konidiami seškrábanými přímo z čenichů syndromem bílého nosu postižených netopýřů hnědavých sesbíraných v grafitovém dolu (Graphite Mine, New York) a s konidiami pozorovanými histologicky na povrchu kůže infikovaných netopýřů. Izoláty byly kultivovány na počátku při 3 °C, optimálně rostly v rozmezí od 5 °C do 10 °C, ale mírně rostly i při 15 °C. Horní limit pro růst byl 20 °C. Teploty v zimovištích s výskytem syndromu bílého nosu se pohybují mezi 2 °C až 14 °C, což umožňuje celoroční růst a udržování psychrofilních hub.

Podrobnému výzkumu se věnovali Šimonovičová et al. (2011) a získali výsledky, které také ukazují, že *Geomyces destructans* je psychrofilní a velice pomalu rostoucí houba. Za 18 – 20 dní tvoří malé kolonie dosahující 0,8- 1,0 cm v průměru na OA, 1,0- 1,5 cm v průměru na MEA, a 2,5 cm v průměru na SAB ve tmě, při teplotě 5 °C. Kolonie jsou světle šedé, šedo-zelené, s 1 mm širokým bílým sterilním okrajem. Spodní strana kolonie je bezbarvá. Houba utváří rozvětvené vztyčené konidiofory se zaoblenými konidiami (4.6–6.0 × 1.5–3.1 μ m) formovanými do krátkých řetězců.



(Šimonovičová et al., 2011)

Gargas et al. (2009) provedli výzkum, který se zaměřil na kultivaci *G. destructans* na různých médiích. Výzkum ukázal, podobně jako výzkumy jiných autorů, že kolonie na CMA a SAB dex agaru jsou pomalu rostoucí a psychrofilní. Průměr kolonie byl po 16 -ti dnech 1.0 mm při 3 °C, 5 mm při 7° C, 8 mm při 14 °C a při 24°C houba neroste. Na SAB dex agaru měly kolonie bílý okraj se sterilním bílým přerostem. V celé kolonii byly rozprášené konidie, což způsobilo šedou až šedozelenou (spíše šedo-olivovou) barvu uvnitř kolonie. Rub kolonie je bezbarvý na CMA a šedohnědý na SAB dex agaru. Na CMA jsou asymetricky zahnuté konidie nesené jednotlivě na špičkách, na stranách, nebo v krátkých řetězcích na vertikálně rozvětvených konidioforech. Na některých vzorcích lze pozorovat interkalární konidie (arthrokonidie), někdy s nápadnými dělicími se buňkami v řetězcích, které procházejí konidiemi. Konidiofory jsou vztyčené, hyalinní, hladké a tenkostěnné. Jsou 1.5 - 2 µm široké, 35 - 90 µm dlouhé, někdy i delší, obvykle nesoucí 2 - 4 větve svírající ostrý úhel se třením houby. Větve se mohou zdát mírně zakroucené vzhledem k přítomnosti zakřivených konidií. Konidie mají rozměry 5 -12 x 2.0 - 3.5 µm, zužují se basálně do 1.5 - 2.0 µm a apikálně do 0.5 - 1.5 µm, a jsou zkráceny jizvami na jednom nebo obou koncích. Jsou hladce jemně pigmentované, převážně zakřivené, někdy oválné, nebo ovoidní, tenkostěnné a snadno odtržitelné.

Vysvětlení zkratk medií použitých pro kultivaci *Geomyces destructans*:

CMA - Kukuřičný agar (Cornmeal Agar), Samson et al. 2004

kukuřičná mouka 60 g

agar 15 g

voda 1 litr + další na přidání

MEA – Agar se sladovým extraktem (Malt Extract Agar), Pitt 1979

malt extrakt 20 g

glukosa 20 g

pepton 1 g

agar 15 g

destilovaná voda 1 litr

pH 5,6

SAB – Sabouraudův agar (Sabouraud agar), Fassatiová 1979

glukosa 40 g

pepton 10 g

agar 15 g

destilovaná voda 1000 ml

SAB dex – Sabouraudův dextrosový agar

pepton 10g

dextrosa 40g

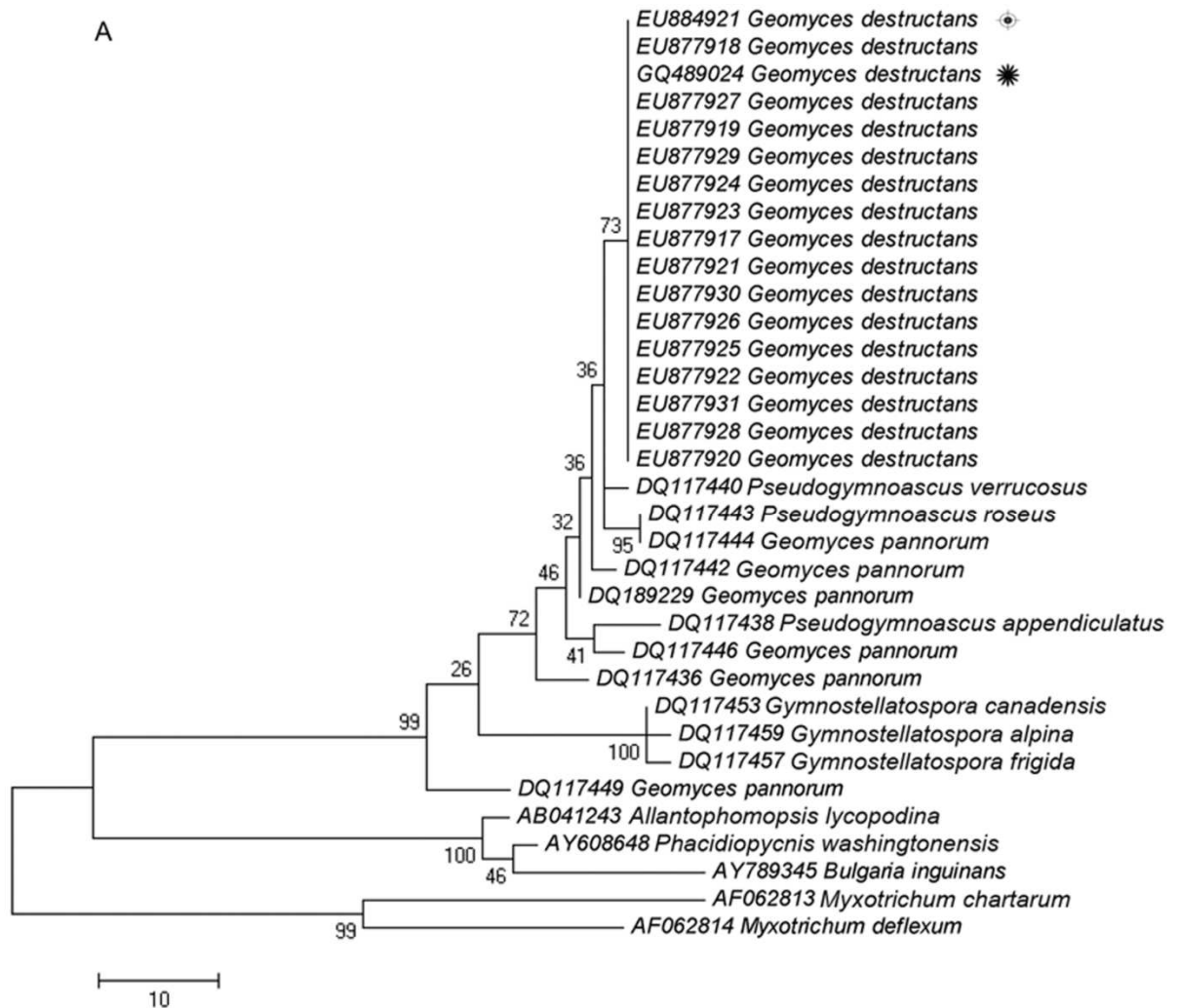
agar 15g

destilovaná voda 1 litr

pH 5,6 ± 0,2

(Kubátová, 2006)

