



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

**CONCENTRACIONES DE METALES EN *Tadarida brasiliensis* (CHIROPTERA:
MOLOSSIDAE) DE LA MEGALÓPOLIS DE MÉXICO Y DE ZONAS RURALES EN EL CENTRO
DE MÉXICO**

TESIS

POR ARTÍCULO CIENTÍFICO

**Metal concentrations in *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) from the
Megalopolis of Mexico and rural environments of Central Mexico**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DANIEL ANTONIO RAMOS HUAPAYA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Rodrigo A. Medellín Legorreta
Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Jorge E. Schondube Friedewold
Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM
Dr. Joaquín Arroyo Cabrales
Instituto Nacional de Antropología e Historia, INAH

CD. MX.

AGOSTO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

**CONCENTRACIONES DE METALES EN *Tadarida brasiliensis* (CHIROPTERA:
MOLOSSIDAE) DE LA MEGALÓPOLIS DE MÉXICO Y DE ZONAS RURALES EN EL CENTRO
DE MÉXICO**

TESIS

POR ARTÍCULO CIENTÍFICO

**Metal concentrations in *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) from the
Megalopolis of Mexico and rural environments of Central Mexico**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DANIEL ANTONIO RAMOS HUAPAYA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Rodrigo A. Medellín Legorreta
Instituto de Ecología, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Jorge E. Schondube Friedewold
Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM
Dr. Joaquín Arroyo Cabrales
Instituto Nacional de Antropología e Historia, INAH

MÉXICO, CD. MX.

AGOSTO, 2019

OFICIO CPCB/844/2019

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
 Presente

Me permito informar a usted, que el Biología Experimental y Biomedicina, en su sesión ordinaria del día 27 de mayo de 2019, aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de Ecología, del alumno **RAMOS HUAPAYA DANIEL ANTONIO** con número de cuenta: **517491407**, por la modalidad de graduación de **tesis por artículo científico**, con la tesis titulada: "**Metal concentrations in Tadarida brasiliensis (Chiroptera: Molossidae) from the Megalopolis of Mexico and rural environments in Central Mexico.**", producto del proyecto realizado en la maestría que lleva por título: "**CONCENTRACIONES DE METALES EN Tadarida brasiliensis (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE) DE LA MEGALÓPOLIS DE MÉXICO Y DE ZONAS RURALES EN EL CENTRO DE MÉXICO**", bajo la dirección del **DR. RODRIGO ANTONIO MEDELLÍN LEGORRETA**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente:	DRA. LIVIA SOCORRO LEÓN PANIAGUA
Vocal:	DRA. OFELIA MORTON BERMEA
Secretario:	DR. JOAQUÍN ARROYO CABRALES
Suplente:	DRA. CLAUDIA PONCE DE LEÓN HILL
Suplente	DR. FERNANDO CERVANTES REZA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cd. Universitaria, Cd. Mx., a, 09 de agosto de 2019



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO

Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
 Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX
 Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

- Al Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca número 612519 y CVU 779063 que me fue otorgada para realizar mis estudios de maestría en el periodo 2017-I a 2018-II.
- A los apoyos PAEP por el soporte económico aprobado para complementar mi formación académica.
- A mi Tutor Principal Dr. Rodrigo A. Medellín Legorreta y a los miembros de mi Comité Tutorial Dr. Jorge E. Schondube Friedewold y Dr. Joaquín Arroyo Cabrales.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

- Quiero agradecer al Dr. Rodrigo A. Medellín Legorreta por la confianza, apoyo, exigencia y motivación que me brindó a lo largo de esta aventura llamada “Maestría en México”. Gracias por incluirme a su equipo de trabajo y por depositar en mí la confianza para involucrarme en las actividades y proyectos del laboratorio. También extendo mis agradecimientos al Dr. Jorge E. Schondube Friedewold y al Dr. Joaquín Arroyo Cabrales, quienes me apoyaron con sus múltiples y valiosos comentarios a lo largo del desarrollo de mi tesis. Así mismo, le doy las gracias a mi jurado por sus importantes observaciones hechas a mi tesis, Dra. Livia León Paniagua y Dr. Fernando Cervantes Reza.
- Agradezco a la Dra. Ofelia Morton Bermea, del Laboratorio de ICP-MS, Instituto de Geofísica, UNAM, quien depositó en mí su confianza y me brindó el apoyo necesario para el desarrollo de mi tesis. De igual manera agradezco a Elizabeth Hernández and Sarah Ordoñez del Laboratorio de ICP-MS, y a la Dra. Claudia Ponce de León y Manuel Hernández del Laboratorio de Análisis Ambiental (Facultad de Ciencias-UNAM), por su invaluable compromiso y asesoramiento brindados durante las distintas fases de los análisis químicos.
- A Begoña Iñarritu, Abigaíl Martínez y Daniela Cafaggi del Laboratorio de Ecología y Conservación de Vertebrados Terrestres (Instituto de Ecología, UNAM), así como a Yezenia García, Ernesto Pérez, Gema Sánchez, Patricia Ramírez, Kevin Meza, Falco García, Tania Castrejón, Rafael Ávila-Flores y Claudia Muñoz por el apoyo brindado durante las salidas de campo en las zonas de estudio dentro de la Megalópolis de México y del municipio de Tequixquiac en el Estado de México. A los señores Anselmo Villeda,

Sergio Jaramillo, Francisco López, Roberto Ortiz y Salvador Romero por los permisos otorgados para la captura de murciélagos en los refugios localizados en la Megalópolis de México y en el municipio de Tequixquiac.

- A Alberto Almazán, Ángel Osorio y Alejandro Taboada del Instituto para el Manejo y Conservación de la Biodiversidad (INMACOB AC.), así como a los pobladores de Tlalcozotitlán, municipio de Copalillo en el Estado de Guerrero, por las facilidades brindadas durante la salida de campo en la Cueva del Santuario del Murciélago.
- A Guillermo Gil, Marcela Pérez, Pablo Arenas y Mariana Soto de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA-UNAM), a Laura Mendoza del Bosque de Tlalpan, a Andrés Ocampo de Ecoguardas, a Ramón López de la Zona Arqueológica de Cuicuilco (INAH), a Yolanda Hortelano de la Colección Nacional de Mastozoología del Instituto de Biología (UNAM), a Edday Farfán, César Hernández, Violeta Corral, Jenifer Segura, Natalia Cuellar y Antonio Nava por el apoyo brindado en las fases iniciales del proyecto.
- Al Dr. Ernesto Vega Peña del IIES (UNAM) por su apoyo en la parte estadística.
- A Farah Carrasco y Maripaula Valdés por su apoyo en la traducción al inglés.
- A Erika Paliza y Frank Azorsa del Centro de Ecología y Biodiversidad (CEBIO), por brindarme la oportunidad de seguir creciendo en el mundo de los murciélagos y motivarme a ampliar mis horizontes académicos.
- A Erika Rodríguez Reyes, Armando Rodríguez Reyes, Héctor Figueroa Hernández, María del Coro Arizmendi Arriaga, Lilia Espinosa Sánchez, Gerardo Navarro Sigüenza, Roxana Torres Avilés, Ulises Martínez Aja y Isabel Monroy Rosado, por su asesoramiento y paciencia para la realización de trámites requeridos en el posgrado.

- A mis profesores María Bonfil Sanders, Roberto Lindig Cisneros, Gerardo Ceballos González, Jesús Pacheco Rodríguez, Víctor Arroyo Rodríguez, Francisco Mora Ardila, Víctor Jaramillo Luque, Manuel Maass Moreno y Angelina Martínez Yrizar, por compartir sus conocimientos dentro y fuera de clases.
- A Kevin López, Ivar Vleut, Roberto Trejo, Ana Ibarra, Teresa Martínez, Juan Pellón, Marco Reyes, Marisol Martínez, Luis Trujillo, Daniel Zamora, Mirna Salas, Cárol Sierra, Saraith Pérez, Alejandra Gallegos, Aarón Romero, Claudia Moreno, Vania Olmos, Ivonne Cassaigne, Paulina Arroyo, Fernando Gual, Abiael Illescas, y miembros del Laboratorio de Ecología y Conservación de Vertebrados Terrestres, por su orientación, sugerencias y terapias de grupo a lo largo del desarrollo de la tesis.
- A Alejandro Marín, Gina Quinteros, Mónica Farrera, Avril Carranza, Esteban Salazar, Danelly Solalinde, Paola Guadarrama, Ricardo Rivera, Yolanda Dominguez, Laura Mendoza, Anayeli Márquez, Manuel Valdés y miembros del Laboratorio de Ecología y Conservación de Fauna Silvestre por las diversas conversaciones.
- A “El Tlacuache” alias Víctor Hernández, “El Chinicuil” alias Erick Castillo, “El Batracio” alias Enrique García, Olga GG, Pedro Castillo y “Alvarock” alias Álvaro Polo, camaradas de innumerables aventuras en el tan celebre “Nido del Águila”.
- A Catalina Suarez, Carlos Muñoz y Yulieth Díaz, amigos colochos que me acompañaron durante el descubrimiento de este hermoso país.
- A Julyo Espinoza, Carlos Solís, Ileana Reyes, Ignacio Palacios y Graciela Jiménez, Gonzalo Álvarez, Lucía Pérez, David Ortiz, Calimán, Laura Aguirre, Nathalia Pérez, María Capilla y Ricardo Arasa, con quienes reviví el trajín universitario.

- A Mariana Zarazua, Fabiola Parra, Vianka Madrid, Rocío Maldonado, Liliana Rodríguez, Maricela Amezcua, Esteban Torres y Doña Damiana, por su orientación al inicio de mi travesía hacia tierra Mexicanas.
- A Alejandro Cadaval, Francisco Esparza, Laura Pérez, Clementina Equihua, Liliana Robledo, Sharon Arreola, Margarito Álvarez, Milly Raven y Antonio García, con quienes compartí viajes y experiencias en México.
- A Daniel García, Octavio De Moraes, Rodrigo Cabrera, Rafael Ruiz, Carlos Rodríguez, Diego González, Diego Forero, Oscar Cardel, José Olivares, Carlos Reaño, Alejandro Correa y Norberto Valle, así como a Roberto Badillo, José Badillo, Alfredo Rodríguez y toda esa gente brava del equipo Perú-Tola, quienes han sido mis camaradas en las retas y cascaras.
- A Sarah Landeo, Adrián Vera, Fanny García, Juan Carranza, Flor Hernández, Lissel Arnao, Gerardo Álvarez, Karla Ramos, Violeta Curay y Gloria Olivares, por traerme un poquito de Perú a estas latitudes.
- A mi familia, Humbelina La Rosa Prado, Silvia Huapaya La Rosa, Daniel Ramos Aramburú, Andrea Ramos Huapaya, Glicet Gutiérrez Olortegui, Carla Ramos Espejo, Miguel Huamán Ramos y Fernanda Huamán Ramos, por su incesante apoyo, motivación y acompañamiento desde el inicio de los tiempos. A Carolina Palacios Rosales, mi hermosa enamorada, somos un equipo chévere-chingón.

*A Humbelina, Silvia, Daniel, Andrea, Glicet,
Carla, Miguel, Fernanda y Carolina,
mis seres queridos
y motivación.*

*“Si la palabra convence,
el ejemplo arrastra”.*

*Cuando más grande es la montaña,
más grande será la satisfacción al llegar a la cima,
así que pónganme la montaña más alta, que de todas maneras yo llegaré.*

...

¡Y llegué!

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
TEXTO DEL ARTÍCULO CIENTÍFICO PARA SER PUBLICADO	7
Metals concentrations in <i>Tadarida brasiliensis</i> (Chiroptera: Molossidae) from the Megalopolis of Mexico and rural environments of Central Mexico	7
Abstract.....	7
Introduction	8
Materials and methods.....	9
Study area.....	9
Bat sampling	10
Chemical analysis and quality control	10
Statistical analysis	11
Results	11
Hepatic metal concentrations in <i>Tadarida brasiliensis</i> from Central Mexico.....	11
Variations of metal concentrations among sites	11
Associations between metal concentrations.....	12
Accumulation patterns of metals in bats	12
Discussion.....	13
Hepatic metal concentrations in <i>Tadarida brasiliensis</i> from Central Mexico.....	13
Variations of metal concentrations among sites	14
Associations between metal concentrations.....	16
Accumulation patterns of metals in bats	16
Conclusions	17
Acknowledgements	18
References	18

Tables.....	25
Figures	26
Supplementary materials	29
DISCUSIÓN.....	30
Concentraciones de metales en hígados de <i>Tadarida brasiliensis</i> del centro de México	30
Variaciones de las concentraciones de metales entre zonas	32
Asociaciones entre las concentraciones de metales.....	37
Patrones de acumulación de metales en murciélagos	39
CONCLUSIONES.....	41

RESUMEN

La Megalópolis de México es una de las ciudades más grandes del mundo y presenta sustanciales problemas de contaminación por metales. Los murciélagos insectívoros que habitan en esta ciudad están potencialmente expuestos a metales y podrían constituir un buen biomonitor. Se colectaron 70 individuos de *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) que habitan en dos zonas dentro de la Megalópolis (Cuautitlán y Xochimilco), y en dos zonas rurales del centro de México (Tequixquiac y Tlalcozotitlán). Se analizaron sus hígados para determinar las concentraciones totales de 10 metales por la técnica ICP-MS, se compararon las concentraciones entre las zonas de estudio, y se exploraron las asociaciones entre metales y sus patrones de acumulación en los murciélagos. Las concentraciones aquí registradas fueron consistentes con estudios similares desarrollados en murciélagos insectívoros. Las mayores concentraciones de Cu y Zn en murciélagos de Cuautitlán y Xochimilco fueron asociadas al tráfico vehicular. Las mayores concentraciones de V, Cr y Co en los murciélagos de Tequixquiac y de Cd en los de Tlalcozotitlán fueron ligados a fuentes de origen industrial, agrícola o desconocido. Una correlación alta y consistente fue registrada entre Cu y Zn. Los patrones de acumulación mostraron que los murciélagos urbanos pertenecieron a una misma población con similares niveles de exposición, mientras que los murciélagos rurales pertenecieron a dos poblaciones diferentes expuestas a distintos metales. Estos resultados resaltan la necesidad de mejorar las políticas públicas concernientes sobre la calidad ambiental, las cuales deberían estar orientadas a mejorar las regulaciones sobre las fuentes antropogénicas específicas de cada una de las zonas de estudio.

ABSTRACT

The Megalopolis of Mexico is one of the biggest cities in the world and presents substantial problems of metal pollution. Insectivorous bats that inhabit this city are potentially exposed to metals and could constitute a good biomonitor. We collected 70 individuals of *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) inhabiting two areas inside the Megalopolis (Cuautitlán and Xochimilco), and two rural environments in Central Mexico (Tequixquiac and Tlalcozotitlán). We analyzed their livers to determine the total concentrations of ten metals by ICP-MS technique, compared concentrations among study sites, and explored the associations between metals and their accumulation patterns in bats. Our results were consistent with similar studies in insectivorous bats. Higher concentrations of Cu and Zn in Cuautitlán and Xochimilco bats were associated to vehicular traffic. Higher concentrations of V, Cr, and Co in Tequixquiac bats and Cd in Tlalcozotitlán bats were linked to industrial, agricultural, or unknown sources. High and consistent relationship was found between Cu and Zn. Accumulation patterns showed that all urban bats belonged to a single population with similar degree of exposure, while rural bats belonged to two different populations exposed to different metals. Our results highlight the need to improve the public policies concerning to environmental quality, which should be oriented to improving regulations on specific anthropogenic sources from each of our study sites.

