



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**EFFECTOS EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO TRAS
LA INGESTA MATERNA DE CIPERMETRINA EN
CODORNIZ JAPONESA (*Coturnix coturnix japonica*).**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

QUETZALLI MARIANA TÉLLEZ GÓMEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSELE RICARDO FLORES SANTIN



MÉXICO, TOLUCA, 2022

RESUMEN

La cipermetrina es un insecticida sintético que tiene como principal mecanismo de acción el sistema nervioso, en anfibios y peces provoca efectos neurotóxicos, retraso en el crecimiento y alteraciones en el desplazamiento. Realizar investigaciones del uso cotidiano de los plaguicidas es de amplia importancia, ya que nos permite conocer las afectaciones a nivel ecológico y fisiológico a la que se someten hoy en día diversos grupos animales; debido a la exposición química directa o en alimentos. El presente estudio evaluó los efectos y las respuestas fisiológicas de la ingesta del piretroide cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) así como en el desarrollo de sus embriones. Se utilizaron 20 hembras ponedoras de codorniz japonesa entre 2-8 meses de edad. Las aves se dividieron en cuatro grupos experimentales de 5 ejemplares cada uno, a los cuales se les administro una dosis única, vía traqueal del piretroide cipermetrina. Las dosis fueron: dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). Por cada dosis se propuso coleccionar 8 huevos fértiles de cada hembra, en un lapso de catorce días y posteriormente agrupar 2 huevos respecto al día de incubación-disección: 5 días, 10 días, 15 días y eclosión. Demostrándose con un total de 116 huevos fértiles de 145, que la ingesta materna de cipermetrina provocó alteraciones en el desarrollo embrionario. La variable de pérdida de peso del huevo en el día 5 de incubación influyó colateralmente en la variación del peso de cascarón y un subdesarrollo equivalente a estadios tempranos HH de acuerdo a los establecidos por Ainsworth et al. (2010), a partir de la dosis 1 y 3 de cipermetrina. Mientras que, el peso del vitelo fue inferior en el día 15 de incubación tras la dosis 2 de cipermetrina. La ingesta materna de 0.6 g/kg de cipermetrina provoca la ausencia de eclosión y subdesarrollo de estadios HH, así como las dosis 0.15 g/kg y 0.6 g/kg causan deformaciones en el embrión.

La mortalidad y diferencia de peso de las hembras, el índice de puesta, fertilidad, pigmentación e índice de forma de los huevos, mortalidad embrionaria, variación del peso de los embriones y membrana corioalantoidea, pesos de ejemplares eclosionados e índices de crecimiento; no mostraron valores significativos respecto al día de incubación o tratamiento del insecticida. Finalmente, se infiere una posible ventana crítica del desarrollo de los

embriones en el día 5 de incubación tras los efectos de la dosis 1 y 3 de cipermetrina; así como en ejemplares eclosionados con la dosis 3 de cipermetrina

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1. Plaguicidas en el mundo y México	2
2.2. Clasificación de los plaguicidas	4
2.3. Piretroides	6
2.3.1. Cipermetrina	6
2.3.1.1. Toxicocinética y toxicodinámica	7
2.3.1.2. Degradación	7
2.3.1.3. Efectos tóxicos	7
2.4. Aves y plaguicidas	8
2.5. Aves como grupo modelo	9
2.5.1. Especie de estudio	9
2.5.1.1. Formación y características del huevo	10
III. JUSTIFICACIÓN	11
IV. OBJETIVOS	12
4.1. General	12
4.2. Específicos	12
V. HIPÓTESIS	13
VI. METODOLOGÍA	13
6.1. Área de experimentación	13
6.2. Obtención y cuidado de ejemplares	13
6.3. Diseño experimental	14
6.4. Ingesta de cipermetrina en hembras	16
6.4.1. Insecticida empleado ALFADEX [®] CE 21.29	16
6.4.2. Administración	16
6.5. Incubación	17

6.6. Disección de huevos -----	17
6.7. Muestra de sangre en ejemplares eclosionados -----	17
6.8. Fijación de embriones y ejemplares eclosionados -----	18
6.9. Fotografía de muestras-----	18
6.9.1. Análisis-----	19
6.10. Análisis estadístico-----	21
VII. RESULTADOS -----	23
VIII. DISCUSIONES -----	37
IX. CONCLUSIONES -----	42
X. RECOMENDACIONES -----	42
XI. REFERENCIAS-----	43
XII. ANEXO -----	48

I. INTRODUCCIÓN

Debido a las pérdidas económicas que sufre el sector agrícola, por plagas en los cultivos. Ha sido necesario emplear herramientas, como fertilizantes y plaguicidas, para asegurar una constante producción alimenticia mundial.

Los plaguicidas se definen como sustancias o conjunto de químicos para controlar o evitar una plaga (García & Rodríguez, 2012; Ortiz et al., 2013). Se pueden clasificar en cuanto a su acción preferente, es decir, sobre el agente biológico que controlan. De acuerdo con su toxicidad basada en la DL_{50} (dosis letal para el 50% de la población), se agrupan en nocivos, tóxicos y muy tóxicos. Por composición química, se dividen en: organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, biperidilos, clorofenoxiacidos, cloro, nitrofenoles y organomercuriales (Avivar et al., 2003).

Hoy en día, el uso de los insecticidas en nuestra sociedad se ha extendido desde actividades agrícolas hasta el hogar; siendo la agricultura la de mayor importancia y misma que en México ha optado por utilizar una cantidad mayor a la recomendada de estas sustancias (Choudhary et al., 2018; C. García & Rodriguez, 2012; Velázquez, 2019). Dentro del grupo de los piretroides, la cipermetrina es un insecticida sintético que tiene como principal mecanismo de acción el sistema nervioso de los artrópodos. Se ha observado que en anuros causa efectos neurotóxicos, retraso en el crecimiento y alteraciones en el desplazamiento (Triana et al., 2017). Este pesticida también afecta a los peces y anfibios de manera importante, seguido por las aves y los mamíferos a escala menor (Avivar et al., 2003; OMS, 1989; Triana et al., 2017).

El efecto de los pesticidas en el grupo de las aves, ha provocado pérdidas de poblaciones en diversas especies (Carson, 2017; Devine et al., 2008). Los mecanismos de afectación pueden ser directos o indirectos. De manera indirecta, la desaparición de los organismos que componen su dieta y alteraciones que influyen en la elección de nido; de manera directa, la contaminación de su alimento (presas, semillas y frutos). Provocando bioacumulación, magnificación así como alta mortalidad (Badii et al., 2006; Fernández & Cabezuelo, 1993; Mansilla, 2017; Walker, 2003).

La alta sensibilidad toxicológica de las aves en su hábitat nos permite utilizarlas como referente ante perturbaciones ambientales (Navarro et al., 2014). Dentro del grupo de las

aves, las gallináceas han sido utilizadas en distintas áreas de la ciencia por su versatilidad, abundancia y fácil manejo. Convirtiéndose en organismos modelo para estudios de campo y laboratorio (Badii et al., 2006; Navarro et al., 2014). En el caso de la codorniz japonesa, este proyecto evaluará las respuestas fisiológicas del ave a exposiciones directas de pesticida. Algunos estudios, han establecido una baja toxicidad de esta sustancia en su forma pura para la especie, pero sin tomar en cuenta la forma comercial y sus coadyuvantes.

La presente investigación pretende conocer los efectos de la forma comercial del piretroide cipermetrina en la reproducción, mortalidad y desarrollo embrionario de los individuos. Esperando sirva como referencia para crear futuros manuales específicos del uso de piretroides en la agricultura; así como evaluar el daño colateral que se está ocasionando a especies de aves y otros grupos animales.

II. ANTECEDENTES

2.1. Plaguicidas en el mundo y México

Los plaguicidas o pesticidas se definen como sustancias o conjunto de químicos para controlar, destruir o evitar una plaga (Mansilla, 2017; Ortíz et al., 2013). Las plagas involucran todas aquellas poblaciones de especies animales, vegetales o microorganismos que ejercen un daño; ya sea a la producción agrícola, ser agentes patogénicos, etc. Aunque debido a diversos criterios, definir plaguicida y plaga es ambiguo (Bedmar, 2011; Ortíz et al., 2013); ya que cada organización tiene diferentes rubros de lo que es dañino, acorde a su beneficio y percepción.

El uso de los plaguicidas naturales en el mundo comenzó empleando flores y elementos químicos, como arsénico, cobre, plomo, manganeso, zinc o azufre. Posteriormente, con la revolución industrial surgen productos derivados del petróleo y es en 1920, cuando comienzan las sustancias sintéticas de nitrógeno gaseoso en Estados Unidos. Teniendo su auge y aprovechamiento tras la segunda guerra mundial, con los primeros plaguicidas organoclorados (Bedmar, 2011; Carson, 2017; Isern, 2002; López, 2015).

La agricultura es la creación de sistemas culturales que interaccionan con la dinámica y modificación de la naturaleza. Empleando herramientas como fertilizantes, plaguicidas e ingeniería genética; estas últimas características de la agricultura moderna (Ferraro & Rositano; Wolansky, 2011).

En México, el aumento de la producción agrícola y requerimiento de plaguicidas en los cultivos surge con el movimiento de la Revolución verde de los años 40's, en donde se prioriza la selección genética y aprovechamiento a gran escala de monocultivos (López, 2015). Posteriormente, el registro de los plaguicidas en nuestro país se da tras la política de Miguel de la Madrid, en el Acuerdo General de Aranceles y Comercio (GATT) de 1986 así como en el Tratado de Libre Comercio de América del Norte (TLCAN) en 1992 (Bejarano et al., 2017). Siendo la exportación hoy en día de: frutos, cereales, leguminosas, hortalizas y oleaginosas; a Estados Unidos, Guatemala, Canadá, Colombia y Venezuela (Bejarano et al., 2017; García & Rodríguez, 2012).

Se calcula que alrededor del 65% del consumo de plaguicidas en México, son para uso agrícola (Danzos, 2007; Garza & Cervantes, 2015) y principalmente con acción fungicida, bactericida, insecticida y herbicida (Bejarano et al., 2017; Zepeda, 2018). Los estados con mayor uso de estas sustancias, así como padecimiento de intoxicaciones por estos mismos son: Colima, Nayarit, Guerrero, Chiapas, Sinaloa, Morelos, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Veracruz, Puebla, Guanajuato, Sonora, Baja California, Tamaulipas, Tabasco y Oaxaca (García et al., 2018; Pérez et al., 2013).

Actualmente, debido a la agricultura intensiva así como la falta de estudios detallados y de la regularización por parte de las autoridades; se desconocen las cifras exactas de cantidades empleadas de plaguicidas y los efectos tóxicos que se están generando (Danzos, 2007; Devine et al., 2008; Ortiz et al., 2014).

La regularización y registro de plaguicidas en nuestro país se efectúa a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Secretaría de Agricultura y Desarrollo rural (SADER). Se estima que de los 3, 140 registros existentes y autorizados, más de la mitad pertenecen a plaguicidas altamente peligrosos y con vigencia indeterminada. Destacándose 65 prohibidos por la OMS y 183 ingredientes activos que poseen efectos cancerígenos, reproductivos, perturbadores endocrinos y/o mutagénicos. Así como los que representan más de la mitad del número máximo permitido de ingredientes activos altamente peligrosos; acorde los lineamientos establecidos en los convenios ambientales (Protocolo de Montreal, Convenio Róterdam y Estocolmo) (Bejarano et al., 2017; García & Rodríguez, 2012; Yarto et al., n.d.).

Las asociaciones que principalmente dominan la industria/adquisición de registros de plaguicidas altamente peligrosos autorizados en México y el mundo son: Protección de Cultivos, Ciencia y Tecnología A.C (PROCCYT), con 51 empresas transnacionales como Syngenta, Bayer, Monsanto, Dow-Dupont, BASF y Agrio Bio-México; la Unión Mexicana de Fabricantes y Formuladores de Agroquímicos A.C. (UMFFAAC), con 31empresas asociadas y proveniente de AgroCare Lationamerica-International. Agregando empresas internacionales, como FMC Agroquímica de México, Dow AgroSciences, BASF; y nacionales, que involucran a Velsimex, Agricultura Nacional, Agroquímicos Versa, Agricultura Nacional de Jalisco, Agroquímica Tridente, Química Lucava, Agromundo y Sifatec (Ibídem).

2.2. Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas pueden clasificarse de acuerdo con su actividad biológica, naturaleza química, toxicidad, mecanismo de acción, persistencia, concentración, daño y uso.

CLASIFICACIÓN DE LOS PLAGUICIDAS

CLASIFICACIÓN

Actividad biológica



DIVISIÓN

- **Fungicida:** Hongos.
- **Antibiótico:** Bacterias, hongos.
- **Herbicida:** Hierbas, defoliantes y arboricidas.
- **Insecticida:** Artrópodos.
- **Nematicida:** Nematodos.
- **Molusquicida:** Moluscos.
- **Rodenticida:** Roedores.

Naturaleza química (Origen natural y sintético)



Orgánicos: Compuestos que contienen átomos de carbono en su estructura química.

- **Organoclorados:** Compuesto con esqueleto de átomos de carbono en el cual hay reemplazo de algunos átomos de hidrógeno por cloro. Altamente contaminante y cancerígeno.
- **Organofosforados:** Compuestos que posee uno o varios átomos de fósforo en su estructura molecular, así como son menos agresivos en cuanto acumulación.
- **Carbamatos:** Sustancias que provienen del ácido carbámico. Sus moléculas son fotodegradables, y liposolubles.
- **Piretroides:** Sustancias que poseen una molécula piretro.

Inorgánicos: Compuestos que carecen de átomo de carbono en su estructura química.

- **Derivados cloro**
- **Derivados de azufre**
- **Derivados de zinc**
- **Derivados de aluminio**

Biológicos: Formulados a partir de microorganismos.

- Hongos
- Bacterias
- Virus

TOXICIDAD Y PELIGROSIDAD (DL50)



- **Extremadamente tóxicos:** Riesgos graves, agudos, crónicos o muerte.
- **Altamente tóxicos:** Riesgos graves, agudos o crónicos.
- **Moderadamente tóxicos:** Riesgo de gravedad limitada.
- **Ligeramente tóxicos:** Pocos riesgos.

DAÑO (INTOXICACIÓN POR EXPOSICIÓN)



- **Crónico:** Exposiciones bajas a largo plazo.
- **Agudo:** Exposiciones altas en corto tiempo.

MECANISMO DE ACCIÓN



- **Contacto:** Absorción por tejidos externos del organismo.
- **Ingestión o estomacal:** Son ingeridos por la plaga.
- **Sistémicos:** Se absorben y movilizan por el sistema vascular.
- **Fumigantes:** Gases o vapores que penetran todas las vías de absorción.
- **Repelentes:** Impiden el ataque de plagas.
- **Defoliantes:** Provoca caída de follaje en plantas.

PERSISTENCIA



- **Ligeramente persistentes:** Menos de 4 semanas.
- **Poco persistentes:** 4-26 semanas.
- **Medianamente persistentes:** 27-52 semanas.
- **Altamente permanentes:** 1- 20 años.
- **Permanentes:** Más de 20 años.

USO



- **Industrial**
- **Doméstico**
- **Jardinería**
- **Pecuario**
- **Urbano**
- **Agrícola**
- **Forestal**

CONCENTRACIÓN



- **Técnico:** Sustancia que contiene la máxima concentración de ingrediente activo.
- **Formulado:** Mezcla de uno o varios plaguicidas con ingredientes inertes.

2.3. Piretroides

De acuerdo a la subdivisión de los plaguicidas orgánicos, el grupo de los piretroides incluye a aquellas sustancias químicas que poseen una molécula piretro en su estructura molecular y que a diferencia de los demás grupos tiene mayor estabilidad a la luz, calor y degradación (Ortíz et al., 2013).

La comprensión y surgimiento de los piretroides comienza a mitades del siglo XIX, con el uso del polvo persa para combatir piojos. El piretro natural se obtiene de las cabezas del crisantemo (*Crysanthemum cinerariaefolium*), especie distribuida en Kenya, Cáucaso, Irán, Japón, Ecuador y Nueva Guinea. Sus propiedades insecticidas se atribuyen a la mezcla de piretrinas, cinerinas, y jasmolinas (Curillo, 2015; Masuh, 1998).

Los piretroides sintéticos surgen debido a la síntesis de piretrinas naturales, ácidos crisantémicos y ciclopentenolas. Clasificándose en Tipo 1, a aquellos que producen el “Síndrome T” (temblor) e incluyen a la piretrina, aletrina, tetrametrina, kadetrina, resmetrina, fenotrina y permetrina. Mientras que el tipo 2, abarca a todos aquellos que producen un “Síndrome C-S” (Coreoatetosis-Salivación) y pertenecen la cipermetrina, fenpropatrin, deltametrina, cifenotrina, fenvalerato y fluvalinato (Avivar et al., 2003; Centro de Información Toxicológica de Veracruz, 2014; Koga & Ruiz, n.d.).

