



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**ANÁLISIS ELECTROENCEFALOGRÁFICO Y MIOGRÁFICO DE LAS RESPUESTAS
SENSORIALES EVOCADAS POR ESTÍMULOS MAGNÉTICOS EN LA TORTUGA
MARINA *Chelonia agassizii*. REPORTE DE CASO**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

ITZEL JATZIRI CONTRERAS GARCÍA

TUTOR DOCTOR GABRIEL GUTIÉRREZ OSPINA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM

COMITÉ TUTOR

DOCTOR JAIME URRUTIA FUCUGAUCHI. INSTITUTO DE GEOFÍSICA, UNAM

DOCTOR FEDERICO ALBERTO ABREU GROBOIS. INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y
LIMNOLOGÍA, UNAM, UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN

DOCTOR ANTONIO ZOILO MÁRQUEZ GARCÍA. INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y
LIMNOLOGÍA

DOCTORA ALMA LILIA FUENTES FARÍAS. POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

MÉXICO, D.F. ABRIL 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RECONOCIMIENTO

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.

Este trabajo fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Biología de Sistemas del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

El financiamiento fue otorgado por CONACyT (82879) CVU/Becario (425308/262317), PAPIIT, UNAM (IN215208-3 y IN203912-3), SIC, UMSNH 8.37 y PROMEP 103.5/12/4230

DEDICATORIA

A mis padres por ser los principales promotores de mis logros académicos. Sean estas líneas, expresión de un agradecimiento y reconocimiento a su entusiasmo, dedicación, comprensión y confianza. Ustedes son los pilares que dan soporte a mi vida día con día, los pilares que me mantuvieron en pie aún en momentos en los que creí que no lo lograría. Gracias por dejarme ser libre siempre, por permitir que me equivocara mil veces y por sostenerme otras mil. Gracias por ser los padres que muchos anhelan y pocos logran tener. Gracias por el pasado maravilloso y por el futuro que seguro, a su lado, seguirá siendo igual.

A mi abuela por haberme educado de una forma poco convencional. Que me ama como sólo una madre puede hacerlo, protegiéndome a su manera. Que me hizo rebelde y cariñosa, que me enseñó a ser sensible, que con sus acciones me demuestra el valor de sus enseñanzas mucho más que con sus palabras y, principalmente, que me enseñó a amar todo, aún en la guerra.

A mi hermano por ser la persona a quien más amo, a quien admiro por sobre todas las cosas, quien es mi motor de vida y a quien le debo gran parte de mi felicidad, pasada y presente. Le agradezco el que a su lado haya tenido tantos años de feliz infancia, años en los que nunca desee tener a alguien más junto a mí. Gracias por escucharme, entenderme y ayudarme, por guiarme a través del camino extraño y matizado de la vida. Sólo gracias por ser quien eres y estar presente.

A Rulfo porque de manera incondicional siempre está feliz de verme.

A mis amigos por salvarme de la cotidianidad, porque están locos por la vida igual que yo, por marchar, bailar, gritar, leer, bucear, llorar, amar junto a mí durante todo éste tiempo, gracias.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutor, el Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina por enfrentarme con la vida real, por demostrarme que hacer ciencia no es sólo publicar artículos. Simplemente gracias por sus enseñanzas dentro y fuera del laboratorio.

A mi comité tutorial y jurado por el tiempo dedicado en la corrección de la tesis y por las sugerencias brindadas para su concreción.

Expreso mi agradecimiento al Dr. Elías Manjarréz por su apoyo durante la obtención de los registros electrofisiológicos reportados en el presente trabajo.

A la Dra. Julieta Mendoza Torreblanca expreso un especial agradecimiento y reconocimiento ya que sin su ayuda, tiempo y comprensión no hubiera sido posible la elaboración del presente trabajo. Gracias por hacer que me enamorara de la neurociencia, por recibirme con los brazos abiertos durante mi estancia en el servicio social y por enseñarme con paciencia y dedicación los deberes diarios de la ciencia.

A la Dra. Leonora Olivo Cisneros por el tiempo y apoyo invaluable en la redacción y estructura del presente trabajo, por sus grandiosas ideas que me permitieron ampliar y profundizar en la discusión. Gracias por las historias contadas, por ampliar mi horizonte de interpretación y darme claridad científica.

A la Dra. Raquel Martínez Méndez por su apoyo en la corrección de la tesis y sus meritorias aportaciones en la estructura de la misma.

Al Lic. Julio César López Dávila por introducirme y guiarme en el mundo de la redacción científica; al Lic. Icnitl Ytzamat – ul Contreras García y al Mtro. Antonio Sánchez Ruíz por dar el toque final y preciso al escrito.

Al biólogo Zan Cuiríz Ríos por facilitarme su tesis de donde pude extraer datos para la discusión del presente trabajo.

Al Dr. Eduardo Martínez Martínez y al Dr. Miguel Tapia Rodríguez por brindarme su conocimiento técnico y científico y haber hecho amena y agradable mi estancia en el Instituto de Investigaciones Biomédicas.

A la Dra. Karla Guadalupe Carvajal Aguilera, al Dr. Víctor Manuel Dávila Borja y al M. en C. Gerardo Barragán Mejía, jefes del laboratorio de nutrición experimental, oncología experimental y neuroquímica respectivamente, del Instituto Nacional de Pediatría, por el espacio proporcionado para la presentación oral del presente trabajo.

ÍNDICE

Resumen.....	8
Introducción.....	9
Antecedentes.....	10
Hipótesis.....	16
Objetivos	
➤ General.....	16
➤ Particular.....	16
Justificación del estudio.....	17
Diseño experimental.....	17
Materiales y métodos.....	19
➤ Animales.....	19
➤ Materiales.....	19
➤ Colocación de electrodos.....	20
➤ Electroencefalograma.....	20
➤ Registros de potencial provocado visual (PEV).....	20
➤ Registros del potencial provocado magnético (PEMg).....	20
➤ Electromiograma.....	21
➤ Registros del potencial provocado motor.....	21
➤ Resultados.....	22
➤ Discusión.....	27
➤ Perspectivas.....	31
➤ Literatura citada.....	32

INDICE DE FIGURAS Y ANEXOS

➤ Figura 1. Rutas de navegación seguidas por las hembras adultas <i>Chelonia mydas</i> al ser separadas de su playa de anidación.....	10
➤ Figura 2. Detección de la intensidad del campo magnético por crías de tortuga marina <i>Chelonia mydas</i>	11
➤ Figura 3. Detección de la inclinación del campo magnético por crías de tortuga marina <i>Chelonia mydas</i>	12
➤ Figura 4. El ojo de <i>Chelonia agassizii</i> , posible receptor sensorial de la información magnética ambiental.....	14
➤ Figura 5. Estructuras neurales activadas en respuesta a cambios en la intensidad magnética en crías de tortuga marina <i>Chelonia agassizii</i> , en las que se observa la inmunoreactividad contra el marcador c-Fos.....	15
➤ Figura 6. Diseño experimental.....	18
➤ Figura 7. Gráfica del Potencial Evocado Visual (PEV) de tortuga marina <i>Chelonia agassizii</i>	22
➤ Figura 8. Gráfica del Potencial Evocado Magnético (PEMg) de tortuga marina <i>Chelonia agassizii</i>	23
➤ Figura 9. Gráfica que muestra que la amplitud del potencial evocado magnético es directamente proporcional a la intensidad del estímulo magnético.....	25
➤ Figura 10. Estímulos magnéticos de diferentes intensidades a los que fue sometido el juvenil de <i>Chelonia agassizii</i>	25
➤ Figura 11. Potencial evocado motor evaluado en músculo flexor de las aletas anterior y posterior del juvenil <i>Chelonia agassizii</i>	26
➤ Tabla 1. Valores de parámetros magnéticos en Colola, Michoacán.....	38
➤ Anexo A: Campo Magnético Terrestre (CMT).....	37
➤ Anexo B: Electrofisiología.....	40
➤ Anexo C: Orientación migratoria.....	43

RESUMEN

Estudios conductuales apoyan que las tortugas marinas perciben la intensidad y la inclinación del campo magnético terrestre. La neurofisiología que subyace a esta habilidad es desconocida en muchos aspectos. En este trabajo nosotros registramos potenciales en la tortuga negra, *Chelonia agassizii*, evocados en la arquicorteza cerebral en respuesta a la estimulación magnética ocular. Además documentamos la presencia de fases de re-establecimiento de la actividad electromiográfica asociada con la actividad de los generadores de nado en respuesta a la estimulación magnética ocular. Así, nuestros resultados apoyan que los ojos transducen la información magnética del campo circundante, que el sistema es sensible a cambios en la intensidad del estímulo magnético y que la información se codifica en la amplitud del potencial de campo registrada en la arquicorteza cerebral. Adicionalmente, el restablecimiento de la actividad locomotriz en respuesta a la estimulación magnética sugiere que las tortugas perciben cambios en la intensidad del campo magnético y lo traducen en secuencias motoras de nado.

ABSTRACT

Behavioral studies support the notion that marine turtles perceive parameters of the Earth's magnetic field. The neurophysiology underlying this sensory ability is practically unknown. Here we report observations from the black turtle, *Chelonia agassizii* of ocularly-driven brain magnetoceptive evoked potentials and reveal a resetting of the spinal central pattern generators following ocular magnetic stimulation. Together these results support a model for magnetoperception in marine turtles in which the eyes transduce environmental magnetic information. In addition, the reestablishment of locomotion suggests that turtles perceive shifts of the magnetic field intensity and translate such perceptions into swimming behavior.

INTRODUCCIÓN

La magnetorrecepción es la capacidad sensorial que presentan diversos grupos de organismos migratorios, (p.ej. abejas [*Apis mellifera*], hormigas [*Formica rufa*, *Pachycondyla marginata*], truchas, salmones [*Oncorhynchus nerka*, *Oncorhynchus tshawytscha*, *Oncorhynchus keta*], tritones [*Notophthalmus viridescens*, *Mesotriton alpestris*, *Lissotriton boscai*], aves [*Columba livia*, *Dolichonyx oryzivorus*, *Erithacus rubecula*, *Zosterops lateralis*]), para detectar los diferentes componentes del campo magnético terrestre (intensidad y/o inclinación; Lohmann, 1991; Lohmann *et.al.*, 2008; Esquivel *et.al.*, 2000; Fischer *et.al.*, 2001; Beason, 2005; Walcot, 2005; Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007; Lohmann *et.al.*, 2008; Daza *et.al.*, 2009; Putman *et.al.*, 2011). Se ha observado que algunas aves y anfibios presentan un sistema de brújula magnética (sentido direccional), aparentemente dependiente de la luz, que les permite distinguir las variaciones en parámetros magnéticos entre el Ecuador y los polos, y con ello determinan su posición con respecto a la latitud (inclinación; Ver anexo C), dicho sistema, basado en fotorpigmentos (probablemente criptocromos), no responde a los cambios de intensidad magnética (Beason, 2005; Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007). En abejas, hormigas, truchas, aves también se ha propuesto otro sistema, basado en cristales de magnetita, el cual es sensible a los cambios de intensidad magnética (Ver anexo C; Esquivel *et.al.*, 2000; Beason, 2005). Recientemente, se ha postulado que dichos organismos migratorios utilizan un mapa bicoordenado, el cual extrapola la información de gradientes no paralelos de 2 factores (p. ej. línea de costa, inclinación, intensidad) para permitirles fijar su posición con respecto a una coordenada; esto es posible debido a que las isolíneas de intensidad e inclinación magnética varían a lo largo de la superficie terrestre (Ver anexo A; Fischer *et.al.*, 2001; Lohmann *et.al.*, 2008; Putman *et.al.*, 2011). A pesar de las evidencias conductuales, el mecanismo de percepción de éstos gradientes magnéticos aún se desconoce, por lo que resulta significativo investigar las bases del sistema magnetorreceptivo en modelos migratorios con alta filopatría.

