

# Ultraestructura de la cáscara del huevo de la tortuga *Pseudemys scripta* (Testudines: Emydidae). \*

Rafael Arturo Acuña Mesén

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

{Rec. 16-II-1989. Acep. 12-V-1989}

**Abstract:** The egg shells of *Pseudemys scripta* have two layers, one external of calcium salts and the internal of a proteic nature. The multishaped structures ("units") of the calcareous layer are bordered by groves that allow some expansion when the egg becomes turgent. Those units are made of series of concentric lamellae, rich in thin or short needles. The proteic layer has two regions, the external one with fibers interdigitated in several directions; the internal layer is a thin invaginated film.

**Key words:** *Pseudemys*, egg-shell, ultrastructure.

La primera descripción detallada de la ultraestructura de la cáscara de los huevos de una tortuga se realizó en *Chelonia mydas* (Solomon y Baird, 1979). La cáscara está compuesta en su mayor parte de aragonito y en menor grado (aproximadamente en un 5%) de calcita, con una capa de agregados aciculares, interpenetrados de material orgánico, lo que le da flexibilidad al huevo. Ewert (1979) compara las cáscaras de los huevos de diez familias en cuanto a si son muy flexibles, flexibles o rígidas. Posteriormente (Acuña 1980 y 1984) describe la cáscara de los huevos de *Lepidochelys olivacea* señalando que posee una capa de unidades estructurales semiglobosas, con agujeros que presumiblemente funcionan como poros y una capa interna compacta. Al corte transversal se observa que las unidades estructurales poseen numerosas agujas de sales de calcio que se acomodan a manera de abanico.

## Estudios comparativos:

Recientemente numerosos estudios han caracterizado la morfología física y fisiológica de los huevos de otros quelonios. Por ejemplo, Ewert *et al.* (1984) describen la ultraestructura de las cáscaras nonnales y múltiples de las tortugas batagutinas (*Melanochelys trijuga* y *Rhinoclemmys areolata*) y dicen que en esta última la cáscara difiere de aquella en que posee unos poros complejos con la abertura basal parcialmente ocluida por cristales. La formación de las capas múltiples de una cáscara se debe a la retención de los huevos, común en tortugas. Por su parte Packard (1980) describe la ultraestructura de las cáscaras de los huevos de *Chelydra serpentina*. En esta especie la capa mineral está organizada por unidades de cáscara de forma nodular y posee numerosos espacios o poros entre cada una de ellas. Las unidades tienen una estructura compleja consistente en múltiples agujas o cristales. Los grandes espacios entre las unidades probablemente le otorgan a la cáscara gran capacidad de absorción de agua. Packard y Packard (1979) investigaron otra ultraestructura en *Trionyx spiniferus*. Este quelonio pone huevos de cáscara rígida y su morfología es muy similar a la de las cáscaras de los huevos de aves. Posee una capa externa cristalina compuesta de agregados columnares (o unidades de cáscara) de aragonito. Muestra numerosos poros localizados en la intersección de 4 o más unidades de cáscara. Debajo de esta capa están localizadas la membrana externa y la interna. Packard y Hirsch (1986) informan de la morfología comparada de las cáscaras de los huevos de los reptiles actuales, enfatizando la de las tortugas

\* Investigación financiada por la Vicerrectoría respectiva de la Universidad de Costa Rica (Proyecto No. 111-86-039).

*Trionyx spiniferus*, *Kinosternon flavescens*, *Sthernotherus minor*, *Chrysemys picta* y *Emidoidea blandingii* y M.J. Packard *et al.* (1982) se refieren a la ultraestructura de las cáscaras de los huevos de los kinostémidos *Sthernotherus minor*, *Kinosternon flavescens*, *K. bawrii*, *K. hirtipes* y *K. alamosae* y nos dicen que la estructura de sus cáscaras es similar. Tienen cáscaras rígidas con una capa calcárea de aragonito. Esta capa está organizada en unidades individuales de cristales que forman agujas que radian de un centro común. Los poros se localizan en esta capa pero no son numerosos. La descalcificación de la misma observada en huevos eclosionados se debe presumiblemente al desarrollo embrionario. M.J. Packard *et al.* (1984 b) postulan una hipótesis sobre la manera como se forman las cáscaras de los huevos. Cada unidad estructural se forma independientemente por influencia de las glándulas mamilarias. Aquellas, al principio son pequeñas pero poco a poco aumentan de tamaño. Packard *et al.* (1979, 1981 a 1981 b) realizaron un estudio exhaustivo de las interrelaciones entre la ultraestructura de las cáscaras de los huevos y el medio en donde se desarrollan, enfatizando especialmente en *Trionyx spiniferus*, el valor adaptativo de las cáscaras y los cambios de masa en condiciones de humedad naturales y artificiales.

