

Efecto de la Fertilización Nitrogenada sobre la composición mineral de *Echinacea purpurea*

C. Bonomelli¹, D. Cisterna y C. Reciné

Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal
Pontificia Universidad Católica de Chile
Casilla 306-22, Santiago

Abstract

C. Bonomelli, D. Cisterna and C. Reciné. Effect of nitrogen fertilization on *Echinacea purpurea* mineral composition. Purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.), is a medicinal plant whose mineral nutrition has been scarcely studied. In this work, using potted plants, we evaluated Echinacea nutrient uptake and biomass accumulation in relation to nitrogen fertilization dose. Data obtained from the experiment were contrasted to what was found in a commercial Echinacea crop. For both we measured biomass, dry matter and nutrient accumulation. Nitrogen fertilization decreased the relative proportion of roots in relation to aerial parts. Total dry matter content, including above and below soil parts of Echinacea, ranged between 25 to 26%, and remained similar for plants fertilized with different nitrogen doses. Phosphorus concentration was 0.29% and potassium 2.66%. Foliar concentration of Cu, Zn and Mn was in the normal range, according to specialized literature. On the other hand, Fe foliar concentration was high in relation to most cultivated plants, and B concentration was very high, reaching values above 300 mg·kg⁻¹. Since the high B concentration did not affect plant biomass accumulation, Echinacea may be considered a suitable choice for soils with high Boron concentration, because very few crops can tolerate such conditions.

Key words: Biomass partition, boron concentration, coneflower, *Echinacea purpurea*, nitrogen, nutrition, pharmacology.

Cien. Inv. Agr. 32(2). 105-112. 2005

INTRODUCCION

Echinacea purpurea L. es una especie de la familia *Asteraceae*, cuyo centro de origen corresponde a las praderas naturales del centro de los Estados Unidos. Es una planta de hábito herbáceo perenne, pudiendo medir 1,2 m de altura al emitir su tallo floral (Hobbs, 1989). Posee compuestos químicos con valor farmacológico, entre los que destacan inulinas, flavonoides, ácido chicórico, alcaloides y alquilamidas (Bonadeo y Lavazza, 1971; Bauer y Wagner, 1991). Se ha demostrado que dichos compuestos poseen propiedades antiinflamatorias

y favorecen la regeneración de tejidos (Bonadeo y Lavazza, 1971). Además presentan propiedades inmunoestimulantes (Vomel, 1984; Hobbs, 1989; Bauer y Wagner, 1991). En función de estas propiedades biológicas, se han recomendado para el tratamiento del resfrío común, cicatrización de heridas y artritis (Bauer y Wagner, 1991).

En los últimos años se ha difundido el cultivo comercial de *E. purpurea* para satisfacer la demanda de las industrias farmacéuticas de Estados Unidos y Alemania (Hobbs, 1989). Sin embargo, se desconocen muchos de los factores de manejo

agronómicos que permiten maximizar su rendimiento y favorecer la producción de los compuestos con interés farmacológico. Al respecto, se sabe que crece mejor en suelos fértiles, livianos y bien drenados, con pH neutro a alcalino (Douglas, 1993; MNPS, 2004). Responde a la fertilización nitrogenada, estimulando el crecimiento aéreo, pero no así el crecimiento radical, que generalmente posee la mayor concentración de los compuestos de interés farmacológico (Shalaby *et al.*, 1997; MNPS, 2004). También hay un aumento en biomasa frente a la fertilización fosforada y potásica (Shalaby *et al.*, 1997; Manitoba Agriculture and Food, 2000). Con respecto a dosis de fertilizantes, Douglas (1993) señala 100 a 200 kg·ha⁻¹ de N, 100 kg·ha⁻¹ de P₂O₅ y 250 kg·ha⁻¹ de K₂O para *E. angustifolia* D. en Alemania.

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del N sobre el rendimiento, distribución de la biomasa en distintos componentes de la materia seca y en su concentración de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K). Adicionalmente, se determinó la concentración de micronutrientes en hojas de *E. purpurea*.