ANTECEDENTES

Varios estudios han sugerido que las tortugas marinas poseen un sentido de brújula magnética y un sistema de navegación que les permite obtener un mapa magnético bicoordenado basado en la inclinación e intensidad del campo magnético terrestre (CMT; Lohmann y Lohmann, 1994; Putman *et.al.*, 2011). Luschi *et.al.* (2007) evaluaron la presencia de un sistema de navegación guiado por señales magnéticas. Hembras adultas de la especie *Chelonia mydas* fueron separadas de su playa de desove, a una distancia aproximada de 100 – 120 Km y se dividieron en 3 grupos: 2 perturbados magnéticamente y un control. Los resultados mostraron que los grupos con distorsión magnética realizaron un mayor recorrido para regresar a sus playas de anidación, con respecto al grupo control; sin embargo, todas, excepto una, regresaron a la zona de anidación (Figura 1), por lo que se concluyó que las tortugas perciben el magnetismo terrestre; aunque es probable que utilicen otras señales de navegación para orientarse durante sus desplazamientos a sus diferentes lugares de residencia (Ver anexo C; Putman *et.al.*, 2011).

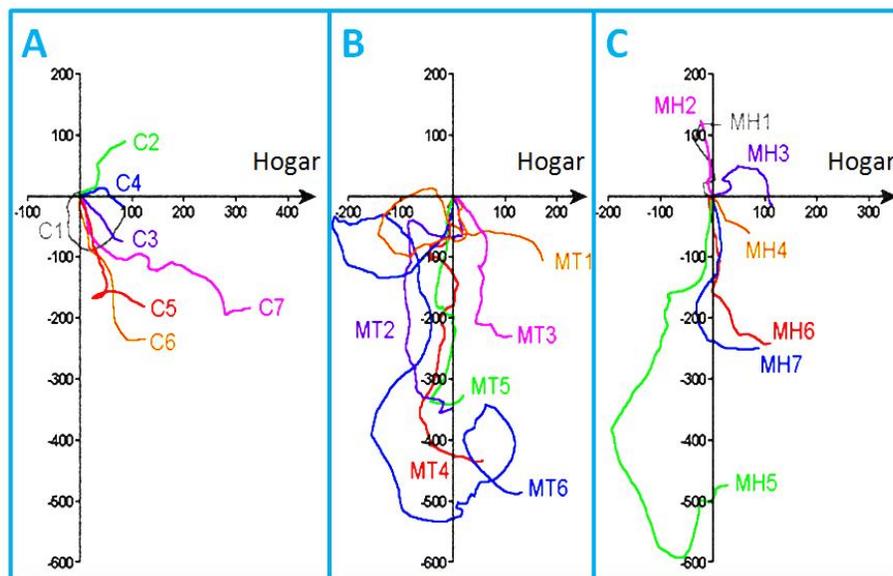


Figura 1. Rutas de navegación seguidas por las hembras adultas *Chelonia mydas* al ser separadas de su playa de anidación. **A.** Animales control nadó la menor distancia para regresar a su playa de desove. **B y C.** Animales sujetos a una distorsión magnética realizaron un mayor recorrido para regresar a las playas de anidación (Modificado de Luschi *et.al.*, 2007).

Por otra parte Lohmann y Lohmann (1996) sometieron a crías de tortuga marina *Chelonia mydas* a dos diferentes intensidades magnéticas, para evaluar si los neonatos son capaces de diferenciar entre éstas. Los resultados muestran que cuando la intensidad es de $52 \mu\text{T}$ (campo 10.6% mayor que el de su playa natal) las crías se desplazaron al este y cuando fueron sometidas a una intensidad de $43 \mu\text{T}$ (campo 8.5% menor que el de su playa natal), se dirigieron hacia el oeste (Figura 2). Esto sugiere que las crías distinguen las diferentes intensidades del campo magnético presentes durante su ruta migratoria en sus primeros meses de vida (Putman *et.al.*, 2011).

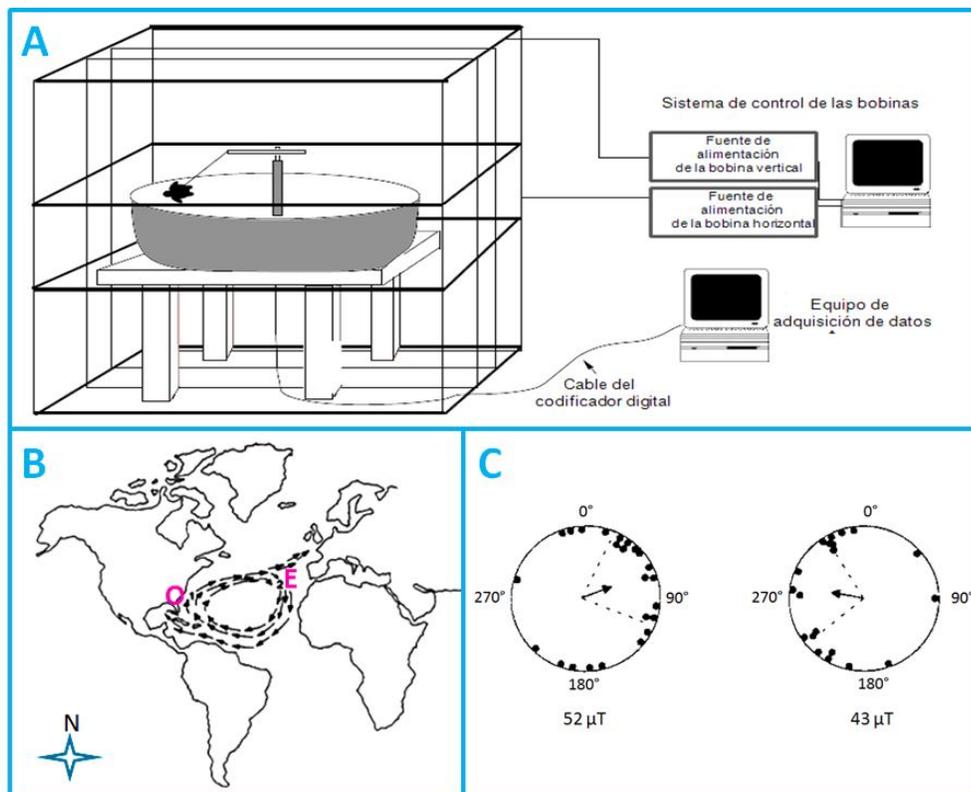


Figura 2. Detección de la intensidad del campo magnético por crías de tortuga marina *Chelonia mydas*. **A.** Representación del equipo utilizado para evaluar la respuesta a diferentes intensidades magnéticas. **B.** Intensidades magnéticas en los extremos del giro de la corriente del Atlántico Norte; el lado Este (E) presenta una intensidad magnética de $43 \mu\text{T}$, mientras que el lado Oeste (O) del giro tiene una intensidad de $52 \mu\text{T}$. **C.** Representación de la distribución de las crías de tortuga marina al someterlas a diferentes intensidades magnéticas (Modificado de Lohmann y Lohmann, 1996)

Para evaluar si las crías de *Chelonia mydas* pueden distinguir entre diferentes ángulos de inclinación magnética, se estudió su comportamiento de orientación con respecto a este factor. Cuando las crías estuvieron expuestas a 57° (ángulo de inclinación de su playa natal) se orientaron hacia el este, cuando fueron sometidas a 60° (ángulo de inclinación encontrado en el límite norte del giro del Atlántico) nadaron al suroeste y, cuando el ángulo de inclinación fue de 30° (encontrado en la frontera sur del giro) se desplazaron al noreste. Adicionalmente las crías fueron expuestas a ángulos de inclinación no encontrados en el giro del Atlántico Norte (75° , 45° , 15°) a los cuales no respondieron con una orientación específica. Estos resultados muestran que las tortugas marinas pueden distinguir entre diferentes ángulos de inclinación magnética y obtienen así, una aproximación de la latitud (Lohmann y Lohmann, 1994; Figura 2A, Figura 3).

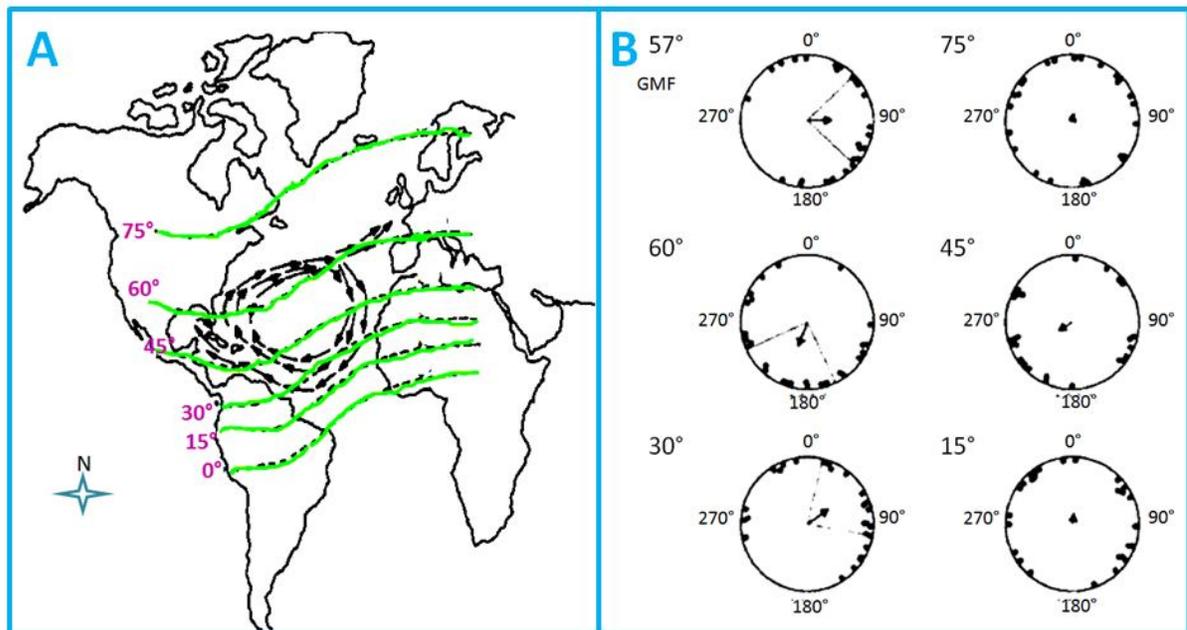


Figura 3. Detección de la inclinación del campo magnético por crías de tortuga marina *Chelonia mydas*. **A.** Ángulos de inclinación magnética en los extremos del giro de la corriente del Atlántico Norte. **B.** Representación de la distribución de las crías de tortuga marina al someterlas a diferentes ángulos de inclinación magnética (Modificado de Lohmann y Lohmann, 1994)

Debido a que las crías pueden detectar el ángulo de inclinación y la intensidad del campo magnético terrestre, se postula que las tortugas marinas utilizan estos dos parámetros para establecer un mapa magnético bicoordenado. Estas evidencias apoyan fehacientemente la existencia de un sistema magnetorreceptivo (Lohmann y Lohmann, 1996). No obstante, los mecanismos neurofisiológicos que subyacen a la magnetorrecepción han sido poco explorados; por lo que recientemente en el laboratorio de biología de sistemas del Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM, se ha puesto especial interés en la investigación de dichos mecanismos, generando así una línea de investigación que aborda éste problema científico (Magnetorrecepción en la tortuga marina negra, *Chelonia agassizii*).