Por otra parte Silyn-Roberts y Sharp (1985 y 1986), desarrollan un modelo matemático con el fin de determinar los ángulos y la orientación preferidos de la calcita y aragonito en los huevos de reptiles, usando para ello difracción de rayos X. Sus investigaciones se refieren también al proceso de biomineralización de las cáscaras y el papel de la red orgánica en dicho proceso. Ellos estudiaron dentro de los quelonios a *Siebenrockiella crassicollis* y a *Phrynos hylairii*. Así mismo, Lamb y Congdon (1985) determinan cuánto es el contenido inorgánico en las cáscaras rígidas y flexibles en quelonios. Por ejemplo, las cáscaras rígidas poseen un promedio de covarianza de 0.3348 y las flexibles de 0.2529. Hirsch (1983 y 1985) presentó una comparación de la ultraestructura de las cáscaras de los huevos de reptiles contemporáneos y fósiles. Dentro de los quelonios actuales analiza la morfología de las cáscaras de los huevos de *Lepidochelys kempii* y *Geochelone elephantopus* y dentro de los fósiles a algunos provenientes del Cretácico y del Plio-Pleistoceno (aún no descritas las especies). Para este autor los huevos de las tortugas recientes poseen cáscaras compuestas de aragonito y los de las tortugas extintas están constituidos de aragonito o una capa aragonítica que ha sido sustituida parcial o completamente por calcita. En un artículo más reciente, Hirsch y Packard (1987) afirman que los tipos de cáscaras de los huevos fósiles difieren de los tipos modernos. La evidencia en tal sentido la proveen la microscopía de luz polarizada y la de barrido. Por el microscopio de luz polarizada se observa cual es el patrón fósil y por el de barrido los detalles que permiten identificar los grupos taxonómicos inferiores. Un estudio adicional, realizado por Acuña (1987) indica que en *Rhinoclemmys pulcherrima*, el huevo posee una cáscara rígida semejante a la de *Geochelone elephantopus*. La cutícula no presenta ondulaciones. La capa calcárea está formada por unidades estructurales constituidas por un conjunto de agujas de aragonito que parten radialmente de un centro o núcleo asociado a la membrana del huevo. La membrana interna es muy lisa (Acuña 1987).

Considerando las investigaciones citadas y con el fin de describir la ultraestructura interna de la cáscara de los huevos de *Pseudemys scripta*, se hizo indispensable realizar un estudio anatómico al microscopio de barrido, ya que es la base para comprender el conjunto de procesos fisiológicos de intercambio de sustancias entre el exterior y el interior del

huevo y viceversa con miras a un mejor manejo de los huevos en incubaciones artificiales.

## MATERIAL Y METODOS

Las cáscaras mantenidas en formalina al 35 % p/v durante 24 horas se lavaron con agua destilada durante 15 minutos. Después, unas se calentaron 15 minutos con NaOH con el fin de disolver las proteínas adheridas a la porción calcárea de la cáscara, otras se calentaron 15 minutos en HCL para descalcificar parcialmente la porción de unidades estructurales y así observar mejor sus detalles internos y el resto se dejó como control. Estas fueron cepilladas con un cepillo de dientes con el objetivo de visualizar sin alteraciones químicas la estructura original subyacente a su superficie. Luego se procedió a deshidratarlas empleando series de etanol de gradación creciente; se pasaron luego a una solución 1:1 (V:V) de acetato de amilo y etanol absoluto. Posteriormente se secaron y se depositaron en depósitos de aluminio empleando como adherente pintura de plata. Los cortes previos se hicieron llevando las muestras hasta el punto de secado crítico usando CO<sub>2</sub> en una secadora. Estos cortes se hicieron mediante fractura de las muestras, lo que permitió realizar algunas observaciones del corte radial de las cáscaras. Una vez montadas las piezas se recubrieron con oro en un cobertor iónico. Se hicieron también observaciones macroscópicas con fines comparativos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Observaciones macro y microscópicas directas colaterales al presente estudio realizadas en huevos de *P. scripta* destacan varias de sus características generales. Por ejemplo, sus huevos reúnen detalles que los sitúan entre los de las tortugas marinas y los de la mayoría de las tortugas de agua dulce y terrestre. Los huevos de las primeras poseen cáscaras flexibles y son redondos, los de las segundas, por lo general, son ovalados y tienen cáscara dura, en cambio *P. scripta* pone huevos con cáscara flexible y ovalados. Por otra parte, la cáscara de sus huevos es lisa (al tacto y a simple vista) y sin poros. Estas características coinciden con las de los huevos de otras especies de reptiles (Acuña 1987). Sin embargo, muestra algunos rasgos muy particulares evidenciados con la microscopía de barrido, los cuales podrían ser tomados como rasgos anatómicos diagnósticos de la especie.