Příloha č. 10, fylogenetická analýza nukleotidových sekvencí *G. destructans* A

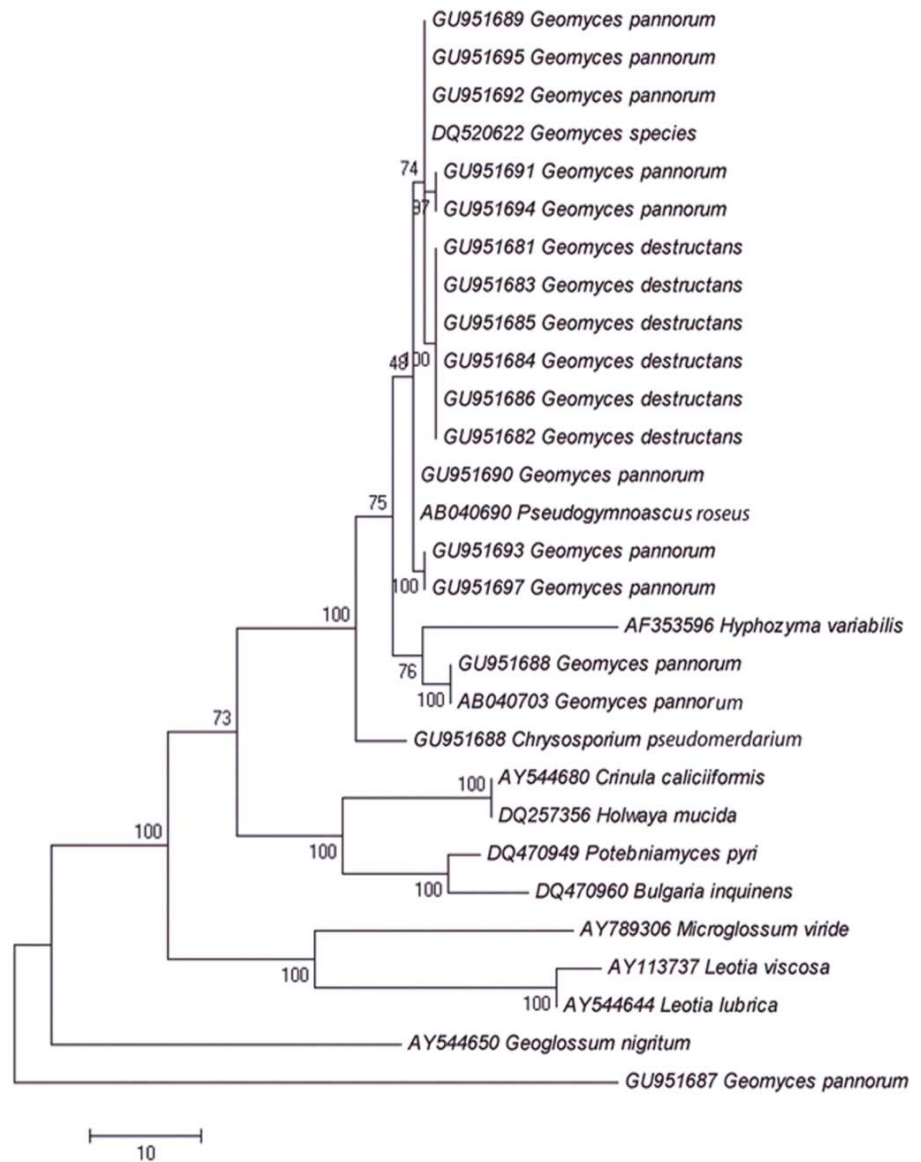


(Chaturvedi et al., 2010)

Tento kladogram byl sestaven pomocí metody zvané parsimony analysis sekvencí genu ITS. Tato metoda je postavena na předpokladu, že ta hypotéza, která vyžaduje nejmenší počet změn komponentů kladogramu (neboli mutačních změn) je s největší pravděpodobností správná. Po odstranění nedostatků a chybějících dat soubor obsahoval 448 pozic, z nichž 109 bylo informativních. Informativní nukleotidová pozice je taková pozice, která poskytuje informace o evolučních vztazích mezi taxony. Značky v kladogramu označují sekvence, které neuložili přímo Chaturvedi et al., ale jiní výzkumní pracovníci v USA * a ve Francii ⊙.

Příloha č. 11, fylogenetická analýza nukleotidových sekvencí *G. destructans* B

B



(Chaturvedi et al., 2010)

Tento kladogram byl také sestaven na základě parsimony analysis, ale byl zaměřen na 28S ribozomální sekvence a metodu Maximum parsimony. Po odstranění nedostatků a chybějících dat obsahoval datový soubor 537 pozic, z nichž 88 bylo informativních. Kladogram je odvozen od 94 dílčích kladogramů, které byly sestaveny metodou parsimony analysis.

3.3. Situace v Severní Americe

Fakt, že syndrom bílého nosu nepříznivě ovlivňuje miliony netopýrů přezimujících v jeskyních na východě Spojených států amerických (např. Francl et al., 2011), je v současné době zcela zřejmý.

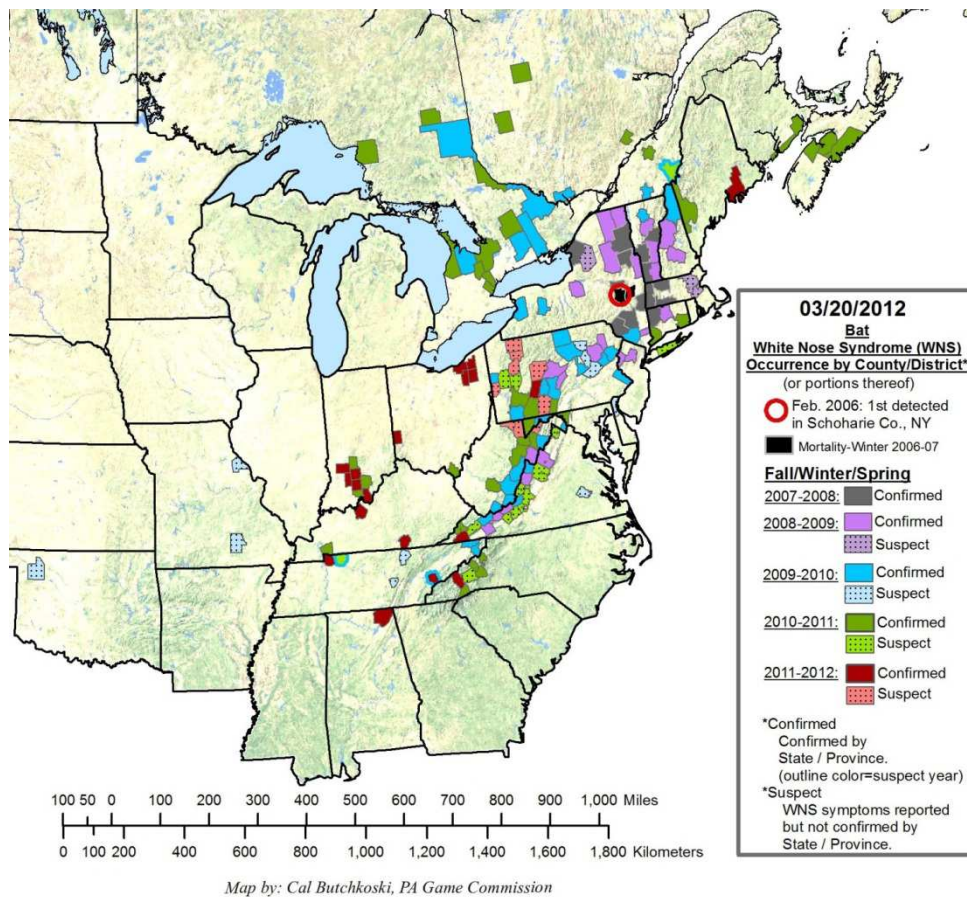
První nález syndromu bílého nosu (WNS) byl zdokumentován na fotografii pořízené v Howes Cave, 52 km západně od města Albany ve státě New York, 16. února 2006 (Bleher et al., 2009).

Postižení netopýři měli bílou substanci na tlamce a křídlech. Na začátku roku 2008 byli „bělonosí netopýři“ znovu pozorováni v místech, kde netopýři hibernují (v zimovištích). Biologové odhadují, že od března roku 2008 uhynulo na tuto nemoc více než milion netopýrů, z nichž mnoho jedinců bylo druhu *Myotis lucifugus* (netopýr hnědavý) (National Wildlife Health Center, 2011). Takovou domněnku vyslovil například Hicks (2009), který napsal, že v roce 2008 se počet zimujících netopýrů snížil z původních 13 000 na pouhých několik stovek jedinců za jediný rok.

První úhyny na syndrom bílého nosu byly zaznamenány roku 2007 v okolí 9 mil od jeskyně, kde se syndrom vyskytl poprvé. Roku 2008 se rádius zaznamenaných úhynů rozšířil na 130 mil a dalších 90 mil bylo infikováno, ale bez prokázaných úhynů (Hicks, 2009).

Od roku 2007 se syndrom bílého nosu rozšířil o více než 1600 kilometrů (1000 mil) přes 11 dalších států (Connecticut, Massachusetts, New Hampshire, New Jersey, Pennsylvania, Tennessee, Vermont, Virginia, s West Virginia v USA a provincie Ontario a Quebec v Kanadě) zdevastoval při tom mnohé populace netopýrů. V polovině dubna 2010 byl syndrom bílého nosu potvrzen až na západě v St. Louis v Missouri (Castle and Cryan, 2012, Wibbelt et al., 2010b).

Příloha č. 12, aktuální mapa rozšíření WNS v USA



Zdroj: http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/white-nose_syndrome

Průběhem šíření syndromu bílého nosu se velice podrobně zabývají Szymanski et al. (2009) ve své práci s názvem White-Nose Syndrome Management: Report on Structured Decision Making Initiative.