Se conoce que todos los sistemas sensoriales comparten 3 elementos: 1) un receptor sensorial (transductor); 2) una vía aferente (núcleos de relevo); 3) un centro nervioso (traductor). En el sistema magnético se ha planteado que la magnetita es el transductor primario de la información (Esquivel *et.al.*, 2000; Fleissner *et.al.*, 2003; Beason, 2005; Wegner *et.al.*, 2006; Lohmann *et.al.*, 2008). En diversos organismos se han detectado 2 tipos de magnetita biogénica: magnetita de dominio simple (DS) y magnetita superparamagnética (Esquivel *et.al.*, 2000). Debido a que la magnetita de DS (<1µm) presenta momentos magnéticos permanentes, ésta ha sido postulada como el receptor sensorial magnético (Beason, 2005), a diferencia de las superparamagnéticas, las cuales son magnéticamente inestables, sin embargo responden rápidamente a variaciones del campo magnético (Esquivel *et.al.*, 2000). Resultados obtenidos en el laboratorio a través de una técnica de resonancia magnética nuclear muestran depósitos metálicos dentro de los ojos de la tortuga marina *Chelonia agassizii*, los cuales fueron aislados y por medio de espectrometría de energía dispersiva se obtuvo una imagen de un cristal de magnetita de geometría hexa – octaédrica (Cuiríz – Ríos, 2011). Posteriormente se observaron depósitos férricos en cortes histológicos de retina identificados como cristales de magnetita de dominio simple (Figura 4). Además, se evaluó la actividad neuronal en respuesta a cambios de la intensidad magnética y se mostró que las estructuras capaces de responder a éste estímulo son las neuronas ganglionares de la retina, los estratos de las células del tecto óptico, el núcleo rotundo y los geniculados lateral y medial

talámicos, la corteza dorsal y medial y el subcampo visual de la cresta ventricular dorsal, los cuales posiblemente componen la vía aferente magnetorreceptiva (Fuentes – Farías, 2008; Meléndez – Herrera, en preparación; Figura 5). Estos resultados sugieren que existe una vía sensorial aferente magnética con zonas de orden primario y superior que participan en el proceso sensorial magnético que involucran estructuras neuronales consideradas hasta nuestros días de exclusividad visual.

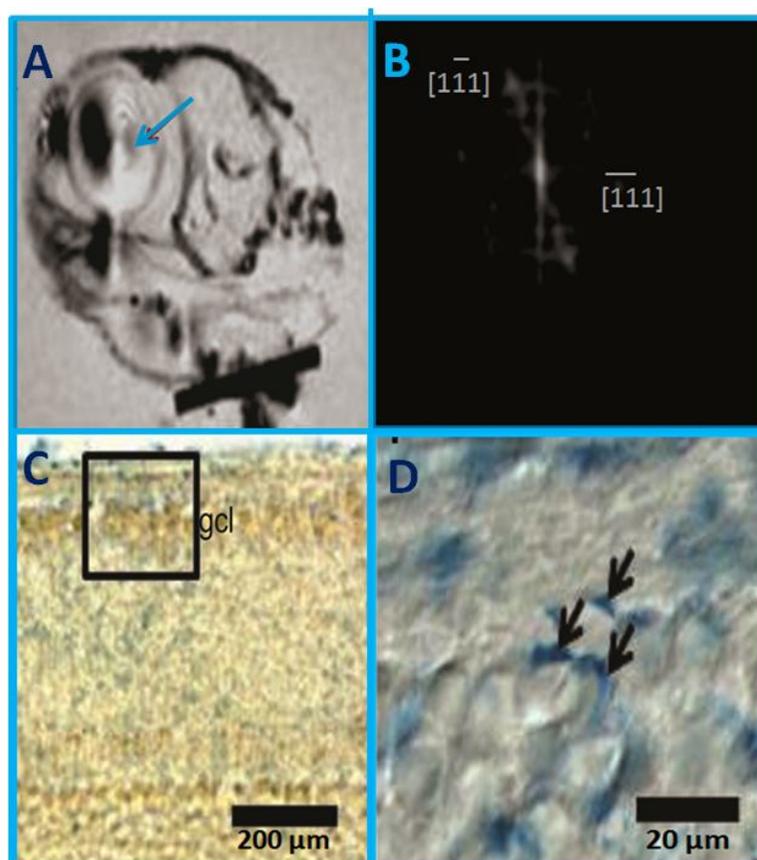


Figura 4. El ojo de *Chelonia agassizii*, posible receptor sensorial de la información magnética ambiental. **A.** Imagen de resonancia magnética nuclear que expone la sección sagital de la cabeza de una cría de tortuga *Chelonia agassizii* en donde se infiere la existencia de depósitos metálicos (flecha) dentro de los ojos (Modificado de Cuiriz – Ríos, 2011). **B.** Imagen obtenida por espectrometría de energía dispersiva de cristales de magnetita aislados de extractos del ojo de tortuga marina. Se muestran planos cristalinos $[111]$, con una dirección cristalográfica cerca de $[011]$. Presenta una geometría hexa – octaédrica. **C** y **D.** Tinción histoquímica con azul de prusia indica depósitos ferromagnéticos cerca de neuronas ganglionares de la retina (flechas; Meléndez – Herrera, en preparación)

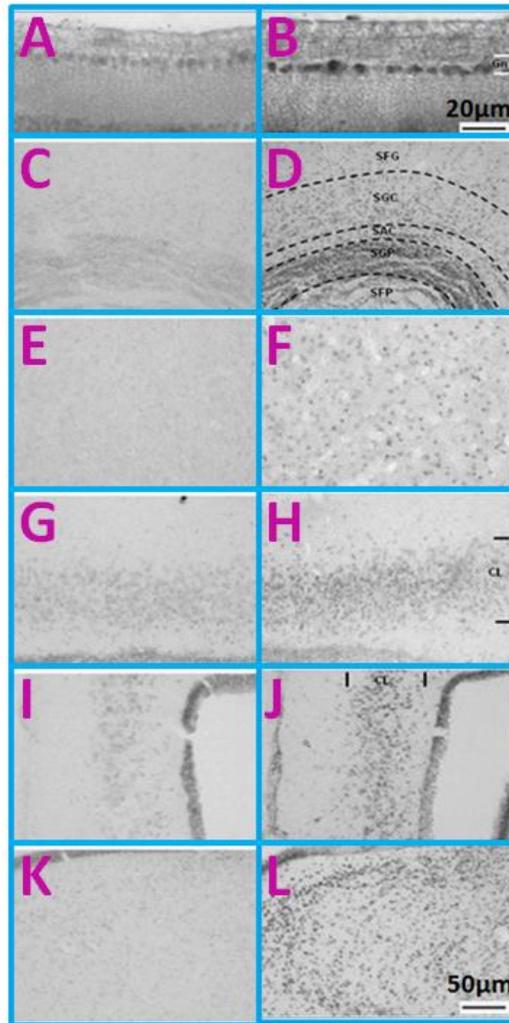


Figura 5. Estructuras neurales activadas en respuesta a cambios en la intensidad magnética en crías de tortuga marina, en las que se observa la inmunoreactividad contra el marcador c-Fos. Los paneles del lado izquierdo son controles. **A** y **B** Retina. **C** y **D** Tecto óptico. **E** y **F** Núcleo rotundo. **G** y **H** Corteza dorsal. **I** y **J** Corteza medial. **K** y **L** Ventrículo dorsal (Meléndez – Herrera, en preparación).

Sin embargo, no se conoce si la tortuga además de transducir la información magnética, es capaz de interpretar la información a nivel de sistema nervioso central (corteza) y con ello generar una respuesta eferente motora. Por lo tanto, en el presente estudio se evaluó la respuesta sensorial provocada por estímulos magnéticos en la tortuga marina *Chelonia agassizii*.

HIPÓTESIS

La tortuga marina percibe la información sensorial magnética a nivel cortical y genera una respuesta eferente periférica, por lo tanto es capaz de sentir y transducir la información magnética (intensidad) en eléctrica provocando un comportamiento motor.

OBJETIVO GENERAL

Analizar las respuestas electrofisiológicas centrales y periférica motora evocadas por diferentes intensidades de estímulos magnéticos en la tortuga marina *Chelonia agassizzi*.

OBJETIVOS PARTICULARES

Registrar la actividad eléctrica presente en la arquicorteza cerebral en respuesta a un estímulo magnético aplicado en el ojo de la tortuga por medio de un electroencefalograma (EEG).

Evaluar los efectos de los cambios del comportamiento del potencial magnetorreceptivo provocado en respuesta a las modificaciones de la intensidad del estímulo magnético mediante técnicas de electroencefalografía.

Registrar la actividad eléctrica presente en el músculo flexor de la aleta posterior de la tortuga marina en respuesta a un estímulo magnético por medio de un electromiograma (EMG).

