



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y
CONSERVACIÓN**

TESIS DOCTORAL

**INTERACCIONES ENTRE ABEJAS Y METALES PESADOS EN
UN GRADIENTE DE URBANIZACIÓN EN LA ZONA
METROPOLITANA DE PACHUCA, HIDALGO, MÉXICO.**

Para obtener el grado de
Doctora en Ciencias en Biodiversidad y Conservación

PRESENTA

M. en C. María Eyenith Hernández Medina

Director

Dr. Ignacio Esteban Castellanos Sturemark

Mineral de la Reforma, Hgo., México., agosto de 2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Área Académica de Biología

Department of Biology

Mineral de la Reforma, Hgo., a 28 de julio de 2025

Número de control: ICBI-AAB/616/2025

Asunto: Autorización de impresión.

MTRA. OJUKY DEL ROCIO ISLAS MALDONADO
DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

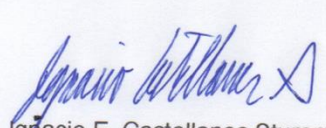
El Comité Tutorial de la tesis del programa educativo de posgrado titulado **“Interacciones entre abejas y metales pesados en un gradiente de urbanización en la zona metropolitana de Pachuca, Hidalgo, México”**, realizado por el sustentante **María Eyenith Hernández Medina** con número de cuenta **343231** perteneciente al programa de **DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIODIVERSIDAD Y CONSERVACIÓN**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

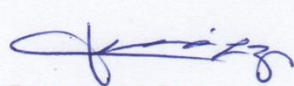
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

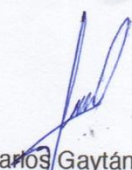
Atentamente
“Amor, Orden y Progreso”

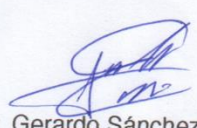
El Comité Tutorial


Dr. Ignacio E. Castellanos Sturemark
Vocal


Dra. Iriana L. Zuria Jordan
Secretario




Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzun
Presidente


Dr. Gerardo Sánchez Rojas
Suplente

“Amor, Orden y Progreso”



2025



Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México. C.P. 42184
Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40063, 40064 y 40065
aab_icbi@uaeh.edu.mx, maritzal@uaeh.edu.mx

uaeh.edu.mx

Dedicatoria

*En la vastedad del espacio y en la inmensidad del tiempo
mi alegría es compartir un planeta y una época contigo.*

Carl Sagan

A **Isabelita**. Llegaste para cambiar la manera en que entendía el amor. Desde que existes, el mundo tiene otra medida, otro ritmo y otra luz. Eres el recordatorio cotidiano de que siempre hay un motivo para seguir aprendiendo, creciendo y soñando.

A **Joel**. Gracias por compartir conmigo el camino. Por las aventuras, por las conversaciones interminables, por sostenerme cuando las fuerzas parecían no alcanzar y por recordarme, incluso sin palabras, que siempre vale la pena intentar una vez más. Gracias por inspirarme a ser mejor cada día.

A mis padres, **Libia Medina Abrego y Eliseo Hernández Escudero**. Gracias por creer en mí mucho antes de que yo aprendiera a creer en mí misma. Cada logro que hoy celebro tiene sus raíces en el amor, el esfuerzo y los valores con los que me formaron. Gracias por impulsarme siempre a mirar un poco más lejos.

A mis hermanos: **Mariel, Jordán, Cami y Arthur**. Gracias por ser refugio. Por sostener mi mano cuando el camino se volvió incierto y por celebrar conmigo cada pequeña victoria. La vida ha sido más amable porque la he recorrido con ustedes.

A **Mariana**, por las aventuras, las risas y todos los caminos compartidos. Gracias por estar, por sostenerme y por hacerme sentir que, pase lo que pase, siempre hay un lugar al que puedo volver.

A mis Nerds: **Ana, Martha, Kary, Janice, Elsi, Clau y Maryev**. Gracias por demostrarme que la ciencia también puede construirse desde la amistad. Gracias por las conversaciones que despertaron nuevas preguntas, por el apoyo incondicional, por las risas que hicieron más ligeros los días y, sobre todo, por permanecer.

A **Iri, Clau, Janice, Alice y Dai**. Gracias por creer que los sueños colectivos también pueden cambiar el mundo.

Agradecimientos

Al **Dr. Ignacio Castellanos Sturemark**. Gracias por acompañarme durante una de las etapas más importantes de mi formación académica. Haber tenido la oportunidad de realizar, bajo su dirección, dos tesis ha sido un privilegio que atesoraré siempre. Gracias por su confianza, por su paciencia y por enseñarme que el rigor científico nunca está peleado con la generosidad. Su guía dejó una huella que trasciende estas páginas y permanecerá en la forma en la que entiendo y hago ciencia. Mi gratitud hacia usted es inmensa.

A la **Dra. Iriana Zuria**. Gracias por abrirme las puertas de su conocimiento y de su confianza. En usted encontré no solo a una científica admirable, sino también a una mujer profundamente humana, cuya bondad y compromiso inspiran a quienes tenemos la fortuna de conocerla. Gracias por enseñarme que el conocimiento adquiere un valor distinto cuando se comparte con generosidad y por recordarme que la ciencia también puede hacerse con empatía, sensibilidad y esperanza.

Al **Dr. Gerardo Sánchez Rojas**. Gracias por su disposición para acompañarme durante este proceso y por la precisión de cada una de sus observaciones. Su orientación en el análisis estadístico fortaleció este trabajo y, al mismo tiempo, enriqueció mi formación como investigadora. Agradezco profundamente el tiempo y el conocimiento que compartió conmigo.

Al **Dr. Juan Carlos Gaytán Oyarzún**. Gracias por su valiosa colaboración en el área de toxicología y por la disposición con la que compartió su experiencia. Sus aportaciones fueron fundamentales para el desarrollo de esta investigación y contribuyeron de manera significativa a la solidez de este trabajo.

A todas las personas que, de una u otra forma, estuvieron presentes durante este camino. Gracias por cada palabra de aliento, por cada conversación, por la paciencia, la confianza y el cariño. Este logro también lleva un poco de ustedes.

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada (CVU 707003) para la realización de mis estudios de Doctorado en Ciencias en Biodiversidad y Conservación en el Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	3
ANTECEDENTES	4
Urbanización y sus repercusiones en las poblaciones de abejas	4
Abejas como bioindicadores de contaminación ambiental.....	5
Efecto de la contaminación por metales sobre las abejas	6
Literatura citada	7
OBJETIVOS	12
HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN	12
Hipótesis general	12
Hipótesis específicas:	12
Justificación	12
CAPÍTULO I Metal concentration in honeybees along an urbanization gradient in Central Mexico.....	14
Abstract.....	16
Introduction.....	17
Methods	19
Study area.....	19
Site selection and measurement of land use cover	21
Bee sampling	21
Sample processing	23
Metal concentrations in honeybees from urban areas around the world	23
Statistical analyses	24
Results	25
Metal concentrations and urbanization	25
Metal concentration in honeybees from urban areas around the world	26
Discussion	33
Metal concentrations and urbanization	33
Comparison between metal concentrations in bees from the metropolitan area of Pachuca and other urban areas	35
Conclusions.....	37

CRedit authorship contribution statement	38
Declaration of competing interest	38
Acknowledgments	38
References.....	38
Appendices.....	56
CAPÍTULO II Áreas urbanas como fuentes de metales y metaloides tóxicos: Un meta-análisis global de su impacto en las abejas	58
Resumen	58
Resumen gráfico.....	59
Introducción	59
Métodos	62
Protocolo de búsqueda y recolección de datos	62
Extracción de la información	63
Estimación del tamaño de efecto	64
Análisis estadísticos	65
Resultados.....	71
Literatura citada	78
Apéndices.....	92
DISCUSIÓN GENERAL	102
CONCLUSIONES GENERALES.....	103
Literatura citada	103

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO I

Table 1 Principal component analysis for the landscape coverage variables measured in the metropolitan area of Pachuca. PC1: principal component 1; PC2: principal component 2. Significant correlations * $p < 0.05$	25
Table 2 Metal concentrations in the bodies of adult honeybees (mg/kg dry matter) from urban and rural areas in the current and previous studies developed worldwide. Data from the current study are in italics. NR = not reported in studies comparing metal concentrations in honeybees collected from sites with different urbanization levels. <DL = lower than detection limits. * = only one site was sampled.	27

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figure 1 Metropolitan area of Pachuca in the state of Hidalgo, Mexico. Map created using ArcGis (ver. 10.2, ESRI) and maps from the Municipal Geostatistical Framework by INEGI (2019).	20
Figure 2 Honeybee sampling sites in the metropolitan area of Pachuca, Hidalgo, Mexico. The percentage cover of impervious surfaces at each site is shown at the bottom, categorized into urban (red), suburban (orange), rural (yellow), and natural (green) sites. Image created using Google Earth Pro (Image ©2024 Airbus) and ArcGIS (ver. 10.2, ESRI).....	22
Figure 3 Linear regressions between the first principal component (PC1) and metal concentration in honeybees (mg/kg). a) silver, b) chromium, c) copper, and d) zinc.	26

CAPÍTULO II

Figura 1 Diagrama de flujo de PRISMA 2020 (BMJ, 2021), correspondiente a la 1ª búsqueda (fecha de consulta: 02 de mayo de 2021) palabras clave: ((bee* OR honeybee* OR Apis or *bee) AND (metals OR heavy metals OR trace metals OR trace elements OR elements OR metalloids OR heavy metals) AND (*urban* OR rural)).	69
Figura 2 Diagrama de flujo de PRISMA 2020 (BMJ, 2021), correspondiente a la 2ª búsqueda (fecha de consulta: 28 de abril de 2022) ((honeybee* OR Apis OR Apoidea OR Bombus OR Osmia OR Megachile OR Nomia OR Stingless or pollinator* or pollinat*) AND (metals OR heavy metals OR trace metals OR trace elements OR elements OR metalloids OR heavy metals) AND (urban* OR rural))......	70
Figura 3 Forest plot que representa los tamaños del efecto (r) derivados de regresiones meta-analíticas para cada metal en función del nivel de urbanización.....	73

ÍNDICE DE APENDICES

CAPÍTULO I

Appendix 1 Land use cover percentages measured in the metropolitan area of Pachuca...	56
---	----

Appendix 2 Concentrations of analyzed elements detected in the bodies of adult honeybees (mg/kg) from the metropolitan area of Pachuca and detection limits (DL)	56
--	----

CAPÍTULO II

Apéndice 1 R Script usado para el meta-análisis.....	92
Apéndice 2 Lista de referencias de los artículos incluidos en el meta-análisis.....	94
Apéndice 3 Fuentes antropogénicas de contaminación asociadas a metales y metaloides..	96
Apéndice 4 Funnel Plot para evaluar el sesgo de publicación	101

RESUMEN

La urbanización modifica los hábitats y expone a los organismos a niveles de contaminantes ambientales sin precedentes. Entre ellos, los metales son especialmente relevantes por su persistencia y efectos potencialmente perjudiciales para distintos grupos de vertebrados e invertebrados. Uno de los grupos biológicos que comúnmente están presentes en las ciudades son las abejas, los polinizadores de mayor importancia en ambientes modificados por el hombre. Debido a que las abejas se encuentran expuestas a los metales presentes en las ciudades durante sus actividades de forrajeo, es crucial estudiar su grado de exposición a estos contaminantes en relación con la urbanización. En este sentido, se desarrollaron dos enfoques complementarios para explorar el vínculo entre urbanización y contaminación por metales en abejas de la especie *Apis mellifera*. En el primer estudio realizado en la zona metropolitana de Pachuca, Hidalgo —parte de la megalópolis de la Ciudad de México— se utilizó un enfoque de gradiente urbano-rural para analizar la concentración de once metales en abejas adultas recolectadas en doce paisajes con distinto grado de urbanización. Las concentraciones de metales se compararon con valores previamente reportados para abejas en contextos urbanos y rurales, estandarizando los niveles de urbanización entre los estudios. Los resultados obtenidos indican que la concentración de ciertos metales en las abejas está asociado con el grado de urbanización, y subrayan la necesidad de monitorear las fuentes de emisión de metales y sus efectos en polinizadores en esta región y otras similares. De forma complementaria, se realizó un meta-análisis para evaluar de manera global el impacto de la urbanización en la contaminación por metales en *A. mellifera*. Se analizaron 606 tamaños de efecto extraídos de 20 estudios publicados entre 2010 y 2022, representando datos de cinco continentes, once países y múltiples niveles de urbanización. Los resultados sugieren que la urbanización incrementa de forma consistente la exposición de las abejas a diversos metales, posiblemente como reflejo indirecto de la contaminación ambiental general (suelo, aire, agua y plantas) en áreas urbanas. Ambos estudios —uno local y otro global— coinciden en que la urbanización tiene un impacto significativo sobre la concentración de metales en abejas, aunque las tendencias pueden variar según el metal específico y el contexto geográfico. Estos hallazgos refuerzan la importancia de utilizar a las abejas como bioindicadores de contaminación urbana y la necesidad urgente de implementar estrategias de monitoreo y

mitigación de contaminantes en las ciudades, especialmente en regiones altamente urbanizadas y biodiversas como América Latina.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los polinizadores y los ambientes en los que viven se encuentran experimentando un creciente impacto humano que conduce a cambios negativos, principalmente en la riqueza y abundancia de especies (LeBuhn y Luna, 2021), un aspecto particularmente preocupante, debido a que estos son un componente esencial de la biodiversidad global, ya que proveen servicios ecosistémicos vitales como la preservación de plantas silvestres y cultivadas, el mantenimiento de la salud y función de los ecosistemas y la seguridad alimentaria (Klein et al., 2007; Potts et al., 2010, 2016). Dentro de los polinizadores, las abejas son uno de los grupos más importantes a nivel global, y son considerados los principales polinizadores de la mayor parte de las plantas con flor (Willmer et al., 2017).

La pérdida del hábitat y la fragmentación, la degradación del hábitat, la contaminación ambiental, una nutrición deficiente, enfermedades, el cambio climático, y las especies exóticas (Brown y Paxton, 2009; Goulson et al., 2015; Harrison y Winfree, 2015), entre otros estresores a los que las abejas se encuentran expuestas, han derivado en una disminución significativa de las poblaciones y la extinción de ciertas especies (Goulson et al., 2015; Potts et al., 2016). Ante este panorama, es prioritario conocer el efecto de estos factores sobre las poblaciones de abejas con un énfasis especial en aquellas que habitan entornos urbanos, ya que la urbanización es considerada una importante causa del declive de las poblaciones de abejas (Cardoso y Gonçalves, 2018) ya que, en estos espacios, las abejas tanto silvestres como manejadas se encuentran vulnerables ante diversos estresores ambientales.

Algunas especies de abejas, principalmente *Apis mellifera*, han sido utilizadas para detectar y monitorear algunos contaminantes químicos en el medio ambiente (Mair et al., 2023) como los pesticidas, y más recientemente para detectar la presencia y concentración de metales y metaloides de interés toxicológico. Debido a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de *A. mellifera* a metales y metaloides de interés toxicológico y su eficiencia como bioindicadores de estos contaminantes en diferentes niveles de urbanización en un área urbana del centro de México, así como en diversas ciudades a nivel mundial, para analizar la influencia de la urbanización sobre el contenido de metales en abejas.

ANTECEDENTES

Urbanización y sus repercusiones en las poblaciones de abejas

El estudio de los ecosistemas urbanos ha tomado gran interés debido, entre otras cosas, a que más de la mitad de la población humana habita en ellos y se piensa que en un futuro esta proporción será mayor (Vitousek, 1997). A nivel mundial, se espera que más de un millón de kilómetros cuadrados de superficie urbana se agreguen a la tierra entre 2000–2030 (Seto et al., 2012).

La urbanización es una causa cada vez mayor de diversos problemas ambientales (Benfield, 1999) y su impacto está documentado en la creciente literatura sobre el gradiente urbano-rural (McKinney, 2002). Se ha identificado que la urbanización puede estar afectando negativamente las interacciones entre plantas y polinizadores debido a la pérdida y fragmentación de hábitat, a la contaminación ambiental, a la introducción de especies exóticas y al calentamiento urbano (Harrison y Winfree, 2015).

Las especies de abejas manejadas y silvestres están amenazadas por múltiples factores, lo que ha resultado en una disminución significativa de la población y la extinción de ciertas especies (Cameron et al., 2011; Goulson et al., 2015; Potts et al., 2016). Debido a que las abejas son especies clave en los ecosistemas y fundamentales para el mantenimiento de las comunidades vegetales (Ashworth et al., 2009) y dado que son los principales polinizadores de la mayoría de las plantas con flores, se predice que la disminución de las abejas tendrá un impacto económico en la producción agrícola (Gallai et al., 2009; Potts et al., 2016) junto con la disminución de la diversidad de las plantas silvestres y la persistencia de la comunidad de las plantas (Fontaine et al., 2006).

Una de las principales causas del declive de las abejas es la pérdida de hábitat debido a la perturbación antropogénica (Brown y Paxton, 2009; Kennedy et al., 2013), y la urbanización es una forma de crecimiento rápido de dicha perturbación (Wilson y Jamieson, 2019). Otros factores incluyen el uso de pesticidas (Alston et al., 2007; Vighi et al., 2010), la propagación de patógenos (Colla et al., 2006) e introgresión genética (Kraus et al., 2011). Aunado a los factores anteriores las abejas silvestres pueden verse afectadas por el impacto de las especies invasoras no nativas (Moroń et al., 2009) y la competencia con poblaciones manejadas de *A. mellifera* (Walther-Hellwig et al., 2006) o *Bombus terrestris* (Kenta et al., 2007).

La respuesta de las abejas a tales perturbaciones puede diferir entre los grupos funcionales. Por ejemplo, la eliminación de los recursos florales debido a la urbanización puede afectar desproporcionadamente a las abejas que anidan en los tallos de las plantas al eliminar el alimento y los recursos de anidación. Debido a que las abejas varían en su comportamiento social, de anidación, y preferencias de alimentación, su respuesta a la urbanización probablemente depende de sus rasgos funcionales (Wilson y Jamieson, 2019).

Las abejas silvestres dependen de recursos florales y sitios para anidar, por lo tanto responden a la diversidad y la continuidad de recursos alimenticios, como el polen y néctar, que obtienen de la floración en diferentes épocas del año y de la disponibilidad de sitios adecuados de anidación para su reproducción, los cuales las hacen sensibles a las perturbaciones del hábitat y por lo tanto excelentes bioindicadores del deterioro de los ecosistemas (Winfrey et al., 2009; Roulston y Goodell, 2011; Ramírez et al., 2013).

Las abejas también son sensibles a cambios en la cantidad o composición del polen y néctar de los cuales se alimentan ya que su sobrevivencia, longevidad y susceptibilidad a enfermedades depende directamente de estos recursos (Maurizio y Hodges, 1950; Rinderer y Dell Elliott, 1977; Vandenberg, 1994). Por ello tienen especial importancia en la valoración de los ecosistemas y la calidad ambiental (Meléndez et al., 2014) y han sido utilizadas como bioindicadores para evaluar los efectos de la fragmentación del hábitat, la complejidad del paisaje, la intensidad de manejo agrícola, el cambio climático y la presencia de cultivos transgénicos, entre otros (Kevan, 1999; Meléndez et al., 2014).

Abejas como bioindicadores de contaminación ambiental

La abeja melífera (*A. mellifera*) es un insecto que depende directamente de las condiciones toxicológicas del medio ambiente natural (Celli y Maccagnani, 2003). Es un buen indicador biológico, ya que está ampliamente distribuido, se alimenta del polen y néctar de una gran número de plantas y es sensible a cambios ambientales (Badiou-Bénéteau et al., 2013).

Los individuos de una colonia se desplazan distancias relativamente grandes por lo que los individuos se exponen a numerosos estresores durante sus actividades de polinización (Badiou-Bénéteau et al., 2013). Los recolectores vuelan habitualmente alrededor de 1.5 km de su colmena, pero pueden realizar recorridos de hasta 10 km de la colmena de manera esporádica, dependiendo de la necesidad de alimento y su disponibilidad. Cada recolector puede completar de 12 a 15 viajes de alimentación al día (Perugini et al., 2011). Durante

estos vuelos de colecta obtienen muestras del ambiente, a través de la recolección de néctar, polen, resinas y agua. También recogen polvos de diversos orígenes en las sedas del cuerpo (Devillers, 2002).

De este modo, los metales presentes en la atmósfera pueden depositarse directamente sobre el cuerpo pubescente de las abejas o pueden alcanzar al insecto de manera indirecta a través del néctar, el polen y el rocío de miel de los cuales se alimentan, o a través del agua que ingieren durante la búsqueda de alimento (Fakhimzadeh y Lodenius, 2000; Perugini et al., 2011). Como resultado, cuando las abejas se alimentan, se produce una transferencia elemental, incluidos ciertos metales cuyos niveles elevados en el medio ambiente están directamente relacionados con actividades antropogénicas, por ejemplo, Pb, Zn, Cu, Cd y Mn (Solayman et al., 2016).

Por las características mencionadas anteriormente, *A. mellifera*, ha sido utilizada para monitorear la contaminación del medio ambiente (Celli y Maccagnani, 2003), así como para detectar la presencia de algunos contaminantes químicos en el medio ambiente como los pesticidas y más recientemente se ha utilizado también para detectar la presencia y concentración de metales (Porrini et al., 2002).

Efecto de la contaminación por metales sobre las abejas

Los metales son liberados en el medio ambiente por fuentes naturales y antrópicas, y se caracterizan por su toxicidad latente (Epstein y Bassein, 2001). En general, en bajas concentraciones los metales no causan mortalidad en abejas, pero pueden acumularse en su cuerpo y llegar a causar algún daño a corto y mediano plazo (Perugini et al., 2011).

Algunos metales son esenciales para los insectos, que deben adquirir metales necesarios como el cobre, hierro, manganeso y zinc de su entorno o sus hospederos para el crecimiento esencial y las funciones metabólicas (Mohr y Killilea, 2018). Algunos, como el sodio y el potasio, son actores centrales en la osmoregulación y la fisiología de transporte gastrointestinal, y han sido implicados en la adaptación al frío. El calcio es clave como elemento estructural. Otros metales, particularmente aquellos con múltiples estados redox, pueden ser cofactores en muchas metaloenzimas, pero pueden contribuir al estrés oxidativo tóxico en el organismo cuando se encuentran en exceso (Dow, 2017).

Los metales pueden acumularse en las abejas y otros insectos en concentraciones suficientemente altas como para causar efectos letales y subletales (Moroñ et al., 2014) tales

como la prolongación del estado larvario, disminución de la fertilidad y viabilidad, comportamientos anormales, afecciones en el sistema inmune y en la asimetría corporal (Al-Shami et al., 2011; Baghban et al., 2014; Desneux et al., 2007; Hladun et al., 2012; Nikolić et al., 2015).

Literatura citada

- Al-Shami, S. A., Che Salmah, M. R., Abu Hassan, A. y Siti Azizah, M. N. (2011). Fluctuating asymmetry of *Chironomus* spp.(Diptera: Chironomidae) larvae in association with water quality and metal pollution in Permatang Rawa River in the Juru River Basin, Penang, Malaysia. *Water, Air, & Soil Pollution*, 216(1), 203–216.
- Alston, D. G., Tepedino, V. J., Bradley, B. A., Toler, T. R., Griswold, T. L. y Messinger, S. M. (2007). Effects of the insecticide phosmet on solitary bee foraging and nesting in orchards of Capitol Reef National Park, Utah. *Environmental Entomology*, 36(4), 811–816.
- Ashworth, L., Quesada, M., Casas, A., Aguilar, R. y Oyama, K. (2009). Pollinator-dependent food production in Mexico. *Biological Conservation*, 142(5), 1050–1057.
- Badiou-Bénéteau, A., Benneveau, A., G  ret, F., Delatte, H., Becker, N., Brunet, J.-L., Reynaud, B. y Belzunces, L. P. (2013). Honeybee biomarkers as promising tools to monitor environmental quality. *Environment International*, 60, 31–41.
- Baghban, A., Sendi, J. J., Khosravi, R. y Zibae, A. (2014). Effect of heavy metals (Cd, Cu, and Zn) on feeding indices and energy reserves of the cotton boll worm *Helicoverpa armigera* H  bner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(4).
- Benfield, F. K. (1999). Once there were greenfields. *Forum for Applied Research and Public Policy*, 14(3), 6.
- Brown, M. J. F. y Paxton, R. J. (2009). The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie*, 40(3), 410–416.
- Cameron, S. A., Lozier, J. D., Strange, J. P., Koch, J. B., Cordes, N., Solter, L. F. y Griswold, T. L. (2011). Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(2), 662–667.
- Cardoso, M.C., Gonçalves, R.B. Reduction by half: the impact on bees of 34 years of urbanization. *Urban Ecosystems* 21, 943–949 (2018). <https://doi.org/10.1007/s11252-018-0773-7>
- Celli, G. y Maccagnani, B. (2003). Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 137–139.

- Colla, S. R., Otterstatter, M. C., Gegear, R. J. y Thomson, J. D. (2006). Plight of the bumble bee: pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biological Conservation*, 129(4), 461–467.
- Desneux, N., Decourtye, A. y Delpuech, J.-M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52(1), 81–106.
- Devillers, J. (2002). The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology. In *Honey Bees* (pp. 15–25). CRC Press.
- Dow, J. A. T. (2017). The essential roles of metal ions in insect homeostasis and physiology. *Current Opinion in Insect Science*, 23, 43–50.
- Epstein, L. y Bassein, S. (2001). Pesticide applications of copper on perennial crops in California, 1993 to 1998. *Journal of Environmental Quality*, 30(5), 1844–1847.
- Fakhimzadeh, K. y Lodenius, M. (2000). *Honey, pollen and bees as Indicator of heavy metal pollution*.
- Fontaine, C., Dajoz, I., Meriguet, J. y Loreau, M. (2006). Functional diversity of plant–pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *PLoS Biology*, 4(1), e1.
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J. y Vaissière, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3), 810–821.
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. y Rotheray, E. L. (2015). Combined stress from parasites, pesticides and lack of flowers drives bee declines. *Science*, 347(6229), 1255957.
- Harrison, T. y Winfree, R. (2015). Urban drivers of plant-pollinator interactions. *Functional Ecology*, 29(7), 879–888.
- Hladun, K. R., Smith, B. H., Mustard, J. A., Morton, R. R. y Trumble, J. T. (2012). Selenium toxicity to honey bee (*Apis mellifera* L.) pollinators: effects on behaviors and survival. *PloS One*, 7(4), e34137.
- Kennedy, C. M., Lonsdorf, E., Neel, M. C., Williams, N. M., Ricketts, T. H., Winfree, R., Bommarco, R., Brittain, C., Burley, A. L. y Cariveau, D. (2013). A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecology Letters*, 16(5), 584–599.

- Kenta, T., Inari, N., Nagamitsu, T., Goka, K. y Hiura, T. (2007). Commercialized European bumblebee can cause pollination disturbance: an experiment on seven native plant species in Japan. *Biological Conservation*, 134(3), 298–309.
- Kevan, P. G. (1999). Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. In *Invertebrate biodiversity as bioindicators of sustainable landscapes* (pp. 373–393). Elsevier.
- Klein, A.-M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C. y Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303–313.
- Kraus, F. B., Szentgyörgyi, H., Rozej, E., Rhode, M., Moroń, D., Woyciechowski, M. y Moritz, R. F. A. (2011). Greenhouse bumblebees (*Bombus terrestris*) spread their genes into the wild. *Conservation Genetics*, 12(1), 187–192.
- LeBuhn, G. y Luna, J. V. (2021). Pollinator decline: what do we know about the drivers of solitary bee declines? *Current Opinion in Insect Science*, 46, 106–111.
- Mair, K. S., Irrgeher, J., y Haluza, D. (2023). Elucidating the Role of Honey Bees as Biomonitoring in Environmental Health Research. *Insects*, 14(11), 874. <https://doi.org/10.3390/insects14110874>
- Maurizio, A. y Hodges, F. E. D. (1950). The influence of pollen feeding and brood rearing on the length of life and physiological condition of the honeybee preliminary report. *Bee World*, 31(2), 9–12.
- McKinney, M. L. (2002). Urbanization, Biodiversity, and Conservation The impacts of urbanization on native species are poorly studied, but educating a highly urbanized human population about these impacts can greatly improve species conservation in all ecosystems. *Bioscience*, 52(10), 883–890.
- Meléndez, R., Ayala, R. y Delfín, G. H. (2014). Abejas como bioindicadores de perturbaciones en los ecosistemas y el ambiente. *Bioindicadores: Guardianes de Nuestro Futuro. El Colegio de La Frontera Sur (ECOSUR), Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC)*, 347–369.
- Mohr, S. E. y Killilea, D. W. (2018). Metal Biology Takes Flight: The Study of Metal Homeostasis and Detoxification in Insects. In *Frontiers in Genetics* (Vol. 9, p. 221). Frontiers Media SA.

