

УДК 599.4:591.543

А.С. Влащенко^{1,2,3,4*}, М.А. Моїсеєнко⁵, В.Д. Богодіст^{1,2},
А.Д. Доманська^{2,6}, А.В. Голтвянський⁷, О.В. Наглов⁸

Перебіг зимової сплячки вечірниць рудої (*Nyctalus noctula*) залежно від чисельності групи (пілотне дослідження)

UDC 599.4:591.543

A.S. Vlaschenko^{1,2,3,4*}, M.A. Moiseienko⁵, V.D. Bohodist^{1,2},
A.D. Domanska^{2,6}, A.V. Goltvyanskiy⁷, O.V. Nahlov⁸

Pilot Study of Hibernation Patterns in Noctule Bats (*Nyctalus noctula*): Influence of Group Size

Реферат: У роботі досліджували перебіг зимової сплячки дорослих самців рудої вечірниці *Nyctalus noctula* в умовах неволі залежно від чисельності групи. Кажанів розділили на три експериментальні категорії: зимівля поодиноких кажанів та зимівля групи кажанів з 6 та 16 особин. Всього сформовано 9 дослідних груп, в кожній було по одній особині з встановленим температурним логером iButton. Температуру поверхні шкіри T_s вимірювали кожні 5 хв. Показано, що рукокрилі у великих групах входили у більш глибокий та стабільний торпор. У групі з 16 особин жодного випадку повного пробудження ($T_s > 20^\circ\text{C}$) не зафіксовано. При цьому поодинокі кажани демонстрували частіші пробудження. Усі тварини перейшли у глибокий торпор після перших 9 днів зимівлі в умовах експерименту. Значущих відмінностей у втраті маси тіла між групами не виявлено. Підтверджена важливість впливу чисельності групи на зменшення кількості пробуджень під час зимівлі та ролі соціальної терморегуляції у збереженні енергії.

Ключові слова: торпідний стан, терморегуляція, динаміка пробуджень, енергозбереження, ефект групування, температурні цикли.

Abstract: This study investigated the influence of group size on the hibernation patterns of adult males of *Nyctalus noctula* during hibernation. Bats were divided into three categories (solitary, groups of six, and groups of sixteen) and nine experimental groups comprising one individual with temperature logger per group (iButton). Skin temperature (T_s) was monitored every five minutes. The results showed that bats in larger groups (the group of sixteen) entered longer and more stable torpor, with no instances of full arousal ($T_s > 20^\circ\text{C}$). In contrast, solitary bats exhibited more frequent arousals. All bats entered deep torpor after the first nine days. No significant differences in body mass loss were found between the groups. The findings highlight the importance of group size in reducing arousals during hibernation, and the role of social thermoregulation in conserving energy.

Key words: torpid state, thermoregulation, arousal dynamics, energy conservation, clustering effect, temperature cycles.

Зимова сплячка (гібернація) є ключовою адаптивною стратегією, яка дозволяє багатьом ссавцям північних широт переживати сезонні періоди нестачі їжі та екстремальні умови навколишнього середовища. Вона складається з чергування фаз тривалого торпору та короточасних

Hibernation is a key adaptive strategy that enables many mammals in northern latitudes to survive seasonal periods of food scarcity and extreme environmental conditions. It consists of alternating phases of prolonged torpor and short-term arousals, balancing energy conservation with essential

¹ Навчально-наукова лабораторія біології рукокрилих, Харківський національний педагогічний університет імені Г.С. Сковороди, м. Харків, Україна

² Український центр реабілітації рукокрилих ГО «Український незалежний екологічний інститут», м. Харків, Україна

³ Національний науковий центр «Інститут експериментальної та клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна

⁴ Інститут дослідження зоопарку та дикої природи імені Лейбніца, м. Берлін, Німеччина

⁵ Інститут ботаніки Ягеллонського університету, м. Краків, Польща

⁶ Ветеринарна клініка «Центр клінічної ветеринарії», м. Харків, Україна

⁷ Кафедра молекулярної біології та біотехнології, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, Україна

⁸ Кафедра біохімії, Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Харків, Україна

¹ Educational and Research Bat Biology Laboratory, H.S. Skovoroda Kharkiv National Pedagogical University, Kharkiv, Ukraine

² Ukrainian Bat Rehabilitation Center, NGO "Ukrainian Independent Ecology Institute", Kharkiv, Ukraine

³ National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

⁴ Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlin, Germany

⁵ Institute of Botany, Jagiellonian University, Krakow, Poland

⁶ Veterinary Clinic "Center of Clinical Veterinary", Kharkiv, Ukraine

⁷ Department of Molecular Biology and Biotechnology, V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

⁸ Department of Biochemistry, V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine

*Автор, якому необхідно надсилати кореспонденцію:

вул. Г. Тарасенка, 40, 27, м. Харків, Україна 61001;

тел.: +38 (067) 80 31 533

електронна пошта: vlaschenko@gmail.com

*To whom correspondence should be addressed:

40, 27, H. Tarasenska st., Kharkiv 61001;

tel. +38 067 803 1533

e-mail: vlaschenko@gmail.com

Надійшла 11.10.2024

Прийнята до друку 21.11.2024

Received October, 11, 2024

Accepted November, 21, 2024

© Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

© Publisher Publishing House 'Akademperiodyka' of the National Academy of Sciences of Ukraine, 2024

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted reuse, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

пробуджень, що забезпечує баланс між збереженням енергії та підтриманням життєво важливих функцій організму. Під час торпору у тварини уповільнюються метаболічні процеси, внаслідок чого значно знижуються витрати енергії за рахунок зменшення температури тіла, частоти серцевих скорочень і дихання [12–14]. Такі цикли торпору та пробуджень дозволяють гібернуючим видам витримувати тривалі періоди без їжі та при цьому зберігати життєздатність організму.

Рукокрилі найбільш чисельні ссавці у Північній півкулі, які здатні впадати в зимову сплячку. Виділяють дві основні стратегії зимівлі у рукокрилих: зимівля у підземних сховищах (печерні види) та зимівля у наземних сховищах (у дуплах дерев або щілинах скель) [4]. Кожна група видів демонструє унікальні адаптації відповідно до умов своїх зимових сховищ. Печерні гібернанти зазвичай мають більш глибокі та тривалі періоди торпору з меншою частотою пробуджень, а види, які зимують наземно, пробуджуються частіше і мають коротші періоди торпору [5].