INTRODUCCIÓN

Las concentraciones de metales en ecosistemas terrestres están definidas principalmente por sus contenidos en el material geológico de la región. La liberación natural de metales ocurre a través de procesos geológicos tales como la erosión, actividad volcánica y meteorización del material parental. Sin embargo, el contenido de metales en el ambiente se ha incrementado principalmente debido a actividades antropogénicas, tales como el tráfico vehicular, procesos industriales, minería, agricultura y desechos domésticos, entre otras (Nordberg et al., 2015). Las grandes ciudades centralizan muchas actividades humanas que generan problemas de contaminación, impactando en la acumulación de metales en sus componentes abióticos y bióticos (Davydova, 2005).

El Área Metropolitana de la Ciudad de México (en adelante referida como Megalópolis), el cual comprende la Ciudad de México y su área conurbada en el Estado de México, es una de las ciudades más grandes en el mundo, y presenta sustanciales problemas de contaminación por metales (Morton-Bermea et al., 2009, 2018). SEDEMA (2016) estimó que 31 mil toneladas de material particulado PM_{10} fueron liberadas en el 2014, de los cuales el 41% fue $PM_{2.5}$. Las principales fuentes de emisión de metales en esta ciudad con más de 21 millones de habitantes fueron 5.3 millones de vehículos y 70 mil fábricas.

Estudios previos en la Megalópolis analizaron muestras de suelo superficial (Morton-Bermea et al., 2009; Rodríguez-Salazar et al., 2011) y de material particulado (Morton-Bermea et al., 2018; Querol et al., 2008), los cuales reconocieron que la presencia de cromo (Cr), cobalto (Co), manganeso (Mn) y hierro (Fe) estuvieron ligadas a fuentes geogénicas, mientras que la presencia de cobre (Cu), zinc (Zn), plomo (Pb) y cadmio (Cd) estuvieron asociadas a fuentes antropogénicas. Además, los contenidos de vanadio (V) y níquel (Ni) estuvieron ligados a ambos tipos de fuentes.

Por otro lado, los metales emitidos dentro de la Megalópolis pueden impactar las áreas alrededor. De acuerdo a Flores et al., (1997) y Lucho-Constantino et al. (2005), las aguas residuales no tratadas generadas en la Megalópolis podrían transportar cantidades importantes de Cr, Cu, Zn Cd y Pb hacia el Valle del Mezquital, localizado en el Estado de Hidalgo. Querol et al. (2008) reportó que los metales en el material particulado, tales como Cu, Zn, Cd y Pb, pueden ser dispersados desde la Megalópolis hacia áreas suburbanas y rurales alrededor. Así mismo, los contenidos de metales en la Megalópolis podrían ser impactados por metales emitidos en otras regiones. A escala regional, Querol et al. (2008) reportó que las emisiones de Ni y V del Complejo Industrial de Tula, localizado en el Estado de Hidalgo, pueden impactar sobre la composición del material particulado de la Megalópolis a través del transporte de masas de aire.

Estudios de contaminación por metales en organismos vivientes suelen enfocarse en proveer evidencia de daño y de exposición (Nordberg et al., 2015; O’Shea & Johnston, 2009). Estudios conducidos en plantas, peces y aves de la Megalópolis (Aldana et al., 2018; Delgado et al., 1994; García-Sánchez et al., 2019; Guzmán-Morales et al., 2011) han brindado interpretaciones restringidas debido a que sus contenidos podrían haber sido influenciados por fuentes locales o foráneas. De acuerdo a Clark & Shore (2001), O’Shea & Johnston (2009) y Zukal et al. (2015), los murciélagos pueden servir como biomonitores de exposición a metales a una escala regional, ya que éstos muestran varias ventajas ecológicas y metodológicas sobre otros animales. Se ha reportado que los murciélagos pueden estar expuestos a metales a partir de actividades mineras (O’Shea et al., 2001; Zocche et al., 2010), aguas residuales no tratadas (Naidoo et al., 2013) y contaminación atmosférica (Hariono et al., 1993).

Los murciélagos insectívoros que habitan en la Megalópolis, tales como *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) (Figura 1), están potencialmente expuestos a metales y podrían constituir un buen biomonitor de contaminación por metales de sus hábitats en el centro de México. Esta especie de murciélago se alimenta de una gran cantidad de insectos por noche (Lee & McCracken, 2005; López, 2009), lo que lo hace altamente susceptible a los metales contenidos en su dieta (Thies & Gregory, 1994).

Los murciélagos insectívoros necesitan beber agua de manera directa (Wilkins et al., 1989), por lo que pueden ingerir metales a partir de fuentes de aguas contaminadas. Ya que esta especie es muy móvil y puede dispersarse fácilmente en sus hábitats (Ávila-Flores & Fenton, 2005; McCracken et al., 2016), este murciélago puede inhalar o ingerir una gran cantidad de partículas de metales presentes en la atmósfera durante el vuelo. Los metales depositados en su pelaje podrían ser absorbidos por la piel o ser ingeridos cuando se acicalan (Hariono et al., 1993; Rendón-Lugo et al., 2017). Además, *T. brasiliensis* se comporta como una especie residente en el centro de México, y es un murciélago común en la Megalópolis y sus áreas rurales alrededor (García, 2018; Pérez, 2015; Sánchez et al., 1989), lo cual permitiría realizar comparaciones entre zonas con diferentes niveles de actividad humana.

El hígado es un órgano objetivo para la acumulación de metales en murciélagos (Hernout et al., 2016; Naidoo et al., 2013). Los metales esenciales tales como V, Cr, Co, Mn, Ni, Fe, Cu y Zn, deben ser absorbidos y excretados constantemente por el organismo, permaneciendo en niveles homeostáticos. Estos metales en exceso podrían llegar a ser tóxicos, mientras que al ser escasos se podrían presentar deficiencias. En contraste, los metales no esenciales tales como Pb y Cd, pueden causar toxicidad incluso a bajas concentraciones, ya que éstos pueden inducir mutagénesis y carcinogénesis, así como alteraciones en el metabolismo de los metales esenciales (Nordberg et al., 2015; Sidhu et al., 2004; Soetan et al., 2010).

En el presente estudio se evaluaron las concentraciones totales de V, Cr, Co, Mn, Ni, Fe, Cu, Zn, Cd y Pb en hígados de individuos de *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) que habitan dos zonas dentro de la Megalópolis, y dos zonas rurales en el centro de México. Los objetivos fueron: a) determinar las concentraciones de metales en *Tadarida brasiliensis* del centro de México; b) comparar las concentraciones de metales entre los murciélagos de las cuatro zonas de estudio; c) explorar las asociaciones entre pares de metales; y d) explorar los patrones de acumulación de metales en murciélagos. En este trabajo se plantea la hipótesis que las variaciones en las concentraciones de metales entre las

cuatro zonas de estudio estarán principalmente asociadas a los diferentes tipos e intensidades de las fuentes antropogénicas de cada zona.



Figura 1. A la izquierda: murciélago *Tadarida brasiliensis* (foto: Ernesto Pérez); A la derecha: captura de murciélagos en la Megalópolis de México (foto: Falco García).

43 Cd in Tlalcozotitlán bats were linked to industrial, agricultural, or unknown sources. High and
44 consistent relationship was found between Cu and Zn. Accumulation patterns showed that all
45 urban bats belonged to a single population with similar degree of exposure, while rural bats
46 belonged to two different populations exposed to different metals. Our results highlight the need
47 to improve the public policies concerning to environmental quality, which should be oriented to
48 improving regulations on specific anthropogenic sources from each of our study sites.

49
50 **Key words:** Urban bats; hepatic metal concentrations; metal associations; accumulation patterns;
51 metal pollution.

52

53

Introduction

54 Big cities centralize several human activities that generate pollutions problems, impacting the
55 accumulation of metals in their abiotic and biotic components (Davydova, 2005). The
56 Metropolitan Area of Mexico City (hereafter referred as Megalopolis), which comprises Mexico
57 City and its surrounding conurbation in the State of Mexico, is one of the biggest urban areas in
58 the world and presents substantial problems of metals pollution (Morton-Bermea et al., 2009,
59 2018). SEDEMA (2016) reported that principal sources of metal emissions in this city, which has
60 more than 21 million of inhabitants, are 5.3 million vehicles and 70 thousand factories.

61

62 Previous studies inside the Megalopolis analyzed samples of topsoil (Morton-Bermea et al.,
63 2009; Rodríguez-Salazar et al., 2011) and particulate matter (Morton-Bermea et al., 2018; Querol
64 et al., 2008), recognizing that chromium (Cr), cobalt (Co), manganese (Mn) and iron (Fe)
65 presence were linked to geogenic sources, whereas copper (Cu), zinc (Zn), lead (Pb) and
66 cadmium (Cd) presence were associated to anthropogenic sources. Furthermore, the contents of
67 vanadium (V) and nickel (Ni) were linked to both source types. On the other hand, metals emitted
68 within the Megalopolis can impact surrounding areas, as well as metals emissions from other
69 regions can influence metal contents in the Megalopolis (Flores et al., 1997; Lucho-Constantino
70 et al., 2005; Querol et al., 2008).

71

72 Studies of metal pollution on living organisms seek to provide evidence of harm and exposure
73 (Nordberg et al., 2015; O’Shea and Johnston, 2009). Studies conducted on plants, fish and birds
74 from the Megalopolis (Aldana et al., 2018; Delgado et al., 1994; García-Sánchez et al., 2019;
75 Guzmán-Morales et al., 2011) have provided restricted interpretations because their contents
76 could be strongly influenced by point or foreign sources. According to Clark and Shore (2001),
77 O’Shea and Johnston (2009), and Zukal et al. (2015), bats can serve as biomonitors for metal
78 exposure at regional scale since they show several ecological and methodological advantages
79 over other animals. It has been reported that bats can be exposed to metals from mining activities
80 (O’Shea et al., 2001; Zocche et al., 2010), untreated waste-water (Naidoo et al., 2013), and
81 atmospheric pollution (Hariono et al., 1993).

82

83 Insectivorous bats like *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) that inhabit the
84 Megalopolis are potentially exposed to metals and could constitute a good biomonitor of metal
85 pollution in its habitats in Central Mexico. This bat species feeds on a great amount of insects per
86 night (Lee and McCracken, 2005; López, 2009), being highly susceptible to the metals contained
87 in its diet (Thies and Gregory, 1994). Insectivorous bats need to drink water on direct way
88 (Wilkins et al., 1989), so they can ingest metals from polluted water. Since this species is highly

89 mobile and can disperse easily in its habitats (Ávila-Flores and Fenton, 2005; McCracken et al.,
90 2016), it can inhale or ingest a large amount of metal particles present in the atmosphere during
91 flight. Metals deposited in its fur could be absorbed by the skin or ingested when grooming
92 (Hariono et al., 1993; Rendón-Lugo et al., 2017). In addition, *T. brasiliensis* behaves as a resident
93 species in this region and is a common bat in the Megalopolis and surrounding rural
94 environments (García, 2018; Pérez, 2015; Sánchez et al., 1989), which would allow us to perform
95 comparisons among sites with different levels of human disturbance.

96
97 Liver is a target tissue for metal accumulation in bats (Hernout et al., 2016; Naidoo et al., 2013).
98 Essential metals must be absorbed and excreted constantly by the organism, remaining at
99 homeostatic levels. In excess metals could be toxic, while if they are scarce deficiencies can
100 occur. In contrast, non-essentials metals can cause toxicity even in low concentrations since they
101 can induce mutagenesis and carcinogenesis, as well as disturb the metabolism of essential metals
102 (Nordberg et al., 2015; Sidhu et al., 2004; Soetan et al., 2010).

103
104 In this study, we evaluated the total concentrations of V, Cr, Co, Ni, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb and Cd
105 in livers of *Tadarida brasiliensis* (Chiroptera: Molossidae) individuals inhabiting two sites inside
106 the Megalopolis, and two rural environments in Central Mexico. Our aims were: a) to determine
107 the metal concentrations in *Tadarida brasiliensis* in Central Mexico; b) to compare the metal
108 concentrations among bats from our study sites; c) to explore the association between pairs of
109 metals; and d) to explore the accumulation patterns of metals in bats. We hypothesized that
110 variations of metal concentrations among bats from the four sites would be mainly associated to
111 different types and intensities of anthropogenic sources.

112 113 **Materials and methods**

114 **Study area**

115 Bats were collected in roosts located in four sites in Central Mexico with different types and
116 intensities of human intervention. Two of our study sites were located within the Megalopolis, in
117 the northern and southern part, hereafter Cuautitlán and Xochimilco respectively (Figure 1).
118 Urban bats were collected in Cuautitlán municipality (19°39'42''N, 99°10'33''W) in the State of
119 Mexico and in Xochimilco municipality (19°14'55''N, 99°06'21''W) in Mexico City. Prevailing
120 wind direction in the Megalopolis is from north and northeast to south (Jáuregui, 2000). Northern
121 part of the Megalopolis has higher concentration of industrial activities and vehicular movement.
122 It also has greater population density than the southern part, where residential and commercial
123 activities dominate and big extensions of green and conservations areas are present (Guzmán-
124 Morales et al., 2011; Rodríguez-Salazar et al., 2011). Predominant parent material in the
125 Megalopolis is extrusive igneous (Morton-Bermea et al., 2018). Approximately 3 km from
126 Xochimilco is located the Xochimilco Lake, in Mexico City, which receives both treated and
127 untreated domestic and agricultural waste-water (Aldana et al., 2018).