- Moroń, D., Lenda, M., Skórka, P., Szentgyörgyi, H., Settele, J. y Woyciechowski, M. (2009). Wild pollinator communities are negatively affected by invasion of alien goldenrods in grassland landscapes. *Biological Conservation*, 142(7), 1322–1332.
- Moroń, D., Szentgyörgyi, H. y Skórka, P. y Potts, S. G. y Woyciechowski, M. (2014). Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. *Insect Conservation and Diversity*, 7(2), 113–121.
- Nikolić, T., Purać, J., Orčić, S., Kojić, D., Vujanović, D., Stanimirović, Z., Gržetić, I., Ilijević, K., Šikoparija, B. y Blagojević, D. P. (2015). Environmental effects on superoxide dismutase and catalase activity and expression in honey bee. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 90(4), 181–194.
- Perugini, M., Manera, M., Grotta, L., Abete, M. C., Tarasco, R. y Amorena, M. (2011). Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators. *Biological Trace Element Research*, 140(2), 170–176.
- Porrini, C., Ghini, S. y Girotti, S. (2002). Use of honey bees as bioindicators of environmental pollution in Italy. In *Honey Bees* (pp. 200–261). CRC Press.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. y Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353.
- Potts, S. G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H. T., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C., Breeze, T. D. y Dicks, L., Garibaldi, L. A., Hill, R. y Settele, J. (2016). Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*, 540(7632), 220–229.
- Ramírez, V. M., Calvillo, L. M. y Kevan, P. G. (2013). Effects of human disturbance and habitat fragmentation on stingless bees. In *Pot-Honey* (pp. 269–282). Springer.
- Rinderer, T. E. y Dell Elliott, K. (1977). Worker honey bee response to infection with *Nosema apis*: influence of diet. *Journal of Economic Entomology*, 70(4), 431–433.
- Roulston, T. H. y Goodell, K. (2011). The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual Review of Entomology*, 56, 293–312.
- Seto, K. C., Güneralp, B. y Hutyra, L. R. (2012). Global forecasts of urban expansion to 2030 and direct impacts on biodiversity and carbon pools. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(40), 16083–16088.

- Solayman, M., Islam, M. A., Paul, S., Ali, Y., Khalil, M. I., Alam, N. y Gan, S. H. (2016). Physicochemical properties, minerals, trace elements, and heavy metals in honey of different origins: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 219–233.
- Vandenberg, J. D. (1994). Chalkbrood susceptibility among larvae of the alfalfa leafcutting bee (Hymenoptera: Megachilidae) reared on different diets. *Journal of Economic Entomology*, 87(2), 350–355.
- Vighi, M., Settele, J. y Potts, S. G. (2010). The impact of an insecticide on insect flower visitation and pollination in agricultural landscape. *Agricultural and Forest Entomology*, 12, 259–266.
- Vitousek, P. M. (1997). Human domination of earth ecosystems (vol 277, Pg 494, 1997). *Science*, 278(5335), 21.
- Walther-Hellwig, K., Fokul, G., Frankl, R., Büchler, R., Ekschmitt, K. y Wolters, V. (2006). Increased density of honeybee colonies affects foraging bumblebees. *Apidologie*, 37(5), 517–532.
- Willmer, P. G., Cunnold, H. y Ballantyne, G. (2017). Insights from measuring pollen deposition: quantifying the pre-eminence of bees as flower visitors and effective pollinators. *Arthropod-Plant Interactions*, 11(3), 411–425.
- Wilson, C. J. y Jamieson, M. A. (2019). The effects of urbanization on bee communities depends on floral resource availability and bee functional traits. *PloS One*, 14(12), e0225852.
- Winfree, R., Aguilar, R., Vázquez, D. P., LeBuhn, G. y Aizen, M. A. (2009). A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8), 2068–2076.

OBJETIVOS

General

Analizar la influencia de la urbanización sobre el contenido de metales y metaloides de interés toxicológico en abejas.

Específicos

- Identificar y cuantificar metales y metaloides de interés toxicológico (Cd, Cr, Mn, Sr, Bi, Cu, Zn, Al, Ag, Li, Pb y Ba) en abejas melíferas (*A. mellifera*) cuya distribución abarca diferentes grados de urbanización a través del análisis por Espectroscopia de Emisión Atómica de plasma por acoplamiento inductivo (ICP), para establecer una relación entre el contenido de metales en abejas y la urbanización.
- Determinar si las áreas urbanas y el nivel de urbanización son una fuente importante de contaminación por metales y metaloides de interés toxicológico para las abejas, a través de un meta-análisis bibliográfico, para contribuir al conocimiento del peligro asociado a la exposición de estos elementos.

HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN

Hipótesis general

Las diferentes especies de abejas presentarán concentraciones mayores de metales y metaloides de interés toxicológico en sitios con mayor urbanización.

Hipótesis específicas:

- El contenido de metales y metaloides de interés toxicológico (Cd, Cr, Mn, Sr, Bi, Cu, Zn, Al, Ag, Li, Pb y Ba) en abejas aumentará conforme aumenta el grado de urbanización.
- El contenido de metales y metaloides de interés toxicológico en las abejas será mayor en áreas urbanas que en áreas no urbanas entre dos niveles de urbanización.

Justificación

El presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de la urbanización y su influencia sobre las abejas: la presencia de metales en el cuerpo de las abejas y su posible relación con el nivel de urbanización. El entendimiento de cómo las abejas son afectadas por la

contaminación ambiental es relevante, dado su importante rol como polinizadores, así como por los servicios ecosistémicos que proveen.

**CAPÍTULO I Metal concentration in honeybees along an urbanization gradient in
Central Mexico**

Publicado en *Environmental Research*

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2024.120199>

Metal concentration in honeybees along an urbanization gradient in Central Mexico

María Eyenith Hernández-Medina^a, Janice V. Montiel Pimentel^b, Ignacio Castellanos^{ac},
Iriana Zuria^a, Gerardo Sánchez-Rojas^a, Juan Carlos Gaytán Oyarzún^a.

^aCentro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo,
Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

^bCentro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo,
Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

^cCorresponding Author:

Ignacio Castellanos

Email address: ignacioe@uaeh.edu.mx

Abstract

Urbanization is rapidly increasing worldwide, leading to rising levels of pollution, one of the major drivers of environmental change; yet little is known about the relationship between urbanization intensity and pollution levels in pollinator taxa. Toxic metals are among the most common contaminants in urban environments, but few data exist on their presence in the flora and fauna of cities in Latin America, one of the world's most urbanized and biologically diverse regions. In this study, we used an urban-rural gradient approach to analyze the relationship between the concentrations of eleven metals present in adult honeybees (*Apis mellifera*) and the degree of urbanization within twelve landscapes in the metropolitan area of Pachuca, Hidalgo, which forms part of the megalopolis of Mexico City. Metal concentrations were compared with previously reported values contrasting honeybees from urban and rural areas after standardizing urbanization levels among published reports. The concentrations of Ag, Cr, Cu, and Zn in honeybees increased significantly with the degree of urbanization. Urbanization was not found to influence the levels of Al, Ba, Cd, Mn, and Sr in honeybees. The maximum concentrations of six metals in our urban sites (Al, Ba, Cd, Cu, Mn, and Sr) were higher than the maximum values reported for bees in other urban areas. The concentrations of two metals measured in our study (Cr and Zn) were within the range of values previously published for urban areas. Compared to other studies, we did not detect Pb in the body of honeybees. We conclude that the concentrations of Ag, Cr, Cu, and Zn present in honeybees are a quantitative reflection of the degree of urbanization in central Mexico. Our results highlight the need to monitor metal emission sources in this and other areas and investigate their effects on bees and other pollinator taxa.

Key words: *Apis mellifera*, biomonitoring, environmental pollution, pollinator, trace element, urban ecosystems

Introduction

Urbanization has occurred at an unprecedented rate worldwide, transforming and fragmenting the original natural habitats (Gerten et al., 2019; Seto et al., 2011). Human activities have increased pollution levels within cities, causing environmental deterioration in urban areas (Fenoglio et al., 2021; Sahu and Basti, 2021). Metals are among the most common contaminants in urban areas (Hanfi et al., 2020; Li et al., 2018) and, depending on the concentrations at which they occur, can potentially threaten various forms of life (Monchanin et al., 2021b). In urban environments, metals are discharged into the air, water, and soil from various sources, including vehicular traffic, pavement surface weathering, improper waste management, construction activities, coal combustion, industrial and mining activities, and fertilizer and pesticide use (Bradl, 2005). Metals can also have a natural origin, such as the earth's crust and its natural weathering processes; however, at present, urban areas in different regions of the planet tend to have higher metal concentrations than their rural and natural counterparts (Alsanad and Alolayan, 2020; Li et al., 2018; Tchounwou et al., 2012).

Studies documenting the presence of metals in organisms in Latin American cities are limited. Studies in Mexico comparing metal concentrations inside, and outside cities have focused on soils (Delgado et al., 2018; Morton-Bermea et al., 2009) and vertebrates such as birds (Ceyca-Contreras et al., 2020; Guzmán-Velasco et al., 2021; Nava-Díaz et al., 2015) and mammals (Ramos-H et al., 2020) but there are no studies for invertebrates. Knowledge of the relationship between metal concentrations in invertebrates and urbanization is relevant because metal contaminants can have negative consequences on many of these taxa, even in concentrations considered safe for humans and other vertebrates (Mogren and Trumble, 2010; Monchanin et al., 2021b; Søvik et al., 2015), and the adverse effect of metals on animals can increase under elevated temperatures such as those resulting from urban heat islands (Holmstrup et al., 2010). In addition, Latin America is considered one of the most urbanized regions in the world, with 81% of its population living in urban areas compared to a global average of 56% (United Nations Population Division, 2019). It is also a megadiverse region, which comprehends 6 out of the 17 megadiverse countries (Brazil, Colombia, Ecuador, Mexico, Peru, and Venezuela) (Mittermeier et al., 1997).

Among invertebrates, bees are consistently present in urban areas and are the primary pollinators of flowering plants (Ollerton, 2017; Ollerton et al., 2011). Cities around the world

host a significant number of bee species due to the heterogeneity of urban landscapes in which various green space types exist (Ayers and Rehan, 2021; Hall et al., 2017; Theodorou et al., 2020). Nevertheless, the effects of urbanization on this group of organisms are still unclear (Liang et al., 2023; Theodorou et al., 2020; Wenzel et al., 2020). Understanding how urbanization impacts the concentration of potentially toxic metals in bees is of particular concern because metal pollution is considered an important factor associated with bee declines (IPBES, 2016), and we have limited knowledge about the relationship between urbanization intensity and pollution in bees and other pollinators (Fenoglio et al., 2020; Thimmegowda et al., 2020; Wenzel et al., 2020). Pollinators are fundamental in urban and periurban agriculture, where they contribute to the production of fruits, seeds, ornamental and medicinal plants (Garibaldi et al., 2022; Langellotto et al., 2018; Orsini et al., 2013).

Survival of bees directly depends on the toxicological conditions of their natural environment (Baloš et al., 2021; Perugini et al., 2011) and the chemical form of the elements with which they interact (Zarić et al., 2022a). Foragers can be exposed to potentially toxic metals by interacting with flowers from plants that accumulate these pollutants in pollen and nectar after they are absorbed by the root system from contaminated soils (Hladun et al., 2015; Pergunini et al., 2011; Zarić et al., 2017, 2022b). Bees are also exposed to metals during flight (Negri et al., 2015) and when contaminated water is used either for drinking or nest thermoregulation (Di et al., 2016; Hladun et al., 2016). Some metals can even reach larvae within their nests (Di et al., 2016; Pavlović et al., 2024), and in some species such as *Apis mellifera*, contamination can also be present in honey, propolis, royal jelly, pollen, and wax (Matin et al., 2016; Tomczyk et al., 2020; Zhou et al., 2018). Consequently, *A. mellifera*, a globally used species for pollination, and its products have been widely employed as bioindicators of toxic metal contamination present in water, soil, and air in different ecosystems (Bratu and Georgescu, 2005; Jones, 1987; Leita et al., 1996; Papa et al., 2021; Zarić et al., 2028a, 2018b).

Unlike organic contaminants, metals do not degrade; instead, they accumulate and persist in the environment for years, even after contamination sources have been removed (Li et al., 2018; Raffa et al., 2021). Functionally categorized as essential (e.g., copper, manganese, and zinc) and non-essential (e.g. aluminum, barium, bismuth, cadmium, lead, and strontium), metals can accumulate in the body of honeybees and cause mortality (Hladun

et al., 2012; Scott et al., 2022), prolong larval development time (Di et al., 2020), decrease fertility (Morón et al., 2014), and negatively affect their immune system (Polykretis et al., 2016), foraging efficiency (Søvik et al., 2015), learning ability (Monchanin et al., 2021a), and energy reserves (Vishchur et al., 2019).

We used a gradient approach to study the relationship between urbanization and metal concentrations in honeybees (*A. mellifera*). The use of an urbanization gradient approach provides a valuable tool for better understanding the interactions between urban development and the structure and function of ecological and social systems (Alberti et al., 2001). Thus, we evaluated the relationship between the degree of urbanization and the concentration of 11 metals in honeybees in the metropolitan area of Pachuca, Hidalgo, Mexico.

Methods

Study area

The metropolitan area of Pachuca, central Mexico, is located between 19°50' and 20°10' N and between 98°41' and 98°57' W, at 2,400-2,800 masl (Figure 1). It has a human population of 557,093, covers approximately 100 km², is within the top 5 metropolitan areas with the highest urban growth in Mexico, and is part of the megalopolis of Mexico City (García-Benítez et al., 2019; SEDATU, 2018). The mean annual temperature is 16.1°C, with increasing ambient temperatures towards the city's center (Sánchez-Echeverría et al., 2019), and the mean precipitation is 486.9 mm (INEGI, 2017). The metropolitan area is located in the Pachuca-Mineral de Monte mining district, a region that has experienced copper and silver extraction for more than 200 years (Dreier, 2005; Hernández-Acosta et al., 2009).

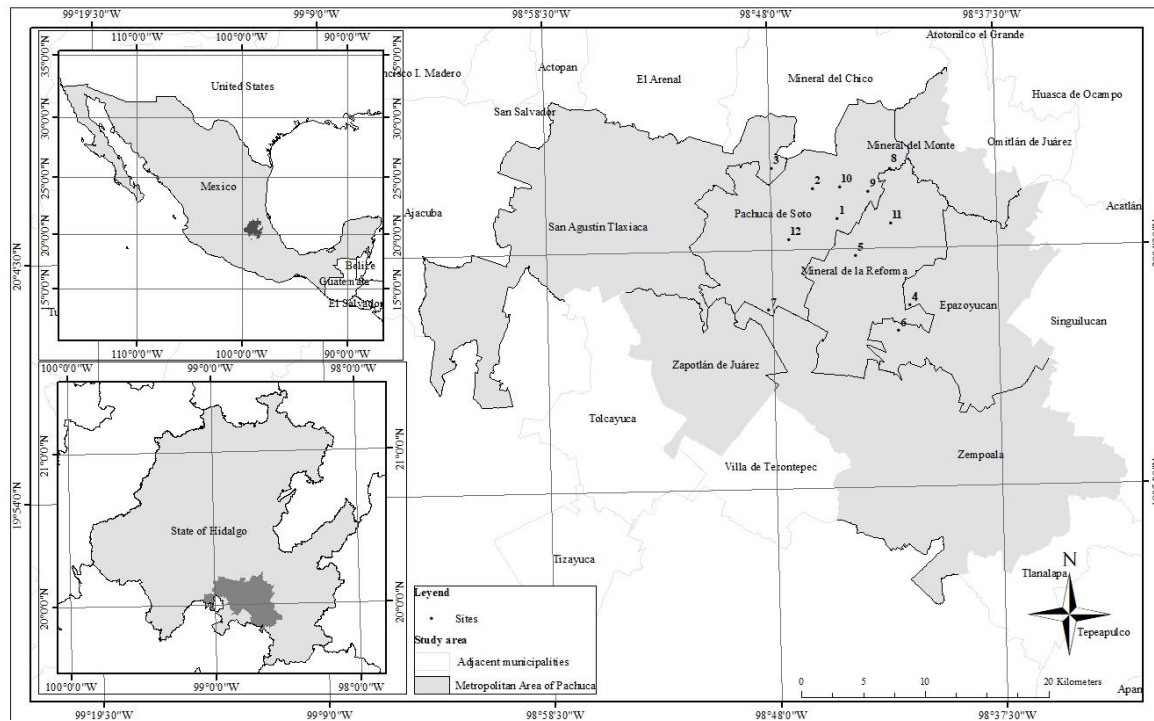


Figure 1 Metropolitan area of Pachuca in the state of Hidalgo, Mexico. Map created using ArcGis (ver. 10.2, ESRI) and maps from the Municipal Geostatistical Framework by INEGI (2019).

Native vegetation in the metropolitan area consists of small patches of arid tropical scrub ("matorral xerófilo" according to Rzedowski (Rzedowski, 2006)), represented mainly by various species of cacti (*Opuntia* spp., *Cylindropuntia imbricata*, *Mammillaria* spp.), huisaches (*Vachellia* spp.), magueys (*Agave salmiana*, *A. lechuguilla*), and yuca trees (*Yucca filifera*) (Carbó-Ramírez and Zuria, 2011). Introduced vegetation is also present with species such as Peruvian pepper tree (*Schinus molle*), eucalyptus (*Eucalyptus* sp.), pine (*Pinus* spp.), cedar (*Juniperus* spp.), tropical ash (*Fraxinus uhdei*), and different species of grasses (Carbó-Ramírez and Zuria, 2011). Agricultural areas are also present but in smaller proportions (Zuñiga-Palacios et al., 2020). The metropolitan area of Pachuca has 59 species of bees, 58 of which are native to Mexico, and *A. mellifera*, an introduced species (Cué-Hernández, 2014). *Apis mellifera* present in the metropolitan area are feral colonies inhabiting natural and man-made cavities since apiaries are not permitted in urban areas in Mexico (NOM, 2016; IC, personal observation).

Site selection and measurement of land use cover

Twelve sampling sites were randomly selected, from the city center to the peripheries of the metropolitan area, which included vegetated areas such as parks, vacant lots, and remnants of native vegetation (Figure 2). The sites were separated by at least 2.18 km, with an average distance of 3.90 km between them, to assure independence between points (Couvillion et al. 2014; Perugini et al., 2011; Sauthier et al. 2017). The percent cover of impervious surface (e.g., paved roads and buildings), native vegetation, introduced vegetation, agricultural surface, and bare soil was quantified within circles of a 1 km radius, centered at each sampling site, using a high-resolution digital satellite image (2015 WorldView-2. Digital Globe) and ArcGis software (ver. 10.2, ESRI). Maps from Google were used to measure the percent cover of the 1 km radius buffers that exceeded the image (sampling sites 6 and 8, Appendix A). These land use cover categories were considered because they integrate relevant bee habitat characteristics, such as the presence of native vegetation, which reflects floral availability for bees. Flowers decrease with habitat conversion and are a key factor in the response of bees to anthropogenic disturbances (Winfree et al., 2011). Likewise, agricultural areas, bare soil, and impervious surfaces can influence the risk of exposure to metals (de Matos Barbosa et al., 2021; Sivakoff et al., 2020).

Bee sampling

Honeybees were sampled during September, which corresponds to the peak flowering period in the study area (Cué-Hernández, 2014), when foragers fly close to their nest (Couvillion et al. 2014). Feral bees were captured on flowers within a 50 m radius circle located at the center of each sampling site using an entomological net. Collected specimens were placed in plastic bags and transported to the laboratory at 10-15 °C to reduce their movement and were subsequently frozen at -80 °C until processing. Five individuals were collected from each of the 12 sites. Bee collection and treatment followed the regulations in Mexico with the approval granted by SEMARNAT (License FAUT-0174).

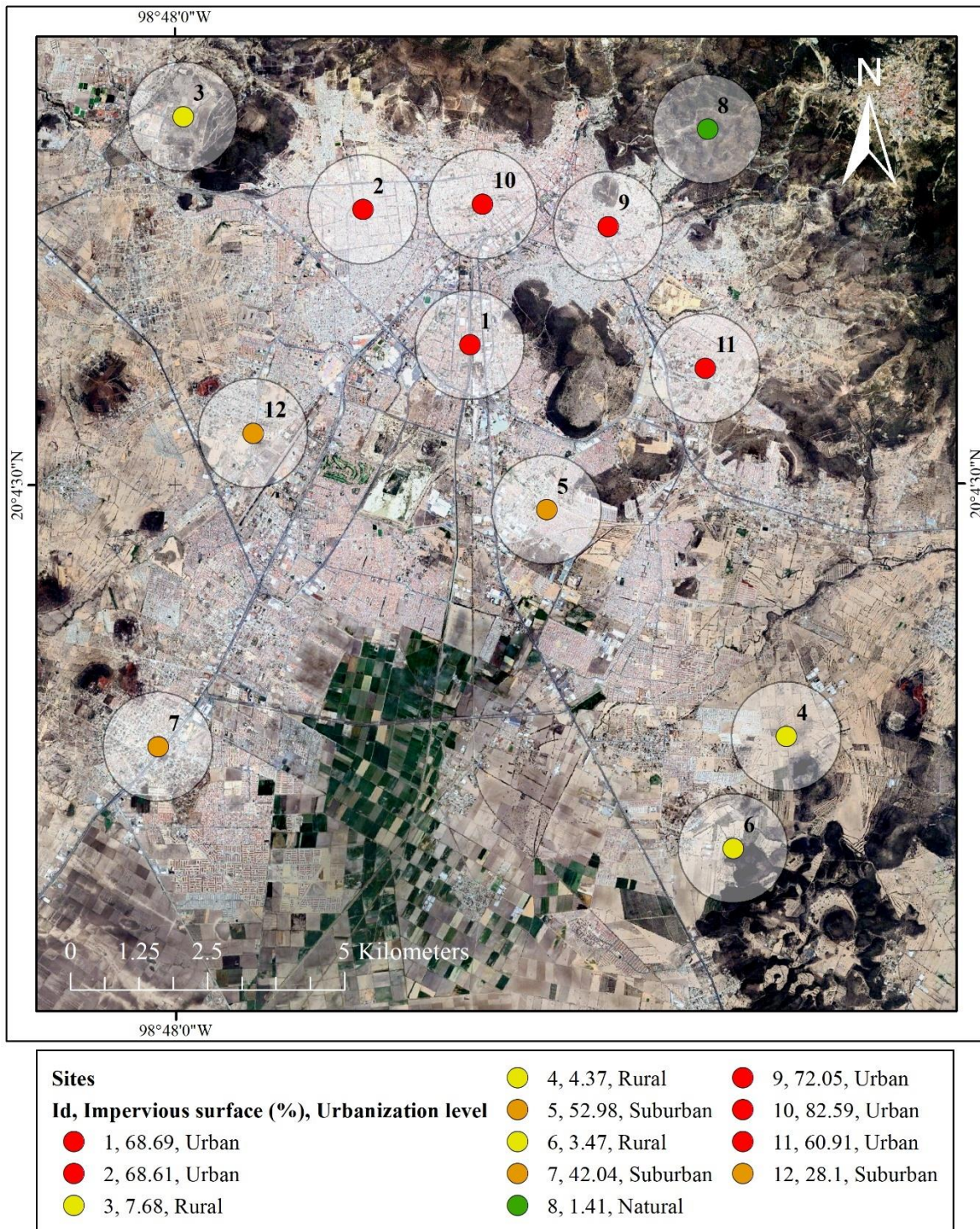


Figure 2 Honeybee sampling sites in the metropolitan area of Pachuca, Hidalgo, Mexico. The percentage cover of impervious surfaces at each site is shown at the bottom, categorized into urban (red), suburban (orange), rural (yellow), and natural (green) sites. Image created using Google Earth Pro (Image ©2024 Airbus) and ArcGIS (ver. 10.2, ESRI).

Sample processing

Bees were dried at 60 °C until a constant mass was achieved (ca. 72 h), homogenized in a mortar, and each sample was analyzed in triplicate. Samples of 0.2 g of dried bee were weighed in polypropylene microwavable cups, and 5 mL of deionized water, 2 mL of HNO₃, and 1 mL of H₂O₂ were added to each sample (Gutiérrez et al., 2015). Samples were digested in a microwave oven (CEM model MARS 5) by heating at 190 °C and 190 psi during 25 min, maintaining temperature and pressure for 15 min at 190 °C and 190 psi, and then cooled for 10 min. Samples were brought to a final volume of 10 mL with deionized water.

The determination of silver (Ag), aluminum (Al), barium (Ba), bismuth (Bi), cadmium (Cd), chromium (Cr), copper (Cu), manganese (Mn), lead (Pb), strontium (Sr) and zinc (Zn) was performed using an inductively coupled plasma optical emission spectrophotometer (Perkin Elmer model Optima 8000). The calibration curve for each of the elements was prepared from a multi-element standard. Metal concentration was determined using the equation:

$$C_r = C_i / S_w \times V_{fc} \times D_f$$

where: C_r : concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$); C_i : concentration read in the plasma spectrophotometer ($\mu\text{g L}^{-1}$); V_{fc} : volumetric flask capacity (L); D_f : dilution factor = volumetric flask capacity / aliquot volume; S_w : sample weight (g).

Metal concentrations in honeybees from urban areas around the world

A literature search was performed for bee studies in urbanized environments (final database query December 15, 2023). Urbanization levels for each study were standardized to compare metal concentrations among studies. A five-level urbanization scale was used following the criteria proposed by Vincze et al. (2017): 1) wildland/natural, 2) rural, 3) exurban, 4) suburban, and 5) urban. Standardization was based on descriptions provided within the studies, which included quantitative descriptions (percentages of impervious surface coverage) and qualitative descriptions (site descriptions and location maps provided by the authors). The levels of urbanization of each study were scored by the first author (MEHM) to make studies comparable.

Statistical analyses

A principal component analysis (PCA) was used to reduce the dimensionality of the land cover variables due to the high correlation among them. The specific metrics evaluated included native vegetation, introduced vegetation, agricultural land, impervious surface, and bare soil. Land cover variables were arcsine transformed to meet the PCA multivariate normality assumptions (McGarigal et al., 2000).

The PCA was calculated in the correlation matrix, and only principal components with eigenvalues ≥ 1 were retained, according to the Kaiser criterion (Kaiser, 1960). By only considering those variables that were significantly related to each component, one principal component with an eigenvalue ≥ 1 was obtained. This component accounted for 70.47% of the variance (Table 1) and had a high and positive weight for the impervious surface variable, which is an indicator of urbanization intensity (Yan et al., 2019), therefore, principal component 1 (PC1) was interpreted as an index of the urbanization level for each site. Simple regressions were then performed to examine the relationship between the variables derived from PCA and honeybee metal concentrations. Statistical analyses were performed using Past software version 4.03 (Hammer et al., 2001).

Table 1 Principal component analysis for the landscape coverage variables measured in the metropolitan area of Pachuca. PC1: principal component 1; PC2: principal component 2. Significant correlations * $p < 0.05$.