### Huevos de *P. Scripta*

El relieve de las superficies de la cáscara de los huevos de *P. scripta* muestra variaciones a diferencia de lo descubierto por Silyn-Roberts y Sharp (1985), y Hirsch (1985) en las cáscaras de

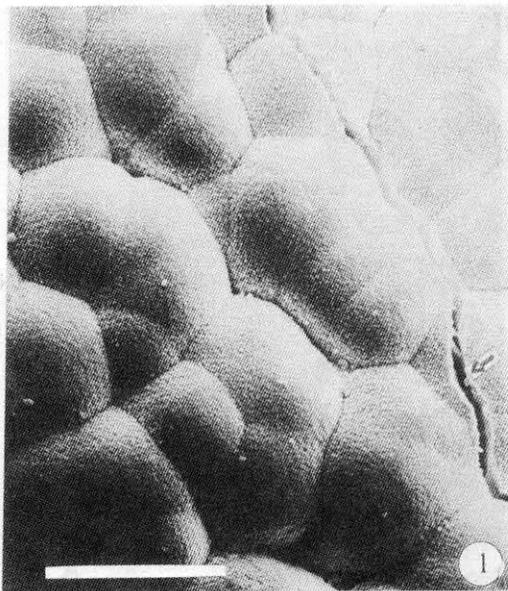


Fig 1. Panorama general de la cáscara del huevo de *Pseudemys scripta*. Nótese varias de las unidades estructurales, las grietas naturales entre ellas y una grieta provocada artificialmente (flecha) (Barra: 120  $\mu$ m).

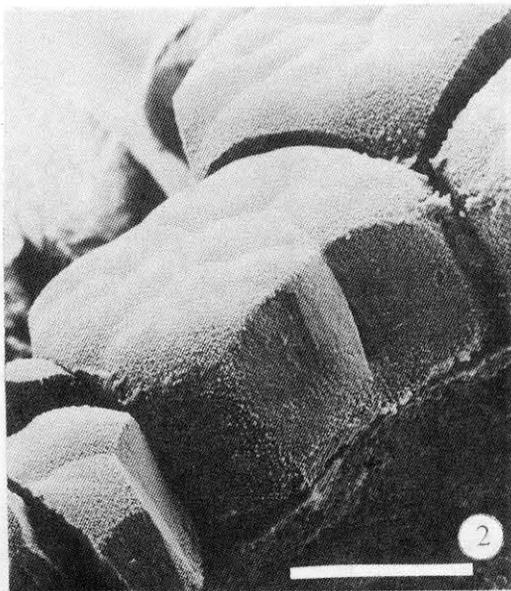


Fig 2. Detalle de las unidades estructurales y su relación con las vecinas. (Barra: 86  $\mu$ m).

los huevos de las tortugas *Cuora amboinensis*, *Siebenrockiella crassicolis* y *Phrynops hilairii* y a la de los cocodrilos *Melanosuchus niger*, *Crocodylus niloticus*, *C. acutus* y *Alligator mississippiensis*, en los que la superficie no muestra ondulaciones significativas.

En *P. scripta* la superficie del huevo observada al microscopio de barrido muestra una serie de unidades estructurales poligonales. Estas son cuerpos formados por múltiples cristales de aragonito. A una magnificación de 350X, se evidencia además, una serie de grietas que separa a cada una de las unidades estructurales (Fig. 1). Las grietas artificiales se diferencian de las naturales en que aquellas se extienden fragmentando las unidades por cualquier sitio de la estructura, en cambio estas lo hacen entre unidad y unidad. Los huevos de otras tortugas como *R. pulcherrima*, *R. funerea*, *K. scorpioides* y *K. leucostomum* poseen una cutícula externa. Los de *P. scripta* carecen de ella. Por este motivo la superficie externa exhibe una apariencia desnuda y granulosa resultado de la expresión de los múltiples extremos en las agujas de calcio que conforman las unidades estructurales.