Перебіг торпору та в цілому зимової сплячки у рукокрилих, що зимують в печерах, досліджена значно краще, ніж у тих, що зимують наземно, через складний доступ до зимових сховищ останніх. Одним із вирішень цієї проблеми є проведення експериментальних досліджень в умовах неволі [1, 10].

Об'єктом роботи була вечірниця руда (*Nyctalus noctula* (Schreber, 1774)) — широко поширений євразійський вид рукокрилих, що зимує у наземних сховищах. Цей вид відомий своєю пристосованістю як до природного середовища, так і до умов урбанізованих ландшафтів [8, 9, 16]. Останні десятиліття спостерігається значний зсув зимового ареалу *N. noctula*, особливо в Центральній і Східній Європі [7] на північ. Це здебільшого спричинено урбанізацією та зміною клімату і призвело до збільшення чисельності особин, які зимують у містах Східної Європи [11].

Взимку *N. noctula* формує у містах великі скупчення від сотень до тисяч особин. Такі скупчення допомагають зберігати енергію взимку через соціальну терморегуляцію [2, 3, 5], однак чисельність таких групувань може впливати на динаміку пробудження, що є критично важливим для виживання під час зимівлі. Часті пробудження рукокрилих у період зимової сплячки можуть передчасно виснажити енергетичні запаси та знизити успішність зимівлі. Чисельність групи може або сприяти енергозбереженню через формування щільного кластеру рукокрилих, або, навпаки, викликати каскадні пробудження, що передчасно виснажують жирові резерви [15].

physiological maintenance. During torpor, animals enter a state of metabolic depression, significantly reducing their energy expenditure by lowering body temperature, heart rate, and respiration [4, 12, 14]. These torpor-arousal cycles allow hibernating species to endure extended periods without food while maintaining vital functions.

Bats are the most numerous hibernators in the Northern Hemisphere, and their significant species diversity corresponds to a diversity of hibernation strategies. Two main strategies are generally described: i) underground hibernation (cave-dwelling or cavernicolous bats) and ii) above-ground hibernation (primarily tree-roosting species and those inhabiting deep crevices in rock outcrops) [4]. Each group exhibits unique adaptations suited to their winter shelters. Underground hibernators tend to experience deeper and more prolonged bouts of torpor, with fewer arousals during the hibernation period. In contrast, above-ground hibernating bats exhibit more frequent arousals and shorter torpor bouts [5].

The torpor patterns and wintering behaviour in general, of underground hibernating bats are significantly better studied than those of above-ground hibernators. This is largely due to the challenging accessibility of their winter shelters. Experimental studies in captivity offer one solution to this limitation [1, 10].

Our focal species, the Common Noctule Bat (*Nyctalus noctula* (Schreber, 1774)), is a widespread Eurasian above-ground hibernator known for its adaptability to both urban and natural environments [8, 9, 16]. In recent decades, notable shifts (to the North) in the winter range of *N. noctula* have been observed, particularly in Central and Eastern Europe [7]. These shifts, largely attributed to urbanisation and climate change, have increased the presence of overwintering individuals in Eastern European cities [11].

During winter, *N. noctula* forms large aggregations in cities, often numbering from hundreds to thousands of individuals. These aggregations may help conserve energy through social thermoregulation [2, 3, 5]. However, the size of these wintering aggregations may also influence arousal dynamics, which are critical for survival during hibernation. Frequent arousals from torpor, especially full arousals that involve substantial rise in body temperature, can beforehand deplete energy reserves and reduce the success of hibernation. Group size can either help conserve energy through clustering or, conversely, trigger cascades of arousals that prematurely deplete fat reserves [15].



Мета пілотного дослідження — вивчення впливу соціального групування *Myotis noctula* на динаміку пробуджень та втрату маси тіла (як похідної від частоти пробуджень) у дорослих самців в період зимової сплячки.

Матеріали та методи

Експеримент проводили з 6 по 25 січня 2020 р. на базі Центру реабілітації рукокрилих Фельдман Екопарку (ЦРР). Для дослідження використовували кажанів *N. noctula* масою тіла 25,5–31,9 г, які були врятовані з різних міських пасток протягом зими і доставлені до ЦРР [див.: 11]. Приблизно з 1000 кажанів, які зимували в ЦРР, було відібрано 9 дорослих самців. Температурні логери iButton «Thermochron i Button 8K-40» (Maxim Integrated Products, США) були прикріплені до виголених ділянок на спині рукокрилих за допомогою хірургічного клею «SAUER-Hautkleber» (Manfred Sauer GmbH, Німеччина) для забезпечення щільного контакту з шкірою. Логери кріпили таким чином, щоб поверхня знаходилася в безпосередньому контакті з голою шкірою, а клей наносили лише по периметру логера. До експерименту було залучено 69 особин *N. noctula* масою тіла 23,2–31,9 г. Самців із температурними логерами iButton розподілили між трьома експериментальними категоріями: (i) поодинокі кажани (S), (ii) групи з 6 кажанів (G6) та (iii) групи з 16 кажанів (G16). Кожна категорія включала три групи (всього 9 груп), які зимували окремо у спеціальних мішках: 3 мішки з поодинокими кажанами (S), 3 мішки з 6 кажанами (G6) і 3 мішки з 16 кажанами (G16). У кожній групі було по одному кажану зі становленим логером.

Логери iButton реєстрували температуру поверхні шкіри рукокрилих кожні 5 хв з точністю $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ і роздільною здатністю $0,1^{\circ}\text{C}$. Температуру навколишнього середовища T_a в холодильнику вимірювали додатковим логером. Експеримент проводили в контрольованих умовах (у модифікованому побутовому холодильнику) при температурі $0\text{--}10^{\circ}\text{C}$ і вологості 40–52%. Холодильник короткочасно відкривали двічі під час експерименту (менше ніж на хвилину).

Центр реабілітації кажанів Фельдман Екопарку діє на основі загального дозволу Департаменту екології та природних ресурсів Харківської області. Експеримент був схвалений Етичною комісією Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (рішення №10/2019) з дотриманням норм Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№3447-IV від 21.02.2006) і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовув-

In this pilot study, we investigate the influence of group size on the torpid patterns of adult male *N. noctula* during hibernation. Specifically, we examine the frequency and duration of arousals in solitary bats and in groups of six and sixteen, with the object of understanding how social grouping affects the frequency of arousals and body mass loss as a derivative of those of arousals.