MATERIALES Y METODOS

El cultivo de *E. purpurea* se realizó en macetas de polietileno (10 L de capacidad aproximadamente), con una planta por maceta, simulando una población de 66.000 plantas·ha⁻¹ según recomendación de Shalaby *et al.* (1997). Se utilizó suelo de la serie Maipo, de pH 7,83, con 2,3% de materia orgánica y niveles de P-Olsen y K-intercambiable de 30 y 178 mg·kg⁻¹, respectivamente. Las macetas se ubicaron en invernadero bajo condiciones de luz y temperatura uniformes (18 a 24°C).

Se realizaron tres tratamientos de nitrógeno: 0, 33 y 100 kg·ha⁻¹, los que se distribuyeron en forma completamente al azar, con dos repeticiones, donde la unidad experimental fue cada maceta. El fertilizante usado fue Supernitrato (Soquimich Comercial, S.A., 25% de N) y los tratamientos se aplicaron en julio y agosto.

Las plantas permanecieron en el invernadero hasta el mes de febrero, luego se cosechó la parte aérea y radical, separándose según su estructura morfológica en cuatro componentes: 1. hojas; 2. ramas y tallos; 3. flores y botones florales; y 4. raíces. Para cada tratamiento, y según el componente estructural, se determinó: 1. Rendimiento, expresado en materia verde y materia seca (65°C por 48 h); 2. Concentración de N, P y K; y 3. Concentración de boro (B) foliar, expresada en mg·kg⁻¹. La concentración de N se midió utilizando el método de Kheldahl. Además, se estimó el promedio ponderado de concentración de este elemento en toda la planta, utilizando como parámetro la demanda de N (Suárez, 1991; Rodríguez, 1993). La concentración de P y K se midió utilizando el método de calcinación a 500°C. En el caso del P, las cenizas se analizaron formando un complejo con molibdato – vanadato y posteriormente se midió en un espectrofotómetro de absorción molecular (Shimadzu, Shimadzu Corporation, Kyoto, Tsukuba). Para el caso del K se disolvieron las cenizas en ácidos diluidos y en este extracto se determinó la concentración utilizando un espectrofotómetro de absorción atómica (GBC 932, GBC Scientific Equipment, Australia). Para el B se utilizó el método de calcinación a 500°C, analizando las cenizas con azometina H, y determinando su contenido en un espectrofotómetro de absorción molecular.

Adicionalmente, en febrero de 2000 y con el fin de tener una referencia con que comparar los resultados obtenidos en el experimento anterior se realizó un muestreo de campo en un cultivo comercial de 3 ha de *E. purpurea* ubicado en Pirque (Región Metropolitana, Chile), con una población de 50.000 plantas·ha⁻¹, donde previamente se había cultivado hortalizas, sin fertilizar y regado por surcos con aguas del río Maipo. El análisis de suelo determinó un pH de 8,03, con 2,21 % de materia orgánica y con 15 ppm de P-Olsen y 120 ppm de K-intercambiable. El muestreo de las plantas se realizó escogiendo 10 sectores al azar y en cada sector se recolectaron muestras compuestas de ocho

submuestras cada una (plantas enteras de *E. purpurea*), de forma que los componentes morfológicos de cada planta fueron mezclados para su análisis. Se extrajo la totalidad de la parte aérea y radical de las plantas.

Las muestras compuestas de campo se dividieron en: 1. hojas; 2. ramas y tallos; 3. flores y botones florales; y 4. raíces. Se pesaron las muestras frescas, y luego cada componente se secó a 65°C por 48 h para determinar la biomasa seca. Así, se determinó el contenido de humedad y la partición de la materia seca en sus componentes estructurales. También se determinó el contenido de N, P y K, de acuerdo a los métodos analíticos descritos anteriormente. Además, en las hojas de *E. purpurea* se determinó el contenido de calcio y magnesio (%) y el de boro, cobre, zinc, manganeso y hierro ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), utilizando el método antes descrito para K.

El efecto de la dosis de N sobre la biomasa (materia fresca, materia seca y porcentaje), la concentración de N, P y K en la planta y en los diferentes componentes de la biomasa se estudió por análisis de regresión lineal. Para determinar si la partición de la biomasa de los diferentes componentes de la planta variaron entre tratamientos y las muestras de campo, se realizaron análisis de chi-cuadrado pareados.

