

Nota Técnica

Efecto de la cáscara de huevo en la producción de cápsulas de la lombriz roja (*Eisenia andrei*)

Alexander Rafael Castro¹; Luis José Cova², Danny Eugenio García^{3*} y María Gabriela Medina⁴

¹ Instituto Nacional de Tierras, Trujillo, Venezuela

² Instituto de Investigaciones Experimentales "José Witremundo Torrealba", Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela

³ Estación Experimental y de Producción Agrícola "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, Trujillo, Venezuela.

*Correo E: dagamar8@hotmail.com

⁴ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Estación Experimental Pampanito, Trujillo, Venezuela

RESUMEN

Con el objetivo de conocer la influencia de la adición de cáscara de huevo de gallina en la reproducción de la lombriz roja (*Eisenia andrei* Bouché) en un sustrato compuesto por estiércol bovino, se realizó un experimento en el estado Trujillo, Venezuela, mediante un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo y veinte réplicas. Los sustratos con las diferentes proporciones de cáscara constituyeron los tratamientos ($C_0=0$, $C_1=1$, $C_2=2$ y $C_3=3\%$). En la etapa inicial se formaron cuatro grupos de ochenta lombrices nacidas al mismo tiempo, las cuales fueron alimentadas durante el crecimiento bajo las proporciones determinadas de cáscara en su dieta. A los tres meses de edad, los individuos de cada tratamiento se dividieron en 20 frascos. Cada 10 días y durante un mes se cambiaron a frascos nuevos manteniendo la composición del sustrato inicial respectivo. En cada periodo se contaron las cápsulas depositadas. Se observó un efecto significativo de la inclusión de 2 y 3 % de cáscara en la producción de cápsulas a los 20 y 30 días de medición (110 y 120 días de vida). Las ecuaciones que presentaron los mayores ajustes en cuanto a la producción de cápsulas en el tiempo fueron las cuadráticas. Se concluye que la inclusión de 2 y 3% de cáscara de huevo de gallina en un sustrato de estiércol bovino favorece la deposición de cápsulas de *E. andrei* a los 20 y 30 días.

Palabras clave: lombriz, *Eisenia andrei*, calcio, cáscaras de huevo, cápsulas.

Effect of egg shell in capsule production of the red worm (*Eisenia andrei*)

ABSTRACT

An experiment was carried out in order to determine the influence of addition of egg shell in the reproduction of the red worm (*Eisenia andrei* Bouché) in bovine manure substrate in Trujillo state, Venezuela, using a totally randomized design with measurement repeated in time and 20 replicates. Different egg shell proportion constituted the treatments ($C_0=0$, $C_1=1$, $C_2=2$, and $C_3=3\%$). In the initial stage four groups of eighty worms at the same time were formed. During growth, worms were fed with the above proportions of shell in the diet. At three months of age, the individuals in each treatment were divided in 20 flasks. Every 10 days and during one month they were changed to new flasks maintaining the composition of the respective initial substrate. The deposited capsules in the flasks were counted. A significant effect in the capsules production was observed ($P<0.05$) at 20 and 30 days of measuring (110 and 120 days of age). The equations with the biggest adjustments according to the capsules production in time were quadratic functions. The inclusion of egg shell in 2 and 3% rate in bovine manure, favored the capsules deposition of *E. andrei* at 20 and 30 days.

Keywords: worm, *Eisenia andrei*, calcium, egg shell, capsules.

INTRODUCCIÓN

La lombriz roja (*Eisenia andrei* Bouché) constituye uno de los organismos más interesantes de la fauna edáfica tropical y entre todas las especies de lombrices existentes en el mundo, es la que reúne las mejores características para la cría industrial por su rápida tasa de descomposición de la materia orgánica (García *et al.*, 1995), calidad proteica (Vielma-Rondón *et al.*, 2003) y naturaleza multipropósito (Compagnoni *et al.*, 1995; Hernández *et al.*, 1999).