128
129 Additionally, rural bats were collected at two study sites from rural environments located 30 km
130 north and 145 km south from the Megalopolis, hereafter Tequixquiac and Tlalcozotitlán
131 respectively (Figure 1). Bats from the first rural site were collected in an agricultural area in
132 Tequixquiac municipality (19°56'49''N, 99°06'48''W) in the State of Mexico. Farming activities
133 are conducted in 42.3% of the municipal territory, whereas grassland, urban areas, and xerophytic

134 scrubland occupy 25.5, 17.8 and 14.4% respectively. The predominant rocks at Tequixquiac
135 municipality are extrusive igneous (INEGI, 2010). Two untreated sewage canals emerge 6 km
136 from Tequixquiac, taking waste-water from the Megalopolis toward the Mezquital Valley, in the
137 State of Hidalgo. The sewage is used to farming both in Tequixquiac municipality and Mezquital
138 Valley (Lucho-Constantino et al., 2005; Pérez, 2015). To 20 km northwest from Tequixquiac is
139 located the Tula Industrial Complex, in the southern part of Mezquital Valley, in which there are
140 several factories including a petroleum refinery, an electricity power plant, and various cement
141 plants (Zambrano et al., 2009). Bats from the second rural site were collected in a cave located in
142 the town of Tlalcozotitlán (17°53'00''N, 99°07'32''W) in Copalillo municipality, State of
143 Guerrero. Dry deciduous tropical forest and agriculture occupy 68.1 and 13.5% of the municipal
144 territory respectively, while the urban areas do not exceed 0.5%. Sedimentary rock is the
145 predominant parent material in Copalillo municipality (INEGI, 2010). There are not big cities or
146 industrial areas close to Tlalcozotitlán.
147

148 **Bat sampling**

149 Bats were captured using mist nests placed in front of roost entries, at the time bats exited or
150 returned. We sampled bats from April to June 2017. We collected 20 bats from each of our study
151 sites, except from Tlalcozotitlán where only ten bats were collected. We only sacrificed adult
152 male specimens to avoid variations caused by age and sex (Scientific Community License
153 SGPA/DGVS/14509/16, SEMARNAT). Bats were euthanized according to the IACUC protocol
154 of the ASM (Sikes et al., 2016). Liver from each bat was removed and deposited into plastic
155 cryotubes with a 96% ethanol solution, following Williams et al. (2010). Tissue samples and bat
156 carcasses were kept in the Laboratorio de Ecología y Conservación de Vertebrados Terrestres at
157 the Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
158

159 **Chemical analysis and quality control**

160 Liver samples were prepared at the Laboratorio de Análisis Ambiental of the Facultad de
161 Ciencias, UNAM. Liver tissues were dried in an oven at 40°C for 48 hours and then weighted
162 with an analytical scale. Around 0.16 g of dried samples was digested on a microwave oven
163 (Mars x, CEM Corporation) with 7 ml of 50% concentrated nitric acid (HNO₃) in Teflon vessels.
164 Total hepatic concentrations of V, Cr, Co, Ni, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb and Cd were determined by
165 Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS; model iCAP Q, Thermo Scientific) at
166 the Instituto de Geofísica, UNAM. This technique has a high capacity to quantify metals even at
167 very low concentrations, and allows the analysis of several metals simultaneously (O'Shea and
168 Johnston, 2009). For the analytical procedure, a calibration curve was generated using a 15-point
169 curve (between 0.1 and 500 ng/L) with standard solutions, which were prepared by diluting 10
170 µg/g multi-element standard solutions (High Purity Standard) with 2% HNO₃. Instrumental drift
171 was corrected using indium as internal standard, prepared from a certified stock solution of 10
172 ng/g (Merck). Detection limits for ten metals were estimated as three times the standard deviation
173 values of ten replicates of the blank samples. These were 9.1 ng/g for Fe and less than 0.6 ng/g
174 for the rest of metals. All reagents used were of analytical grade.
175

176 Quality of the analytical procedure was assessed using DOLT-4 dogfish liver as standard
177 reference material (National Research Council Canada). Five replicates of DOLT-4 samples were
178 analyzed together with the bat liver samples, and were performed to the same procedure of

179 preparation and analysis. All metal recoveries ranged from 63.5 to 123.5%, except for Mn.
180 Reference material was not certified for Mn. However, Mn concentrations among the five
181 replicates were consistent, with a 5.6% coefficient of variation. The coefficients of variation of all
182 metals varied between 3.8 and 17.6%. Liver samples were measured randomly in duplicates and
183 triplicates, which had consistent concentrations for the ten metals analyzed. We did not find
184 greater interferences in the blank samples. Concentrations were expressed in $\mu\text{g/g}$ on a dry weight
185 (dw) basis. Further details about our quality controls are available as supplementary material
186 (Supplemental 1).
187

188 **Statistical analysis**

189 Since most of the residuals for the hepatic metal concentrations did not show normal distribution
190 nor variance homogeneity, we used non-parametric methods to analyze our data. We used
191 Kruskal-Wallis test to compare hepatic metal concentrations among study sites, followed by
192 Dunn *post hoc* test for each pair of study sites, considering Bonferroni adjustment of $\alpha/2$.
193 Spearman rank correlations were used to assess the associations between pairs of metal
194 concentrations. Factor analysis was performed on the normalized data for the concentrations of
195 the ten metals, to evaluate the accumulation patterns of metals in bats. Extraction method of this
196 statistical technique was the correlations matrix of the principal component analysis. All analyses
197 were restricted to bats with detectable concentrations only. Level of statistical significance
198 considered was below of $\alpha = 0.05$. We used the software R-studio (version 3.4.2) and Past
199 (version 1.7).
200

201 **Results**

202 **Hepatic metal concentrations in *Tadarida brasiliensis* from Central Mexico**

203 Total concentrations of V, Cr, Co, Ni, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb and Cd in liver of all 70 adult male
204 bats *Tadarida brasiliensis* collected were analyzed (Table 1). The hierarchy of metal
205 concentrations in liver tissues was $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Cu} \approx \text{Mn} > \text{Ni} \approx \text{Cd} \approx \text{Pb} \approx \text{V} \approx \text{Co} \approx \text{Cr}$. With the
206 exception of one individual that showed V and Cr concentrations below the detection limits, all
207 samples analyzed had quantifiable concentrations for all metals analyzed. Records of Ni in one
208 bat ($9.3 \mu\text{g/g}$) and Pb in three bats (4.1 , 8.2 and $13.5 \mu\text{g/g}$) were double or more than in the rest of
209 bats, so we considered them as highly elevated concentrations.
210

211 **Variations of metal concentrations among sites**

212 We found significant differences in the hepatic concentration of some metals among our study
213 sites: V (Kruskal-Wallis test: $F = 18.5$, $P < 0.001$), Cr ($F = 19.4$, $P < 0.001$), Co ($F = 38.2$, $P <$
214 0.001), Mn ($F = 13.9$, $P = 0.003$), Fe ($F = 13.5$, $P = 0.004$), Cu ($F = 26.4$, $P < 0.001$), and Cd (F
215 $= 16.8$, $P < 0.001$). Comparisons between pairs of study sites showed significant differences in
216 metal concentrations (Figure 2). Bats from Tequixquiac (Dunn test: $D = 4.06$, $P < 0.001$) and
217 Cuautitlán ($D = 3.37$, $P = 0.002$) had higher concentrations of V than Tlalcozotitlán bats.
218 Tequixquiac bats had higher concentrations of Cr and Co than bats from Cuautitlán (Cr: $D =$
219 4.22 , $P < 0.001$; Co: $D = 4.41$, $P < 0.001$), Xochimilco (Cr: $D = 2.7$, $P = 0.021$; Co: $D = 5.39$, $P <$
220 0.001) and Tlalcozotitlán (Cr: $D = 2.74$, $P = 0.019$; Co: $D = 4.68$, $P < 0.001$). Xochimilco bats
221 had higher Mn levels than Tlalcozotitlán bats ($D = 3.53$, $P = 0.001$). Tlalcozotitlán bats had lower

222 Fe concentrations than bats from Tequixquiac ($D = 2.98$, $P = 0.009$), Cuautitlán ($D = 3.37$, $P =$
223 0.002), and Xochimilco ($D = 3.27$, $P = 0.003$). Tequixquiac bats had lower levels of Cu than bats
224 from Cuautitlán ($D = 4.42$, $P < 0.001$) and Xochimilco ($D = 4.48$, $P < 0.001$). Tlalcozotitlán bats
225 had higher Cd levels than bats from Tequixquiac ($D = 3.22$, $P = 0.004$), Cuautitlán ($D = 4.03$, $P <$
226 0.001), and Xochimilco ($D = 2.78$, $P = 0.016$). Concentrations of Ni ($F = 1.2$, $P = 0.76$), Zn ($F =$
227 7.6 , $P = 0.055$), and Pb ($F = 0.21$, $P = 0.97$) did not vary among sites (Figure 2).

228
229 We found no differences in the concentrations of any of the analyzed metals between bats from
230 Cuautitlán and Xochimilco. Tlalcozotitlán bats showed lower variations in their V, Fe, Cu and Zn
231 levels compared to bats from the other sites. Tequixquiac bats only had lower variations of Cu
232 and Zn. Zinc and Cu concentrations of bats from Tequixquiac and Tlalcozotitlán were slightly
233 lower than bats from Cuautitlán and Xochimilco (Figure 2).

235 **Associations between metal concentrations**

236 Almost two-thirds of the 45 associations between pairs of metals of the 70 bats analyzed were
237 significant (Table 2). Nine of these associations had correlations coefficients of $\rho \geq 0.4$, so we
238 considered them as associations with a high correlation. The association between Cu and Zn was
239 the highest ($\rho = 0.76$, $P < 0.001$), and was the only that showed a direct, consistent relationship
240 (Figure 3A). This relationship was present in both urban and rural bats, as well as in the bats of
241 each study site. The association between Co and Cr ($\rho = 0.55$, $P < 0.001$) was high and
242 displayed a different pattern with respect to the previous one (Figure 3B). Individuals with Co
243 concentrations above $0.2 \mu\text{g/g}$ showed higher dispersion in their Cr concentrations than those
244 below this threshold. Zinc was the metal with more associations with $\rho \geq 0.4$, being related to
245 Mn, Pb, and Cd (Table 2). There were not important negative associations between
246 concentrations of any metals.

248 **Accumulation patterns of metals in bats**

249 We performed the factor analysis with data from 69 bats, excluding the only bat that had V and
250 Cr concentrations below the detection limits. This analysis showed three factors with eigenvalues
251 greater than 1, which together explained 61% of the variance (Supplemental 2). Factor 1
252 explained 29.7% of the variance and was positively associated with the concentrations of Zn, Mn,
253 Cu, V, and Fe. Factor 2 explained 19% of the variance and was positively associated with the
254 concentrations of Cu and Zn, and negatively associated with Co, V, and Cr. Finally Factor 3
255 explained 12.3% of the variance and was associated with the concentrations of the remaining
256 metals, positively with Pb and Cd, and negatively with Fe and Ni (Supplemental 2).

257
258 We projected the bats onto the first two-factor axis according to accumulation patterns of the ten
259 metals analyzed, and the scatterplot displayed three groups (Figure 4). Factor 1 axis showed
260 Tlalcozotitlán bats as a more homogeneous group since almost all of them had negative values.
261 Factor 2 axis showed a clear separation of Tequixquiac bats; they were in the negative side of the
262 axis. Cuautitlán and Xochimilco bats showed considerable variation in the positive values of
263 Factor 2 axis and they were the most dispersed along the Factor 1 axis.

264

Hepatic metal concentrations in *Tadarida brasiliensis* from Central Mexico

267 Depending on the amount of an essential metal that is required physiologically by mammals, this
268 is considered as macro or micro mineral. Although there is no clear separation among minerals
269 (Nordberg et al., 2015; Soetan et al., 2010), the hierarchy of metal concentrations presented here
270 could provide an idea about their degree of importance in the physiological processes occurred in
271 livers of insectivorous bats. This hierarchy agrees with those previously reported by similar
272 studies (Allinson et al., 2006; Hernout et al., 2016; Naidoo et al., 2013). Thus, among the
273 essential metals, Fe can be considered as the mineral with the highest physiological requirement,
274 followed by Zn and then by Cu and Mn. Finally Ni, V, Co, and Cr would be required in lower
275 amounts. Unlike previous metals, Pb and Cd are considered as non-essential metals because they
276 do not participate in physiological processes on mammals (Nordberg et al., 2015; Soetan et al.,
277 2010). This can explain their relative lower concentrations in our liver samples.

278

279 We recorded very high concentrations of Ni and Pb in some individuals (Table 1). Isolated cases
280 of excessive levels of metals in internal tissues have been reported in both wild bats (Hariono et
281 al., 1993; Williams et al., 2010) and captive bats (Hoenerhoff and Williams, 2004). Excessive
282 concentrations have been attributed to individual characteristics, where the bat could have been
283 exposed to extreme conditions of metal pollution or presented problems in metal metabolism and
284 excretion. Considering that our study sites presented a diversity of human activities, we cannot
285 discard that high metal concentration values we recorded contributed to toxicity. However,
286 according to Thies and Gregory (1994), capturing bats during their periods of activity could
287 suggest they display normal foraging behavior, thus they would be healthy individuals. Bats may
288 vary in their resistance to metal poisoning, and there may be a process of selection in which some
289 bats will die and others will not, under the same metal concentrations. In contrast, very low
290 concentrations of essential metals could represent metal deficiency levels. However, this is a
291 poorly explored topic in bats, and requires further attention.

292

293 Metal identification and quantification in bat tissues have been developed through the
294 implementation of different analytical techniques and procedures, which makes it difficult to
295 compare different studies (Clark and Shore, 2001; Zukal et al., 2015). Therefore, in order to
296 conduct appropriate comparisons, we only considered published studies that used an ICP
297 technique and standard reference material as we did in our study. We compared our results to
298 hepatic metal concentrations ($\mu\text{g/g dw}$) in insectivorous bats reported by Allinson et al. (2006),
299 Naidoo et al. (2013), and Hernout et al. (2016) (Table 1). These studies showed recovery rates
300 similar to the one reported here, in spite of differences in the digestion procedure. In general, we
301 found that our concentrations of Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Pb, and Cd in livers of *Tadarida brasiliensis*
302 were consistent with hepatic levels recorded by previous studies. In contrast, our concentrations
303 of V, Co and Ni were above reported levels in the literature. It is important to consider that we
304 evaluated only adult male bats of a Molossid species, while the other studies analyzed
305 Vespertilionid bats of variable age and sex. So, these differences could be related to inherent
306 physiology characteristics of distinct bat families, their feeding habits, and the degree of exposure
307 associated to the date and locality of collection (Walker et al., 2007; Zocche et al., 2010).

308

309 **Variations of metal concentrations among sites**

310 Higher concentrations and variations of V in Tequixquiac bats we found (Figure 2A) could be
311 associated to consumption of contaminated insects by the emissions of Tula Industrial Complex
312 (TIC), located 20 km northwest from Tequixquiac. Vanadium has been identified as residue of
313 fossil fuel combustion generated by TIC, and this metal is transported to the south by the action
314 of prevailing winds (Zambrano et al., 2009), even impacting areas of the Megalopolis located 80
315 km south (Querol et al., 2008). Intermediate V concentrations in urban bats could be associated to
316 lower influence of TIC emissions, as well as of local fossil fuel combustion and igneous rock
317 dusts (Guzmán-Morales et al., 2011; Morton-Bermea et al., 2009, 2018), on V contents in insects
318 from the Megalopolis. Lower V concentrations and variation in Tlalcozotitlán bats, which were
319 collected more than 200 and 145 km south from TIC and the Megalopolis respectively, indicate
320 that these bats were not exposed to important sources of V.