RESULTADOS Y DISCUSION

Si bien plantas que recibieron las dosis más altas de N tuvieron un aumento de biomasa, (Figura 1) en relación a las plantas sin fertilizar, no hubo una respuesta a las aplicaciones de N en tanto que las regresiones para materia fresca ($p = 0,33$), materia seca y rendimiento ($p = 0,34$) total de la planta no fueron significativas. Esto concuerda con lo encontrado previamente para *E. angustifolia*, donde no hubo una respuesta a la fertilización nitrogenada en plantas menores a tres meses (Mirza *et al.*, 2000). Sin embargo, otros investigadores han encontrado un efecto de la fertilización sobre la biomasa en cultivos de *E. purpurea* (Shalaby *et al.*, 1997; MNPS, 2004).

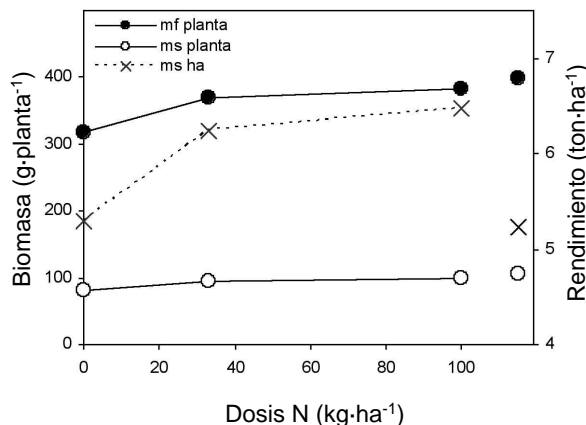


Figura 1. Efecto de la dosis de fertilización nitrogenada ($0, 33, 100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N) sobre el rendimiento (materia seca $\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$, materia seca y fresca $\text{g}\cdot\text{planta}^{-1}$). Los símbolos de igual formato fuera de la línea indican los rendimientos obtenidos para los respectivos componentes de la biomasa determinados en muestras provenientes de un cultivo comercial, sin fertilizar, de *E. purpurea*. ms = materia seca, mf = materia fresca. **Figure 1.** Nitrogen fertilization dose ($0, 33, 100 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ of N) effect on yield (dry matter $\text{ton}\cdot\text{ha}^{-1}$, dry and fresh weight $\text{g}\cdot\text{plant}^{-1}$). Symbols with the same format, at the right end, indicate biomass components from samples of *E. purpurea* commercial crops, without fertilization. ms = dry weight, mf = fresh weight.

Las muestras de plantas obtenidas en el campo en un cultivo comercial de *E. purpurea* presentaron un elevado crecimiento en biomasa por planta, similar o mayor a las obtenidas con las más altas dosis de plantas en macetas (Figura 1). En parte, lo anterior se puede atribuir a una menor densidad poblacional respecto a la utilizada en las macetas y recomendada como óptima por Shalaby *et al.* (1997). Como resultado hubo un mayor crecimiento individual por planta; sin embargo, al comparar los resultados de la biomasa seca por hectárea para ambas situaciones, se advirtió que las muestras de campo presentaron los valores más bajos (Figura 1). Esto corroboraría que la densidad del cultivo de campo estuvo bajo el nivel óptimo.

El coeficiente de materia seca de la totalidad de la planta de *E. purpurea* (parte aérea y radical) varió entre un 25 y 26%, y no se observó una

respuesta en relación a la fertilización nitrogenada ($p = 0,46$). Los valores para el cultivo fueron muy similares a los observados en las plantas experimentales.

La distribución y partición de la biomasa seca en los componentes morfológicos de *E. purpurea* fue similar para las plantas sin fertilizar y con 33 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N, pero esta relación fue significativamente diferente para la dosis de 100 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N (Chi-cuadrado 0,20 y 0,26, respectivamente; Figura 2). El tratamiento con la mayor dosis de nitrógeno aumentó significativamente, en relación a las otras dosis, la participación relativa del componente hojas y se redujo la proporción de las flores respecto de los otros componentes. Esto no fue sorpresivo, ya que la proporción de estructuras florales tiende a disminuir con la fertilización nitrogenada, y ésta retrasa los procesos de floración, mientras que al mismo tiempo produce un estímulo al crecimiento vegetativo (Mengel y Kirkby, 1982; Benton, 1998).