El comportamiento reproductivo de esta lombriz se encuentra muy relacionado con su alimentación y específicamente con la presencia de calcio en su dieta (Satchell, 1983). El aparato digestivo del anélido posee unas glándulas calcíferas encargadas de elevar el pH de las sustancias que pasan por el esófago hasta niveles adecuados para su digestión. Esta alcalinización se realiza por medio de la descarga de carbonato cálcico al bolo alimenticio. (Duque, 1997).

Al respecto, en algunas investigaciones sobre las características reproductivas de esta lombriz en condiciones subtropicales y templadas se ha informado que produce más de una cápsula por semana (Meinicke, 1988; Santacana, 1996).

Por otra parte, la cáscara de huevo de gallina es un material de desecho producido en grandes cantidades en Venezuela. Esta fuente contiene elevadas proporciones de calcio (Butcher *et al.*, 1991), por lo cual se convierte en la forma más idónea y natural de suministro del macroelemento para las lombrices. A la par que mediante esta práctica se garantiza un adecuado y útil destino de este desecho (Ferruzzi, 1987).

Teniendo en cuenta la importancia que reviste determinar la influencia de fuentes de calcio en las características reproductivas de este anélido en condiciones tropicales, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de cuatro proporciones de cáscara de huevo de gallina en la producción de cápsulas de la lombriz roja (*E. andrei*) en un sustrato de estiércol bovino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en Recursos Subutilizados,

ubicada en el Núcleo Universitario "Rafael Rangel", perteneciente a la Universidad de Los Andes (ULA), en el estado Trujillo, Venezuela.

Durante el periodo experimental se llevó un registro de la temperatura y la humedad en el área. En este sentido, la temperatura máxima fue de 29,0°C, la mínima de 21,0°C y la humedad relativa osciló entre 68-72%.

Material biológico y suministros

Para la realización del ensayo, las lombrices adultas fueron adquiridas de una finca ovejera (Finca Barroso) ubicada a 5 km de la población de Betijoque, municipio Rafael Rangel, estado Trujillo (654 msnm) con temperatura mínima de 21°C, máxima de 28°C y precipitación media anual de 1.200 mm.

Sustrato y componentes

El sustrato base (estiércol vacuno) utilizado en el ensayo se colectó de la finca La Guía, ubicada en Valerita, Sabana Grande a 4 km de Monay, municipio Pampán, estado Trujillo, donde las vacas donadoras del material realizaban pastoreo diario en áreas de gramíneas mejoradas (*Panicum maximum* y *Cynodon nlemfluensis*) en condiciones de transición de bosque húmedo a seco tropical.

Posteriormente a la colecta del estiércol (50 kg), el material fue sometido a un proceso de compostaje en piso de cemento al aire libre con abundante agua durante tres meses. Semanalmente se removió con una pala para acelerar el proceso de fermentación que dio como resultado una estabilización del material en cuanto a temperatura (27,2°C) y pH (6,9).

La cáscara de huevo de gallina (3 kg) se colectó a partir de desecho industrial de repostería en el municipio Pampán del estado Trujillo. El material fue previamente lavado con suficiente agua y presecado en una estufa con ventilación forzada a 65 °C durante una semana. Posteriormente fue triturado con un molino de mano (tipo Corona) hasta su reducción a polvo. Este proceso se realizó tres veces para obtener un completo triturado (0,5 mm).

Determinación de calidad

Tanto el estiércol bovino (500 g) como la cáscara de huevo de gallina en polvo (345 g) fueron analizados en el Laboratorio de Química Ambiental de la ULA, Trujillo, mediante las metodologías propuestas por la AOAC (1990). Se determinaron los contenidos de materia seca (MS) por secado en estufa a 105 °C, la concentración de nitrógeno (N) mediante el método Kjeldahl y los niveles de fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y sodio (Na) utilizando absorción atómica mediante extracción previa de los metales con ácido nítrico concentrado después de la incineración de la muestra. La ceniza (Cz) se determinó mediante calcinación del material en la mufla a 540°C por 24 horas.