Syndrom bílého nosu byl charakterizován jako stav přezimujících netopýřů a byl pojmenován na základě vizuálně patrné bílé plísně na tlamce, uších a/nebo membráně křídel postižených netopýřů. Detailní post mortem hodnocení bylo zhotoveno u 97 netopýřů hnědavých (*Myotis lucifugus*; Mylu), 9 netopýřů novoskotských (*Myotis septentrionalis*; Myse), 5 netopýřů hnědých (*Eptesicus fuscus*; Epfu), 3 netopýřů žlutavých (*Perimyotis subflavus*; Pesu) a 3 neurčených netopýřů z 18 míst v rámci oblasti postižené syndromem bílého nosu. Zřetelná kožní plísňová infekce byla pozorována ve 105 ze 117 histologických sekcí pitvaných netopýřů (91 Mylu(94%), 8 Myse (89%), 0 Epfu (0%), 3 Pesu (100%), a 3 neidentifikovaní (100%)). Plísňové hyfy nahradily chlupové folikuly a přilehlé mazové a potní žlázy, porušily bazální membrány a napadly tkáň. Hyfy také narušily epidermis uší a

křídél. Navíc 69 ze 105 netopýrů (62 Mylu (64%), 6 Myse (67%), 0 Epfu(0%), 1 Pesu (33%), a 0 neidentifikovaných (0%)) s kožní plísňovou infekcí mělo malé nebo žádné tukové rezervy, které jsou rozhodujícím faktorem pro úspěšné přezimování (Blehert et al., 2009).

Doposud bylo syndromem bílého nosu napadeno šest druhů netopýrů: Netopýr hnědavý (*Myotis lucifugus*), Netopýr hnědý (*Eptesicus fuscus*), Netopýr žlutavý (*Perimyotis subflavus*), Netopýr novoskotský (*Myotis septentrionalis*), Netopýr šídlovitý (*Myotis leibii*), a ohrožený Netopýr společenský (*Myotis sodalis*). Syndrom bílého nosu se objevil ještě u dalších třech druhů: Netopýr hnědošedý (*Myotis grisescens*), Netopýr mississippijský (*Myotis austroriparius*), a Netopýr jeskynní (*Myotis velifer*). U těchto druhů však onemocnění nedošlo až k úhynu. Bude-li současný stav infekce a mortality pokračovat, stavy 25 druhů hibernujících netopýrů ve Spojených Státech Amerických by mohly klesat a syndrom bílého nosu by mohl ohrozit některé běžné druhy vyhynutím (Anon., 2012).

Mnohé z postižených jeskyní jsou významné oblasti cestovního ruchu a rekreačních aktivit. Zablokování přístupu veřejnosti by mohlo být nutné k dekontaminaci těžce zamořených jeskyní a dalších přírodních lokalit s využitím bezpečné a účinné chemické látky, která by selektivně eliminovala *Geomyces destructans* (Chaturvedi S. et al., 2011a).

Netopýři patří v Severní Americe mezi nejvíce přehlížená nedomestikovaná, avšak ekonomicky významná zvířata. Jejich ochrana je důležitá pro integritu ekosystémů a je v nejlepším zájmu z hlediska jak národní tak mezinárodní ekonomiky. Řešení, která sníží dopad syndromu bílého nosu na populace netopýrů, a zároveň sníží úmrtnost na větrných energetických zařízeních, jsou uskutečnitelná v několika příštích letech, ale identifikace, zdůvodňování a aplikace řešení závisí na zvýšení a rozšíření povědomí o výhodách hmyzožravých netopýrů mezi veřejností a v politické a vědecké sféře (Boyles et al., 2011).

3.4. Situace v Evropě

Syndrom bílého nosu je charakterizován přítomností *Geomyces destructans* na těle netopýra, atypickým chováním a následným úhynem postiženého jedince. Pokud je přítomna pouze plíseň a aberantní chování a mortalita se neprojeví, nelze hovořit o syndromu bílého nosu. Vzhledem k tomu, že v Evropě nebyla dosud zaznamenána úmrtí netopýrů prokazatelně zapříčiněná *Geomyces destructans*, nemělo by se na tomto území hovořit o syndromu bílého nosu, ale o takzvané geomykóze (Chaturvedi V. and Chaturvedi S., 2011).

Výskyt *Geomyces destructans* byl prokázán kromě Severní Ameriky i v Evropě. Při prohlédnutí fotografií pořizovaných při zimních sčítáních netopýrů z minulých let bylo zjištěno, že se netopýři s plísní na čenichu vyskytovali v některých evropských zemích již více než 20 let. Blehert (2012) uvádí, že netopýři s bílou houbou na čenichu byli nalezeni v Německu na začátku 80. let 20. století.

Ačkoli fotografie netopýrů s nárůstem plísně podobné *Geomyces destructans* byly publikovány v Německu v 80. letech 20. století a podobné fotografie byly pořízeny v 90. letech 20. století v České republice, nebyly v Evropě pořízeny žádné záznamy o výskytu *Geomyces destructans* až do roku 2008. V roce 2010 byla *G. destructans* potvrzena morfologickou a genetickou analýzou ze vzorků odebraných během zimy na přelomu let 2007/2008, 2008/2009, 2009/2010 v šesti evropských zemích – ve Francii, Maďarsku, Švýcarsku, Slovensku, Německu a České republice. Ve všech zemích byla houba potvrzena na 1 – 2 lokalitách, vyjma Německa a České republiky. V Německu bylo pozitivních 8 lokalit, v České republice 23 lokalit. V rámci celé Evropy byly napadeny geomykózou tyto druhy netopýrů: netopýr velký (*Myotis myotis*), netopýr východní (*Myotis blythii*, neboli *Myotis oxygnathus*), netopýr vousatý (*Myotis mystacinus*), netopýr vodní (*Myotis daubetonii*), netopýr pobřežní (*Myotis dasycneme*), netopýr řasnatý (*Myotis nattereri*), netopýr velkouchý (*Myotis bechsteinii*) a netopýr Brandtův (*Myotis brandtii*). Druhy netopýrů z jiných rodin (například létavec stěhovavý - *Miniopterus schreibersi*byly, vrápenec malý - *Rhinolophus hipposideros* a jiné) byly v zimovištích také přítomny, napadení houbou *Geomyces destructans* u nich však nebylo zjištěno. V předchozích rozsáhlých výzkumech jeskynních hub v Evropě, nebo ve výzkumech hub spojených se zimováním hmyzu nikdy nebyla zaznamenána přítomnost *Geomyces destructans*, ačkoli jiné druhy rodu *Geomyces* zaznamenány byly (Puechmaille et al., 2011b).

Na rozdíl od Severní Ameriky syndrom bílého nosu nezpůsobuje v Evropě masovou mortalitu napadených netopýrů. Tento fakt by mohla způsobovat odlišná strategie při hibernaci v evropských zimovištích od severoamerických zimovišť. Zatímco v Evropě mají netopýři při hibernaci tendenci k vytváření malých skupin, nebo zimují jednotlivě, v Severní Americe se některá zimoviště vyznačují velkými shluky zimujících netopýrů čítající tisíce jedinců. V takto velkých skupinách je počet jedinců se syndromem bílého nosu větší než v malých klastrech. Opakované probouzení, péče o srst, a zvýšení teploty pravděpodobně vede k rušení okolních jedinců, které se může ve vlnách šířit celým klastrem (Martínková et al., 2010)

Do doby, než se plíseň objevila v Severní Americe a začala drancovat zdejší populace netopýrů, bylo jen málo lidí, kteří získali vzorky houby z napadených netopýrů. Některé vzorky se však uchovaly a v současné době byly v Dublinu a v Berlíně zanalyzovány. Následně bylo na světové konferenci o netopýrech pořádané v Berlíně rozhodnuto, že je nezbytně nutné získat a doplnit informace o *Geomyces destructans*.

Tato konference s názvem 2nd International Berlin Bat Meeting: Bat Biology and Infectious Diseases se konala 19. – 21. února 2010. Setkali se zde vědci ze dvou hlavních oborů – specialisté na biologii netopýrů a specialisté na onemocnění, aby se podělili o své znalosti o onemocněních napadajících netopýry. Smyslem setkání bylo zjistit, proč se právě netopýři stali hostiteli mnoha z nejvíce virulentních onemocnění na světě (Wibbelt et al., 2010a).

Puechmaille et al. (2010) vydali klíčovou studii týkající se problematiky geomykózy v Evropě. Zjistili, že *Geomyces destructans* je přítomna v zimovištích netopýrů ve Francii a vyvodili 3 možné scénáře jejího šíření. První scénář se zabývá myšlenkou, že houba je v Evropě přítomna jen krátce a netopýří populace na tomto kontinentu jsou tedy stejně ohroženy jako populace v Severní Americe. V tom případě musí být učiněna opatření k minimalizaci šíření tohoto onemocnění. Podle druhého scénáře se *G. destructans* vyskytuje v Evropě již dlouhou dobu. Vzhledem k tomu, že na evropských netopýrech nebyl pozorován úbytek hmotnosti ani mortalita, scénář pracuje s myšlenkou, že se u evropských netopýrů proti syndromu bílého nosu vyvinul nějaký druh imunity. Třetí scénář naznačuje, že *G. destructans* není primární příčinou úhynu netopýrů, ale působí pouze jako oportunní patogen netopýrů, kteří jsou již imunokompromitováni jinými patogeny, jako jsou viry nebo bakterie (Puechmaille et al., 2010).

