

ANALISIS DE ALGUNOS MINERALES EN HOJAS DE CAFE
CON Y SIN AFECCION DE CAFE "MACHO"

Por

María Eugenia Peralta

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas

Turrialba, Costa Rica

Agosto, 1952

ANALISIS DE ALGUNOS MINERALES EN HOJAS DE CAFE
CON Y SIN AFECION DE CAFE "MACHO"

TESIS

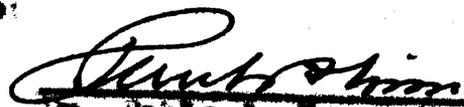
Cometida al Comité Facultativo como requisito
para obtener el título de

LICENCIADA EN QUIMICA

en la

Universidad Nacional de Costa Rica

Aprobado:


Dr. Pablo de Tarse Alvin
Fito-fisiólogo
Consejero


Guillermo Chaverri M. S.
Químico
Comité de Facultad


Dr. Frank Jirik
Químico
Comité de Facultad

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas
Turrialba, Costa Rica

AGRADECIMIENTO

La autora desea expresar su más profundo agradecimiento al Dr. Paulo de Tarse Alvin por su valiosa ayuda durante el desarrollo del tema.

También desea expresar su agradecimiento a los doctores Pierre G. Sylvain y Kenneth L. Olson por su elaboración; a los señores Guillermo Chaverri y Frank Jirik por haber revisado la redacción de este trabajo. A los señores Ralph N. Alice y Lino Vicarioli, quienes hicieron posible su venida a este Instituto para hacer este trabajo.

BIOGRAFIA

María Eugenia Feralta H. nació en Heredia, Costa Rica. Cursó la enseñanza primaria y secundaria en el colegio "María Auxiliadora". Luego ingresó a la Facultad de Ciencias y terminó sus estudios en el año 1949.

Durante los años de 1948 a 1950 trabajó en el Laboratorio Químico del Ministerio de Agricultura e Industrias y en el año 1951 ingresó al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas para hacer el presente trabajo.

CONTENIDO

INTRODUCCION	1
REVISION DE LA LITERATURA.....	6
Zinc	6
Manganeso	14
Calcio	19
MATERIALES Y METODOS	21
Procedencia y toma de las muestras	21
Preparación de las muestras	22
Análisis de zinc	22
Remoción de interferencias, formación de ditizonato de zinc y separación del exceso de ditizona	23
Evaluación del zinc presente	24
Preparación de reactivos	25
Análisis de manganeso	28
Método según Piper	30
Preparación de reactivos	32
Método según Parks	33
Análisis de manganeso intercambiable en el suelo	34
Evaluación del manganeso	34
Análisis de pH en el suelo	35
Análisis de calcio	35
RESULTADOS	37

Análisis de las plantas	37
Análisis del suelo	38
DISCUSION Y CONCLUSIONES	49
SUMARIO	54
LITERATURA CITADA	56

INTRODUCCION

El cultivo del café en el Hemisferio Occidental cada día va tomando mayor importancia. En Costa Rica un alto porcentaje de los terrenos cultivados se dedican a la siembra del café, y es éste una de las principales fuentes de entrada de divisas del país.

Desde hace varios años, cafetaleros y científicos vienen interesándose por el aumento progresivo en extensión de una afección conocida en Costa Rica por café "macho". Esta afección ha hecho bajar enormemente la producción del café en las zonas afectadas, desde un 50% hasta unos pocos granos.

El café "macho" parece que se ha presentado principalmente en las provincias de Alajuela y Heredia (21). No se sabe la fecha exacta de su aparición, pero se cree que se remonta aproximadamente a unos 10 ó 12 años atrás (66).