2.3.1. Cipermetrina

De acuerdo a sus propiedades químicas (ver Anexo), la cipermetrina es un insecticida perteneciente al grupo de los piretroides orgánicos sintéticos de segunda generación (Isern, 2002). Su acción química enfoca principalmente el grupo de los insectos, con el fin de atacar plagas agrícolas, de cría de animales y salud pública.

Se sintetizó por primera vez en 1974 y en 1977 se comercializó hasta alcanzar su reconocimiento y eficacia mundial en 1982, tras la demanda que exigían los cultivos de algodón (OMS, 1989; Triana et al., 2017). Es utilizado en emulsión o aspersion, polvos humectables y combinaciones de diversos plaguicidas.

2.3.1.1. Toxicocinética y toxicodinámica

La absorción de los piretroides, induce una hidrólisis por esterasas hepáticas hasta ser eliminados por la orina (Centro de Información Toxicológica de Veracruz, 2014; Majeed et al., 2012; OMS, 1989). La duración de la cipermetrina en la sangre es aproximadamente de 10 horas, mientras que en la orina de 12-36 horas (Bonne et al., 2003). Biotransformándose prioritariamente en el hígado e intestino (Edwards et al., 1987).

La principal reacción metabólica que ejerce la cipermetrina en algunas especies mamíferas (perro, rata y ratón); comienza con el desdoblamiento del enlace de ésteres, una hidroxilación y conjugación del ciclopropano, así como de fenoxibencil (OMS, 1989).

El efecto neurotóxico en vertebrados se inicia en las células nerviosas excitables, con la interferencia en el mecanismo de transporte iónico (Na^+ y K^+) en la membrana de los axones, así como el bloqueo de las vías inhibitorias a través del calcio-magnesio-ATPasa y canales de cloro del receptor GABA. Que a su vez ocasionan una hiper-excitación, bloqueo de impulso eléctrico y parálisis (Centro de Información Toxicológica de Veracruz, 2014; Curillo, 2015; Mohammadi et al., 2019; Walker, 2003).

2.3.1.2. Degradación

La ruta de degradación en suelos comienza con el desdoblamiento de los ésteres y presencia de productos con ciclopropano, así como fenoxibencil. Con una vida en el suelo de máximo cuatro semanas, en donde los productos de desintegración son fijados en forma de glucósidos a las plantas (OMS, 1989).

2.3.1.3. Efectos tóxicos

La exposición química a la que se someten hoy en día diversos grupos animales, respecto al uso de plaguicidas, puede provocar afectaciones a nivel ecológico y fisiológico del ejemplar. Dosis altas de cipermetrina, desencadenan efectos en la microflora del suelo; y niveles bajos de cipermetrina, pueden filtrarse al agua superficial así como ocasionar efectos sobre insectos que respiren en la superficie (Moreno et al., 2012; OMS, 1989).

Estudios en anfibios, reportan que la cipermetrina provoca alteraciones y afectaciones en el desarrollo embrionario, sistema nervioso, movilidad, intestino, crecimiento, sistema inmune, deformidades en partes del cuerpo y supervivencia (Agostini, 2013; Triana et al., 2017). Mientras que en abejas melíferas y peces, hay alta sensibilidad y absorción bajo condiciones de derrame o sobre-aspersión del insecticida (Moreno et al., 2012; OMS, 1989; Ruiz & Koga, n.d.; Yilmaz et al., 2004).

Los plaguicidas son contaminantes emergentes, es decir, compuestos químicos que impactan en el medio ambiente y son invisibles (Sanchez, 2018). En México, la cipermetrina se encuentra entre los 183 registros autorizados de activos altamente peligrosos (Bejarano et al., 2017; Ortíz et al., 2013) y es por eso que son pocos los estudios que evalúan los efectos tóxicos de dicha sustancia a nivel de suelo, hombre, aire, flora, animales, mantos freáticos, aguas continentales y costeras en nuestro país.

2.4. Aves y plaguicidas

Los efectos que ejercen los plaguicidas en las aves se pueden clasificar en directos, que incluyen la mortalidad del ejemplar por toxicidad aguda-crónica y efectos en reproducción; e indirectos, que implica reducción de alimento para las aves-presas, alteración de hábitat, menor estado de salud y éxito reproductor (Carson, 2017; Fernández & Cabezuelo, 1993; Kaur et al., 2018; López, 2015; Walker, 2003), ocasionando declives poblacionales.

La reducción de abundancia de invertebrados y especies que son alimento de las aves granívoras e insectívoras, se debe principalmente al uso de plaguicidas de tipo herbicida, insecticida y fungicida. Afectando el proceso de crianza, estado de salud así como el gasto energético de los individuos adultos por la obtención de alimento (Carson, 2017; López, 2015; Pascual & Peris, 1992).

La diversidad de aves en México a escala mundial representa cerca de un 11%, colocándolo como el onceavo lugar avifaunístico entre los países megadiversos del mundo y representando al cuarto lugar respecto a especies endémicas (Navarro et al., 2014). El Estado de México posee el onceavo lugar respecto al número de aves e involucra un 18% de especies endémicas del total a nivel nacional (Ceballos et al., 2009). Por lo que es

fundamental estudiar los elementos que pudieran afectar las condiciones ecológicas de las aves.

2.5. Aves como grupo modelo

Las gallináceas y especies de aves como el pato, han sido empleadas como modelo de estudio tanto del desarrollo embrionario, virología, aspectos ontogénicos y teratogénicos así como diversas áreas biomédicas (Badii et al., 2006; Davey & Tickle, 2007; Navarro et al., 2014; Rodriguez et al., 2014).

Dentro de la biología del desarrollo, la teratología se encarga de estudiar las anomalías del desarrollo ocasionadas por factores ambientales. El conocimiento acerca de estas anomalías nos permite detectar riesgos para poblaciones humanas y de animales silvestres (Gilbert, 2005).

La morfología era vista como descripción de estructuras observadas, sin embargo, hoy en día los análisis estadísticos de variables cuantitativas nos permiten realizar comparaciones directas para poder observar efectos experimentales. La morfometría es el estudio de la covariación de la forma con factores subyacentes (Nakane & Tsudzuki, 1999; Toro et al., 2010). Permittiéndonos analizar los cambios en los embriones sometidos a pruebas teratológicas y evaluar efectos a nivel esquelético-morfológico a través de la técnica de análisis de imágenes.

2.5.1. Especie de estudio

La codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*), pertenece al orden Galliformes y familia Phasianidae (Paredes, 2016). Es una especie domesticada en China y posteriormente importada a Japón a principios del siglo XI -XII, conocida y popularizada por su carne, así como su producción de huevo hasta el siglo XX (Valle et al., 2015)

La primera vez que se utilizó como modelo de investigación fue en 1960 por Padgett y Ivey, empleándose desde dicha ocasión por su pequeño tamaño y reducido tiempo de incubación (Ainsworth et al., 2010). Actualmente, la especie se encuentra en categoría de menor riesgo de acuerdo a la lista roja (IUCN, 2018); su dieta incorpora principalmente semillas, cereales e invertebrados y tolera una temperatura entre 18°-24°C con humedad relativa entre 60-75°C (Ortega, 2011; Paredes, 2016; Vásquez & Ballesteros, 2007).

El dimorfismo sexual está presente con el tamaño más grande de la hembra, el canto de los machos y la diferenciación del color del plumaje del pecho; siendo de un color rojizo/marrón claro para los machos y en las hembras pequeños destellos blancos, así como plumas marrones claro, moteadas con manchas oscuras. Además de la diferente pigmentación en la barbilla, base de pico y distinción de las glándulas cloacales (Navarrete, 2012; Vásquez & Ballesteros, 2007; Vilchis, 2008).

Su madurez sexual es alcanzada aproximadamente en 45 días, destacándose la ganancia de peso entre 110-170 g y el inicio de postura de las hembras con 1 o 2 huevos diarios (Lembcke et al., 2001; Navarrete, 2012).

2.5.1.1. Formación y características del huevo

La reproducción involucra la formación del huevo. Este surge de la ovulación y fecundación interna a través de la unión de cloacas masculinas/femeninas, así como la puesta de la hembra (Valle et al., 2015).

El aparato reproductor de la hembra está formado por ovario, oviducto y cloaca. La ovulación, empieza desde el surgimiento de la yema a través de los óvulos con membrana folicular y después la ruptura de esta con la yema de mayor tamaño, dirigiéndose al infundíbulo (primera parte del oviducto) para posiblemente ser fecundada (Valle et al., 2015).

La segunda parte del oviducto, denominada istmo, se encarga de formar las membranas de la cáscara para que en el útero se calcifique el huevo. Posteriormente en la pseudovagina, el huevo gira y se pigmenta en las glándulas pigmentarias; ocurriendo la ovoposición por la cloaca (Navarrete, 2012).

El desarrollo embrionario del huevo de codorniz consiste en 16.5 días (Ainsworth et al., 2010) y está relacionado con la alimentación de los progenitores, estado óptimo de salud y situación de confort ambiental. Su forma es ovoide y con manchas marrones, intervalos blancos o amarillentos, aproximadamente con un peso de 10-12 gr (Lembcke et al., 2001; Navarrete, 2012; Uztariz, 2005; Valle et al., 2015; Vásquez & Ballesteros, 2007).

Como estructura del huevo encontramos (Navarrete, 2012; Valle et al., 2015):

Cáscara. – Limitada externamente por la cutícula e internamente por las membranas ovulares, presenta una capa externa esponjosa y una interna denominada mamilar. Está compuesta principalmente por carbonato de calcio y su función es permitir el intercambio gaseoso.

Cutícula. - Barrera que impide el paso de contaminación, regula la humedad y pérdida de agua mediante la película lipoidea que recubre al huevo.

Cámara de aire o membranas ovulares. Están debajo de la cáscara y cuando se separan forman la cámara de aire que se encarga de permitir la evaporación y absorción; ya que aumenta de tamaño conforme crece el embrión.

Vitelo o yema: Surge del ovario y es el material que brinda nutrición al embrión.

Albumina o clara: Proviene del oviducto, constituye a las chalazas y permite la posición correcta del vitelo, así como amortigua el movimiento del huevo.

III. JUSTIFICACIÓN

Las aves son un componente importante de los ecosistemas, estas pueden ser consumidoras de alimentos, dispersoras de semillas, presas, polinizadoras, así como forman parte de la diversidad de especies animales que poseemos en el mundo. En la sociedad, tienen importancia a nivel económico que abarca desde la producción para el consumo, hasta cuestiones de ornamento, mascotas, uso indumentario y ritual. Por estas razones, es importante realizar estudios acerca de las respuestas fisiológicas que están presentando las aves expuestas a plaguicidas y así poder desarrollar específicos métodos de manejo u alternativas verdes que permitan mitigar los daños.

El estudio de los efectos de los plaguicidas en un modelo aviar, nos permitirá inferir el impacto de estas sustancias en poblaciones silvestres de aves, así como otros vertebrados. Esperando dicha investigación sirva como referencia para justificar los efectos negativos que generan los insecticidas en la supervivencia de las aves y la vulnerabilidad a la que están sometándose diversas especies endémicas del Estado de México y nuestro país. Enfatizando la necesidad de utilizar herramientas amigables con el ambiente, así como la regularización y correcta capacitación al utilizar sustancias químicas en cultivos agrícolas; para el beneficio de la fauna, flora, economía agrícola y la sociedad consumidora.

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Comparar y determinar los efectos de la ingesta aguda, a diferentes dosis de la fórmula comercial del piretroide cipermetrina en hembras de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) así como en el desarrollo de sus embriones.

4.2. Específicos

- Evaluar la tasa de mortalidad de hembras y sus embriones, tras la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Conocer la diferencia de peso en hembras, antes y después de la ingesta de cipermetrina a diferente dosis.
- Comparar la tasa de puesta de huevos, índice de forma, fertilidad y eclosión de estos; tras la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Equiparar la pérdida de peso del huevo en los días 5, 10 y 15 de incubación, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Analizar el peso del cascarón, membrana corioalantoidea, vitelo y del embrión en los días 5, 10 y 15 de incubación, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Comparar el desarrollo embrionario con los estadios HH para *C.c.japonica*, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Determinar si existen malformaciones en los días 5, 10 y 15 de incubación, así como eclosionados, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Conocer el tiempo de eclosión y peso de los ejemplares nacidos, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.
- Interpretar las medidas morfológicas de índice de crecimiento (longitud nuca-pico, longitud tibio-tarsal, longitud de pico) en embriones de 10, 15 días de incubación y ejemplares eclosionados; productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis.

V. HIPÓTESIS

La ingesta materna de la fórmula comercial de cipermetrina afectara la supervivencia de las hembras y embriones de *Coturnix coturnix japonica*, así como los parámetros morfológicos del desarrollo embrionario.

VI. METODOLOGÍA

6.1. Área de experimentación

El presente trabajo de investigación se realizó en el periodo septiembre 2018-diciembre 2019, en el laboratorio de Ecofisiología animal de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México; ubicado a una latitud de 19° 24' 36.1'' N, longitud de -99° 41' 19.9'' E y altitud de 2582 m (16 kPaPO₂).

Acorde a los datos de la estación climatológica 15238, se registró en dicho tiempo una temperatura media promedio de 15.8 °C- 12.4 °C, temperatura máxima promedio de 24.7°C - 25.4 °C y temperatura mínima promedio de 6.3 °C-0.9° C (CONAGUA, n.d.).

6.2. Obtención y cuidado de ejemplares

Para el desarrollo de este trabajo se emplearon hembras, machos y embriones del ave *Coturnix coturnix japonica*.

Los ejemplares fueron adquiridos al mes de edad en veterinarias procedentes de Toluca y luego criados en las instalaciones del Laboratorio de Ecofisiología animal.

El cautiverio al que se sometieron los individuos fue bajo condiciones de temperatura, ambiente, iluminación del cuarto con focos incandescentes de luz blanca (100 Watts), cuarto con paredes blancas y puerta ventilada, estancia en jaula vertical para codornices de 5 niveles, desparasitación y anillamiento posterior a su ingreso, aseo diario de bebederos y charolas de excremento, así como agua y alimento (Codoreproductina, nutrimentos purina: 21% proteína) de libre acceso. En caso de agresividad de los ejemplares, se optó por emplear ungüento veterinario a heridas abiertas (La Tía 105 años), gotas de ojos para heridas oculares (Oftixina BS), manzanilla en alimento para disminuir agresión con el método de Tenório et al. (2017) y aislamiento en área de recuperación.

Como parte del enriquecimiento ambiental, se incluyeron ocasionalmente larvas de tenebrios a su dieta.

6.3. Diseño experimental

Empleando el muestreo no probabilístico por convencionalismo (Pintado, 2008), se seleccionaron 20 hembras ponedoras y 6 machos reproductores maduros de codorniz japonesa, en un rango de edad de 2-8 meses.

Las hembras ponedoras se agruparon, ocupándose 5 ejemplares por cada grupo experimental. La dosis de acuerdo con el grupo de dosificación se identificó de la siguiente forma: dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control), propuestas a partir del registro de dosis con efecto de mortalidad y toxicología de (Edwards, Millburn, & Hutson, 1987).

Por cada dosis se propuso colectar 40 huevos, dando un total de 160 para conocer y evaluar los efectos en el desarrollo embrionario tras la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis. Los huevos fértiles de cada hembra, fueron obtenidos tras aislarse con un macho reproductor maduro y saludable por 14 días, con agua y comida *ad libitum*. Lapso en el que los huevos se colectaron diariamente para incubar y así mismo evaluar el peso y tasa de mortalidad en las hembras, tasa de puesta de huevos, índice de fertilidad y calidad-longitud de huevos.

En el proceso de colecta e incubación de huevos, se pretendió obtener solo 8 huevos por cada hembra y posteriormente ir agrupando 2 huevos respecto al día de incubación-disección: 5 días, 10 días, 15 días y eclosión. Alcanzando un total de 10 huevos para cada día de incubación y disección, así como los 40 huevos correspondientes respecto a la dosis (Ver Fig.2).