Material and Methods

Data Collection. The experiment was conducted from 6–25 January 2020 at the Bat Rehabilitation Center of Feldman Ecopark (BRC). The bats used in this study were individuals that had been transported to the BRC after being rescued from various urban traps during the winter [see: 11]. Nine adult male *N. noctula* (body mass 25.5–31.9 g) were selected from approximately 1000 hibernating bats housed at the BRC. The iButton temperature loggers ‘Thermochron iButton 8K’ (Maxim Integrated Products, Inc., USA) were attached to shaved areas on the bats’ backs using surgical glue SAUER-Hautkleber (Manfred Sauer GmbH, Germany) to ensure close contact with the skin. The loggers were applied so that the surface was in direct contact with the bare skin, with glue only around the periphery of each logger. A total of 69 *N. noctula* (body mass: 23.2–31.9 g) were used in this experiment. Nine adult males equipped with iButtons were assigned to one of three experimental categories: (i) solitary bats (S), (ii) groups of six bats (G6), and (iii) groups of sixteen bats (G16). Each category included three groups (nine groups in total), hibernated separately in individual bags: three bags with single bats (S), three bags with six bats each (G6), and three bags with sixteen bats each (G16). Each group contained one individual with a logger.

iButton loggers recorded the bats’ skin temperature every five minutes with an accuracy of $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and a resolution of 0.1°C . An additional logger measured the ambient temperature (T_a) in the refrigerator. The experiment was conducted in a controlled environment (in a modified refrigerator), with temperatures between $0\text{--}10^{\circ}\text{C}$ and humidity between 40–52%. The refrigerator was briefly opened twice during the experiment (for less than one minute each time), though it was housed in a room with regular human activity.

The BRC operates under the general permission of the Kharkiv Oblast Authority of Ecology and Natural Resources, and this experiment was approved by the Ethical Commission of V.N. Karazin Kharkiv National University (decision #10/2019) following the main norms of the Law



ються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

Усі кажани, залучені до експерименту, після його завершення залишалися в ЦРР на реабілітації до весни. У квітні 2020 р. тварин випустили у природні умови на території Регіонального ландшафтного парку «Фельдман Екопарк».

Температура всередині холодильника була прийнята як температура навколишнього середовища T_a , для неї були розраховані діапазон, медіана, нижній та верхній квартилі. За показником температури шкіри кажанів T_s визначали два фізіологічних стани тварин: «сплячка» та «повне пробудження». «Сплячка» визначалася як стан, коли T_s була нижче на 99% верхнього довірчого інтервалу T_a (7°C) (на момент вимірювання). «Повне пробудження» фіксувалося у період, коли T_s перевищувала 20°C , якщо значення T_s було нижче $19,9^{\circ}\text{C}$, то стан «повного пробудження» не класифікувався. Для кожної *N. noctula* у 9 групах були розраховані медіанні та мінімальні значення T_s . «Повне пробудження» вимірювали з моменту, коли T_s піднімалася понад 7°C , досягала 20°C і тривала до моменту, коли вона знову була нижче 7°C .

Кількість повних пробуджень підраховували для кожної тварини, загальну кількість пробуджень для кожної категорії (S, G6, G16) порівнювали за критерієм Крускала-Уолліса. За коефіцієнтом кореляції Пірсона (r) оцінювали зв'язок між кількістю пробуджень та такими факторами, як співвідношення статей (відсоток самок до самців) та маса тіла до початку сплячки. Тривалість пробудження та максимальну T_s порівнювали за U-критерієм Манна-Уїтні з поправкою Бонферроні для значень P . Крім того фіксували час доби та кількість днів від початку експерименту, коли відбувалися пробудження.

У експерименті розраховували втрату маси тіла для всіх особин *N. noctula*. Для оцінки втрати маси тіла під час сплячки використовували лінійну модель, в якій чисельність групи, стать і вік були включені як фактори. Вплив цих незалежних змінних аналізували за допомогою множинного регресійного аналізу, після чого проводили дисперсійний аналіз ANOVA.

Статистично значущими вважалися результати при $P \leq 0,05$. Аналіз та візуалізація даних проводили за допомогою програмного забезпечення «R Ver. 3.5.1» (R CoreTeam 2018) та «Excel» (Microsoft, США).

Результати та обговорення

Під час експерименту діапазон значень T_a становив від $-1,97$ до $9,71^{\circ}\text{C}$ з медіаною $2,57^{\circ}\text{C}$

of Ukraine 'On the Protection of Animals Against Cruelty (No. 3447-IV of February 21, 2006) and the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes' (Strasbourg, 1986). All bats used in the experiment were kept on rehabilitation at the BRC facilities till spring and were released in April 2020 to nature in the Feldman Ecopark area.

Data Analysis. The temperature inside the refrigerator was assumed as the ambient temperature (T_a), and its range, median, and lower and upper quartiles were calculated. The skin temperatures (T_s) of the bats were classified into two categories: 'torpor' and 'full arousal'. 'Torpor' was defined as occurring when T_s was lower than the 99% upper confidence interval of T_a (7°C). 'Full arousal' was defined as occurring when the maximal T_s exceeded 20°C , while arousals with T_s below $19,9^{\circ}\text{C}$ were not classified as full arousal. Median and minimal T_s values for *N. noctula* in the three different group sizes were calculated. The duration of 'full arousal' was measured as the time from when T_s rose above 7°C until it dropped below this threshold again.

The number of 'full arousals' for each bat was counted, and the total number of arousals for each group (S, G6, G16) was compared using the Kruskal-Wallis test. Pearson's correlation coefficient (r) was used to assess the relationship between the number of arousals and factors such as sex ratio (female-to-male ratio) and body mass before hibernation. The duration of arousal and maximal T_s between the groups were compared using the U-Mann-Whitney test (U-test), with Bonferroni correction applied to P -values. Additionally, the day time and the number of days after the experiment onset when arousals occurred were recorded.

Body mass loss was calculated for all *N. noctula* in the experiment. A linear model was used to evaluate body mass loss during hibernation, with group size, sex, and age included as factors. The impact of these independent variables was analysed using multiple regression analysis, followed by that of variance (ANOVA).

Statistical significance was set at $P \leq 0.05$. Data were analyzed and visualized using R software (version 3.5.1, R Core Team 2018) and Excel (Microsoft, USA).

Results

General findings. The refrigerator engine activated when T_a reached approximately 6°C and cooled the environment over a period of 30 minutes, turning off when T_a approached 0°C . T_a remained stable for 1.5–2 hours, after which it began



і міжквартильним діапазоном від 1 до 4,5°C (рис. 1), що забезпечувалося роботою компресора холодильника. В момент, коли T_a досягала приблизно 6°C, вмикався компресор холодильника, і протягом 30 хв відбувалось охолодження середовища; компресор вимикався, коли T_a наближалася до 0°C. Значення T_a залишалося стабільним протягом 1,5–2 годин, після T_a починала поступово підвищуватися протягом наступної години. Циклічність роботи компресора холодильника не мала помітного впливу на пробудження кажанів.