El ordenamiento de las unidades estructurales le da continuidad a la cáscara. Su contorno es

complementario con las que están a la par. Forman verdaderos bloques que no se traslapan (Figs. 2 y 3). Adicionalmente, se nota que existen varios tipos de unidades. Las hay pequeñas, medianas y grandes lo cual depende del número de subunidades que las conforman. Las subunidades consisten en conjuntos de cristales de sales de calcio que unidas entre si constituyen una unidad estructural. El número de estas, en una unidad estructural, varía desde una hasta doce (Fig. 4). Por ninguna parte de la superficie se observan poros como los de la cáscara de *R. pulcherrima* y *R. funerea*. Esta evidencia me induce a pensar que muy probablemente las grietas que separan las unidades estructurales podrían cumplir la misma función que los poros. Además, la ventaja que las grietas aportan al huevos de *P. scripta*, consiste en que brindan el espacio apropiado para el dinamismo fisiológico de expansión del huevo durante el estado de turgencia. La expansión de la cáscara del huevo no ocurre, por ejemplo, en *R. pulcherrima* por poseer cáscara dura (Acuña 1987).

Si se cepilla suavemente la cáscara del huevo de la tortuga resbaladora, se pone en evidencia una de las características diagnósticas más sobresalientes de esta especie. Las subunidades com-

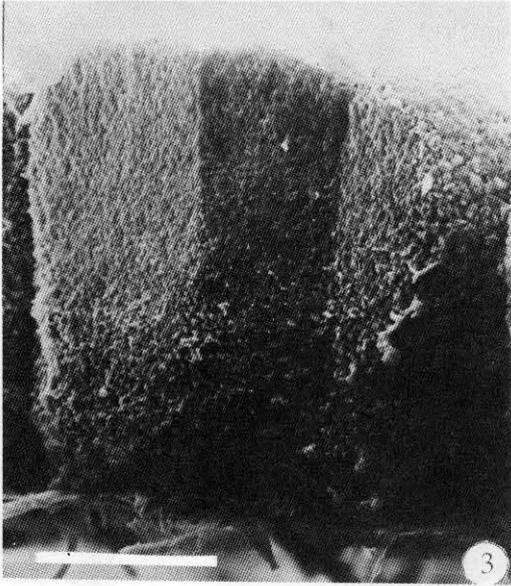


Fig. 3. Vista lateral de una unidad estructural íntegra. Observarse la pared granulosa que presenta debido a las numerosas agujas de sales de calcio que la componen. (Barra: 38  $\mu\text{m}$ ).

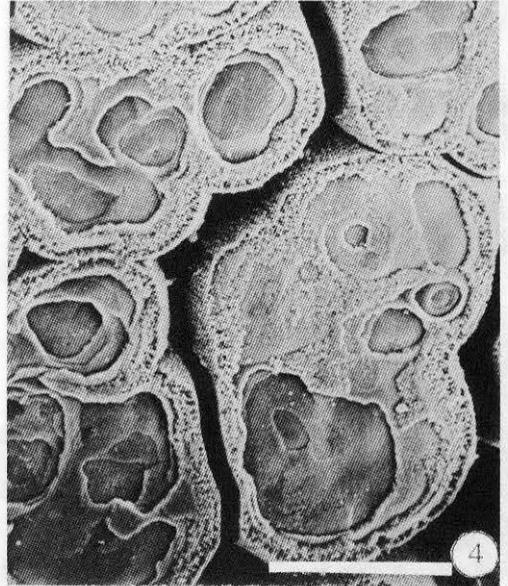


Fig. 4. Aspecto presentado por las unidades estructurales cuando la cáscara ha sido previamente cepillada suavemente. Se observan las subunidades que la componen. (Barra: 86  $\mu\text{m}$ ).