Variable	PC1Score	PC2Score
Native vegetation	-0.459	-0.482
Introduced vegetation	0.462	-0.006
Agricultural surface	-0.334	0.842
Impervious surface	0.507*	-0.081
Bare soil	0.455	0.228
Eigenvalue	3.524	0.793
Explained variance (%)	70.479	15.854
Accumulated variance (%)	70.479	86.333

Results

Metal concentrations and urbanization

All metals except Pb were detected in honeybees (Appendix B). Pb was below detection limits at all sampling sites and Bi in 8 of the 12 sites; therefore, these two metals were excluded from the statistical analyses. Sampling sites differed in their land use cover percentages (Appendix A).

The level of urbanization (PC1) was significantly and positively related to the concentration of Ag ($F_{1,10} = 5.55$, $R^2 = 0.357$, $p = 0.040$), Cr ($F_{1,10} = 17.33$, $R^2 = 0.634$, $p = 0.002$), Cu ($F_{1,10} = 10.10$, $R^2 = 0.502$, $p = 0.009$) and Zn ($F_{1,10} = 8.77$, $R^2 = 0.467$, $p = 0.014$) (Figure 3). No significant relationships were found between the level of urbanization and Al ($F_{1,10} = 1.38$, $R^2 = 0.121$, $p = 0.267$), Ba ($F_{1,10} = 1.03$, $R^2 = 0.093$, $p = 0.335$), Cd ($F_{1,10} = 2.44$, $R^2 = 0.196$, $p = 0.149$), Mn ($F_{1,10} = 0.59$, $R^2 = 0.056$, $p = 0.457$) and Sr ($F_{1,10} = 1.01$, $R^2 = 0.091$, $p = 0.339$).

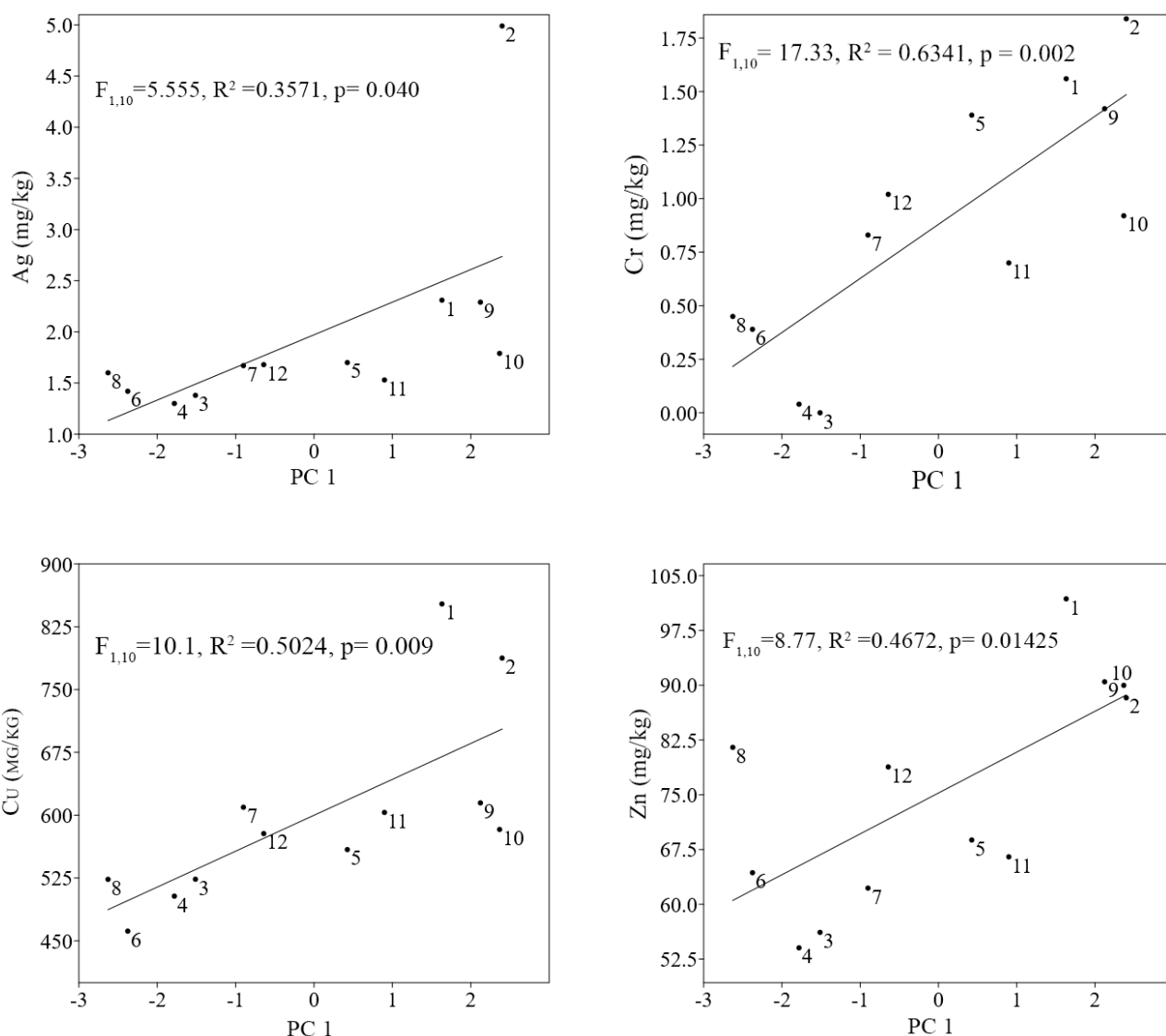


Figure 3 Linear regressions between the first principal component (PC1) and metal concentration in honeybees (mg/kg). a) silver, b) chromium, c) copper, and d) zinc.

Metal concentration in honeybees from urban areas around the world

From the literature search, 11 studies were found (one from Oceania, six from Europe, and one from North America), from which it was possible to standardize urbanization levels and extract metal concentrations from the bodies of unwashed *A. mellifera* foragers (Table 2). The maximum concentration of six metals present in bees in our urban area (Al, Ba, Cd, Cu, Mn, and Sr) are higher than the maximum values reported for bees in other urban areas, while the maximum concentrations of two of the metals (Cr and Zn) are within the ranges

previously reported (Table 2). It was not possible to compare Pb concentrations in bees from the metropolitan area of Pachuca with the concentrations reported in other studies because in our study, this element was below the detection limits. We could not compare Ag and Bi concentrations with other studies because these metals have yet to be reported for *A. mellifera* from sites with different urbanization levels.

Table 2 Metal concentrations in the bodies of adult honeybees (mg/kg dry matter) from urban and rural areas in the current and previous studies developed worldwide. Data from the current study are in *italics*. NR = not reported in studies comparing metal concentrations in honeybees collected from sites with different urbanization levels. <DL = lower than detection limits. * = only one site was sampled.

Element	Urban level	Max	Min	Country	Region	Reference
Ag	Natural	1.6*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	1.42	1.3	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Suburban	1.7	1.67	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	4.99	1.53	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	NR	NR	NR	NR	NR	Previous studies
Al	Natural	55.61*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	15.52	4.6	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		46	7	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		69.84	4.15	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		254	3.5	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		261.59	77.64	Mexico	North America	Current study
	Suburban	111	9.9	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		227.86	108.16	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	15.1	5.9	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		24	5.8	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		37.73	8.73	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		73.91	11.32	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		144	45.86	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Industrial	13.2	5.57	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		42.6	4.21	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		199	14	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		327	16	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
Ba	Natural	4.15*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	1.47	0.08	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		3.64	3.25	Mexico	North America	Current study

		3.97	2.2	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		11	1	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
	Suburban	2.3	0.66	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		4.03	2.94	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	0.2	0.15	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		1.7	0.32	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		3.1	1.36	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		5.08	1.88	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Industrial	2.5	0.48	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		3.4	0.55	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		4.95	0.29	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
Bi	Natural	0.41*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	0.54	0.34	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Suburban	<DL	<DL	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	<DL	<DL	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	NR	NR	NR	NR	NR	Previous studies
Cd	Natural	0.21	0.01	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
		3.04*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	0.12	0.02	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
		0.33	0.12	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.385	0.02	Italy	Europe	(Costa et al., 2021)
		0.71	0.1	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		1.04	0.42	Poland	Europe	(Roman, 2010)
		1.2	0.041	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		1.47	0.08	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		3.21	2.65	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Exurban	0.1	0.02	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
	Suburban	0.023	0.00083	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		0.16	0.026	Italy	Europe	(Costa et al., 2021)
		2.72	2.1	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	0.1	0.03	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
		0.195	0.008	Italy	Europe	(Costa et al., 2019)
		0.2	0.15	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		0.247	0.012	Italy	Europe	(Costa et al., 2021)
		0.25	0.046	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.46	0.1	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)

		0.75	0.07	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		0.81	0.39	Poland	Europe	(Roman, 2010)
		2.97	2.16	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Industrial	0.11	0.022	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		0.26	0.046	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.5	0.05	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		4.95	0.29	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
Cr	Natural	0.055	0.03	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.45*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
		4.92	0	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
	Rural	0.085	0.02	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.23	0.15	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		0.28	0.1	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.28	0.15	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		0.39	<DL	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
		2.75	0.16	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
		3.3	0.0014	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
	Exurban	5.07	0	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
	Suburban	0.1	0.035	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.54	0.037	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		1.39	0.83	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	0.085	0.055	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.22	0.089	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.27	0.16	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		0.28	0.2	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		0.33	0.01	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		1.84	0.7	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
		3.08	0.17	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
	Industrial	0.28	0.18	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		0.31	0.17	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		0.94	0.023	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		1.07	0.084	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
Cu	Natural		523.45	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	19.77	11.65	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		21.23	9.36	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		24.1	19.5	Poland	Europe	(Roman, 2010)

		25.5	17.5	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		35	9.7	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		523.56	461.61	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Suburban	20	3.4	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		609.5	558.96	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	19.74	14.69	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		25.5	20.2	Poland	Europe	(Roman, 2010)
		29.2	22.7	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		34.57	15.53	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		43	5.8	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		852.26	582.98	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Industrial	15.8	12.84	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		21.6	11.8	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		23.94	10.82	Republic of Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		26	2	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
Mn	Natural	162.89*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	50.8	28.42	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		70.4	49.3	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		139.01	50.06	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		192	11	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		209.79	82.82	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
		12.5	33.7	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
	Suburban	51	10	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		144.16	78.01	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
		78	0.037	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
	Urban	54.47	30.37	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		64.1	38.3	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		66	15	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		68.76	20.69	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		120	29	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		162.03	108.91	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Industrial	34.48	26.48	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		42	30	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		90	34	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		128	9	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		223	33.84	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)

Pb	Natural	<DL*		Mexico	North America	Current study
		0.275	0.35	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		1.34	0.18	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
	Rural	<DL	<DL	Mexico	North America	Current study
		0.11	0.018	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		0.19	<DL	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.29	0.024	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		0.367	0.098	Canada	North America	(Smith and Weis, 2020)
		0.427	0.001	France	Europe	(Lambert et al., 2012)
		0.436	0.039	Italy	Europe	(Costa et al., 2021)
		0.498	0.001	France	Europe	(Lambert et al., 2012)
		0.57	0.26	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		0.655	0.15	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.86	0.17	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
		1.1	0.19	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		1.175	0.004	France	Europe	(Lambert et al., 2012)
		3.11	1.08	Poland	Europe	(Roman, 2010)
	Exurban	0.42	0.14	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
	Suburban	<DL*		Mexico	North America	Current study
		0.24	0.077	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		0.32	0.035	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		0.355	0.345	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.506	0.098	Italy	Europe	(Costa et al., 2021)
		1.443	0.61927	Canada	North America	(Smith and Weis, 2020)
	Urban	<DL*		Mexico	North America	Current study
		0.37	0.07	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		0.43	0.495	Spain	Europe	(Gutiérrez et al., 2015)
		0.66	0.047	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		0.71	0.2	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		0.741	0.08	Italy	Europe	(Costa et al., 2021)
		0.78	0.16	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		0.8	0.33	Italy	Europe	(Perugini et al., 2011)
		1.26	0.26	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		1.396	0.248	Italy	Europe	(Costa et al., 2019)
		1.869	0.001	France	Europe	(Lambert et al., 2012)
		2.32	1.46	Poland	Europe	(Roman, 2010)

		2.738	1.947	Canada	North America	(Smith and Weis, 2020)
	Industrial	0.28	0.052	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		0.65	0.20	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		0.97	0.03	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		1.67	0.27	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		36.9	11.63	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
Sr	Natural	3.79*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	1.02	0.7	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		1.3	0.41	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		2.32	2	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		5.85	2.69	Mexico	North America	Current study
		7.8	0.93	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		9.1	1.2	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
	Suburban	3.43	1.22	Mexico	North America	Current study
	Urban	1.77	0.67	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		2.89	1.39	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		2.99	0.95	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		3.3	0.81	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		6.24	3.33	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Industrial	2	0.73	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		2.4	0.94	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		3.55	1.47	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		5.2	0.78	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
Zn	Natural	81.49*		<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Rural	55	38	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		64.33	54.04	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
		95.44	70.7	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		113.9	66.36	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		117	83	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		158	48	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
	Suburban	69	13	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		78	52	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		78.81	62.22	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>
	Urban	81	39	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		100.46	59.18	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		101.83	66.5	<i>Mexico</i>	<i>North America</i>	<i>Current study</i>

		103.59	70.66	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)
		137	90	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		173	23	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
	Industrial	67	58	Australia	Australia	(Zhou et al., 2018)
		74.76	61.14	Netherlands	Europe	(Van Der Steen et al., 2012)
		128	14	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2022b)
		156	78	Serbia	Europe	(Zarić et al., 2016)
		202.49	56.34	Serbia	Europe	(Ilijević et al., 2021)

Discussion

Metal concentrations and urbanization

Urbanization is rapidly increasing worldwide (United Nations Population Division, 2019), leading to rising levels of pollution, one of the primary drivers of environmental change (Grimm et al., 2008; Zvereva and Kozlov, 2010); yet little is known about the relationship between urbanization intensity and pollution levels in pollinator taxa (Fenoglio et al., 2020; Wenzel et al., 2020). In this study we used a gradient approach to examine the relationship between urbanization and metal concentrations in honeybees, one of the world's most important crop pollinators (Klein et al., 2007). Our study revealed that the concentrations of Ag, Cr, Cu, and Zn in honeybees increased significantly with urbanization. The concentration of these chemical elements in bees in our study site can be explained by street density and vehicular traffic, which increase towards the central area of the city (Gómez-Aiza, 2013). It is known that Cr, Cu, and Zn emissions are derived from the wear of brake pads, tires, and roads, as well as from vehicular exhaust gases (ATSDR, 2004a, 2005; Gupta, 2020) and Ag from gasoline and diesel combustion (ATSDR, 1990; Gupta, 2020). In addition, Ag in our study area is derived from an active silver mine in the city (SGM, 2021). The presence of these chemical elements in the body of *A. mellifera* can occur through the adhesion of airborne metals to their body hairs and by inhalation through the spiracles of their tracheal system (Negri et al., 2015; Smith and Weis, 2022), since Ag, Cr, Cu, and Zn are transported by air movement (ATSDR, 1990; Nriagu and Pacyna, 1988). These metals are also found in water (ATSDR, 1990; Müller et al., 2020; Nriagu and Pacyna, 1988) and honeybees can accumulate them from contaminated water sources used for drinking and nest cooling (Di et

al., 2016; Hladun et al., 2016). Additionally, Ag, Cr, Cu, and Zn can be present in pollen and nectar (Di et al., 2020; Liu et al., 2013; Mayda et al., 2020; Rashed et al., 2009; Xun et al., 2018). Cu can reduce larvae and adult survivorship (Di et al., 2016; Hladun et al., 2016) and disrupt adult cognitive functions such as learning (Monchanin et al., 2021a), while Zn can negatively impact the functioning of the immune system and disrupt spatial orientation (Sadowska et al., 2019). Elevated concentrations of Cu and Zn are particularly concerning since honeybees are not able to detect these metals from food or water sources (Burden et al., 2019; Monchanin et al. 2022). On the other hand, the effects of Cr and Ag on honeybees and their ability to detect them are still unknown.

Our results show a positive and significant relationship between principal component 1 (PC1) and the concentrations of Ag, Cr, Cu, and Zn in honeybees, however, some sites appear to be influenced by specific local factors (Fig. 3). Sites 1, 2, 9, 10, and 11 present certain common elements. These sites are characterized by a high proportion of impervious surfaces (68.61% to 82.59%), with little or no native vegetation or agricultural surface. The predominance of impervious surfaces in these sites may contribute to the accumulation of metals, possibly due to higher exposure to contaminant particles in the absence of vegetation acting as a natural filter (Przybysz et al., 2014). In addition, these sites are located in the oldest part of the city and thus have been exposed to longer periods of metal deposition (Rodríguez Martín et al., 2015). In addition, these sites are in the vicinity of the mining tailings of the city of Pachuca, at distances between 1.1 and 1.8 km. On the other hand, site 8 is characterized by a high native vegetation cover (98.59%), but it is close to a highway that functions as one of the entrances to the city of Pachuca, and both fuel-combustion and tire rubber debris are important sources of Zn, which can explain the high Zn concentration found in honeybees at this site (ATSDR, 2005). Thus, while there is a general increase in metal concentrations with urbanization, there are notable variations in areas that may be influenced by specific local factors such as vegetation cover, historical factors, and proximity to particular sources of contamination, as has been reported in other studies (Van Der Steen et al., 2012; Ilijević et al., 2021; Zhou et al., 2018). These results highlight the necessity to monitor metal emission sources in the study area.

Al, Ba, Bi, Cd, Mn, and Sr present in honeybees did not vary along the urbanization gradient. The lack of a relationship between the concentrations of these metals in honeybees and

urbanization can be attributed to the existence of several anthropogenic sources dispersed along our study area. These metal sources include the use of fertilizers and fungicides in surrounding agricultural areas for Cd, Mn, and Sr (ATSDR, 2012a; Gunier et al., 2014; Watts and Howe, 2010), as well as rodenticides and insecticides containing Al and Ba (ATSDR, 2007, 2008). Other sources of Al, Bi, Cd, Sr, and Mn include domestic coal burning (ATSDR, 2004b, 2012b; Heinrichs, 1977; Starska, 1993; Watts and Howe, 2010), municipal waste incineration, and sewage sludge and wastewater accumulation (Ahrens and Erlank, 1969; ATSDR, 2012a; Gekière et al., 2023; Starska, 1993), all of which are common in the metropolitan area of Pachuca (IC, personal observation). An important area for further research would be to analyze the regional extent to which Al, Bi, Cd, Sr, and Mn are present in the levels found in our study area, which is part of the megalopolis of Mexico City, since studies aiming at quantifying metals covering the extent of the megalopolis have not yet been conducted. In addition, future studies comparing the levels of metals in bees from less influenced natural sites surrounding the metropolitan area of Pachuca would allow the detection of metal gradients at a broader scale (Aguilera et al., 2021; Hou et al., 2017).

In this study, the percent of land covered with impervious surface within 1 km radius buffers provides a valuable tool to understand the interaction between urban development and the concentrations of Ag, Cr, Cu, and Zn in honeybees. Moreover, this same scale has also been useful to show that impervious surface is significantly and negatively correlated with bee species richness and abundance in the metropolitan area of Pachuca (Cué-Hernández, 2014). Further studies are needed to investigate the relative contribution of metal pollution and other pollinator threats, such as habitat loss, on bee declines in the megalopolis of Mexico City, one of the largest urban areas in the world.

Comparison between metal concentrations in bees from the metropolitan area of Pachuca and other urban areas

Higher concentrations of Cr, Cu, and Zn in honeybees inhabiting cities compared to those present in their rural surroundings have been reported in European countries by Ilijević et al. (2021) for Cr, Roman (2010), Ilijević et al. (2021) and Zarić et al. (2022) for Cu, and Van der Steen et al. (2012) and Zarić et al. (2016, 2022) for Zn (Table 2). However, the increases in Cr and Zn concentrations from rural to urban sites in our study area are considerably higher

than those previously reported (371.8% compared to 20.2% for Cr and 58.3% compared to 5.3–17.1% for Zn), while the increase in the level of Cu from rural to urban sites is the same as the maximum previously reported (62.8%) (Table 2). Such high increases in the levels of metal concentrations as a result of urbanization can be explained by the accelerated and uncontrolled urban growth and a lack of public policies aimed at decreasing anthropogenic metal emissions in the metropolitan area of Pachuca (Aguilera et al., 2021; Morton-Bermea et al., 2018; SEDATU, 2018).

Pb has been reported in soil samples from tailings belonging to the active mine in the metropolitan area of Pachuca at concentrations above our detection limits (Moreno et al., 2009), however, we could not detect Pb in the bodies of honeybees. Thus, it was not possible to compare Pb concentrations with those reported in other studies. Different explanations may account for the lack of Pb detection in bees in our study area. It is likely that Pb from tailings present in the city did not reach honeybees in detectable concentrations because values of Pb contents decrease rapidly with distance from the source (Karali et al., 2020; Nakamura et al., 2021), and the active mine in the city is relatively small, with an extension of 2.4 km² (Moreno et al., 2009). This is likely the case since Pb was not detected in soil samples taken at the same collecting sites used in our study (Pérez-Segovia, 2018). In addition to mining areas, other important sources of Pb are leaded gasoline and industrial activities (USEPA, 2024); however, Mexico began a gradual reduction in the lead content of gasoline in 1986, until its total elimination in 1997 (Cortez-Lugo et al. 2003) and there are no important industrial activities in the metropolitan area of Pachuca.

The higher maximum concentrations of Al, Ba, Cd, Cu, Mn, and Sr found in bees in our urban sites compared to the maximum levels reported in other urban areas (Table 2), can be attributed to the “urban” anthropogenic sources previously discussed and the mining activity present in our urban area. The metropolitan area of Pachuca has undergone Cu, Au, and Ag mining extraction for more than 200 years (Hernández-Acosta et al., 2009), an activity that increases the content of metals through a range of pathways, including physical disturbance of the landscape, spilling of mine tailings, wind erosion, and water movement, giving rise to contamination of aquatic and terrestrial nearby sites (González-Morales et al., 2022; Lottermoser, 2007). Tailings, which contain Al, Ba, Cd, Cu, Mn, and Sr have accumulated for several decades in our study area (Flores Badillo et al., 2014; Jonathan et al., 2010;

Lizárraga-Mendiola et al., 2014), and there is one active silver mine in the city (SGM, 2021). Furthermore, plants growing on these soils are accumulating metals (Hernández-Acosta et al., 2009). Thus, honeybees can ingest them from pollen and nectar (Chicas-Mosier et al., 2019; Rashed et al., 2009; Sattler et al., 2016) or by contact with contaminated air and water sources, since these metals are present in contaminated water (ATSDR, 2008; Müller et al., 2020; Nriagu and Pacyna, 1988). Of particular concern was Cu, since its concentration for honeybees in our study area was 19 times higher than the concentrations previously reported by other authors in urban areas (Table 2). Comparatively metal concentrations have been found in the bodies of honeybees from active or recently active mining sites (Goretti et al., 2023; Satta et al., 2012).

Exposure to high concentrations of Al can result in increased mortality and motility in *A. mellifera* (Chicas-Mosier et al., 2018) as well as a detrimental effect on their foraging behavior (Chicas-Mosier et al., 2017), while Cd can decrease larvae and adult survival (Di et al., 2016) and cause adverse effects on their microbiome and metabolome (Rothman et al., 2019). Concerning Mn, it can negatively affect neuronal and behavioral functions in *A. mellifera*, such as foraging (Søvik et al., 2015). Honeybees cannot detect cadmium (Burden et al., 2019) and it is yet unknown if they can detect Al and Mn. The effects of Ba and Sr have not been investigated in honeybees, nor their ability to detect them, but both metals, together with Al and Cd, have no known importance in the metabolism of insects and are considered non-essential and toxic to bees (Bilandžić et al., 2017; de Matos Barbosa et al., 2021; Ilijević et al., 2021).

Conclusions

Our study shows how land cover (impervious surface), and therefore the degree of urbanization, can influence the concentrations of metal contaminants in pollinators within an urban landscape. The rural-urban gradient approach used in this study shows that the concentrations of Ag, Cr, Cu, and Zn in honeybees increased significantly with the degree of urbanization in the metropolitan area of Pachuca, Hidalgo. Urbanization was not found to influence Al, Ba, Cd, Mn, and Sr concentrations in honeybees. The maximum concentrations of six metals present in bees in our urban area (Al, Ba, Cd, Cu, Mn, and Sr) were higher than the maximum values reported for bees in other urban areas. Our results highlight the need to

monitor metal emission sources in the study area and investigate their effects on bees and other invertebrate taxa.

CRedit authorship contribution statement

María Eyenith Hernández-Medina: Writing –review & editing, Writing – original draft, Methodology, Formal analysis, Conceptualization. **Janice V. Montiel Pimentel:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Formal analysis. **Ignacio Castellanos:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision, Project administration, Methodology, Conceptualization. **Iriana Zuria:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision, Methodology, Formal analysis. **Gerardo Sánchez-Rojas:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision, Formal analysis. **Juan Carlos Gaytán Oyarzun:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

We acknowledge the immensely helpful suggestions provided by three anonymous reviewers. MEHM acknowledges CONAHCYT (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías) for the scholarship (707003) to pursue her Doctoral degree in Biodiversity and Conservation at UAEH. This work was supported by the Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (grant number UAEH-DI-17-ICBI-BI-CF-101).

References

- Aguilera, A., Bautista, F., Gutiérrez-Ruiz, M., Cenicerós-Gómez, A. E., Cejudo, R., Goguitchaichvili, A. (2021). Heavy metal pollution of street dust in the largest city of Mexico, sources and health risk assessment. *Environ. Monit. Assess.* 193, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-08993-4>.

- Ahrens, L.H., Erlank, A.J. (1969). Bismuth. In: Wedepohl, K.H. (Ed.), Handbook of Geochemistry (Vol. 1, p. 25). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. <https://link.springer.com/book/9783642463020>.
- Alberti, M., Botsford, E., Cohen, A. (2001). Quantifying the urban gradient: linking urban planning and ecology. In Marzluff, J.M., Bowman, R., Donnelly, R. (Eds.) Avian Ecology and Conservation in an Urbanizing World (pp. 89–115). Springer, Boston. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1531-9_5.
- Alsanad, A., Alolayan, M. (2020). Heavy metals in road-deposited sediments and pollution indices for different land activities. Environ. Nanotechnol. Monit. Manag. 14, 100374. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100374>.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (1990). Toxicological profile for silver. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp146.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2004a). Toxicological profile for copper. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp132.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2004b). Toxicological profile for strontium. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp159.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2005). Toxicological profile for zinc. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp60.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2007). Toxicological profile for barium and barium compounds. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, Georgia, USA. Public Health Service. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp24.pdf>. (Accessed 29 January 2024).

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2008). Toxicological profile for aluminum. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp22.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2012a). Toxicological profile for cadmium. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2012b). Toxicological profile for manganese. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp151.pdf>. (Accessed 15 August 2023).
- Ayers, A.C., Rehan, S.M. (2021). Supporting bees in cities: how bees are influenced by local and landscape features. *Insects* 12(2), 128. <https://doi.org/10.3390/insects12020128>.
- Baloš, M.Ž., Mihaljev, Ž., Jakšić, S. (2021). Toxic elements as a risk factor for the survival of the honey bees (*Apis mellifera* L.). *Arch. Vet. Med.* 14(2), 5–18. <https://doi.org/10.46784/eavm.v14i2.276>.
- Bilandžić, N., Gajger, I. T., Kosanović, M., Čalopek, B., Sedak, M., Kolanović, B.S., Varenina, I., Luburić, Đ.B., Varga, I., Đokić, M. (2017). Essential and toxic element concentrations in monofloral honeys from southern Croatia. *Food Chem.* 234, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.180>.
- Bradl, H.B. (2005). Sources and origins of heavy metals. In: Bradl, H.B. (Ed.), *Interface Science and Technology* (Vol. 6, pp. 1–27). Elsevier, London. [https://doi.org/10.1016/S1573-4285\(05\)80020-1](https://doi.org/10.1016/S1573-4285(05)80020-1).
- Bratu, I., Georgescu, C. (2005). Chemical contamination of bee honey—identifying sensor of the environment pollution. *J. Cent. Eur. Agric.* 6(1), 95–98. Available at: <https://jcea.agr.hr/en/issues/article/227>. (Accessed 23 September 2024).
- Burden, C.M., Morgan, M.O., Hladun, K.R., Amdam, G.V, Trumble, J.J., Smith, B. H. (2019). Acute sublethal exposure to toxic heavy metals alters honey bee (*Apis mellifera*) feeding behavior. *Sci. Rep.* 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40396-x>.