Медіанні значення T_s під час сплячки ($T_s < 7^\circ\text{C}$) відрізнялися між категоріями: від 2,5 до 3,4°C — для рукокрилих, що зимували поодинокі, від 3,5 до 4,5°C — для G6 та від 2,5 до 3,6°C — для G16. Мінімальні значення T_s коливалися від 0,4 до 1,3°C для тварин, що зимували поодинокі, від 1,4 до 2,6°C — для G6 і від 1,5 до 2,1°C — для G16 (рис. 1).

Рукокрилі категорії G16 перебували у найбільш довгому торпорі, при цьому жодна тварина не досягла «повного пробудження» ($T_s > 20^\circ\text{C}$). Однак спостерігалися випадки часткового підвищення T_s (рис. 1). Для порівняння два з трьох кажанів, що зимували поодинокі, пробуджувалися частіше (рис. 2), тоді як третя тварина залишалася у глибокому торпорі протягом усього експерименту.

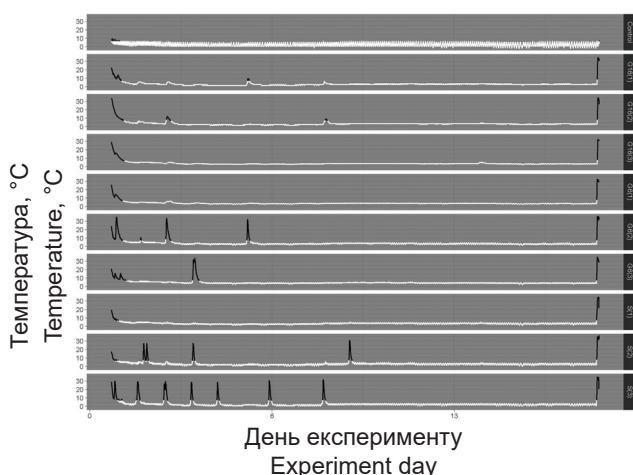


Рис. 1. Зміна T_a та T_s у *N. noctula* під час експерименту. Білою лінією позначені температури нижче 7°C, чорною — температури вище 7°C. контроль — T_a . Кількість кажанів у групі, яка зимує: S — поодинокі, G6 — група з 6 тварин, G16 — група з 16 тварин; число в дужках — серійний номер експериментальної групи.

Fig. 1. Run of T_a and T_s for *N. noctula* during the experiment. White line marks temperatures lower than 7°C and black line those higher than 7°C. "Control" — T_a . Numbers of bats in a hibernating group: S — solitary, G6 — group of 6, G16 — group of 16; the number in brackets is the serial number of the experimental group.

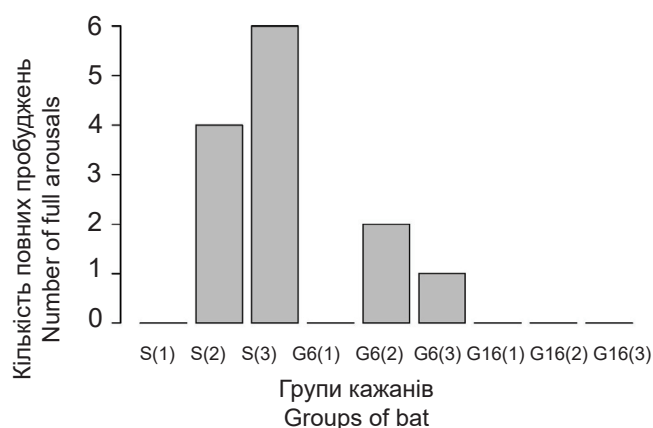


Рис. 2. Кількість повних пробуджень (вище 20°C) протягом усього експерименту для кожної особини *N. noctula* з температурним логером; позначення груп див. на рис. 1.

Fig. 2. The number of full arousals (higher than 20°C) during the entire experiment for each individual *N. noctula* with a temperature logger; for group labels see Fig 1.

to warm up over the following hour. The range of T_a during the experiment was -1.97°C to 9.71°C , with a median of 2.57°C and interquartile range between 1°C and 4.5°C (Fig. 1). The cycling of the refrigerator motor had no observable effect on the arousals of the bats.

The median T_s during torpor bout ($T_s < 7^\circ\text{C}$) varied across the groups: from 2.5°C to 3.4°C for solitary bats, from 3.5°C to 4.5°C for G6, and from 2.5°C to 3.6°C for G16. Minimum T_s values ranged from 0.4°C to 1.3°C for solitary bats, from 1.4°C to 2.6°C for G6, and from 1.5°C to 2.1°C for G16 (Fig. 1).

Number, duration, and timing of full arousals. Bats in the G16 group experienced the most prolonged torpor, with no individuals reaching full arousal ($T_s > 20^\circ\text{C}$). However, partial increases in T_s were observed (Fig. 1). In contrast, two of the solitary bats aroused more frequently, while the third remained in deep torpor throughout the experiment. (Fig. 2)

There was no significant difference in the number of full arousals between solitary and grouped bats (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 3.3$, $df = 2$, $P = 0.19$). A moderate negative correlation was found between the number of arousals and the proportion of females in the group ($r = -0.58$), while a weak negative correlation was observed between arousals and body mass prior to hibernation ($r = -0.27$).

The duration of full arousals ranged from 2.5 hours in solitary bats to 3.3–5 hours in G6 bats, with one individual experiencing a 6-hour arousal (Fig. 3). G6 bats had significantly longer arousal durations than solitary bats (U-test, $W =$



Статистично значущих відмінностей у кількості повних пробуджень між кажанами, що зимували поодинокі, та тими, що зимували у групах, не виявлено (тест Краскала-Уолліса, $\chi^2 = 3,3$, $df = 2$, $P = 0,19$). Виявлено помірну негативну кореляцію між кількістю пробуджень і часткою самок у групі ($r = -0,58$), а також слабку негативну кореляцію між кількістю пробуджень і масою тіла тварин до сплячки ($r = -0,27$).