321
322 Tequixquiac bats had higher concentrations and variations of Cr and Co (Figure 2B, 2C), which
323 suggest the influence of local sources. Important sources of Cr and Co in Tequixquiac and
324 surrounding areas are unknown. Farming areas occupy the 42% of territory of Tequixquiac
325 municipality (INEGI, 2010), and are irrigated mainly with waste-water that can be enriched with
326 metals released by domestic and industrial waste from the Megalopolis. However, the metal
327 bioavailability to crops is very low because metals are bound in large amounts to mineral fraction
328 and organic matter of the agricultural soils (Flores et al., 1997; Lucho-Constantino et al., 2005).
329 Thus, it would be unlikely that Tequixquiac bats present an important bioaccumulation of both
330 metals from foraging on phytophagous insects. On the other hand, insectivorous bats can ingest
331 metals from waste-water when they drink it or feed on emergent aquatic insects (Naidoo et al.,
332 2013; O'Shea et al., 2001). Since these insects are reported in low amounts in the diet of
333 *Tadarida brasiliensis* (Lee & McCracken, 2005; López, 2009), added to this bat needs to
334 consume water on direct way for maintain its hydric balance (Wilkins, 1989), Cr and Co intake
335 from drinking waste-water could be more likely.

336
337 Xochimilco bats seemed have slightly higher Mn concentrations than the other bats (Figure 2D),
338 which could be related to local exposure from Xochimilco Lake (located 3km Xochimilco site).
339 Aldama et al. (2018) found that Mn was the most abundant free metal ion in the water of
340 Xochimilco Lake, and it was the most bioaccumulated in the fish gills from this lake. Thus,
341 according to their hydrological requirements (Wilkins, 1989), these bats may have consumed
342 water enriched with Mn.

343
344 Although the presence of Ni in the Megalopolis and Mezquital Valley has been linked to a
345 variety of sources (Morton-Bermea et al., 2018; Querol et al., 2008; Zambrano et al., 2009),
346 similar Ni concentrations among our bats (Figure 2E) can be related to strong homeostatic
347 controls. In spite of the fact that we did not find a consistent correlation between Ni and Zn
348 (Table 2), Ni concentrations in mammal livers can be regulated by Zn action (Sidhu et al., 2004).

349
350 Differences in Fe concentrations between wild and captive mammals, as well as among livestock
351 exposed to distinct kinds of raising, have been attributed to the unintentional intake of dust and
352 soil enriched with variable levels of Fe particles (Clauss and Paglia, 2012). So, it is possible that
353 variations in Fe concentrations we recorded (Figure 2F) were associated to differences in the
354 amount of Fe released from the weathering of parent material of our study sites. Igneous parent

355 material has been recognized as the most important source of Fe in the Megalopolis and
356 Mezquital Valley (Morton-Bermea et al., 2018; Querol et al., 2008; Zambrano et al., 2009). Iron
357 particles can become very abundant in the particulate material PM_{2.5}, even reaching 67.7% of
358 total mass as reported in the Megalopolis (Morton-Bermea et al., 2018). Thus, important amounts
359 of Fe particles could have adhered to insects and fur of bats from the Megalopolis and
360 Tequixquiac, being ingested by these bats when feeding and grooming (Hariono et al., 1993;
361 Rendón-Lugo et al., 2017). In contrast, lower Fe concentrations in Tlalcozotitlán bats can be
362 related to a low level of Fe particles generated by sedimentary parent material, which is dominant
363 in Copalillo municipality and surrounding (INEGI, 2010). According to Lozano and Bernal
364 (2005), igneous rocks in Mexico present greater amounts of Fe than the sedimentary rocks, with
365 approximate Fe₂O₃ and FeO rates of 1100:1 and 300:1 respectively.

366
367 Despite that liver of mammals exerts strong homeostatic processes on hepatic Cu and Zn
368 concentrations (Milton and Johnson, 1999; Nordberg et al., 2015; Stamoulis et al., 2007), our
369 urban bats seemed to show higher concentrations and variations of Cu and Zn than rural bats
370 (Figure 2G, 2H). The high correlation between Cu and Zn we found (Figure 3A) emphasizes that
371 both metals had the same accumulation pattern, which can be associated to a common source.
372 Internal concentrations of both metals are usually related to their contents in the diet (Nordberg et
373 al., 2015). Copper and Zn contents in the Megalopolis have been mainly related to vehicular
374 traffic (Guzmán-Morales et al., 2011; Querol et al., 2008; Rodríguez-Salazar et al., 2011), with
375 5.3 millions motor vehicles (SEDEMA, 2016). Both metals can be released in large amounts
376 from the wear of brake pads and tires (Apeagyei et al., 2011). Air particles of Cu and Zn can
377 adhere in important quantities on the leaves (García-Sánchez et al., 2019), even matching their
378 internal contents (Guzmán-Morales et al., 2011). Thus, phytophagous insects that feed on these
379 leaves could ingest high Cu and Zn levels and then pass to insectivorous bats from the
380 Megalopolis.

381
382 Similar hepatic Pb concentrations among mammals throughout urbanization gradients have been
383 reported (Bilandžić et al., 2010; Dip et al., 2001), which can be related to the wide distribution of
384 Pb in the environments (López-Alonso et al., 2007). Lead can be adsorbed by bats through food
385 chain and atmospheric exposure (Hariono et al., 1993). Although the use of Pb as gasoline
386 additive was banned in Mexico since 1997, Morton-Bermea et al. (2011) and Rodríguez-Salazar
387 et al. (2011) suggested that Pb pollution along the Megalopolis by its use during past decades was
388 still significant 11 years later (2008). Walker et al. (2007) reported that the bioavailability of Pb
389 to bats from Britain did not vary in a period of at least 15 years (1988-2003), despite there was a
390 marked reduction of petrol Pb emissions during the same time. Thus, we can consider that the
391 similar Pb concentrations in our bats (Figure 2I) were a reflection of the historical pollution of Pb
392 and its consequent distribution along our study sites.

393
394 Variations in hepatic Cd concentrations in mammals can be more related to differences in the
395 foraging habits than to exposure due to the degree of urbanization (Dip et al., 2001; Bilandžić et
396 al., 2010). Thus, although the prey of urban and Tequixquiac bats can be exposed to Cd emitted
397 by vehicular traffic and industrial activities from the Megalopolis (Morton-Bermea et al., 2018;
398 Querol et al., 2008), higher Cd concentrations in Tlalcozotitlán bats (Figure 2J) indicate that their
399 prey are exposed to more important sources of Cd. *Tadarida brasiliensis* feed mainly on insect
400 families belonging to Lepidoptera and Coleoptera in rural environments (Lee and McCracken,
401 2005; López, 2009), which are usually crop pests and can act as exposure route of metals from

402 agriculture activities to insectivorous bats (Clark, 1988; Thies and Gregory, 1994). Since some
403 agrochemicals can have high amount of Cd (Oruc, 2010; Soetan et al., 2010), it is necessary to
404 explore in more detail the agrochemicals employed in Copalillo municipality. On the other hand,
405 a mass mortality of bats was observed in the cave of Tlalcozotitlán during September 2016
406 (Alberto Almazán, Personal communication). Clark (1988) documented a mass mortality of
407 insectivorous bats by accumulation of pesticides along the trophic chain. Although an additional
408 impact of Cd was not associated, this author reported high Cd levels in guano. If similar here, we
409 can assume at least in part that Tlalcozotitlán bats we evaluated were survivors with sublethal
410 levels of Cd, or that these bats still faced a high exposure to Cd one year later.

411

412 **Associations between metal concentrations**

413 Interactions between metals during bioaccumulation in mammal tissues are complex since more
414 than two metals can be involved, as well as different biomolecules and physiological processes
415 (Jarzyńska and Falandysz, 2011; López-Alonso et al., 2004; Soetan et al., 2010). In contrast to
416 laboratory mammals and livestock, wild mammals face selective pressures which increased the
417 mortality probability of those individuals that are susceptible to increased metal exposures (Clark
418 and Shore, 2001; Thies and Gregory, 1994).

419

420 Although a great percent of significant correlations performed here were not strong ($\rho < 0.4$),
421 these were numerous (Table 2), reflecting the possible importance of the liver for metabolizing
422 the metals (López-Alonso et al., 2004). We recorded a high and consistent positive correlation
423 between Cu and Zn (Figure 3A). Although it is unclear whether both metals are synergistically
424 associated in internal tissues of mammals, since one metal can increase or inhibit the absorption
425 of the other (Nordberg et al., 2015; Stamoulis et al., 2007), our finding was consistent with
426 previous observations in liver and spleen samples of bats from montane forests of Peru (Ramos-
427 H. et al., Unpublished result). Thus, we can assume that Cu and Zn relationship in bat livers
428 represents a synergic accumulation, which can be associated to proportional requirements or
429 exposure to a common anthropogenic source. Zinc showed considerable correlations ($\rho \geq 0.4$)
430 with other three metals, which can be a reflection of the importance of Zn for metal homeostasis
431 in mammalian livers (Sidhu et al., 2004; Stamoulis et al., 2007). In addition, correlations between
432 Zn and both Cu and Cd in livers can be related to the capacity of these metals to induce the
433 synthesis of metallothioneins (López-Alonso et al., 2004; Streit and Nagel, 1993).

434

435 It seems that Co had an effect on Cr only after a concentration threshold is reached (Figure 3B).
436 There is no influence of Co at lower concentrations, but when Co exceeds 0.2 $\mu\text{g/g}$ can cause a
437 large variation in Cr concentrations. However, there is no information about this interaction
438 (Nordberg et al., 2015). The rest of correlations between pairs of metals showed unclear
439 relationships, in spite of high or intermediate correlation coefficients. Curiously, we did not find
440 important negative correlations (Table 2), although antagonistic interactions have been reported
441 between metals. Negative interactions usually occur under extreme conditions of exposure or
442 deficiency (Nordberg et al., 2015; Sidhu et al., 2004; Soetan et al., 2010).

443

444 **Accumulation patterns of metals in bats**

445 Factor analysis explained an intermediate value of the total variance (Supplemental 2), which can
446 be a reflection of the action both of different sources and interactions among metals. Bats

447 projected in the scatterplot were pooled in three groups (Figure 4). The individuals of each group
448 showed similar accumulation patterns as a reflection of similar exposure from particular
449 geographic conditions where they inhabit, so each group can be consider as representative of one
450 population (Sánchez-Chardi and López-Fuster, 2009; Yang et al., 2002).

451
452 Tlalcozotitlán bats were distributed as a population more homogeneous in the Factor 1 axis
453 (Figure 4). Unlike others study sites, in general Tlalcozotitlán bats showed lower values and/or
454 low variability in their hepatic concentrations of those essential metals associated to Factor 1
455 (Figure 2, Supplemental 2). Since essential metals are required and remained in homeostatic
456 levels (Nordberg et al., 2015; Soetan et al., 2010), low variability in hepatic concentrations can be
457 related to an adequate accumulation or little interference from antagonistic metals. Considering
458 that Tlalcozotitlán bats were collected in a rural environment far from large cities and industrial
459 areas, we can assume that these bats represent a control population for metal exposure (except for
460 Cd).

461
462 Tequixquiac bats showed a complete separation in comparison with the rest of bats, toward the
463 Factor 2 axis (Figure 4). Tequixquiac bats had higher levels of V, Cr, Co as well as wider
464 variations of these metals associated to Factor 2 (Figure 2; Supplemental 2). This result may
465 reflect pollution conditions from point sources (Nordberg et al., 2015; Zambrano et al., 2009),
466 which were unrelated to the Megalopolis. As with Tlalcozotitlán bats, Tequixquiac bats had low
467 concentrations of Cu and Zn (Figure 2), which also were associated to Factor 2 (Supplemental 2).
468 This supports the argument that differences in hepatic Cu and Zn concentrations in bats were
469 related to the degree of vehicular traffic, which was more important in the Megalopolis
470 (Apeagyei et al., 2011; Rodríguez-Salazar et al., 2011).

471
472 Despite that a higher contribution of metals from industrial activities have been identified in the
473 northern part of the Megalopolis (Guzmán-Morales et al., 2011; Rodríguez-Salazar et al., 2011),
474 Cuautitlán and Xochimilco bats did not show significant differences in their metal concentrations
475 (Figure 2), showing similar accumulation patterns (Figure 4). This result suggests that all urban
476 bats were exposed to metals in a similar way along the Megalopolis, and belonged to the same
477 population. This similar exposure may be associated to the great flight capacity of *Tadarida*
478 *brasiliensis* (Ávila-Flores and Fenton, 2005; McCracken et al., 2016; Wilkins et al., 1989), or a
479 homogeneous distribution of metals throughout the Megalopolis (Morton-Bermea et al., 2018).
480 On the other hand, Factor 3 recognized slight differences in the ranges of Pb and Cd
481 concentrations between Cuautitlán and Xochimilco bats (Supplemental 2). As was previously
482 mentioned, higher metals variations in Xochimilco bats can be associated to additional point
483 sources (Xochimilco Lake) in the southern part of the Megalopolis.