Los síntomas más característicos que presenta esta afección son los siguientes: escasa producción de flores, ocurriendo en ellas una fecundación normal, lo cual se traduce en una reducción en la producción de frutos. Cuando la afección es muy leve, las hojas alcanzan su tamaño normal pero se desarrolla en ellas una clorosis que consiste en un amarillento de la lámina, permaneciendo

verdes las venas. A medida que la afección se hace más pronunciada, además de cloróticas, las hojas se presentan con sus bordes ondulados y su área es mucho menor a la normal, disminuyendo más en ancho que en largo y en consecuencia su forma normal elíptica cambia a lanceolada. Las dos mitades separadas por la nervadura central, generalmente presentan un desarrollo desigual.

Los internudos se acortan, como resultado de la reducción del crecimiento en longitud del eje de las hojas. Los tallos y bandolas presentan a menudo necrosis de las yemas terminales y debido a esto brotan ramitas secundarias y terciarias con crecimientos muy irregulares e internudos cortos, presentando muy a menudo "escobas de bruja". En algunas épocas, especialmente las más lluviosas, el follaje de las plantas que sufren la afección se quema en partes. Las más atacadas son las hojas tiernas de los extremos de las bandolas y las terminales de las ramas, las cuales llegan a secarse completamente con el tiempo. Las ramas son bastante quebradizas; los tallos dan una apariencia cauchosa y su color es más claro que el de los cafetos normales. Los granos se desarrollan anormalmente dando gran variación en el tamaño (10, 21).

Esta afección no se presenta con todas sus características en todas las regiones; es posible que esto se deba

no a diferentes causas sino a la edad en que el arbusto ha sido atacado.

El problema del café "macho" fué inicialmente estudiado desde el punto de vista fitopatológico por Wellman (66), el cual no ha encontrado evidencia alguna de que la afección fuera causada por agentes patógenos. Por los síntomas y condiciones en que se presenta la afección, parece más bien que se trata de una enfermedad fisiológica, causada por disturbios en la nutrición mineral de la planta.

Los síntomas presentados por deficiencia de elementos mayores en café ya han sido descritos por Franco y Mendes (17). Por las características de la afección no hay motivo para sospechar deficiencia de elementos mayores. Se supone más bien un desequilibrio presentado por deficiencia o toxicidad de ciertos elementos menores en la planta.

Los técnicos del Ministerio de Agricultura e Industrias de Costa Rica, González, Camacho y Gu vara (21), en el año 1950 comenzaron trabajos exploratorios en suelos donde crece café "macho"; determinadas parcelas de esos suelos fueron abonados con calcio, fósforo y varios elementos menores; luego sembraron en ellas plantas de período vegetativo corto. Se concluyó de estos experimentos

exploratorios que principalmente el zinc y, en menor escala el calcio, el cobre y el boro tuvieron efectos benéficos sobre las plantas.

En otros ensayos se hicieron atomizaciones con $ZnSO_4$ en arbustos de café "macho", concluyendo los autores que hubo mejoras en el aspecto físico de la planta.

La importancia económica de esta afesión, así como el hecho de que hasta el presente muy pocos son los trabajos químicos sobre fisiología del café que se han realizado, nos interesó colaborar a la resolución del problema.

Se decidió analizar las hojas por ser éstas una parte vital de la planta en sus procesos de nutrición, y por lo tanto, uno de los órganos más sensibles a demostrar cualquier desequilibrio metabólico.

En los últimos años los análisis de hojas se han usado ampliamente como una gran ayuda para averiguar las cantidades de nutrientes en la planta y su capacidad de absorberlos del suelo (41); Goodall y Gregory (22) hicieron una revisión de literatura sobre análisis foliar realizados en plantas que presentaban toxicidad o deficiencia de minerales.

Los trabajos previamente citados dieron una pauta para realizar un estudio comparativo del contenido de

zinc y calcio entre hojas de cafetos sanos y afectados. Posteriormente también se incluyó el manganeso debido a que se sospechó una posible diferencia en el contenido de este elemento entre plantas sanas y afectadas, al analizarlo cualitativamente en el transcurso del experimento.