- Carbó-Ramírez, P., Zuria, I. (2011). The value of small urban greenspaces for birds in a Mexican city. *Landsc. Urban Plan.* 100(3), 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2010.12.008>.
- Couvillon, M.J., Schürch, R., Ratnieks, F.L. (2014). Waggle dance distances as integrative indicators of seasonal foraging challenges. *PloS One* 9(4), e93495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093495>.
- Ceyca-Contreras, J.P., Cortés-Gutiérrez, E.I., García-Salas, J.A., Dávila-Rodríguez, M.I., García-Hernández, J. (2020). Evaluation of the genotoxic effect of heavy metals in pigeons from urban and rural habitat in Monterrey, Mexico, using the chromatin dispersion assay. *Biomarkers* 25(8), 670–676. <https://doi.org/10.1080/1354750x.2020.1825811>.
- Chicas-Mosier, A.M., Cooper, B.A., Melendez, A.M., Pérez, M., Oskay, D., Abramson, C. I. (2017). The effects of ingested aqueous aluminum on floral fidelity and foraging strategy in honey bees (*Apis mellifera*). *Ecotox. Environ. Safe.* 143, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.008>.
- Chicas-Mosier, A.M., Dinges, C.W., Agosto-Rivera, J.L., Giray, T., Oskay, D., Abramson, C.I. (2018). Honey bees (*Apis mellifera* spp.) respond to increased aluminum exposure in their foraging choice, motility, and circadian rhythmicity. *PloS One* 14(6), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218365>.
- Chicas-Mosier, A.M., Dinges, C.W., Agosto-Rivera, J.L., Giray, T., Oskay, D., Abramson, C.I. (2019). Honey bees (*Apis mellifera* spp.) respond to increased aluminum exposure in their foraging choice, motility, and circadian rhythmicity. *PloS One* 14(6), e0218365. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218365>.
- Cortez-Lugo, M., Téllez-Rojo, M.M., Gómez-Dantés, H., Hernández-Avila, M. (2003). Trend of atmospheric lead levels in the metropolitan area of Mexico City 1988-1998. *Salud Publica Mex.* 45(2), 196–202. Available at: <https://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v45s2/v45s2a05.pdf>. (Accessed 7 September 2024).
- Costa, A., Veca, M., Barberis, M., Tosti, A., Notaro, G., Nava, S., Lazzari, M., Agazzi, A., Tangorra, F.M. (2019). Heavy metals on honeybees indicate their concentration in the atmosphere. A proof of concept. *Ital. J. Anim. Sci.* 18(1), 309–315. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1520052>.

- Costa, A., Veca, M., Barberis, M., Cicerinegri, L., Tangorra, F.M. (2021). Predicting atmospheric cadmium and lead using honeybees as atmospheric heavy metals pollution indicators. Results of a monitoring survey in Northern Italy. *Ital. J. Anim. Sci.* 20(1), 850–858. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1929523>.
- Cué-Hernández, K. (2014). Efecto de la Urbanización sobre las comunidades de abejas y abejorros (Hymenoptera Apoidea) en la ciudad de Pachuca, Hidalgo. Master of Science Thesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Available at: <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/handle/231104/3590>. (Accessed 29 January 2024).
- de Matos Barbosa, M., Fernandes, A.C.C., Alves, R.S.C., Alves, D.A., Junior, F.B., Batista, B.L., Ribeiro, M.C., Carneiro, M.F.H. (2021). Effects of native forest and human-modified land covers on the accumulation of toxic metals and metalloids in the tropical bee *Tetragonisca angustula*. *Ecotox. Environ. Safe.* 215, 112147. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112147>.
- Delgado, C., Israde Alcántara, I., Bautista, F., Gogichaishvili, A., Márquez, C., Cejudo, R., Morales, J., González, I. (2018). Distribución espacial de Fe, Li, Pb, Mn, V, y Zn en suelos urbanos de Morelia, Michoacán, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 34(3), 427–440. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.03.06>.
- Di, N., Hladun, K.R., Zhang, K., Liu, T.X., Trumble, J.T. (2016). Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. *Chemosphere* 152, 530–538. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.033>.
- Di, N., Zhang, K., Hladun, K.R., Rust, M., Chen, Y.F., Zhu, Z.Y., Liu, T.X., Trumble, J.T. (2020). Joint effects of cadmium and copper on *Apis mellifera* forgers and larvae. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 237, 108839. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108839>.
- Dreier, J.E. (2005). The environment of vein formation and ore deposition in the Purisima-Colon vein system, Pachuca Real del Monte District, Hidalgo, Mexico. *Econ. Geol.* 100(7), 1325–1347. <https://doi.org/10.2113/gsecongeo.100.7.1325>.
- Fenoglio, M.S., Rossetti, M.R., Videla, M. (2020). Negative effects of urbanization on terrestrial arthropod communities: a meta-analysis. *Global Ecol. Biogeogr.* 29(8), 1412–1429. <https://doi.org/10.1111/geb.13107>.

- Fenoglio, M.S., Calviño, A., González, E., Salvo, A., Videla, M. (2021). Urbanisation drivers and underlying mechanisms of terrestrial insect diversity loss in cities. *Ecol. Entomol.* 46(4), 757–771. <https://doi.org/10.1111/een.13041>.
- Flores Badillo, J., Hernández Ávila, J., Patiño Cardona, F., Trápala Pineda, N.Y., Ostos Santos, J.A. (2014). Developing alternative building materials from mining waste. *Adv. Mate. Res.* 976, 202–206. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.976.202>.
- García-Benítez, M., Franco-Sánchez, LM., Granados-Alcantar, J.A. (2019). Evaluación del crecimiento de la población y transformación del uso de suelo urbano en la Zona Metropolitana de Pachuca, México. *Quivera* 21(2), 63–81. <https://doi.org/10.36677/qret.v21i2.12378>.
- Garibaldi, L.A., Gomez Carella, D.S., Nabaes Jodar, D.N., Smith, M.R., Timberlake, T. P., Myers, S.S. (2022). Exploring connections between pollinator health and human health. *Philos. T. Roy. Soc. B*, 377(1853), 20210158. <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0158>.
- Gekière, A., Vanderplanck, M., Michez, D. (2023). Trace metals with heavy consequences on bees: a comprehensive review. *Sci.Total Environ.* 895, 165084. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165084>.
- Gerten, C., Fina, S., Rusche, K. (2019). The sprawling planet: Simplifying the measurement of global urbanization trends. *Front. Environ. Sci.* 7, 140. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00140>.
- Gómez-Aíza, L. (2013). Riqueza, composición y actividades de aves visitantes a las flores del maguey (*Agave salmiana* Otto & Salm) bajo diferentes condiciones de urbanización en Pachuca. Doctor of Science Thesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México.
- González-Morales, M., Fernández-Pozo, L., Rodríguez-González, M.Á. (2022). Threats of metal mining on ecosystem services. Conservation proposals. *Environ. Res.* 214, 114036. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114036>.
- Goretti, E., Pallottini, M., La Porta, G., Elia, A.C., Gardi, T., Petroselli, C., Gravina, P., Bruschi, F., Selvaggi, R., Cappelletti, D. (2023). Bioaccumulation of trace elements along the body longitudinal axis in honey bees. *Appl. Sci.* 13(12), 6918. <https://doi.org/10.3390/app13126918>.

- Grimm, N.B., Faeth, S.H., Golubiewski, N.E., Redman, C.L., Wu, J., Bai, X., Briggs, J.M. (2008). Global change and the ecology of cities. *Science* 319(5864), 756–760. <https://doi.org/10.1126/science.1150195>.
- Gunier, R.B., Jerrett, M., Smith, D.R., Jursa, T., Yousefi, P., Camacho, J., Hubbard, A., Eskenazi, B., Bradman, A. (2014). Determinants of manganese levels in house dust samples from the CHAMACOS cohort. *Sci.Total Environ.* 497, 360–368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.005>.
- Gupta, V. (2020). Vehicle-generated heavy metal pollution in an urban environment and its distribution into various environmental components. In Shukla, V., Kumar, K. (Eds.), *Environmental Concerns and Sustainable Development: Volume 1: Air, Water and Energy Resources* (pp. 113–127). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5889-0_5.
- Gutiérrez, M., Molero, R., Gaju, M., van der Steen, J., Porrini, C., Ruiz, J.A. (2015). Assessment of heavy metal pollution in Córdoba (Spain) by biomonitoring foraging honeybee. *Environ. Monit. Assess.* 187(10), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4877-8>.
- Guzmán-Velasco, A., Ramírez-Cruz, J.I., Ruiz-Aymá, G., Rodríguez-Sánchez, I.P., Garza-Ocañas, L., Treviño-Alvarado, V.M., González-Rojas, J.I., Olalla-Kerstupp, A. (2021). Great-tailed grackles (*Quiscalus mexicanus*) as biomonitors of atmospheric heavy metal Pollution in urban areas of Monterrey, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 106(6), 983–988. <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03250-3>.
- Hall, D.M., Camilo, G.R., Tonietto, R.K., Ollerton, J., Ahrné, K., Arduser, M., Ascher, J.S., Baldock, K.C.R., Fowler, R., Frankie, G. (2017). The city as a refuge for insect pollinators. *Conserv. Biol.* 31(1), 24–29. <https://doi.org/10.1111/cobi.12840>.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001). Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 4(1), 9. https://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- Hanfi, M.Y., Mostafa, M.Y.A., Zhukovsky, M.V. (2020). Heavy metal contamination in urban surface sediments: sources, distribution, contamination control, and remediation. *Environ. Monit. Assess.* 192(1), 1–21. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7947-5>.
- Heinrichs, H. (1977). Emissions of 22 elements from brown-coal combustion. *Sci. Nat.* 64(9), 479–481. <https://doi.org/10.1007/BF00446259>.

- Hernández-Acosta, E., Mondragón-Romero, E., Cristobal-Acevedo, D., Rubiños-Panta, J.E., Robledo-Santoyo, E. (2009). Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jal de Pachuca, Hidalgo, México. *Rev. Chapingo Ser. Cie.* 15(2), 109–114. Available at: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v15n2/v15n2a4.pdf>. (Accessed 11 December 2023).
- Hladun, K.R., Smith, B.H., Mustard, J.A., Morton, R.R., Trumble, J.T. (2012). Selenium toxicity to honey bee (*Apis mellifera* L.) pollinators: effects on behaviors and survival. *PloS One* 7(4), e34137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034137>.
- Hladun, K.R., Parker, D.R., Trumble, J.T. (2015). Cadmium, copper, and lead accumulation and bioconcentration in the vegetative and reproductive organs of *Raphanus sativus*: implications for plant performance and pollination. *J. Chem. Ecol.* 41, 386–395. <https://doi.org/10.1007/s10886-015-0569-7>.
- Hladun, K.R., Di, N., Liu, T., Trumble, J.T. (2016). Metal contaminant accumulation in the hive: consequences for whole-colony health and brood production in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Environ. Toxicol. Chem.* 35(2), 322–329. <https://doi.org/10.1002/etc.3273>.
- Holmstrup, M., Bindesbøl, A.M., Oostingh, G.J., Duschl, A., Scheil, V., Köhler, H.R., Loureiro, S., Soares, A.M.V.M., Ferreira, A.L.G., Kienle, C. (2010). Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: a review. *Sci. Total Environ.* 408(18), 3746–3762. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.067>.
- Hou, D., O'Connor, D., Nathanail, P., Tian, L., Ma, Y. (2017). Integrated GIS and multivariate statistical analysis for regional scale assessment of heavy metal soil contamination: a critical review. *Environ. Pollut.* 231, 1188–1200. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.021>.
- Ilijević, K., Vujanović, D., Orčić, S., Purać, J., Kojić, D., Zarić, N., Gržetić, I., Blagojević, D.P., Čelić, T.V. (2021). Anthropogenic influence on seasonal and spatial variation in bioelements and non-essential elements in honeybees and their hemolymph. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 239, 108852. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108852>.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2017). Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2017. México. Available at: <https://www.inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825095093>. (Accessed 30 January 2024).

- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2019). Marco geoestadístico municipal. México. Available at: <https://www.Inegi.Org.Mx/App/Mapas/?T=0170000000000000>. (Accessed 30 January 2024).
- IPBES. (2016). The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. Bonn, Germany. Available at: <https://nora.nerc.ac.uk/id/eprint/519227>. (Accessed 15 June 2023).
- Jonathan, M.P., Jayaprakash, M., Srinivasalu, S., Roy, P.D., Thangadurai, N., Muthuraj, S., Stephen-Pitchaimani, V. (2010). Evaluation of acid leachable trace metals in soils around a five centuries old mining district in Hidalgo, Central Mexico. *Water Air Soil Pollut.* 205, 227–236. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0068-y>.
- Jones, K.C. (1987). Honey as an indicator of heavy metal contamination. *Water Air Soil Pollut.* 33(1), 179–189. <https://doi.org/10.1007/bf00191386>.
- Kaiser, H.F. (1960). The application of electronic computers to factor analysis. *Educ. Psychol. Meas.* 20, 141–151. <https://doi.org/10.1177/001316446002000116>.
- Karali, D., Stavridis, A., Loupa, G., Rapsomanikis, S. (2020). Dispersion effects of particulate lead (Pb) from the stack of a lead battery recycling plant. *Energies* 13(21), 5690. <https://doi.org/10.3390/en13215690>.
- Klein, A.M, Vaissiere, B.E, Cane, J.H, Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. Royal Soc. B.* 274:303-313. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721>.
- Lambert, O., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., Larhantec, M., Delbac, F., Pouliquen, H. (2012). Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination. *Environ. Pollut.* 170, 254–259. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.012>.
- Langellotto, G.A., Melathopoulos, A., Messer, I., Anderson, A., McClintock, N., Costner, L. (2018). Garden pollinators and the potential for ecosystem service flow to urban and peri-urban agriculture. *Sustainability* 10(6), 2047. <https://doi.org/10.3390/su10062047>.
- Leita, L., Muhlbachova, G., Cesco, S., Barbattini, R., Mondini, C. (1996). Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination. *Environ. Monit. Assess.* 43(1), 1–9. <https://doi.org/10.1007/bf00399566>.

- Li, G., Sun, G., Ren, Y., Luo, X., Zhu, Y. (2018). Urban soil and human health: a review. *Eur. J. Soil Sci.* 69(1), 196–215. <https://doi.org/10.1111/ejss.12518>.
- Liang, H., He, Y., Theodorou, P., Yang, C. (2023). The effects of urbanization on pollinators and pollination: a meta-analysis. *Ecol. Lett.* 26(9), 1629–1642. <https://doi.org/10.1111/ele.14277>.
- Liu, T., Shah, A., Zha, H.G., Mohsin, M., Ishtiaq, M. (2013). Floral nectar composition of an outcrossing bean species *Mucuna sempervirens* Hemsl (Fabaceae). *Pak. J. Bot*, 45(6), 2079–2084. Available at: <http://142.54.178.187:9060/xmlui/handle/123456789/15670> (Accessed 10 May 2023).
- Lizárraga-Mendiola, L., Ángeles-Chávez, D.E., Blanco-Piñón, A., Ramírez-Cardona, M., Olguín-Coca, F.J., del Refugio González-Sandoval, M. (2014). Contamination potential of an urban mine tailings deposit in Central Mexico-a preliminary estimation. *Int. J. Geosci.* 5(03), 296. <https://doi.org/10.4236/ijg.2014.53030>.
- Lottermoser, B. (2007). *Mine Wastes: Characterization, Treatment and Environmental Impacts*. Springer, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-12419-8>.
- Matin, G., Kargar, N., Buyukisik, H.B. (2016). Bio-monitoring of cadmium, lead, arsenic and mercury in industrial districts of Izmir, Turkey by using honey bees, propolis and pine tree leaves. *Ecol. Eng.* 90, 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.035>.
- Mayda, N., Özkök, A., Ecem Bayram, N., Gerçek, Y.C., Sorkun, K. (2020). Bee bread and bee pollen of different plant sources: determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. *J. Food Meas. Charact.* 14(4), 1795–1809. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00427-y>.
- Moreno, R., Monroy, M.G., Castañeda, E.P. (2009). Geochemical evaluation of mining wastes (tailings) of epithermal ore mineralization, Hidalgo, Mexico. *Rev. Geól. Amér. Central* (41), 79–97. Available at: <https://www.redalyc.org/pdf/454/45437348007.pdf>. (Accessed 7 September 2024).
- McGarigal, K., Stafford, S., Cushman, S. (2000). *Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research*. Springer, New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1288-1>.
- Mittermeier, R.A., Goettsch Mittermeier, C. (1997). *Megadiversity: Earth's Biologically Wealthiest Nations*. Cemex, Distrito Federal, Mexico.

- Mogren, C.L., Trumble, J.T. (2010). The impacts of metals and metalloids on insect behavior. *Entomol. Exp. Appl.* 135(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2010.00967.x>.
- Monchanin, C., Blanc-Brude, A., Drujon, E., Negahi, M.M., Pasquaretta, C., Silvestre, J., Baqué, D., Elger, A., Barron, A.B., Devaud, J.M., Lihoreau, M. (2021a). Chronic exposure to trace lead impairs honey bee learning. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 212, 112008. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112008>.
- Monchanin, C., Devaud, J.M., Barron, A.B., Lihoreau, M. (2021b). Current permissible levels of metal pollutants harm terrestrial invertebrates. *Sci. Total Environ.* 779, 146398. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146398>
- Monchanin, C., de Brito Sanchez, M.G., Lecouvreur, L., Boidard, O., Méry, G., Silvestre, J., Le Roux, G., Baqué, D., Elger, A., Barron, A.B. (2022). Honey bees cannot sense harmful concentrations of metal pollutants in food. *Chemosphere* 297, 134089. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134089>.
- Moroń, D., Szentgyörgyi, H., Skórka, P., Potts, S.G., Woyciechowski, M. (2014). Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. *Insect Conserv. Divers.* 7(2), 113–121. <https://doi.org/10.1111/icad.12040>.
- Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., González-Hernández, G., Romero, F., Lozano, R., Beramendi-Orosco, L.E. (2009). Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City. *J. Geochem. Explor.* 101(3), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2008.07.002>.
- Morton-Bermea, O., Garza-Galindo, R., Hernández-Álvarez, E., Amador-Muñoz, O., Garcia-Arreola, M.E., Ordoñez-Godínez, S.L., Beramendi-Orosco, L., Santos-Medina, G.L., Miranda, J., Rosas-Pérez, I. (2018). Recognition of the importance of geogenic sources in the content of metals in PM 2.5 collected in the Mexico City Metropolitan Area. *Environ. Monit. Assess.* 190, 1–18. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6443-z>.
- Müller, A., Österlund, H., Marsalek, J., Viklander, M. (2020). The pollution conveyed by urban runoff: a review of sources. *Sci. Total Environ.* 709, 136125. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136125>.
- Nakamura, S., Igarashi, T., Uchida, Y., Ito, M., Hirose, K., Sato, T., Mufalo, W., Chirwa, M., Nyambe, I., Nakata, H., Nakayama, S., Ishizuka, M. (2021). Evaluation of dispersion of lead-

- bearing mine wastes in Kabwe District, Zambia. *Minerals* 11(8), 901. <https://doi.org/10.3390/min11080901>.
- Nava-Diaz, R., Hoogesteijn, A.L., Erosa, M.D., Febles, J.L., Mendez-Gonzalez, R.M. (2015). Comparative study of lead concentration in feathers of urban and rural passerines in Merida, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 95(4), 470–474. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1628-z>.
- Negri, I., Mavris, C., Di Prisco, G., Caprio, E., Pellecchia, M. (2015). Honey bees (*Apis mellifera* L.) as active samplers of airborne particulate matter. *PLoS One* 10(7), e0132491. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132491>.
- NOM (Norma Oficial Mexicana, NOM-002-SAG/GAN-2016). (2016). Actividades técnicas y operativas aplicables al programa nacional para el control de la abeja africana. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. Available at: https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5455751&fecha=05/10/2016#gsc.tab=0. (Accessed 15 September 2023).
- Nriagu, J.O., Pacyna, J.M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333(6169) 134–139. <https://doi.org/10.1038/333134a0>.
- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>.
- Ollerton, J. (2017). Pollinator diversity: distribution, ecological function, and conservation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 48. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919>.
- Orsini, F., Kahane, R., Nono-Womdim, R., Gianquinto, G. (2013). Urban agriculture in the developing world: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 33, 695–720. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0143-z>.
- Papa, G., Capitani, G., Capri, E., Pellecchia, M., Negri, I. (2021). Vehicle-derived ultrafine particulate contaminating bees and bee products. *Sci. Total Environ.* 750, 141700. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141700>.
- Pavlović, R., Brodschneider, R., Goessler, W., Stanisavljević, L., Vujčić, Z., Zarić, N.M. (2024). Micronutrient deficiency may be associated with the onset of chalkbrood disease in honey bees. *Insects* 15(4), 269. <https://doi.org/10.3390/insects15040269>.
- Pérez-Segovia, A.D. (2018). Evaluación de contaminación de suelo por metales pesados en Pachuca, Hidalgo. Bachelor in Biology Thesis. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

- Hidalgo, México. Available at: <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/handle/231104/2145>. (Accessed 7 September 2024).
- Perugini, M., Manera, M., Grotta, L., Abete, M.C., Tarasco, R., Amorena, M. (2011). Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: honeybees as bioindicators. *Biol. Trace Elem. Res.* 140(2), 170–176. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8688-z>.
- Polykretis, P., Delfino, G., Petrocelli, I., Cervo, R., Tanteri, G., Montori, G., Perito, B., Branca, J.J.V., Morucci, G., Gulisano, M. (2016). Evidence of immunocompetence reduction induced by cadmium exposure in honey bees (*Apis mellifera*). *Environ. Pollut.* 218, 826–834. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.006>.
- Raffa, C.M., Chiampo, F., Shanthakumar, S. (2021). Remediation of metal/metalloid-polluted soils: a short review. *Appl. Sci.* 11(9), 4134. <https://doi.org/10.3390/app11094134>.
- Ramos-H., D., Medellín, R.A., Morton-Bermea, O. (2020). Insectivorous bats as biomonitor of metal exposure in the megalopolis of Mexico and rural environments in Central Mexico. *Environ. Res.* 185, 109293. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109293>.
- Rashed, M.N., El-Haty, M.T.A., Mohamed, S.M. (2009). Bee honey as environmental indicator for pollution with heavy metals. *Toxicol. Environ. Chem.* 91(3), 389–403. <https://doi.org/10.1080/02772240802294870>.
- Rodríguez Martín, J.A., De Arana, C., Ramos-Miras, J.J., Gil, C., Boluda, R. (2015). Impact of 70 years urban growth associated with heavy metal pollution. *Environ. Pollut.* 196, 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.10.014>.
- Roman, A. 2010. Levels of copper, selenium, lead, and cadmium in forager bees. *Polish J. of Environ. Stud.* 19(3), 663–669. Available at: https://www.pjoes.com/pdf-88433-22291?filename=Levels%20of%20Copper_.pdf. (Accessed 30 January 2024).
- Rothman, J.A., Leger, L., Kirkwood, J.S., McFrederick, Q.S. (2019). Cadmium and selenate exposure affects the honey bee microbiome and metabolome, and bee-associated bacteria show potential for bioaccumulation. *Appl. Environ. Microbiol.* 85(21), e01411-19. <https://doi.org/10.1128/aem.01411-19>.
- Rzedowski, J. (2006). *Vegetación de México*. 1ra. Edición Digital. Comisión Nacional Para El Conocimiento y Uso de La Biodiversidad, México.

- Sadowska, M., Gogolewska, H., Pawelec, N., Sentkowska, A., Krasnodębska-Ostreęga, B. (2019). Comparison of the contents of selected elements and pesticides in honey bees with regard to their habitat. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26(1), 371–380. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3612-8>.
- Sahu, C., Basti, S. (2021). Trace metal pollution in the environment: a review. *Int. J. Environ. Sci. Te.* 18(1), 211–224. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02779-w>.
- Sánchez-Echeverría, K., Castellanos, I., Mendoza-Cuenca, L., Zuria, I., Sánchez-Rojas, G. (2019). Reduced thermal variability in cities and its impact on honey bee thermal tolerance. *PeerJ* 7, e7060. <http://doi.org/10.7717/peerj.7060>.
- Satta, A., Verdinelli, M., Ruiu, L., Buffa, F., Salis, S., Sassu, A., Floris, I. (2012). Combination of beehive matrices analysis and ant biodiversity to study heavy metal pollution impact in a post-mining area (Sardinia, Italy). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19(9), 3977–3988. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0921-1>.
- Sattler, J.A.G., De-Melo, A.A.M., Nascimento, K.S., Melo, I.L.P. Mancini-Filho, J., Sattler, A., Almeida-Muradian, L.B. (2016). Essential minerals and inorganic contaminants (barium, cadmium, lithium, lead and vanadium) in dried bee pollen produced in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Food Sci. Technol.* 36, 505–509. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.0029>.
- Sauthier, R., I'Anson Price, R., Grüter, C. (2017). Worker size in honeybees and its relationship with season and foraging distance. *Apidologie* 48:234–246. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0468-0>.
- Scott, S.B., Sivakoff, F.S., Gardiner, M.M. (2022). Exposure to urban heavy metal contamination diminishes bumble bee colony growth. *Urban Ecosyst.* 25(3), 989–997. <https://doi.org/10.1007/s11252-022-01206-x>.
- SEDATU (Secretaría de Desarrollo Agrario, Territorial y Urbano). (2018). Delimitación de las Zonas Metropolitanas de México 2015. Secretaria de Desarrollo Agrario, Territorial y Urbano, Consejo Nacional de Población, Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México. Available at: https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/702825006792.pdf. (Accessed 30 January 2024).
- Seto, K.C., Fragkias, M., Güneralp, B., Reilly, M.K. (2011). A meta-analysis of global urban land expansion. *PloS One* 6(8), e23777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023777>.

- SGM (Servicio Geológico Mexicano). (2021). Panorama Minero del Estado de Hidalgo. Secretaría de Economía. México. Available at: <https://www.sgm.gob.mx/pdfs/HIDALGO.pdf>. (Accessed 30 January 2024).
- Sivakoff, F.S., Prajzner, S.P., Gardiner, M.M. (2020). Urban heavy metal contamination limits bumblebee colony growth. *J. Appl. Ecol.* 57(8), 1561–1569. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13651>.
- Smith, K.E., Weis, D. (2020). Evaluating spatiotemporal resolution of trace element concentrations and Pb isotopic compositions of honeybees and hive products as biomonitors for urban metal distribution. *GeoHealth*, 4(7), e2020GH000264. <https://doi.org/10.1029/2020GH000264>.
- Smith, K.E., Weis, D. (2022). Metal and Pb isotope characterization of particulates encountered by foraging honeybees in Metro Vancouver. *Sci. Total Environ.* 826, 154181. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154181>.
- Søvik, E., Perry, C.J., LaMora, A., Barron, A.B., Ben-Shahar, Y. (2015). Negative impact of manganese on honeybee foraging. *Biol. Letters* 11(3), 20140989. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0989>.
- Starska, K. (1993). Aluminum in food. *Rocz. Panstw. Zakl. Hig.* 44(1), 55–63. <https://doi.org/10.1001/jama.1936.02770030010055>.
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D.J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In: Luch, a. (Ed.), *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology* (Vol. 101, pp. 133–164). Springer, Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6.
- Theodorou, P., Radzevičiūtė, R., Lentendu, G., Kahnt, B., Husemann, M., Bleidorn, C., Settele, J., Schweiger, O., Grosse, I., Wubet, T. (2020). Urban areas as hotspots for bees and pollination but not a panacea for all insects. *Nat. Commun.* 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14496-6>.
- Thimmegowda, G.G., Mullen, S., Sottolare, K., Sharma, A., Mohanta, S.S., Brockmann, A., Dhandapany, P.S., Olsson, S.B. (2020). A field-based quantitative analysis of sublethal effects of air pollution on pollinators. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 117(34), 20653–20661. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009074117>.
- Tomczyk, M., Zagula, G., Puchalski, C., Dżugan, M. (2020). Transfer of some toxic metals from soil to honey depending on bee habitat conditions. *Acta Univ. Cibiniensis, Ser. Food Technol.* 24(1), 49–59. <https://doi.org/10.2478/auaft-2020-0005>.

- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2019). World Urbanization Prospects: The 2018 Revision. United Nations. New York. Available at: <https://population.un.org/wup/Publications/Files/WUP2018-Report.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- U.S.EPA. (2024). Integrated Science Assessment (ISA) for Lead (Final Report). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-23/375, 2024. Available at: <https://assessments.epa.gov/isa/document/&deid=359536>. (Accessed 7 September 2024).
- Van Der Steen, J.J.M., de Kraker, J., Grotenhuis, T. (2012). Spatial and temporal variation of metal concentrations in adult honeybees (*Apis mellifera* L.). Environ. Monit. Assess. 184(7), 4119–4126. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2248-7>.
- Vincze, E., Seress, G., Lagisz, M., Nakagawa, S., Dingemanse, N.J., Sprau, P. (2017). Does urbanization affect predation of bird nests? A meta-analysis. Front. Ecol. Evol. 5, 29. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00029>.
- Vishchur, V.Y., Gutyj, B.V, Nischemenko, N.P., Kushnir, I.M., Salata, V.Z., Tarasenko, L.O., Khimych, M.S., Kushnir, V.I., Kalyn, B.M., Magrelo, N.V. (2019). Effect of industry on the content of fatty acids in the tissues of the honey-bee head. Ukr. J. Ecol. 9(3), 174-179. Available at: <https://www.ujecology.com/articles/effect-of-industry-on-the-content-of-fatty-acids-in-the-tissues-of-the-honeybee-head.pdf> (Accessed 15 June 2023).
- Watts, P., Howe, P. 2010. Strontium and Strontium Compounds. Concise International Chemical Assessment Document 77. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Available at: <https://incchem.org/documents/cicads/cicads/cicad77.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- Wenzel, A., Grass, I., Belavadi, V.V, Tschardtke, T. (2020). How urbanization is driving pollinator diversity and pollination—A systematic review. Biol. Conserv. 241, 108321. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.108321>.
- Winfree, R., Bartomeus, I., Cariveau, D.P. (2011). Native pollinators in anthropogenic habitats. Annu. Rev. Ecol. Evol. S. 42, 1–22. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102710-145042>.
- Xun, E., Zhang, Y., Zhao, J., Guo, J. (2018). Heavy metals in nectar modify behaviors of pollinators and nectar robbers: consequences for plant fitness. Environ. Pollut. 242, 1166–1175. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.128>.

- Yan, Z., Teng, M., He, W., Liu, A., Li, Y., Wang, P. (2019). Impervious surface area is a key predictor for urban plant diversity in a city undergone rapid urbanization. *Sci. Total Environ.* 650, 335–342. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.025>.
- Zarić, N.M., Ilijević, K., Stanisavljević, L., Gržetić, I. (2016). Metal concentrations around thermal power plants, rural and urban areas using honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators. *Int. J. Environ. Sci. Te.* 13(2), 413–422. <https://doi.org/10.1007/S13762-015-0895-X>.
- Zarić, N. M., Ilijević, K., Stanisavljević, L., Gržetić, I. (2017). Use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators for assessment and source appointment of metal pollution. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 25828–25838. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0196-7>.
- Zarić, N. M., Deljanin, I., Ilijević, K., Stanisavljević, L., Ristić, M., Gržetić, I. (2018a). Honeybees as sentinels of lead pollution: Spatio-temporal variations and source appointment using stable isotopes and Kohonen self-organizing maps. *Sci. Total Environ.* 642, 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.040>.
- Zarić, N. M., Ilijević, K., Stanisavljević, L., Gržetić, I. (2018b). Use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators of spatial variations and origin determination of metal pollution in Serbia. *J. Serb. Chem. Soc.* 83(6), 773–784. <https://doi.org/10.2298/JSC171110018Z>.
- Zarić, N. M., Braeuer, S., Goessler, W. (2022a). Arsenic speciation analysis in honey bees for environmental monitoring. *J. Hazard. Mater.* 432, 128614. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128614>.
- Zarić, N.M., Brodschneider, R., Goessler, W. (2022b). Honey bees as biomonitors—variability in the elemental composition of individual bees. *Environ. Res.* 204, 112237. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112237>.
- Zhou, X., Taylor, M.P., Davies, P.J., Prasad, S. (2018). Identifying sources of environmental contamination in European honey bees (*Apis mellifera*) using trace elements and lead isotopic compositions. *Environ. Sci. Technol.* 52(3), 991–1001. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04084>.
- Zuñiga-Palacios, J., Zuria, I., Moreno, C.E., Almazán-Núñez, R.C., González-Ledesma, M. (2020). Can small vacant lots become important reservoirs for birds in urban areas? A case study for a Latin American city. *Urban For. Urban Gree.* 47, 126551. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2019.126551>.

Zvereva, E.L., Kozlov, M.V. (2010). Responses of terrestrial arthropods to air pollution: a meta-analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 297–311. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0138-0>.

Appendices

Appendix 1 Land use cover percentages measured in the metropolitan area of Pachuca

Site/ Land use cover	Georeferencing		Native vegetation	Introduced vegetation	Agricultural surface	Impervious surface	Bare soil
1	LN 20°05'36.52"	LO 98°44'54.77"	0.1507	0.0762	0	0.6869	0.0862
2	LN 20°7'0.508"	LO 98°45'53.09"	0	0.0213	0	0.6861	0.2925
3	LN 20°08'10.59"	LO 98°48'6.74"	0.8573	0.0008	0.0109	0.0768	0.0541
4	LN 20°02'20.94"	LO 98°42'22.73"	0.2665	0.0048	0.648	0.0437	0.0371
5	LN 20°04'44.56"	LO 98°44'17.53"	0.3271	0.0182	0.028	0.5298	0.0967
6	LN 9°59'58.52"	LO 98°48'6.74"	0.4244	0.0027	0.5323	0.0347	0.0059
7	LN 20°01'49.71"	LO 98°48'05.17"	0.4568	0.008	0.1039	0.4204	0.0109
8	LN 20°08'01.78"	LO 98°42'25.34"	0.9859	0	0	0.0141	0
9	LN 20°07'20.3"	LO 98°44'03.4"	0.0724	0.0987	0	0.7205	0.1084
10	LN 20°07'11.17"	LO 98°44'54.42"	0	0.0686	0	0.8259	0.1055
11	LN 20°07'41"	LO 98°44'04"	0.2854	0.0446	0	0.6091	0.061
12	LN 20°05'0.35"	LO 98°47'13.42"	0.5461	0.0324	0.1158	0.281	0.0247

Appendix 2 Concentrations of analyzed elements detected in the bodies of adult honeybees (mg/kg) from the metropolitan area of Pachuca and detection limits (DL)

Site/element	Cd	Cr	Mn	Sr	Bi	Cu	Zn	Al	Ag	Li	Pb	Ba
1	2.89	1.56	162.03	4.36	0*	852.26	101.83	100.91	2.31	7.29	0*	4.15
2	2.16	1.84	111.7	4.58	0*	787.6	88.28	61.33	4.99	7.09	0*	3.43
3	3.21	0*	114.13	3.12	0.34	523.56	56.16	77.64	1.38	17.99	0*	3.64
4	2.86	0.04	82.82	2.69	0.49	503.41	54.04	261.59	1.3	17.2	0*	3.25
5	2.1	1.39	144.16	3.43	0*	558.96	68.81	227.86	1.7	6.89	0*	4.03
6	2.65	0.39	209.79	5.85	0.54	461.61	64.33	161.24	1.42	16.76	0*	2.94
7	2.72	0.83	78.01	1.22	0*	609.5	62.22	108.16	1.67	7.39	0*	3.39
8	3.04	0.45	162.89	3.79	0.41	523.45	81.49	55.61	1.6	16.87	0*	2.63
9	2.23	1.42	116.27	6.05	0*	614.71	90.47	64.97	2.29	6.49	0*	5.08
10	2.97	0.92	108.91	3.33	0*	582.98	89.98	45.86	1.79	7.2	0*	1.88
11	2.83	0.7	112.57	6.24	0*	603.35	66.5	144	1.53	18.92	0*	4.16
12	2.61	1.02	103.89	3.15	0*	578.08	78.81	109.88	1.68	6.83	0*	3.5

*= below detection limit (BDL)

CAPÍTULO II Áreas urbanas como fuentes de metales y metaloides tóxicos: Un meta-análisis global de su impacto en las abejas

Áreas urbanas como fuentes de metales y metaloides tóxicos: Un meta-análisis global de su impacto en las abejas

Resumen

La urbanización modifica los hábitats y expone a los organismos a una cantidad de contaminantes sin precedentes, entre los que se encuentran los metales, que en cantidades suficientes pueden provocar efectos perjudiciales en diversos grupos de vertebrados e invertebrados que viven en entornos urbanos. Uno de los grupos biológicos que comúnmente están presentes en las ciudades son las abejas, los polinizadores de mayor importancia en ambientes modificados por el hombre. Debido a que las abejas se encuentran expuestas a los metales presentes en las ciudades durante sus actividades de forrajeo, es crucial estudiar su grado de exposición a estos contaminantes en relación con la urbanización. Se realizó un meta-análisis para determinar el impacto de la urbanización en el nivel de contaminación por metales en las abejas. Se obtuvieron 606 tamaños de efecto, correspondientes a las comparaciones entre los diferentes niveles de urbanización para cada metal analizado en las abejas consideradas en cada estudio, obtenidos 20 artículos publicados entre los años 2010 y 2022. Estos datos son representativos de cinco continentes, 11 países y 1 especie (*Apis mellifera* L.). El análisis general muestra una relación significativa y positiva entre el contenido de metales en abejas y el nivel de urbanización. A través de una regresión meta analítica para cada metal específico con respecto al nivel de urbanización se encontró una relación positiva entre la urbanización y la concentración de As, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Se y Zn presentes en las abejas, una relación negativa para Ba, Na y Sr y no se encontraron relaciones significativas para Al, B, Ca, Co, Cs, Li, Mg, Mn, S y V. Estos resultados pueden ser un reflejo indirecto de la contaminación de las plantas, el suelo, el aire y el agua a la que están expuestas las abejas que habitan en las áreas urbanas.

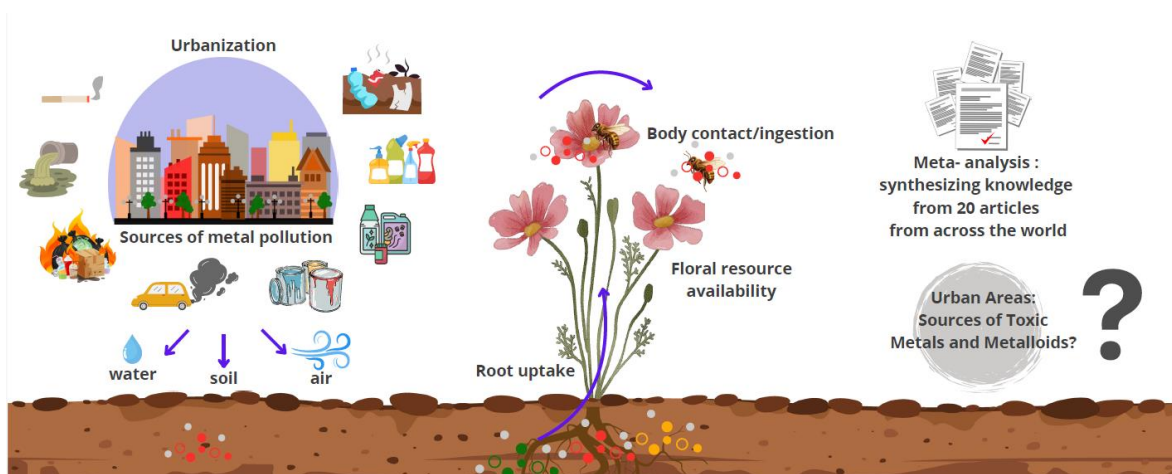
Palabras clave:

urban ecosystems; environmental pollution; pollinator; trace element; *Apis mellifera*; biomonitoring; urban sprawl

Puntos destacados

- Se integra el conocimiento sobre la contaminación en las abejas que habitan entornos urbanos utilizando un meta-análisis.
- La urbanización está relacionada con la mayoría de los metales que se han analizado en las abejas.
- Existe una necesidad de información sobre la contaminación en áreas urbanas en especies de abejas distintas a *Apis mellifera*
- El uso de abejas como bioindicadores de contaminación ambiental permite identificar posibles fuentes de contaminación asociadas a actividades humanas en diversas partes del mundo.

Resumen gráfico



Introducción

La expansión mundial de las áreas urbanas continúa acelerándose a una escala dramática. Actualmente, la mitad de la población global vive en ciudades, y para el año 2050, tantas personas vivirán en zonas urbanas como las que actualmente habitan en todo el planeta (United Nations et al., 2019). La urbanización es considerada uno de los principales impulsores globales del cambio en la biodiversidad (Seto et al., 2012; Urban et al., 2024), lo cual ha generado preocupación sobre su impacto en la biodiversidad, especialmente en los

polinizadores como las abejas (Tsang et al., 2025; Vanbergen, 2013; Wilson y Jamieson, 2019).

Una de las principales consecuencias de la urbanización intensiva, que hoy en día es un problema significativo en muchas ciudades del mundo, es el aumento en los niveles de contaminación, uno de los principales motores del cambio medioambiental (Grimm et al., 2008; Zvereva y Kozlov, 2010). Muchos de estos contaminantes, como los metales, no se degradan y se acumulan y persisten por años en altas concentraciones, especialmente en los suelos y plantas urbanos, aún después de que se eliminan las fuentes de contaminación (Islam et al., 2015). Los metales son contaminantes prevalentes en entornos urbanos (Hanfi et al., 2020; Li et al., 2018), siendo sus principales fuentes antropogénicas el tráfico vehicular, actividades de la construcción, manejo inadecuado de basura, combustión de carbón, actividades industriales y uso de fertilizantes y pesticidas (Bradl, 2005).

Las abejas, un grupo de invertebrados comúnmente presentes en las ciudades, y que llega a albergar un número importante de especies en diferentes ciudades del mundo (Cué-Hernández, 2014; Hall et al., 2017; Theodorou et al., 2020), son los polinizadores de mayor importancia en paisajes naturales y manejados (Klein et al., 2007). Las abejas pueden exponerse a metales potencialmente tóxicos al interactuar con las plantas que crecen en suelos contaminados, mediante el contacto con polen y néctar (Gutiérrez et al., 2020; Monchanin et al., 2022; Tomczyk et al., 2020), durante el vuelo (Negri et al., 2015) y mediante el consumo de agua contaminada (Celli y Maccagnani, 2003; Di et al., 2016; Hladun et al., 2016). Estos metales pueden acumularse en las abejas y otros insectos en concentraciones suficientemente altas como para causar efectos letales y subletales (Morón et al., 2014) lo que plantea preguntas sobre el impacto de las áreas urbanas en su salud y en los servicios de polinización que proveen. Ante este panorama, es prioritario conocer el efecto de la urbanización sobre las poblaciones de abejas con un énfasis especial en la contaminación. Entender cómo la urbanización afecta la concentración de compuestos potencialmente tóxicos como los metales en las abejas es especialmente relevante porque la contaminación por metales es considerada un factor importante asociado al declive de las abejas (IPBES, 2016), y tenemos conocimientos limitados sobre la relación entre la intensidad de la urbanización y la contaminación en las abejas y otros polinizadores (Fenoglio et al., 2020; Hernández-Medina et al., 2025).

Si bien numerosos estudios en diversas regiones del mundo han documentado la presencia de metales en abejas, existe una necesidad de integrar el conocimiento existente de manera que contemple la variabilidad entre diferentes ciudades y regiones del planeta. Esta integración facilitaría extraer conclusiones más amplias sobre cómo la urbanización afecta la exposición de las abejas a estos contaminantes. Además, permitiría una comprensión más profunda de los posibles efectos de la contaminación por metales y metaloides en las abejas y proporcionaría una visión indirecta sobre el nivel de contaminación que presentan los ecosistemas urbanos. Con la finalidad de integrar el estado de conocimiento actual sobre este tema, se realizó un meta-análisis bibliográfico (Glass, 1976). Este análisis se empleó para revisar y sintetizar la literatura publicada que permitiese conocer si las áreas urbanas y el nivel de urbanización representan una fuente importante de contaminación por metales y metaloides de interés toxicológico para las abejas. De esta manera se busca contribuir al conocimiento del peligro asociado a la exposición de estos elementos. Las abejas se emplearon como organismos modelo para probar la hipótesis siguiente: el contenido de metales y metaloides de interés toxicológico en las abejas será mayor en áreas urbanas que en áreas no urbanas entre diferentes niveles de urbanización a través de un meta-análisis categórico sobre los datos publicados.

Métodos

Protocolo de búsqueda y recolección de datos

Con la finalidad de identificar estudios publicados que comparen la concentración de metales y metaloides de interés toxicológico en abejas entre sitios con diferente nivel de urbanización, se siguió el protocolo PRISMA para la obtención de datos a partir de literatura publicada (Moher, 2009; Nakagawa y Poulin, 2012). Asimismo, se empleó un diagrama de flujo PRISMA (Figuras Figura 1, Figura 2) (Page et al., 2021), para seguir y documentar el proceso de selección de literatura relevante para esta revisión. Se realizó una búsqueda exhaustiva en la base de datos Web of Science (Clarivate, 2022) cubriendo el periodo 1980 a 2021 con los siguientes términos: ((bee* OR honeybee* OR Apis or *bee) AND (metals OR heavy metals OR trace metals OR trace elements OR elements OR metalloids OR heavy metals) AND (*urban* OR rural)).

Posteriormente, se realizó una segunda búsqueda en el mismo motor, cubriendo el periodo 1980 a 2022 con la finalidad de integrar estudios realizados con otros grupos de abejas, así como trabajos que utilizaran los términos generales "pollinator*" o "Apoidea". Estos términos no fueron considerados en la búsqueda inicial, ya que en ese momento no se había anticipado su relevancia para el enfoque de esta revisión. Adicionalmente, al revisar los primeros resultados, se reconoció la necesidad de ampliar el espectro taxonómico y terminológico para asegurar una mayor cobertura y evitar la omisión de estudios potencialmente relevantes. Para ello, se emplearon los términos: ((honeybee* OR Apis OR Apoidea OR Bombus OR Osmia OR Megachile OR Nomia OR Stingless or pollinator* or pollinat*) AND (metals OR heavy metals OR trace metals OR trace elements OR elements OR metalloids OR heavy metals) AND (urban* OR rural)). Los términos *urban* y rural, se emplearon con el propósito de identificar estudios que compararan sitios con diferentes niveles de urbanización.

El protocolo de búsqueda empleado resultó en un total de 1321 publicaciones, 1158 de la primera búsqueda y 163 de la segunda búsqueda. La primera revisión descartó 12 registros duplicados. De las 1309 publicaciones restantes se examinaron los títulos y resúmenes para remover referencias no compatibles con el objetivo. Para ser adecuadas para el meta-análisis, las publicaciones debieron cumplir con los siguientes criterios de inclusión: 1) el estudio fue

realizado en un área urbana e incluyó una comparación entre sitios con diferente nivel de urbanización; 2) el estudio midió y reportó concentraciones de metales en el cuerpo de las abejas ($\pm$ SD con tamaños de muestra); 3) el estudio contaba con información que permitiese conocer el nivel de urbanización de los sitios (basados en los criterios de Vincze et al., (2017) así como datos suficientes para el cálculo del tamaño de efecto. Se identificaron 81 artículos potenciales que fueron leídos a texto completo, de los cuales se excluyeron 59 artículos basados en los criterios de exclusión para el meta-análisis y 2 más se obtuvieron de otras fuentes. En total se seleccionaron 24 artículos para el análisis.

Extracción de la información

Se extrajo la siguiente información de cada estudio: región geográfica, ciudad o ciudades de estudio, país, especies involucradas en el estudio, sitios de estudio, así como información que permitiese la estandarización del nivel de urbanización entre estudios, elemento analizado, concentración, desviación estándar y tamaño de la muestra. Para estandarizar los niveles de urbanización de los sitios de estudio incluidos en el meta-análisis se consideraron cinco niveles de urbanización (natural < rural < a. exurbana < a. suburbana < a. urbana) basados en los criterios de Vincze et al., (2017), a los cuales se incorporó la categoría industrial con la finalidad de distinguir los sitios industriales de los sitios urbanizados, al considerar esta categoría como una categoría independiente de la urbanización. Los sitios de cada estudio fueron estandarizados por MEHM siguiendo la siguiente categorización:

- Área natural: Amplias áreas naturales (>200 ha) con poca o nula influencia antropogénica.
- Área rural: Paisaje dominado por características antropogénicas, tales como agricultura (área de cultivo, huerto o pastizal) o silvicultura muy intensiva (tala rasa), pero sin urbanización intensa. Podría incluir una baja densidad de viviendas (<2.5/ha) o una baja proporción de superficies impermeables (<10%). También se consideran aquí los pequeños parches de bosque u otras áreas naturales pequeñas (<200 ha), así como los bordes de los bosques dentro de estos paisajes.
- Área exurbana / borde suburbano: Paisaje en la proximidad de áreas urbanas o industriales desarrolladas, con una baja densidad de viviendas (<2.5/ha) o una baja proporción de superficies impermeables (10-20%) o bien con más del 80% de

vegetación. Por ejemplo, terrenos abandonados, campos de golf, áreas con viviendas unifamiliares; o un pequeño parche de bosque (<200 ha) dentro de una matriz suburbana.

- Área suburbana: paisaje con densidad de vivienda media (2.5-10/ha) o proporción media de superficies impermeables (20-50%) o una cobertura de vegetación entre 50-80%, por ejemplo, la mayoría de los parques urbanos, áreas residenciales con casas unifamiliares, césped y jardines, campus universitarios.
- Área urbana: Paisaje con alta densidad de viviendas (>10/ha, 1000/km²) o alta proporción de superficies impermeables (>50%) o menos del 50% de vegetación. Por ejemplo, áreas residenciales con edificios de varios pisos o cualquier tipo de edificio comercial, de servicios.
- Área industrial. Área con presencia industrial.

La estandarización del nivel de urbanización se basó en las descripciones cuantitativas y cualitativas de las áreas de estudio proporcionadas en los artículos seleccionados, estas incluyeron: descripciones de los sitios, porcentajes de cobertura de superficie impermeable y mapas de ubicación proporcionados por los autores.

Estimación del tamaño de efecto

Todos los valores que se requirieron para el cálculo de los tamaños de efectos fueron obtenidos de las bases de datos contenidas en las publicaciones, así como del texto, o de valores reportados en tablas o gráficos extraídos directamente o mediante herramientas como WebPlot Digitizer (<https://automeris.io/WebPlotDigitizer/>). Se obtuvieron todos los tamaños de efecto posibles de la combinación de los seis niveles de urbanización y para todas las variables disponibles en cada publicación. Posteriormente para cada comparación entre los diferentes niveles de urbanización, se calculó un tamaño de efecto común, la diferencia de medias estandarizada (Hedges' d) (Hedges y Olkin, 2014), entre las abejas provenientes de sitios urbanos y no urbanos:

$$d = \frac{\bar{Y}_1 - \bar{Y}_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}}J$$

$$J = 1 - \frac{3}{4(n_1 + n_2 - 2) - 1}$$

Donde $\overline{Y}_1$ y $\overline{Y}_2$ son las concentraciones medias de metal ($\text{mg} \times \text{kg}^{-1}$, materia seca) en especies de abejas encontradas en hábitats no urbanos (1) y urbanos (2), n_1 y n_2 son los tamaños de muestra de abejas de sitios no urbanos (1) y urbanos (2), y S_1 y S_2 son sus desviaciones estándar. Un valor de d negativo se refiere a una mayor concentración de metal en abejas de sitios urbanos con respecto a las abejas de sitios no urbanos.

La varianza de Hedges' d se calculó a través de la siguiente fórmula:

$$v_d = \frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2} + \frac{d^2}{2(n_1 + n_2)}$$

Donde v_d es la varianza de Hedge's, n_1 y n_2 son los tamaños de muestra de abejas de sitios no urbanos (1) y urbanos (2), y d^2 es la varianza

A continuación, se transformaron todos los tamaños de efecto al coeficiente de correlación de Pearson (Pearson r) mediante el empleo de la siguiente fórmula:

$$r = \sqrt{\frac{d^2 n_T n_C}{d^2 n_T n_C + n(n - 1)}}$$

$$n = n_T + n_C$$

Análisis estadísticos

Meta-análisis y meta-regresiones

De manera posterior, se normalizó r utilizando la transformación de Z de Fisher, esto se hizo dado que cuando la magnitud del coeficiente de correlación de Pearson se acerca a ± 1 , su distribución se sesga (Rosenberg et al., 2013) y con esta transformación todos los tamaños del efecto se ajustan a una distribución normal.

$$z = \frac{1}{2} \ln \left(\frac{1 + r}{1 - r} \right)$$

Donde: z es la z de Fisher y r es el coeficiente de correlación de Pearson (Pearson r).

Todos los análisis se realizaron utilizando los valores transformados (Z_r), pero los resultados se volvieron a transformar en coeficientes de correlación (r) para la interpretación visual a través de la siguiente fórmula:

$$r = \tanh(Z_r) = \frac{e^{2Z_r} - 1}{e^{2Z_r} + 1}$$

Posteriormente, se modificó manualmente el signo de los tamaños de efecto, con la intención de que todas las variables tuvieran el mismo significado biológico, que es un problema común en los meta-análisis donde las variables de respuesta pueden tener diferentes interpretaciones ecológicas y biológicas (Koricheva et al., 2013). Con esta modificación se garantizó que el contenido de metales en las abejas tuviese el mismo significado en relación con la urbanización.

Finalmente se utilizó un modelo meta analítico jerárquico, con el objetivo de controlar la no independencia del conjunto de datos. La no independencia puede presentarse cuando se extraen múltiples tamaños de efecto del mismo estudio, están disponibles múltiples tamaños de efecto para la misma especie y / o debido a relaciones filogenéticas entre especies (Nakagawa y Santos, 2012; Vincze et al., 2017).

Se consideró el ID del estudio y la especie como intersecciones aleatorias en los modelos para controlar la no independencia. Se realizó un análisis de metarregresión para identificar variables específicas que explican la heterogeneidad entre los estudios (Borenstein et al., 2021; Koricheva et al., 2013).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R Studio versión 4.1.2 (Team, 2021). Para el meta-análisis y las meta regresiones se utilizó el paquete metafor (Viechtbauer, 2010). Se utilizó el código de R de (Vincze et al., 2017) (https://github.com/mlagisz/nest_predation_MA) como ejemplo. En el 0 se muestra el código utilizado en el análisis. Se excluyó de los análisis estadísticos a los elementos que solo contaron con un registro (Bi, Ce, Cs, La, P, Rb, S, Si, Ti, U, Y), así como a los sitios considerados industriales al considerarse una categoría independiente de la urbanización.