Тривалість «повних пробуджень» (T_s більше 20°C) серед тварин, що зимували поодинокі, варіювала від 2,5 до 3,3–5 годин у G6, з одним встановленим випадком повного пробудження до 6 годин (рис. 3). Тривалість пробуджень тварин G6 була значно більшою, ніж у кажанів, що зимували поодинокі (U-тест, $W = 29$, $P = 0,04$). Крім того, максимальні значення T_s під час «повного пробудження» у тварин G6 були значно вищими ($32\text{--}33^\circ\text{C}$), ніж у тих, що зимували поодинокі ($27\text{--}31^\circ\text{C}$) (U-тест, $W = 30$, $P = 0,03$) (рис. 4).

Усі «повні пробудження» відбувалися вночі (між 18:00 і 05:00 годинами). Рукокрилі починали підіймати температуру на початку ночі, досягаючи максимальних значень T_s близько опівночі, і поверталися в глибокий торпор до ранку. Кажани усіх груп та категорій пробуджувалися протягом перших 9 діб експерименту, після чого вони залишалися у торпорі до кінця дослідження (10 діб) (див. рис. 1).

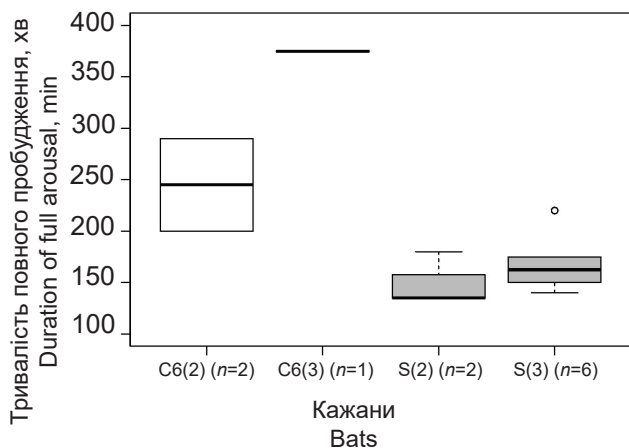


Рис. 3. Тривалість повних пробуджень від розігрівання до охолодження (T_s вище 7°C) для чотирьох особин *N. noctula* (n – кількість пробуджень для кожної особи). Сірі боксплоти (боксы — кватили 1 та 3, лінія — медіана, вуса — мінімальні та максимальні значення, порожнє коло — значення за межами основного діапазону); позначення груп див. на рис. 1.

Fig. 3. Duration of full arousals (minutes) from warming up to cooling down (T_s above 7°C) for four individuals of *N. noctula* (n – number of arousals for each individual). Grey boxplots (box – 1st and 3rd quartiles, line – median value, whiskers – min and max values, open dot – outlier); for group labels see Fig 1.

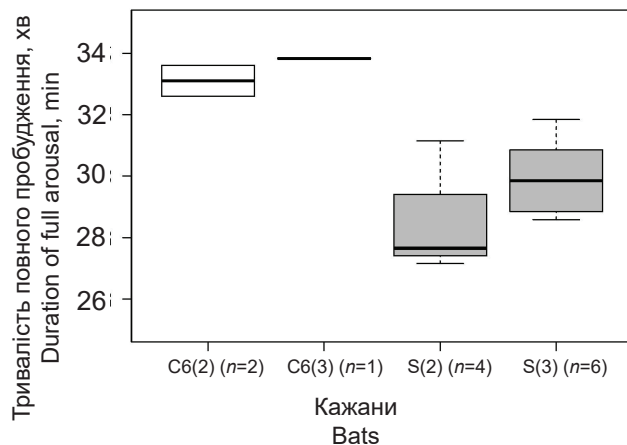


Рис. 4. Максимальні значення T_s під час повного пробудження для чотирьох особин *N. noctula* (n – кількість пробуджень для кожної особи). Сірі боксплоти (боксы — кватили 1 та 3, лінія — медіана, вуса — мінімальні та максимальні значення); позначення груп див. на рис. 1.

Fig. 4. Maximal reached T_s during full arousal for four individuals of *N. noctula*. Grey boxplots (box – 1st and 3rd quartiles, line – median value, whiskers – min and max values); for group labels see Fig 1 (n – number of arousals for each individual).

29, $P = 0,04$). Additionally, the maximum T_s during full arousal was significantly higher in G6 bats ($32\text{--}33^\circ\text{C}$) compared to solitary bats ($27\text{--}31^\circ\text{C}$) (U-test, $W = 30$, $P = 0,03$) (Fig. 4).

All full arousals occurred between 18:00 and 05:00, with bats beginning to warm up early in the night, reaching peak T_s around midnight, and returning to deep torpor by morning. All the groups experienced arousals within the first nine days of the experiment, after which bats entered prolonged torpor and remained so until the end of the study (10 days) (See Fig. 1).

Body mass loss. There were no significant differences in body mass loss between solitary and grouped bats (ANOVA, $F^2,60 = 2,9$, $P = 0,06$), nor between sexes (ANOVA, $F^1,60 = 0,03$, $P > 0,85$), ages (ANOVA, $F^2,60 = 0,5$, $P > 0,5$), or between individuals with and without loggers (ANOVA, $F^1,60 = 0,86$, $P > 0,35$). Bats in the G6 group lost slightly more body mass (median 1.4 g) than solitary bats (median 0.9 g) and G16 bats (median 0.8 g) (Fig. 5).

Discussion

This study explored how group size influences torpor bouts and arousal dynamics in adult male *Nyctalus noctula* during a short period of hibernation in captivity. The findings demonstrate that larger groups of bats exhibit longer and more stable torpor, while solitary individuals experience more frequent and complete arousals. One of the key limitations of this study



Статистично значущих відмінностей щодо втрати маси тіла між рукокрилими, які зимували поодинокі, та тими, що зимували у групах (ANOVA, F^2 , 60 = 2,9, $P = 0,06$), а також між статтю (ANOVA, F^1 , 60 = 0,03, $P > 0,85$), віком (ANOVA, F^2 , 60 = 0,5, $P > 0,5$) або між особинами з логерами та без них (ANOVA, F^1 , 60 = 0,86, $P > 0,35$) не виявлено. Кажани з G6 втрачали трохи більше маси тіла (медіана 1,4 г), ніж тварини, що зимували поодинокі, (медіана 0,9 г) та кажани з G16 (медіана 0,8 г) (рис. 5).