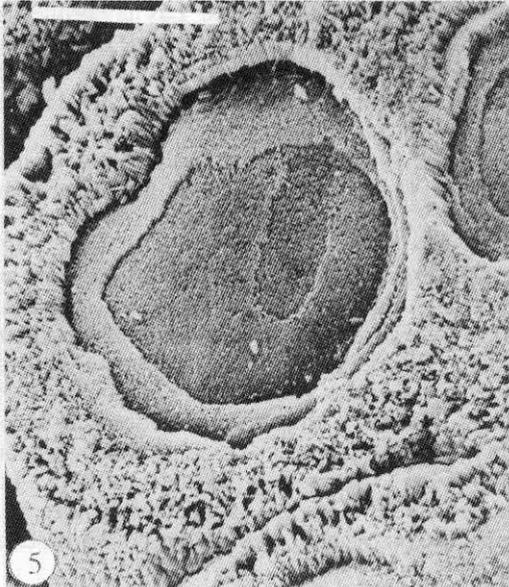


Fig. 5. Unidad estructural sometida al tratamiento indicado en la figura anterior con el fin de mostrar las diferentes capas de lamelas. (Barra: 25  $\mu\text{m}$ ).

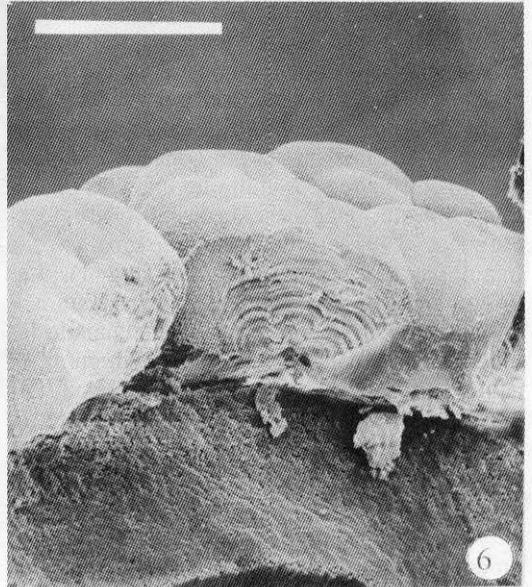


Fig. 6. Sección radial de la cáscara en la que se muestran las dos unidades que la constituyen: la capa calcárea (externa) y la membrana del huevo (interna). Se pueden visualizar las lamelas de una de las unidades estructurales. (Barra: 120  $\mu\text{m}$ ).

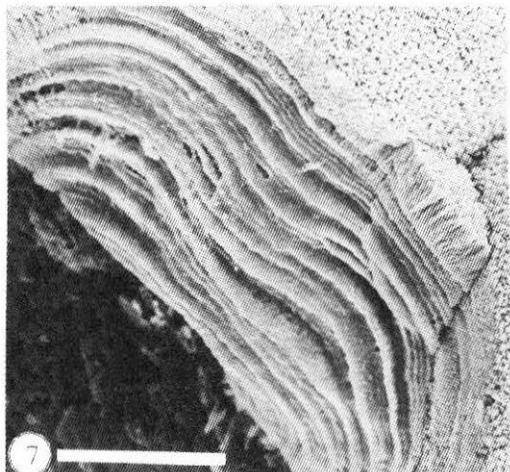


Fig. 7. Las lamelas de las unidades centrales están compuestas de innumerables agujas de sales de calcio y se colocan formando capas concéntricas. (Barra: 30  $\mu$ m).

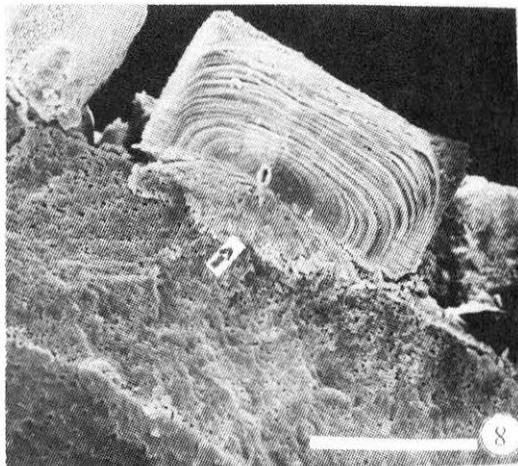


Fig. 8. Sección radial de una de las unidades estructurales en la que se observa el material calcáreo que le sirve de anclaje sobre la membrana proteica (flecha). Así mismo, se visualiza el núcleo de cristalización. (Barra: 86  $\mu$ m).