Nelze ani vyloučit, že k podobně masovému úhynu netopýrů, jaký je nyní pozorován v USA, došlo kdysi i v Evropě, a netopýři si pod jeho vlivem přizpůsobili svou přezimovací strategii – zimují jednotlivě nebo jen v malých trsech (není náhodou, že u nás nejvíce napadaný netopýr velký často zimuje v trsech několika jedinců pohromadě), nebo se podzemním zimovištěm začali vyhýbat úplně (jako např. netopýr velkouchý). Předpokládá se rovněž, že se houba rozšířila z Evropy do USA (a ne naopak, jak se zpočátku myslelo), kde na její působení nebyli netopýři ještě zvyklí (Andrle, 2011).

Podle Bleherta (2012) lidstvo uspělo v překonávání bariér, které v historii vždy bránily rozšíření nemocí po celém světě, jako jsou hlavně oceány a pohoří. Globální cestování a obchod byly shledány významnými pro globální rozšíření infekčních onemocnění.

3.5. Situace v České republice a na Slovensku

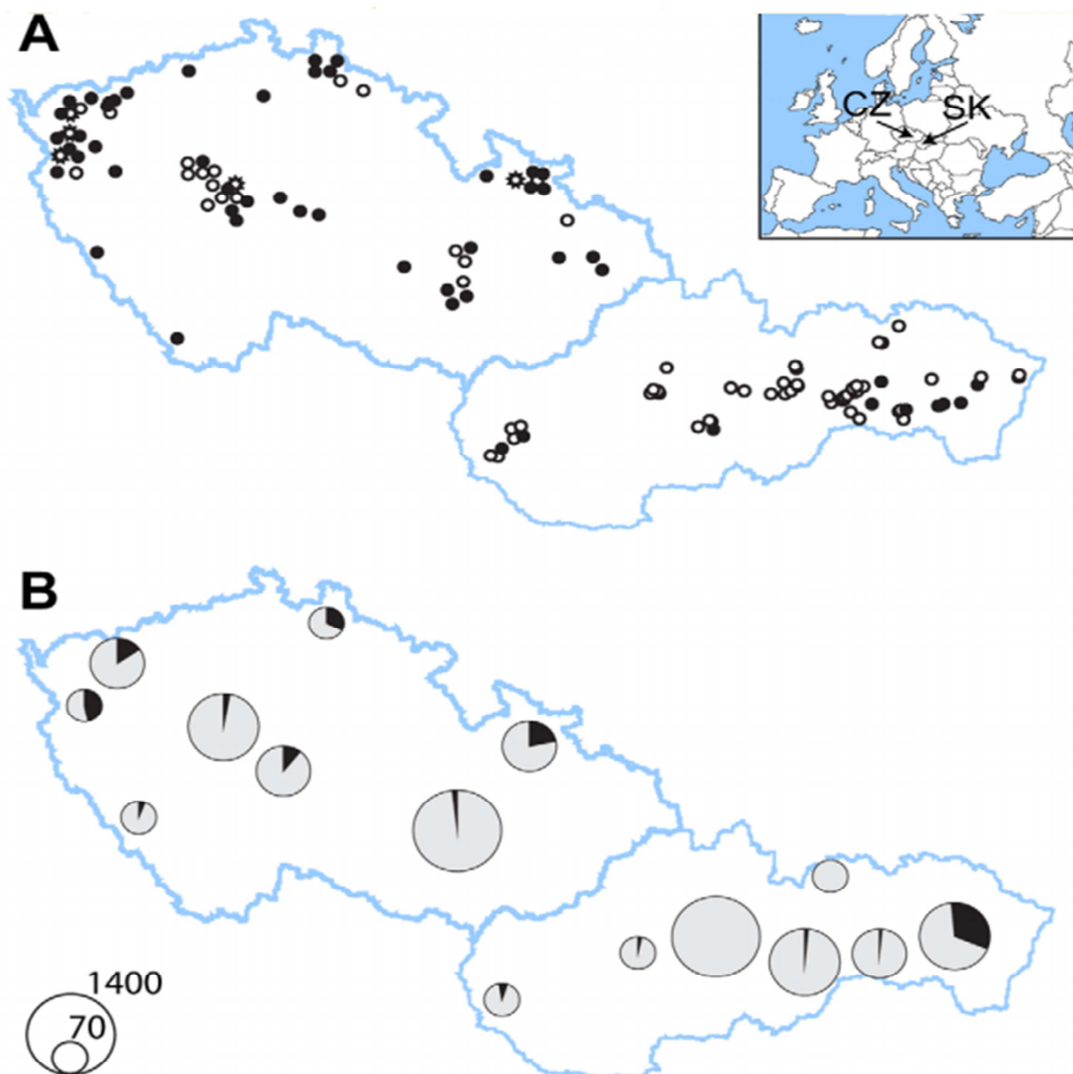
Na území České republiky a Slovenska se vyskytuje celkem 28 druhů letounů. Na tomto území provádí Česká společnost pro ochranu netopýrů (ČESON) a Spoločnosť pre ochranu netopierov na Slovensku (SON) každoroční kontroly zimovišť. Pravidelná a metodicky standardizovaná sčítání netopýrů na zimovištích začala v roce 1969, kdy bylo zkontrolováno 15 modelových lokalit.

Na přelomu let 2008/2009 probíhalo podrobné sledování asi 110 středočeských zimovišť. Ve všech byl nález syndromu bílého nosu negativní, pouze v jedné atypické lokalitě byli 2 jedinci podezřelí z napadení geomykózou. V lednu a únoru roku 2010 byly stejné lokality prověřeny znovu a v 8 z nich byl nález pozitivní, v některých zimovištích bylo napadeno až 50 % jedinců. Houba odebraná z napadených jedinců v České a Slovenské republice byla totožná s houbou vyskytující se na jedincích v Severní Americe. Geomykóza dosud postihuje jen menší část lokalit a poměrně malou část populace netopýrů v ČR a SR. V obou státech je nejnapadenějším druhem netopýra netopýr velký (*Myotis myotis*). Intenzita výskytu geomykózy se v jednotlivých oblastech a typech lokalit liší, nejvyšší koncentrace nakažených jedinců je krasovou oblast a v kontextu svahových sutí. Tyto dva fakty zapříčinily vznik hypotézy, že se *Geomyces destructans* dostala do jeskyní právě ze sutí, kde se vyskytovala přirozeně. Netopýr velký totiž často loví potravu na zemi, které se dotýká zadními nohama a předloktím. Právě na předloktí bylo u mnoha jedinců napadených geomykózou nalezeno více lézí než na ostatních částech těla. Netopýři tedy pravděpodobně zanašeli *Geomyces destructans* do jeskyní mnohem dříve, než se u nich geomykóza objevila. Vlivem změny klimatu se houba přizpůsobila podmínkám v jeskyních a dalších zimovištích netopýrů.

V České ani Slovenské republice zatím není prokázána mortalita způsobená syndromem bílého nosu, proto zde nárůst houby na netopýrech označován jako geomykóza.

Nejnovější výzkumy, které proběhly v zimě 2011/2012 ve Středních Čechách naznačují další šíření geomykózy, jak v počtu lokalit, tak v prevalenci (podílu infikovaných kusů), která prudce naskočila v závěru zimy. I když z podstatné části se na ní podílí jedinci v prvním stadiu infekce, přibylo i jedinců s masivním napadením - kožními lézemi na boltcích a

křídlech. Bylo by velmi žádoucí zhodnotit, zda jde o celkový trend, shodný v různých oblastech, nebo o specifikum středočeských lokalit (Horáček, 27. 3. 2012, pers. comm.).



(Martínková et al., 2010)

A – výskyt geomykózy v lokalitách určených pro sledování rozšíření geomykózy. Některé značky reprezentují více než jedno zimoviště. Bílými kruhy jsou označeny lokality zkontrolované v letech 2009 a 2010, černé kruhy jsou označením lokalit s přítomností geomykózy, hvězdou jsou označeny lokality s fotograficky doloženou geomykózou v letech 2007 a 2008.

B- výskyt jedinců s geomykózou v populaci netopýra velkého. Data se vztahují k jednotlivým regionům, velikost kruhů je přímo úměrná velikosti tamní populace netopýra velkého.

3.6. Sběr a shromažďování informací o WNS

V každém regionu existují jiná doporučení postupů při sběru a shromažďování dat o syndromu bílého nosu. V následující části práce budou uvedena doporučení pro USA, Evropu a Českou a Slovenskou republiku.

3.6.1. Doporučení pro USA

Pozorovatelům v USA se doporučuje řídit se následujícími body: Sběr dat ze zimovišť, pořízení fotografií, sběr koster a odběr živých vzorků.