484

485 **Conclusions**

486 All urban bats were exposed to metals in a similar way throughout the Megalopolis, and these
487 showed higher levels of exposure to only two metals associated to anthropogenic sources related
488 to this city. Rural bats from each site were exposed to different metals, which were associated to
489 anthropogenic sources unrelated to the Megalopolis. In this way, *Tadarida brasiliensis* showed to
490 be sensitive to the spatial heterogeneity of metal sources in our study area, so it can assist in
491 detecting potential risks of metal pollution on wildlife and human health in human-dominated
492 ecosystems. Our study highlight the need to improve the public policies concerning to

493 environmental quality, oriented to improving regulations on vehicular traffic in the Megalopolis,
494 industrial activities around Tequixquiac municipality, and agricultural activities in Copalillo
495 municipality. The above leads us to propose that additional studies are required to consider
496 *Tadarida brasiliensis* as suitable biomonitor of metal exposure. The evaluation of its feeding
497 habits and the metal concentrations in its main preys, as well as content analysis of metal
498 particles in its fur, would be useful to confirm the routes of exposure. Likewise, it would be
499 advisable to extend this study in additional areas to support our interpretations, while analysis of
500 other chemical contaminants in this bat species could show further sources of pollutions.
501

502 **Acknowledgements**

503 This article is a requirement to obtain the Master's degree in Biological Sciences, in the field of
504 Ecology, of the Posgrado en Ciencias Biológicas at Universidad Nacional Autónoma de México
505 (UNAM). Authors thank the Posgrado en Ciencias Biológicas (UNAM) as well as CONACYT
506 for scholarship number 612519 to Daniel Ramos-H. We are grateful to Elizabeth Hernández and
507 Sarah Ordoñez of the Laboratorio de ICP-MS (Instituto de Geofísica-UNAM), and Claudia
508 Ponce de León and Manuel Hernandez of the Laboratorio de Análisis Ambiental (Facultad de
509 Ciencias-UNAM), for the analytical assistance. We thank Begoña Iñarritu, Abigail Martínez,
510 Daniela Cafaggi and members of the Laboratorio de Ecología y Conservación de Vertebrados
511 Terrestres (Instituto de Ecología-UNAM), as well as Alberto Almazán, Ángel Osorio and
512 Alejandro Taboada of the Instituto para el Manejo y Conservación de la Biodiversidad
513 (INMACOB AC.), and Yezenia García, Ernesto Pérez, Gema Sánchez, Patricia Ramírez, Kevin
514 Meza, Falco García, Tania Castrejón, Rafael Ávila-Flores and Claudia Muñoz for their field
515 support. We also thank Jorge E. Schondube of the Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y
516 Sustentabilidad (IIES-UNAM) and Joaquín Arroyo-Cabrales of the Instituto Nacional de
517 Antropología e Historia (INAH) for their many useful suggestions to our previous versions, as
518 well as Ernesto Vega of the IIES (UNAM) for the support in the statistical analysis. Finally we
519 acknowledge Farah Carrasco and Maripaula Valdés for their assistance in the English translation.
520

521 **References**

- 522 Aldana, G., Hernández, M., Cram, S., Arellano, O., Morton, O., Ponce de León, C. 2018. Trace
523 metal speciation in a wastewater wetland and its bioaccumulation in tilapia *Oreochromis*
524 *niloticus*. *Chemical Speciation & Bioavailability*. 30 (1): 23-32.
525 <https://doi.org/10.1080/09542299.2018.1452635>.
526
- 527 Allinson, G., Mispagel, C., Kajiwara, N., Anan, Y., Hashimoto, J., Laurenson, L., Allinson, M.,
528 Tanabe, S. 2006. Organochlorine and trace metal residues in adult southern bent-wing bat
529 (*Miniopterus schreibersii bassanii*) in southeastern Australia. *Chemosphere*. 64: 1464-1471.
530 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.067>.
531
- 532 Apeageyi, E., Bank, M.S., Spengler J.D. 2011. Distribution of heavy metals in road dust along an
533 urban-rural gradient in Massachusetts. *Atmospheric Environment*. 45: 2310-2323.
534 <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.11.015>.
535

536 Ávila-Flores, R., Fenton, M.B. 2005. Use of spatial features by foraging insectivorous bats in a
537 large urban landscape. *Journal of Mammalogy*. 86(6): 1193-1204. [https://doi.org/10.1644/04-](https://doi.org/10.1644/04-MAMM-A-085R1.1)
538 [MAMM-A-085R1.1](https://doi.org/10.1644/04-MAMM-A-085R1.1).
539

540 Bilandžić, N., Deždek, D., Sedak, M., Đokić, M., Solomun, B., Varenina, I., Knežević, Z.,
541 Slavica, A. 2010. Concentrations of trace elements in tissues of red fox (*Vulpes vulpes*) and stone
542 marten (*Martes foina*) from suburban and rural areas in Croatia. *Bulletin of Environmental*
543 *Contamination and Toxicology*. 85: 486-491. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0146-2>.
544

545 Clark, D.R. 1988. Environmental contaminants and the management of bat populations in the
546 United States. In: Szaro, R.C., Severson, K.S., Patton, D.R. (Eds.), *Management of Amphibians,*
547 *Reptiles, and Small Mammals in North America: Proceedings of the Symposium*. U. S. D. A.
548 *Forest Service General Technical Report RM-166, United States*, pp. 409-413.
549

550 Clark, D.R., Shore, R.F. 2001. Chiroptera. In: Shore, R.F., Rattner, B.A. (Eds), *Ecotoxicology of*
551 *Wild Mammals*. John Wiley & Sons, United States, pp. 159-214.
552

553 Clauss, M., Paglia, D.E. 2012. Iron storage disorders in captive wild mammals: the comparative
554 evidence. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 43(3): 6-18. [https://doi.org/10.1638/2011-](https://doi.org/10.1638/2011-0152.1)
555 [0152.1](https://doi.org/10.1638/2011-0152.1).
556

557 Davydova, S. 2005. Heavy metals as toxicants in big cities. *Microchemical Journal*. 79: 133-136.
558 <https://doi.org/10.1016/j.microc.2004.06.010>.
559

560 Delgado, R.A., Fortoul, T.I., Rosiles, R. 1994. Concentraciones de plomo, cadmio y cromo y su
561 relación con algunas modificaciones morfológicas en tejidos de palomas *Columba livia* de la
562 Ciudad de México e Ixtlahuaca, Estado de México. *Veterinaria México*. 25(2): 109-115.
563 <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=23430>, (Accessed May
564 17, 2019).
565

566 Dip, R., Stieger, C., Deplazes, P., Heggin, D., Müller, U., Dafflon, O., Koch, H., Naegeli, H.
567 2001. Comparison of heavy metal concentrations in tissues of red foxes from adjacent urban,
568 suburban, and rural areas. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 40: 551-
569 556. <https://doi.org/10.1007/s002440010209>.
570

571 Flores, L., Blas, G., Hernández, G., Alcalá, R. 1997. Distribution and sequential extraction of
572 some heavy metals from soils irrigated with wastewater from Mexico City. *Water, Air and Soil*
573 *Pollution*. 98: 105-117. <https://doi.org/10.1023/A:1026472611589>.
574

575 García, Y. 2018. Localización y descripción de los refugios urbanos utilizados por murciélagos
576 residentes y su relación con las áreas verdes, en la zona centro-sur de la Ciudad de México,
577 México. Tesis para obtener el título de Bióloga. Universidad Nacional Autónoma de México,
578 Mexico, 82 p.
579 <http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KC>
580 [C1L7M4U5M69-05537?func=find-](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KC)
581 [b&request=yezenia+garc%C3%ADa&find_code=WRD&adjacent=N&local_base=TES01&x](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KC)

582 =0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=,
583 (Accessed May 17, 2019).
584
585 García-Sánchez, I.E., Barradas, V.L., Ponce de León, C.A., Esperón-Rodríguez, M., Rosas, I.,
586 Ballinas, M. 2019. Effect of heavy metals and environmental variables on the assimilation of
587 CO₂ and stomatal conductance of *Ligustrum lucidum*, an urban tree from Mexico City. Urban
588 Forestry & Urban Greening. 42: 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2019.05.002>.
589
590 Guzmán-Morales, J., Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., Rodríguez-Salazar, M.T.,
591 García-Arreola, M.E., Tapia-Cruz, V. 2011. Assessment of atmospheric metal pollution in the
592 urban área of Mexico City, using *Ficus benjamina* as biomonitor. Bulletin of Environmental
593 Contamination and Toxicology. 86: 495-500. <https://doi.org/10.1007/s00128-011-0252-9>.
594
595 Hariono, B., Ng, J., Sutton, R.H. 1993. Lead concentrations in tissues of fruit bats (*Pteropus* sp.)
596 in urban and non-urban locations. Wildlife Research. 20 (3): 315-320.
597 <https://doi.org/10.1071/WR9930315>.
598
599 Hernout, B.V., Arnold, K.E., McClean, C.L., Walls, M., Baxter, M., Boxall, A.B.A. 2016. A
600 national level assessment of metal contamination in bats. Environmental Pollution. 214: 847-858.
601 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.079>.
602
603 Hoenerhoff, M., Williams, K. 2004. Copper-associated hepatopathy in a Mexican fruit bat
604 (*Artibeus jamaicensis*) and establishment of a reference range for hepatic copper in bats. Journal
605 of Veterinary Diagnostic Investigation. 16: 590-593.
606 <https://doi.org/10.1177/104063870401600619>.
607
608 INEGI. 2010. Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos
609 Mexicanos. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Mexico.
610 <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/topografia/compendio.aspx>, (Accessed May 17, 2019).
611
612 Jarzyńska, G., Falandysz, J. 2011. Selenium and 17 other largely essential and toxic metals in
613 muscle and organ meats of red deer (*Cervus elaphus*) - Consequences to human health.
614 Environment International. 37: 882-888. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.017>.
615
616 Jáuregui, E. 2000. El clima de la Ciudad de México. Universidad Nacional Autónoma de México.
617 Plaza y Valdés, Mexico, 131 p.
618
619 Lee, Y.F., McCracken, G.F. 2005. Dietary variation of Brazilian free-tailed bats links to
620 migratory populations of pest insects. Journal of Mammalogy. 86(1): 67-76.
621 [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2005\)086<0067:DVOBFB>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2005)086<0067:DVOBFB>2.0.CO;2).
622
623 López, L.J. 2009. Dieta de *Tadarida brasiliensis mexicana* en el noreste y sur de México en el
624 contexto de la fenología del maíz (*Zea mays*). Tesis para obtener el grado académico de Maestro
625 en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental). Universidad Nacional Autónoma de México,
626 Mexico, 136 p.
627 <http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCCI>

628 [L7M4U5M69-11048?func=full-set-set&set_number=004073&set_entry=000001&format=999](https://doi.org/10.1023/B:BIOM.0000029434.89679.a2),
629 (Accessed May 17, 2019).
630

631 López-Alonso, M., Prieto, F., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J., Benedito, L. 2004.
632 Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn,
633 Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *Biometals*. 17: 389-397.
634 <https://doi.org/10.1023/B:BIOM.0000029434.89679.a2>.
635

636 López-Alonso, M., Miranda, M., García-Partida, P., Cantero, F., Hernández, J., Benedito, J.L.
637 2007. Use of dogs as indicators of metal exposure in rural and urban habitats in NW Spain.
638 *Science of the Total Environment*. 372: 668-675. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.10.003>.
639

640 Lozano, R., Bernal, J.P. 2005. Characterization of a new set of eight geological reference
641 materials for XRF major and trace element analysis. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*.
642 22 (3): 329-344. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1026-
643 87742005000300329&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1026-87742005000300329&lng=es&nrm=iso&tlng=en), (Accessed May 17, 2019).
644

645 Lucho-Constantino, C.A., Prieto-García, F., Del Razo, L.M., Rodríguez-Vázquez, R., Poggi-
646 Varaldo, H.M. 2005. Chemical fractionation of boron and heavy metals in soils irrigated with
647 wastewater in Central Mexico. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 108: 57-71.
648 <https://doi.org/10.1016/j.agee.2004.12.013>.
649

650 McCracken, G.F., Safi, K., Kunz, T.H., Dechmann, D.K.N., Swartz, S.M., Wikelski, M. 2016.
651 Airplane tracking documents the fastest flight speeds recorded for bats. *Royal Society Open
652 Science*. 10 pp. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.160398>.
653

654 Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., González-Hernández, G., Romero, F., Lozano, R.,
655 Beramendi-Orosco, L.E. 2009. Assessment of heavy metal pollution in urban topsoil from the
656 metropolitan area of Mexico City. *Journal of Geochemical Exploration*. 101: 218-224.
657 <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2008.07.002>.
658

659 Morton-Bermea, O., Rodríguez-Salazar, M.T., Hernández-Álvarez, E., García-Arreola, M.E.,
660 Lozano-Santacruz, R. 2011. Lead isotopes as tracers of anthropogenic pollution in urban topsoils
661 of Mexico City. *Chemie der Erde*. 71: 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2011.03.003>.
662

663 Morton-Bermea, O., Garza-Galindo, R., Hernández-Álvarez, E., Amador-Muñoz, O., García-
664 Arreola, M.E., Ordoñez-Godínez, S.L., Beramendi-Orosco, L., Santos-Medina, G.L., Miranda, J.,
665 Rosas-Pérez, I. 2018. Recognition of the importance of geogenic sources in the content of metals
666 in PM_{2.5} collected in the Mexico City Metropolitan Area. *Environmental Monitoring and
667 Assessment*. 190: 83-100. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6443-z>.
668

669 Naidoo, S., Vosloo, D., Schoeman, M.C. 2013. Foraging at wastewater treatment works increases
670 the potential for metal accumulation in an urban adapter, the banana bat (*Neoromicia nana*).
671 *African Zoology*. 48 (1): 39-55. <https://doi.org/10.3377/004.048.0111>.
672

673 Nordberg, G.F., Fowler, B.A., Nordberg, M. 2015. *Handbook on the Toxicology of Metals*.
674 Fourth Edition. Academic Press, United Kingdom, 1542 p.

675
676 O'Shea, T.J., Clark, D.R., Boyle, T.P. 2001. Impacts of mine-related contaminant on bats. In:
677 Vories, K.C., Throgmorton, D. (Eds.), Proceeding of Bat Conservation and Mining: A Technical
678 Interactive Forum. Southern Illinois University Press and U. S. Office of Surface Mining, United
679 States, 17 p.
680
681 O'Shea, T.J., Johnston, J.J. 2009. Environmental contaminants and bats: investigating exposure
682 and effects. In: Kunz, T.H., Parsons, S. (Eds.), Ecological and Behavioral Methods for the Study
683 of Bats. Second Edition. The Johns Hopkins University Press, United States, pp. 500-528.
684
685 Oruc, H.H. 2010. Fungicides and their effects on animals. In: Carisse, O. (Ed.), Fungicides.
686 InTech, United Kingdom, pp. 349-362.
687
688 Pérez, L.E. 2015. Registro de murciélagos (Chiroptera) en cinco sitios del municipio de
689 Tequixquiac, estado de México. Tesis para obtener el título de Biólogo. Universidad Nacional
690 Autónoma de México, Mexico. 70 pp.
691 [http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCC1](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCC1L7M4U5M69-20620?func=find-b&REQUEST=ernesto+p%C3%A9rez+tequixquiac&find_code=WRD&ADJACENT=N&local_base=TES01&x=0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=)
692 [L7M4U5M69-20620?func=find-](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCC1L7M4U5M69-20620?func=find-b&REQUEST=ernesto+p%C3%A9rez+tequixquiac&find_code=WRD&ADJACENT=N&local_base=TES01&x=0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=)
693 [b&REQUEST=ernesto+p%C3%A9rez+tequixquiac&find_code=WRD&ADJACENT=N&local_](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCC1L7M4U5M69-20620?func=find-b&REQUEST=ernesto+p%C3%A9rez+tequixquiac&find_code=WRD&ADJACENT=N&local_base=TES01&x=0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=)
694 [base=TES01&x=0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_r](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCC1L7M4U5M69-20620?func=find-b&REQUEST=ernesto+p%C3%A9rez+tequixquiac&find_code=WRD&ADJACENT=N&local_base=TES01&x=0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=)
695 [equest_3=](http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/L1UKLM26LLCFPSHKTNSM963UHYBBSLTCU49C6KCC1L7M4U5M69-20620?func=find-b&REQUEST=ernesto+p%C3%A9rez+tequixquiac&find_code=WRD&ADJACENT=N&local_base=TES01&x=0&y=0&filter_code_2=WYR&filter_request_2=&filter_code_3=WYR&filter_request_3=), (Accessed May 17, 2019).
696
697 Querol, X., Pey, J., Minguillón, M.C., Pérez, N., Alastuey, A., Viana, M., Moreno, T., Bernabé,
698 R.M., Blanco, S., Cárdenas, B., Vega, E., Sosa, G., Escalona, S., Ruiz, H., Artiñano, B. 2008. PM
699 speciation and sources in Mexico during the MILAGRO-2006 campaign. Atmospheric Chemistry
700 and Physics. 8: 111-128. <https://doi.org/10.5194/acp-8-111-2008>.
701
702 Rendón-Lugo, A.N., Santiago, P., Puente-Lee, I., León-Paniagua, L. 2017. Permeability of hair to
703 cadmium, copper and lead in five species of terrestrial mammals and implications in
704 biomonitoring. Environmental Monitoring and Assessment. 189: 640-650.
705 <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6338-z>.
706
707 Rodríguez-Salazar, M.T., Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., Lozano, R., Tapia-Cruz,
708 V. 2011. The study of metal contamination in urban topsoils of Mexico City using GIS.
709 Environmental Earth Sciences. 62: 899-905. <https://doi.org/10.1007/s12665-010-0584-5>.
710
711 Sánchez, O., López-Ortega, G., López-Wilchis, R. 1989. Murciélagos de la Ciudad de México y
712 sus alrededores. In: Gio-Argaéz, R., Hernández, R.I., Saíenz-Hernández, E. (Eds), Ecología
713 Urbana. Sociedad Mexicana de Historia Natural, Mexico, pp. 141-165.
714
715 Sánchez-Chardi, A., López-Fuster, M.J. 2009. Metal and metalloid accumulation in shrews
716 (Soricomorpha, Mammalia) from two protected Mediterranean coastal sites. Environmental
717 Pollution. 157: 1243-1248. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.047>.
718
719 SEDEMA. 2016. Inventario de Emisiones de la CDMX 2014. Secretaría del Medio Ambiente del
720 Gobierno de la Ciudad de México, Mexico, 134 p.
721