REVISION DE LA LITERATURA

Zinc

Deficiencias de zinc en diferentes cultivos se han presentado en varios países de Europa, en los Estados Unidos de América y en Australia.

Las enfermedades llamadas "little leaf" o "Rosette" presentado en manzanas y peras, "mottle leaf" y "frenching" en citrus, y "white bud" en cereales, se deben a deficiencia de zinc (31).

El contenido de zinc sobre materia seca en hojas de árboles de tung en diferentes suelos varía de 10 a 229 microgramos por gramo. Con 26 microgramos por gramo se observaron síntomas leves de la afección causada por deficiencia de zinc; con 10 a 15 microgramos por gramo esta afección fué más notoria (16).

En árboles jóvenes de manzano los síntomas causados por deficiencia se observaron en general cuando el contenido de zinc en las hojas fué menor que 14 microgramos por gramo sobre materia seca (62).

De acuerdo a Boulé (5) el contenido de zinc en variedades de manzano varió de 9.6 microgramos por gramo en hojas sanas a 1.2 - 2.3 microgramos por gramo en hojas con señales de deficiencia.

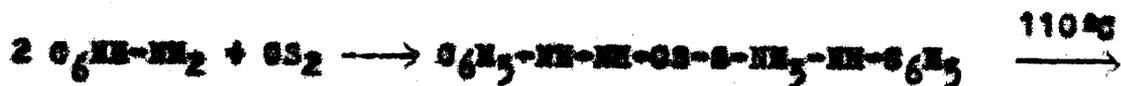
Deficiencias de zinc se han acentuado en regiones de

mayer radiación solar (28). Tsui Cheng (63) lo considera relacionado indirectamente con la síntesis de las auxinas en las plantas. De acuerdo a Skoog (58) parece que el zinc interviene en la conservación de las auxinas en estado activo por protegerlas de la oxidación.

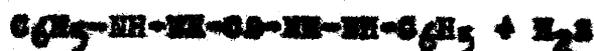
En la determinación del zinc generalmente se emplea la ditizona como reactivo colorimétrico. Será conveniente presentar un resumen histórico sobre la ditizona, antes de hacer la revisión de literatura sobre la determinación del zinc.

La difeniltiocarbazona, comúnmente llamada ditizona, es un complejo orgánico soluble en varios solventes orgánicos, siendo los más prácticos y convenientes el tetracloruro de carbono y el cloroformo. Es completamente insoluble en agua y ácidos minerales diluidos, pero soluble en soluciones de hidróxido de amonio diluido (65, 69).

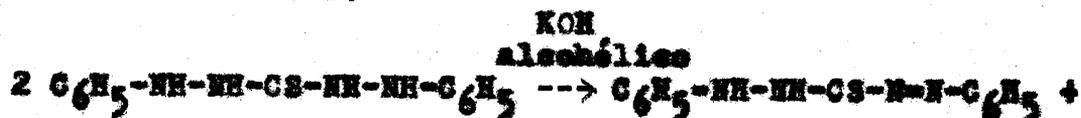
La ditizona se prepara, según Fisher - su descubridor - tratando la fenilhidracina con bisulfuro de carbono. El producto formado, al calentarse, se descompone y produce difeniltiocarbazona, el cual tratado con hidróxido de potasio alcohólico en caliente produce ditizona (65).



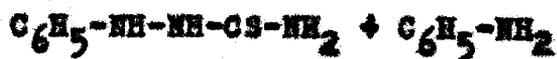
Fenilhidracina



Feniltiocarbazono



Ditizona



Billman y Cleland (4) hicieron pequeñas modificaciones en el método de preparación para obtener mejor rendimiento y pureza del producto. Corwin y Jackson (12) estudió la estructura de la ditizona y encontró ser la misma propuesta por Fisher.