Sběr dat ze zimovišť: pozorovatel by měl vyplnit formulář o sběru dat v zimovišti, který se skládá z pěti částí. První část je zaměřena na pozorovatele a zahrnuje jméno pozorovatele, kontakt a datum provedeného pozorování. Druhá část se týká popisu zimoviště a obsahuje dotaz na zemi, ve které bylo pozorování uskutečněno, například USA, stát, například New York, zeměpisnou šířku a délku a znovu datum pozorování. Třetí část je zaměřena na pozorování netopýrů u vchodu do zimoviště v oblasti, kam zasahuje denní světlo, a zahrnuje počet a určení druhů pozorovaných netopýrů, počet pozorovaných skupin netopýrů, rozmístění napadených netopýrů, zda byli soliterně nebo ve shlucích, přičemž za shluk se považuje skupina více než dvou jedinců v přímém tělesném kontaktu, a dále údaje o netopýrech poletujících kolem vchodu během pěti minut pozorování, jako je počet živých, umírajících a mrtvých kusů, počet kusů s viditelnou plísní, i kdyby to měly být jen odhadované počty, a fotografie napadených jedinců. Čtvrtá část je zaměřena na netopýry uvnitř zimoviště a obsahuje stejné parametry, jako předchozí tabulka. Pátá část zahrnuje znovu stát ve kterém bylo pozorování provedeno, datum pozorování, jméno pozorovatele, čtyřpísmenný kód druhu zaznamenávaného netopýra, lokace v rámci zimoviště, tedy zda se popisovaný netopýr nacházel u vchodu, uvnitř, nebo vně zimoviště, pohlaví sledovaného netopýra, jeho stav, zda byl živý, mrtvý nebo umírající, přibližný věk netopýra, tedy zda byl juvenilní nebo dospělý, váhu v gramech, délku předloktí v milimetrech, zda měl viditelné napadení houbou a kde, hlavní zaměření je na tlamku, uši, křídla a ocas, míru poškození křídel na stupnici od 0 do 3, fotografii netopýra, typ odebraných vzorků, zda byl proveden odběr houby pomocí lepenky, zda byla provedena biopsie křídla, stěr pomocí tampónu, sběr celé kostry, a zda byly vzorky archivovány.

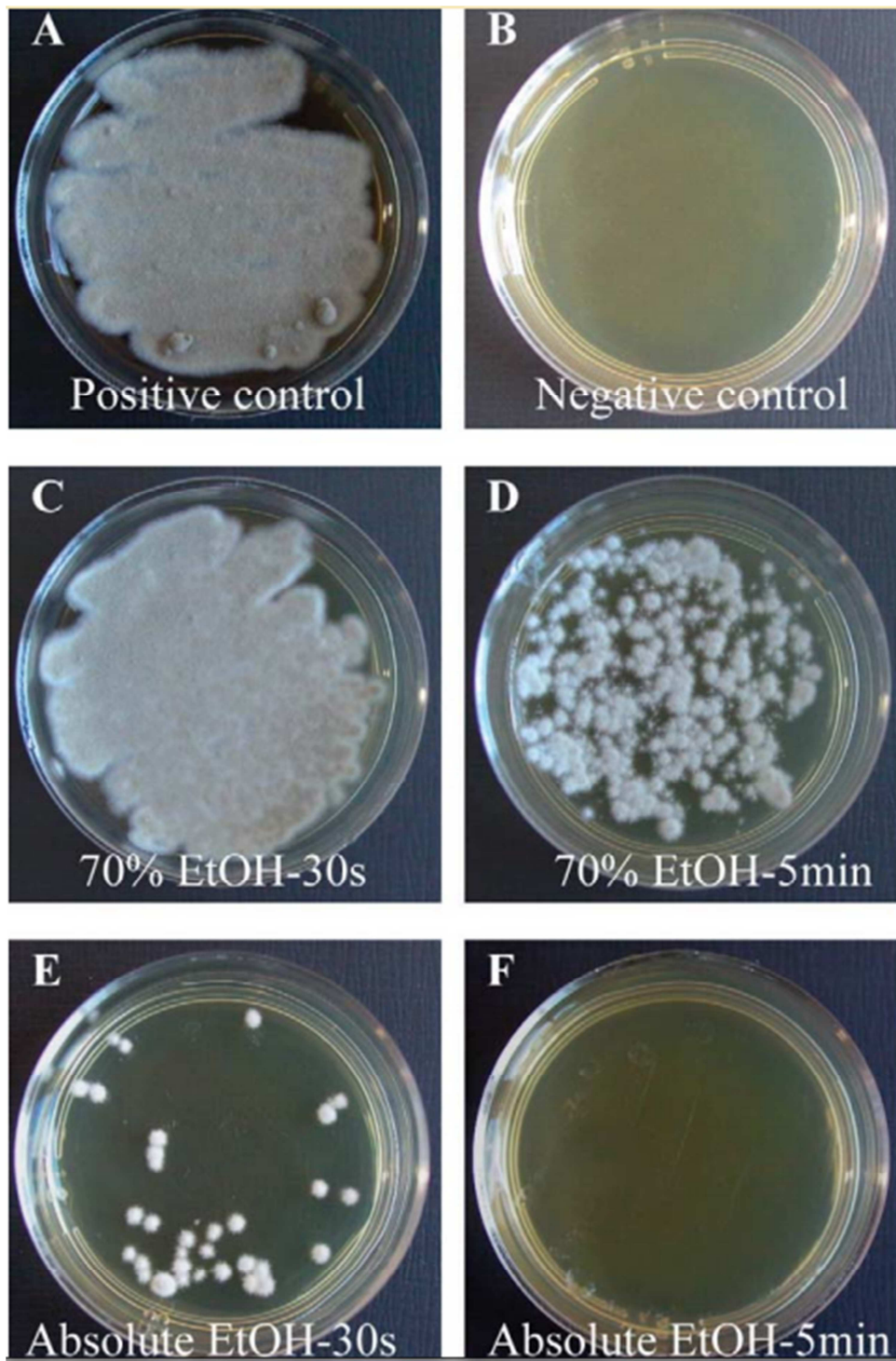
Formulář by měl být vyplněn bez ohledu na to, v jakém státě bylo pozorování uskutečněno a bez ohledu na to, zda byli pozorováni netopýři napadení syndromem bílého nosu, nebo zda projevovali abnormální chování. I negativní data jsou velmi přínosná pro

znalost epidemiologie syndromu bílého nosu. Pokud je nalezen uhynulý netopýr nevykazující známky syndromu bílého nosu, měly by být vzorky zaslány na National Wildlife Health Center Specimen History. Není-li zjištěn žádný nevysvětlitelný úhyn netopýra a není evidentní nárůst houby, nebo není-li pozorováno neobyčejné chování netopýrů, není nutné pořizovat fotografickou dokumentaci nebo diagnostické vzorky.

Fotografická dokumentace: manipulace s netopýry může způsobit velké ztráty viditelného nárůstu plísně, než vzorky dorazí do laboratoře. Proto by se měly pořizovat dobré a kvalitní fotografie postižených netopýrů, zejména v regionech, kde byl syndrom bílého nosu již detekován.

Velmi důležitým faktorem pro výzkum *Geomyces destructans* je kromě samotného odběru vzorků také jejich uchovávání. Puechmaile et. al (2011b) zkoumali životaschopnost *G. destructans* poté, co vzorky byly vystaveny běžně používaným DNA/RNA konzervačním metodám. Svými pokusy prokázali, že *G. destructans* je schopna růstu po uchovávání v suchém prostředí po dobu osmi dnů, ale nedokáže růst po stejně dlouhém skladování v 70 % nebo zcela koncentrovaném etanolu. Uchovávání vzorků při různých teplotách výsledky pokusu nijak podstatně neovlivnilo. Dále prokázali, že konidie *Geomyces destructans* byly zahubeny po uložení v 70 % etanolu po dobu minimálně 24 hodin, zatímco při skladování v koncentrovaném etanolu byly konidie zahubeny již po 30 minutách. Autoři těmito pokusy naznačují, že vzorky, které jsou přepravovány do regionů, ve kterých se syndrom bílého nosu zatím neprokázal, by měly být konzervovány v koncentrovaném etanolu, aby nedošlo k neúmyslnému šíření houby člověkem.