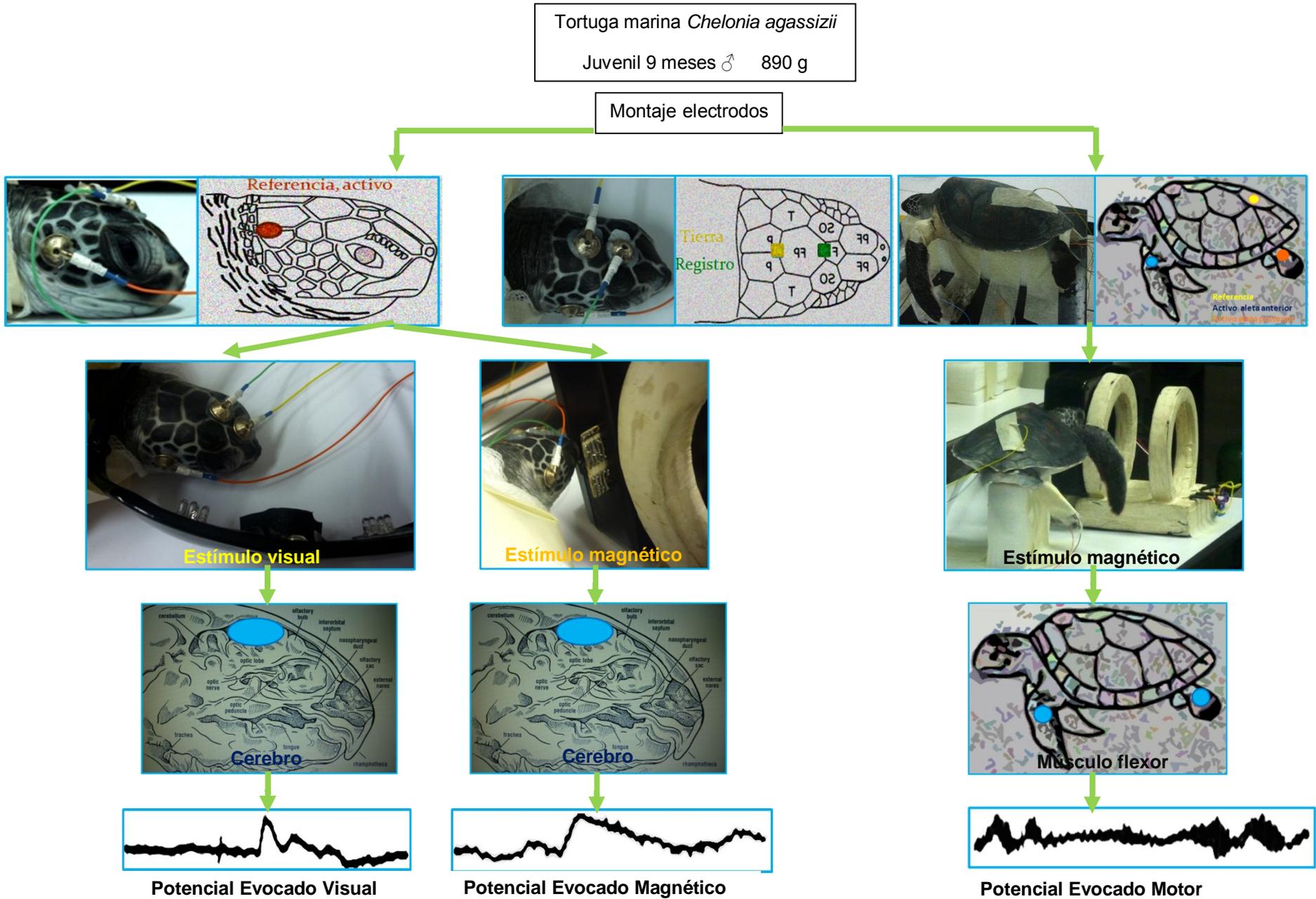
JUSTIFICACIÓN

En México se localizan 6 de las 7 especies de tortugas marinas, las cuales de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo), se encuentran en peligro de extinción (P). Se entiende por especies en peligro de extinción aquellos organismos cuyas áreas de distribución o tamaño de sus poblaciones en el Territorio Nacional han disminuido drásticamente poniendo en riesgo su viabilidad biológica en todo su hábitat natural, debido a factores tales como la destrucción o modificación drástica del hábitat, aprovechamiento no sustentable, enfermedades o depredación, entre otros. Debido a lo anterior es de suma importancia conocer los mecanismos neurofisiológicos involucrados durante su migración para así extender las áreas de protección y tener un adecuado manejo de las poblaciones.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó una tortuga marina *Chelonia agassizii* de 9 meses de edad, a la que se le colocaron electrodos de disco en el cráneo y en las aletas anteriores y posteriores. Los electrodos craneales registraron la respuesta a estímulos visuales y magnéticos por medio de un electroencefalograma (EEG); el primero de ellos se obtuvo a partir de un estímulo visual proporcionado por un estrobo de luz blanca y el segundo a través de un sensor magnético. Los electrodos colocados en las aletas obtuvieron la respuesta eléctrica, de los músculos flexores ante un estímulo magnético proporcionado por un sensor, a través de un electromiograma (EMG; Figura 6).

Figura 6. DISEÑO EXPERIMENTAL



MÉTODOS

Animales

Inmediatamente posterior a la eclosión del huevo, se colectó una cría de tortuga marina *Chelonia agassizii* durante la época de desove (febrero 2010) en la playa de Colola, Michoacán, México. Se transportó al laboratorio de biología integrativa en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, en donde se mantuvo en un acuario marino a temperatura ambiente, con un fotoperiodo de 12 horas luz – 12 oscuridad y se alimentó con croquetas para reptil. Se conservó en dichas condiciones durante 9 meses. A esta edad se realizaron los registros electrofisiológicos para facilitar su manejo y observación, ya que el cerebro de las crías recién nacidas es muy pequeño y dificulta el montaje de electrodos. Al término de estos 9 meses, se trasladó al laboratorio de electrofisiología de la Universidad Benemérita de Puebla. Los protocolos de manejo y experimentación fueron aprobados por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SGPA/DGVS/414-04, 14340-04, 5896-05, 5170-07 and 4011/08).

Materiales

Para la realización de los registros electrofisiológicos se utilizaron electrodos superficiales de disco metálico Grass recubiertos de oro adheridos con pasta conductora y fijados con cinta adhesiva en la cabeza y en los músculos flexores de las aletas anterior y posterior del juvenil *Chelonia agassizii*. Los registros del EEG fueron obtenidos empleando un amplificador SynAmps Neuroscan. Para la obtención del EMG se utilizaron dos amplificadores Grass AstroMed. Las señales fueron enviadas a un sistema Digidata de Molecular Devices. Las señales se digitalizaron a una velocidad de muestreo de 10 kHz con filtros de banda de 0.05 Hz a 30 kHz. Los estímulos se generaron con sistema de pulsos transistor – transistor obtenidos por el Master – 8.

Colocación de electrodos

Los electrodos que registraron la actividad de la corteza cerebral correspondieron al electrodo de referencia (en la escama timpánica), al electrodo activo (entre la escama frontoparietal y frontal) y al electrodo de tierra (entre la escama frontoparietal y parietal). Los electrodos que registraron la actividad motora se colocaron en los músculos flexores de las aletas anterior y posterior de la tortuga marina (Figura 6). Los registros fueron monopolares ya que se evaluó la diferencia de potencial entre un electrodo de registro y uno de referencia (inactivo).

Electroencefalograma

Registros del potencial provocado visual

Se aplicaron estímulos visuales externos en el ojo izquierdo abierto de la tortuga, a través de un estroboscopio que emite destellos (100 pulsos a una frecuencia de 2 Hz) de luz blanca, durante 10 ms e intensidad de $200 \times 10^{-8} \text{ cd/m}^2$. Se obtuvieron 100 registros de la actividad en corteza cerebral; los resultados se promediaron (Ver anexo B).

Registros del potencial provocado magnético

Los estímulos magnéticos externos se aplicaron en el ojo derecho de la tortuga y consistieron en cambios breves (≈ 100 ms de duración) de la intensidad del campo magnético aplicados sobre un valor de intensidad magnética de referencia (30 – 37 μT , 30 – 49 μT , 30 – 61 μT) cuyos valores fueron definidos con base en los encontrados en su playa natal (Anexo A; Fuentes- Farías, 2008). Los valores de intensidad magnética se generaron a partir de un sensor magnético basado en un sistema microelectromecánico (MEMS) con una resolución de 80 nT, sensibilidad de 1.2 VT^{-1} , frecuencia de resonancia de 13.8 kHz y una respuesta rápida para detectar

campos magnéticos en espiga. Para anular el campo magnético circundante, se colocó una matriz de 2 bobinas de Helmholtz cerca del ojo derecho del sujeto de estudio. Se obtuvieron 100 registros de la actividad en corteza cerebral, los cuales fueron promediados.

Electromiograma

Registros del potencial provocado motor

Se aplicó un estímulo magnético externo proporcionado en el ojo derecho de la tortuga el cual consistió en cambios de la intensidad magnética en el rango de 30 – 49 μT durante 100 ms. Se obtuvieron 100 registros de la actividad en músculos flexores; los resultados se promediaron (Ver anexo B).

RESULTADOS

Para evaluar la percepción de los estímulos visuales externos se registró la actividad eléctrica de la corteza cerebral (potencial evocado visual). El estímulo visual (EV) representado en el panel **A**, consistió en un destello de luz blanca de 10 ms. En el panel **B** se observa el potencial evocado visual (PEV) conformado por una onda pentafásica con amplitud aproximada de 20 μV y latencia del primer pico de 50 ms a partir del estímulo visual (Figura 7).

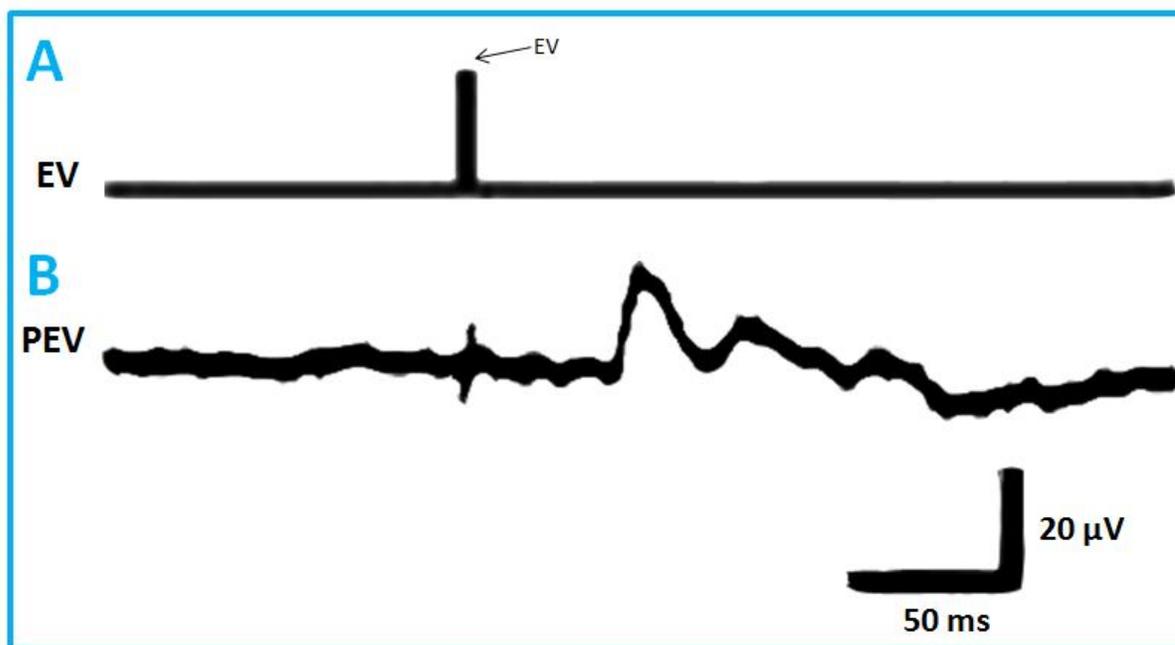


Figura 7. Gráfica del Potencial Evocado Visual (PEV) en un juvenil de 9 meses de tortuga marina *Chelonia agassizii*. **A.** Estímulo visual (EV; flecha). **B.** PEV con latencia del primer pico de 50 ms y amplitud de 20 μV

Al registrar la actividad eléctrica de la corteza cerebral en respuesta a un estímulo magnético en un rango de 30 – 49 μT se observó un Potencial Evocado Magnético (PEMg). En el panel **A** de la figura 8 se observa la representación gráfica del estímulo de intensidad magnética descrito, durante 100 ms. En el panel **B** se observa el promedio de los 100 registros de la respuesta electrofisiológica central ante un estímulo de intensidad magnética. El PEMg presentó una onda monofásica con amplitud aproximada de 12 μV y una latencia de 30ms a partir del estímulo magnético.