La partición de la biomasa de las muestras del cultivo comercial difirió significativamente de la obtenida para las plantas del experimento (Chi-cuadrado, $p < 0,005$ para todas las combinaciones), observándose relativamente una menor proporción de raíces y mayor proporción de flores (Figura 2). En el caso del cultivo comercial la menor proporción de raíces se podría atribuir en parte a un error experimental asociado a la dificultad de extraer la totalidad de las raíces al muestrear. Sin embargo, considerando la menor proporción de raíces extraídas, este fue cercano a lo planteado por Rodríguez (1993), que señala una proporción del componente raíces de alrededor de un 15% en diferentes plantas cultivadas.

La disminución de la proporción de raíces puede ser desventajosa en cultivos comerciales de *E. purpurea*, debido a que la mayor proporción de los compuestos con interés farmacológico se encuentran en la raíz. Esto podría suceder en

respuesta a una fertilización nitrogenada excesiva (Tchinida, 1990; MNPS, 2004), lo que al parecer no ocurrió en este experimento. Así, a pesar de que el tratamiento con 100 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N obtuvo la mayor biomasa total, al calcular el rendimiento en biomasa radical por hectárea, se obtuvo una acumulación de materia seca de 1.577, 1.481, y 1.548 $\text{kg}\text{ raíz}\cdot\text{ha}^{-1}$ para 0, 33 y 100 en $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N, respectivamente. Esto implicaría que en suelos de un nivel de fertilidad media lo económicamente recomendable sería prescindir de la fertilización nitrogenada.

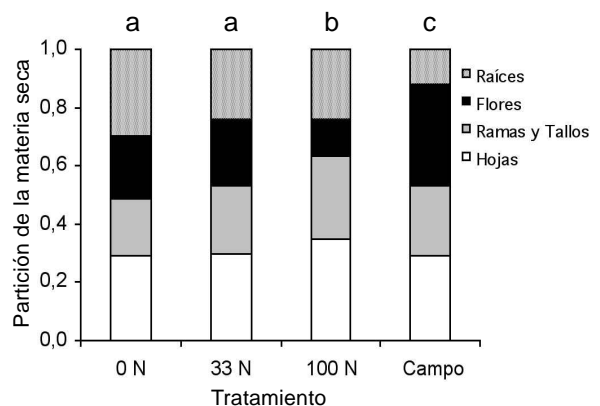


Figura 2. Partición de los diferentes componentes de la biomasa de *Echinacea purpurea* para plantas en maceta fertilizadas con 0, 33 o 100 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de N y para un cultivo comercial (Campo). Letras diferentes sobre las barras indican un cambio en la distribución de los componentes entre tratamientos (Chi-cuadrado $< 0,05$).

Figure 2. *Echinacea purpurea* biomass component partitioning for potted plants fertilized with 0, 33 or 100 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ of N and for a commercial crop (field). Different letters above the bars indicate change components distribution among treatments (Chi-square $< 0,05$).

En relación a la concentración de N, el promedio para toda la planta de los tratamientos en macetas varió entre 1,8 y 2,8 %, lo que estuvo dentro del rango descrito para calcular la demanda nitrogenada en hortalizas y forrajeras Rodríguez, (1993) y Rodríguez *et al.* (2001). Además, hubo una relación positiva y significativa entre el aumento de N aplicado y la concentración porcentual promedio de este elemento en la planta ($p = 0,06$; $R^2 = 0,98$; Figura 3).