У цьому дослідженні нами показано, як розмір групи впливає на тривалість періодів торпору та динаміку пробуджень у дорослих самців *N. noctula* під час короткого періоду зимівлі в неволі. Показано, що тварини, які зимували більш чисельними групами, перебували у більш тривалому торпорі та прокидалися рідше за тих, які зимували поодинокі. Одним з основних обмежень цього дослідження є відносно коротка тривалість експерименту — лише 19 діб, що складає менше ніж 20% від загальної тривалості сезону зимівлі (з початку листопада до кінця березня) для *N. noctula* на широті міста Харків [8]. Крім того, пробудження спостерігалися лише протягом перших 9 діб експерименту, після чого рукокрилі перейшли у стан стабільної зимової сплячки.

N. noctula є видом, що зимує у надземних сховищах, тому ці тварини не часто стають об'єктом у дослідженнях торпору [12]. До останнього часу лише в одній статті R. Arlettaz та співавт. [1] була висвітлена проблема вивчення динаміки метаболічної активності та температури тіла *N. noctula* під час глибокого торпору. В нових дослідженнях одержані важливі дані про перебіг та особливості зимової сплячки цього виду тварин [6, 10]. У попередньому експерименті ми маніпулювали розмірами груп *N. noctula*, що зимували, і вивчали вплив статі, віку, чисельності групи та фізичного стану на паттерн зимівлі [10]. Мінімальне значення T_s у цьому дослідженні для зимуючих *N. noctula* коливалося від 0,4 до 1,5°C, воно було нижче одержаного R. Arlettaz та співавт. [1]. Проте у нашому попередньому експерименті зафіксовано мінімальну T_s , яка складала -2°C [6]. Згідно з даними R. Arlettaz та співавт. [1], найнижча метаболічна активність *N. noctula* у стані зимової сплячки спостерігалася в діапазоні T_a від 10 до 2,5°C, подальше її зниження (нижче 2,5°C) підвищило метаболічну активність. Таке підвищення енерговитрат на тлі зниження температури може викликати перевитрату жирових запасів. Хоча *N. noctula* може переживати короткі періоди надзвичайно низьких темпера-

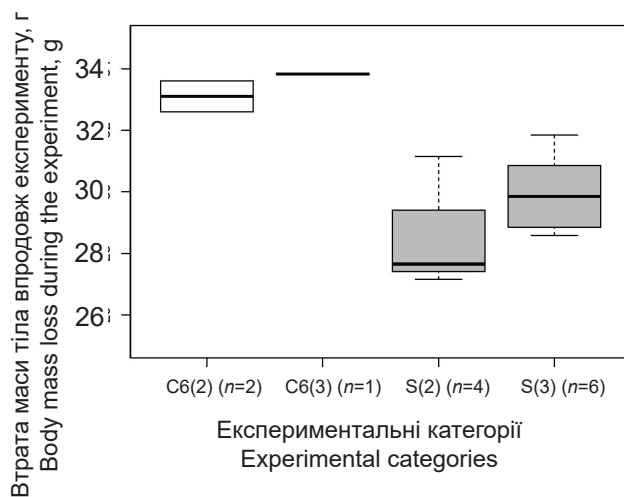


Рис. 5. Втрата маси тіла кажанів під час експерименту для всіх *N. noctula* (світло-сірий колір — особи з логерами iButton, темно-сірий — особи без логерів, білий — всі особи разом). Боксплоти (боксы — квартилі 1 та 3, лінія — медіана, вуса — мінімальні та максимальні значення).

Fig. 5. Bat body mass loss during the experiment for all *N. noctula* (mid grey — individuals with iButton loggers, dark grey — individuals without loggers, white — all individuals). Boxplots (box — 1st and 3rd quartiles, line — median value, whiskers — min and max values).

is the relatively short duration of the experiment, which lasted only 19 days. This is less than 20% of the total hibernation season (from early November to late March) for *N. noctula* at the latitude of Kharkiv city [8]. Moreover, we observed arousals only during the first nine days of the experiment, after which the bats transitioned to stable torpor.

As an above-ground hibernator, *N. noctula* is a rare species in torpor studies [4]. Until recently, only one paper, by Arlettaz *et al.* [1], highlighted the metabolic rate and body temperature dynamics of *N. noctula* in deep torpor. Two more recent studies, including our own [6,10], have expanded this body of knowledge. In our previous experiment, we manipulated the group size of hibernating *N. noctula* and tested the effects of sex, age, grouping, and body condition on hibernation patterns [10]. The minimum T_s for hibernating *N. noctula* in this study ranged from 0.4°C to 1.5°C, which is lower than that reported by Arlettaz *et al.* [1]. However, in our previous experiment, we recorded minimum T_s of -2°C [10].

According to Arlettaz *et al.* [1], the lowest metabolic rate of torpid *N. noctula* was observed in the T_a range of 10°C to 2.5°C, with a further decrease in T_a below 2.5°C resulting in an increase in metabolic rate. This increase in energy expenditure at lower temperatures could lead to over-



тур, у фінальній частині періоду зимівлі це може призвести до високої смертності кажанів (пізня зима) [13, 17].

Одержані результати цього дослідження узгоджуються з даними нашої попередньої роботи, в якій вивчалася зимова сплячка *N. noctula* [10]. В обох дослідженнях кажани у групах залишалися в глибокому торпорі довше, але під час пробудження досягали вищих значень T_b , що призводило до довших періодів активності [10]. Це цілком підтверджує таку гіпотезу: соціальна терморегуляція (здатність особин у групах, які зимують, знижувати втрати тепла та більш економно використовувати запаси жиру) знижує потребу в частих пробудженнях, що зберігає енергію тварин [5, 10].

Крім того, ще одним важливим спостереженням, яке підтверджується результатами наших експериментів, є кореляція між масою тіла та динамікою пробуджень. Оскільки це дослідження проводилось виключно на самцях, слабка негативна кореляція між частотою пробуджень і масою тіла, то може свідчити про те, що кажанам з більшою масою тіла може знадобитися частіше пробуджуватися для задоволення метаболічних потреб, особливо в менших групах або ізоляції [10].

Результати також не показали статистично значущих відмінностей у втраті маси тіла між рукокрилими, які зимували поодинокі та у групах, а також між особинами з логерами та без них. Це показує, що чисельність групи суттєво впливає на тривалість торпору та частоту пробуджень, але не впливає на загальні енерговитрати, що відображається у втраті маси тіла рукокрилих. Хоча дещо більша втрата маси тіла була зафіксована у категорії G6 порівняно з G16 або у кажанів, які зимували поодинокі, це може свідчити про більшу витрату енергії в групі з середньою кількістю через підвищену частоту та тривалість пробуджень. Цей факт відповідає результатам попередніх досліджень щодо залежності енерговитрат рукокрилих від соціальної терморегуляції та балансу між індивідуальною і груповою терморегуляцією [3].