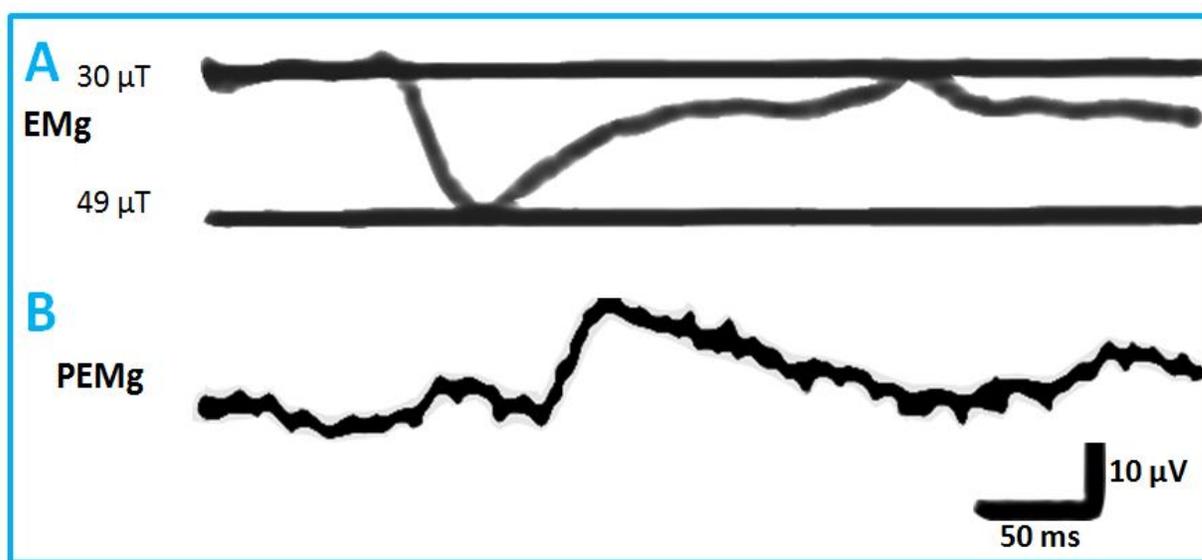


Figura 8. Gráfica del Potencial Evocado Magnético (PEMg) en un juvenil de 9 meses de tortuga marina *Chelonia agassizii*. **A.** Estímulo magnético (EMg). **B.** PEMg con latencia de 30 ms y amplitud de 12 μV

Posteriormente se determinaron los umbrales diferencial y de saturación, así como el rango dinámico del receptor. En la figura 9 están graficados los cambios en la amplitud del PEMg respecto a la intensidad del estímulo. Se observa que hay un aumento en el primero al incrementar el segundo, hasta una intensidad de 19 μT , posteriormente, la amplitud del PE llega a una asíntota. Dado que el cambio mínimo de intensidad que requirió la tortuga marina para presentar un potencial evocado fue de 7 μT (en el rango de 30-37 μT ; figura 9 y panel A, figura 10), se puede definir el umbral diferencial en este punto. La curva con mayor definición ante el estímulo magnético se presentó a las 19 μT (en el rango de 30-49 μT ; panel B, figura 9) y debido a que empieza la asíntota de la gráfica 9 en este punto, podemos definir a éste como el umbral de saturación. Cuando el estímulo es de 31 μT el PEMg se distorsiona, por lo que podríamos asumir que se ha rebasado el potencial de saturación (en el rango de 30 – 61 μT ; panel C, figura 10). Por lo tanto el rango dinámico del receptor en este modelo abarca de las 37 a las 49 μT (Figura 9 y 10).

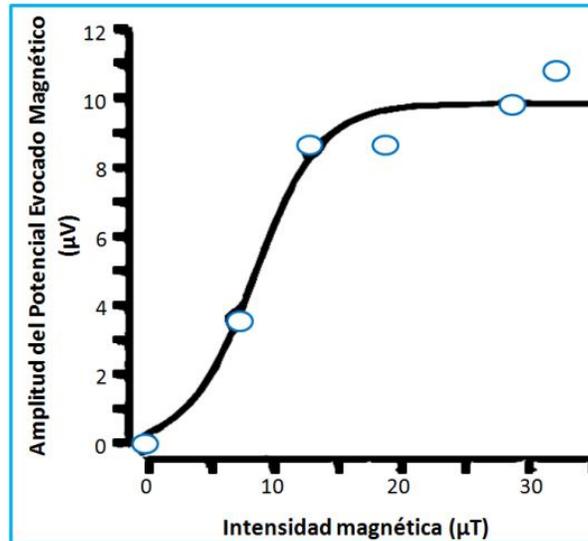


Figura 9. Gráfica que muestra que la amplitud del potencial evocado magnético es directamente proporcional a la intensidad del estímulo magnético. Obsérvese que se presenta la asintota pasadas las 19 μT

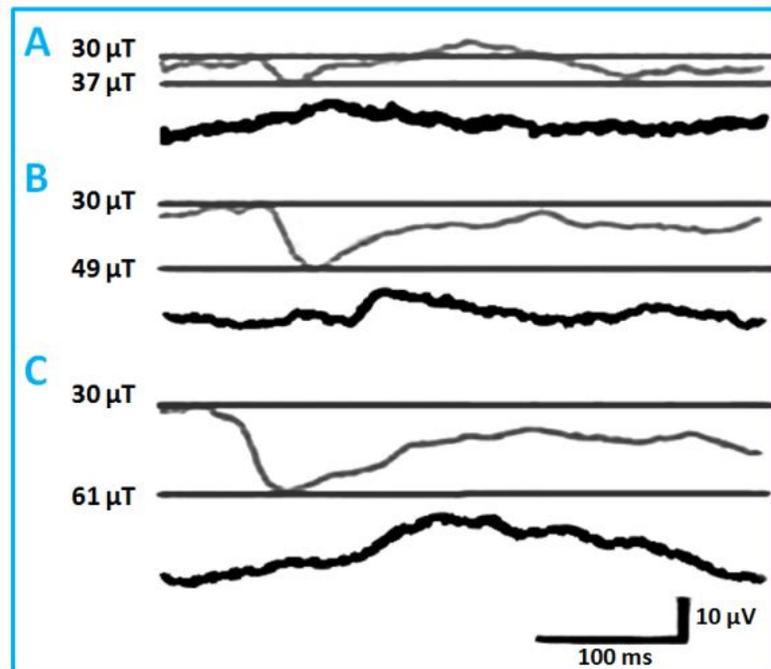


Figura 10. Estímulos magnéticos de diferentes intensidades a los que fue sometido el juvenil de *Chelonia agassizii*. Las gráficas en gris representan el estímulo magnético, las gráficas en negro el potencial evocado magnético. Nótese que en las condiciones de menor estímulo, el PEMg es monofásico y se observan 5 picos cuando se rebasa el umbral de saturación.

Con la finalidad de probar si la magnetorrecepción en la tortuga marina tiene un componente eferente, evaluamos si ésta manifiesta una respuesta electrofisiológica motora generada por un estímulo magnético. El organismo fue estimulado con una intensidad magnética de $19 \mu\text{T}$ (EMg). El panel **A** de la figura 11 muestra el comportamiento motor de la aleta anterior. Cualitativamente antes de la aplicación del estímulo se distingue un ritmo locomotor de mayor frecuencia de oscilación de la actividad en ráfagas con respecto al ritmo locomotor posterior al estímulo. De manera interesante la duración de la actividad de ráfagas incrementó después del estímulo. La transición entre ritmos presentó un silenciamiento de la actividad motora de aproximadamente 4 segundos. Se observa un comportamiento diferente en los registros de la aleta posterior (panel **B** figura 11). La frecuencia de oscilación de la actividad en ráfagas es semejante antes y después de aplicado el estímulo. El silenciamiento de la actividad en respuesta al estímulo es de 2.5 s.

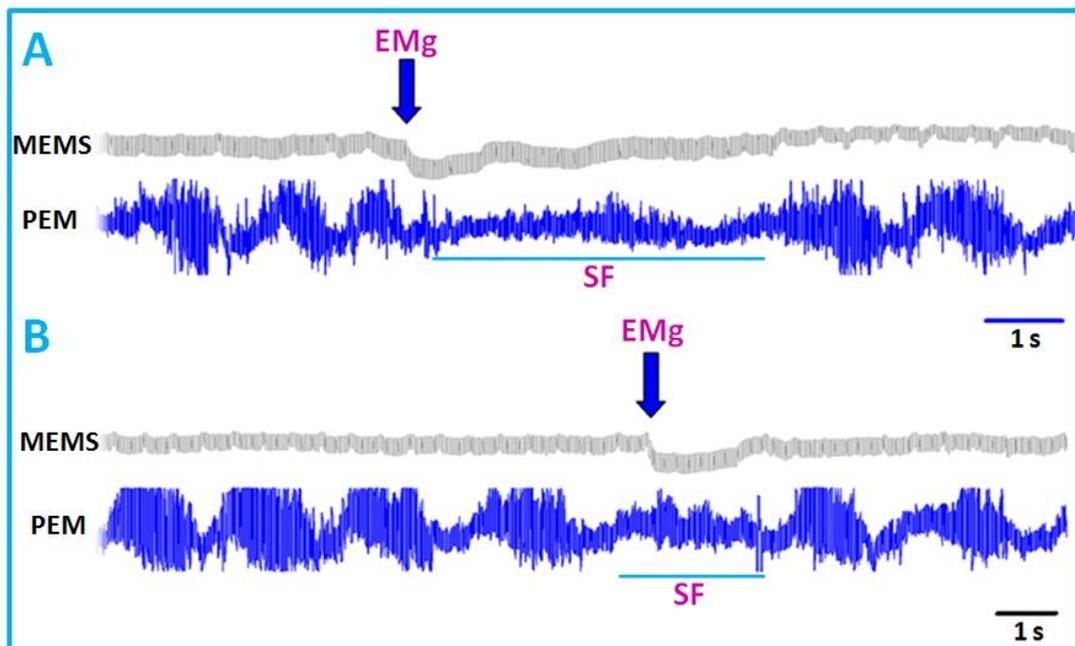


Figura 11. Potencial evocado motor evaluado en músculo flexor de las aletas anterior (A) y posterior (B) del juvenil *Chelonia agassizii*. Las gráficas en gris representan el estímulo magnético, las gráficas en azul el PEM.

DISCUSIÓN

Se ha establecido la existencia de un sentido sensorial magnético presente, principalmente, en diversos organismos migratorios, como truchas, salmones (Walker y Kirschvink, 1988), charlatanes (Beason, 2005), palomas mensajeras (Vargas *et.al.*, 2006), rata topo (Nemec *et.al.*, 2005) y recientemente en tortuga marina (Luschi *et.al.*, 2007; Lohmann *et.al.*, 2012). Experimentos conductuales en los que la tortuga marina responde a diferentes parámetros magnéticos (intensidad e inclinación) indican la presencia de un sistema sensorial magnetorreceptivo.