Příloha č. 14, reakce *G. destructans* na etanol



(Puechmaile et al., 2011b)

A - pozitivní nález, B – negativní nález, C – vystavení vzorku 70 % etanolu po dobu 30 sekund, D - vystavení vzorku 70 % etanolu po dobu 5 minut, E - vystavení vzorku

koncentrovanému etanolu po dobu 30 sekund, F - vystavení vzorku koncentrovanému etanolu po dobu 5 minut

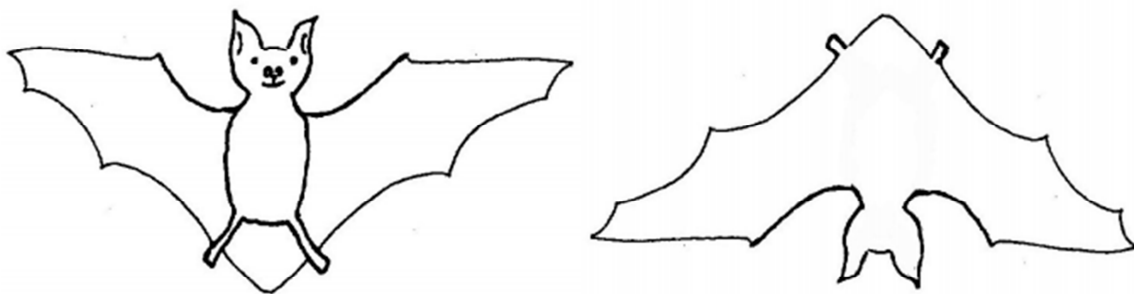
3.6.2. Doporučení pro Evropu

V evropských doporučeních pro sběr a shromažďování dat týkajících se geomykózy je uvedeno, že je potřebné věnovat pozornost klimatickým podmínkám v rámci pozorovaného zimoviště. V těsné blízkosti netopýrů podezřelých z napadení *Geomyces destructans* by výzkumník měl změřit teplotu vzduchu a relativní vzdušnou vlhkost. Před odběrem vzorků je vhodné pořídit fotografie lézí na těle netopýra.

Při odběru vzorků je doporučeno používat jednorázové gumové rukavice, které by se měly měnit po odebrání vzorků z jednotlivého jedince, průhlednou lepicí pásku a podložní sklíčko pro uchování vzorku připravení k mikroskopování. Z lepicí pásky se vytvoří smyčka, lepicí stranou vně, a opatrně se 1 – 2x přiloží k lézi tak, aby k ní přilnuly podezřelé houbové struktury. Takto odebraný vzorek se nalepí na podložní sklíčko. Při vstupu do zimoviště je doporučeno mít na sobě kromě gumových rukavic také gumové boty, a overal, aby se celý oblek dal umýt před vstupem do dalšího zimoviště a zabránilo se tak přenosu *Geomyces destructans* na botách a oděvu člověka.

Protokol o pozorování geomykózy v zimovištích evropských netopýrů vyžaduje vyplnění následujících údajů: druh pozorovaného netopýra, identifikaci netopýra (číslo kroužku a podobně), stáří netopýra (juvenilní nebo dospělý), pohlaví netopýra, tělesná hmotnost v gramech, celková kondice (velmi dobrá/dobrá/střední/špatná/vyhublá), datum pozorování, teplota vzduchu vně zimoviště, název lokality, souřadnice GPS, údaje o zimovišti – zda jde o jeskyni (v tom případě je třeba zapsat zda byl netopýr u vchodu, či na nějakém neobvyklém místě, a výšku ve které se netopýr nachází měřenou od země), nebo budku (výška v jaké je budka zavěšena), nebo strom (výška ve které se zimoviště nachází). Dále se vyplňuje již zmíněná teplota vzduchu a relativní vzdušná vlhkost v přímé blízkosti netopýra, počet jedinců nacházejících se v zimovišti, počet jedinců s viditelným nárůstem plísně, názorné zaznamenání lézí na těle netopýra na šabloně, vzhled lézí (bílá, žlutá, zelenomodrá, tmavě šedá, jiná), průměr nejmenší a největší léze v cm, a údaj, zda byla pořízena fotografie daného jedince.

Příloha č. 15, šablona - náčrt netopýra pro účely zaznamenání pozorovaných lézí



Zdroj: <http://wns2010.webnode.cz/>

Vyplněné protokoly a vzorky by měly být zaslány Dr. Gudrunovi Wibbeltovi do Berlína, nebo Dr. Sebastienovi Puechmailleovi do Dublinu.

3.6.3. Doporučení pro Českou Republiku

Na doporučení výboru ČESON bylo zřízeno profesionální koordinační centrum na PřF UK. Vedením agendy, tedy shromažďováním evidence, soustředěním vzorků a jejich distribucí k dalšímu zpracování, přípravou průběžných zpráv o stavu problému atd., byla pověřena Dr. Dita Weinfurtová. Základním úkolem tohoto roku a předpokladem zhodnocení epidemiologické dynamiky WNS ve střední Evropě je co nejpodrobnější vymapování výskytu WNS- důležité jsou nejen pozitivní nálezy, ale i kontroly zimovišť průkazně bez WNS. V případě suspektní přítomnosti WNS je nutno velmi pečlivě rozlišovat případy jednoznačně odpovídající WNS od ne zcela zřetelných příznaků či jiných plísňových onemocnění. V rámci WNS pozitivních případů je pak rovněž potřebné rozlišovat stav s nekompletními projevy WNS od kompletní WNS (plíseň na celé hlavě a na křídlech). Zvláštní pozornost je třeba věnovat rovněž potenciální změně chování WNS pozitivních jedinců resp. průvodním charakteristikám úhynu WNS pozitivních jedinců (příklad: J. Červený pozoroval WNS u tří jedinců druhu *M. myotis* na stěně těsně nad zemí). Netopýři včetně infikovaných kusů při kontrole nesmějí být rušeni. Z vybraných WNS pozitivních kusů (max. 1-2 na lokalitu) bychom měli odebrat vzorky houby tamponem (např. tampony na čištění zvukovodů běžně k sehnání v drogeriích, tyto odstříhnout a zavřít do ependorfky) nebo izolepou (z ní připravit ruličku na sirce, lepicou stranou ven a touto nabrat vzorek plísně z netopýra a poté umístit izolepu i se sirkou do ependorfky či skleněné lékovky). Lahvičky s odebranými vzorky doplnit lístkem s lokalitou, datem apod. a uzavřít do uzavíratelného PE sáčku. Vzorky lze krátkodobě uchovávat v ledničce, žádoucí je dodat je co nejdříve koordinačnímu pracovišti.

Veškeré manipulace s uhynulými jedinci, odběry vzorků apod. je potřeba provádět pokud možno v rukavicích na jedno použití a dodržovat i další pravidla platná pro práci ve vysoce infekčním prostředí (nenavštěvovat více masových zimovišť bez důkladného omytí bot, vyprání oděvu atd.) (wns2010.webnode.cz/).

Protokol, který by se měl vypracovat v rámci sledování syndromu bílého nosu, zahrnuje: jméno pozorovatele, kontakt na pozorovatele, informace o lokalitě pozorování jako je název lokality a její zeměpisná poloha, datum sledování, a dále zda byli pozorováni netopýři s bílým povlakem, nebo netopýři nashromáždění kolem vstupu do zimoviště, nebo v místech, kde normálně nezimují, zda netopýři vylétávali z místa zimoviště ve dne při teplotách pod 0 °C nebo blízko nuly, a zda byli mrtví nebo umírající netopýři v blízkosti zimoviště.

Příloha č. 16, vzor protokolu z terénního pozorování syndromu bílého nosu.

SYNDROM BÍLÉHO NOSU – zápis z terénního pozorování

(Prosím, zašlete nejlépe elektronicky na: vajtnouz@seznam.cz nebo poštou na: Tomáš Bartonička, ČESON, Ústav botaniky a zoologie PfF MU Brno, Kotlářská 2, 611 37 Brno)

Pozorovatel		
Jméno		
Adresa		
Telefon		
E-mail		
Informace o lokalitě		
Název lokality		
Poloha (katastr, GPS)		
DFS		
Datum návštěvy		
Pozorování		
Pozorování netopýři s bílým povlakem	A / N	Pokud jste odpověděli „Ano“, prosím, uveďte víc detailů:
Netopýři seskupení blízko vchodu do zimoviště nebo v místech, kde normálně nezimují	A / N	
Netopýři vyletovali během dne při teplotách pod nulou anebo blízko nuly	A / N	
Mrtví nebo umírající netopýři v blízkosti zimoviště	A / N	
Další poznámky:		

Pokud uvidíte živé nebo mrtvé netopýry s bílým povlakem, prosím, nedotýkejte se jich. Pokud je to možné, vyfoťte je a ihned opusťte místo nálezu. Zaznamenejte si podrobně, kde přesně byl netopýr nalezen a volejte na tel. číslo: 774 080 402 nebo 605 870 323.

Zdroj: <http://wns2010.webnode.cz/>

Základním předpokladem je zahrnutí co největšího počtu lokalit (v každém případě všech zimovišť, kde bylo šetření na výskyt mykózy provedeno loni resp. v předchozích letech) a dodržení jednoduchých základních pravidel. Ta jsou následující: a) vedle standardní sčítací kontroly (optimálně na přelomu ledna a února) provést shodnou kontrolu v pozdějším termínu (přelom únor-březen), případně další kontrolu v samém závěru sezony (přelom března a dubna); b) při všech kontrolách pečlivě visuálně- bez rušení- prohlédnout pokud možno všechny kusy a v protokolu zaznamenat, vedle celkového počtu fakticky prohlédnutých kusů, přítomnost mykózy (počty kusů) a tu klasifikovat do následujících kategorií:

0 - žádné známky

1 - neúplný houbový porost (skvrny cca 1 cm, asymetrický výskyt na jedné tváři či křídlech apod.)