La ditizona en presencia de agentes oxidantes débiles se oxida parcialmente a una forma de color amarillo, soluble en solventes orgánicos e insoluble en soluciones acuosas ácidas y básicas, llamada difeniltiocarbazono. Este compuesto, por no poseer los dos hidrógenos sustituibles existentes en la ditizona, no produce ditizonatos metálicos. En ciertos procedimientos analíticos, dicho producto oxidado puede presentar complicaciones, como resultado de la oxidación de la ditizona por ciertos agentes oxidantes, componentes de la solución problema, e interferir en la medida del color. Si la ditizona ha sido oxidada

parcialmente a difeniltiocarbadiazona, se regenera reduciéndola con anhídrido sulfuroso o cloruro de hidroxilamina. Oxidaciones más fuertes pueden atacar el azufre o romper el compuesto en otros lugares con daños irreparables. Una solución de ditizona en tetracloruro de carbono o cloroforme es estable si se mantiene en la oscuridad y en frío (65, 69).

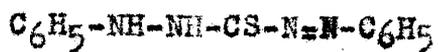
Las soluciones diluidas de ditizona en cloroforme o tetracloruro de carbono son verdes; en soluciones concentradas son: rojas en luz transmitida y verdes en luz reflejada. En solventes fuertemente polares, tales como nitrobenzene, es amarilla (65).

La ditizona con un grupo de metales produce complejos de color amarillo brillante, rojo o violeta; por lo tanto, no es un reactivo específico, pero reacciona con cada metal bajo determinadas condiciones específicas; de esta propiedad se ha hecho uso para hacer análisis sistemáticos de algunos metales regulando ciertas condiciones como pH, oxidación y reducción de metales y formación de complejos con metales coextractados (65, 69, 50).

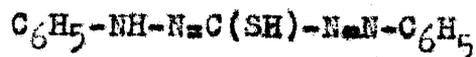
Entre más noble sea el metal extractado, más bajo será su pH óptimo de extracción. Los metales oro, platino, paladio, plata, mercurio, estaño divalente, cobre, bismuto, zinc, cobalto, níquel, plomo, talio y cadmio, reaccionan

con la ditizona paulatinamente, a medida que el pH de la solución va subiendo, al usarse ácidos fuertes, ácidos diluidos, soluciones amoniacales, hasta solución de NaOH al 5% (69). El ditizonato ferroso, el manganoso, el tálico y el indico son muy inestables, y por lo tanto sin importancia analítica (65, 69).

La ditizona, según Fisher (65, 69) al disolverse presenta dos formas tautómeras en equilibrio: la forma ceto y la forma enólica, siendo la primera la más importante analíticamente.



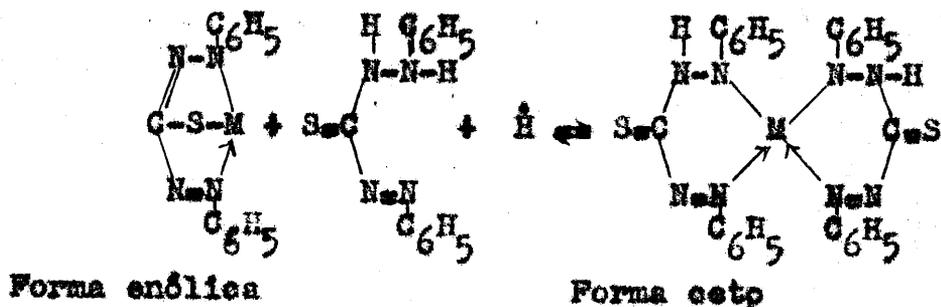
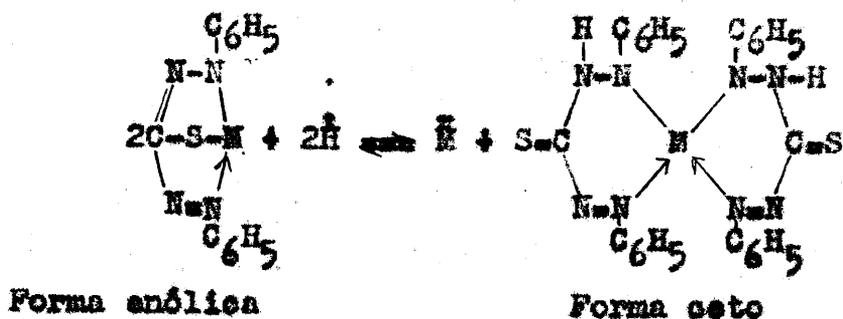
Forma ceto