722 Sidhu, P., Garg, M.L., Morgenstern, P., Vogt, J., Butz, T., Dhawan, D.K. 2004. Role of zinc in
723 regulating the levels of hepatic elements following nickel toxicity in rats. *Biological Trace*
724 *Element Research*. 102: 161-172. <https://doi.org/10.1385/BTER:102:1-3:161>.
725

726 Sikes, R.S., the Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists.
727 2016. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in
728 research and education. *Journal of Mammalogy*. 97 (3): 663-688.
729 <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>.
730

731 Soetan, K.O., Olaiya, C.O., Oyewole, O.E. 2010. The importance of mineral elements for
732 humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science*. 4(5): 200-222.
733 <https://academicjournals.org/journal/AJFS/article-abstract/045441523024>, (Accessed May 17,
734 2019).
735

736 Stamoulis, I., Kouraklis, G., Theocharis, S. 2007. Zinc and the liver: An active interaction.
737 *Digestive Diseases and Sciences*. 52: 1595-1612. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-9462-0>.
738

739 Streit, B., Nagel, A. 1993. Element assessment in tissue samples from European bats
740 (Microchiroptera). *Fresenius Environmental Bulletin*. 2: 162-167.
741

742 Thies, M., Gregory, D. 1994. Residues of lead, cadmium, and arsenic in livers of Mexican free-
743 tailed bats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 52: 641-648.
744 <https://doi.org/10.1007/BF00195481>.
745

746 Walker, L.A., Simpson, V.R., Rockett, L., Wienburg, C.L., Shore, R.F. 2007. Heavy metal
747 contamination in bats in Britain. *Environmental Pollution*. 148: 483-490.
748 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.12.006>.
749

750 Wilkins, K.T. 1989. *Tadarida brasiliensis*. *Mammalian Species*. 331: 1-10.
751 <https://doi.org/10.2307/3504148>.
752

753 Williams, M., Ramos, D., Butrón, A., Gonzales-Zúñiga, S., Ortiz, N., La Torre, B. 2010.
754 Concentraciones de metales pesados en murciélagos del lodge “Cock of the Rocks” y
755 alrededores, Kosñipata, Cuzco, Perú. *Ecología Aplicada*. 9(2): 133-139.
756 http://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/Articulo_14_Vol_9_No_2.htm, (Accessed May 17, 2019).
757

758 Yang, J., Kunito, T., Tanabe, S., Amano, M., Miyazaki N. 2002. Trace elements in skin of Dall’s
759 porpoises (*Phocoenoides dalli*) from the northern waters of Japan: an evaluation for utilization as
760 non-lethal tracers. *Marine Pollution Bulletin*. 45: 230-236. [https://doi.org/10.1016/S0025-
761 326X\(01\)00328-9](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00328-9).
762

763 Zambrano, A., Medina, C., Rojas, A., López, D., Chang, L., Sosa, G. 2009. Distribution and
764 sources of bioaccumulative air pollutants at Mezquital Valley, Mexico, as reflected by the
765 atmospheric plant *Tillandsia recurvata* L. *Atmospheric Chemistry and Physics*. 9: 6479-6494.
766 <https://doi.org/10.5194/acp-9-6479-2009>.
767

768 Zocche, J.J., Leffa, D.D., Damiani, A.P., Carvalho, F., Mendonça, R.A., dos Santos, C.E.I.,
769 Bouffleur, L.A., Dias, J.F., Andrade, V.M. 2010. Heavy metals and DNA damage in blood cells of
770 insectivore bats in coal mining areas of Catinense coal basin, Brazil. *Environmental Research*.
771 110: 684-691. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.06.003>.
772
773 Zokal, J., Pikula, J., Bandouchova, H. 2015. Bats as bioindicators of heavy metal pollution:
774 history and prospect. *Mammalian Biology*. 80: 220-227.
775 <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.01.001>.

776
777
778

Tables

Table 1. Metal concentrations ($\mu\text{g/g dw}$) in livers of insectivorous bats reported in our study and similar studies.

Metal	This study Mexico, n = 70 (median, interval)	Allison et al. (2006) Australia, n = 20 (mean)	Naidoo et al. (2013) South Africa, n = 26 (interval)	Hernout et al. (2016) United Kingdom, n = 191 (median, interval)
V	0.124 (0.025 - 0.731)	0.0155**		
Cr	0.038 (0.006 - 0.382)	0.33	≤ 0.007	
Co	0.146 (0.065 - 0.473)	0.0805		
Mn	16.13 (7.73 - 37.63)	25.2		
Ni	0.378 (0.126 - 2.446)*		≤ 0.015	
Fe	967.2 (398.8 - 1923.4)		706 - 2118.8	
Cu	19.24 (10.78 - 41.54)	29.2	8.054 - 25.39	10.7 (0.033 - 30)***
Zn	72.76 (41.64 - 168.5)	152	191.1 - 376.2	18.8 (0.8 - 274)***
Pb	0.164 (0.022 - 2.004)*	0.18	< 0.042	0.33 (0.0024 - 10)***
Cd	0.375 (0.08 - 1.631)	0.45	≤ 2.867	0.03 (0.0015 - 2.5)***
Analytical method	ICP-MS	ICP-MS	ICP-OES	ICP-MS
Reference material	DOLT-4 (dogfish liver)	DORM-2 (dogfish muscle)	SRM1566b (dried oyster tissue)	BCR-185R (bovine liver)
Recovery rate	64 - 123%	85 - 134%	67 - 150%	85 - 100%

* Interval without concentrations highly elevated ($\mu\text{g/g}$): Ni (9.28); Pb (4.07, 8.22, 13.5).

** Concentration not certified.

*** Interval that contains most of the samples. Maximum concentrations ($\mu\text{g/g}$): Cu (71); Zn (5205); Cd (13); Pb (5040).

779
780
781
782

Table 2. Spearman rank correlations between metal concentrations in livers of *Tadarida brasiliensis* (n = 70). *Rho* values are in the left and *P*-values are in the right. *Rho* ≥ 0.4 are in bold. Significant *P*-values are in italic (*P* < 0.05).

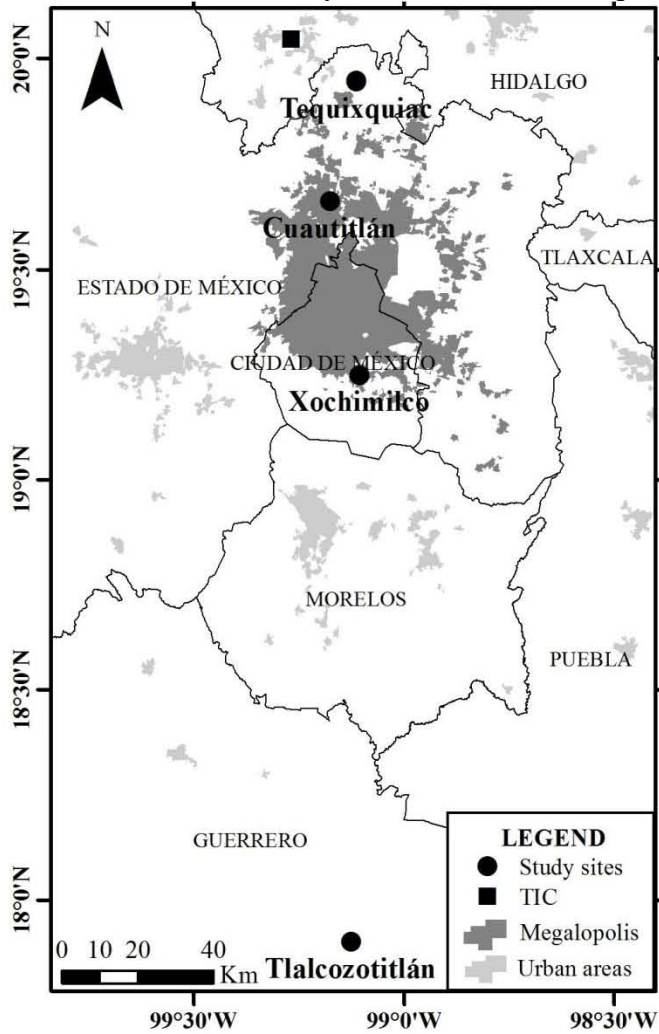
Metal	V	Cr	Co	Mn	Ni	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
V	-	0.053	<i>< 0.001</i>	0.051	0.13	<i>0.005</i>	0.47	<i>0.019</i>	<i>0.017</i>	0.064
Cr	0.23	-	<i>< 0.001</i>	<i>0.013</i>	<i>0.033</i>	0.25	0.87	0.091	<i>0.031</i>	0.17
Co	0.61	0.55	-	<i>0.03</i>	<i>0.021</i>	<i>0.009</i>	0.37	0.09	<i>< 0.001</i>	0.14
Mn	0.24	0.30	0.26	-	<i>0.014</i>	<i>0.004</i>	<i>< 0.001</i>	<i>< 0.001</i>	<i>< 0.001</i>	0.17
Ni	0.18	0.26	0.28	0.290	-	0.16	<i>0.024</i>	<i>0.002</i>	<i>0.019</i>	<i>0.037</i>
Fe	0.33	0.14	0.31	0.34	0.17	-	<i>0.012</i>	<i>0.011</i>	0.13	0.68
Cu	0.09	-0.02	-0.11	0.46	0.27	0.30	-	<i>< 0.001</i>	<i>0.006</i>	<i>0.004</i>
Zn	0.28	0.21	0.20	0.45	0.36	0.30	0.76	-	<i>< 0.001</i>	<i>< 0.001</i>
Pb	0.29	0.26	0.40	0.39	0.28	0.18	0.32	0.57	-	<i>< 0.001</i>
Cd	0.22	0.17	0.18	0.16	0.25	-0.05	0.34	0.46	0.43	-

783

784

Figures

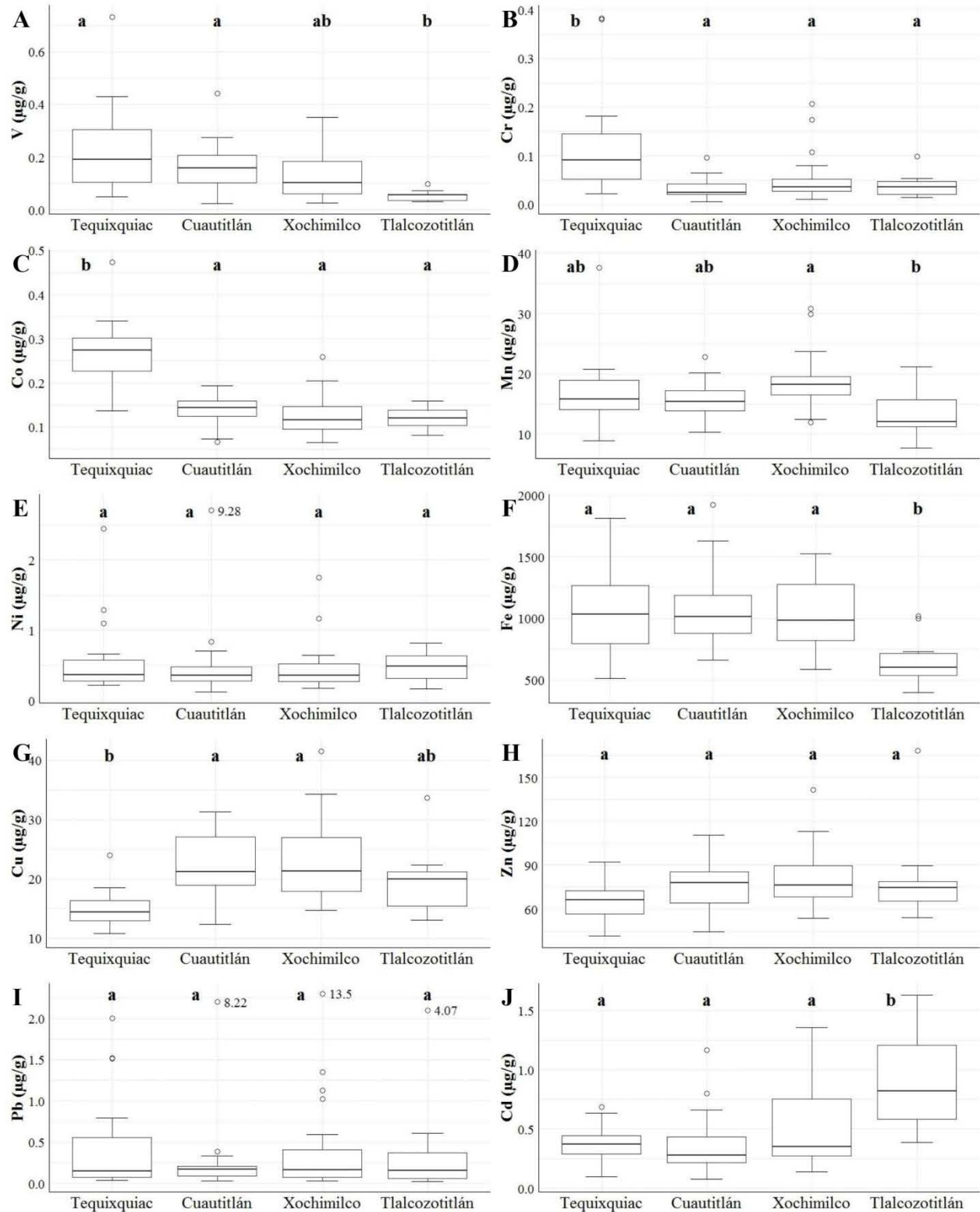
785 **Figure 1.** Location of the study sites in Central Mexico. The Tula Industrial Complex (TIC) is
786 located north of our study sites, inside the Mezquital Valley in the State of Hidalgo.