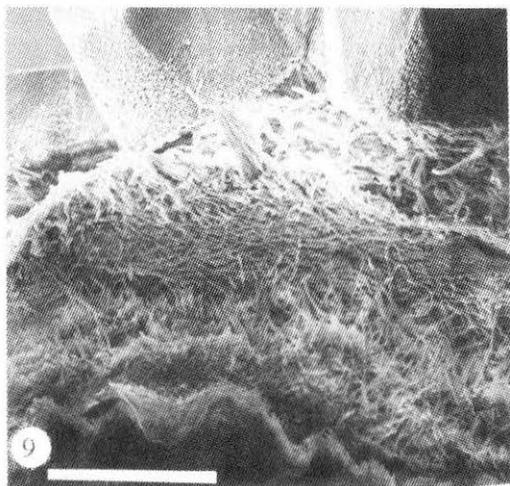


Fig. 9. La membrana del huevo está constituida por dos regiones: la externa con numerosas fibras y la interna o película con ondulaciones. (Barra: 86  $\mu$ m).

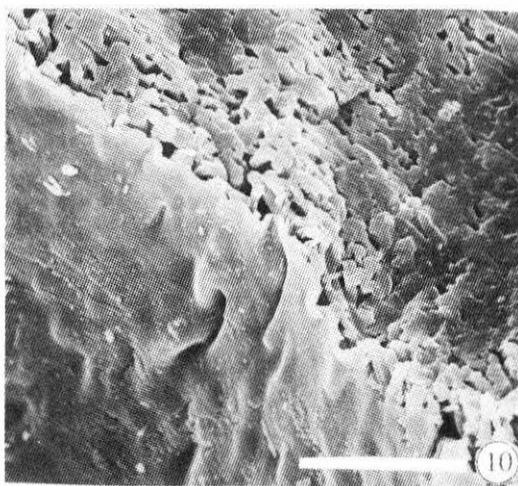


Fig. 10. Detalle amplificado de la membrana en el que se capta la relación física entre las dos regiones que la conforman. Se observan las invaginaciones de la película. (Barra: 15  $\mu$ m).

puestas por pequeñas agujas de sales de calcio forman un conjunto de capas concéntricas llamadas lamelas, que son observables a 1200X desde la superficie externa (Fig. 5) y a 250X al corte radial (Fig. 6). Este tipo de anatomía no ha sido observado en los huevos de otras especies de quelonios. Cada lamela está compuesta por agujas sumamente finas y cortas. El corte radial

observado a 1000X (Fig. 7) muestra la superposición de unas lamelas sobre otras. Además, se nota que las agujas se distribuyen perpendicularmente al plano de acomodo de las lamelas. A 350X se descubre que las unidades estructurales están colocadas sobre una base amplia de material calcáreo que invade a manera de raíces, la membrana del huevo (Fig. 8). Este tipo de estructura

sirve de anclaje a las unidades de aragonito para pegarse a la membrana proteica. Las unidades estructurales se desprenderían con relativa facilidad si dicho rasgo anatómico no existiera. Particularmente, la íntima relación física aquí evidenciada, demuestra que la cáscara funciona como una unidad anatómica y fisiológica. Adicionalmente, en la figura anterior se muestra que en la base de cada una de las unidades estructurales se localiza un núcleo de cristalización de forma hemiesférica, respecto a él, las lamelas se acomodan en forma concéntrica.

Debajo de la capa calcárea se encuentra la membrana. Existen en ella muchos canales intercomunicados a través de los cuales ocurre el intercambio de líquido y gases provenientes del exterior o de las membranas extraembrionarias. Una de sus funciones es probablemente seleccionar el tipo de sustancias que entran y salen del huevo. Otra función suya es separar la región interna del huevo de la cubierta calcárea. Posee dos partes: 1) una que limita por la superficie externa con los extremos internos de las unidades estructurales y 2) otra que limita con su superficie interna con la membrana corioalantoidea (Figs. 9 y 10). A una magnificación de 350X se observa que la primera está formada por fibras largas, delgadas y numerosas que se entrelazan azarosamente y la segunda por una película delgada. A pesar de ello toda la membrana tiene la apariencia de ser más gruesa que en las cáscaras de los huevos de otras especies y además no tiene aspecto liso. Como se observa a 2000X en ella se forman invaginaciones causadas por los espacios que dejan las fibras proteicas. Pero las partes más profundas de las invaginaciones no muestran perforaciones o poros.