Debido a que anteriormente no se habían registrado potenciales provocados por un estímulo magnético en la corteza de la tortuga, fue necesario comparar con un estímulo control. Se escogió el potencial evocado visual (PEV) en virtud que los resultados obtenidos en el laboratorio muestran que el ojo podría ser el receptor periférico de la información magnética. Se ha observado que cuando un tren de estímulos sensoriales de cualquier tipo llega al cerebro, provoca secuencias características de ondas en el trazado electroencefalográfico, denominados potenciales evocados, los cuales son la respuesta eléctrica de una célula o conjunto de ellas a dichos estímulos. Las ondas son diferentes para cada modalidad sensorial, por ejemplo, en los potenciales evocados auditivos (PEA) se observan 4 picos o 3 picos en el potencial evocado olfativo (PEO) y su variabilidad depende de la intensidad, frecuencia y organización temporal del estímulo. En el caso del PEV, con anterioridad se habían obtenido registros en diversos grupos de vertebrados, los cuales, dependiendo de la técnica de estimulación y el organismo, presentaron curvas conformadas por 3 - 6 picos (Papazian *et.al.*, 2007; Solís – Chávez *et.al.*, 2008; Torres Soriano, 2010). Esto concuerda con el resultado observado en la tortuga marina (Figura 7), puesto que la curva obtenida fue pentafásica,

Una vez determinada la adecuada colocación de electrodos y que se estableció que la vía visual aferente era funcional, se prosiguió con el registro del potencial evocado magnético (PEMg). Nuestros resultados muestran que existe una respuesta central (Figura 8) ante el estímulo magnético caracterizada por una curva monofásica con

una latencia de 30 ms y amplitud de 12 μV . De esta forma, en el presente reporte documentamos la existencia de potenciales magnetorreceptivos en la arquicorteza cerebral de un espécimen de la tortuga *C agassizii*, en respuesta a cambios en la intensidad de estímulos magnéticos aplicados en el ojo, en un rango de valores que es ecológicamente significativo (Ver anexo A; Fuentes – Farias, 2008).

La mayoría de los receptores sensoriales primarios responden dentro de un rango de valores definido por los umbrales diferencial y de saturación. En nuestro modelo, el rango dinámico del receptor se estableció entre las 30 y 49 μT . El umbral diferencial se encontró en las 7 μT y el de saturación se observó pasadas las 19 μT (Figura 10). Estos resultados no pueden ser comparados con otros trabajos debido a que no se encontraron estudios electroencefalográficos en otros organismos magnetorreceptivos. Sin embargo, existen estudios electrofisiológicos en los que se ha observado que células de adaptación rápida del charlatán (*Dolichonyx oryzivorus*), muestran una mínima sensibilidad de 30 – 50 nT y una respuesta logarítmica a intensidades hasta de 50 μT (umbral de saturación) lo que sugiere que el sistema es capaz de responder a cambios mínimos de intensidad magnética (en magnitudes de nT) y además es capaz de evaluar la intensidad total del CMT (en magnitudes de μT ; Beason, 2005). Debido a que la intensidad geomagnética varía de 25 – 65 μT entre el ecuador y los polos magnéticos y de 2 – 5 nT por kilómetro, convendría ampliar la escala de estimulación (intensidad magnética) para valorar si *Chelonia agassizii*, presenta un sistema magnetorreceptivo semejante al observado en los charlatanes. Nuestros resultados muestran que el umbral diferencial se sitúa en el orden de μT , sin embargo, si tomamos en cuenta que las tortugas marinas podrían estar utilizando este tipo de información para su desplazamiento, éste rango es muy amplio ya que tendrían que desplazarse ≈ 14000 Km para detectar el siguiente cambio de intensidad. Por lo tanto es muy posible que también detecten cambios en nT para tener un sistema de discriminación más específico.

Dentro del rango de valores la relación intensidad – estímulo se aproxima a una curva de tipo sinusoidal, la cual denota que la intensidad del potencial es proporcional a la amplitud del estímulo alcanzando un umbral de saturación, como se observa en la figura 9. Los resultados descritos son semejantes a los reportados en

la trucha y en células de adaptación lenta en aves (Beason, 2005), especies en las que las células responden como detectores de amplitud ante el estímulo de intensidad magnética. Debido a que existe una correlación positiva entre la amplitud del potencial provocado y el número de neuronas que lo producen, nuestros resultados sugieren que, conforme el estímulo magnético incrementa, un mayor número de neuronas son reclutadas para procesar la información asociada con el estímulo.

La latencia del PEMg correspondió a 30 ms, dicho resultado es similar al reportado por Vargas *et.al.* (2006) en neuronas del hipocampo de la paloma mensajera (*Columba livia*), las cuales presentaron una latencia de 20 – 40 ms; sin embargo es muy distante de la latencia presentada por el molusco marino *Tritonia diomedea*, el cual mostró una respuesta de cambio al campo magnético en un tiempo de 6 – 16 min y aún más alejada del tiempo de respuesta presentado por la abeja *Apis mellifica*, quien denota un cambio en la actividad eléctrica después de 20 – 40 min (Lohmann y Willowa, 1991b). La diferencia en el tiempo de respuesta a los estímulos magnéticos podría deberse a una divergencia evolutiva en los mecanismos utilizados para evaluar los componentes geomagnéticos y a las distintas velocidades de desplazamiento que presenta cada grupo (Lohmann y Willowa, 1991b). También tenemos que tomar en cuenta que nuestros registros electrofisiológicos no fueron invasivos en comparación con los reportados por Vargas *et.al.* (2006) y Lohmann y Willowa (1991).

La demora de fase en el ritmo locomotor (Figura 11), podría ser utilizado para procesar la información sensorial magnética a través de áreas de asociación en la corteza cerebral. Nuestro resultado demuestra en primer lugar que la tortuga marina transduce la información magnética ambiental, posteriormente traduce esta información a nivel del sistema nervioso central y finalmente presenta una respuesta motora. Debido a que la latencia observada a nivel neural corresponde a 30 ms y la respuesta motora presenta latencias largas, en el orden de segundos, podría pensarse que la información del CM puede ser analizada en diferentes etapas y en diferentes áreas del cerebro (Vargas *et.al.*, 2006).

Finalmente, se ha observado que peces cebra y tilapias Mozambique (condicionados por medio de un refuerzo negativo) nadan hacia una determinada dirección en respuesta a cambios de intensidad magnética (Shcherbakov *et.al.*, 2005). Así mismo, peces con libre nado en un lago litoral son inducidos a entrar en trampas debido a campos magnéticos montados alrededor de la entrada de una jaula. Al cambiar el campo magnético al centro de la jaula, se refuerza la respuesta de los peces, quienes nadan aún más lejos al interior de la misma (Formicki *et.al.*). Ambos experimentos prueban que los peces sienten el estímulo magnético, toman decisiones y las manifiestan en un comportamiento motor. Por lo que no es de extrañar que la tortuga marina, en su hábitat natural, pudiera utilizar la información magnética terrestre para desplazarse a lo largo de sus rutas migratorias.

PERSPECTIVAS

Evaluar ambos ojos en respuesta al estímulo debido a que en el petirrojo y el silvereye, la capacidad de orientarse utilizando el CMT, está fuertemente lateralizada, con una dominancia para la magnetorrecepción por parte del ojo derecho (Beason, 2005).

En diversos organismos se ha propuesto la presencia de cristales magnetotácticos en la región etmoidal, en el nervio trigémino, por lo que es necesario evaluar, en la tortuga marina, la ubicación exacta y la biogénesis de dichos cristales.

Se tendrían que identificar los magnetorreceptores y el mecanismo de transducción magnética. Además se requiere determinar las regiones involucradas en el procesamiento de la información magnética a nivel central.

Finalmente realizar registros electrofisiológicos intracelulares para evaluar la presencia de unidades de adaptación rápida y/o lenta para conocer si la tortuga marina percibe en unidades magnéticas de nanoteslas o simplemente microteslas.

LITERATURA CITADA

Barea – Navarro, R. Ingeniería en electrónica. Instrumentación Biomédica. Tema 5: Electroencefalografía. Universidad de Alcalá. Departamento de electrónica. Extraído de:

<http://www.bioingenieria.edu.ar/academica/catedras/bioingenieria2/archivos/apuntes/tema%205%20-%20electroencefalografia.pdf>

Beason, R.C. (2005). Mechanisms of Magnetic Orientation in Birds. *Integrative and Comparative Biology* 45: 565 – 573

Castellanos – Abrego, P. (1997). Electrofisiología humana: un enfoque para ingenieros. México, D.F. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

Cuiríz – Ríos, Z. (2011). Ubicación de sitios con presencia de magnetita en elementos cefálicos de *Chelonia agassizii*, mediante imágenes por resonancia magnética nuclear de alta resolución. Tesis de licenciatura, Morelia, Michoacán, México. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Biología.

Daza, C., Corredor, C. y Almanza, O. (2009). Estudio por resonancia paramagnética electrónica (EPR) del material magnético presente en la abeja *Apis mellífera*. *Revista Colombiana de Física* 41(1): 178 – 181

Diego – Rasilla, F.J. y Rodríguez – García, L. (2007). Orientación magnética y magnetorrecepción en anfibios. *Revista Española de Herpetología* 21: 19 – 39

Endres, C.S., Putman, N.F. y Lohmann, K.J. (2009). Perception of airborne odors by loggerhead sea turtles. *Journal of Experimental Biology* 212: 3823 - 3827

Esquivel, D.M.S, Wajnberg, E., El – Jaick, A.L., Acosta – Avalos, D. y Linhares, M.P. (2000). Efectos del campo geomagnético en insectos sociales. *Ciencia al Día Internacional* 3 (2): 1 – 11

Fischer, J.H., Freake, M.J., Borland, S.C. y Phillips, J.B. (2001). Evidence for the use of magnetic map information by an amphibian. *Animal Behavior* 62: 1 – 10

Fleissner, G., Holtkamo – Rötzler, E., Hanzlik, M., Winklhofer, M., Petersen, N. y Wiltshko, W. (2003). Ultrastructural analysis of a putative magnetoreceptor in the beak of homing pigeons. *The journal of comparative neurology* 458: 350 – 360

Formicki, K., Tanski, A. y Winnicki, A. Effects of magnetic field on the direction of fish movement under natural conditions. Recuperado desde <http://www.ursi.org/Proceedings/ProcGA02/papers/p0842.pdf>

Fuentes – Farías, A.L. (2008). Magnetorecepción en la tortuga negra *Chelonia agassizii* del área de reserva Colola – Maruata, Michoacán, México. Tesis doctoral, México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Geofísica.

Grassman, M. (1993). Chemosensory orientation behavior in juvenile sea turtles. *Brain, Behavior and Evolution* 41: 224 – 228

Hays, G.C., Fossette, S., Katselidis, K.A., Mariani, P. y Schofield, G. (2010). Ontogenetic development of migration: Lagrangian drift trajectories suggest a new paradigm for sea turtles. *Journal of the Royal Society Interface* 7: 1319 - 1327

Hernández – Orozco, F., Flores – Rodríguez, T. y Peñaloza – López, Y. (1997). Registros electrofisiológicos para el diagnóstico de la patología de la comunicación humana. México D.F. Instituto Nacional de la Comunicación Humana.