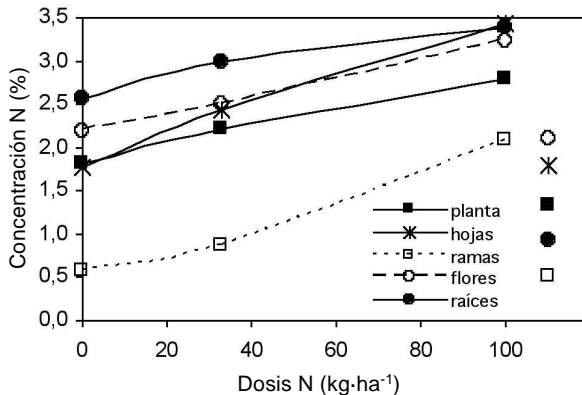


Figura 3. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre la concentración de N (%) en la planta y en los diferentes componentes de la biomasa de *Echinacea purpurea*. Los símbolos de igual formato fuera de la línea indican la concentración (%) de nitrógeno obtenida para los respectivos componentes de la biomasa determinados en muestras provenientes de un cultivo comercial, sin fertilizar, de *E. purpurea*.

Figure 3. Nitrogen fertilization effect on *Echinacea purpurea* total plant N concentration (%) and in its different biomass components. Symbols with the same format, at the right end of the figure, indicate nitrogen concentration (%) for biomass components from samples of *E. purpurea* commercial crops, without fertilization.

Al analizar separadamente la concentración de N de los distintos componentes de la biomasa se obtuvo para N en las hojas y flores una relación lineal positiva y significativa en relación a la dosis de N aplicada ($p = 0,05$; $R^2 = 0,99$ y $p = 0,02$; $R^2 = 1$, respectivamente) (Figura 3). Estas relaciones permitieron demostrar una respuesta directa al N, en el rango aplicado.

En el caso de las ramas-tallos y raíces no se pudo establecer una relación significativa en este experimento entre la dosis de N aplicadas y la concentración de este elemento ($p = 0,09$ y $p = 0,12$, respectivamente). Las plantas del cultivo comercial presentaron contenidos de N en los distintos componentes, similares o relativamente más bajos que los de las plantas del tratamiento sin fertilizar, especialmente en las raíces (Figura 3).

En relación con la concentración de P y K, en la planta y cada uno de sus componentes de *E. purpurea*, no se encontró una relación significativa

entre éstas y las dosis de N aplicadas, a excepción de la concentración de P en toda la planta (Cuadro 1). En este caso la relación encontrada fue negativa, ($p = 0,002$; $R^2 = 1,0$). Lo anterior indica que las diferencias en biomasa total no se explicarían por los valores de P y K disponibles en el suelo, tanto en los tratamientos como en la muestra de campo. Las concentraciones promedio de P y K se encuentran en los rangos descritos para varias especies cultivadas. Por ejemplo, la concentración de P de *E. purpurea* fue muy similar al apio, lechuga y maravilla (girasol). La concentración de K de *E. purpurea* fue equivalente a la concentración de este elemento en zanahoria, berenjenas, pimiento y otras especies hortícolas (Bergmann, 1992).

Los niveles de Cu, Zn y Mn presentes en las hojas del cultivo comercial, fueron similares a la de otros cultivos (Cuadro 2). Sin embargo, el Fe fue más alto que los valores habituales de referencia (Bergmann, 1992). En el caso del B, su concentración foliar tanto en los distintos tratamientos como en el muestreo de campo, presentaron niveles altos, que fluctuaron entre 90 y 352 mg·kg⁻¹. Aparentemente, *E. purpurea* es capaz de acumular este micronutriente en altas cantidades en sus hojas sin que se exprese daño por toxicidad. Estas cantidades superan ampliamente las concentraciones comúnmente encontradas en plantas cultivadas. El contenido promedio de B medido en hojas de *E. purpurea* obtenidas en el muestreo de campo fue 329 mg·kg⁻¹ en contraste con 55 ó 70 mg·kg⁻¹ que presentan *Medicago sativa* y *Asparagus officinalis*, respectivamente (Bergmann, 1992).

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que *E. purpurea* responde a la fertilización nitrogenada. El principal efecto correspondió a un cambio en la distribución de la materia seca: las raíces de plantas sin fertilizar representaron un 29,8 % del total y las fertilizadas un 23 %. La proporción de hojas de las plantas fertilizadas llegaron hasta un 35 % y las flores y botones a un 12,9 %, mientras que las sin fertilizar alcanzaron un 29 y 21 %, respectivamente. Esto podría tener importancia comercial, ya que es en las raíces se concentran los compuestos de interés farmacológico.