En este sentido, el Cuadro 1 muestra la composición química de los sustratos utilizados en cada tratamiento.

Procedimiento experimental

En el Laboratorio de la UNIRS, se colocaron 440 lombrices adultas en cuatro recipientes cúbicos de 12 L (110/unidad) con 8 kg del sustrato base. Después de nueve días se retiraron las lombrices, dejando allí las cápsulas depositadas por ellas durante ése tiempo. A los tres meses después de iniciada la experiencia, se tomaron 80 lombrices ($0,11 \pm 0,02$ g/lombriz) de cada grupo y se llevaron a los frascos experimentales, en ese momento fue considerado el tiempo cero (T_0) o inicio del ensayo.

Se formaron cuatro grupos de 20 frascos de vidrio de 10 x 10 cm con 100 g de sustrato alimenticio cada uno, ya mezclado con sus diferentes dosis de cáscara molida, para sostener cuatro lombrices en cada frasco durante 10 días. Cada recipiente recibió una cantidad de cáscaras tal, que permitiera establecer las siguientes proporciones en cada tratamiento: C_0 = tratamiento control (sin cáscara), C_1 = 1%, C_2 = 2% y C_3 = 3%. Las lombrices destinadas al ensayo, y distribuidas inicialmente en cada tratamiento, siempre fueron alimentadas con las mismas proporciones respectivas.

Todos los frascos fueron tapados con tela de liencillo y ligas de goma para evitar la fuga de lombrices o la entrada de cualquier agente externo que pudiera afectar el experimento. Diariamente se adicionó a cada frasco 1 mL de agua para mantener la humedad constante en el nicho formulado.

A partir de T_0 se transfirieron las lombrices cada 10 días a frascos nuevos en tres ocasiones, conformado cada tratamiento por 80 lombrices, las cápsulas fueron contadas a medida que procedía el ensayo de manera que el conteo se realizó antes que las mismas eclosionaran. Siempre fueron utilizadas las mismas lombrices para cada tratamiento

Cuadro 1. Composición química de los sustratos usados en cada tratamiento.

Sustrato	N	P	K	Ca	Mg	Na	Cz	MO
	----- % -----							
C0	2,43	0,85	1,53	1,02	0,49	0,92	12,32	87,68
C1	2,41	0,85	1,53	1,89	0,50	0,91	13,12	86,88
C2	2,38	0,85	1,53	2,76	0,50	0,91	13,92	86,08
C3	2,37	0,85	1,52	3,63	0,51	0,90	14,72	85,28

Diseño experimental, factores y análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar con medidas repetidas en el tiempo con veinte réplicas, donde los tratamientos fueron los sustratos formulados a partir de la proporción de cáscara. Para la interpretación de los datos correspondientes a la producción de cápsulas se empleó el análisis de comparación de medias del paquete estadístico SPSS 10.0 para Windows® (Visauta, 1998) utilizando la prueba de Tukey a $P < 0,05$. Para la obtención de las ecuaciones de mejores ajustes, así como los coeficientes estadísticos, se empleó la opción Regression correspondiente al mismo paquete.

RESULTADOS

Los análisis de laboratorio sobre la composición química de la cáscara de huevo de gallina dieron como resultado una elevada proporción de Ca, considerables niveles de MS y macroelementos y muy baja cantidad de MO. Asimismo, el estiércol vacuno presentó una concentración muy inferior del mineral, pero un valor de MO y N superior al de la cáscara.

Por otra parte, en el Cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos en el conteo de cápsulas con las

cuatro proporciones ensayadas y en los 30 días de medición. En la primera medición se observaron diferencias significativas en la producción de cápsulas a favor del tratamiento control ($P < 0,05$). Sin embargo, la mayor colocación de cápsulas se obtuvo con C_2 y C_3 a los 20 y 30 días. En ese mismo periodo las lombrices alimentadas con C_0 y C_1 depositaron cantidades de cápsulas inferiores. Aunque se observaron diferencias apreciables entre la productividad de las lombrices alimentadas con los diferentes sustratos a los 10 días, con C_2 y C_3 se obtuvieron las menores producciones iniciales.