Висновок

Таким чином, результати даного дослідження надають цінну інформацію про перебіг зимової сплячки (тривалість періодів глибокого торпору і кількість пробуджень) у самців *N. noctula* залежно від чисельності групи.

Наші результати узгоджуються з попередніми дослідженнями [5, 10], які показали, що

expenditure of fat stores. Although *N. noctula* may survive short periods of extremely low temperatures, this could result in high mortality rates in the final stages of the hibernation period (late winter) [13, 17].

The general results presented in this work align with our previous research on hibernation patterns in *N. noctula* [10]. In both studies, bats in groups remained in longer torpor but experienced higher T_b during arousal, leading to prolonged periods of activity [10]. This generally supports the hypothesis that social thermoregulation (the ability of individuals in a group reducing heat loss and use fat reserves more efficiently) reduces the need for frequent arousals, thereby conserving energy [5, 10].

Another important observation from both this study and previous research is the correlation between body mass and arousal dynamics. While the current study focused solely on males, the weaker negative correlation between arousal frequency and body mass suggests that heavier bats may require more frequent arousals to meet metabolic needs, particularly in smaller groups or when isolated [10].

The findings also revealed neither significant differences in body mass loss between solitary and grouped bats, nor between individuals with or without loggers. This suggests that while group size significantly affects torpor bouts duration and arousal frequency, it does not have a major impact on overall energy expenditure, as reflected by body mass loss. However, the slightly greater mass loss observed in G6 bats compared to those in G16 or solitary bats may indicate that mid-sized groups expend more energy due to the increased frequency and duration of arousals. This is consistent with previous studies on the energy demands of social thermoregulation and the balance between individual and group-level thermoregulation [3].

Conclusion

In conclusion, this study provides valuable insights into the role of group size in the hibernation pattern duration of periods of deep torpor and number of arousals of *N. noctula* males.

Our findings are consistent with previous research, which shows that group size plays a critical role in reducing arousals during hibernation through social thermoregulation [5, 10]. However, the relatively short experimental period may have limited our ability to capture the full range of hibernation behaviour. Future research should aim to extend the experimental period to better



чисельність групи тварин суттєво зменшує частоту пробуджень під час зимівлі завдяки соціальній терморегуляції. Однак відносно коротка тривалість експерименту могла обмежити наше розуміння повного спектра поведінки під час зимівлі, тому подальші дослідження будуть спрямовані на подовження терміну експерименту для кращого розуміння довгострокових впливів розміру групи на поведінку *N. noctula* у стані зимового сну [10].

Висловлюємо подяку О. Роденко, А. Прилуцькому, В. Гукову, Н. Шанюк, К. Жуковій, І. Некрутову, Т. Юр'євій та всім співробітникам і волонтерам Центру реабілітації рукокрилих Фельдман Екопарку за допомогу в догляді за кажанами та їх порятунку в міській зоні. Особлива подяка К. Кравченко за цінні коментарі, виправлення рукопису та консультації зі статистичного аналізу.

Центр реабілітації кажанів Фельдман Екопарку фінансується Міжнародним благодійним фондом «Фонд Олександра Фельдмана». Обладнання, використане в дослідженні, частково було надане за підтримки The Rufford Foundation (2015), проєкт 18147-1 «Спільний дім: Розробка довготривалої стратегії збереження місць проживання міських кажанів у країнах, що розвиваються, Східної Європи».

Ми висловлюємо вдячність Меггі Браун за корекцію англійської мови та важливі коментарі щодо рукопису.

Рукопис було перероблено та доопрацьовано А. Влащенко під час його стипендії MSCA4Ukraine (Програма дій Марії Склодовської-Кюрі, ЄС).

Література

- Arlettaz R, Ruchet C, Aeschmann J, et al. Physiological traits affecting the distribution and wintering strategy of the bat *Tadaridateniotis*. *Ecology*. 2000; 81: 1004–14.
- Blažek J, Zukal J, Bandouchova H, et al. Numerous cold arousals and rare arousal cascades as a hibernation strategy in European *Myotis* bats. *J Therm Biol*. 2019; 82: 150–56.
- Boratyński JS, Willis CKR, Jefimow M, et al. Huddling reduces evaporative water loss in torpid *Natterer's* bats, *Myotis nattereri*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2015; 179: 125–32.
- Boyles JG, Johnson JS, Blomberg A, et al. Optimal hibernation theory. *Mammal Rev*. 2020; 50: 91–100.
- Boyles JG, Storm J, Brack V. Thermal benefits of clustering during hibernation: A field test of competing hypotheses on *Myotis sodalis*. *Funct Ecol*. 2008; 22(4): 632–36.

understand the long-term effects of group size on hibernation patterns in *N. noctula* [10].

We thank Olena Rodenko, Dr. Alona Prylutska, Vitalii Hukov, Natalia Shaniuk, Katerina Zhukova, Il'ya Nekrutov, Tetiana Yur'eva, and all other members and volunteers of the Bat Rehabilitation Center of Feldman Ecopark for their assistance in bat care and rescue in the city area. Special thanks to Dr. Kseniia Kravchenko for her valuable comments, manuscript corrections, and statistical analysis consultations.

The Bat Rehabilitation Center was funded by the International Charitable Foundation “Oleksandr Feldman Foundation”. The equipment used in the study was partly sponsored by The Rufford Foundation (2015), project 18147-1 “Shared House: Development of Long-Lasting Conservation Strategy of Urban Bat Habitats in Developing Countries of Eastern Europe.” We are very grateful to Maggie Brown for her English language corrections and important comments on the manuscript.

The manuscript was rewritten and finalized by Dr Anton Vlaschenko during the period of his MSCA4Ukraine fellowship (the Marie Skłodowska-Curie Actions, EU).