2 - souvislý houbový porost na obou tvářích

3 - otevřené léze na boltcích či křídlech (hyfový porost na hlavě může být již setřen)

4 - rozsáhlé porosty a léze s markantní změnou zdravotního stavu či s úhynem

(c) zaznamenat přítomnost clusterů (a jejich velikost) a počet napadených kusů v jednotlivých clusterech

Výsledný záznam by tak mohl vypadat např. následovně:

Nížká Líšnice, štola, 27.2.2011, I. Horáček

Rhip 6 /4: 3 vs.1-0-0-0 (celkový počet/ prozkoumaných: z nich kategorie 0 vs. 1-2-3-4)

Mmyo 25 / 25: 20 vs.1-4-1-0 clust. 8/8: 4 vs.1-3-0-0, 2/2: 2 vs.0

Mdau 5 / 5: 5 vs.0

V nejasných případech zejm. u jiných druhů než *M.myotis* lze doporučit kontrolní odběr průhlednou samolepicí páskou a mikroskopické vyšetření (charakteristické masivní rohlíčkovité spory *Geomyces destructans*) příp. odběr tamponem do endorfy na kultivaci a genetické vyšetření (Dr. Kubátová PřF UK, Dr. Martínková ÚBO AV ČR). Obecně platí zásada, s výjimkou takovýchto případů, že se nesmí netopýry, včetně infikovaných, rušit! (Horáček, 2011).

3.7. Navrhovaná opatření

Jedním z prvních navrhovaných řešení, jak omezit výskyt syndromu bílého nosu bylo masové utracení napadených jedinců. Hallam a McCracken (2011) však vypracovali studii, v níž prokázali, že tento postup řešením situace není. Výzkum byl založen na modelu dynamiky výskytu netopýrů

Boyles and Willis (2009) provedli výzkum, který také ukazuje, že počítačové simulace mohou být užitečné pro testování účinnosti řízení možných zákroků. Zatím popsali potenciální přínos jedné takové intervence, ale model by mohl být snadno upraven tak, aby testoval i jiné možnosti. Zachování útočišť netopýrů pomocí změny teploty je omezeno v tom, že léčba je zaměřena na eliminaci příznaků a je nepravděpodobné, že by řešila hlavní příčinu syndromu bílého nosu. Nicméně, tento přístup by mohl být logisticky jednoduchý, a snadno ověřitelný způsob snížení úmrtnosti netopýrů, dokud se nenajde dlouhodobější řešení. Tímto vyslovili domněnku, že *Geomyces destructans* není příčinou, ale pouze symptomem syndromu bílého nosu.

Bleher (2012) však uvádí, že houba sice nemůže aktivně růst při vyšších teplotách, ale to neznamena, že ji vyšší teplota zahubí.

Chaturvedi S. et al. (2011a) uveřejnili studii založenou na použití biocidů a fungicidů v boji proti *Geomyces destructans*. Efektivní biocidy a fungicidy uvedené v této studii jsou v současné době povoleny, a proto by mohly být užitečné pro dekontaminaci lokalit zamořených *Geomyces destructans*. To je pozitivní krok, neboť dřívější publikace o dekontaminaci lokalit hostiteli patogenními houbami jako *Histoplasma capsulatum* zmiňují používání formaldehydu, což není v současné době možné vzhledem k jeho toxicitě. Nicméně jakýkoli návrh na dekontaminaci zamořených lokalit vyžaduje pečlivé zvažování možných škodlivých účinků na životní prostředí. Je vhodné zdůraznit, že jeskyně podporují bohatou rozmanitost života, včetně mnoha druhů plísní a bakterií. Podle rozsáhlých publikovaných údajů je k dispozici pouze probenzalkonium-chlorid. Bylo zjištěno, že tato chemická látka je účinným dezinfekčním prostředkem používaným v domácnostech kontaminovaných dermatofytickým patogenem *Microsporium canis*. Benzalkonium-chlorid se používá mnoho let ve slavné jeskyni Lascaux v Montignacu ve Francii pro regulaci napadení jeskyně houbou *Fusarium solani*. Ačkoli byla tato opatření efektivní, vedla k nahrazení původních bakteriálních společenství mnohem rezistentnějšími bakteriemi. Dlouhodobé účinky na životní prostředí těchto biocidů a to, jaké vyvolaly změny, zatím nejsou známy. Účinná

inhibice růstu *Geomyces destructans* pomocí Fenyhydrargyrumacetátu naznačuje, že organické fungicidy mohou být také efektivní prostředky pro dekontaminaci přírodních lokalit. Podobně jako u použití biocidů by jakékoliv budoucí plány zahrnující fungicidy vyžadovaly další upřesnění, aby zajistily, že necílové houby a jiné živé formy nebudou poškozeny. Na závěr byla provedena řada testů antimykotických léků a inhibičních sloučenin, které byly systematicky identifikovány v této studii, aby tyto výsledky by mohly sloužit jako výchozí bod pro výběr vhodných látek pro léčbu netopýrů infikovaných *Geomyces destructans* v rehabilitačních centrech a dekontaminaci těžce zamořených lokalit.

4. Závěr

Tato bakalářská práce s názvem Dosavadní poznatky o syndromu bílého nosu v USA a Evropě shrnuje současné vědomosti o White – nose syndrome a o houbě *Geomyces destructans*, která se zdá být etiologickým agens tohoto syndromu. Práce mapuje rozvoj onemocnění v Severní Americe, Evropě a České a Slovenské republice, v ČR včetně posledních údajů z tohoto roku. Dále jsou zde uvedena doporučení pro sběr a shromažďování dat o syndromu bílého nosu ve výše jmenovaných regionech a dosud navrhovaná opatření proti šíření tohoto nebezpečného onemocnění. Syndrom bílého nosu je vážným ekologickým problémem, jehož řešení by měla přinést právě probíhající vědecká výzkumná činnost.

5. Seznam literatury

- Anděra, M. 1997. Svět zvířat I.: Savci (1) Ptakořitní, vačnatci, chudozubí, hmyzožravci, tany, letuchy, letouni, primáti. Albatros. Praha. 144 s. ISBN: 8000005417.
- Andrlé, J. Syndrom bílého nosu. Časopis Krkonoše – Jizerské hory [online]. 6-4-2011 [cit. 11-3-2012]. Dostupné z <http://krkonose.krnep.cz/index.php?option=com_content&task=view&id=11313&Itemid=37>.
- Anon. White – nose syndrome [online]. U.S. Fish & Wildlife Service. 10-2010. [cit. 30-3-2012]. Dostupné z <http://www.fws.gov/whitenosesyndrome/pdf/WhatIsKillingOurBats_Mar11.pdf>
- Anon. White-Nose Syndrome: A Crisis for America's Bats [online]. Bat Conservation International. 30-8-2011. [cit. 2-3-2012]. Dostupné z <http://www.batcon.org/pdfs/whitenose/WNS_FAQ.pdf>.
- Benda, P. 2010. České vernakulární jmenosloví netopýrů. I. Návrh úplného jmenosloví. Vespertilio. 13 – 14. 263 – 308.
- Blehert, D. S., Geomyces destructans and Fungal Disease, Update for Agency Field Biologists and Agency Land Managers. 27-1-2012. Webinare series. USGS- National Wildlife Health Center [online]. Dostupné z <<http://link.brightcove.com/services/player/bcpid1437148245001?bckey=AQ~~,AAA Av1RRo7E~,NyPVtykdKxWhPH4Xx6XqFJWEGh8eyktm>>.
- Blehert, D. S., Hicks, A. C., Behr, M., Meteyer, C. U., Berlowski-Zier, B. M., Buckles, E. L., Coleman, J. T. H., Darling, S. R., Gargas, A., Niver, R., Okoniewski, J. C., Rudd, R. J., Stone W.B. 2008. Bat White- Nose Syndrome: An Emerging Fungal Pathogen?. Science. 323. 227.
- Boyles, J. G., Willis, C. K. R. 2010. Could localized warm areas inside cold caves reduce mortality of hibernating bats affected by white-nose syndrome?. Frontiers in Ecology and the Environment. 8 (2). 92 – 98.
- Boyles, J. G., Cryan, P. M., McCracken, G. F., Kunz, T. H. 2011. Economic Importance of Bats in Agriculture. Science. 332. 41 – 42.