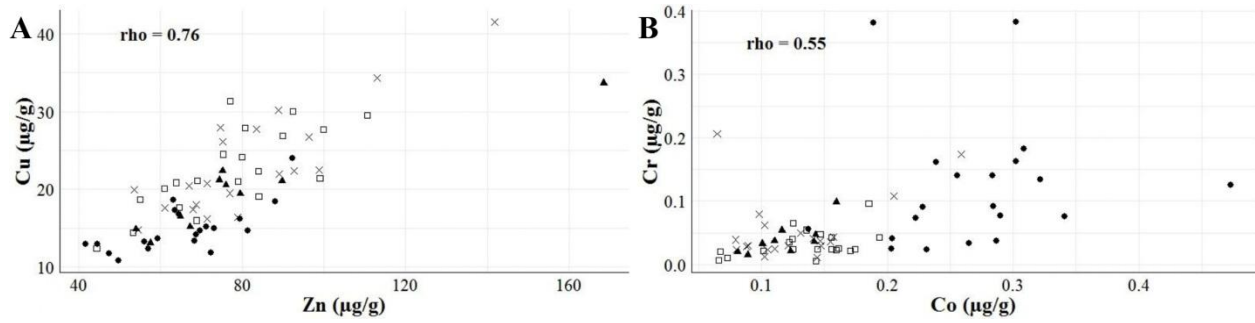
787

788

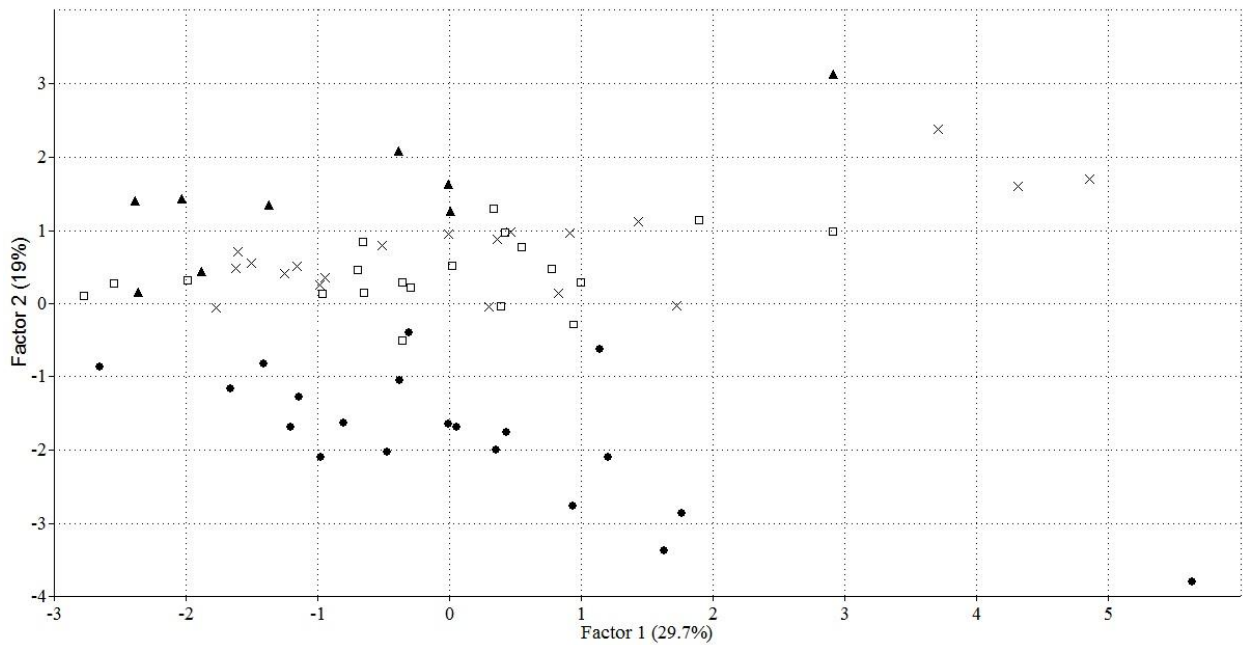
789 **Figure 2.** Metal concentrations ($\mu\text{g/g}$) in livers of *Tadarida brasiliensis* from our four study sites
 790 in Central Mexico. Study sites are ordered according to their locations, from north (left) to south
 791 (right). Different letters indicate significant differences among sites ($P < 0.025$; Dunn test
 792 considering a Bonferroni adjustment of $\alpha/2$). Sample size for Tequixquiac, Cuautitlán and
 793 Xochimilco were $n = 0$, and for Tlalcozotitlán was $n = 10$. One record of Ni and three of Pb are
 794 off-scale.



796 **Figure 3.** Relationship between metal concentrations ($\mu\text{g/g}$) in livers of *Tadarida brasiliensis* (n
797 = 70) from Tequixquiac (●), Cuautitlán (□), Xochimilco (X) and Tlalcozotitlán (▲).



798
799
800 **Figure 4.** Scatterplot for factor analysis scores of livers of *Tadarida brasiliensis* (n = 69) from
801 Tequixquiac (●), Cuautitlán (□), Xochimilco (X) and Tlalcozotitlán (▲).



802

803 **Supplementary materials**
 804 **Supplemental 1.** Quality of the analytical procedure. Sample size for DOLT-4 reference material
 805 was n = 5.

Metals	DOLT-4 Reference concentration (mg/Kg)	DOLT-4 Experimental concentration (mg/Kg)	Detection limit (µg/Kg)	Recovery rate (%)	Coefficient of variation (%)
V	0.6 *	0.57	0.10	94.9	13.3
Cr	1.4 *	1.14	0.04	81.1	7.7
Co	0.25 *	0.22	0.02	89.5	3.8
Mn	-	9.16 **	0.25	-	5.6
Ni	0.97	1.20	0.50	123.5	7.6
Fe	1833	1164.7	9.06	63.5	12.4
Cu	31.2	31.9	0.09	102.3	6.2
Zn	116	82.5	0.32	71.2	7.4
Pb	0.16	0.14	0.01	84.5	17.6
Cd	24.3	24.0	0.07	98.7	6.0

* Reference concentration recommended.

** Concentration not certified.

806 **Supplemental 2.** Correlation matrix of factor analysis to the metal concentrations in liver of
 807 *Tadarida brasiliensis* (n = 69). The highest loadings of metals by factor are in bold.
 808

Metal	Factor 1	Factor 2	Factor 3
V	0.58	-0.54	0.16
Cr	0.29	-0.52	0.15
Co	0.51	-0.75	0.13
Mn	0.73	-0.06	-0.10
Ni	0.31	0.07	-0.41
Fe	0.57	-0.18	-0.42
Cu	0.68	0.57	-0.28
Zn	0.76	0.43	-0.05
Pb	0.36	0.25	0.62
Cd	0.42	0.41	0.58
Eigenvalue	2.97	1.90	1.23
Variance proportion	29.7%	19.0%	12.3%
Variance cumulative	29.7%	48.7%	61.0%

809

DISCUSIÓN

Concentraciones de metales en hígados de *Tadarida brasiliensis* del centro de México

Dependiendo de la cantidad en la que un metal esencial es requerido fisiológicamente por los mamíferos, éste es considerado como macro o micro mineral. Aunque no hay una clara separación entre minerales (Nordberg et al., 2015; Soetan et al., 2010), la jerarquía de las concentraciones de metales presentada aquí podría proveer una idea sobre el grado de importancia de los metales en los procesos fisiológicos ocurridos en hígados de los murciélagos insectívoros. Esta jerarquía está de acuerdo con aquellas previamente reportadas por estudios similares (Allinson et al., 2006; Hernout et al., 2016; Naidoo et al., 2013). Así, entre los metales esenciales, Fe puede ser considerado como el mineral con mayor requerimiento fisiológico, seguido por Zn y luego por Cu y Mn. Finalmente, Ni, V, Co y Cr serían requeridos en menores cantidades. A diferencia de los metales anteriores, Cd y Pb son considerados como metales no esenciales debido que no participan en procesos fisiológicos en los mamíferos (Nordberg et al., 2015; Soetan et al., 2010). Esto puede explicar sus menores concentraciones en las muestras de hígados analizadas.

Se registraron concentraciones muy elevadas de Ni y Pb en algunos individuos (Tabla1). Se han reportado casos aislados de niveles excesivos de algún metal en órganos internos de murciélagos silvestres (Hariono et al., 1993; Williams et al., 2010) y cautivos (Hoenerhoff & Williams, 2004). Tales concentraciones excesivas han sido atribuidas a características individuales, donde el murciélago pudo haber estado expuesto a condiciones extremas de

contaminación por metales, o presentó problemas en el metabolismo y en la excreción de los metales. Considerando que en las zonas de estudio se desarrollan variadas actividades humanas, no se puede descartar que los altos valores de concentraciones de metales aquí reportados fueran contribuyentes a la toxicidad. Sin embargo, de acuerdo con Thies & Gregory (1994), el que los murciélagos fueran capturados durante sus periodos de actividad podría sugerir que éstos tienen un comportamiento de forrajeo normal, así reflejando que se encontrarían saludables. Los murciélagos pueden variar en su resistencia ante la toxicidad de metales, ocurriendo un proceso de selección en la cual algunos murciélagos mueren y otros no, bajo las mismas concentraciones de metales. En contraste, concentraciones muy bajas de metales esenciales podrían representar niveles de deficiencia. Sin embargo, este tema ha sido pobremente explorado en murciélagos y requiere mayor atención.

La implementación de diferentes técnicas y procedimientos analíticos en la identificación y cuantificación de metales en órganos de murciélagos hace difícil la realización de comparaciones entre distintos estudios (Clarck & Shore, 2001; Zukal et al., 2015). Por lo tanto, para conducir apropiadas comparaciones, se consideraron estudios publicados que emplearon una técnica analítica ICP y algún material de referencia estándar, de similar manera a los usados en el presente estudio. Las concentraciones registradas aquí fueron comparadas con las concentraciones hepáticas ($\mu\text{g/g dw}$) de murciélagos insectívoros reportadas por Allinson et al. (2006), Naidoo et al. (2013) y Hernout et al. (2016) (Tabla 1). Estos estudios mostraron proporciones de recuperación similares a las reportadas aquí, a pesar de las diferencias en la manera en que se digirieron los hígados. En general, se encontraron que las concentraciones de Cr, Mn, Fe, Cu, Zn y Cd en los hígados de *Tadarida brasiliensis* aquí analizados fueron consistentes con las concentraciones hepáticas reportadas por estudios previos. En contraste, las

concentraciones de V, Co y Ni estuvieron por encima de los niveles reportados por la literatura. Es importante considerar que aquí sólo se evaluaron individuos machos adultos de una especie de la familia Molossidae, mientras que los otros estudios analizaron murciélagos de la familia Vespertilionidae, de diferentes edades y sexos. Entonces, estas diferencias en las concentraciones internas podrían estar relacionadas a las inherentes características fisiológicas de las distintas familias, a sus hábitos alimenticios, y al grado de exposición asociado a los lugares y fechas de colecta (Walker et al., 2007; Zocche et al., 2010).

Variaciones de las concentraciones de metales entre zonas

Las mayores concentraciones y variaciones de V registradas en los murciélagos de Tequixquiac (Figura 2A) podrían estar asociadas al consumo de insectos contaminados por las emisiones del Complejo Industrial de Tula (CIT), localizado a 20 km al noroeste de Tequixquiac. Se ha identificado que el V es un residuo de la combustión de combustibles fósiles generados por el CIT, y que este metal es transportado hacia el sur por acción de los vientos predominantes (Zambrano et al., 2009), incluso impactando en áreas dentro de la Megalópolis ubicadas a 80 km al sur (Querol et al., 2008). Las concentraciones intermedias de V en los murciélagos urbanos podrían estar asociadas a una menor influencia de las emisiones del CIT, así como a la quema de combustibles fósiles y al polvo liberado a partir de las rocas ígneas a nivel local (Guzmán-Morales et al., 2011; Morton-Bermea et al., 2009, 2018), sobre el contenido de V en los insectos de la Megalópolis. Las menores concentraciones y variaciones de V en los murciélagos de Tlalcozotitlán, los cuales fueron colectados a más de 200 y 145 km al sur del CIT y de la Megalópolis respectivamente, indicarían que estos murciélagos no estuvieron expuestos a importantes fuentes de V.

Los murciélagos de Tequixquiac tuvieron altas concentraciones así como mayores variaciones de Cr y Co (Figura 2B, 2C), lo cual sugiere la influencia de fuentes locales. Se desconoce la presencia de fuentes importantes de Cr y Co en Tequixquiac y sus alrededores. El 42% del territorio del municipio de Tequixquiac corresponde a áreas agrícolas (INEGI, 2010), las cuales son irrigadas principalmente con aguas residuales que pueden estar enriquecidas con metales liberados por residuos industriales y domésticos provenientes de la Megalópolis. Sin embargo, la biodisponibilidad de los metales hacia los cultivos es muy baja debido que estos son inmovilizados en grandes cantidades por la fracción mineral y la materia orgánica de los suelos agrícolas (Flores et al., 1997; Lucho-Constantino et al., 2005). De esta manera, sería poco probable que los murciélagos de Tequixquiac hayan presentado una importante bioacumulación de ambos metales a partir de una alimentación sobre insectos fitófagos. Además, los murciélagos insectívoros pueden ingerir los metales a partir de las aguas residuales cuando ellos la beben o cuando se alimentan sobre insectos que emergen del agua (Naidoo et al., 2013; O'Shea et al., 2001). Dado que este tipo de insectos son reportados en bajas cantidades en las dietas de *Tadarida brasiliensis* (Lee & McCracken, 2005; López, 2009), sumado al hecho que esta especie de murciélago necesita consumir agua de manera directa para mantener su balance hídrico (Wilkins, 1989), es que sería más probable que la ingesta de Cr y Co haya ocurrido a partir del consumo de las aguas residuales.

Los murciélagos de Xochimilco parecieron tener mayores concentraciones de Mn que los demás murciélagos (Figura 2D), lo cual podría estar relacionado a una exposición local hacia el Lago de Xochimilco (localizado a 3 km del refugio de dichos murciélagos). Aldana et al. (2018) encontraron que Mn fue el metal más abundante en forma de ión libre en las aguas del Lago de Xochimilco, y que este metal fue el más bioacumulado en las agallas de los peces locales. Así, de

acuerdo a su requerimiento hídrico (Wilkins, 1989), estos murciélagos pudieron haber consumido agua enriquecida con Mn.

Aunque la presencia de Ni en la Megalópolis y el Valle del Mezquital ha sido ligada a una variedad de fuentes (Morton-Bermea et al., 2018; Querol et al., 2008; Zambrano et al., 2009), las similares concentraciones de Ni entre los murciélagos de las cuatro zonas (Figura 2E) pueden estar relacionadas con fuertes controles homeostáticos. A pesar que en el presente estudio no se registró una correlación consistente entre Ni y Zn (Tabla 2), las concentraciones de Ni en los hígados de los mamíferos pueden ser reguladas por la acción del Zn (Sidhu et al., 2004).