References

- Arlettaz R, Ruchet C, Aeschmann J, et al. Physiological traits affecting the distribution and wintering strategy of the bat *Tadaridateniotis*. *Ecology*. 2000; 81: 1004–14.
- Blažek J, Zukal J, Bandouchova H, et al. Numerous cold arousals and rare arousal cascades as a hibernation strategy in European *Myotis* bats. *J Therm Biol*. 2019; 82: 150–56.
- Boratyński JS, Willis CKR, Jefimow M, et al. Huddling reduces evaporative water loss in torpid *Natterer's* bats, *Myotis nattereri*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2015; 179: 125–32.
- Boyles JG, Johnson JS, Blomberg A, et al. Optimal hibernation theory. *Mammal Rev*. 2020; 50: 91–100.
- Boyles JG, Storm J, Brack V. Thermal benefits of clustering during hibernation: A field test of competing hypotheses on *Myotis sodalis*. *Funct Ecol*. 2008; 22(4): 632–36.
- Kravchenko K. Migratory bats and global climate change: climate-driven changes in migratory behaviour and distribution of the common noctule bat (*Nyctalus noctula*). Ph.D. Thesis, Department of Biology, Chemistry, Pharmacy, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany; 2021. 114 p. [Internet]. 2021 Jan 04 [cited 2024 Dec 19]. Available from: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/32716>
- Kravchenko KA, Vlaschenko AS, Lehnert LS, et al. Generational shift in the migratory common noctule bat: first-year males lead the way to hibernacula at higher latitudes. *Biol Lett*. [Internet]. 2020 Sep23 [cited 2024 Nov 15]; 16: 20200351. Available from: <https://royalsocietypublishing.org/doi/epdf/10.1098/rsbl.2020.0351>
- Kravchenko KA, Vlaschenko AS, Lehnert LS, et al. Year-round monitoring of bat records in an urban area: Kharkiv (NE Ukraine), 2013, as a case study. *Turk J Zool*. 2017; 41: 530–48.



6. Kravchenko K. Migratory bats and global climate change: climate-driven changes in migratory behaviour and distribution of the common noctule bat (*Nyctalus noctula*). Ph.D. Thesis, Department of Biology, Chemistry, Pharmacy, Freie Universität Berlin, Berlin, Germany; 2021. 114 p. [Internet]. 2021 Jan 04 [cited 2024 Dec 19]. Available from: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/32716>
7. Kravchenko KA, Vlaschenko AS, Lehnert LS, et al. Generational shift in the migratory common noctule bat: first-year males lead the way to hibernacula at higher latitudes. *Biol Lett*. [Internet]. 2020 Sep23 [cited 2024 Nov 15]; 16: 20200351. Available from: <https://royalsocietypublishing.org/doi/epdf/10.1098/rsbl.2020.0351>
8. Kravchenko KA, Vlaschenko AS, Lehnert LS, et al. Year-round monitoring of bat records in an urban area: Kharkiv (NE Ukraine), 2013, as a case study. *Turk J Zool*. 2017; 41: 530–48.
9. Lindecke O, Currie SE, Fasel NJ, et al. Common Noctule *Nyctalus noctula* (Schreber, 1774). In: Hackländer K, Zachos FE, editors. *Handbook of the Mammals of Europe*. Cham: Springer; 2023. p 463–87.
10. Moiseienko M, Vlaschenko AS. Deep torpor patterns and body mass loss of above-ground hibernating bats (*Nyctalus noctula*) in captivity; effects of sex, age and grouping. *ActChir*. 2023; 25(2): 299–310.
11. Prylutska A, Yerofeieva M, Bohodist V, et al. The dataset of bat (Mammalia, Chiroptera) occurrences in Ukraine collected by the Ukrainian Bat Rehabilitation Center (2011–2022). *Biodiver Data J*. [Internet]. 2023 Mar 7 [cited 2024 Nov 15]; 2023; 11: e99243. Available from: <https://bdj.pensoft.net/article/99243>
12. Ruf T, Geiser F. Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biol Rev*. 2015; 90: 891–926.
13. Sachanowicz K, Wower A. Borowce wielkie nabalkonach katowickiego wysokościewca. *Przyroda Górnego Śląska*. 2009; 58: 6–7. Polish.
14. Speakman JR, Thomas DW. Physiological ecology and energetics of bats. In: Kunz TH, Fenton MB, editors. *Bat ecology*. Chicago, IL: University of Chicago Press; 2003. p. 430–90.
15. Turyanin II. [Some peculiarities of bat behaviour in aggregations. In: *Mammalian behaviour. Theoretical issues*]. Moscow: Nauka; 1977. p. 244–6. Russian.
16. Vlaschenko A, Kravchenko K, Yatsiuk Y, et al. Bat assemblages are shaped by land cover types and forest age: a case study from Eastern Ukraine. *Forests*. [Internet]. 2022 Oct 20 [cited 2024 Nov 20]; 13(10): 1732. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4907/13/10/1732>
17. Vlaschenko AS, Kovalov VV, Hukov VS, et al. An example of ecological traps for bats in the urban environment. *Europ J of Wild life Res*, 2019; 65: 1–5.
9. Lindecke O, Currie SE, Fasel NJ, et al. Common Noctule *Nyctalus noctula* (Schreber, 1774). In: Hackländer K, Zachos FE, editors. *Handbook of the Mammals of Europe*. Cham: Springer; 2023. p 463–87.
10. Moiseienko M, Vlaschenko AS. Deep torpor patterns and body mass loss of above-ground hibernating bats (*Nyctalus noctula*) in captivity; effects of sex, age and grouping. *ActChir*. 2023; 25(2): 299–310.
11. Prylutska A, Yerofeieva M, Bohodist V, et al. The dataset of bat (Mammalia, Chiroptera) occurrences in Ukraine collected by the Ukrainian Bat Rehabilitation Center (2011–2022). *Biodiver Data J*. [Internet]. 2023 Mar 7 [cited 2024 Nov 15]; 2023; 11: e99243. Available from: <https://bdj.pensoft.net/article/99243>
12. Ruf T, Geiser F. Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biol Rev*. 2015; 90: 891–926.
13. Sachanowicz K, Wower A. Borowce wielkie nabalkonach katowickiego wysokościewca. *Przyroda Górnego Śląska*. 2009; 58: 6–7. Polish.
14. Speakman JR, Thomas DW. Physiological ecology and energetics of bats. In: Kunz TH, Fenton MB, editors. *Bat ecology*. Chicago, IL: University of Chicago Press; 2003. p. 430–90.
15. Turyanin II. [Some peculiarities of bat behaviour in aggregations. In: *Mammalian behaviour. Theoretical issues*]. Moscow: Nauka; 1977. p. 244–6. Russian.
16. Vlaschenko A, Kravchenko K, Yatsiuk Y, et al. Bat assemblages are shaped by land cover types and forest age: a case study from Eastern Ukraine. *Forests*. [Internet]. 2022 Oct 20 [cited 2024 Nov 20]; 13(10): 1732. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4907/13/10/1732>
17. Vlaschenko AS, Kovalov VV, Hukov VS, et al. An example of ecological traps for bats in the urban environment. *Europ J of Wild life Res*, 2019; 65: 1–5.