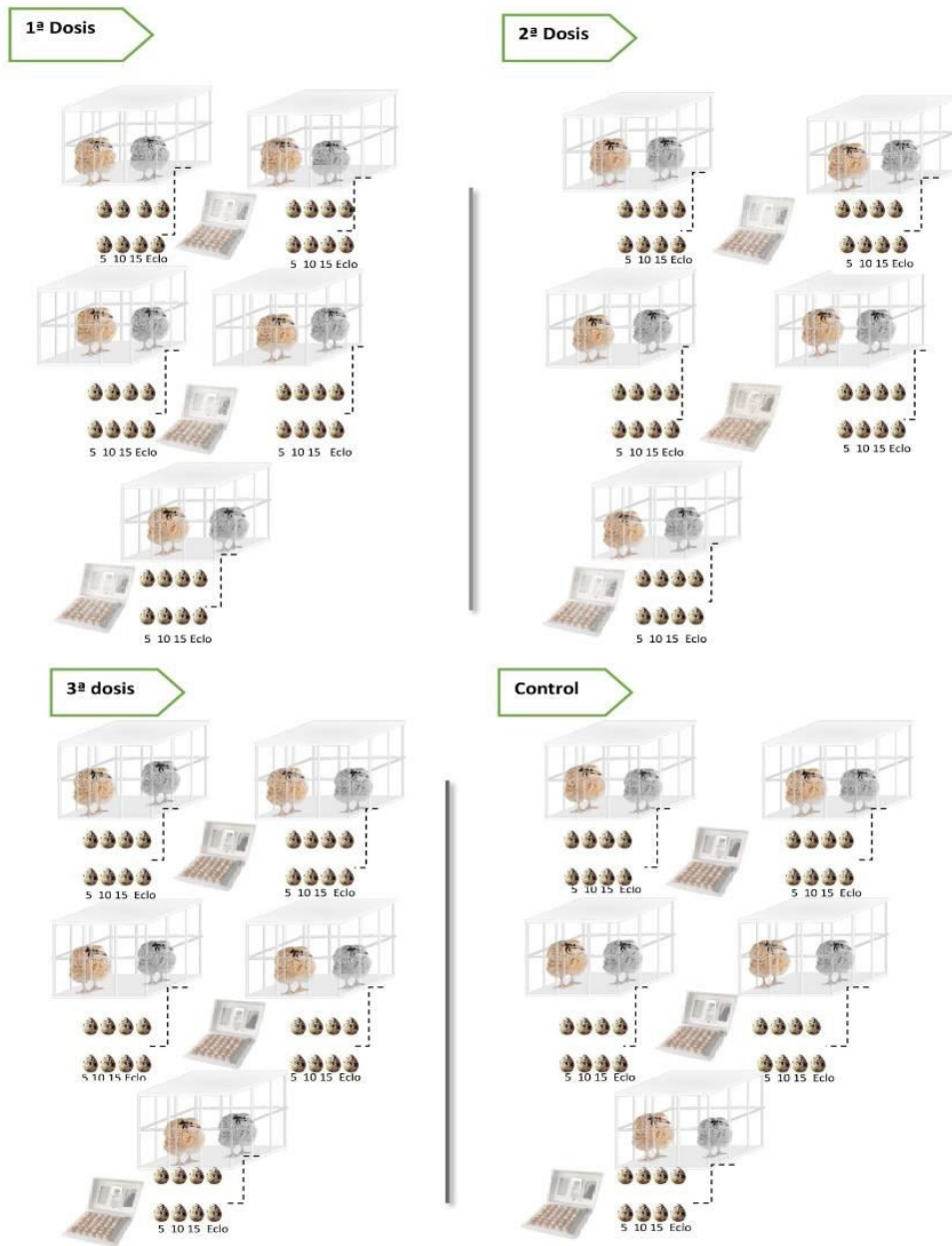




Fig. 2. Representación del diseño experimental en el proceso de la obtención y colecta de huevos, así como el agrupamiento de estos para incubar- diseccionar; respecto cada dosis. Identificando a las hembras  y machos .

6.4. Ingesta de cipermetrina en hembras

6.4.1. Insecticida empleado ALFADEX ® CE 21.29

Es un insecticida concentrado emulsionable, de rápida acción y con la capacidad de eliminar plagas de algunas especies de mosca, mosquitos, arañas, alacranes, hormigas, cucarachas y pulgas. Su versión de 100 ml contiene 212.9 g/L de cipermetrina ((±)-alfa-ciano-3-fenoxibencil(±)-cis,trans-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetil-ciclopropanocarboxilato), equivalente al 21.29 % y un 78.71% de emulsificantes con solventes (NOVARTIS, n.d.).

6.4.2. Administración

En el presente estudio se establecieron 3 dosis de cipermetrina (0.15g/kg, 0.3 g/kg, 0.6 g/kg), propuestas a partir del registro de dosis con efecto de mortalidad y toxicología de (Edwards, Millburn, & Hutson, 1987).

Las disoluciones fueron preparadas con el insecticida ALFADEX ® CE 21.29 en su forma comercial y agua destilada.

La administración de la respectiva dosis única de cipermetrina en hembras ponedoras, se realizó a través de sonda por vía traqueal como se muestra en la Fig. 3. Aplicando 1 ml de disolución correspondiente por cada 200 g de peso del ejemplar y cerciorando la ingesta total con enjuague extra de 0.5 ml de agua, método modificado de (Edwards, Millburn, & Hutson, 1987).

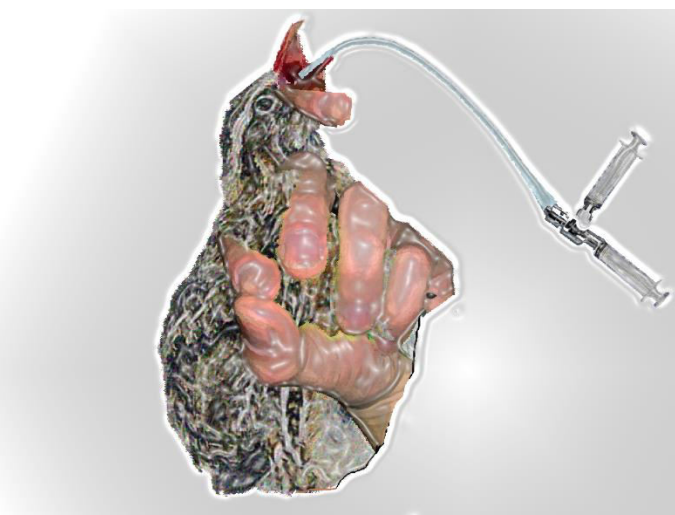


Fig. 3. Representación de la ingesta del piretroide cipermetrina, en las hembras de codorniz. Realizándose a través de la vía traqueal, mediante una sonda unida a llave de tres vías; en la que se conecta la dosis del piretroide cipermetrina y el agua destilada para cerciorar ingesta.

6.5. Incubación

La incubación de los huevos se realizó en incubadoras de unicel de aire forzado (Pro series incubator model 4200-40w/120vac), con temperatura constante de 37.5 °C, humedad de 60% en la incubación y 90% en días cercanos a la eclosión (Valle et al., 2015).

Previo a su ingreso en la incubadora, los huevos fueron limpiados, se registró su peso, medidas de largo-ancho y se marcó la fecha del día 0-eclosión. Organizándolos respecto al diseño experimental (ver Fig. 2).

6.6. Disección de huevos

Se diseccionaron los huevos en los días 5, 10 y 15 de incubación, correspondientes a cada dosis. Registrándose datos de peso del huevo, cascarón, vitelo, membrana corioalantoidea y del embrión.

Las disecciones de los huevos de 5 y 10 días de incubación requirieron desconectar inmediatamente la membrana corioalantoidea del embrión, mientras que los de 15 días de incubación se introdujeron los huevos en una cámara de anestésico Isoflurano; para inducir la muerte por vía inhalatoria y realizar posteriormente la disección de los ejemplares.

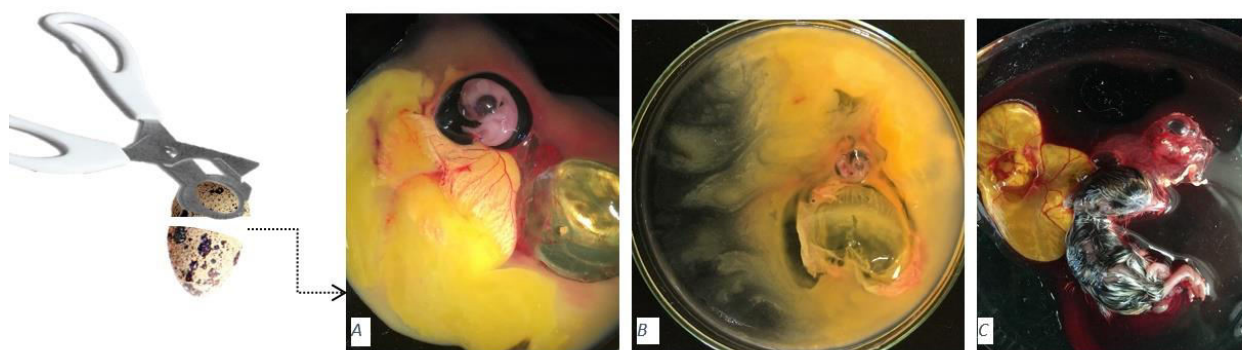


Fig. 4. Huevos disectados en día 5 (B), 10 (A) y 15 (C) de incubación, respecto a su dosis.

6.7. Muestra de sangre en ejemplares eclosionados

Los ejemplares con éxito de eclosión fueron anestesiados en cámara de Isoflurano para sacrificarlos mediante la técnica de punción cardíaca y almacenar la sangre para futuras investigaciones. Registrándose previamente, datos del tiempo de eclosión (días), peso del ejemplar y malformaciones presentes.

6.8. Fijación de embriones y ejemplares eclosionados

Una vez diseccionados los huevos en los días 5, 10 y 15 de incubación, así como los ejemplares eclosionados a los que se les obtuvo sangre; se procedió a la fijación de las muestras. Se empleó formol al 10% para embriones de días 5, 10 y 15 de incubación, mientras que, para ejemplares eclosionados y sacrificados previamente, se fijaron en alcohol al 70%.

6.9. Fotografía de muestras

Las fotografías de muestras de embriones con 5 días de incubación, respecto a cada dosis, se realizaron a través del microscopio estereoscópico AmScope SE305 con adaptador para cámara de celular BOBLOV®. Empleando cámara de iPhone SE con bloqueo de AE/AF, papel milimétrico y objetivo 10x.

Previamente, las muestras se sometieron a tinción de hematoxilina al 50% y se inmergieron en una caja Petri con glicerina para fotografiarse.

Los ejemplares fijados de 10 y 15 días de incubación así como eclosionados respecto a cada dosis, fueron fotografiados modificando el método de Leung (2004). Utilizando una caja de vidrio transparente, agua en reposo de un día, cámara de iPhone SE con bloqueo de AE/AF, lámparas de fibra óptica, terciopelo negro y papel milimétrico, como se representa en la Fig.5.

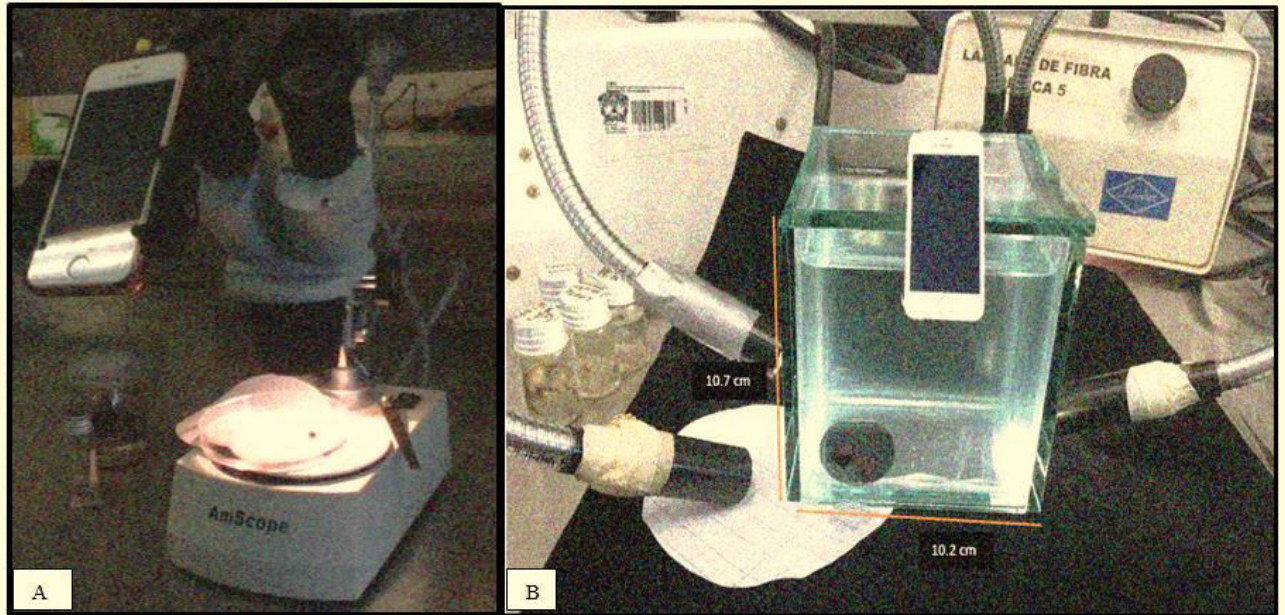


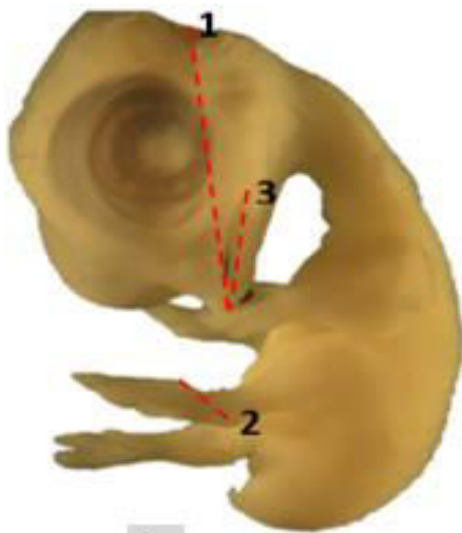
Fig.5. Equipo y método empleado para la toma de fotografías en muestras de embriones con 5 días de incubación (A); 10, 15 días de incubación, así como ejemplares eclosionados (B), respecto a su dosis.

6.9.1. Análisis

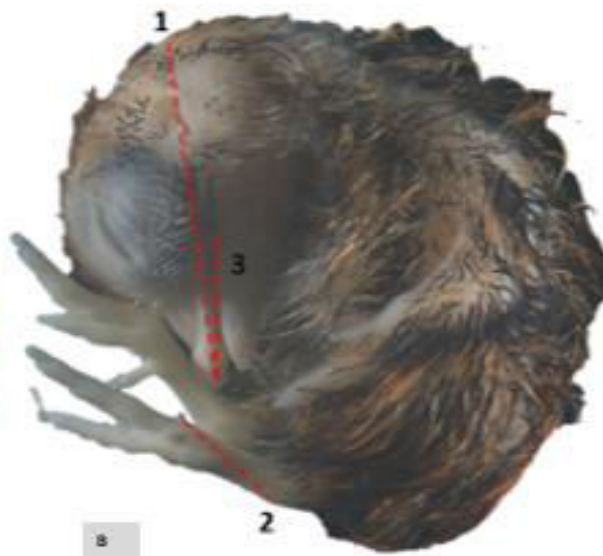
Mediante las fotografías de embriones fijados en los días 5, 10, 15 de incubación y ejemplares eclosionados, se identificaron malformaciones y estadios HH esperados (ver Anexo) para *C.c. japonica* propuestos por Ainsworth et al. (2010).

Los estadios HH fueron propuestos por Hamburger & Hamilton (1993) para identificar las etapas de desarrollo embrionario en *Gallus gallus*, esta guía descriptiva y visual permite evaluar y comparar efectos durante el desarrollo. En *C.c japonica* estos estadios fueron determinados por Ainsworth et al. (2010), pero por convención general en gallináceas se continúan denominando estadios HH.

Las fotografías de embriones con 10 y 15 días de incubación, así como ejemplares eclosionados se sometieron a análisis de morfometría, empleando el programa Image J con unidad de medida en milímetros (mm). Estableciéndose marcas para la medición de índices de crecimiento: Longitud nuca-pico, Longitud tibio-tarsal y Longitud de pico (Fig.6).



A



B



C

Fig.6. Marcas establecidas para la medición de índices de crecimiento en fotografías de *Coturnix coturnix japonica* con 10 días de incubación (A), 15 días de incubación (B) y ejemplares eclosionados (C). 1, Longitud nuca- pico; 2, Longitud tibio-tarsal; 3, Longitud de pico.

6.10. Análisis estadístico

Las observaciones y datos recopilados se ordenaron en hojas de cálculo .xlsx, para su respectivo análisis estadístico y obtención de gráficas en el programa SigmaPlot (versión 12.0) así como Past (versión 4.09). En todas las gráficas los datos se presentan como la media \pm error estándar.