Por otra parte, la Figura 1 muestra el comportamiento reproductivo de *E. andrei* en el tiempo y las ecuaciones matemáticas de mejores ajustes en cada sustrato. Para todos los sustratos, las mejores funciones que se ajustaron a los datos experimentales fueron las cuadráticas ($y = a + bx + cx^2$). Dichas ecuaciones exhibieron r^2 significativos iguales o superiores a 0,70. Las funciones describieron, respecto al tiempo, un incremento sustancial en la producción de cápsulas hasta aproximadamente los 20 días. A partir de ese momento las ecuaciones numéricamente expresaron una estabilización en la eficiencia reproductiva del anélido en todos los sustratos ensayados.

Cuadro 2. Efecto de la proporción de cáscara de huevo de gallina en la producción de cápsulas de *E. andrei* en cada unidad experimental. Valores entre paréntesis constituyen el tiempo de vida de la lombriz

Sustrato	Tiempo		
	10 (100)	20 (110)	30 (120)
	----- d -----		
C0	7,90±0,77a†	11,35±0,58b	10,45±0,76b
C1	6,00±0,91b	11,35±0,69b	11,25±0,82b
C2	4,95±0,54c	13,10±1,02a	13,20±0,79a
C3	4,59±0,67c	13,20±0,98a	12,25±1,12a

† Promedios con letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

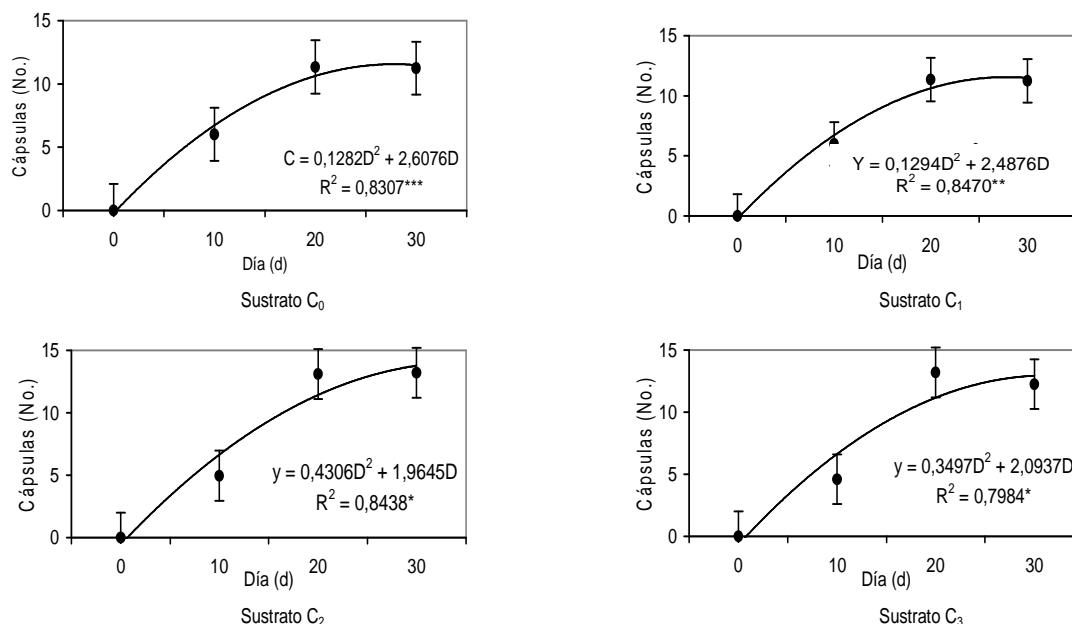


Figura 1. Ecuaciones de regresión que relacionan la producción de cápsulas en el tiempo para cada sustrato experimental. Los asteriscos *, ** y *** indican significancias de $P < 0,05$, $P < 0,01$ y $P < 0,001$, respectivamente.