**¿Por qué la ultraestructura de la cáscara de los huevos de *Pseudemys scripta* es diferente a la de los otros emídidos?**

Primeramente hay que recordar que fue en la clase Reptilia que se alcanzó, por primera vez, la reproducción por medio de huevos con cáscara. Entonces es lógico esperar que el aumento en diversidad anatómica de las cáscaras de los huevos en este grupo sea mayor que en las clases Aves y Mammalia. Ello se aplica con mayor razón al orden Chelonia. El proceso evolutivo de estos reptiles, originados en grandes pantanos, los

llevó a colonizar tres tipos de ambientes: el marino, el terrestre y el de agua dulce. Sus organismos cambiaron adaptándose a cada uno de estos habitats y su estrecha relación con el ambiente permitió que algunos rasgos anatómicos, dirigidos desde su acervo genético (y que funcionaban bien en las nuevas circunstancias) se mantuvieran. La presencia de huevos de tortuga redondos u ovalados, con cáscara dura o flexible, con cutícula o sin cutícula, con unidades estructurales globosas, columnares o lameladas, que son depositados sobre la arena de playa, de río o sobre la tierra cerca de las raíces de plantas o lejos de ella, en nidos verdaderos o pseudonidos; señala una fuerte radiación adaptativa que se inició posiblemente en el Pérmico y alcanzó su apogeo en el Jurásico con el grupo de los aniquelidos, de los cuales parten en el árbol filogenético los criptodiros (originados en el Cretácico temprano) y los pleurodiros (del Cretácico tardío). Fue dentro de los criptodiros que surgió la familia Emydidae. La familia Emydidae (a la que pertenece *P. scripta*) es un conjunto grande y variable de tortugas estrechamente relacionadas con los quelonios terrestres de la familia Testudinae. Sus especies poseen hábitos acuáticos y semiacuáticos. Según Pritchard (1979), algunos autores recientes incluyen a Emydidae y Testunidae dentro de una familia única. Ello se debe a que en la familia Emydidae se presentan ciertos rasgos mostrados por tortugas terrestres. Por lo tanto, no es extraño que dentro de la diversidad de especies de la familia Emydidae, existan tortugas que se reproduzcan utilizando huevos de muy variados tamaños, formas y texturas. Por ejemplo, los huevos de *Cuora amboinensis*, *Siebenrockiella crassicolis* (Silyn Roberts y Sharp 1986); *Rhinoclemmys areolata*, *Melanochelys trijuga*, *Mauremys muica* (Ewert 1979 y 1984) y *Rhinoclemmys pulcherrima* (Acuña 1987) son distintos en muchas características observadas en sus cáscaras respecto a los de *P. scripta*. Sin embargo, por pertenecer a la misma familia, todas ellas mantienen la forma ovalada en sus huevos. Es precisamente por este hecho que se deben tomar en cuenta, además de la forma del huevo, su textura, estructura macro y microscópica, capacidad de soportar los múltiples factores externos, sus dimensiones, su relación peso-volumen, su

composición química y su fisiología. Cada uno de estos factores debe estudiarse profundamente en las diferentes especies. Ello traería como consecuencia, que con mucha seguridad, la ubicación taxonómica y filogenética de las especies, aparejadas especialmente del manejo de sus huevos en condiciones seminaturales o artificiales, sea más beneficiosa y útil.

## RESUMEN

La cáscara del huevo de *Pseudemys scripta* consta de una capa externa de sales de calcio y una membrana proteica. La primera está formada por unidades estructurales que tienen muy variadas formas y tamaños según su número de subunidades. Entre cada unidad estructural se localizan grietas que sustituyen en su función a los poros observados en huevos de otras especies y que facilitan la expansión del huevo cuando está turgente; superficial y radialmente, éstas están compuestas por series de lamelas concéntricas en las que se destacan muchas agujas de sales de calcio finas o cortas (característica diagnóstica más sobresaliente de esta especie). La membrana tiene dos regiones: una que limita exteriormente con la capa calcárea y otra que limita interiormente con las membranas extraembrionarias, aquella con múltiples fibras que se entrelazan en todas direcciones y ésta que forma una película delgada con invaginaciones.

## AGRADECIMIENTOS

A Jollyana Malavassi Gil por su valiosa ayuda en la preparación de las muestras y fotografías al microscopio de barrido y a mi esposa Dinorah por su apoyo y estímulo constantes.

## REFERENCIAS

Acuña M., R.A. 1980. Aspectos biológicos de la fase terrestre de la tortuga lora *Lepidochelys olivacea*. Tesis para optar al grado de Magister Scientiae en Biología. 115 p.

Acuña M., R.A. 1984. La ultraestructura superficial de la cáscara de huevo de la tortuga marina *Lepidochelys olivacea* Eschscholtz. Brenesia 22: 299 - 308.