Cuadro 1. Concentración de P y K (%) en la planta y en los diferentes componentes de la biomasa de *Echinacea purpurea*, en plantas en maceta fertilizadas con distintas dosis (0, 33 y 100 kg-ha⁻¹) y en plantas de un cultivo comercial. **Table 1.** Effect of N fertilization (0,33 y 100 kg-ha⁻¹) in potted *Echinacea purpurea* plants on P and K concentration (%), in whole plant and in the different biomass components, and element concentration in a commercial crop (Field).

Fertilización nitrogenada kg-ha ⁻¹	Planta %	Hojas %	Ramas y tallos %	Flores %	Raíces %
Plantas en maceta			<i>Fósforo</i>		
0	0,31	0,33	0,32	0,34	0,36
33	0,30	0,34	0,22	0,34	0,32
100	0,28	0,29	0,22	0,37	0,31
	<i>p</i> ¹	0,002	0,33	0,46	0,21
Campo ²	0,26	0,31	0,15	0,38	0,24
Plantas en maceta			<i>Potasio</i>		
0	3,04	3,96	1,82	3,49	2,53
33	2,56	3,70	1,52	3,18	1,55
100	2,82	3,89	2,45	3,36	1,40
	<i>p</i> ¹	0,82	0,96	0,41	0,74
Campo ²	2,21	2,31	1,56	3,43	1,16

¹*p* es el nivel de significancia de la regresión lineal entre la dosis de N y la concentración de P o K en las distintas partes de la planta. *p* is the significance level for the linear regression between N dose and P and K concentration for the different plant parts.

²Campo representa las muestras referenciales tomadas en un cultivo comercial de *E. purpurea*, sin fertilizar, ubicado en Pirque Región Metropolitana, Chile.

Field represents the values obtained as reference from an E. purpurea commercial crop, not fertilized, from Pirque Región Metropolitana, Chile.

Cuadro 2. Concentración de B, Cu, Zn, Mn y Fe en las hojas de *Echinacea purpurea* de plantas de campo.

Table 2. *Echinacea purpurea* B, Cu, Zn, Mn and Fe leaf concentration from field plants.

	Concentración mg·kg ⁻¹	Nivel ¹
B	329	Alto
Cu	21	Medio
Zn	23	Medio
Mn	81	Medio
Fe	1.388	Alto

¹(Bergmann, 1992).

La capacidad de *E. purpurea* de absorber boro en altísimas cantidades sin experimentar toxicidad, podría convertir a esta especie en una alternativa de cultivo en suelos con concentraciones elevadas de este micronutriente. El exceso de B limita en la actualidad el desarrollo de varios cultivos en Chile, sobre todo en los suelos de los valles de la III Región y en menor medida de la IV Región. Tal situación debería ser evaluada en nuevos estudios que consideren otros factores de interés agronómico.

RESUMEN

Echinacea purpurea L., es una planta de uso medicinal, la cual escasamente se ha estudiado desde el punto de vista de su nutrición mineral. Este estudio tuvo el propósito de determinar la absorción de nutrientes y la respuesta de la biomasa a distintas dosis de nitrógeno aplicado en dos oportunidades (julio y agosto), en dosis equivalentes a 0, 33 o 100 kg-ha⁻¹ de N, a plantas de *E. purpurea* mantenidas en condiciones experimentales en macetas de 10 L de capacidad. Se determinó la biomasa, el contenido de materia seca y la acumulación de nutrientes. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que *E. purpurea* responde a la fertilización nitrogenada, siendo el principal efecto el cambio en la distribución de la materia seca: las raíces de plantas sin fertilizar representaron un 29,8 % del total y las fertilizadas un 23 %. La proporción de hojas de las plantas fertilizadas llegaron hasta un 35 % y las flores y botones a un 12,9 %, mientras que las sin fertilizar

alcanzaron un 29 y 21 %, respectivamente. La concentración de fósforo y potasio fue de 0,29 y 2,66 %, respectivamente. La concentración foliar de Cu, Zn y Mn estuvo dentro de rangos normales, siendo en muestras de *E. purpurea* obtenidos en un cultivo comercial iguales a 21, 23 y 81 mg·kg⁻¹, respectivamente. En cambio, la concentración foliar de Fe (1388 mg·kg⁻¹) fue alta y la de B (329 mg·kg⁻¹) muy alta; no obstante, no afectó la acumulación de biomasa. En consecuencia, esta especie podría ser evaluada como una interesante alternativa para suelos con altas concentraciones de boro.