Forma enólica

Las formas ceto de todos los ditizonatos metálicos también existen, pero muchas formas enólicas no son conocidas. El tautómero ceto se forma en soluciones neutras o ácidas; la forma enólica se forma ya sea en soluciones alcalinas o en soluciones con una deficiencia de ditizona. Estas dos formas son también reversibles. Según las condiciones tenemos: forma enólica o forma ceto. Generalmente estas dos formas son de diferente color para un mismo metal (65).

Ecuaciones reversibles entre las dos formas tautómeras de los ditizonatos metálicos divalentes según Fisher



Buch y Koroleff (8) estudiaron las constantes de ionización de la ditizona. A el equilibrio $\frac{\text{Dz}^1 \times \text{H}^+}{\text{HDz}}$ le dieron los valores de 1.58×10^{-9} y 0.33×10^{-9} en tetracloruro de carbono y cloroformo respectivamente, en la cual HDz representa la ditizona y Dz^1 el ion ditizonato.

Buch y Koroleff (8), Irving y otros (30) suponen la posible existencia de un ion hidrógeno unido internamente a los complejos Dz^1 y HDz y ditizonatos metálicos, como causante de las formas enólicas.

Buch (7) estudió la constante de equilibrio de la reacción $\text{H}^+ + 1/2 \text{Zn Dz}_2 \rightleftharpoons \text{HDz} + 1/2 \text{Zn}^{2+}$ y le dió el valor de 2.26×10^{-3} . La calculó sobre cantidades totales,

considerando la solución heterogénea como una sola fase.

Encontró que en el pH 4.59 hubo una descomposición del 50% para el ditizonato de zinc y consideró que para una extracción completa de zinc conditizona en tetracloreuro de carbono, el pH debería ser mayor de 5.2.

Generalmente el intervalo más útil para la exactitud en los métodos de ditizona es analizar una alícuota que contenga de 1 a 200 microgramos (69) del metal seleccionado.

La ditizona ha sido muy usada como un reactivo colorimétrico para la determinación de zinc (27, 50).

La reacción que sucede es extremadamente sensible, y el color es bastante estable. Para eliminar metales coextractados se han usado varios formadores de complejos, tales como el tiosulfato de sodio y cianuro de sodio que se usando cuando las extracciones de zinc se hacen en medios ácidos y el dietilditioicarbamato de sodio que fué empleado por Cowling y Miller (13) para eliminar las interferencias de los otros metales que reaccionan con ditizona en un medio alcalino. Ellos encontraron que el ion dietilditioicarbamato causa una reducción apreciable en la intensidad del color del ditizonato de zinc, pero consideraron que guardando ciertas condiciones constantes en todas las extracciones se puede obtener siempre la misma relación

entre la intensidad del extracto de ditizona y la cantidad de zinc presente; en este método el exceso de ditizona no es eliminado y el zinc es evaluado fotométricamente por el método del bi-color. Este método ha sido aceptado como tentativo por la Association of Official Agricultural Chemists (2) para la determinación de zinc en tejidos vegetales.

Shirley y otros (57) modificaron el método anterior haciéndolo más corto, al quitar la primera extracción de zinc a pH 8.5 con ditizona; también eliminaron el exceso de ditizona con una solución de hidróxido de amonio 0.01 N. después de la extracción final.