Acuña M., R.A. 1987. Comparación de la ultraestructura de la cáscara del huevo de la tortuga *Rhinoclemmys pulcherrima* con la de los huevos de otros reptiles. Rev. Biol. Trop. 35(1): 41 - 48.

Ewert, M.A. 1979. The embryo and its egg: development and natural history, p. 333-413 In M. Harless & M. Morlock (eds.). Turtles: Perspectives and Research. John Wiley and Sons, Nueva York.

Ewert, M. A., S.J. Firth & C.E. Nelson. 1984. Normal and multiple eggshells in batagurine turtles and their implications for dinosaurs and other reptiles. Can. J. Zool. 62: 1834 - 1841.

Gans, C. 1985. Eggshells and their development, p. 79-91 In Biology of the Reptilia, Vol. 14-A. John Wiley and Sons, Nueva York.

Hirsch, K.F. 1983. Contemporary and fossil chelonian eggshells. Copeia 1983 (2): 282-297.

Hirsch, K.F. 1985. Fossil crocodylian eggs from the Eocene of Colorado. J. Paleont. 59(3): 531-542.

Hirsch, K.F. & M.J. Packard. 1987. Review of the fossil eggs and their shell structure. Scan. Micr. 1(1): 383-400.

Lamb, T. & J.D. Congdon. 1985. Ash content: Relationship to flexible and rigid eggshell types of turtles. J. Herpetol. 19(4): 527-530.

Legler, J.M. 1966. Notes on the natural history of a rare Central America turtle, *Kinosternon angustipons* Legler. Herpetologica 22(2): 118-122.

Packard, M.J. 1980. Ultrastructural morphology of the shell and shell membrane of eggs of common snapping turtles (*Chelydra serpentina*). J. Morphol. 165: 187-204.

Packard, J.M. & G.C. Packard. 1979. Structure of the shell and tertiary membranes of eggs of softshell turtles (*Trionyx spiniferus*). J. Morphol. 159(1): 131-143.

Packard, M.J. & K.F. Hirsch. 1986. Scanning electron microscopy of eggshells of contemporary reptiles. Scanning electron microscopy. 1986 (IV): 1581-1590

Packard, J.J. & G.C. Packard. 1986. Effect of water balance on growth and calcium mobilization of embryonic painted turtles (*Chrysemys picta*). Physiol. Zool. 59 (4): 398-405.

Packard, M.J., G.C. Packard & T.J. Boardman. 1982. Structure of eggshells and water relations of reptilian eggs. Herpetologica. 5 (1982): 137-154.

Packard, M.J., K.F. Hirsch & J.B. Iverson. 1984 a. Structure of shells from eggs of kinosternid turtles. Journal of Morphology 181: 9-20.

Packard, J.J., J.B. Iverson & G.C. Packard. 1984 b. Morphology of shell formation in eggs of the turtle *Kinosternon flavescens*. Journal of Morphology 181:21-28.

- Packard, G.C., T.L. Taigen, J.J. Boardman, M.J. Packard & C.R. Tracy 1979. Changes in mass of softshell turtle (*Trionyx spiniferus*) eggs incubated on substrates differing in water potencial. *Herpetologica* 35(1): 78-86.
- Packard, G.C.; M.J. Packard; T.J. Boardman & D. Aschen. 1981 a. Possible adaptive value of water exchanges in flexible-shelled eggs of turtles. *Science*: 213: 471-473.
- Packard, G.C.; T.L. Taigen, M.J. Packard & T.J. Boardman. 1981 b. Changes in mass of eggs of softshell turtles (*Trionyx spiniferus*) incubated under hydric conditions simulating those of natural nests. *J. Zool. Lond.* 1981 (193): 81-90.
- Pritchard, P.C.H. 1979. *Encyclopedia of Turtles*. T.F.H. Publ., Neptune, New Jersey. 895 pag.
- Silyn-Roberts, H. & R.M. Sharp. 1985. Preferred orientation of calcite and aragonite in the reptilian eggshells. *Proc. R. Soc. Lond. B* 227-445-455.
- Silyn-Roberts, H. & R.M. Sharp. 1986. Crystal growth and the role of the organic network in eggshell biomineralization. *Proc. R. Soc. Lond. B* 227: 303-324.
- Solomon, S.E. & Baird. 1979. Aspects of the biology of *Chelonia mydas* 1. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 17: 347-361.