DISCUSIÓN

Analizando los valores de temperaturas en la fase experimental, estos se encuentran entre el rango permisible por parte de las lombrices y que ha sido reportado como óptimo por numerosos autores para el buen desempeño reproductivo del anélido (Hernández *et al.*, 1996; Toccalino *et al.*, 2001).

En sentido general, la composición química de los componentes de cada sustrato son similares a los informados por Butcher *et al.* (1991) para la cáscara de huevo y por García (2007) para el estiércol bovino. Considerando la elevada proporción de Ca en la cáscara y demás minerales, ésta rica fuente puede ser empleada de manera intensiva como aditivo a sustratos a base de desechos agrícolas en los cuales se pretenda aumentar la concentración de este importante elemento en la dieta de la lombriz.

La considerable proporción de MO, en el caso del estiércol bovino, su contenido de humedad y su balanceada cantidad de macronutrientes lo convierte en un material óptimo para su utilización como sustrato basal en condiciones extensivas. En este sentido, varias investigaciones realizadas en el campo de la lombricultura señalan al material como una fuente idónea de nutrimentos para el sistema digestivo de estos anélidos por encontrarse libre de algunos metabolitos de desechos capaces de afectar el crecimiento y desarrollo de este invertebrado (García *et al.*, 1995; Fogar *et al.*, 2007).

Con respecto a la mayor estimulación en la producción de cápsulas, esta se obtuvo con la inclusión de 2 y 3% de cáscara, lo cual se debe quizás a que con dichas concentraciones se alcanzaron los niveles adecuados de Ca para que la lombriz produjera una mayor cantidad de cápsulas. Sin embargo, todavía no se conoce con exactitud los

requerimientos nutricionales de *E. andrei*, así como la concentración mínima que necesita para la producción de cápsulas viables.

No obstante, es conocido que *E. andrei* se reproduce eficientemente en buenas condiciones de alimentación (Hernández *et al.*, 2002) y que la única manera de conseguir los niveles adecuados de Ca en su ración dependerá de la cantidad que se encuentre disponible en su dieta (Fogar *et al.*, 2007). Asimismo, existe una importante relación entre la cantidad de Ca que posee *E. andrei* en sus glándulas y la proporción que emplea para crear sus cápsulas, la cantidad y su eficiencia reproductiva (Satchell, 1983).

Teniendo en cuenta que en la primera medición (100 días de vida de la lombriz) se obtuvo la menor producción de cápsulas, quizás denota un efecto de madurez retardada del anélido en el tiempo, independientemente del tipo de sustrato; suponiendo que antes de esa fecha la lombriz no deposita cápsulas porque no se encuentra madura sexualmente, lo cual depende en gran parte de la temperatura (Satchell, 1983).

Aún cuando empíricamente se informa que el tiempo de madurez de *Eisenia* spp. puede fluctuar entre los 30 y los 45 días (momento en el cual puede producir cápsulas), este comportamiento no fue observado en la investigación llevada a cabo, lo cual pudo estar dado a que una parte del Ca incorporado al alimento, no haya sido metabolizado por la lombriz al no encontrarse en forma asimilable. Al respecto, en numerosos ensayos se han informado los 90 días como el tiempo óptimo en que *Eisenia* spp. alcanza su madurez sexual (Satchell, 1983; Ferruzzi, 1987). En las condiciones de este experimento a los 100 días después de su oclusión, la lombriz no produjo su máxima cantidad de cápsulas y solamente posterior a los 110 días de vida, el anélido produjo una cantidad similar de postura. Dichos resultados pudieran deberse a factores fisiológicos en el animal, los cuales no fueron dilucidados en esta investigación y/o por las características del sustrato de alimentación, el cual al inicio del experimento quizás no se encontraba listo para ser utilizado por la lombriz.