Palabras clave: Boro, *Echinacea purpurea*, farmacología, nitrógeno, nutrición, partición materia seca.

AGRADECIMIENTOS

Dedicamos esta publicación a la memoria de la alumna Carola Tupiara Reciné Salmerón. Fue ella la que con su iniciativa y trabajo, desarrolló gran parte de esta investigación. Por sus aportes le estaremos eternamente agradecidos. Se agradece también a la Sra. Norma Saavedra por las determinaciones analíticas de esta investigación, y a la Dra. Tania Zaviezo por la ayuda en el análisis de datos.

LITERATURA CITADA

- Bauer, P., and H. Wagner. 1991. *Echinacea* species as potential immunostimulatory drugs. *Economic and Medicinal Plants Research* 5: 253–321.
- Benton, J. 1998. *Plant Nutrition Manual*. CRC Press. NY, USA. 150 pp.
- Bergmann, W. 1992. *Colour Atlas of Nutritional Disorders of Plants: Visual and Analytical Diagnosis*. Primera ed. Gustav Fischer. Jena, Alemania. 315 pp.
- Bonadeo, I., and M. Lavazza. 1971. Echinacein B: Polissacaride attivo dell' *Echinacea*. *Ital. Essenza Profumi* 53: 120-136.
- Douglas, J. 1993. *Echinacea* - the purple coneflowers. www.crop.cri.nz/home/products-services/publications7broadshets/o33.echinacea.pdf (accessed October 2004). Crop and Food Research Centre.
- Havlin, J., J. Beaton, S. Tisdale, and W. Nelson. 1999. *Soil Fertility and Fertilizers, An Introduction to Nutrient Management*. MacMillan Publishing Company. Sexta ed. Upper Saddle River, EUA. 499 pp.
- Hobbs, C. 1989. *The Echinacea Handbook*. Sandy, Ore: Eclectic Medical Publications. Portland, Oregon, USA. 94 pp.
- Manitoba Agriculture and Food. 2000. An overview of *Echinacea* production in Manitoba. www.gov.mb.ca/agriculture/crop/medicinal/bkq00s12.html (accessed May 2005).
- Mengel, K., and E. Kirkby, 1982. *Principles of Plant Nutrition*. Tercera ed. International Potash Institute. Bern. Switzerland. 655 pp.
- Mirza, M., M. Younus, and W. Chen. 2000. Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on the growth of *Echinacea angustifolia* in plugs. *Kernels Newsletter* 1: 1-2.
- MNPS. 2004. *Growing Echinacea*. www.umt.edu/mnps/growechinacea.htm. (accessed May 2005). Montana Native Plant Society.
- Rodríguez, J. 1993. *La Fertilización de los Cultivos, un Método Racional*. Colección en Agricultura, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 291 pp.
- Rodríguez, J., D. Pinochet y F. Matus. 2001. *Fertilización de los Cultivos*. LOM Ediciones. Santiago, Chile. 117 pp.
- Shalaby A., S. El - Gengaihi, E. Agina, A. El-Khayat, and S. Hendawy. 1997. Growth and yield of *Echinacea purpurea* L. as influenced by planting density and fertilization. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants* 5: 69-76.
- Suárez, D. 1991. Demanda de nitrógeno y eficiencia de la fertilización de melón reticulado (*Cucumis melo* L. var *reticulatus* Naud). *Ciencia e Investigación Agraria* 18: 101-109.
- Tchinida, C., P. Ghorh, S. Michel, and S. Wold, 1999. *Echinacea* production. www.tein.net/~msufergus/Ag/specialty.html. (accessed May 2005). Montana State

University Extension Service.

Vomel, V. 1984. Influence of non-specific immune stimulant on phagocytosis of erythrocytes and

ink by the reticuloendothelial system of isolated perfused rat livers of different ages. *Arzneimittel-Forsch* 34: 691-695.