Lohmann, K.J. (1991). Magnetic orientation by hatchling loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Journal Experimental Biology* 155: 37 – 49

Lohmann, K.J. y Willowa, A.O.D. (1991). An identifiable molluscan neuron responds to changes in earth – strength magnetic fields. *Journal Experimental Biology* 161: 1 – 24

Lohmann, K. J. y Lohmann, C.M.F. (1994). Detection of magnetic inclination angle by sea turtles: a posible mechanism for determining latitude. *Journal of experimental Biology* 194: 23 – 32

Lohmann, K. J. y Lohmann, C.M.F. (1996). Detection of magnetic field intensity by sea turtles. *Nature* 380: 59-61

Lohmann, K.J., Hester, J.T. y Lohmann, C.M.F. (1999). Long distance navigation in sea turtles. *Ethology Ecology & Evolution* 11: 1 - 23

Lohmann, K.J., Putman, N.F. y Lohmann, C.M.F. (2008). Geomagnetic imprinting: A unifying hypothesis of long – distance natal homing in salmon and sea turtles. *PNAS* 105 (49): 19096 – 19101

Lohmann, K.J., Putman, N.F. y Lohmann, C.M.F. (2012). The magnetic map of hatchling loggerhead sea turtles. *Current Opinion in Neurobiology* 22: 336 – 342

Luschi, P., Benhamou, S., Girards, C., Ciccione, S., Roos, D., Sudre, J. y Benvenuti, S. (2007). Marine turtles use geomagnetic cues during open – sea homing. *Current Biology* 17 (2): 126 – 133

Manton, M., Karr, A. y Ehrenfeld, D.W. (1972). Chemoreception in the migratory sea turtle, *Chelonia mydas*. *Biology Bulletin* 143: 184 – 195.

Martínez de Haro, V. (1986). Estudio psico y neurofisiológico de las funciones cognitivas en deportistas. Tesis de licenciatura, España. Facultad de Medicina de la Universidad Complutense.

Morillo, L. E. Análisis visual del electroencefalograma. Guía 7: Neurofisiología. Asociación Colombiana de Neurología. Extraído de <http://www.acnweb.org/guia/g7cap17.pdf>

Némec, P., Burda, H. y Oelschläger, H.H.A. (2005). Towards the neural basis of magnetoreception: a neuroanatomical approach. *Naturwissenschaften* 92: 151 - 157

Papazian, O., Alfonso, I. y Luzondo, R. (2007). Indicaciones médicas y quirúrgicas de los potenciales evocados. *Medicina (Buenos Aires)*: 67 (6)

Putman, N.F., Endres, C.S., Lohmann, C.M.F. y Lohmann, K.J. (2011). Longitude perception and bicoordinate magnetic maps in sea turtles. *Current Biology* 21: 463 – 466

Putman, N.F., Verley, P., Shay, T.J. y Lohmann, K.J. (2012). Simulating transoceanic migrations of young loggerhead sea turtles: merging magnetic navigation behavior with an ocean circulation model. *Journal of Experimental Biology* 215: 1863 – 1870

Shcherbakov, D., Winklhofer, M., Petersen, N., Steidle, J., Hilbig, R. y Blum, M. (2005). Magnetosensation in zebrafish. *Current Biology* 15(5): R161 – R162

Solís – Chávez, S.A., Durand – Rivera, A., Hernández – Godínez, B., Ibáñez – Contreras, A. y Herróz – Zamorano, A. (2008). Valoración neurofisiológica por medio de potenciales evocados auditivos de tallo cerebral (PEATC) y potenciales evocados visuales (PEV) en *Iguana iguana*, en condiciones de cautiverio en México. *Ciencia y Tecnología* 7: 80 – 84.

Torres – Soriano, D. (2010). Electrodiagnóstico: Protocolo clínico y estandarización de electroretinografía (ERG) y potenciales evocados visuales (PEV) en el perro Beagle. Tesis doctoral, España. Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria. Departamento de Medicina y Cirugía Animal.

Vargas, J.P., Siegel, J.J. y Bingman, V.P. (2006). The effects of a changing ambient magnetic field on single – unit activity in the homing pigeon hippocampus. *Brain Research Bulletin* 70: 158-164

Walcott, C. (2005). Multi – modal orientation cues in homing pigeons. *Integrative and Comparative Biology* 45: 574 – 581

Walker, M.M. y Kirschvink, J.L. (1988). Ultrastructure, morphology and organization of biogenic magnetite from sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*: implications for magnetoreception. *Journal Experimental Biology* 140: 35 – 49

Wegner, R.E., Begall, S. y Burda, H. (2006). Magnetic compass in the cornea: local anesthesia impairs orientation in a mammal. *The Journal of Experimental Biology* 209: 4747 – 4750

Consultado en <http://www.ngdc.noaa.gov/geomag/>

Consultado en http://espacio_psicologia.blogspot.mx/2013/06/electroencefalograma-eeg.html)

Consultado en <http://www.veoverde.com/2013/07/crean-programas-de-conservacion-y-recuperacion-de-la-tortuga-marina/>

Consultado en http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf

ANEXO A. CAMPO MAGNÉTICO TERRESTRE

El campo magnético terrestre se origina en el núcleo (97%; campo principal producido por corrientes de convección y remolinos del material fundido del núcleo externo. Este campo es dipolar y asemeja una barra magnética), la corteza terrestre (rocas magnetizadas producen campos localizados conocidos como anomalías magnéticas y generan el 1 – 2% del campo total) y por fuentes externas (viento solar que representa del 1 – 2% del campo; Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007; Fuentes – Farías, 2008).

El dipolo del núcleo es el responsable de que la magnitud (las líneas del campo salen del polo sur magnético, rodean verticalmente la tierra y nuevamente entran en el polo norte magnético generando con ello la intensidad de campo) y dirección del vector varíen sistemáticamente entre el ecuador y los polos magnéticos. La intensidad de campo varía desde 25 μT en el ecuador a 65 - 70 μT en los polos y de 2 – 5 nT/ Km; la dirección del vector resultante o ángulo de inclinación varía desde el ecuador magnético donde es paralelo a la superficie de la tierra, tomando un valor de 0, hasta los polos donde es perpendicular y su valor corresponde a 90° (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007; Fuentes – Farías, 2008).

Las variaciones del campo magnético originadas por la magnetización de rocas son generalmente pequeñas (< 5% del campo total), pero pueden variar rápidamente en distancias cortas, no más allá de 1000 nano- Tesla (nT). Finalmente el viento solar y las corrientes eléctricas en la ionosfera provocan variaciones a corto plazo, en periodos de 24 h, puesto que el viento solar varía conforme a la rotación de la tierra; dichas variaciones oscilan en el orden de 30 nT a 100 nT, con descensos en la intensidad magnética durante el mediodía (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007; Fuentes – Farías, 2008).

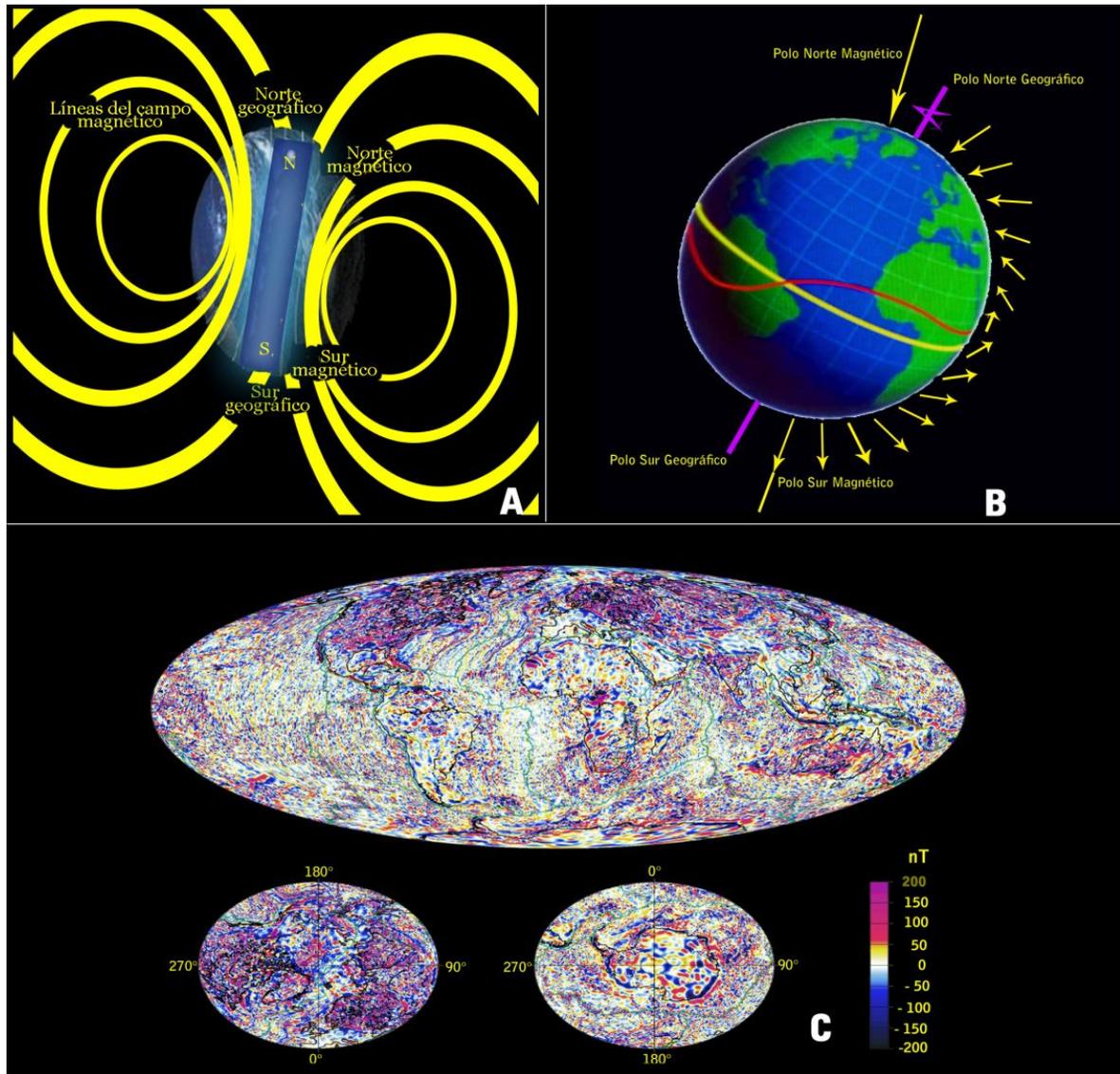
En largos periodo de tiempo los patrones de corrientes de convección presentes en el núcleo externo terrestre generan la variación secular, la cual provoca cambios en declinación del campo magnético (ángulo entre las direcciones del norte magnético y el norte geográfico; Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007; Fuentes – Farías, 2008).

Las isolíneas de intensidad magnética correspondientes a las regiones migratorias de la tortuga *Chelonia agassizii* presentan valores de 0 – 45 μT en intensidad vertical y de 30 – 25 μT en intensidad horizontal.