Considerando que los sustratos en los cuales se obtuvieron las mayores producciones a los 20 y 30 días (C₂ y C₃), hallan sido los que produjeron menor cantidad de cápsulas a los 10 días pudiera deberse a que, aunque estas proporciones estimularon el

comportamiento reproductivo del anélido, existe un tiempo de latencia para que las lombrices metabólicamente sean capaz de asimilar este elemento, y el Ca sea movilizado para la producción de cápsulas de forma intensiva.

Si bien se ha informado en algunas investigaciones que a medida que aumenta la temperatura ambiental, la lombriz roja incrementa sustancialmente la producción semanal de cápsulas a expensa de una menor cantidad de lombricillas por postura (Reinecke *et al.*, 1992), bajo las condiciones descritas en este experimento (T. media: 24,38°C), la lombriz duplicó su producción respecto a otros ensayos realizados en países en los cuales las temperaturas son menores (Ferruzzi, 1987; Galvis, 1991). Sin embargo, los resultados obtenidos son muy inferiores a los informados por Hernández *et al.* (1997) quien describió una producción entre 4 y 6 cápsulas por semana a 29,0°C.

La tendencia a producir 2 cápsulas por semana a partir de los 20 días de medición, sobre todo en los mejores tratamientos, denota la adaptación de estos anélidos a las condiciones nutricionales que prevalecieron en cada caso y su buen desempeño en el nicho ecológico de experimentación. Estos resultados coinciden con los informados por García (2007) con relación a que el estiércol, tanto de monogástricos como de rumiantes, puede ser utilizado exitosamente como sustrato basal para el adecuado desarrollo de *E. andrei* en condiciones tropicales.

Considerando el ajuste de los datos a las ecuaciones cuadráticas, las dinámicas reproductivas obtenidas para cada sustrato fueron crecientes en todos los casos. Los elevados niveles de los r²; así como su elevada significación, denotan el buen ajuste de las funciones matemáticas descritas a los datos experimentales con cada sustrato.

Aún cuando existen pocas investigaciones publicadas en las cuales se hallan modelado matemáticamente la dinámica reproductiva de este organismo en el trópico, Hernández *et al.* (1999) informó un ajuste significativo a ecuaciones exponenciales en la producción de biomasa y parámetros morfológicos de las lombrices tales como largo y ancho; aunque estos autores no evaluaron la dinámica de la producción de cápsulas. No obstante, la frecuencia de medición, el número de réplicas, los periodos de muestreo y las condiciones experimentales, fundamentalmente la

temperatura y el estatus nutricional, pudieran influir en la obtención de una u otra función para describir la dinámica reproductiva de *E. andrei*.

CONCLUSIONES

Es posible utilizar la cáscara de huevo de gallina como aditivo (1-3%) del estiércol vacuno para enriquecer el sustrato, en la crianza de la lombriz roja (*E. andrei*) sin causar efectos negativos en su reproducción y transformar las cáscaras en un producto útil a la agricultura.

Las proporciones de cáscara de huevo estudiadas en esta investigación provocan un efecto significativo en la reproducción de *E. andrei*. Este anélido alimentado con estiércol bovino y proporciones de cáscara en la dieta de 2 y 3% se ve estimulado a producir considerables deposiciones de posturas (dos cápsulas por semana) a los veinte y treinta días de medición (110 y 120 días de vida).

AGRADECIMIENTOS

Al CDCHT de La Universidad de Los Andes por el apoyo brindado para llevar a cabo esta investigación.

LITERATURA CITADA

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis 15^{ta} ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington D.C. USA

Butcher G., R. Miles y A. Nilipour. 1991. La calidad del cascarón del huevo. *Industria Avícola*, 38(11): 9-10.

Compagnoni L. y G. Putzolu. 1995. *Cría Moderna de las Lombrices y Utilización Rentable del Humus*. Editorial de Vecchi. Barcelona, España.

Duque R. 1997. *Cultivo y Utilización de la Lombriz de Tierra*. Ediciones Z. Colombia.

Ferruzzi C. 1987. *Manual de Lombricultura*. Editorial Mundi Prensa. Madrid, España.