El peso en hembras, antes (0 días) y después de la respectiva administración de la dosis única de cipermetrina (7 y 14 días); se analizó con ANOVA de dos vías con medidas repetidas. Posteriormente, para conocer la puesta de huevos de las hembras con las diferentes dosis se aplicó ANOVA de 1 factor.

La fertilidad y presencia de huevos sin pigmento, índice de forma (IF) de los huevos y mortalidad de los embriones, de acuerdo a las diferentes dosis. Se analizaron empleando el test de Kruskal-Wallis de una vía para el análisis de varianza en rangos, como prueba no paramétrica. Utilizándose la prueba post hoc de Tukey para el IF.

El índice de forma (IF) se obtuvo a partir de la división de medidas de ancho y largo de cada huevo.

IF= ancho /largo

(Caballero y Bucade, n.d, como se citó en Torres, 2014).

Las variables dependientes como el peso de: cascarón, membrana corioalantoidea y del embrión con 5 días de incubación, se analizaron empleando ANOVA de 1 vía con prueba

post hoc de Tukey para el peso del cascarón. Mientras que para el peso del vitelo se empleó el test de Kruskal-Wallis de una vía para el análisis de varianza en rangos.

El peso de la membrana corioalantoidea, y del cascarón a los 10 días de incubación, se analizó con ANOVA de 1 vía. Y el peso del embrión, así como del vitelo con el test de Kruskal-Wallis de 1 vía. Ulteriormente, para los pesos de cascarón y membrana corioalantoidea en el día 15 de incubación, se empleó el test de Kruskal- Wallis. Así como el análisis de ANOVA de 1 factor y prueba post hoc de Tukey para el peso del vitelo.

La pérdida de peso de los huevos a los 5, 10 y 15 días de incubación de acuerdo a las dosis, se analizó mediante el test de Kruskal- Wallis con prueba post hoc de Tukey solamente para el día 5 de incubación.

Para el éxito y días de eclosión en los ejemplares se utilizó el test de Kruskal-Wallis y prueba post hoc de Dunn. Mientras que, para el peso de estos, se empleó ANOVA de 1 factor.

La presencia y comparación de estadios HH faltantes por dosis, de acuerdo a los establecidos por Ainsworth et al. (2010). Se analizaron mediante ANOVA de 1 vía con método de Holm-Sidak para el día 5 de incubación, test de Kruskal-Wallis con prueba de Tukey para el día 10 de incubación, ANOVA de 1 vía con prueba de Tukey para el día 15 de incubación y test de Kruskal Wallis con prueba de Dunn en los ejemplares eclosionados.

Los índices de crecimiento de nuca y pico del día 10 y 15 de incubación, así como ejemplares eclosionados, se analizaron a través del test de Kruskal-Walis. La longitud tibio-tarsal en el día 15 de incubación, así como ejemplares eclosionados se comparó entre dosis empleando el análisis de ANOVA de 1 vía. Mientras que, el test de Kruskal-Wallis para la longitud tibio-tarsal al día 10 de incubación de los embriones.

Finalmente, las malformaciones presentes en los embriones o ejemplares eclosionados de acuerdo con la dosis, se analizaron utilizando el test de Kruskal-Wallis de una vía para el análisis de varianza en rangos.

VII. RESULTADOS

Se obtuvieron un total de 116 huevos fértiles de 145. La colecta de los huevos se vio alterada debido a que una hembra de la dosis 2, no puso huevos; y 2 hembras de la dosis 1, no lograron completar la puesta de huevos correspondientes en el lapso de 14 días. Se respetó la obtención de solamente 8 huevos por hembra, para evitar suplir la cantidad de huevos faltantes por provenientes de hembras que ya habían completado su puesta.

El número de huevos obtenidos por dosis y subdivisión para el respectivo periodo de incubación, así como eclosión se muestra en la Tabla 1.

	Incubación/eclosionar	Huevos obtenidos	Huevos fértiles	Huevos infértiles	Embriones muertos
Dosis 1 (0.15 g/kg)	Día 5	8	5	3	
	Día 10	8	6	2	
	Día 15	9	7	2	
	Eclosionar	8	6	2	1
Dosis 2 (0.3 g/kg)	Día 5	8	7	1	
	Día 10	8	7	1	1
	Día 15	8	7	1	2
	Eclosionar	8	6	2	2
Dosis 3 (0.6 g/kg)	Día 5	10	9	1	1
	Día 10	10	10	0	
	Día 15	10	10	0	1
	Eclosionar	10	6	4	
Dosis 0 (Control)	Día 5	10	9	1	
	Día 10	10	10	0	2
	Día 15	10	7	3	1
	Eclosionar	10	4	6	
Total		145	116	29	11

Tabla 1. Resultados del diseño experimental propuesto en la Fig.2. Huevos obtenidos para el período de incubación/eclosión, provenientes de hembras expuestas a diferente dosis de cipermetrina.

La mortalidad de hembras no se vio afectada de acuerdo a la administración de las diferentes dosis únicas de cipermetrina. Sin embargo, con la dosis 2, una hembra falleció a los 3 días de haberse concluido el periodo experimental (14 días). Y aunque no se ocupó el dato para el análisis estadístico, sin duda, es necesario reportarlo. Al ejemplar se le realizó una necropsia y no se encontraron hallazgos para diagnosticar la muerte a causa de una enfermedad previa. El peso registrado de las hembras de codorniz japonesa en el día 0, 7 y 14, no presento una interacción significativa con la ingesta única de su dosis de cipermetrina ($p=0.559$; Fig. 7).

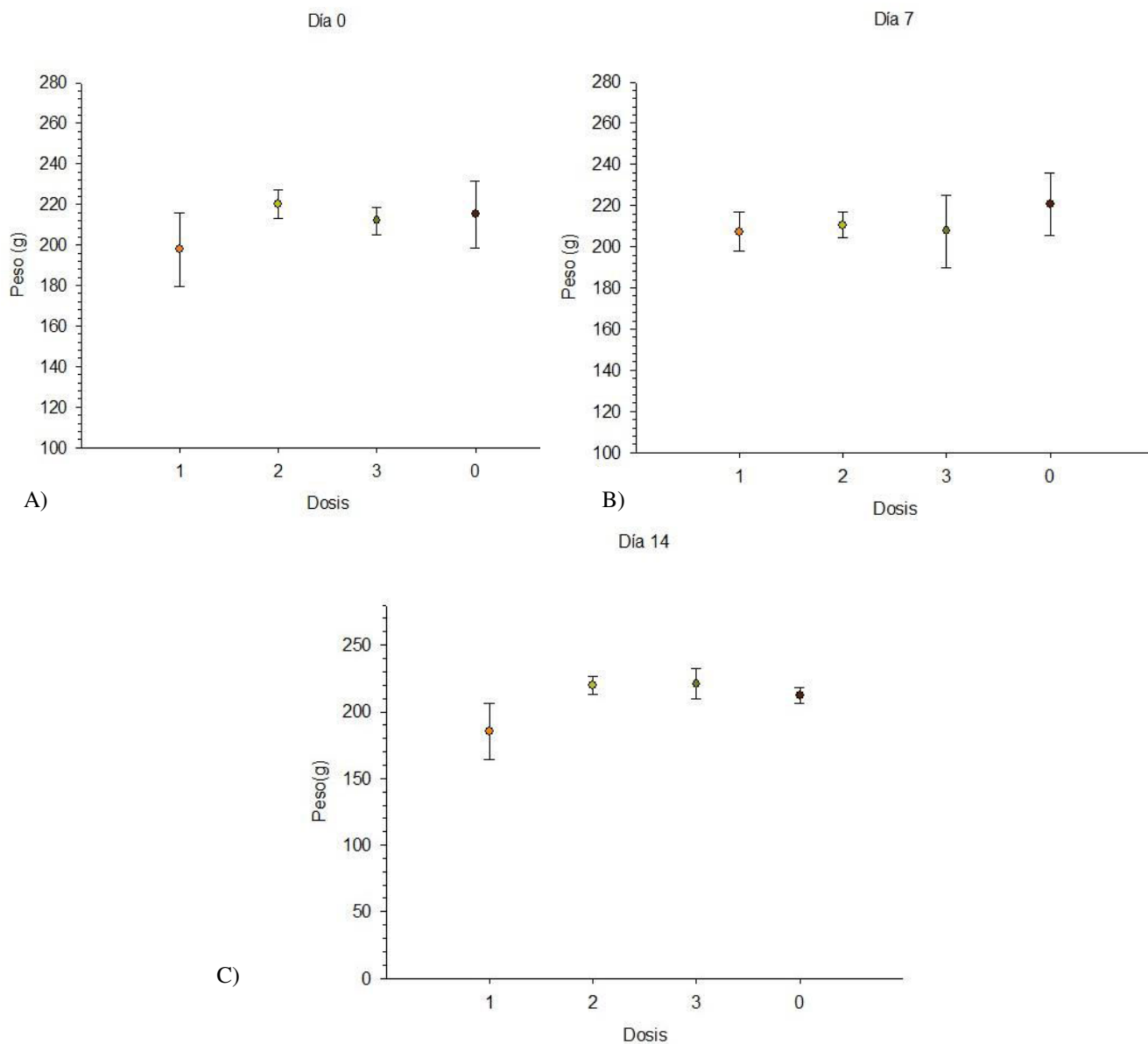


Fig.7. Diferencia de peso en hembras: Día 0 (A), 7 (B) y 14 (C), tras la ingesta única de cipermetrina a diferente dosis. Dosis: 1 (0.15 g/kg), 2 (0.3 g/kg), 3 (0.6 g/kg) y 0 (Control). \pm ES

La puesta de huevos de las hembras (Fig.8, $p=0.175$), fertilidad de los huevos y postura de huevos sin pigmento no varió significativamente ($p =0.323$ y $p=0.076$; Fig.9), respecto a la dosis de cipermetrina administrada en las hembras.

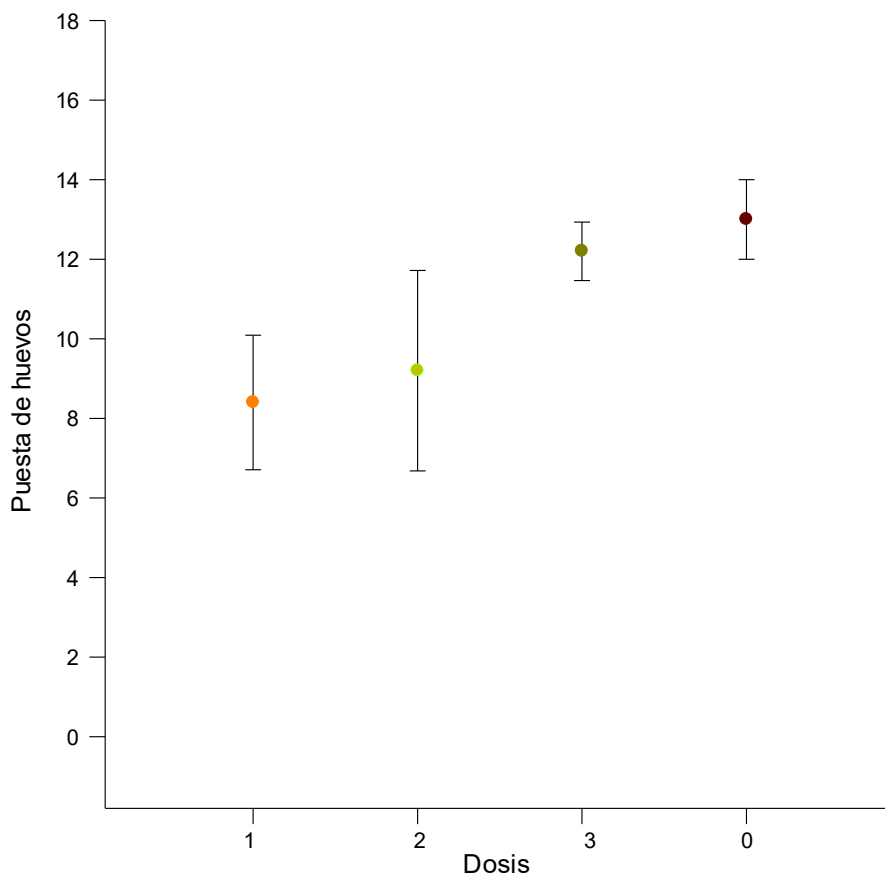


Fig.8. Puesta de huevos, tras la ingesta de cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES.

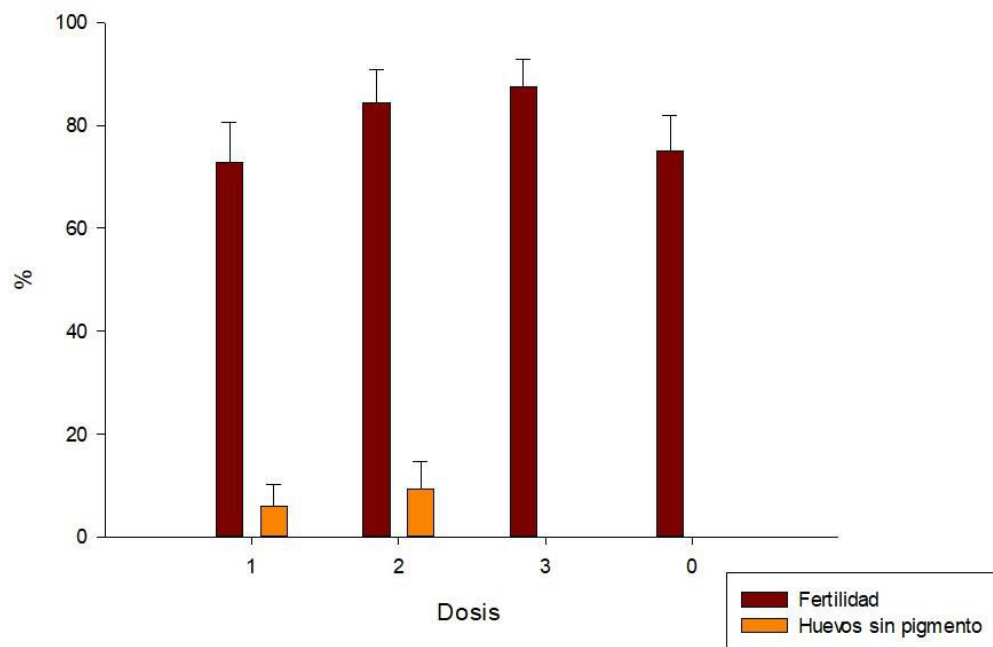


Fig.9. Fertilidad y presencia de huevos sin pigmento, tras la ingesta de cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). ± ES.

El índice de forma (IF) de los huevos reflejó una diferencia estadísticamente significativa entre la dosis 0 y 1 (Fig.10), de acuerdo al método de Kruskall Wallis ($p=0.004$) y Tukey para comparaciones múltiples ($p=0.003$).

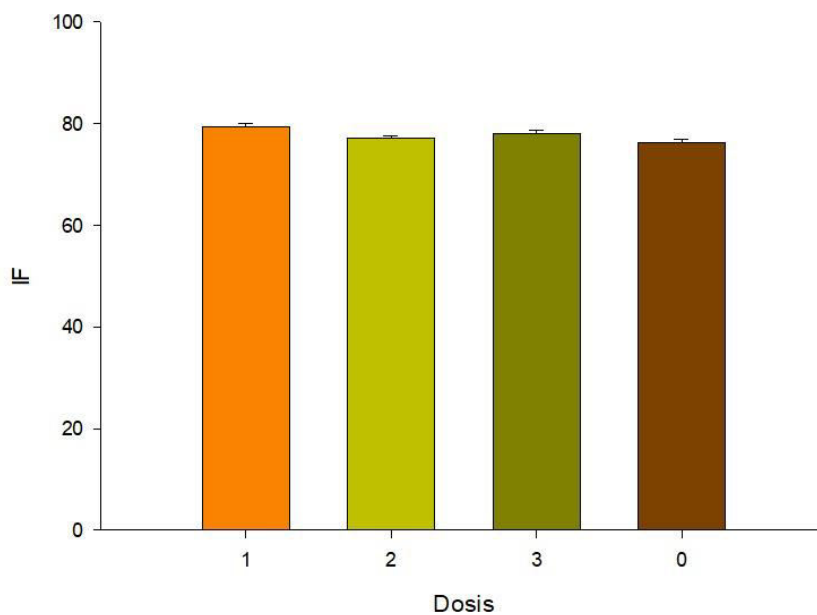


Fig.10. Diferencia de IF de los huevos, tras la ingesta de cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). ± ES.