Ellos investigaron la posible interferencia de plomo, cobre, mercurio, cobalto, cadmio y níquel en el análisis ya modificado llegando a la conclusión de que 100 p.p.m. de plomo y mercurio y 25 p.p.m. de cobre no interfieren en la determinación de zinc. Níquel, cobalto y cadmio interfieren en concentraciones que nunca se han presentado en tejido vegetal.

Heinen y Bennie (25) continuaron el estudio del método y a su vez le hicieron otras modificaciones que lo convirtieron en un método mucho más práctico y exacto. Comprobaron que el uso de crisoles de porcelana en la incineración de la ceniza en el método modificado, dió tan buenos

resultados como cuando se usaron cápsulas de platino. Obtuvieron resultados satisfactorios extrayendo la ceniza con ácido clorhídrico concentrado e hirviendo por algunos minutos.

Manganeso

Muchos trabajos se han hecho hasta hoy día sobre las diferentes formas y grados de oxidación en que se puede encontrar el manganeso en el suelo, factores que tienen influencia en sus concentraciones y en sus formas utilizables por la planta (18, 54, 14, 19, 36, 33, 32).

Sobre análisis foliar del manganeso también se ha escrito extensamente. Dresdoff (15) estudió el contenido de manganeso, calcio y otros elementos en las hojas de tung crecido en diferentes suelos; estudió también el contenido de estos elementos variando la época de muestreo y la colocación de las hojas en las ramas con y sin frutos terminales. La mayor diferencia de manganeso se presentó cuando los arbustos crecieron en suelos diferentes.

El manganeso y el calcio presentaron una tendencia a acumularse en las hojas. Myers y Brunstetter (49) lo comprobaron trabajando en la misma planta.

Kenworthy (35) encontró en varias huertas de Michigan una variación de 0.0017 a 0.0280 por ciento de manganeso sobre materia seca en hojas maduras de árboles normales

de manzano, durazno, pera y cerezo.

Análisis foliares del manganeso han sido una gran ayuda para resolver ciertos trastornos fisiológicos debidos a toxicidad o deficiencia de este elemento en las plantas (54, 24, 46, 38, 22).

H ale (24) durante 5 años analizó el manganeso intercambiable, manganeso fácilmente reducible con hidrequinona y manganeso total reducible con sulfitos ácidos, en suelos ácidos con cosechas de vegetales, afectados y no afectados. Todas las plantas afectadas por toxicidad de manganeso presentaron más de 1000 microgramos por gramo de manganeso sobre materia seca. De los once suelos que presentaron afección, ocho tenían un pH menor de 5 y un alto contenido de manganeso intercambiable. Los suelos con plantas sanas tuvieron un promedio de 15 microgramos por gramo de manganeso intercambiable con una variación en el pH de 6.0 a 6.5. El calcio no se presentó deficiente en ningún caso. En hojas verdes el manganeso total, normalmente varía de 30 a 500 microgramos por gramo sobre materia seca.

De acuerdo a Morris (46), trébol dulce y lespedaza, cuando crecieron en suelos ácidos con un alto contenido de manganeso soluble, las plantas presentaron más de 400 a 500 microgramos por gramo de manganeso en las hojas y demostraron síntomas de toxicidad de este elemento.

Aplicaciones de carbonato de calcio al suelo fueron benéficas. Se observó que la concentración de manganeso soluble en suelos estaba relacionada directamente a la concentración de iones hidrógeno. No hubo relación entre el pH y el contenido de manganeso intercambiable.

Lémais (38) haciendo un estudio sobre el efecto del abonamiento con cal en el contenido de manganeso en frijoles durante varios años, encontró una variación en las hojas sanas de 40 a 940 microgramos por gramo de manganeso sobre materia seca. En plantas con síntomas de toxicidad de manganeso el contenido varió de 1104 a 4261 microgramos por gramo. La cantidad de manganeso intercambiable en los suelos dió grandes diferencias según la época; no se encontró relación entre el contenido de manganeso en la planta y el contenido intercambiable en el suelo extraído con una solución de nitrato de calcio 0.5 molar.