Fogar M.N., M.F. Cracogua y M.C. Iglesias. 2007. Respuesta de la lombriz roja (*E. foetida*) frente a

diferentes alimentos. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/agrarias/a-058.pdf> (Consulta: Enero, 2007)

Galvis A. 1991. *Un auténtico reciclaje natural. La lombricultura*. Caja Agraria. Dpto. Risaralda. Pereira, Colombia, 4p.

García M.D., M. Reinés, P.L. Domínguez, C.M. Mederos y A. Gutiérrez. 1995. Utilización de excretas porcinas en la cría de lombrices de tierra. Inclusión de lombrices frescas en dietas para cerdos. *Rev. Comput. Prod. Porcina*, 2(1): 45-52.

García S. 2007. Estudio biológico y evaluación de sustrato (estiércol vacuno x rastrojo de maíz) en la reproducción de la lombriz roja (*Eisenia foetida* Sav.) en Tingo María. FAO. Roma. Disponible en: www.fao.org/ag/AGL/agll/rla128/unas/uncis10/unas10-30.htm. (Consulta: Enero, 2007) Nota: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/rla128/unas/unas10/unas10-30.htm>

Hernández J.D., P. Montes de Oca y C. Villalobos. 1996. Estudio reproductivo de la lombriz de tierra *E. foetida* en cuatro sustratos en la finca experimental Santa Lucía. *Memorias X Congreso Nacional Agronómico*. San José, Costa Rica.

Hernández J.A., M.L. Rincón y R. Jiménez. 1997. Comportamiento de la lombriz roja (*E. foetida*) bajo condiciones de clima cálido. *Rev. Fac. Agro. LUZ*, 14: 387-392.

Hernández J.A., N. Ramírez, B. Bracho y A. Faría. 1999. Caracterización del crecimiento de la lombriz roja (*Eisenia* spp.) bajo condiciones de clima cálido. *Rev. Fac. Agro. UCV*, 25(2): 1-7.

Hernández J.A., C. Contreras, R. Palma, J. Saría y S. Pietrosevoli. 2002. Efecto de los restos de la palma aceitera sobre el desarrollo y reproducción de la lombriz roja (*Eisenia* spp.). *Rev. Fac. Agro. LUZ*, 19(4): 304-311.

Meinicke A. 1988. *Las Lombrices*. Ediciones Agropecuarias Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay.

Reinecke A., S. Viljoen y R. Saayman. 1992. The suitability of *Eudrilus eugeniae*, *Perionyx excavatus* and *Eisenia fetida* (Oligochaeta) for vermicomposting in southern Africa in terms of

- their temperature requirements. *Soil Biol. Biochem.*, 24(12): 1295-1307.
- Santacana J. 1996. Lombricultura en Venezuela, estado actual y perspectivas. Memorias 3^{er} Congreso de Ciencias Veterinarias "Eduardo Mendoza Goiticoa". Maracay, Venezuela.
- Satchell J.E. 1983. *Earthworm Ecology from Darwing to Vermiculture*. Chapman y Hall, Londres.
- Toccalino P.A., J.P. Roux y C.M. Agüero. 2001. Comportamiento reproductivo de *Eisenia foetida* (lombriz roja de California) durante las cuatro estaciones del año y alimentadas con distintos compostajes. *Univ. Nac. Nordeste, Fac. Cien. Vet.* Corrientes, Argentina. Disponible en línea en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2001/4-Veterinarias/V-040.pdf> (Consulta: Enero, 2007)
- Vielma-Rondón R., J.F. Ovalles-Durán, A. León-Leal y A. Medina. 2003. Valor nutritivo de la harina de lombriz (*Eisenia foetida*) como fuente de aminoácidos y su estimación cuantitativa mediante cromatografía en fase reversa (HPLC) y derivatización pre-columna con o-ftalaldehído (OPA). *Ars. Pharmaceutica*, 44 (1): 43-58.
- Visauta B. 1998. *Análisis Estadístico con SPSS para Windows. Estadística Multivariante*. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid, España.