Se conoce que el valor de intensidad total de la playa natal de nuestro caso de estudio es de 40 μT en el año 2008 (Tabla 1; Fuentes – Farías, 2008)

Declinación (Deg)	7.363
Inclinación (Deg)	44.874
Intensidad horizontal (μT)	28.605
Intensidad vertical (μT)	28.479
Intensidad total (μT)	40.364

Tabla 1. Valores de parámetros magnéticos en Colola, Michoacán (Modificado de Fuentes – Farías, 2008)



Campo magnético terrestre (CMT). **A.** En el interior del planeta, la acumulación de materiales [ferromagnéticos](#) y su movimiento con respecto a otras capas inducen un campo magnético en el cual se distinguen dos polos, los cuales presentan una inclinación de 10 grados con respecto al eje geográfico de la tierra; éstos puntos se llaman polos geomagnéticos, y difieren de los polos Norte y Sur de la Tierra. El campo magnético terrestre también está influenciado por la magnetización de las rocas en la corteza terrestre y por el viento solar. **B.** El campo magnético terrestre varía en intensidad (longitud de las flechas) y dirección (inclinación de las flechas). Éste último es horizontal en el ecuador magnético (0°) y adquiere valores de 90° en el polo norte magnético y -90° en el polo sur magnético. (Modificado de Fanjul y Oyarzábal, 2007). **C.** Intensidad magnética terrestre dada en nano Teslas (Modificado de <http://www.ngdc.noaa.gov/geomag/>). La intensidad magnética varía desde $25 \mu\text{T}$ en el ecuador a $65 \mu\text{T}$ en los polos (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007; Fuentes – Farías, 2008)

ANEXO B. ELECTROFISIOLOGÍA

Electroencefalograma (EEG)

El EEG es el registro y evaluación de la actividad eléctrica o rítmica de las neuronas del encéfalo medida en la superficie craneal y se presenta como una sucesión y mezcla de ondas sinusoidales (Barea – Navarro; Morillo; Castellanos - Abrego, 1997; Hernández – Orozco *et.al.*, 1997), las cuales son la sumatoria de los potenciales postsinápticos (excitatorios e inhibitorios). Esta actividad varía, en cuanto a amplitud, entre los 2 y los 300 microvoltios (μV) y sus principales generadores se encuentran en la corteza cerebral. Las ondas EEG difieren en tiempo, propiedades y morfología de los trenes de potenciales de acción (Hernández – Orozco *et.al.*, 1997).

Existen dos factores principales que influyen en el potencial medido en la superficie del cuero cabelludo:

La geometría y propiedades del conductor de volumen en el que se propaga la actividad.

La orientación, localización y naturaleza (excitatoria e inhibitoria) de las fuentes de corriente (Castellanos - Abrego, 1997).

Para obtener la señal eléctrica del encéfalo se requiere del uso de electrodos, los cuales generalmente son de disco o de aguja y se colocan sobre la región de interés con un montaje específico (Barea – Navarro; Castellanos - Abrego, 1997).

El montaje es la forma en que las señales captadas por los electrodos de registro ingresan en los distintos canales de amplificación y pueden ser monopolares o referenciales y bipolares. Los primeros registran la diferencia de potencial entre un electrodo de registro y uno de referencia, el cual es un electrodo colocado en una zona inactiva con potencial 0. Las señales de los electrodos activos ingresan a la entrada negativa (G1) de los amplificadores y a la entrada positiva (G2) se conectan los electrodos inertes. Todo potencial EEG negativo que se dirija hacia un electrodo activo, producirá una deflexión hacia arriba en el registro. Los montajes bipolares miden la diferencia entre el potencial de dos electrodos colocados en zonas activas

(Morillo; Castellanos - Abrego, 1997; Barea – Navarro; Hernández – Orozco *et.al.*, 1997). El electrodo de tierra sirve para eliminar la electricidad ajena a la de interés y para mejorar la calidad del registro (<http://espacio-psicologia.blogspot.mx/2013/06/electroencefalograma-eeeg.html>)

La mayoría de las señales bioeléctricas adquiridas mediante electrodos son del orden de milivoltios o inferiores por lo que se requiere de amplificadores que aumenten el voltaje del registro, a fin de visualizar la señal en algún sistema de despliegue. Dicho amplificador debe tener una alta impedancia de entrada y una baja impedancia de salida, además de tener un factor de ganancia cuyo valor depende del valor de la señal original. Es linealmente proporcional el factor de ganancia con respecto a la señal original, el factor de ganancia es mayor mientras menor sea la señal original. El ancho de banda del amplificador debe de ser mayor al de la señal, su respuesta en frecuencias debe de ser plana, libre de picos de resonancia y poseer una respuesta rápida que no distorsione la amplitud ni la fase de la señal que se registra (Hernández – Orozco *et.al.*, 1997; Morillo; Castellanos - Abrego, 1997; <http://espacio-psicologia.blogspot.mx/2013/06/electroencefalograma-eeeg.html>)

Para limpiar la señal o para rechazar las señales de frecuencia no deseadas se utilizan filtros. El ancho del filtro está determinado por la frecuencia de la señal que se estudia (<http://espacio-psicologia.blogspot.mx/2013/06/electroencefalograma-eeeg.html>; Hernández – Orozco *et.al.*, 1997)

El análisis de la señal requiere la representación de la señal para lo cual se utiliza un CAD (conversor analógico-digital).

Los parámetros básicos del análisis corresponden a la amplitud (voltaje), la latencia y la frecuencia. El espectro de frecuencias suele determinarse por medio de la transformada rápida de Fourier (FFT) en el caso de señales deterministas (Castellanos - Abrego, 1997). Ésta descompone la señal original en componentes de frecuencias expresados en señales periódicas (senos y cosenos). El resultado es el espectro de poder, que nos indica qué composición de frecuencias tiene la señal.

Finalmente el contraste de hipótesis que se realiza mediante un análisis estadístico: ANOVAs de medidas repetidas para diseños intra-sujetos o de medidas independientes para diseños inter-sujetos (<http://espacio-psicologia.blogspot.mx/2013/06/electroencefalograma-eeeg.html>)

Electromiograma (EMG)

El EMG es la manifestación eléctrica de la actividad neuromuscular asociada con la contracción muscular. La excitación eléctrica del músculo esquelético se inicia en el sistema nervioso central y periférico (Castellanos - Abrego, 1997).

La señal de EMG está constituida por la sumatoria temporal de trenes de potencial de acción de la unidad motora. La morfología de ésta señal depende de la región registrada y del tipo de electrodo utilizado. La amplitud de los potenciales de acción depende del diámetro de la fibra muscular, de la distancia entre las fibras musculares activas y el lugar de registro y de las propiedades de filtrado (Castellanos - Abrego, 1997).

Potenciales evocados

Los registros obtenidos de la corteza cerebral bajo estimulación de las diferentes vías de conducción sensorial se conoce como potencial evocado (Castellanos - Abrego, 1997; Martínez de Haro, 1986). Son una serie de ondas con picos positivos y negativos que se suceden con latencias características (Martínez de Haro, 1986). El procedimiento consiste en registrar mediante electrodos cutáneos, promediar digitalmente, almacenar digitalmente los potenciales evocados por estímulos específicos para cada vía estudiada. Se mide la latencia absoluta y la amplitud del pico de cada potencial evocado, y la latencia relativa entre los distintos picos de cada potencial evocado. La latencia se mide en milisegundos y las amplitudes en micro y milivoltios (Papazian *et.al.*, 2007)

ANEXO C. ORIENTACIÓN MIGRATORIA.

La migración animal es un proceso caracterizado por el desplazamiento de poblaciones en búsqueda de áreas adecuadas para su alimentación y/o reproducción. Los patrones migratorios en tortuga marina han tratado de explicarse a partir de varias hipótesis, las cuales estipulan que dichos organismos se sirven de corrientes marinas, señales químicas y / o magnéticas para lograr regresar después de un largo periodo de tiempo y distancia a sus playas natales.

La primera de estas hipótesis propone que las tortugas se mantienen a la deriva, siendo dependientes de las corrientes oceánicas durante sus movimientos migratorios, logrando así, mantenerse en regiones oceánicas óptimas para su desarrollo o dejándose conducir a zonas de forrajeo idóneas. Este comportamiento pasivo implica un ahorro energético considerable, sin embargo, se ha demostrado que los juveniles no solo se dejan guiar por las corrientes oceánicas sino que mantienen un uso limitado de natación direccional u orientada y con ello ejercen una influencia en sus trayectorias migratorias de forma consciente (Hays *et.al.*, 2010; Luschi *et.al.*, 2003; Putman *et.al.*, 2012); sin embargo, las hipótesis más aceptadas hasta el momento son la detección de señales químicas (olores) y navegación magnética (Lohmann *et.al.*, 1999). Se propone que las señales olfativas podrían estar implicadas en la localización del sitio o zona de desove a la orilla del continente al liberarse sustancias químicas en las corrientes oceánicas y por la presencia de olores en el aire característicos de éstos sitios (Manton *et.al.*, 1972; Grassman, 1993; Lohmann *et.al.*, 1999; Endres *et.al.*, 2009).

Por otra parte, la hipótesis de navegación magnética postula que los organismos magnetorreceptivos pueden orientarse sin tener puntos de referencia familiares u obtener información direccional durante el desplazamiento (Fischer *et.al.*, 2001). Para éste punto se han sugerido 2 mecanismos: 1) uno involucra radicales libres, posiblemente criptocromos y el 2) está basado en cristales de magnetita.

El primer mecanismo se ha estudiado principalmente en aves y propone la existencia de reacciones químicas moduladas por el campo magnético terrestre (Beason,

2005). Pares de radicales poseen un número impar de electrones, lo cual genera un momento magnético propio. Los electrones y el núcleo del radical poseen momentos magnéticos proporcionales a su spin, por lo que las moléculas formadas por muchos electrones y núcleos adoptan estados cuánticos con diferentes spines y diferentes momentos magnéticos (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007). Éste modelo propone una reacción bioquímica de transferencia de electrones foto inducida, donde los campos magnéticos externos pueden inducir cambios en los estados de spin de los productos, por lo tanto, éstos productos químicamente diferentes pueden ser modulados por la fuerza y dirección de un campo magnético externo (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007).

Se ha propuesto un segundo modelo basado en magnetita, la cual produce interacciones entre spines y genera alineación y formación de spines paralelos. Las partículas grandes de magnetita incluyen múltiples dominios, mientras que las partículas de tamaño entre $1.2 \mu\text{m}$ y $0.05 \mu\text{m}$ consisten en un dominio único teniendo momentos magnéticos estables. Se ha sugerido que cristales de magnetita de un solo dominio ejercen presión en mecanorreceptores al alinearse con respecto al campo magnético externo, lo cual generaría la apertura de canales iónicos, que enviarían la señal eléctrica al sistema nervioso central (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007). Cadenas intracelulares de magnetita de un solo dominio permitirían detectar la dirección del vector magnético (el alineamiento medio de los cristales seguirá la dirección del campo externo) y la intensidad de campo (el grado de dispersión de las partículas está en función de dicho parámetro; Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007). Mientras que los cristales de magnetita superparamagnética pueden generar campos lo suficientemente fuertes para atraer o repeler otros cristales vecinos, teniendo como resultado la transformación de la señal magnética en información mecánica (Diego – Rasilla y Rodríguez - García, 2007).