Heterogeneidad y sesgo de publicación

Se cuantificó la heterogeneidad total en el conjunto de datos calculando I^2 (Higgins et al., 2003) aplicando una corrección para modelos de varios niveles (Nakagawa y Santos, 2012),

y el código de (Viechtbauer, 2010) para el software R. Se evaluó la evidencia del sesgo de publicación de tres maneras: 1) con un gráfico de embudo, 2) el cálculo del número de seguridad de Rosenthal y 3) con el método de recorte y relleno.

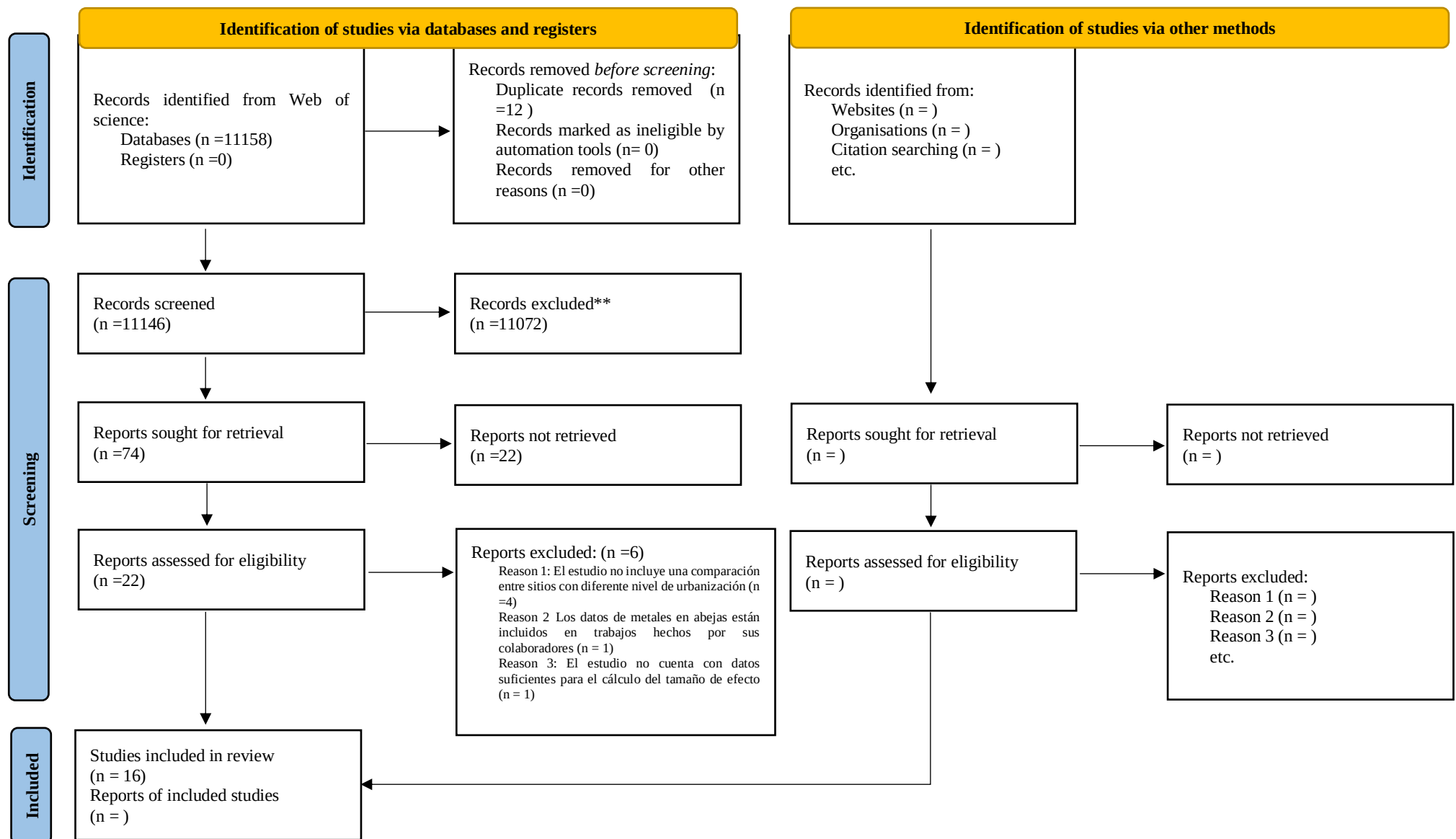


Figura 1 Diagrama de flujo de PRISMA 2020 (BMJ, 2021), correspondiente a la 1ª búsqueda (fecha de consulta: 02 de mayo de 2021) palabras clave: ((bee* OR honeybee* OR Apis or *bee) AND (metals OR heavy metals OR trace metals OR trace elements OR elements OR metalloids OR heavy metals) AND (*urban* OR rural)).

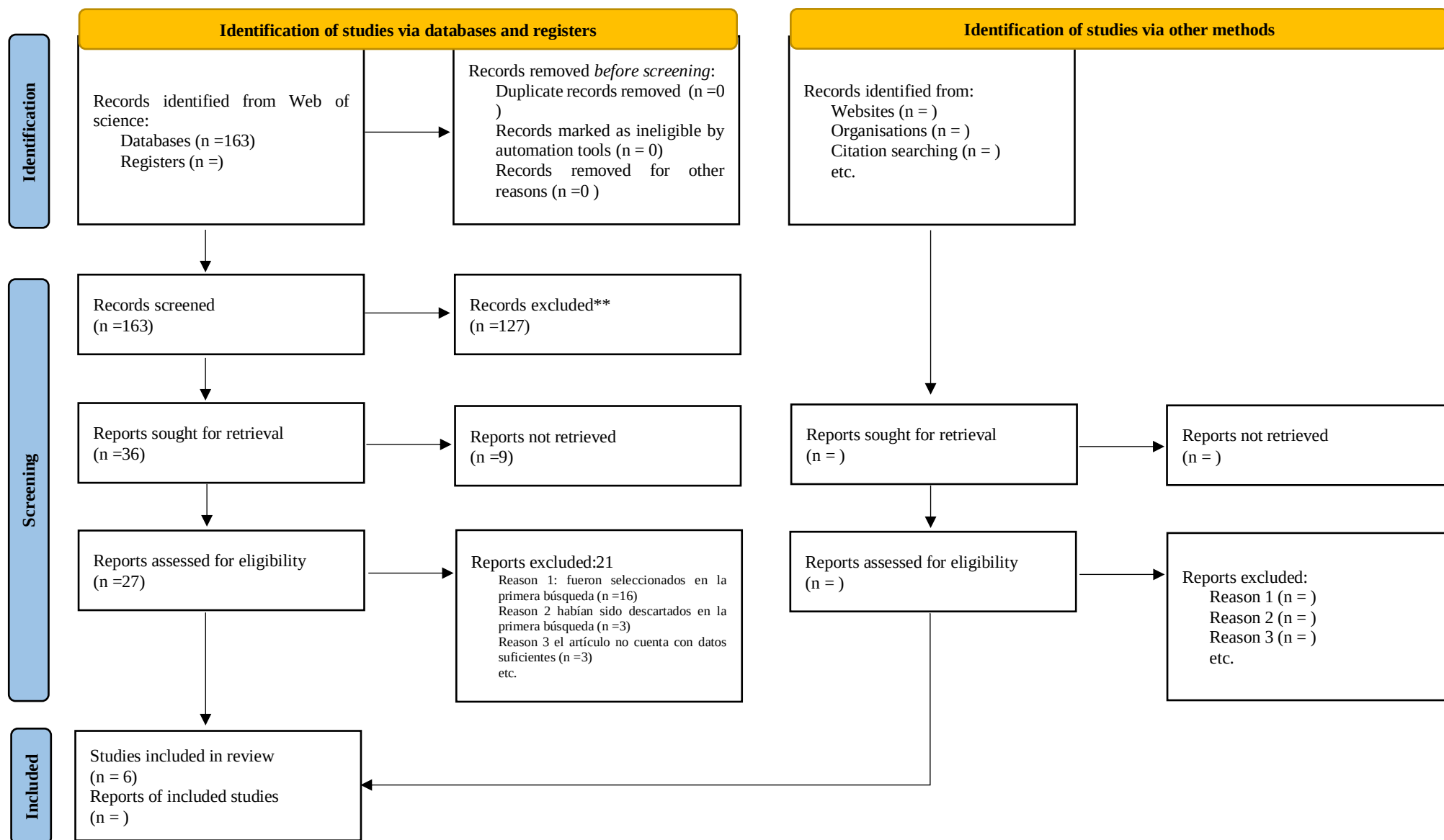


Figura 2 Diagrama de flujo de PRISMA 2020 (BMJ, 2021), correspondiente a la 2ª búsqueda (fecha de consulta: 28 de abril de 2022) ((honeybee* OR Apis OR Apoidea OR Bombus OR Osmia OR Megachile OR Nomia OR Stingless or pollinator* or pollinat*) AND (metals OR heavy metals OR trace metals OR trace elements OR elements OR metalloids OR heavy metals) AND (urban* OR rural)).

Resultados

En el meta-análisis realizado, se incluyó un total de 606 tamaños de efecto, provenientes de 20 artículos publicados entre los años 2010 y 2022 (0), que incluyeron estudios sobre la relación entre el nivel de urbanización y el contenido de metales en abejas. Estos tamaños de efecto integran todas las comparaciones posibles entre los niveles de urbanización para cada elemento analizado en las abejas en cada estudio. Los datos son representativos de cinco continentes, 11 países y 1 especie (*Apis mellifera* L.). La región mejor representada fue Europa. El análisis general muestra una relación significativa y positiva entre el contenido de metales en abejas y el nivel de urbanización. La media meta analítica fue de $(\beta)=0.3272$, con un intervalo de confianza del 95% (CI= 0.0764 a 0.5779), lo cual indica que en promedio y considerando todos los estudios incluidos, existe una relación entre el aumento del nivel de urbanización y el incremento en el contenido de metales en el cuerpo de las abejas. Los tamaños de efecto presentaron una alta heterogeneidad ($I^2= 75.14\%$) lo que indica que las variaciones en los resultados entre los estudios no se deben únicamente al azar, sino a diferencias sistemáticas en los efectos observados, lo cual se encuentra dentro de los criterios establecidos por Higgins et al. (2003) para clasificar la heterogeneidad (Higgins et al., 2003). A través de una regresión meta analítica para cada metal específico con respecto al nivel de urbanización, se encontraron diferentes tipos de relaciones. Se encontró una relación positiva entre el nivel de urbanización y la concentración de As, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Se y Zn en el cuerpo de las abejas; mientras que se observó una relación negativa entre el nivel de urbanización y la concentración de Ba, Na y Sr. Por otro lado, no se detectaron relaciones significativas entre el nivel de urbanización y las concentraciones corporales de Al, B, Ca, Co, Cs, Li, Mg, Mn, S y V en abejas (**Error! Reference source not found.**;Figura 3). Los tamaños de efecto presentaron una alta heterogeneidad ($I^2= 73.43\%$) indicando una alta variabilidad entre los estudios (Higgins et al., 2003).

Los resultados sobre la evaluación del sesgo de publicación mediante tres enfoques (el gráfico de embudo, el número de seguridad de Rosenthal y el método "Trim and Fill" o de recorte y relleno) muestran robustez y confiabilidad en los resultados obtenidos. El gráfico de embudo no mostró indicios de asimetría, lo que sugiere la ausencia de sesgo de publicación (Light y Pillemar, 1984). El número de seguridad de Rosenthal fue considerablemente alto (15,479), lo que resalta la solidez de los hallazgos al demostrar que

la relación positiva entre el nivel de urbanización y la concentración de metales en abejas se mantiene incluso frente a la posible existencia de un gran número de estudios no publicados o con resultados nulos (Koricheva et al., 2013). Finalmente, el análisis mediante el método "Trim and Fill" tampoco identificó estudios faltantes, lo que refuerza la consistencia del efecto estimado en el meta-análisis (Koricheva et al., 2013).

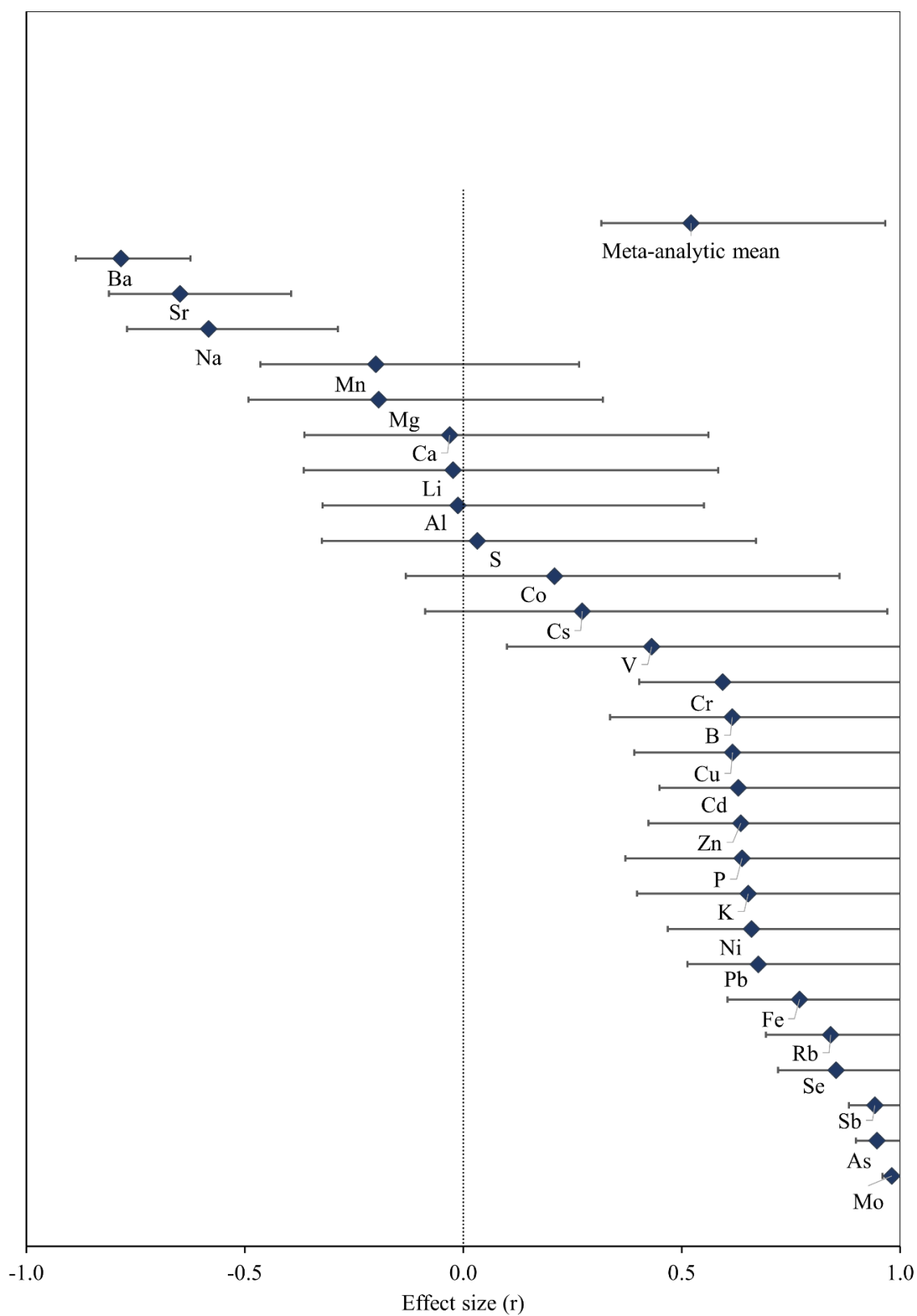


Figura 3 Forest plot que representa los tamaños del efecto (r) derivados de regresiones meta-analíticas para cada metal en función del nivel de urbanización

Discusión

El entendimiento de cómo la urbanización influye en la salud de la fauna es crucial para comprender la adaptación urbana, los conflictos humano-fauna y la conservación de la biodiversidad en las ciudades (Murray et al., 2019). Los resultados del meta-análisis proveen evidencia de que la concentración de los metales en las abejas incrementan significativamente con la urbanización, revelando un patrón preocupante en las ciudades, en donde las actividades humanas han provocado un deterioro ambiental (Fenoglio et al., 2021; Sahu y Basti, 2021). En este contexto, los metales se encuentran entre los contaminantes más comunes en las ciudades (Hanfi et al., 2020; Li et al., 2018) y su incremento general en las áreas de mayor urbanización se debe a su liberación a través de diversas fuentes, principalmente el tráfico vehicular, el desgaste de las superficies de pavimento, la gestión inadecuada de residuos, las actividades de construcción, la combustión de carbón, las actividades industriales y mineras, y el uso de fertilizantes y pesticidas (Bradl, 2005).

A través de la regresión meta analítica para cada metal específico con respecto al nivel de urbanización, se encontró una relación positiva para As, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Se y Zn, lo cual indica que las concentraciones de estos elementos tienden a ser mayores en áreas más urbanizadas. El aumento de estos elementos en las abejas provenientes de los sitios más urbanizados puede deberse a diversas actividades humanas como la minería, quema de combustibles fósiles, tráfico vehicular y manejo de residuos (Apéndice 4), siendo el tráfico vehicular uno de los principales contribuyentes de las emisiones de As, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mo, Ni, P, Pb, Sb, Se y Zn (Apéndice 4). Es sabido que las emisiones de elementos como Cd, Cr, Cu y Zn se derivan del uso de pastillas de frenos, desgaste e incineración de llantas y desgaste de carreteras, así como de emisiones de vehículos (Matin et al., 2016). Esto resalta el papel del tráfico vehicular como potencial fuente de contaminación por metales y metaloides de interés toxicológico en entornos urbanos. Aunado a ello, las concentraciones superiores de Rb en las áreas de mayor urbanización podrían explicarse por su estrecha relación con el K, ya que el Rb es un análogo químico del K (Peters et al., 1999) y a que ambos comparten fuentes de contaminación antropogénica, como la quema de carbón y otros productos de combustión asociados con el K (Seredin, 2003; Ward et al., 1999).

Las concentraciones de Al, B, Ca, Co, Cs, Li, Mg, Mn, S y V presentes en las abejas no se relacionaron significativamente con la urbanización. La falta de relación entre las dos

variables puede atribuirse a la existencia de diversas fuentes antropogénicas comúnmente dispersas dentro de zonas urbanas en los diferentes estudios. Estas fuentes de metales incluyen la aplicación de fertilizantes y fungicidas para el caso de Al, Li, Mn y S (Ebensperger et al., 2005; Gunier et al., 2014; Guttikunda et al., 2003; Kopáček et al., 2014; Senesi et al., 1979), la quema de carbón para el Al, Ca, Mg, Mn, S y V (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012c; Heinrichs, 1977; Imtiaz et al., 2015; Starska, 1993), la incineración de residuos municipales para el Al y Mn (Gekière et al., 2023; Starska, 1993), la acumulación de lodos y aguas residuales para Al, B, Ca, Cs, Li, Mn, S y V (Choi et al., 2019; Gekière et al., 2023; Hasenmueller y Criss, 2013; Kamei-Ishikawa et al., 2016; Mohiuddin et al., 2010; Pons-Branchu et al., 2017; Starska, 1993; Wright et al., 2011) y la aplicación de algunos herbicidas para el Co (Gekière et al., 2023).

Se encontró una relación negativa y significativa entre el nivel de urbanización y la concentración de Ba, Na y Sr en las abejas. Una posible explicación para esto es la presencia de áreas agrícolas en los sitios considerados rurales, en los cuales es habitual el empleo de productos agrícolas. La concentración de los tres metales puede aumentar considerablemente en los suelos agrícolas como resultado del uso de fertilizantes (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004c; Kravchenko et al., 2014; Moffett et al., 2007; Urbansky et al., 2001) y otros tipos de aditivos a los suelos como compostas, estiércol, aguas residuales (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004c; Kang et al., 2021; Muhammad et al., 2020). El Sr puede aumentar en los sistemas agrícolas tratados con cal agrícola para reducir la acidez de los suelos (Thomsen y Andreasen, 2019), el Ba al aplicar algunos insecticidas y fungicidas para el control de plagas agrícolas (Kravchenko et al., 2014; Martinez-Morata et al., 2023) y el Na al aplicar agua de riego (El-Ashry et al., 1985; Zaman et al., 2018).

Nuestros resultados, aunque valiosos, están sujetos a una serie de limitaciones que ofrecen perspectivas intrigantes y subrayan la complejidad inherente al estudio de la contaminación ambiental en áreas urbanas y naturales. En primer lugar, la variabilidad de las condiciones ambientales propias de cada área geográfica considerada representa un desafío significativo. Factores como el clima, el tipo de suelo, las actividades humanas, la composición del paisaje, el porcentaje de superficies impermeables, la precipitación, el viento y la temperatura podrían influir en la distribución de los elementos químicos. Esto, introduce un grado adicional de

incertidumbre, ya que se podrían trasladar contaminantes desde fuentes industriales o agrícolas distantes, lo que sugiere que algunos elementos detectados podrían no estar directamente relacionados con las áreas de estudio.

Adicionalmente, en su mayoría, los estudios considerados incluyen sitios con actividad industrial, sin embargo, la información de estos fue excluida dada la dificultad que la interpretación de estos resultados implicaría. Al enfocarnos solo en sitios no industriales, es posible observar con mayor claridad cómo influye el nivel de urbanización en la concentración de contaminantes. Por otro lado, debido a la categorización del nivel de urbanización empleada en este estudio, se incluyen los sitios agrícolas dentro del nivel de urbanización denominado rural y con ello se puede estar teniendo una interpretación errónea del nivel de urbanización debido a que los sitios agrícolas pudieran tener una presencia importante de elementos contaminantes. Esta clasificación puede llevar a una interpretación incorrecta del nivel de urbanización. Reconocer esta limitación permite mejorar futuras investigaciones, por ejemplo, proponiendo categorías más precisas que diferencien entre áreas rurales agrícolas y rurales no agrícolas.

Aunado a ello, se evidencia una importante brecha de conocimiento en cuanto a otras especies de abejas, ya que todos los estudios incluidos en este meta-análisis se enfocan exclusivamente en *Apis mellifera*. Además, la información disponible muestra un fuerte sesgo geográfico hacia Europa, siendo especialmente notable que solo se ha identificado un estudio proveniente de América Latina (Hernández-Medina et al., 2025). Esta limitada representación no solo reduce la posibilidad de hacer comparaciones globales, sino que también deja fuera contextos ecológicos clave, como los de regiones tropicales, las fuentes de contaminación pueden diferir considerablemente.

A pesar de estas limitaciones, cada una de ellas abre puertas a nuevas preguntas y direcciones futuras para la investigación. Estas observaciones no solo destacan la complejidad de los sistemas ambientales, sino que también subrayan la necesidad de enfoques interdisciplinarios y metodologías avanzadas para abordar estos desafíos de manera integral.

Los resultados de este meta-análisis ofrecen una perspectiva valiosa sobre el impacto de la urbanización en el contenido de metales en abejas, organismos esenciales para la salud y funcionamiento de los ecosistemas (Klein et al., 2007). Aunque estudios recientes han explorado la relación entre urbanización y contaminación en polinizadores (Fenoglio et al.,

2020; Wenzel et al., 2020), este trabajo amplía el conocimiento al demostrar que algunos metales y metaloides de interés toxicológico están significativamente asociados con el nivel de urbanización. Estos resultados sugieren que algunos metales y metaloides de interés toxicológico presentes en las abejas, están significativamente relacionados con el nivel de urbanización, lo cual puede ser un reflejo indirecto de la contaminación de las plantas, el suelo, el aire y el agua en las áreas cubiertas por las actividades de alimentación de las abejas y sugieren la existencia de fuentes de contaminación asociadas a actividades antrópicas que tienen lugar en las áreas urbanas.

Estos hallazgos no solo refuerzan la evidencia sobre los efectos de la urbanización en la fauna silvestre, sino que también se suman al conjunto de amenazas que enfrentan los polinizadores: pérdida de hábitat, contaminación ambiental, nutrición deficiente, enfermedades, cambio climático y especies exóticas (Brown y Paxton, 2009; Goulson et al., 2015; Harrison y Winfree, 2015). Al proporcionar un análisis cuantitativo y comparativo sobre la acumulación de metales en abejas en distintos niveles de urbanización, este estudio contribuye de manera significativa a comprender los efectos de las presiones antrópicas sobre estos organismos clave, y ofrece una base para orientar futuras investigaciones y acciones de conservación en contextos urbanos.

Conclusión

Este meta-análisis proporciona una visión integral de cómo el nivel de urbanización influye en el contenido de metales en abejas, a través de la integración de 606 tamaños de efecto provenientes de 20 estudios. Dicho análisis, permite identificar patrones consistentes: varios metales de relevancia toxicológica (As, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mo, Ni, P, Pb, Rb, Sb, Se y Zn) tienden a incrementarse con el nivel de urbanización, lo que sugiere que estos contaminantes pueden ser liberados por diversas fuentes antropogénicas comunes en entornos urbanos, tales como el tráfico vehicular y la gestión inadecuada de residuos. Sin embargo, también observamos relaciones negativas en el caso de elementos como Ba, Na y Sr, lo que podría estar relacionado con la presencia de áreas agrícolas en las zonas rurales.

La alta heterogeneidad observada en los tamaños de efecto refleja la variabilidad de los datos y sugiere que los factores locales juegan un papel crucial en la distribución de los contaminantes. Mientras que los métodos de evaluación del sesgo de publicación confirmaron la fiabilidad de los hallazgos. Finalmente, los hallazgos de este meta-análisis

subrayan la importancia de abordar los efectos de la urbanización sobre la salud de los polinizadores, en particular las abejas, y destacan la necesidad de investigaciones adicionales que consideren otros géneros de abejas. Estos resultados abren nuevas líneas de investigación que permitirán comprender mejor las dinámicas de contaminación en áreas urbanas y sus implicaciones para la conservación de la biodiversidad.

Literatura citada

- Adeel, M., Zain, M., Shakoor, N., Ahmad, M. A., Azeem, I., Aziz, M. A., Tulcan, R. X. S., Rathore, A., Tahir, M., Horton, R., Xu, M. y Yukui, R. (2023). Global navigation of Lithium in water bodies and emerging human health crisis. *Npj Clean Water*, 6(1), 33. <https://doi.org/10.1038/s41545-023-00238-w>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2003). *Toxicological profile for Selenium*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp92.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2004a). *Toxicological profile for cesium*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp157.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2004b). *Toxicological profile for copper*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp132.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2004c). *Toxicological Profile for Strontium*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp159.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2005). *Toxicological Profile for zinc*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp60.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2008). *Toxicological profile for aluminum*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp22.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2010). *Toxicological profile for boron*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp26.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012a). *Toxicological profile for cadmium*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. . <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf>

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012b). *Toxicological Profile for chromium*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp7.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012c). *Toxicological profile for manganese*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp151.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2012d). *Toxicological profile for Vanadium*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp58.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2019). *Toxicological Profile for Antimony and Compounds*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp23.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2020). *Toxicological profile for Lead*. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2024). *Toxicological Profile for Cobalt*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp33.pdf>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2024). *Toxicological Profile for Nickel*. <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp15.pdf>
- ATSDR. (2007). Toxicological profile for arsenic. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Division of Toxicology, Atlanta, GA*.
- Board, C. A. R. (1991). Proposed identification of nickel as a toxic air contaminant: Initial statement of reasons for rulemaking. Technical Support Document. *Air Resources Board, State of California*.
- Borenstein, M. y Hedges, L. v y Higgins, J. P. T. y Rothstein, H. R. (2021). *Introduction to meta-analysis*. John Wiley & Sons.
- Bourgeois, M. M. (2015). Barium. In R. D. Harbison, Bourgeois Marie M., & G. T. Johnson (Eds.), *Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology* (Sixth Edition, pp. 57–62). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118834015.ch08>
- Bradl, H. B. (2005). Sources and origins of heavy metals. In *Interface science and technology* (Vol. 6, pp. 1–27). Elsevier.
- Brown, M. J. F. y Paxton, R. J. (2009). The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie*, 40(3), 410–416.