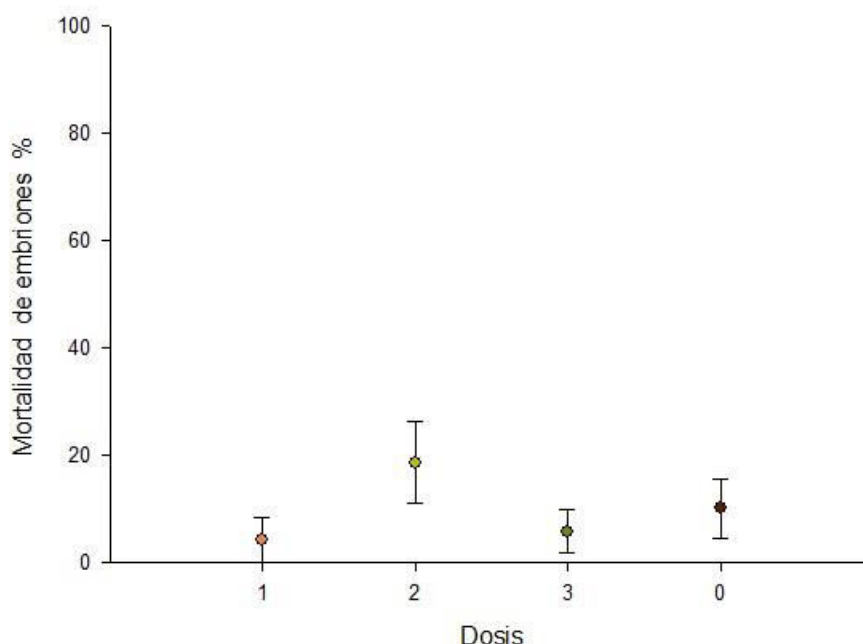


Fig.11. Mortalidad de embriones, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES

La mortalidad de los embriones no estuvo relacionada con las diferentes dosis únicas de cipermetrina administradas a las hembras de codorniz ($p = 0.271$; Fig.11).

Los pesos analizados (embrión, cascarón, membrana corioalantoidea y vitelo; Fig.12) en el día 5 de incubación, manifiestan una diferencia estadística en el peso del cascarón ($p=0.001$) entre las dosis 1 ($p=0.028$, método de Tukey) y 3 ($p=0.040$, método de Tukey) respecto a la dosis 0. Mientras que, para el peso del embrión ($p=0.120$), vitelo ($p=0.209$) y membrana corioalantoidea ($p=0.009$) con $p>0.05$ del método de Tukey; no se encontró diferencia estadística entre las dosis de cipermetrina y control.

En el análisis de los pesos para el día 10 de incubación (Fig.12) no se presentó una diferencia estadística entre las dosis 1, 2 y 3 vs 0 de: cascarón ($p= 0.635$), membrana corioalantoidea ($p=0.050$), vitelo ($p=0.406$) y embriones ($p=0.141$). A la vez que, para el día de incubación 15 (Fig.12) solo se encontró diferencia en el peso del vitelo ($p= 0.044$). Siendo la desemejanza en la dosis 2 versus control ($p=0.035$ del método Tukey). El peso de embriones ($p = 0.092$), cascarón ($p= 0.121$) y membrana corioalantoidea ($p= 0.300$), no fueron estadísticamente significativos entre las dosis 1, 2, 3 con la 0.

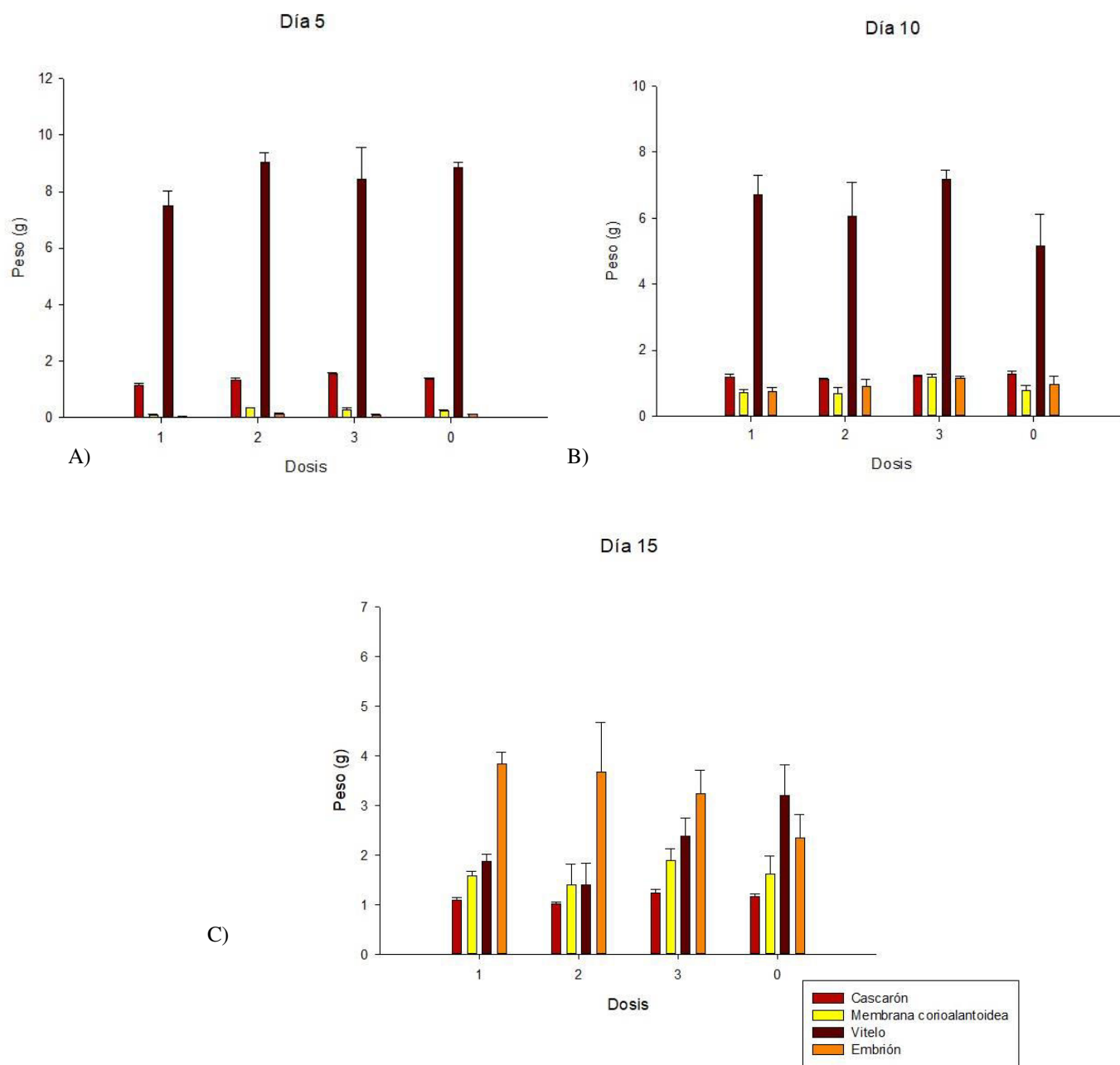


Fig.12. Diferencia de pesos: embrión, cascarón, membrana corioalantoidea, y vitelo en los días 5 (A), 10 (B) y 15 (C) de incubación, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). ± ES

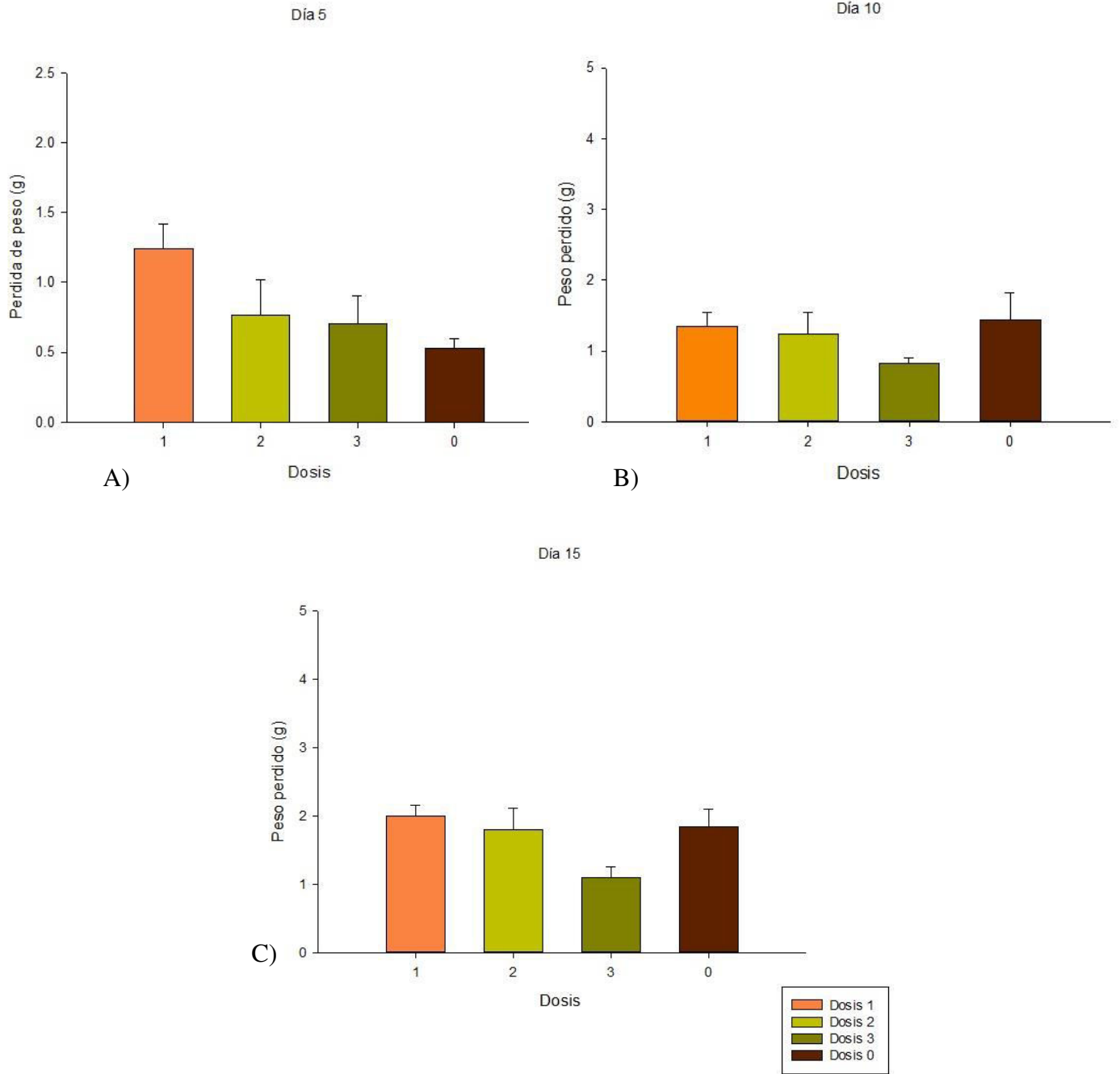


Fig.13. Pérdida de peso de los huevos incubados en los días 5(A), 10 (B) y 15 (C), productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES

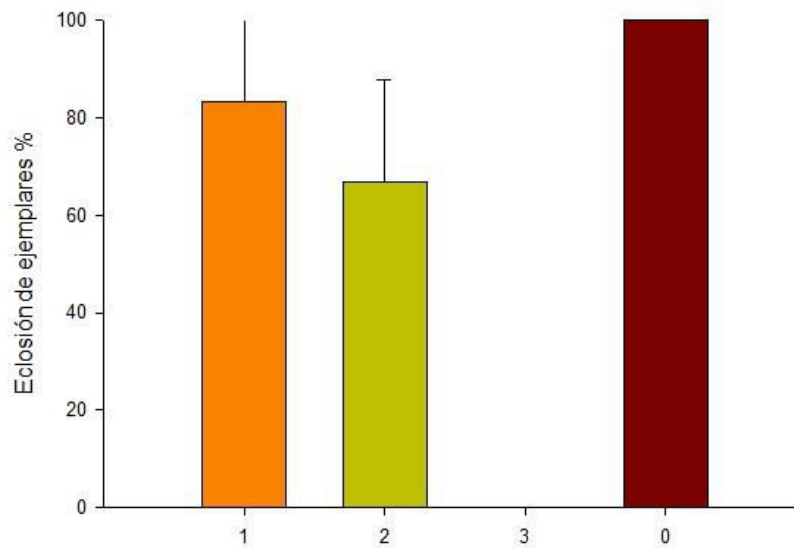


Fig.14. Ejemplares con éxito de eclosión, productos de la ingesta materna de cipermetrina a diferente dosis. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES

La pérdida de peso en los huevos (Fig.13) reflejo una diferencia significativa ($p=0.042$) en la dosis 1 vs 0 del día 5 de incubación, de acuerdo al método de Tukey. Mientras que, para el día de incubación 10 ($p= 0.068$) y 15 ($p= 0,004$ con $p>0.05$ del método de Tukey) no se obtuvieron valores representativos respecto las dosis 1, 2, 3 con la 0.

El éxito de ejemplares eclosionados como se muestra en la (Fig.14; $p=0.006$) y los días que tardaron en eclosionar (Fig.15; $p=0.002$) mostro un valor estadísticamente significativo entre la dosis 3 y 0; de acuerdo al método de Dunn con un valor de $p<0.05$.

Por el contrario, al evaluar el peso de los ejemplares eclosionados (Fig.16) respecto las dosis con cipermetrina y control; no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p=0.314$).

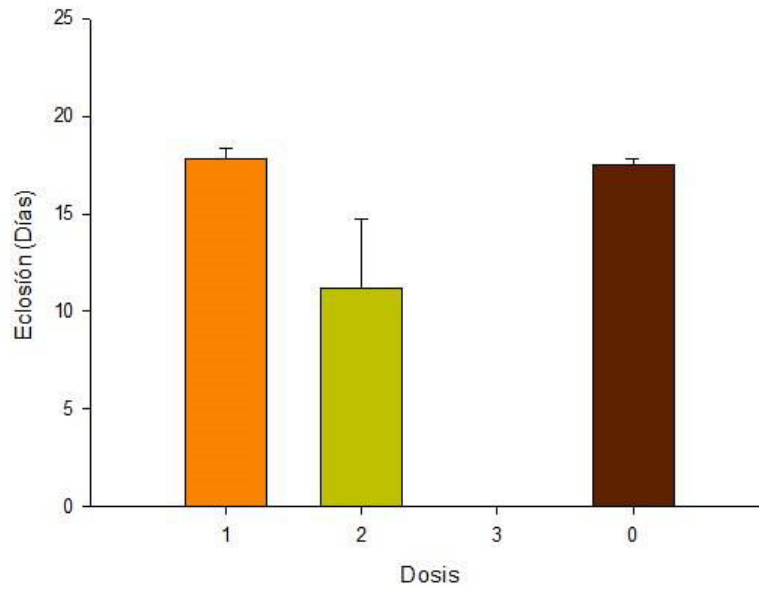


Fig.15. Días en romper la cascará de huevo. Ejemplares eclosionados, productos de la ingesta de cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES.

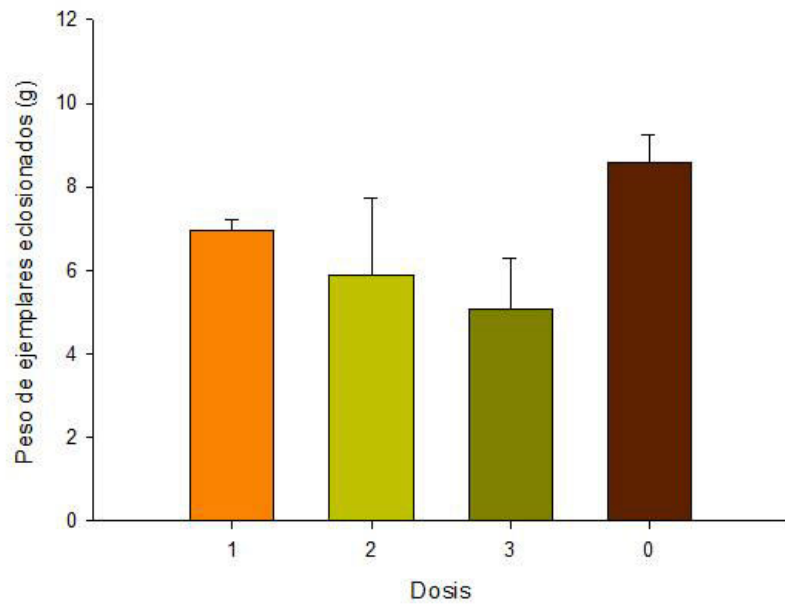


Fig.16. Peso (g) de ejemplares eclosionados, productos de la ingesta de cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES.