- Castle, K. T., Cryan, P. M. 2010. White-nose syndrome in bats.: A primer for resource managers. *Park Science- Integrating Research and Resource Management in the National Parks*. 27 (1). 119 – 129.
- Courtin, F., Stone, W. B., Risatti, G., Gilbert, K., Kruiningen, Van, H. J. 2010. Pathologic Findings and Liver Elements in Hibernating Bats With White-Nose Syndrome. *Veterinary Pathology*. 47 (2). 214 – 219.
- Cryan, P. M., Meteyer, C. U., Boyles, J. G., Blehert, D. S. 2010. Wing pathology of white-nose syndrome in bats suggests life-threatening disruption of physiology. *BMC Biology*. 8. 135 – 143.
- Foley, J., Clifford, D., Castle, K., Cryan, P., Ostfeld R. F. 2010. Investigating and Managing the Rapid Emergence of White-Nose Syndrome, a Novel, Fatal, Infectious Disease of Hibernating Bats. *Conservation Biology*. 25 (2). 223 – 231.
- Francl, K. E., Sparks, D. W., Brack, V., Timpone, J. 2011. White – Nose Syndrome and Wing Damage Index Scores Among Summer Bats in the Northeastern United States. *Journal of Wildlife Diseases*. 47 (1). 41 – 48.
- Frick, W. F., Pollock, J. F., Hicks A. C., Langwig, K. E., Reynolds, D. S., Turner, G. G., Butchkoski, C. M., Kunz, T. H. 2010. An Emerging Disease Causes Regional Population Collapse of a Common North American Bat Species. *Science*. 329 (5992). 679 – 682.
- Gargas, A., Trest, M. T., Christensen, M., Volk, T. J., Blehert, D. S. 2009. *Geomyces destructans* sp. nov. associated with bat white-nose syndrome. *Mycotaxon*. 108. 147 - 154.
- Hallam, T. G., McCracken, G. F., 2011. Management of the Panzootic White-Nose Syndrome through Culling of Bats. *Conservation Biology*. 25 (1). 189 – 194.
- Hicks, A. C. White – nose Syndrome. 2010. Online video. Vyn, G. [online]. Dostupné z <<http://vimeo.com/5671164>>.
- Chaturvedi, S., Rajkumar, S. S., Li, X., Hurteau, G. J., Shtutman, M., Chaturvedi, V. 2011. Antifungal Testing and High-Throughput Screening of Compound Library against *Geomyces destructans*, the Etiologic Agent of Geomycosis (WNS) in Bats. *PLoS ONE*. 6 (3).
- Chaturvedi, S., Rudd, R. J., Davis, A., Victor, T. R., Li, X., Appel, K. A., Rajkumar, S. S., Chaturvedi, V. Rapid Real-Time PCR Assay for Culture and Tissue

Identification of *Geomyces destructans*: the Etiologic Agent of Bat Geomycosis (White Nose Syndrome). *Mycopathologia*. 172 (4). 247 – 256.

- Chaturvedi, V., Chaturvedi, S., 2011. Editorial: What is in a Name? A Proposal to Use Geomycosis Instead of White Nose Syndrome (WNS) to Describe Bat Infection Caused by *Geomyces destructans*. *Mycopathologia*. 171. 231 – 233.
- Chaturvedi, V., Springer, D. J., Behr, M. J., Ramani, R., Li, X., Peck, M. K., Ren, P., Bopp, D. J., Wood, B., Samsonoff W. A., Butchkoski, C. M., Hicks, A. C., Stone, W. B., Rudd, R. J., Chaturvedi, S. 2010. Morphological and Molecular Characterizations of Psychrophilic Fungus *Geomyces destructans* from New York Bats with White Nose Syndrome (WNS). *PLoS ONE*. 5 (5).
- Kochkina G. A., Ivanushkina N. E., Akimov V. N., Gilichinskii D. A., Ozerskaya S. M. 2007. Halo- and Psychrotolerant *Geomyces* Fungi from Arctic Cryopegs and Marine Deposits. *Microbiology*. 76 (1). 31 – 38.
- Kubátová, A. Atlas mikroskopických saprotrofních hub (Ascomycota) [online]. Praha. Katedra botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. 2006. [cit. 26-2-2012]. Dostupné z <http://www.botany.natur.cuni.cz/cz/lide/kubatova_atlas.php>.
- Kunz, T. H., Brock, F. 2003. Bat ecology. The university of Chicago Press. Chicago. p. 779. ISBN: 0226462064.
- Lindner, D. L., Gargas, A., Lorch, J. M., Banik, M. T., Glaeser, J., Kunz, T. H., Blehert, D. S. 2011. DNA-based detection of the fungal pathogen *Geomyces destructans* in soils from bat hibernacula. *Mycologia*. 103 (2). 241-246.
- Lorch, M. J., Meteyer, C. U., Behr, M. J., Boyles, J. G., Cryan, P. M., Hicks, A. C., Ballmann, A. E., Coleman, J. T. H., Redell, D. N., Reeder, D. A. M., Blehert, D. S. 2011. Experimental infection of bats with *Geomyces destructans* causes white-nose syndrome. *Nature*. 480. 376–378.
- Martínková, N., Bačkor, P., Bartonička, T., Blažková, P., Červený, J., Falteisek, L., Gaisler, J., 4, Hanzal, V., 9, Horáček, D., Hubálek, Z., Jahelková H., Kolařík, M., Korytár, Ľ., Kubátová, A., Lehotská, L., Lehotský, R., Lučan, R. K., Májek, O., Matějů, J., Řehák, Z., Šafář, J., Tájek, P., Tkadlec1, E., Uhrin, M., Wagner, J., Weinfurtová, D., Zima, J., Zukal, J., Horáček, I. 2010. Increasing Incidence of *Geomyces destructans* Fungus in Bats from the Czech Republic and Slovakia. *PLoS ONE*. 5 (11).

- Meteyer, C. U., Buckles, E. L., Blehert, D. S., Hicks, A. C., Green, D. E., Shearn-Bochsler, V., Thomas, N. J., Gargas, A., Behr, M. J. 2009. Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in bats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 21. 411–414.
- Pačenovský, S. 2006. Útok straky (*Pica pica*) na raniaka hrdzavého (*Nyctalus noctula*). *Vespertilio*. 9 – 10. 231–232.
- Puechmaille, S. J., Verdeyroux, P., Fuller, H., Gouilh, M. A., Bekaert, M., Teeling, E. C. 2010. White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bat, France. *Emerging Infectious Diseases*. 16 (2). 290 – 293.
- Puechmaille, S. J., P., Fuller, Teeling, E. C. 2011. Effect of sample preservation methods on the viability of *Geomyces destructans*, the fungus associated with white-nose syndrome in bats. *Acta Chiropterologica*. 13 (1). 217–221.
- Puechmaille, S. J., Wibbelt, G., Korn, V., Fuller, H., Forget, F., Mühldorfer, K., Kurth, A., Bogdanowicz, W., Borel, Ch., Bosch, T., Cherezy, T., Drebe, M., Görföl, T., Haarsma, A.-J., Herhaus, F., Hallart, G., Hammer, M., Jungmann, Ch., Le Bris, Y., Lutsar, L., Masing, M., Mulkens, B., Passior, K., Starrach, M., Wojtaszewski, A., Zöphel, U., Teeling, E. C. 2011. Pan-European Distribution of White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) Not Associated with Mass Mortality. *PLoS ONE*. 6(4). 1 – 11.
- Reichard, J. D., Kunz, T. H. 2009. White-Nose Syndrome Inflicts Lasting Injuries to the Wings of Little Brown Myotis (*Myotis lucifugus*). *Acta Chiropterologica*. 11(2). 457-464.
- Reichholf, J. 1996. *Savci. Ikar. Praha*. 288 s. ISBN: 8085944375.
- Shuker, P. N. 2005. *Skryté síly živočichů. Junior. Říčany u Prahy*. 240 s. ISBN: 8072672037.
- Srrerratt, L. F., 2007. In: Blehert, D. S., Hicks, A. C., Behr, M., Meteyer, C. U., Berlowski-Zier, B. M., Buckles, E. L., Coleman, J. T. H., Darling, S. R., Gargas, A., Niver, R., Okoniewski, J. C., Rudd, R. J., Stone W.B. 2008. Bat White- Nose Syndrome: An Emerging Fungal Pathogen?. *Science*. 323. 227.
- Szymanski, J. A., Runge, M. C., Parkin, M. J., Armstrong, M. 2009. White-Nose Syndrome Management: Report on Structured Decision Making Initiative. Department of Interior, U.S. Fish and Wildlife Service. Fort Snelling. 1 – 51.

- Šimonovičová, A., Pagallo, D., Chovanová, K., Lehotská, B. 2011. *Geomyces destructans* associated with bat disease WNS detected in Slovakia. *Biologia*. 66 (3). 562—564.
- Viktora, L., Nová, P., Bartonička, T. 2008. *Ochrana rořysů a netopýřů při rekonstrukci budov*. Glos. Semily. 24 s. ISBN: 9788090355446.
- Vlařín, M., Málková I. 2004. *Ochrana netopýřů. Metodická příručka ČSOP*. Veronica. Brno. 79 s. ISBN: 8023938975.
- Vyn, G. White – nose Syndrome [online]. Online video. Vimeo. 2010. Dostupné z <<http://vimeo.com/5671164>>.
- Wibbelt, G., Moore, M. S., Schountz, T., Voigt, Ch. C. 2010. Emerging diseases in Chiroptera: why bats?. *Biology Letters*. 6. 438-440.
- Wibbelt, G. Kurth, A., Hellmann, D., Weishaar, M., Barlow, A., Veith, M., Prüger, J., Görföl, T., Grosche, L., Bontadina, F., Zöphel, U., Zöphel, H. - P., Cryan, P. M., Blehert, D. S. 2010. White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bats, Europe. *Emerging Infectious Diseases*. 16 (8). 1237 – 1242.