- Campbell, L. M., Fisk, A. T., Wang, X., Köck, G. y Muir, D. C. G. (2005). Evidence for biomagnification of rubidium in freshwater and marine food webs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62(5), 1161–1167.
- Celli, G. y Maccagnani, B. (2003). Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 137–139.
- Choi, H.-B., Ryu, J.-S., Shin, W.-J. y Vigier, N. (2019). The impact of anthropogenic inputs on lithium content in river and tap water. *Nature Communications*, 10(1), 5371.
- Clarivate. (2022). *Web of Science*. <https://www.webofscience.com/>
- Cordell, D., Drangert, J.-O. y White, S. (2009). The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19(2), 292–305.
- Cortez-Lugo, M. y Rodríguez-Dozal, S. y Rosas-Pérez, I. y Alamo-Hernández, U. y Riojas-Rodríguez, H. (2015). Modeling and estimating manganese concentrations in rural households in the mining district of Molango, Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(12), 1–11.
- Cué-Hernández, K. (2014). *Efecto de la Urbanización sobre las comunidades de abejas y abejorros (Hymenoptera Apoidea) en la ciudad de Pachuca, Hidalgo* [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Czerczak, S., Fishbein, L. y Organization, W. H. (2002). *Arsine: human health aspects*. World Health Organization.
- Del Rio-Salas, R., Ruiz, J., De la O-Villanueva, M., Valencia-Moreno, M., Moreno-Rodríguez, V., Gómez-Alvarez, A., Grijalva, T., Mendivil, H., Paz-Moreno, F. y Meza-Figueroa, D. (2012). Tracing geogenic and anthropogenic sources in urban dusts: Insights from lead isotopes. *Atmospheric Environment*, 60, 202–210. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.061>
- Di, N., Hladun, K. R., Zhang, K., Liu, T.-X. y Trumble, J. T. (2016). Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. *Chemosphere*, 152, 530–538.
- Draaisma, D. (2019). Lithium: the gripping history of a psychiatric success story. *Nature*, 572(7769), 584–586.
- Ebensperger, A., Maxwell, P. y Moscoso, C. (2005). The lithium industry: Its recent evolution and future prospects. *Resources Policy*, 30(3), 218–231.

- El-Ashry, M. T., van Schilfgaarde, J. y Schiffman, S. (1985). Salinity pollution from irrigated agriculture. *Journal of Soil and Water Conservation*, 40(1), 48–52.
- Fei, J.-C., Min, X.-B., Wang, Z.-X., Pang, Z., Liang, Y.-J. y Ke, Y. (2017). Health and ecological risk assessment of heavy metals pollution in an antimony mining region: a case study from South China. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 27573–27586.
- Fenoglio, M. S., Calviño, A., González, E., Salvo, A. y Videla, M. (2021). Urbanisation drivers and underlying mechanisms of terrestrial insect diversity loss in cities. *Ecological Entomology*, 46(4), 757–771.
- Fenoglio, M. S., Rossetti, M. R. y Videla, M. (2020). Negative effects of urbanization on terrestrial arthropod communities: A meta-analysis. *Global Ecology and Biogeography*, 29(8), 1412–1429.
- Fernández-Martínez, A. y Charlet, L. (2009). Selenium environmental cycling and bioavailability: a structural chemist point of view. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 8, 81–110.
- Fresquez, M. R., Pappas, R. S. y Watson, C. H. (2013). Establishment of toxic metal reference range in tobacco from US cigarettes. *Journal of Analytical Toxicology*, 37(5), 298–304.
- Gekière, A., Vanderplanck, M. y Michez, D. (2023). Trace metals with heavy consequences on bees: A comprehensive review. *Science of the Total Environment*, 895, 165084.
- Glass, G. v. (1976). Primary, secondary, and meta-analysis of research. *Educational Researcher*, 5(10), 3–8.
- González, Y., Navarra, A., Jeldres, R. I. y Toro, N. (2021). Hydrometallurgical processing of magnesium minerals – A review. *Hydrometallurgy*, 201, 105573. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2021.105573>
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C. y Rotheray, E. L. (2015). Combined stress from parasites, pesticides and lack of flowers drives bee declines. *Science*, 347(6229), 1255957.
- Grimm, N. B., Faeth, S. H., Golubiewski, N. E., Redman, C. L. y Wu, J. y Bai, X. y Briggs, J. M. (2008). Global change and the ecology of cities. *Science*, 319(5864), 756–760.
- Gunier, R. B., Jerrett, M., Smith, D. R., Jursa, T., Yousefi, P., Camacho, J., Hubbard, A., Eskenazi, B. y Bradman, A. (2014). Determinants of manganese levels in house dust samples from the CHAMACOS cohort. *Science of the Total Environment*, 497, 360–368.

- Gutiérrez, M., Molero, R., Gaju, M., van der Steen, J., Porrini, C. y Ruiz, J. A. (2020). Assessing heavy metal pollution by biomonitoring honeybee nectar in Córdoba (Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 27(10), 10436–10448.
- Guttikunda, S. K., Carmichael, G. R., Calori, G., Eck, C. y Woo, J.-H. (2003). The contribution of megacities to regional sulfur pollution in Asia. *Atmospheric Environment*, 37(1), 11–22.
- Hall, D. M., Camilo, G. R., Tonietto, R. K., Ollerton, J., Ahrné, K., Arduser, M., Ascher, J. S., Baldock, K. C. R., Fowler, R. y Frankie, G. (2017). The city as a refuge for insect pollinators. *Conservation Biology*, 31(1), 24–29.
- Han, F. X., Su, Y., Monts, D. L., Plodinec, M. J., Banin, A. y Triplett, G. E. (2003). Assessment of global industrial-age anthropogenic arsenic contamination. *Naturwissenschaften*, 90, 395–401.
- Hanfi, M. Y., Mostafa, M. Y. A. y Zhukovsky, M. V. (2020). Heavy metal contamination in urban surface sediments: sources, distribution, contamination control, and remediation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(1), 1–21.
- Harrison, T. y Winfree, R. (2015). Urban drivers of plant-pollinator interactions. *Functional Ecology*, 29(7), 879–888.
- Hasenmueller, E. A. y Criss, R. E. (2013). Multiple sources of boron in urban surface waters and groundwaters. *Science of the Total Environment*, 447, 235–247.
- Hedges, L. v y Olkin, I. (2014). *Statistical methods for meta-analysis*. Academic press.
- Heinrichs, H. (1977). Emissions of 22 elements from brown-coal combustion. *Naturwissenschaften*, 64(9), 479–481.
- Hernández-Medina, M. E., Pimentel, J. V. M., Castellanos, I. y Zuria, I., Sánchez-Rojas, G. y Oyarzun, J. C. G. (2025). Metal concentration in honeybees along an urbanization gradient in Central Mexico. *Environmental Research*, 264, 120199.
- Higgins, J. P. T., Thompson, S. G., Deeks, J. J. y Altman, D. G. (2003). Measuring inconsistency in meta-analyses. *Bmj*, 327(7414), 557–560.
- Hiller, E., Lalinská, B., Chovan, M., Jurkovič, Ľ., Klimko, T., Jankulár, M., Hovorič, R., Šottník, P., Fláková, R. y Ženišová, Z. (2012). Arsenic and antimony contamination of waters, stream sediments and soils in the vicinity of abandoned antimony mines in the Western Carpathians, Slovakia. *Applied Geochemistry*, 27(3), 598–614.

- Hladun, K. R., Di, N., Liu, T. y Trumble, J. T. (2016). Metal contaminant accumulation in the hive: Consequences for whole-colony health and brood production in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35(2), 322–329.
- Huang, X., Olmez, I., Aras, N. K. y Gordon, G. E. (1994). Emissions of trace elements from motor vehicles: potential marker elements and source composition profile. *Atmospheric Environment*, 28(8), 1385–1391.
- Imseng, M., Wiggemhauser, M., Keller, A., Müller, M., Rehkämper, M., Murphy, K., Kreissig, K., Frossard, E., Wilcke, W. y Bigalke, M. (2018). Fate of Cd in agricultural soils: a stable isotope approach to anthropogenic impact, soil formation, and soil-plant cycling. *Environmental Science & Technology*, 52(4), 1919–1928.
- Imtiaz, M., Rizwan, M. S., Xiong, S., Li, H., Ashraf, M., Shahzad, S. M., Shahzad, M., Rizwan, M. y Tu, S. (2015). Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environment International*, 80, 79–88.
- IPBES. (2016). *The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production*.
- Islam, S., Ahmed, K. y Masunaga, S. (2015). Potential ecological risk of hazardous elements in different land-use urban soils of Bangladesh. *Science of the Total Environment*, 512, 94–102.
- Jensen, F. P. y Fenger, J. (1994). The air quality in Danish urban areas. *Environmental Health Perspectives*, 102(suppl 4), 55–60.
- Kalmykova, Y., Harder, R., Borgstedt, H. y Svanäng, I. (2012). Pathways and management of phosphorus in urban areas. *Journal of Industrial Ecology*, 16(6), 928–939.
- Kamei-Ishikawa, N., Yoshida, D., Ito, A. y Umita, T. (2016). Cesium and strontium loads into a combined sewer system from rainwater runoff. *Journal of Environmental Management*, 183, 1041–1049.
- Kang, S.-M., Shaffique, S., Kim, L.-R., Kwon, E.-H., Kim, S.-H., Lee, Y.-H., Kalsoom, K., Aaqil Khan, M. y Lee, I.-J. (2021). Effects of organic fertilizer mixed with food waste dry powder on the growth of Chinese cabbage seedlings. *Environments*, 8(8), 86.
- Kim, K.-H., Shon, Z.-H., Mauulida, P. T. y Song, S.-K. (2014). Long-term monitoring of airborne nickel (Ni) pollution in association with some potential source processes in the urban environment. *Chemosphere*, 111, 312–319.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.138>

- Kleeman, M. J., Schauer, J. J. y Cass, G. R. (2000). Size and composition distribution of fine particulate matter emitted from motor vehicles. *Environmental Science & Technology*, 34(7), 1132–1142.
- Klein, A.-M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C. y Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303–313.
- Komarnisky, L. A., Christopherson, R. J. y Basu, T. K. (2003). Sulfur: its clinical and toxicologic aspects. *Nutrition*, 19(1), 54–61. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00833-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00833-X)
- Kopáček, J., Hejzlar, J., Porcal, P. y Posch, M. (2014). Sulphate leaching from diffuse agricultural and forest sources in a large central European catchment during 1900–2010. *Science of the Total Environment*, 470, 543–550.
- Koricheva, J., Gurevitch, J. y Mengersen, K. (2013). *Handbook of meta-analysis in ecology and evolution*. Princeton University Press.
- Kowalska, J., Stryjewska, E., Bystrzejewska-Piotrowska, G., Lewandowski, K., Tobiasz, M., Pańdyna, J. y Golimowski, J. (2012). Studies of plants useful in the re-cultivation of heavy metals-contaminated wasteland-a new hyperaccumulator of barium? *Polish Journal of Environmental Studies*, 21(2).
- Kravchenko, J., Darrah, T. H., Miller, R. K., Lysterly, H. K. y Vengosh, A. (2014). A review of the health impacts of barium from natural and anthropogenic exposure. *Environmental Geochemistry and Health*, 36(4), 797–814.
- Lane, S., Proemse, B. C., Tennant, A. y Wieser, M. E. (2013). Concentration measurements and isotopic composition of airborne molybdenum collected in an urban environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(9), 2957–2963. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6660-9>
- LeBuhn, G. y Luna, J. V. (2021). Pollinator decline: what do we know about the drivers of solitary bee declines? *Current Opinion in Insect Science*, 46, 106–111.
- Li, G., Sun, G., Ren, Y., Luo, X. y Zhu, Y. (2018). Urban soil and human health: a review. *European Journal of Soil Science*, 69(1), 196–215.
- Light, R. J. y Pillemar, D.B. (1984). *Summing up: the science of reviewing research*. Cambridge, MA: Harvard University Press.

- Liu, T., Yang, Q., Guo, N., Lu, Y. y Song, B. (2020). Stability of twins in Mg alloys – A short review. *Journal of Magnesium and Alloys*, 8(1), 66–77. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jma.2020.02.002>
- Liu, X., Zhu, J., Van Espen, P., Adams, F., Xiao, R., Dong, S. y Li, Y. (2005). Single particle characterization of spring and summer aerosols in Beijing: Formation of composite sulfate of calcium and potassium. *Atmospheric Environment*, 39(36), 6909–6918. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.08.007>
- Lovén, K., Isaxon, C., Ahlberg, E., Bermeo, M., Messing, M. E., Kåredal, M., Hedmer, M. y Rissler, J. (2023). Size-resolved characterization of particles > 10 nm emitted to air during metal recycling. *Environment International*, 174, 107874.
- Mahowald, N., Jickells, T. D., Baker, A. R., Artaxo, P., Benitez-Nelson, C. R., Bergametti, G., Bond, T. C., Chen, Y., Cohen, D. D. y Herut, B. (2008). Global distribution of atmospheric phosphorus sources, concentrations and deposition rates, and anthropogenic impacts. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(4).
- Mamane, Y. (1988). Estimate of municipal refuse incinerator contribution to philadelphia aerosol- I. Source analysis. *Atmospheric Environment* (1967), 22(11), 2411–2418.
- Martinez-Morata, I., Sobel, M., Tellez-Plaza, M., Navas-Acien, A., Howe, C. G. y Sanchez, T. R. (2023). A state-of-the-science review on metal biomarkers. *Current Environmental Health Reports*, 10(3), 215–249.
- Matin, G., Kargar, N. y Buyukisik, H. B. (2016). Bio-monitoring of cadmium, lead, arsenic and mercury in industrial districts of Izmir, Turkey by using honey bees, propolis and pine tree leaves. *Ecological Engineering*, 90, 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.035>
- Mizohata, A. y Mamuro, T. (1980). Chemical element balances and identification of air pollution sources in Sakai, Osaka (I). *Journal of Japan Society of Air Pollution*, 15(5), 198–206.
- Moffett, D. y Smith-Simon, C. y Stevens, Y.-W. (2007). *Toxicological profile for barium and barium compounds*.
- Moher, D. (2009). Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group TP. *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement*. *PLoS Med*, 6(7), e1000097-6.

- Mohiuddin, K. M., Zakir, H. M., Otomo, K., Sharmin, S. y Shikazono, N. (2010). Geochemical distribution of trace metal pollutants in water and sediments of downstream of an urban river. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7, 17–28.
- Monchanin, C., de Brito Sanchez, M. G., Lecouivre, L., Boidard, O., Méry, G., Silvestre, J., Le Roux, G., Baqué, D., Elger, A. y Barron, A. B. (2022). Honey bees cannot sense harmful concentrations of metal pollutants in food. *Chemosphere*, 297, 134089.
- Moroń, D., Szentgyörgyi, H., Skórka, P., Potts, S. G. y Woyciechowski, M. (2014). Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. *Insect Conservation and Diversity*, 7(2), 113–121.
- Muhammad, J., Khan, S., Lei, M., Khan, M. A., Nawab, J., Rashid, A., Ullah, S. y Khisro, S. B. (2020). Application of poultry manure in agriculture fields leads to food plant contamination with potentially toxic elements and causes health risk. *Environmental Technology & Innovation*, 19, 100909.
- Murray, M. H., Sánchez, C. A., Becker, D. J., Byers, K. A., Worsley-Tonks, K. E. L. y Craft, M. E. (2019). City sicker? A meta-analysis of wildlife health and urbanization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(10), 575–583.
- Nakagawa, S. y Poulin, R. (2012). Meta-analytic insights into evolutionary ecology: an introduction and synthesis. *Evolutionary Ecology*, 26(5), 1085–1099.
- Nakagawa, S. y Santos, E. S. A. (2012). Methodological issues and advances in biological meta-analysis. *Evolutionary Ecology*, 26(5), 1253–1274.
- Negri, I., Mavris, C., Di Prisco, G., Caprio, E. y Pellecchia, M. (2015). Honey bees (*Apis mellifera*, L.) as active samplers of airborne particulate matter. *PLoS One*, 10(7), e0132491.
- Nory, R. M., Figueiredo, A. M. G., Souto-Oliveira, C. E. y Babinski, M. (2021). Urban contamination sources in tunnel dusts from São Paulo city: Elemental and isotopic characterization. *Atmospheric Environment*, 254, 118188. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2021.118188>
- Olmez, I., Sheffield, A. E., Gordon, G. E., Houck, J. E., Pritchett, L. C., Cooper, J. A., Dzubay, T. G. y Bennett, R. L. (1988). Compositions of particles from selected sources in Philadelphia for receptor modeling applications. *Japca*, 38(11), 1392–1402.

- Ondov, J. M., Choquette, C. E., Zoller, W. H., Gordon, G. E., Biermann, A. H. y Heft, R. E. (1989). Atmospheric behavior of trace elements on particles emitted from a coal-fired power plant. *Atmospheric Environment* (1967), 23(10), 2193–2204.
- Page, M. J., McKenzie, J. E., Bossuyt, P. M., Boutron, I., Hoffmann, T. C., Mulrow, C. D., Shamseer, L., Tetzlaff, J. M., Akl, E. A. y Brennan, S. E. (2021). The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Systematic Reviews*, 10(1), 1–11.
- Peters, E. L., Schultz, I. R. y Newman, M. C. (1999). Rubidium and cesium kinetics and tissue distributions in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Ecotoxicology*, 8, 287–300.
- Pons-Branchu, E., Roy-Barman, M., Jean-Soro, L., Guillaume, A., Branchu, P., Fernandez, M., Dumont, E., Douville, E., Michelot, J.-L. y Phillips, A. M. (2017). Urbanization impact on sulfur content of groundwater revealed by the study of urban speleothem-like deposits: Case study in Paris, France. *Science of the Total Environment*, 579, 124–132.
- Qu, R. y Han, G. (2023). Potassium isotopes of fertilizers as potential markers of anthropogenic input in ecosystems. *Environmental Chemistry Letters*, 21(1), 41–45.
- Qu, R., Han, G. y Zeng, J. (2024). New tracer for anthropogenic pollution in the atmosphere: Stable potassium isotopes in rainwater. *Journal of Cleaner Production*, 435, 140574. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.140574>
- Rahimpour Golroudbary, S., Makarava, I. y Kraslawski, A. (2023). Environmental Assessment of Global Magnesium Production. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 44(6), 389–406. <https://doi.org/10.1080/08827508.2022.2084734>
- Robinson, E. y Robbins, R. C. (1970). Gaseous Sulfur Pollutants from Urban and Natural Sources. *Journal of the Air Pollution Control Association*, 20(4), 233–235. <https://doi.org/10.1080/00022470.1970.10469396>
- Röllin, H. B. y Nogueira, C. (2011). Manganese: environmental pollution and health effects. *Encyclopedia of Environmental Health*, 2, 229–242.
- Röllin, H., Mathee, A., Levin, J., Theodorou, P. y Wewers, F. (2005). Blood manganese concentrations among first-grade schoolchildren in two South African cities. *Environmental Research*, 97(1), 93–99.
- Rosenberg, M. S., Rothstein, H. R. y Gurevitch, J. (2013). Effect sizes: conventional choices and calculations. *Handbook of Meta-Analysis in Ecology and Evolution*, 61.

- Sahu, C. y Basti, S. (2021). Trace metal pollution in the environment: a review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 18(1), 211–224.
- Salazar, J. R. (2020). *Iron in Urban Air Pollution* [Dissertation]. University of Denver.
- Santos, S., Ungureanu, G., Boaventura, R. y Botelho, C. (2015). Selenium contaminated waters: An overview of analytical methods, treatment options and recent advances in sorption methods. *Science of The Total Environment*, 521–522, 246–260. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.107>
- Scheff, P. A. y Valiozis, C. (1990). Characterization and source identification of respirable particulate matter in Athens, Greece. *Atmospheric Environment. Part A. General Topics*, 24(1), 203–211.
- Schrauzer, G. N. (2002). Lithium: occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(1), 14–21.
- Senesi, N., Polemio, M. y Lorusso, L. (1979). Content and distribution of arsenic, bismuth, lithium and selenium in mineral and synthetic fertilizers and their contribution to soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 10(8), 1109–1126.
- Seredin, V. V. (2003). Anomalous concentrations of trace elements in the spetsugli germanium deposit (Pavlovka Brown coal deposit, southern Primorye): Communication 2. Rubidium and cesium. *Lithology and Mineral Resources*, 38, 233–241.
- Seto, K. C., Güneralp, B. y Hutyra, L. R. (2012). Global forecasts of urban expansion to 2030 and direct impacts on biodiversity and carbon pools. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(40), 16083–16088.
- Shiel, A. E., Weis, D. y Orians, K. J. (2010). Evaluation of zinc, cadmium and lead isotope fractionation during smelting and refining. *Science of The Total Environment*, 408(11), 2357–2368. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.02.016>
- Skorbiłowicz, E., Skorbiłowicz, M. y Cieśluk, I. (2018). Bees as bioindicators of environmental pollution with metals in an urban area. *Journal of Ecological Engineering*, 19(3).
- Skorbiłowicz, M. y Skorbiłowicz, E. (2019). Content of calcium, magnesium, sodium and potassium in the street dust from the area of Białystok (Poland). *Journal of Ecological Engineering*, 20(10), 125–131.
- Starska, K. (1993). Aluminum in food. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 44(1), 55–63.

- Stojić, N., Štrbac, S., Ćurčić, L., Pucarević, M., Prokić, D., Stepanov, J. y Stojić, G. (2023). Exploring the impact of transportation on heavy metal pollution: A comparative study of trains and cars. *Transportation Research Part D: Transport and Environment*, 125, 103966. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trd.2023.103966>
- Su, D., Wang, T., Liu, L. y Bai, L. (2010). Research on the spatio-temporal variation of pollutant discharged from industrial wastewater in the Liaohe River Basin. *Ecology and Environment*, 19(12), 2953.
- Talens Peiró, L., Villalba Méndez, G. y Ayres, R. U. (2013). Lithium: sources, production, uses, and recovery outlook. *Jom*, 65(8), 986–996.
- Team, Rs. (2021). *RStudio: integrated development for R*. RStudio, PBC, Boston, MA. 2020.
- Theodorou, P., Radzevičiūtė, R., Lentendu, G., Kahnt, B., Husemann, M., Bleidorn, C., Settele, J., Schweiger, O., Grosse, I. y Wubet, T. (2020). Urban areas as hotspots for bees and pollination but not a panacea for all insects. *Nature Communications*, 11(1), 1–13.
- Thomsen, E. y Andreasen, R. (2019). Agricultural lime disturbs natural strontium isotope variations: Implications for provenance and migration studies. *Science Advances*, 5(3), eaav8083.
- Todd, G. D., Keith, S., Faroon, O., Buser, M., Ingerman, L., Hard, C., Citra, M. J., Nguyen, A., Klotzbach, J. M. y Diamond, G. L. (2017). *Toxicological profile for molybdenum: draft for public comment*.
- Tomczyk, M., Zaguła, G., Puchalski, C. y Dżugan, M. (2020). Transfer of some toxic metals from soil to honey depending on bee habitat conditions. *Acta Universitatis Cinbinesis, Series E: Food Technology*, 24(1).
- Truex, T. J., Pierson, W. R., McKee, D. E., Shelef, M. y Baker, R. E. (1980). Effects of barium fuel additive and fuel sulfur level on diesel particulate emissions. *Environmental Science & Technology*, 14(9), 1121–1124.
- Tsang, T. P. N., De Santis, A. A. A., Armas-Quíñonez, G., Ascher, J. S., Ávila-Gómez, E. S., Báldi, A., Ballare, K. M., Balzan, M. V., Banaszak-Cibicka, W. y Bänisch, S. (2025). Land use change consistently reduces α -but not β -and γ -diversity of bees. *Global Change Biology*, 31(1), e70006.

- United Nations y Department of Economic and Social Affairs y Population Division. (2019). *World Urbanization Prospects: The 2018 Revision*. <https://population.un.org/wup/Publications/Files/WUP2018-Report.pdf>
- Urban, M. C., Alberti, M., De Meester, L., Zhou, Y., Verrelli, B. C., Szulkin, M., Schmidt, C., Savage, A. M., Roberts, P., Rivkin, L. R., Palkovacs, E. P., Munshi-South, J., Malesis, A. N., Harris, N. C. y Gotanda, K. M. y Garroway, C. J. y Diamond, S. E. y Roches, S. Des y Charmantier, A. y Brans, K. I. (2024). Interactions between climate change and urbanization will shape the future of biodiversity. *Nature Climate Change*, 14(5), 436–447. <https://doi.org/10.1038/s41558-024-01996-2>
- Urbansky, E. T., Brown, S. K., Magnuson, M. L. y Kelty, C. A. (2001). Perchlorate levels in samples of sodium nitrate fertilizer derived from Chilean caliche. *Environmental Pollution*, 112(3), 299–302.
- Vanbergen. (2013). Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(5), 251–259.
- Viechtbauer, W. (2010). Conducting meta-analyses in R with the metafor package. *Journal of Statistical Software*, 36(3), 1–48.
- Vincze, E., Seress, G., Lagisz, M., Nakagawa, S., Dingemanse, N. J. y Sprau, P. (2017). Does urbanization affect predation of bird nests? A meta-analysis. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5, 29.
- Vitòria, L., Otero, N., Soler, A. y Canals, A. (2004). Fertilizer characterization: isotopic data (N, S, O, C, and Sr). *Environmental Science & Technology*, 38(12), 3254–3262.
- Wang, H. (2006). Characteristics of typical pollutants in wastewater from different industrial sectors in the northeast provinces of China. *Journal of Agro-Environment Science*, 25(6), 1685–1690.
- Wang, S. y Mulligan, C. N. (2006). Occurrence of arsenic contamination in Canada: Sources, behavior and distribution. *Science of The Total Environment*, 366(2), 701–721. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.09.005>
- Ward, C. R., Spears, D. A., Booth, C. A., Staton, I. y Gurba, L. W. (1999). Mineral matter and trace elements in coals of the Gunnedah Basin, New South Wales, Australia. *International Journal of Coal Geology*, 40(4), 281–308.

- Wenzel, A., Grass, I., Belavadi, V. V y Tscharrntke, T. (2020). How urbanization is driving pollinator diversity and pollination—A systematic review. *Biological Conservation*, 241, 108321.
- Wilson, C. J. y Jamieson, M. A. (2019). The effects of urbanization on bee communities depends on floral resource availability and bee functional traits. *PloS One*, 14(12), e0225852.
- World Health Organization. (2016). *Barium in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality*. <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/barium-background-jan17.pdf>
- World Health Organization (WHO). (2010). *Strontium and strontium compounds*. <https://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad77.pdf>
- Wright, I. A., Davies, P. J., Findlay, S. J. y Jonasson, O. J. (2011). A new type of water pollution: concrete drainage infrastructure and geochemical contamination of urban waters. *Marine and Freshwater Research*, 62(12), 1355–1361.
- Yadav, V. K., Yadav, K. K., Cabral-Pinto, M. M. S., Choudhary, N., Gnanamoorthy, G., Tirth, V., Prasad, S., Khan, A. H., Islam, S. y Khan, N. A. (2021). The processing of calcium rich agricultural and industrial waste for recovery of calcium carbonate and calcium oxide and their application for environmental cleanup: A review. *Applied Sciences*, 11(9), 4212.
- Zaman, M., Shahid, S. A. y Heng, L. (2018). *Guideline for salinity assessment, mitigation and adaptation using nuclear and related techniques*. Springer Nature.
- Zhang, D. y Shi, G. y Iwasaka, Y. y Hu, M. y Zang, J. (2005). Anthropogenic calcium particles observed in Beijing and Qingdao, China. *Water, Air, & Soil Pollution: Focus*, 5, 261–276.
- Zvereva, E. L. y Kozlov, M. V. (2010). Responses of terrestrial arthropods to air pollution: a meta-analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 17, 297–311.