Los estadios HH (Fig.17) comparados de acuerdo a los establecidos por Ainsworth et al. (2010), mostraron un subdesarrollo en los embriones del día 5 de incubación entre la dosis 1 ($p=0.001$) y 3 ($p=0.020$) vs 0; de acuerdo método Holm-Sidak. Embriones del día 10 ($p=0.004$ con $p>0.05$ del método de Tukey) y 15 de incubación ($p=0.015$ con $p>0.05$ del método de Tukey); no presentaron diferencias estadísticamente significativas en los estadios HH comparados con dosis de cipermetrina y control. Mientras que, en los ejemplares eclosionados también se comprobó presencia de un subdesarrollo embrionario de acuerdo a los estadios HH comparados de la dosis 3 ($p=0.0048$, método Dunn) y el control.

Como se muestra en la Fig.18, los valores de los índices de crecimiento no fueron significativos para los embriones del día 10 de incubación respecto la longitud nuca-pico ($p=0.044$ con $p>0.05$ del método de Tukey), longitud del pico ($p = 0.371$) y longitud tibio tarsal ($p= 0.160$); entre las dosis con cipermetrina y el control. Así mismo, en los embriones del día 15 de incubación no hubo diferencia estadística entre la longitud nuca-pico ($p= 0.128$), longitud de pico ($p= 0.172$) y longitud tibio-tarsal ($p=0.847$) entre la dosis 1,2, 3 con la 0. Los ejemplares eclosionados tampoco presentaron una diferencia estadísticamente significativa en la longitud nuca-pico ($p=0.110$), longitud de pico ($p= 0.256$) y longitud tibio-tarsal ($p=0.285$), respecto las dosis con cipermetrina y el control.

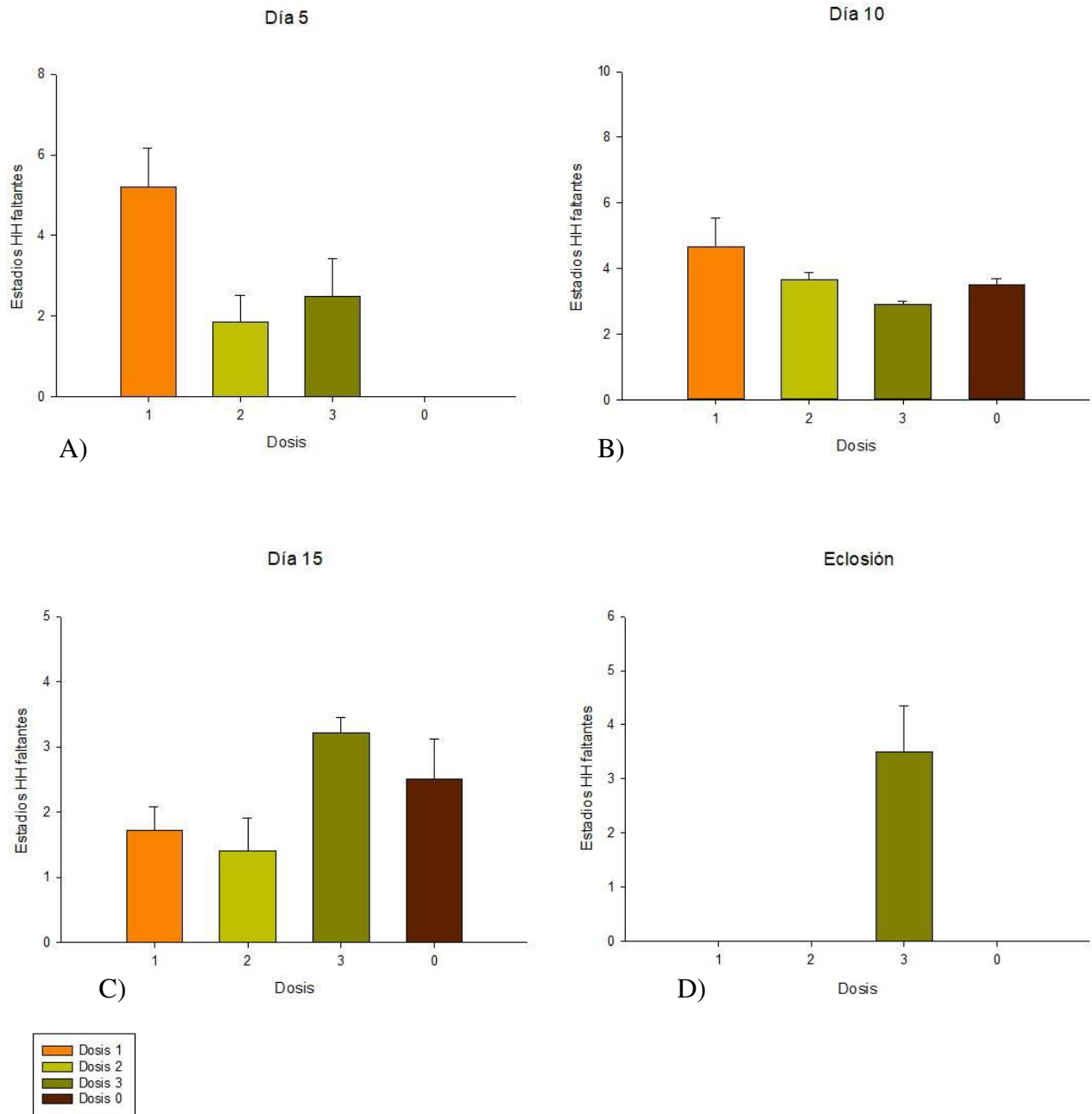


Fig.17. Estadios HH faltantes en embriones del día 5(A), 10 (B) y 15 (C) de incubación, así como ejemplares eclosionados (D), productos de la ingesta materna de cipermetrina en diferente dosis. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES.

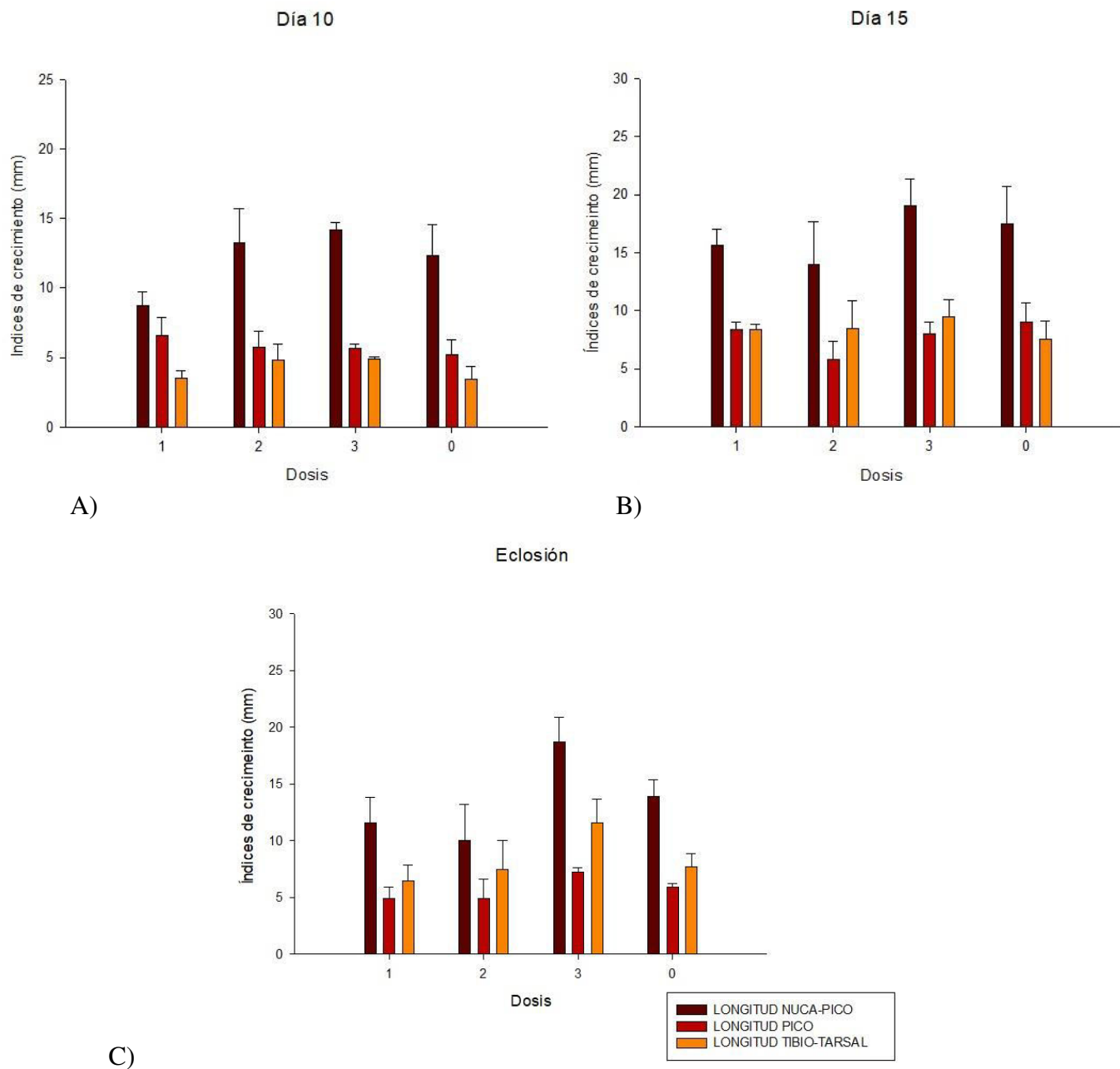


Fig.18. Índices de crecimiento (longitud nuca-pico, longitud pico y longitud tibio-tarsal) de embriones del día 10 (A) y 15 (B) de incubación, así como ejemplares eclosionados (C); productos de la ingesta materna de cipermetrina en diferente dosis. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES.

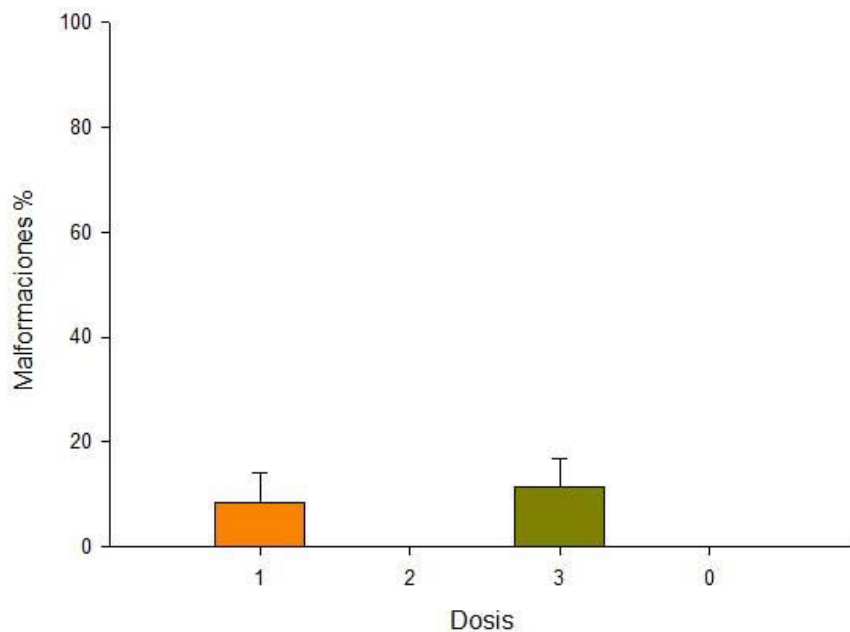


Fig.19 Presencia de malformaciones en embriones y ejemplares eclosionados, productos de hembras de codorniz japonesa sometidas a diferente ingesta de dosis de cipermetrina. Dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 g/kg), dosis 3(0.6 g/kg) y dosis 0 (Control). \pm ES.

Finalmente, las malformaciones presentes en los embriones y ejemplares eclosionados (Fig.20) no mostraron una diferencia estadísticamente significativa de acuerdo a las dosis de cipermetrina con la dosis control ($p= 0.096$, Fig.19).

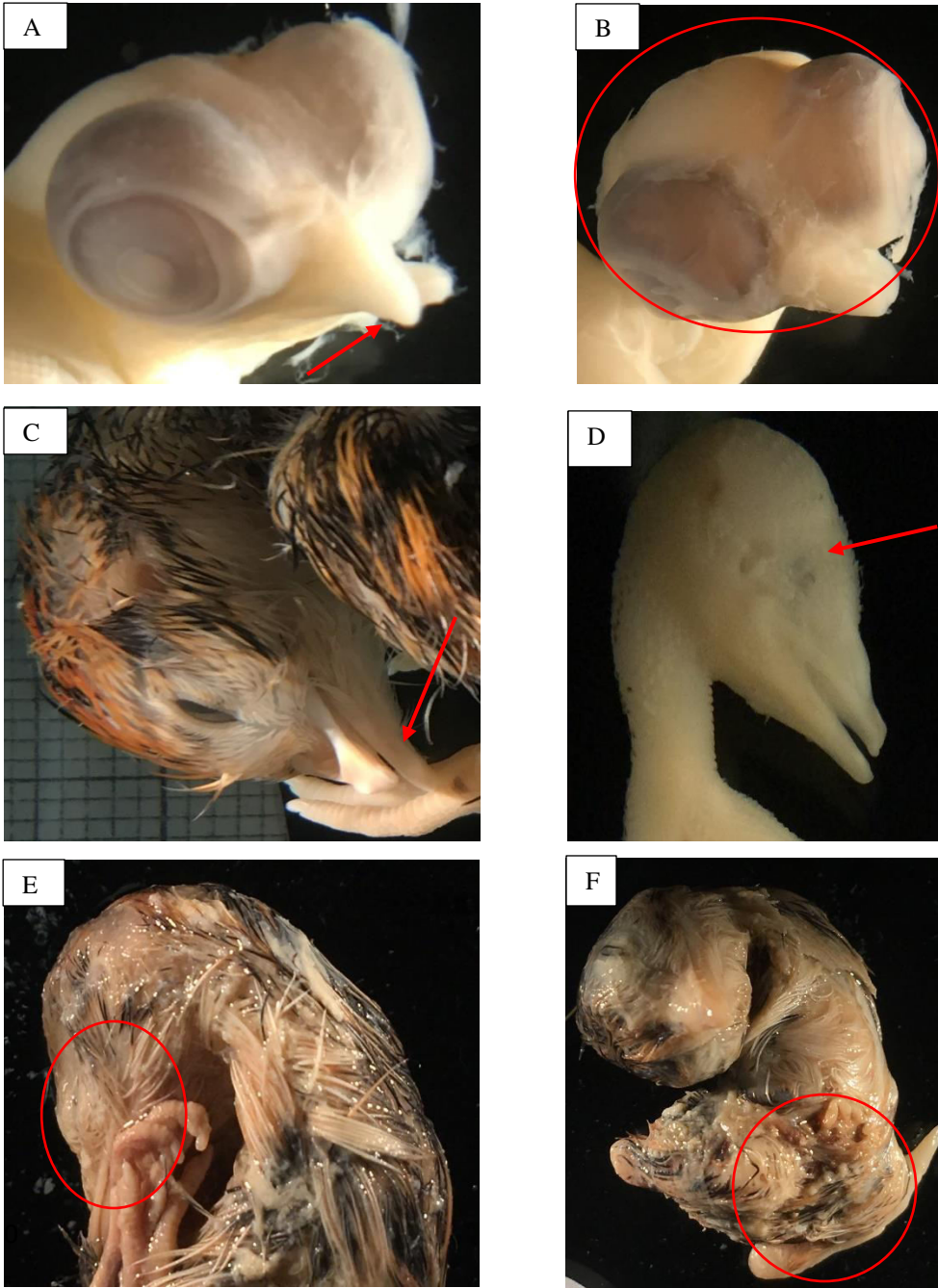


Fig.20. Malformaciones encontradas en los embriones tratados con cipermetrina. A) y B) Embriones de la dosis 1 con 10 días de incubación con deformación craneoencefálica y del pico; D) Embrión de la dosis 3 con 10 días de incubación y presencia de ciclopismo; C) Embrión de la dosis 3 con 15 días de incubación y deformación craneofacial del pico; E) y F) Ejemplares sin eclosionar de la dosis 3 con ausencia de un ojo y deformación espino caudal

VIII. DISCUSIONES

Al determinar los efectos y respuestas fisiológicas de la ingesta del piretroide cipermetrina a diferente dosis en hembras de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) así como en el desarrollo de sus embriones. Se encontró que la dosis 1, dosis 2 y 3; provocan principalmente alteraciones en el peso del huevo, vitelo y cascarón, subdesarrollo de estadios HH, malformaciones embrionarias, así como ausencia de eclosión. El objetivo de esta investigación se logró al posiblemente identificar ventanas críticas de desarrollo en el día 5 de incubación y eclosión, ocasionadas por la ingesta única de la dosis 1 y 3 de cipermetrina en las hembras. Comprobando con esto, los efectos del plaguicida cipermetrina en el desarrollo embrionario de las aves.