Las diferencias en los contenidos de Fe entre mamíferos silvestres y cautivos, así como entre ganado expuestos a distintos tipos de crianza, han sido atribuidas a la ingesta no intencional de polvo o suelo enriquecido con niveles variables de partículas de Fe (Clauss & Plagia, 2012). Según esto, es posible que las variaciones en las concentraciones de Fe aquí reportadas (Figure 2F) hayan estado asociadas a las diferencias en las cantidades de Fe liberadas a partir de la meteorización del material parental de las zonas de estudio. En la Megalópolis y el Valle del Mezquital se ha reconocido al material parental ígneo como la fuente más importante de Fe (Morton-Bermea et al., 2018; Querol et al., 2008; Zambrano et al., 2009). Las partículas de Fe pueden llegar a ser muy abundantes en el material particulado $PM_{2.5}$, llegando incluso a alcanzar el 67.7% de la masa total de $PM_{2.5}$, tal como fue reportado para la Megalópolis (Morton-Bermea et al., 2018). De esta manera, cantidades importantes de partículas de Fe pudieron haberse adherido a los insectos y al pelaje de los murciélagos de la Megalópolis y Tequixquiac, siendo ingeridas por estos murciélagos cuando se alimentaron de tales insectos o se acicalaron (Hariono et al., 1993; Rendón-Lugo et al., 2017). En contraste, las menores concentraciones de Fe en los

murciélagos de Tlalcozotitlán pueden estar relacionados a menores niveles de partículas de Fe generados por el material parental de origen sedimentario, el cual es dominante en el municipio de Copalillo y áreas alrededor (INEGI, 2010). De acuerdo a Lozano & Bernal (2005), las rocas ígneas en México presentan mayores cantidades de Fe que las rocas sedimentarias, con una proporción de Fe_2O_3 y FeO aproximada de 1100:1 y de 300:1 respectivamente.

A pesar de que el hígado de los mamíferos ejerce fuertes procesos homeostáticos sobre las concentraciones hepáticas de Cu y Zn (Milton & Johnson, 1999; Nordberg et al., 2015; Stamoulis et al., 2007), los murciélagos urbanos analizados parecieron mostrar mayores concentraciones y variaciones de Cu y Zn que aquellos murciélagos rurales (Figure 2G, 2H). La alta correlación reportada entre Cu y Zn (Figure 3A) enfatiza que ambos metales tuvieron el mismo patrón de acumulación, el cual puede estar asociado a una fuente en común. Las concentraciones internas de ambos metales están usualmente relacionadas a sus contenidos en la dieta (Nordberg et al., 2015). Los contenidos de Cu y Zn en la Megalópolis se han relacionado principalmente al tráfico vehicular (Guzmán-Morales et al., 2011; Querol et al., 2008; Rodríguez-Salazar et al., 2011), con más de 5.3 millones de automóviles (SEDEMA, 2016). Ambos metales pueden ser liberados en grandes cantidades a partir del desgaste de frenos y neumáticos (Apeageyi et al., 2011). Las partículas aéreas de Cu y Zn pueden adherirse en cantidades importantes sobre las hojas (García-Sánchez et al., 2019), incluso igualando sus contenidos internos en las hojas (Guzmán-Morales et al., 2011). De esta manera, aquellos insectos fitófagos que se alimentan de estas hojas podrían ingerir altos niveles de Cu y Zn, pasándolos luego a los murciélagos insectívoros de la Megalópolis.

Se han reportado similares concentraciones hepáticas de Pb entre mamíferos a través de gradientes de urbanización (Bilandžić et al., 2010; Dip et al., 2001), las cuales pueden estar relacionadas a la amplia distribución de Pb en el ambiente (López-Alonso et al., 2007). El Pb puede ser absorbido por los murciélagos a través de la cadena trófica y de la exposición atmosférica (Hariono et al., 1993). Aunque el uso de Pb como aditivo en la gasolina fue prohibido en México desde 1997, Morton-Bermea et al. (2011) y Rodríguez-Salazar et al. (2011) sugirieron que la contaminación de Pb en la Megalópolis por su uso durante décadas pasadas aún fue significativa 11 años después (2008). Walker et al. (2007) reportaron que la biodisponibilidad de Pb hacia los murciélagos de Bretaña no varió en un periodo de tiempo de al menos 15 años (1988 - 2003), a pesar de la marcada reducción en las emisiones de petróleo con Pb durante el mismo periodo de tiempo. Por lo tanto, se puede considerar que las similares concentraciones de Pb en los murciélagos aquí analizados (Figura 2I) fueron un reflejo de la contaminación histórica de Pb y de su consecuente distribución a lo largo de las zonas de estudio.

Variaciones en las concentraciones hepáticas de Cd en mamíferos puede estar más relacionadas a diferencias en los hábitos de forrajeo que a una exposición asociada al grado de urbanización (Bilandžić et al., 2010; Dip et al., 2001). Así, aunque las presas de los murciélagos urbanos y de Tequixquiac pudieron estar expuestas a Cd emitido por el tráfico vehicular y las actividades industriales de la Megalópolis (Morton-Bermea et al., 2018; Querol et al., 2008), las mayores concentraciones de Cd en los murciélagos de Tlalcozotitlán (Figura 2J) indicarían que sus presas estuvieron expuestas a fuentes más importantes de Cd. Los murciélagos *Tadarida brasiliensis* en zonas rurales se alimentan principalmente de insectos de las familias Lepidoptera y Coleoptera (Lee & McCracken, 2005; López, 2009), los cuales usualmente son plagas de cultivos y pueden actuar como rutas de contaminación a partir de las actividades agrícolas (Clark,

1988; Thies & Gregory, 1994). Debido a que algunos agroquímicos pueden tener altas cantidades de Cd (Oruc, 2010; Soetan et al., 2010), resultaría necesario explorar con más detalle los agroquímicos empleados en el municipio de Copalillo. Por otro lado, en la Cueva de Tlalcozotitlán se observó una mortalidad masiva de murciélagos durante setiembre del 2016 (Alberto Almazán com. per.). Clark (1988) documentó una mortalidad masiva en murciélagos insectívoros por acumulación de pesticidas a través de la cadena trófica. Aunque no se asoció un impacto adicional de Cd, este autor reportó altos niveles de Cd en las fecas de los murciélagos afectados. Si fue similar aquí, al menos en parte se podría asumir que los murciélagos de Tlalcozotitlán analizados fueron sobrevivientes con niveles sub letales de Cd, o que estos murciélagos aún estuvieron enfrentando una alta exposición hacia el Cd un año después.

Asociaciones entre las concentraciones de metales

Las interacciones entre metales durante su bioacumulación en órganos de mamíferos son complejas ya que más de dos metales pueden estar involucradas, así como diferentes biomoléculas y procesos fisiológicos (Jarzyńska & Falandysz, 2011; López-Alonso et al., 2004; Soetan et al., 2010). En contraste con los animales de laboratorio y ganado, los mamíferos silvestres enfrentan presiones selectivas que incrementan la probabilidad de mortalidad de aquellos individuos que son susceptibles al incremento ante la exposición a metales (Clark & Shore, 2001; Thies & Gregory, 1994).

Aunque un gran porcentaje de correlaciones significativas registradas en el presente estudio no fueron fuertes ($\rho < 0.4$), éstas fueron numerosas (Tabla 2), reflejando la posible importancia del hígado en el metabolismo de los metales (López-Alonso et al., 2004). Se registró

una alta y consistente correlación entre Cu y Zn (Figura 3A). Aunque no está claro si ambos metales están fisiológicamente asociados en órganos internos de mamíferos, puesto que un metal puede incrementar o inhibir la absorción del otro (Nordberg et al., 2015; Stamoulis et al., 2007), el presente hallazgo es consistente con observaciones previas en muestras de hígados y bazos de murciélagos de bosques tropicales montanos de Perú (Ramos-H. et al., datos no publicados). Según esto, se puede asumir que la asociación entre Cu y Zn en hígados de murciélagos representa una acumulación sinérgica, la cual puede estar asociada a requerimientos proporcionales o a la exposición a una fuente antropogénica en común. El Zn mostró correlaciones considerables ($\rho \geq 0.4$) con otros tres metales, lo cual puede ser reflejo de la importancia del Zn para la homeostasis de metales en el hígado de los mamíferos (Sidhu et al., 2004; Stamoulis et al., 2007). Así mismo, las correlaciones del Zn con Cu y Cd aquí registradas pueden estar relacionadas con la capacidad de estos metales para inducir la síntesis de metalotioneinas (López-Alonso et al., 2004; Streit & Nagel, 1993).

Pareciera que las concentraciones de Co tuvieron un efecto sobre las de Cr sólo después de que el primer metal alcanza un umbral (Figura 3B). No hay influencia de Co a bajas concentraciones, pero cuando Co está por encima de 0.2 $\mu\text{g/g}$ puede causar una gran variación en las concentraciones de Cr. Sin embargo, no se encontró información sobre esta interacción (Nordberg et al., 2015). El resto de correlaciones entre pares de metales mostraron relaciones poco claras, a pesar de sus altos o intermedios coeficientes de correlación. Curiosamente, no se encontraron importantes correlaciones negativas (Tabla 2), a pesar de que se han reportado interacciones negativas entre metales. Las interacciones negativas usualmente ocurren bajo condiciones extremas de exposición o de deficiencia (Nordberg et al., 2015; Sidhu et al., 2004; Soetan et al., 2010).

Patrones de acumulación de metales en murciélagos

El análisis factorial explicó un valor intermedio del total de la varianza (Suplemento 2), lo cual puede estar relacionado a la acción tanto de las diferentes fuentes de metales como a las interacciones entre metales. Los murciélagos proyectados en el gráfico de dispersión fueron separados en tres grupos (Figura 4). Los similares patrones de acumulación mostrados por los individuos de cada grupo serían un reflejo de una exposición similar a partir de las condiciones geográficas particulares donde estos murciélagos habitan, por lo que cada grupo puede ser considerado como representativo de una población (Sánchez-Chardi & López-Fuster, 2009; Yang et al., 2002).

Los murciélagos de Tlalcozotitlán fueron la población con distribución más homogénea en el eje del Factor 1 (Figura 4). A diferencia de los demás murciélagos, en general los de Tlalcozotitlán mostraron menores valores y/o menor variabilidad en las concentraciones de aquellos metales esenciales asociados al factor 1 (Figura 2, Suplemento 2). Dado que los metales esenciales son requeridos y mantenidos en niveles de homeostasis (Nordberg et al., 2015; Soetan et al., 2010), la baja variabilidad en las concentraciones hepáticas puede estar relacionada a una adecuada acumulación o a una escasa interferencia de metales antagónicos. Considerando que los murciélagos de Tlalcozotitlán fueron colectados en una zona rural lejos de grandes ciudades y áreas industriales, se puede asumir que esos murciélagos representaron una población control ante la exposición de metales (excepto para Cd).

Los murciélagos de Tequixquiac mostraron una separación completa en comparación del resto de murciélagos, hacia el eje del Factor 2 (Figura 4). Los murciélagos de Tequixquiac

tuvieron mayores concentraciones de V, Cr y Co, así como mayores variaciones de estos metales asociados al factor 2 (Figura 2, Suplemento 2). Este resultado puede reflejar condiciones de contaminación de V, Cr y Co a partir de fuentes puntuales (Nordberg et al., 2015; Zambrano et al., 2009), las cuales no estuvieron relacionadas a la Megalópolis. Al igual que los murciélagos de Tlalcozotitlán, los de Tequixquiac tuvieron bajas concentraciones de Cu y Zn (Figura 2), metales también asociados al factor 2 (Suplemento 2). Esto soporta el argumento que las diferencias en las concentraciones hepáticas de Cu y Zn en murciélagos están relacionadas al nivel del tráfico vehicular, el cual es más importante en la Megalópolis (Apeageyi et al., 2011; Rodríguez-Salazar et al., 2011).

A pesar que se ha identificado una mayor contribución de metales provenientes de actividades industriales en la parte norte de la Megalópolis (Guzmán-Morales et al., 2011; Rodríguez-Salazar et al., 2011), los murciélagos de Cuautitlán y Xochimilco no mostraron diferencias significativas en sus concentraciones de metales (Figura 2), mostrando similares patrones de acumulación (Figura 4). Este resultado sugiere que todos los murciélagos urbanos estuvieron expuestos a los metales en una manera similar a lo largo de la Megalópolis, y que pertenecieron a la misma población. La similar exposición puede estar asociada a la gran capacidad de vuelo de *Tadarida brasiliensis* (Ávila-Flores & Fenton, 2005; McCrachen et al., 2016; Wilkins et al., 1989), o a una distribución homogénea de metales a través de la Megalópolis (Morton-Bermea et al., 2018). Por otro lado, el Factor 3 reconoció ligeras diferencias en la variación de las concentraciones de Pb y Cd entre los murciélagos de Cuautitlán y Xochimilco (Suplemento 2). Como fue previamente mencionado, las mayores variaciones de las concentraciones de metales en los murciélagos de Xochimilco podrían estar asociadas a fuentes puntuales (Lago de Xochimilco) en la parte sur de la Megalópolis.

CONCLUSIONES

Todos los murciélagos urbanos estuvieron expuestos a los metales en una manera similar a través de la Megalópolis, y éstos mostraron mayores niveles de exposición sólo a dos metales asociados a fuentes antropogénicas que estuvieron relacionadas a esta ciudad. Los murciélagos rurales de cada zona estuvieron expuestos a diferentes metales, los cuales fueron asociados a fuentes antropogénicas no relacionadas con la Megalópolis. De esta manera, *Tadarida brasiliensis* mostró ser una especie sensitiva a la heterogeneidad ambiental de las fuentes de metales localizadas en el área de estudio, por lo que puede ayudar a detectar riesgos potenciales de contaminación por metales sobre la salud humana y de la fauna en ecosistemas dominados por el hombre. El presente estudio resalta la necesidad de mejorar las políticas públicas relacionadas a la calidad ambiental, orientadas a mejorar las regulaciones sobre el tráfico vehicular en la Megalópolis, las actividades industriales alrededor del municipio de Tequixquiac, y las actividades agrícolas en el municipio de Copalillo. Los anterior conduce a proponer que se requieran estudios adicionales para considerar a *Tadarida brasiliensis* como un biomonitor adecuado de exposición hacia metales. La evaluación de sus hábitos alimenticios y de las concentraciones de metales en sus principales presas, así como el análisis del contenido de partículas de metales acumuladas en su pelaje, serían de utilidad para confirmar las rutas de exposición. Así mismo, el extender el presente trabajo hacia áreas adicionales ayudaría a soportar las interpretaciones aquí presentadas, mientras que el análisis de otros contaminantes químicos podría mostrar nuevas fuentes de contaminación.

FIN