Apéndices

Apéndice 1 R Script usado para el meta-análisis.

```
#####meta-analysis Eyenith based on R scripts from Vincze et al. (2017) and Viechtbauer (2010)
#####Instalar paquete "metafor"
install.packages("metafor")
#####cargar la librería de metafor
library(metafor)
#####llamar la base de datos
MetaC<-read.csv ("MetaC.csv")
ES.data <-escalr(measure="SMD", n1i=n2, n2i=n1, m1i=Mean.2, m2i=Mean.1, sd1i=SD2, sd2i=SD1, data=data, var.names=names)
###
##### MA with random effects only #####
MA_all <- rma.mv (yi = d, V = Vard, random = list (~1|Paper.ID), data = MetaC)
MA_all
# Heterogeneity to MA with random effects only
# Overall heterogeneity
W <- diag(1/MetaC$Vard)
X <- model.matrix(MA_all)
P <- W - W %*% X %*% solve(t(X) %*% W %*% X) %*% t(X) %*% W
100 * sum(MA_all$sigma2) / (sum(MA_all$sigma2) + (MA_all$k-
MA_all$p)/sum(diag(P)))
### MR with elements
MR_ele <- rma.mv (yi = d, V = Vard, random = list (~1|Paper.ID), mod = ~Element-1, data = MetaC)
MR_ele
# Heterogeneity to MR with elements
# Overall heterogeneity
W <- diag(1/MetaC$Vard)
X <- model.matrix(MR_ele)
P <- W - W %*% X %*% solve(t(X) %*% W %*% X) %*% t(X) %*% W
100 * sum(MR_ele$sigma2) / (sum(MR_ele$sigma2) + (MR_ele$k-
MR_ele$p)/sum(diag(P)))
##### Assessing publication bias to data set#####
Precision <- sqrt(MetaC$Vard)
Model <- rma(yi = MetaC$d, sei = Precision, method = "REML", data = MetaC)
Model
#Funnel_plot enhanced contour
tiff(file = "ele.tiff", height = 15, width = 15, units="cm", res=300)
```

```

funnel(Model, yaxis="sei", xlim= c(-1.0,1.0), xlab="Effect size (r)", ylab="Standard error",
steps=5, level=c(90, 95, 99), back="lightgray", shade= c("white", "red", "orange"),
hlines="lightgray", refline=0, legend=FALSE)
dev.off()
# Estimating Rosenthal's failsafe number
Number_pref <- fsn(yi=d, vi=Vard, data=MetaC)
Number_pref
# Trim and fill method
# Trim and Fill (ajuste para el lado izquierdo)
TF_left <- trimfill(Model, side = "left", estimator = "R0")
TF_left
# Trim and Fill (ajuste para el lado derecho)
TF_right <- trimfill(Model, side = "right", estimator = "R0")
TF_right
#END

```

Apéndice 2 Lista de referencias de los artículos incluidos en el meta-análisis

P001	Ilijević, K., Vujanović, D., Orčić, S., Purać, J., Kojić, D., Zarić, N., ... Čelić, T. V. (2021). Anthropogenic influence on seasonal and spatial variation in bioelements and non-essential elements in honeybees and their hemolymph. <i>Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology</i> , 239, 108852. doi:10.1016/j.cbpc.2020.108852
P002	Gutiérrez, M., Molero, R., Gaju, M., van der Steen, J., Porrini, C., & Ruiz, J. A. (2015). Assessment of heavy metal pollution in Córdoba (Spain) by biomonitoring foraging honeybee. <i>Environmental Monitoring and Assessment</i> , 187(10). doi:10.1007/s10661-015-4877-8
P003	Lambert, O., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., Larhantec, M., Delbac, F., & Pouliquen, H. (2012). Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination. <i>Environmental Pollution</i> , 170, 254–259. doi:10.1016/j.envpol.2012.07.012
P004	Sadowska, M., Gogolewska, H., Pawelec, N., Sentkowska, A., & Krasnodębska-Ostręga, B. (2018). Comparison of the contents of selected elements and pesticides in honey bees with regard to their habitat. <i>Environmental Science and Pollution Research</i> . doi:10.1007/s11356-018-3612-8
P005	Gizaw, G., Kim, Y., Moon, K., Choi, J. B., Kim, Y. H., & Park, J. K. (2020). Effect of environmental heavy metals on the expression of detoxification-related genes in honey bee <i>Apis mellifera</i> . <i>Apidologie</i> . doi:10.1007/s13592-020-00751-8
P007	Smith, K. E., & Weis, D. (2020). Evaluating Spatiotemporal Resolution of Trace Element Concentrations and Pb Isotopic Compositions of Honeybees and Hive Products as Biomonitoring for Urban Metal Distribution. <i>GeoHealth</i> , 4(7). doi:10.1029/2020gh000264
P008	Perugini, M., Manera, M., Grotta, L., Abete, M. C., Tarasco, R., & Amorena, M. (2010). Heavy Metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) Contamination in Urban Areas and Wildlife Reserves: Honeybees as Bioindicators. <i>Biological Trace Element Research</i> , 140(2), 170–176. doi:10.1007/s12011-010-8688-z
P009	Badiou-Bénéteau, A., Benneveau, A., Gêret, F., Delatte, H., Becker, N., Brunet, J. L., ... Belzunces, L. P. (2013). Honeybee biomarkers as promising tools to monitor environmental quality. <i>Environment International</i> , 60, 31–41. doi:10.1016/j.envint.2013.07.002
P010	Dżugan, M., Wesołowska, M., Zaguła, G., Kaczmarek, M., Czernicka, M., & Puchalski, C. (2018). Honeybees (<i>Apis mellifera</i>) as a biological barrier for contamination of honey by environmental toxic metals. <i>Environmental Monitoring and Assessment</i> , 190(2). doi:10.1007/s10661-018-6474-0
P011	Zarić, N. M., Deljanin, I., Ilijević, K., Stanisavljević, L., Ristić, M., & Gržetić, I. (2018). Honeybees as sentinels of lead pollution: Spatio-temporal variations and

	source appointment using stable isotopes and Kohonen self-organizing maps. <i>Science of The Total Environment</i> , 642, 56–62. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.06.0
P012	Roman, A. (2010). Levels of Copper, Selenium, Lead, and Cadmium in Forager Bees. <i>Polish Journal of Environmental Studies</i> , 19(3), 663-669.
P013	Zarić, N. M., Ilijević, K., Stanisavljević, L., & Gržetić, I. (2015). Metal concentrations around thermal power plants, rural and urban areas using honeybees (<i>Apis mellifera</i> L.) as bioindicators. <i>International Journal of Environmental Science and Technology</i> , 13(2), 413–422. doi:10.1007/s13762-015-0895-x
P014	Zaric, N., Ilijevic, K., Stanisavljevic, L., Grzetic, I. (2018). Use of honeybees (<i>Apis mellifera</i> L.) as bioindicators of spatial variations and origin determination of metal pollution in Serbia. <i>Journal of the Serbian Chemical Society</i> 83, 773–784.. doi:10.2298/jsc171110018z
P016	Dalal M. Aljedani. (2020). Revealing some Elements and Heavy Metals in Honeybee and Beeswax Samples Collected from Different Environments, <i>Entomol Appl Sci Lett</i> , 7(4): 89-101.
P017	Grenier, É., Giovenazzo, P., Julien, C., & Goupil-Sormany, I. (2021). Honeybees as a biomonitoring species to assess environmental airborne pollution in different socioeconomic city districts. <i>Environmental Monitoring and Assessment</i> , 193(11), 1-14.
P019	Mahé, C., Jumarie, C., & Boily, M.. (2021). The countryside or the city: Which environment is better for the honeybee?. <i>Environmental Research</i> , 195, 110784. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110784
P020	Zarić, N. M., Brodschneider, R., & Goessler, W.. (2022). Honey bees as biomonitors – Variability in the elemental composition of individual bees. <i>Environmental Research</i> , 204, 112237. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112237
P021	Zhou, X., Taylor, M. P., Davies, P. J., & Prasad, S. (2018). Identifying Sources of Environmental Contamination in European Honey Bees (<i>Apis mellifera</i>) Using Trace Elements and Lead Isotopic Compositions. <i>Environmental Science & Technology</i> , 52(3), 991–1001. doi:10.1021/acs.est.7b04084
P022	Costa, A., Veca, M., Barberis, M., Cicerinegri, L., & Tangorra, F. M.. (2021). Predicting atmospheric cadmium and lead using honeybees as atmospheric heavy metals pollution indicators. Results of a monitoring survey in Northern Italy. <i>Italian Journal of Animal Science</i> , 20(1), 850–858. https://doi.org/10.1080/1828051x.2021.1929523
P023	Bayir, H., Aygun, A. Heavy metal in honey bees, honey, and pollen produced in rural and urban areas of Konya province in Turkey. <i>Environ Sci Pollut Res</i> 29, 74569–74578 (2022). https://doi.org/10.1007/s11356-022-21017-z

Apéndice 3 Fuentes antropogénicas de contaminación asociadas a metales y metaloides

Metal	Relación con la urbanización	Fuentes antropogénicas
As	Relación positiva	Minería, procesamiento de metales, agricultura, quema de combustibles fósiles(Fei et al., 2017; Hiller et al., 2012); deposición e incineración de residuos domésticos(S. Wang y Mulligan, 2006); conservadores de la madera (Han et al., 2003); industria farmacéutica; vidrio; microelectrónica; óptica(Czerczak et al., 2002) preservantes del cuero; pigmentos; cebos venenosos; cigarros(ATSDR, 2007); tráfico vehicular(Stojić et al., 2023)
Cd	Relación positiva	Minería(Imseng et al., 2018); procesos industriales (producción de baterías de Ni y Cd, procesamiento de Zn y Pb)(Shiel et al., 2010); quema de combustibles fósiles(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012a) Tráfico vehicular(Matin et al., 2016); fertilizantes(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012a); deposición e incineración de residuos domésticos(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012a);
Cr	Relación positiva	Tráfico vehicular (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012b); producción de cemento, colorantes, pintura, detergentes(E. Skorbiłowicz et al., 2018); deposición e incineración de residuos domésticos(E. Skorbiłowicz et al., 2018); quema de combustibles fósiles(E. Skorbiłowicz et al., 2018); procesos industriales: fabricación de productos y piezas aeroespaciales, plantas de pulpa y papel, producción de ferro cromo o metal de cromo(SU et al., 2010; H. Wang, 2006); curtido de pieles(E. Skorbiłowicz et al., 2018)
Cu	Relación positiva	Minería, producción de Cu y otros metales, pesticidas, fuegos artificiales, corrosión de tuberías de cobre (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004); Tráfico vehicular(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004); deposición e incineración de residuos domésticos(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004); descargas de agua de desecho(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004); quema de combustibles fósiles(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004)

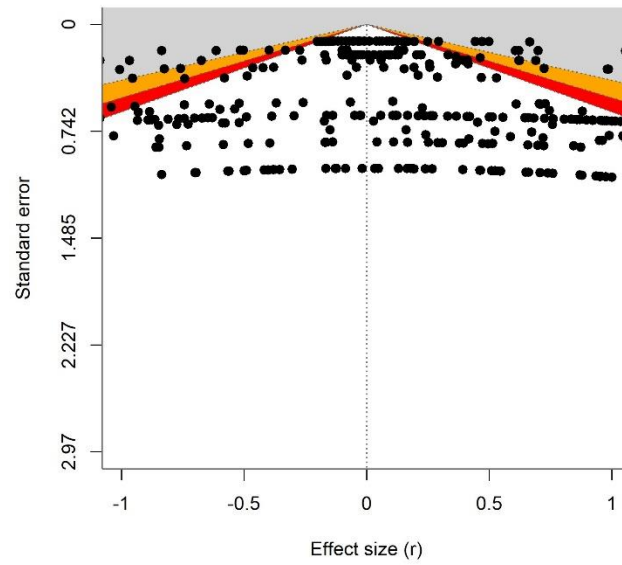
Fe	Relación positiva	Tráfico vehicular(Salazar, 2020); deposición e incineración de residuos domésticos(Salazar, 2020); quema de combustibles fósiles(Salazar, 2020)
K	Relación positiva	Tráfico vehicular(Qu y Han, 2023); fertilizantes(Qu et al., 2024); quema de combustibles fósiles(Qu et al., 2024); quema de biomasa(Qu et al., 2024), quema de carbón(Campbell et al., 2005)
Mo	Relación positiva	Minería, quema de carbón(Todd et al., 2017); Tráfico vehicular(Lane et al., 2013)
Ni	Relación positiva	Minería, producción de metales y generación de electricidad quema de combustibles fósiles, descargas de aguas residuales y aguas pluviales urbanas(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)., 2024) Tráfico vehicular(Board, 1991); residuos domésticos(Kim et al., 2014); quema de combustibles fósiles(Kim et al., 2014); humo de tabaco(Board, 1991)
P	Relación positiva	Fertilizantes (Cordell et al., 2009); deposición e incineración de residuos domésticos(Kalmykova et al., 2012); quema de combustibles fósiles(Mahowald et al., 2008); combustión de carbón(Olmez et al., 1988); calderas de aceite(Olmez et al., 1988); motores de gasolina y diésel(Kleeman et al., 2000)
Pb	Relación positiva	Tráfico vehicular; uso de herbicidas y plaguicidas; cemento, colorantes, pintura, detergentes; deposición e incineración de residuos domésticos(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2020); quema de carbón, procesos metalúrgicos, industria de la construcción(Del Rio-Salas et al., 2012)
Rb	Relación positiva	Quema de carbón(Campbell et al., 2005); abrasión de las superficies de las carreteras(Nory et al., 2021)
Sb	Relación positiva	Minería, procesamiento de metales, agricultura, quema de combustibles fósiles(Fei et al., 2017; Hiller et al., 2012); Residuos municipales; lodos de aguas residuales; tráfico vehicular(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2019)
Se	Relación positiva	Combustión de carbón y petróleo, procesamiento de metales, fabricación de semiconductores, incineración de neumáticos; incineración de residuos sólidos municipales(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2003) ; minería(Fernández-Martínez y Charlet, 2009); agricultura, refinación de petróleo, combustibles fósiles, producción de

		insecticidas, fabricación de vidrio y fotoceldas(Santos et al., 2015)
Zn	Relación positiva	Tráfico vehicular; fertilizantes; cemento, colorantes, pintura, detergentes; deposición e incineración de residuos domésticos; descargas de agua de desecho; quema de combustibles fósiles (Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2005)
Ba	Relación negativa	Minería, metalurgia, quema de combustibles fósiles, quema de carbón; industria del petróleo y gas(Moffett et al., 2007); Fertilizantes e insecticidas en áreas agrícolas(Kowalska et al., 2012);incineración de desechos(World Health Organization, 2016); fabricación de pinturas, bujías, papel, textiles, cuero, jabón, linóleo, cemento, cerámica, vidrio, rodenticidas, colorante, pirotecnia, lámparas fluorescentes, lana para relleno de colchones; imágenes radiológicas(Bourgeois, 2015); emisiones de motores diésel(Truex et al., 1980), insecticidas y fungicidas para el control de plagas agrícolas(Kravchenko et al., 2014; Martinez-Morata et al., 2023); compostas, estiércol, aguas residuales(Muhammad et al., 2020)
Na	Relación negativa	Incineración de residuos(Mamane, 1988); Combustión de petróleo(MIZOHATA y MAMURO, 1980); Fertilizantes(Vitòria et al., 2004) Combustión de carbón (Ondov et al., 1989); emisiones vehiculares(Huang et al., 1994) ; Industrial(Scheff y Valiozis, 1990); Descongelación de calles (M. Skorbiłowicz y Skorbiłowicz, 2019a); agua de riego(El-Ashry et al., 1985; Zaman et al., 2018); compostas(Kang et al., 2021)
Sr	Relación negativa	Quema de carbón; uso de fertilizantes fosfatados; medicamentos; fabricación de cerámica, vidrio (pantallas televisores; tubos de rayos catódicos), pirotecnia, pigmentos de pintura, luces fluorescentes, medicamentos, aleaciones de Sr, (World Health Organization (WHO), 2010), sistemas agrícolas tratados con cal agrícola para reducir la acidez de los suelos(Thomsen y Andreassen, 2019); compostas, estiércol, aguas residuales(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004c)
Al	No significativa	Minería; agricultura; Tráfico vehicular; quema de carbón; industria metalúrgica; incineración de residuos municipales; producción de cemento; acumulación de lodos y aguas

		residuales (Starska, 1993); fabricación de cerámica; empleo de pesticidas; uso de desodorantes, cosméticos, aditivos alimenticios, colorantes(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2008).
B	No significativa	Plantas de energía que operan con carbón y vapor geotérmico; plantas químicas; cohetes; fabricación de vidrio; detergentes; aguas residuales municipales; aguas residuales de plantas de energía que operan con carbón o emplean B(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2010); acumulación de lodos y aguas residuales(Hasenmueller y Criss, 2013; Mohiuddin et al., 2010)
Ca	No significativa	Polvo de cemento y construcciones(Liu et al., 2005; Zhang et al., 2005), residuos domésticos, agricultura(Yadav et al., 2021); quema de carbón(Heinrichs, 1977); acumulación de lodos y aguas residuales(Wright et al., 2011)
Co	No significativa	Producción de baterías para vehículos eléctricos; fertilizantes fosfatados; minería y fundición de minerales(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2024); reciclaje de productos electrónicos(Lovén et al., 2023); quema de combustibles fósiles; gasolina; emisiones de vehículos(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2024); tabaco de cigarrillos(Fresquez et al., 2013); aplicación de algunos herbicidas(Gekière et al., 2023)
Cs	No significativa	Quema de carbón(Campbell et al., 2005); minería; incineración de residuos municipales(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2004a); acumulación de lodos y aguas residuales(Kamei-Ishikawa et al., 2016)
Li	No significativa	Producción de aluminio; fabricación de cerámica, vidrio, grasas y lubricantes(Talens Peiró et al., 2013), desecho de baterías de iones de litio(Schrauzer, 2002); fármacos(Draaisma, 2019); Actividad minera, combustión de carbón (Adeel et al., 2023), aplicación de fertilizantes y fungicidas(Ebensperger et al., 2005; Senesi et al., 1979); acumulación de lodos y aguas residuales(Choi et al., 2019)
Mg	No significativa	Minería y producción de magnesio metálico(Rahimpour Golroudbary et al., 2023); medicamentos; suplementos alimenticios, alimento para animales y fertilizantes(González et al., 2021), industria automotriz(T. Liu et al., 2020); empaques; construcción; desulfurización ; transporte aéreo, marítimo y

		ferroviario(Rahimpour Golroudbary et al., 2023); quema de carbón(Heinrichs, 1977)
Mn	No significativa	Minería y fundición(Cortez-Lugo et al., 2015); tráfico vehicular(H. Röllin et al., 2005); uso de fungicidas y fertilizantes(Gunier et al., 2014); soldadura, fabricación de cerámica, vidrio, latas de aluminio, componentes electrónicos(H. B. Röllin y Nogueira, 2011); desechos antropogénicos(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012c); quema de carbón(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012c); incineración de residuos municipales(Gekièrè et al., 2023); acumulación de lodos y aguas residuales(Gekièrè et al., 2023)
S	No significativa	quema de carbón(Heinrichs, 1977); combustión de subproductos del petróleo, (Robinson y Robbins, 1970); quema de gas natural, uso de fertilizantes(Komarnisky et al., 2003); tráfico vehicular(Jensen y Fenger, 1994); aplicación de fertilizantes y fungicidas(Guttikunda et al., 2003; Kopáček et al., 2014); acumulación de lodos y aguas residuales(Pons-Branchu et al., 2017)
V	No significativa	Combustión de diésel (Nory et al., 2021); combustión de petróleo; quema de carbón(Imtiaz et al., 2015); lodos de aguas residuales urbanas; empleo de fertilizantes; residuos de minas; deposición de desechos industriales.(Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012d); acumulación de lodos y aguas residuales(Mohiuddin et al., 2010)

Apéndice 4 Funnel Plot para evaluar el sesgo de publicación



DISCUSIÓN GENERAL

En el presente trabajo se propuso analizar la influencia de la urbanización sobre la acumulación de metales de interés toxicológico en abejas, a través de dos enfoques complementarios: un estudio de caso local en la zona metropolitana de Pachuca y un meta-análisis global. La combinación de estos enfoques permitió una comprensión tanto contextual como generalizable de los efectos de la urbanización en la contaminación ambiental que enfrentan los polinizadores.

Los resultados obtenidos en ambos estudios apoyan la hipótesis general de que las abejas presentan mayores concentraciones de metales en ambientes más urbanizados. En el estudio local, se evidenció que la concentración de varios elementos — como Ag, Cr, Cu y Zn — fue significativamente mayor en abejas recolectadas en sitios con alto grado de urbanización. Estas observaciones están en línea con los patrones de emisión esperados en zonas densamente pobladas y con fuerte presencia de actividades antrópicas como el tráfico vehicular, actividad asociada con la emisión de estos elementos (ATSDR, 2004a, 2005; Gupta, 2020)

A través del análisis del gradiente urbano-rural, fue posible establecer relaciones cuantitativas entre el nivel de urbanización y la carga corporal de metales en *A. mellifera*, confirmando la utilidad de esta especie como bioindicadora en paisajes urbanos.

Por su parte, el meta-análisis bibliográfico permitió extender esta observación a una escala global, integrando más de seiscientos tamaños de efecto derivados de estudios realizados en cinco continentes. De manera consistente, se encontró que elementos como As, Cd, Cr, Cu, Pb y Zn se acumulan en mayor proporción en abejas provenientes de áreas urbanas en comparación con aquellas de zonas menos intervenidas. Este patrón recurrente sugiere que la urbanización no solo transforma los hábitats a nivel estructural y funcional (Gerten et al., 2019; Seto et al., 2011), sino que también incrementa la carga de contaminantes persistentes en el ambiente, a los cuales las abejas quedan expuestas al interactuar con las plantas que crecen en suelos contaminados, mediante el contacto con polen y néctar (Gutiérrez et al., 2020; Monchanin et al., 2022; Tomczyk et al., 2020), durante el vuelo (Negri et al., 2015) y mediante el consumo de agua contaminada (Celli y Maccagnani, 2003; Di et al., 2016; Hladun et al., 2016) y representa un riesgo silencioso que puede comprometer su fisiología, comportamiento y supervivencia (Morón et al., 2014)

Desde una perspectiva ecológica y de conservación, los hallazgos de esta tesis tienen implicaciones importantes. Primero, confirman el valor de *A. mellifera* como un bioindicador sensible y eficaz de contaminación por metales en ambientes urbanos, dada su amplia distribución, contacto con múltiples compartimentos ambientales y facilidad de muestreo ambientales (Badiou-Bénéteau et al., 2013). Segundo, subrayan la necesidad de ampliar la investigación hacia regiones como América Latina, donde los datos aún son escasos a pesar de su gran riqueza en especies de abejas y rápidos procesos de urbanización. Tercero, refuerzan la urgencia de diseñar estrategias de monitoreo ambiental que consideren

no solo la biodiversidad urbana, sino también los contaminantes menos visibles que amenazan su funcionalidad y permanencia.

Además, esta investigación abre la puerta a nuevas preguntas sobre los efectos fisiológicos, conductuales y poblacionales que puede tener la acumulación crónica de metales en abejas. Aunque la presente tesis se enfocó en la detección y cuantificación de estos elementos, estudios futuros deberán abordar los impactos ecotoxicológicos y las posibles consecuencias a nivel de colonia y población, así como explorar mecanismos de bioacumulación y detoxificación.

CONCLUSIONES GENERALES

Esta tesis, al integrar dos enfoques complementarios -un estudio de caso local y un meta-análisis global- resalta cómo las áreas urbanas actúan como fuentes de contaminación por metales de interés toxicológico para las abejas. La evidencia obtenida en la zona metropolitana de Pachuca, junto con los datos globales, muestra que a medida que aumenta el grado de urbanización, las abejas acumulan mayores concentraciones de diversos metales. Este patrón está vinculado a las actividades humanas en estos entornos, como el tráfico vehicular, la industria y la construcción, todas fuentes conocidas de metales pesados.

Los hallazgos de este trabajo amplían nuestra comprensión de los efectos de la urbanización sobre la biodiversidad, pero también abren nuevas vías para la acción. La exposición crónica a metales pesados podría alterar la fisiologías, comportamientos y poblaciones de abejas, afectando los servicios ecosistémicos vitales como la polinización. Por ello, esta investigación subraya la necesidad de repensar las estrategias de urbanización y las políticas públicas en pro de la protección de especies como las abejas, que desempeñan roles cruciales en el mantenimiento de los ecosistemas urbanos. La urgencia de incorporar estos hallazgos en los esfuerzos de sostenibilidad es evidente, especialmente al considerar el impacto de la contaminación persistente en la salud ambiental a largo plazo.

Literatura citada

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2004a). Toxicological profile for copper. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp132.pdf>. (Accessed 15 June 2023).
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2005). Toxicological profile for zinc. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Atlanta, Georgia, USA. Available at: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp60.pdf>. (Accessed 15 June 2023).

- Badiou-Bénéteau, A. y Benneveau, A. y G  ret, F. y Delatte, H. y Becker, N. y Brunet, J.-L. y Reynaud, B. y Belzunces, L. P. (2013). Honeybee biomarkers as promising tools to monitor environmental quality. *Environment International*, 60, 31–41.
- Celli, G. y Maccagnani, B. (2003). Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*, 56(1), 137–139.
- Di, N., Hladun, K.R., Zhang, K., Liu, T.X., Trumble, J.T. (2016). Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. *Chemosphere* 152, 530–538. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.033>.
- Gerten, C., Fina, S., Rusche, K. (2019). The sprawling planet: Simplifying the measurement of global urbanization trends. *Front. Environ. Sci.* 7, 140. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00140>.
- Gupta, V. (2020). Vehicle-generated heavy metal pollution in an urban environment and its distribution into various environmental components. In Shukla, V., Kumar, K. (Eds.), *Environmental Concerns and Sustainable Development: Volume 1: Air, Water and Energy Resources* (pp. 113–127). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-13-5889-0_5.
- Gutiérrez, M. y Molero, R. y Gaju, M. y van der Steen, J. y Porrini, C. y Ruiz, J. A. (2020). Assessing heavy metal pollution by biomonitoring honeybee nectar in Córdoba (Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 27(10), 10436–10448.
- Hladun, K.R., Di, N., Liu, T., Trumble, J.T. (2016). Metal contaminant accumulation in the hive: consequences for whole-colony health and brood production in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Environ. Toxicol. Chem.* 35(2), 322–329. <https://doi.org/10.1002/etc.3273>.
- Monchanin, C., de Brito Sanchez, M.G., Lecouivre, L., Boidard, O., M  ry, G., Silvestre, J., Le Roux, G., Baqu  , D., Elger, A., Barron, A.B. (2022). Honey bees cannot sense harmful concentrations of metal pollutants in food. *Chemosphere* 297, 134089. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134089>.
- Moro  n, D. y Szentgyörgyi, H. y Skórka, P. y Potts, S. G. y Woyciechowski, M. (2014). Survival, reproduction and population growth of the bee pollinator, *Osmia rufa* (Hymenoptera: Megachilidae), along gradients of heavy metal pollution. *Insect Conservation and Diversity*, 7(2), 113–121.
- Negri, I. y Mavris, C. y Di Prisco, G. y Caprio, E. y Pellecchia, M. (2015). Honey bees (*Apis mellifera*, L.) as active samplers of airborne particulate matter. *PLoS One*, 10(7), e0132491.
- Seto, K.C., Fragkias, M., Güneralp, B., Reilly, M.K. (2011). A meta-analysis of global urban land expansion. *PloS One* 6(8), e23777. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023777>.
- Tomczyk, M. y Zagu  a, G. y Puchalski, C. y D  zgan, M. (2020). Transfer of some toxic metals from soil to honey depending on bee habitat conditions. *Acta Universitatis Cinbinesis, Series E: Food Technology*, 24(1).