Mortalidad de hembras y embriones

De acuerdo con los datos obtenidos, la tasa de mortalidad de las hembras y sus embriones (Fig.11) no se vio alterada por la administración de distintas dosis de cipermetrina. La ausencia de muertes en hembras difiere de los valores reportados por Edwards et al., (1986) y posiblemente se deba a que para las dosis establecidas del piretroide cipermetrina en esta investigación, se tomaron como referencia los resultados de dichos autores; utilizando como punto inicial la dosis mínima letal (0.3 g/kg). Esto, debido a que en la fase exploratoria del presente estudio no se detectaron efectos relevantes. Por lo tanto, se seleccionó una dosis máxima no letal de nuestro compuesto (0.6 g/kg) y una dosis mínima donde se observan efectos (LOE) (0.15 g/kg). Es de suma importancia mencionar que la dosificación en el estudio antes citado se llevó a cabo con el compuesto puro, mientras que en esta investigación se utilizó una fórmula comercial con solventes y emulsificantes añadidos. Resaltando que la fórmula exacta de dichos agregados no puede ser consultada, ya que es secreto propietario de las compañías que lo elaboran.

El uso de una fórmula comercial contra el uso del compuesto puro proporciona una visión más real acerca de los efectos del pesticida en la biología de los organismos, ya que esta es la forma de exposición cotidiana en los ambientes humanos y naturales.

Diferencia de peso en hembras

Por otra parte, al comparar el peso de las hembras en los días (0, 7 y 14) después de la administración única de las dosis de cipermetrina, se observó que no hubo una interacción significativa entre dosis y peso. La codorniz japonesa alcanza su madurez sexual a partir de la cuarta semana de vida y su peso oscila entre los 130-200 g (Forero, 2013; Manual Codornices, 2017; Valle et al., 2015). Los pesos de las hembras en nuestro estudio (Fig.7), están por arriba de los 200 g y estos pueden coincidir con los resultados reportados por (Edwards, 1984; Ortega, 2011). Al ser ejemplares que desarrollan mayor cantidad de carne o dónde también la época del año y el manejo lumínico del mantenimiento de las codornices, influye en el consumo de alimento y agua en las aves. Pudiendo ser mayor o menor para regular su temperatura corporal (Emmanuel, 2017; Gorrachategui, 1996). Coincidiendo el presente estudio con el de Justin et al., (2021) en donde no se encontró una diferencia significativa en el peso de las hembras respecto a las dosis de cipermetrina administradas, a pesar de que hubo una mayor ganancia de peso en el grupo control. Sin embargo, cabe resaltar que la disminución de peso en un ejemplar expuesto a cipermetrina podría deberse al efecto de dicha sustancia al alterar la absorción del alimento a nivel gastrointestinal (Edwards et al., 1987; Justin et al., 2021). Corroborando lo anterior con el estudio de Justin et al., (2001), que, a partir de las diferentes dosis administradas de cipermetrina en las hembras por un período de 6 semanas, no se tuvo un valor significativo en el mayor o menor consumo del alimento y la pérdida de peso en los ejemplares posiblemente se produjo por el efecto de la cipermetrina en la absorción de alimentos.

Parámetros del huevo

La puesta de huevos fue mayor en las hembras sometidas a la Dosis 0, seguido de las hembras de la Dosis 3, 2 y 1 (Fig.8). La codorniz llega a su nivel máximo de postura a partir de los dos meses y medio a tres de edad y se mantiene aproximadamente por 18-20 semanas. (Ortega, 2011; Valladares & Estanislao, 2016; Valle et al., 2015). Justificándose los idóneos márgenes de edad que tienen las hembras en nuestro estudio y la poca posibilidad de obtener diferentes resultados debido al factor de edad.

Relacionado a la puesta de huevos, la presencia de huevos sin pigmentación (blancos) (Fig.9) no fue dependiente de las diferentes dosis de cipermetrina administradas en las hembras. La

coloración del huevo está relacionada con el pigmento (porfirina) (Uztariz, 2005), segregado por el tejido glandular de las proximidades de la pseudovagina o segmento final del oviducto. Cuando surge una ausencia de pigmentación en el huevo (color blanco), se debe principalmente a mayor cantidad de proteína en la dieta de las hembras, estrés, inflamación del oviducto y ser huevos de ciclos ovulares u oviposición acelerada (Torres, 2014; Uztariz, 2005; Valle et al., 2015; Vásquez & Ballesteros, 2007).

En esta investigación se permitió la incubación de huevos sin pigmentación principalmente para no alterar el número de huevos colectados por dosis y día de incubación/eclosión. Aunque también es importante observar la aparición de huevos blancos, porque como lo expone (Uztariz, 2005) pueden interferir en un menor porcentaje de eclosión de las aves.

La fertilidad de los huevos no se vio alterada por las diferentes dosis de cipermetrina administradas en las hembras (Fig.9), incluso estando los valores de la dosis control por debajo de 2 dosis con cipermetrina. Ajustándose nuestros resultados a los obtenidos en el estudio de Justin et al., (2021), donde no hubo diferencia significativa en la fertilidad de los huevos respecto a las dosis con cipermetrina.

Los resultados de la diferencia del índice de forma del huevo (IF), reflejaron un valor significativo entre la dosis 1 vs 0 (Fig.10). El IF nos permite saber la resistencia y apariencia de un huevo a través de la comparación morfológica (Torres, 2014), así como, hacer una preselección de huevos; ya que tendrá efecto en los resultados de incubación y eclosión de ejemplares (Alkan et al., 2010; Othman et al., 2014; Uztariz, 2005). El porcentaje idóneo de IF para los huevos de codorniz debe ser arriba del 70%, siendo más redondos conforme incrementa este valor y más alargados mientras disminuye (Torres, 2014). Acorde a los valores de este estudio, se obtuvieron porcentajes mayor a 70% en los huevos de todas las dosis. Especificando que la diferencia significativa entre la dosis 1 vs 0 se debió al valor del 80%. Por lo tanto, los huevos empleados para este estudio se encuentran dentro de un parámetro normal de IF y la sustancia de cipermetrina no tuvo ningún efecto sobre estos; disminuyéndose por ende la posible alteración en el proceso de incubación, deformaciones del huevo y los resultados de eclosión de ejemplares.

Los resultados de nuestro estudio acorde a la pérdida de peso en los huevos (Fig.13), reflejan significancia estadística para los incubados de 5 días, entre la dosis 1 vs 0. Explicándose dicha pérdida o ganancia de peso del huevo debido a la variación de los niveles de agua en el

proceso de incubación y destacando que cuando hay un incremento en la pérdida o aumento de peso, el desarrollo embrionario se ve afectado (Moraes et al., 2008). Los huevos con una pérdida o ganancia de peso superior, tal como se observó anteriormente, pueden presentar menores nutrientes así como diferente colocación de la yema que a su vez afecta el desarrollo del embrión (Othman et al., 2014).

Por otra parte, los pesos analizados del (embrión, cascarón, membrana corioalantoidea y vitelo) de la (Fig.12), mostraron solamente significancia estadística en el peso del cascarón expuestos a la dosis 1 y 3 versus 0 a los 5 días de incubación. Mientras que para los pesos evaluados en el día 15 de incubación, solo se registró significancia estadística en el peso del vitelo de la dosis 2 con la 0. Notando una relación entre el mayor o menor peso perdido del huevo, con la alteración del peso del cascarón en los huevos con 5 días de incubación referente a la dosis 1 y 3 de cipermetrina. Interpretándose, por ende, una posible modificación en la respiración, humedad, niveles idóneos de agua, barrera de protección e intercambio de gases a través de la cáscara. Así como una alteración en la absorción de nutrientes a través del vitelo, debido al menor peso presentado en los huevos incubados con 15 días y provenientes de la dosis 2 de cipermetrina.

Ejemplares eclosionados

Las variables dependientes evaluadas en los ejemplares eclosionados: éxito de eclosión (Fig.14) y los días que tardaron en eclosionar (Fig.15), mostraron un valor estadísticamente significativo entre la dosis 3 y 0. El desarrollo embrionario de la codorniz japonesa consiste en 16.5 días (Ainsworth et al., 2010) y en la (Fig.14) se observan valores inferiores a lo reportado, porque cotupollos provenientes de la Dosis 3 nunca eclosionaron, así como los de la Dosis 2 y 1 incluyen individuos que fallecieron. La mortalidad de los embriones no refleja valores estadísticamente significativos entre las dosis (Fig.11) porque los datos registrados fueron tras la disección del huevo. Es decir, la diferencia observada en la eclosión de los ejemplares de huevos provenientes de la Dosis 3 fue por forzar las disecciones al día 21, encontrándose vivos a los embriones y por ende no contemplándose como datos positivos de muerte. Dichos resultados obtenidos en el presente estudio son confirmados por los autores

Justin et al., (2021), al referir que hay una reducción en la tasa de eclosión conforme aumentan la dosis de cipermetrina.

Al evaluar la diferencia de peso en ejemplares eclosionados (Fig.16), no se encontraron valores estadísticamente significativos respecto a las dosis de cipermetrina. El peso idóneo de los cotupollos al nacer se reporta entre 6-10 g (Emmanuel, 2017; Ortega, 2011; Valle et al., 2015) y pese a la no significancia estadística que se obtuvo, se identifica una disminución del peso de los ejemplares conforme aumenta la dosis de cipermetrina así como los ejemplares del grupo control son los que adquieren mayor peso. Apareciendo un mecanismo similar a lo anteriormente explicado en el efecto de las diferentes dosis de cipermetrina con el peso de las hembras y los resultados de (Justin et al., 2021).

Estadios HH y malformaciones

Finalmente, al comparar los estadios HH observados para codorniz acorde a los propuestos por Ainsworth et al. (2010) en los ejemplares eclosionados, así como en los embriones de los días 5, 10 y 15 de incubación. Solo se encontró diferencia estadística significativa en los embriones de 5 días de incubación respecto la dosis 1 y 3 con la dosis 0, tal cual la dosis 3 vs 0 para ejemplares eclosionados. Percatándose que en donde la dosis control no tuvo presencia de un subdesarrollo de estadios HH acorde a los propuestos por Ainsworth et al. (2010), si ocurrió con la dosis 1 o 3; del día 5 de incubación y eclosión.

Al evaluarse los índices de crecimiento (Longitud nuca-pico, longitud pico, longitud tibio-tarsal, Fig.18) en los ejemplares eclosionados y embriones de 10 y 15 días de incubación, no se encontró significancia estadística de acuerdo a la dosis de cipermetrina.

Finalmente, se infiere una posible ventana crítica del desarrollo de los embriones en el día 5 de incubación tras los efectos de la dosis 1 y 3 de cipermetrina; así como en ejemplares eclosionados con la dosis 3 de cipermetrina. Definiéndose por ventana crítica de desarrollo, aquel tiempo en donde los órganos o sistemas de órganos son más susceptibles a los teratógenos o factores como el ambiente; pudiendo interrumpir incluso el desarrollo embrionario (Chan & Burggren, 2005). Los periodos de susceptibilidad del día de incubación 5 se explican con el tiempo en el que ocurre la organogénesis y el desarrollo tardío(Warin, 2008); así como el día 15, con la maduración de órganos para prepararse para

eclosionar. Por último, si bien las malformaciones (Fig. 19 y 20) no mostraron una significancia estadística respecto las dosis con cipermetrina y el control. Es necesario mencionar que solo estuvieron presentes en la dosis 1 y 3, haciendo de nuevo hincapié sobre el efecto de dichas dosis de cipermetrina en el desarrollo embrionario (Triana et al., 2017).

IX. CONCLUSIONES

- La ingesta materna de cipermetrina con dosis 1 (0.15 g/kg), dosis 2 (0.3 /kg) y dosis 3 (0.6 g/kg), provoca alteraciones en el desarrollo embrionario de *Coturnix coturnix japonica*.
- La ingesta de 0.15 g/kg y 0.6 g/kg de cipermetrina en hembras, provoca alteraciones en el peso del huevo y cascarón, así como subdesarrollo de estadios HH en los 5 días de incubación.
- El peso del vitelo se vio alterado en el desarrollo embrionario del día 15 de incubación, a partir de la dosis 2 (0.3 /kg) de cipermetrina.
- La ingesta materna de 0.6 g/kg de cipermetrina provoca un subdesarrollo de estadios HH y ausencia de eclosión en los embriones de *C.c. japónica*.
- La ingesta materna de 0.15 g/kg y 0.6 g/kg de cipermetrina causa deformaciones: craneoencefálicas, ciclopismo, craneofacial del pico, ausencia de ojo y espino caudal, en el embrión.
- Se infiere una posible ventana crítica del desarrollo de los embriones en el día 5 de incubación tras los efectos de la dosis 0.15 g/kg y 0.6 g/kg de cipermetrina; así como en ejemplares eclosionados con la dosis 0.6 g/kg de cipermetrina.

X. RECOMENDACIONES

Es pertinente para ensayos futuros tratar de estandarizar la mayor cantidad de variables: genotipo, sexo, edad, peso de ejemplares, disponibilidad de alimento y agua, calidad del alimento, sanidad, tiempo de almacenamiento de huevos, manejo zootécnico, temperatura ambiental, pico de puesta y fertilidad de huevos, luz, parámetros de calidad del huevo, éxito de cópula y enfermedades; para evitar que estas interfieran en la obtención de datos.

XI. REFERENCIAS

- Agostini, G. (2013). *Ecotoxicología de anfibios en agroecosistemas del noreste de la region pampeana*. Universidad Nacional de la Plata. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90388-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90388-3)
- Ainsworth, S., Stanley, R., & Evans, D. (2010). *Developmental stages of the Japanese quail*. *Journal of Anatomy*, 216(1), 3–15. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2009.01173.x>
- Alkan, S., Karabag, K., Galiç, A., Karsli, T., & Balcioglu, M. (2010). *Effects of Selection for body weight and egg production on egg quality traits in Japanese Quails (Coturnix coturnix japonica) of different lines and relationships between these traits*. *Kafkas University Veterinary Faculty Journal*, 16(2), 239–244. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2009.633>
- Aquino, J. (2004). *Guía para el buen uso y manejo de plaguicidas* (1st ed.).
- Avivar, C., Candau, A., Delgado, M., Gómez, C., Guillén, J., Hernández, A., Laynez, F., Marín, P., Parrón, T., Pla, A., Serrano, J., & Yélamos, F. (2003). *Respuesta ante las intoxicaciones agudas por plaguicidas*. Manual para el sanitario, vigilancia epidemiológica. (C. de la Salud. (Ed.)). Junta de Anda Lucia.
- Badii, M., Garza, V., & Landeros, J. (2006). *Efecto de los plaguicidas en la fauna silvestre*. *CULCyT*, 3(14–15), 22–44.
- Bedmar, F. (2011). *¿Qué son los plaguicidas?*. *Ciencia Hoy*, 21, 35. <https://www.agro.uba.ar/users/semmarti/Usotierra/CH Plaguicidas fin.PDF>
- Bejarano, F., Aguilera, D., Arámbula, E., Arellano, O., Bastidas, P., Beltrán, V., Bernardino, H., Betancourt, M., Calderón, C., Castillo, J., Colín, M., Flores, D., García, J., Gómez, I., Herrera, C., Hinojosa, D., Leyva, G., Leyva, J., López, J., & Waliszewski, S. (2017). *Los plaguicidas altamente peligrosos en México*. *RAPAM* (1a ed.). <https://doi.org/10.1097/NNA.0b013e31828958cd>
- Bonne, R., Pérez, L., Rojas, E., & Marín, D. (2003). *Intoxicación inhalatoria con cipermetrina*. *Medisan*, 7(3), 57–61. http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol7_3_03/san11303.pdf
- Carson, R. (2017). *Primavera silenciosa* (Booket). 1960.
- Ceballos, G., List, R., Garduño, G., López, R., Muñozcano, J., Collado, E., & Elvin, J. (2009). *La diversidad biológica del Estado de México*. Gobierno del Estado de México. https://doi.org/10.1007/978-3-319-93554-6_39
- Centro de Información Toxicológica de Veracruz. (2014). *Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por piretrinas y piretroides*. Secretaría de Salud Del Estado de Veracruz, 1074, 1–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510418103>
- Chan, T., & Burggren, W. (2005). Hypoxic incubation creates differential morphological effects during specific developmental critical windows in the embryo of the chicken (*Gallus gallus*). *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 145(2–3), 251–263. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.09.005>
- Choudhary, S., Raheja, N., Kumar, S., Kamboj, M., & Sharma, A. (2018). *A review: Pesticide residue: Cause of many animal health problems*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3), 330–333. <https://www.researchgate.net/publication/325314814>
- Cipermetrina* | *C22H19Cl2NO3* - PubChem. (n.d.). Retrieved July 29, 2020, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cypermethrin?fbclid=IwAR2F8Rcdw5xO hm8Tkb8NnX1WNUi9Bgh3y3DHR-ou8OWPQxEQZwj1K0eDScI#section=General->

Manufacturing-Information

- CONAGUA. (n.d.). *Información Estadística Climatológica*. Retrieved September 10, 2021, from <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica>
- Curillo, S. (2015). *Análisis de residuos de plaguicidas químicos en alimentos de consumo humano con la metodología de laboratorio ELISA*. Universidad San Francisco de Quito.
- Danzos, H. (2007). *La agricultura orgánica como alternativa al uso de plaguicidas: El Caso de Huatusco, Veracruz*. Tesis. Universidad Iberoamericana.
- Davey, M., & Tickle, C. (2007). *The chicken as a model for embryonic development*. *Cytogenetic and Genome Research*, 117(1–4), 231–239. <https://doi.org/10.1159/000103184>
- Devine, G., Eza, D., Oigusuku, E., & Furlong, M. (2008). *Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 25(1), 74–100. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2008.251.1241>
- Edwards, R. (1984). *The comparative metabolism and toxicity of the pyrethroid insecticide cypermethrin in vertebrates*. University of London.
- Edwards, R., Millburn, P., & Hutson, D. (1987). *Factors influencing the selective toxicity of cis- and trans-cypermethrin in rainbow trout, frog, mouse and quail: Biotransformation in liver, plasma, brain and intestine*. *Pesticide Science*, 21, 1–21. <https://doi.org/10.1002/ps.2780210102>
- Emmanuel, M. (2017). *Uso de un probiótico a base de Saccharomyces cerevisiae en la engorda de codorniz japónica*. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Fernández, J., & Cabezuelo, P. (1993). *Efecto de varios plaguicidas utilizados en la encina sobre la fauna avícola terrestre*. *Bol.San.Veg.Plagas.*, 19, 687–705.
- Ferraro, D., & Rositano, F.(2011) *Conocimientos e insumos en la agricultura moderna*. *Ciencia Hoy*. Vol.21, Número 22.
- Forero, P. R. (2013). *Formulación y evaluación de un proyecto para el montaje de una granja coturnicola para la producción de huevos de codorniz en el municipio de Ibaguè-Tolima*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD.
- García, C., & Rodríguez, G. (2012). *Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa*. *Ra Ximhai*, 8(3), 1–10. <https://doi.org/10.1039/C2BM00138A>
- García, J., Leyva, J., Martínez, I., Hernández, M., Aldana, M., Rojas, A., Betancourt, M., Perez, N., & Perera, J. (2018). *Estado actual de la investigación sobre plaguicidas en México*. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 34(1), 29–60. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.esp01.03>
- Garza, B., & Cervantes, P. (2015). *Tendencia histórica del uso de plaguicidas en la producción agrícola de México*. *Ciencia y Mar*, 67–74.
- Gilbert, S. (2005). *Biología del desarrollo*. (7th ed.).
- Gorrachategui, M. (1996). *Alimentación de aves alternativas: codornices, faisanes y perdices*. XII Curso de Especialización FEDNA, 1–63.
- Hamburger, V., & Hamilton, H. (1993). *A series of normal stages in the development of the chick embryo*. *Developmental Dynamics*, 195(1), 231–272. https://doi.org/10.1057/9781137521477_8
- Isern, M. (2002). *La química de los pesticidas y su metodología analítica*. Colección Cuadernillos UCEL.
- IUCN.(2018).*Coturnix coturnix*. <https://www.iucnredlist.org/es/species/22678944/131904485>

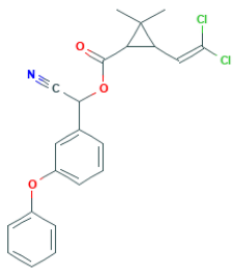
- Justin, K., Kouatcho, F. D., Gana, G., Zanseh, Y., Narcisse, B., & Ngoula, F. (2021). *Effects of cypermethrin on growth, biochemical and reproductive parameters in female Japanese Quails (Coturnix japonica)*. 9(1), 44–52.
- Kaur, S., Singh, K., & Kumar, D. (2018). *A review: Pesticide Toxicity in Avians*. Chem Sci Rev Lett, 7(26), 454–458.
- Koga, Y., & Ruiz, N. (n.d.). *Uso de piretroides, ¿ La Solución Adecuada ?*. Actualidad Avipecuaria, 29–34. <http://reinmark.com/resources/uploads/tinymce/Piretroides.pdf>
- Lembcke, C., Figueroa, E., Suica, P., & Falcón, N. (2001). *Efecto de la edad de las reproductoras sobre el peso del huevo, fertilidad, incubabilidad y peso al nacer de la codorniz, variedad japonesa (Coturnix coturnix japonica)*. Rev Inv Vet Perú., 12(1), 50–57.
- Leung, M. (2004). *Chicken embryo*. MISCAP Magazine (Microscopy-UK). <http://www.microscopy-uk.org.uk/mag/artnov04macro/mlchicken.html>
- López, A. (2015). *Evaluación de riesgo del tratamiento de semillas con plaguicidas para las aves silvestres de ecosistemas agrícolas: el caso de la perdiz roja*. Universidad de Castilla-La Mancha.
- Majeed, S., Al-Azizz, S., & Al-Sereah, B. (2012). *Histopathological effects of long term exposure to cypermethrin on pigeons (Columba livia gaddi)*. Exp.Biol. Zool, 8(1), 113–119. <https://doi.org/10.1007/s10162-016-0593-5>
- Mansilla, C. (2017). *Impacto ambiental de la aplicación de plaguicidas en siete modelos socio-productivos hortícolas del Cinturón Verde de Mendoza*. Universidad Nacional de Cuyo.
- Manual Codornices*. (2017). Solla. <http://www.solla.com/sites/default/files/productos/secciones/adjuntos/MANUAL CODORNICES SOLLA 2017.pdf>
- Masuh, H. (1998). *Síntesis estereoselectiva, separación y actividad insecticida de compuestos piretroides*. Universidad de Buenos Aires.
- Mohammadi, H., Ghassemi, B., Malakshah, O., & Ashari, S. (2019). *Pyrethroid exposure and neurotoxicity: A mechanistic approach*. Arh Hig Rada Toksikol, 70(2), 74–89. <https://doi.org/10.2478/aiht-2019-70-3263>
- Moraes, T., Romao, J., Teixeira, R., & Cardoso, W. (2008). *Effects of egg position in artificial incubation of Japanese quail eggs (Coturnix japonica)*. Animal Reproduction, 5(1/2), 50–54. <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v5n1e2/AR230Moraespag50-54.pdf>
- Moreno, E., Aldana, M., Silveira, M., Rodríguez, G., Valenzuela, A., & Meza, M. (2012). *Análisis de piretroides en suelo y agua de zonas agrícolas y urbanas de los valles del Yaqui y Mayo*. Rev.Int. Contam. Ambie., 28(4), 303–310. <https://doi.org/10.20937/RICA.2016.32.05.08>
- Nakane, Y., & Tsudzuki, M. (1999). *Development of the skeleton in Japanese quail embryos*. Development Growth and Differentiation, 41(5), 523–534. <https://doi.org/10.1046/j.1440-169x.1999.00454.x>
- Navarrete, M. (2012). *Producción y comercialización de huevos de codorniz*. Escuela Politécnica Nacional. <https://doi.org/10.1103/PhysRevX.7.041008>
- Navarro, A., Rebón, M., Gordillo, A., Townsend, A., Berlanga, H., & Sánchez, L. (2014). *Biodiversidad de las aves en México*. Revista Mexicana de Biodiversidad, 85(SUPPL.), 476–495. <https://doi.org/10.7550/rmb.41882>

- NOVARTIS. (n.d.). *Ficha Técnica Alfadex CE 21.19*. https://www.tevapharma.es/fichas-tecnicas/FT_81176.pdf
- OMS. (1989). *Cipermetrina. Guía para la salud y la seguridad* (E. Lara (Ed.)). Organización Mundial de la salud.
- Ortega, N. (2011). *Determinación del efecto de diferentes temperaturas microambientales en las fases inicial, crecimiento, desarrollo y postura en codornices*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <https://doi.org/10.1080/01402390.2011.569130>
- Ortíz, I., Avila, M., & Torres, L. (2013). *Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio*. Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal, 4(1), 26–46. <https://doi.org/10.7603/s40682-013-0003-1>
- Ortiz, L., Sánchez, E., Folch, J., Olvera, A., & Dantan, E. (2014). *Los plaguicidas en Mexico Aspectos generales, toxicológicos y ambientales*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (1 a).
- Othman, R., Amin, M., & Rahman, S. (2014). *Effect of egg size , age of hen and storage period on fertility, hatchability, embryo mortality and chick malformations in eggs of japanese quail (Coturnix coturnix japonica)*. *Iosr-Javs* (Vol. 7, Issue 1, pp. 101–106). <https://doi.org/10.9790/2380-0714101106>
- Paredes, J. (2016). *Problemas de la codorniz en Europa-África: anillamiento, estancia europea y gestión en base a una dimensión socioeconómica*. Universidad de Lleida.
- Pascual, J., & Peris, S. (1992). *Effects of forest spraying with two application rates of cypermethrin on food supply and on breeding success of the blue tit (Parus caeruleus)*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 11(9), 1271–1280. <https://doi.org/10.1002/etc.5620110907>
- Pérez, M., Navarro, H., & Miranda, E. (2013). *Residuos de plaguicidas en hortalizas: Problemática y riesgo en México*. *Rev.Int.Contam .Amb.*, 29, 45–64.
- Pintado, T. (2008). *Desarrollo de un sistema predictivo para -*. https://books.google.com.mx/books?id=OVETv9BTIwMC&pg=PA187&dq=pintado+2008+muestreo+no+probabilistico+por+conveniencia&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEWj00u6jqo_pAhWIJ80KHR1DDcwQ6AEIKDAA#v=onepage&q=pintado 2008 muestrero no probabilistico por conveniencia&f=false
- Rodriguez, J., Martinez, P., Santos, I., & Rojo, C. (2014). *El embrión de pollo como modelo de experimentación: Ven y descubre la embriología*. Universidad Complutense de Madrid. <http://www.lcsanpablo.es/mangel/pollo.pdf>
- Ruiz, N., & Koga, Y. (n.d.). *Uso de piretroides, ¿La solución adecuada ?*. *Actualidad Avipecuaria*, 18–21.
- Sanchez, J. (2018). *Contaminantes emergentes en nuestros ecosistemas acuáticos: enemigos invisibles*. *Ingeniería y Región*, 19, 18–21. <https://doi.org/10.25054/22161325.1750>
- Tenório, K. I., Sgavioli, S., Roriz, B. C., Ayala, C. M., dos Santos, W., Rodrigues, P. H. M., de Almeida, V. R., & Garcia, R. G. (2017). *Effect of chamomile extract on the welfare of laying Japanese quail*. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(9), 760–765. <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000900008>
- Toro, M., Manriquez, G., & Suazo, I. (2010). *Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas : De la Morfología descriptiva a la morfología cuantitativa*. *Int.J. Morphol*, 28(4), 977–990.
- Torres, C. (2014). *Evaluación de calidad del huevo de codorniz (Coturnix coturnix japonica) comercializado en el municipio de pasto, departamento de Nariño*. Universidad de Nariño]. <https://doi.org/10.1192/bjp.205.1.76a>

- Triana, T., Henao, L., & Bernal, M. (2017). *Toxicidad aguda del insecticida cipermetrina (CYPERMON 20 EC) en cuatro especies de anuros colombianos*. *Acta Biológica Colombiana*, 22(3), 340–347. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-548X2017000300340&script=sci_arttext&tlng=es
- Uztariz, E. (2005). *Evaluación física de huevos fértiles de codorniz (Coturnix coturnix japónica) en Venezuela*. Universidad Central de Venezuela.
- Valencia, V., Ramírez, M., & Jaramillo, L. (2014). Identificación de alternativas para la disposición final de los envases de plaguicidas de uso agrícola. Corporación Universitaria Lasallista. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Valladares, J., & Estanislao, M. (2016). *Efectos de la relación hembra : macho y edad de los reproductores en el comportamiento reproductivo de la codorniz japonesa (Coturnix coturnix japónica)*. *Anales Científicos*, 77(1), 77–81. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21704/ac.v77i1.478> Presentado:02/12/2014 Aceptado:21/07/2015 EFECTOS
- Valle, S., Bustamante, M., Argentina, R., Guillet, H., & Vivas, J. (2015). *Manual : Crianza y manejo de codornices*. Universidad Nacional Agraria.
- Vásquez, R., & Ballesteros, H. (2007). *La cría de codornices* (Produmedios (Ed.)). www.produmedios.com
- Velázquez, M. (2019). *Intervalo de seguridad de cipermetrina en Guayaba Psidium guajava L. en Michoacán, México*. Colegio de Postgraduados.
- Vilchis, G. (2008). *Crianza y explotación de la codorniz (Coturnix coturnix)*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Walker, C. (2003). Neurotoxic pesticides and behavioural effects upon birds. *Ecotoxicology*, 12, 307–316. <https://doi.org/10.1023/A:1022523331343>
- Warin, S. (2008). *El desarrollo embrionario*. *Ceva Santé Animale*, 40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.012> <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.03.006> <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.08.008> <http://ps.oxfordjournals.org/content/88/1/29.abstract> <http://dx.doi.org/10.1016/j.appla>
- Wolansky, J. (2011) *Plaguicidas y salud humana*. *Ciencia Hoy*. Vol.21, Número 22.
- Yarto, M., Gavilán, A., & Barrera, J. (n.d.). *El Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México*. *Gaceta Ecológica*, 69, 7–28. <https://doi.org/10.1351/goldbook.S06019>
- Yilmaz, M., Gül, A., & Erbaşı, K. (2004). Acute toxicity of alpha-cypermethrin to guppy (Poecilia reticulata, Pallas, 1859). *Chemosphere*, 56(4), 381–385. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.02.034>
- Zepeda, I. (2018). *Manejo sustentable de plagas agrícolas en México*. *AsyD*, 15(1), 99–108.

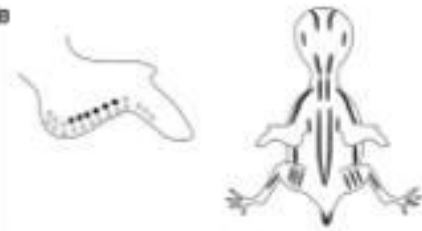
XII.ANEXO

Propiedades químicas de la cipermetrina.

Cipermetrina	
Estructura química	Nombre IUPAC
	[ciano- (3-fenoxifenil) metil] 3- (2,2-dicloroetenil) -2,2dimetilciclopropano-1 carboxilato
Peso molecular	Forma
2 416,3 g / mol	Líquido viscoso o semisólido.
Fórmula molecular	Color
C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	Amarillo Isómeros puros- Cristales incoloros.
Olor	Solubilidad
Inodoro	Metanol, acetona, xileno, diclorometano, dicloruro de metileno, cloroformo, ciclohexanona , xileno mayor que 450, etanol 337, hexano 103 (g / L a 20 ° C). En agua , 4X10 ⁻³ mg / L a 20 ° C.
Punto de fusión	Estabilidad
60 °C- 80 °C	En medios neutros y débilmente ácidos, con una estabilidad óptima a pH 4. Hidrolizado en medios alcalinos. Relativamente estable a la luz en situaciones de campo. Hasta 220 ° C.
Densidad	Presión de vapor
1.25 g / cu cm a 20 ° C	1.7X10 ⁻⁹ mm Hg a 20 ° C
Descomposición	Categoría agro-química
220° C Emite humos de cianuro, óxidos de nitrógenos y cloruro.	<ul style="list-style-type: none"> • Insecticida • Acaricida
Peligrosidad	Corrosivo
<ul style="list-style-type: none"> • Irritante • Riesgo ambiental 	No corrosivo en metales.
Toxicidad	Carcinogenicidad
Ingesta- Aguda Inhalación- Aguda Irritación- Específica Vida acuática- Muy aguda.	Grupo C
Formulaciones	Incompatibilidad
Emulsión, polvo,	Cal y jabones comunes.

Información recopilada de (Cipermetrina | C22H19Cl2NO3 - PubChem, n.d.; NOVARTIS, n.d.)

Estadios HH esperados en el día 5 (A), 10 (B) y 15 (C) de incubación, así como eclosión (D). De acuerdo a los estadios HH para *C.c. japonica* propuestos por Ainsworth et al. (2010).



Información y modificación de imágenes recopiladas de (Ainsworth et al., 2010)