Gracie y French (23) trabajando con café en Kenya, encontraron 194 y 75 microgramos por gramo de manganeso sobre materia seca en hojas normales; Upham (64) en Colombia, encontró 12 a 25 microgramos por gramo de manganeso en hojas de café con síntomas de deficiencia de este elemento, y 70 a 90 microgramos por gramo en hojas normales. Alvim (1) en Minas Gerais, Brasil, encontró de 120 a 150 microgramos por gramo de manganeso en hojas normales de café.

Varios investigadores han encontrado al manganeso relacionado con el metabolismo de algunos elementos minerales, principalmente el hierro. Sommers y Shive (60) trabajando con frijol de soya encontraron que para el desarrollo normal de esta planta la proporción entre hierro y manganeso en las hojas debe estar alrededor de 2.0, se ha relacionado también el manganeso en procesos de fotosíntesis (19). Se presentó muy incierta su acción en el proceso de nitrificación de las plantas, debido a la acumulación de ión nitrato (68,26), ion nitrito (37, 34) y aminoácidos (26) en su ausencia. Para la determinación de manganeso en plantas ha sido muy usado el método de oxidación de ion permanganato por el ion periodato en medio ácido (2, 53, 11). Este método produce una coloración muy estable del ion permanganato.

Mehlig (42) analizó varias soluciones de ácido sulfúrico al 4% que contenían de 1.25 a 5.00 miligramos de manganeso en 250 mililitros; la intensidad del color de estas soluciones mantenidas en luz difusa no varió durante 23 meses. Anteriormente Mehlig (43) experimentó la influencia que podrían tener el periodato de potasio, el ácido nítrico y el ácido fosfórico sobre la intensidad del color producido. Obtuvo resultados satisfactorios cuando usó ácido sulfúrico concentrado de 15 a 30 ml. y

ácido fosfórico concentrado de 5 a 50 ml. en 250 ml. de solución coloreada; encontró que el ácido nítrico interfirió cuando la solución contenía 30 y 40 ml. Obtuvo valores satisfactorios usando 0.2, 0.4, 0.5, y 0.6 gramos de periodato de potasio en 250 ml.

Snell y Snell (59) recomiendan analizar el manganeso en una solución que tenga una concentración de iones hidrógeno entre 0.01 y 5.5.

Consideran al ácido sulfúrico al 5% la concentración ideal para mantener estable el ion permanganato y dicen que el blanco debe ser preparado decolorando la solución analizada con agua oxigenada u otros oxidantes en una concentración que decolore sin reaccionar con periodato de potasio y formar peróxidos metálicos.

Mehlig (43) recomienda el uso de un exceso de ion periodato para evitar que la materia orgánica reduzca el ion permanganato.

Para la preparación de la muestra varios autores (11), 53) han preferido el procedimiento de digestión con ácidos fuertes, ya que consideran que cuando hay bastante manganeso y se sigue el proceso de incineración, una parte se retiene en el residuo de silicatos insolubles, y consideran que el manganeso únicamente se recupera si la sílice se volatiliza con ácido fluorhídrico. Pequeñas concentraciones

de ion cloruro son abolidas con un exceso de ion periodato y la interferencia del ion férrico es eliminada por el uso de ácido ortofosfórico (59).

Cook (11) usó ácido nítrico y ácido perclórico en la digestión de la muestra; Whatley y otros (67) ácido nítrico y ácido sulfúrico, y Piper (53) ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido perclórico. El último autor agregó a la digestión ion persulfato antes de finalizarse, para evitar que la muestra se decolorara por productos reductores.

Existen varios métodos para análisis de manganeso en el suelo. La mayoría de ellos difieren principalmente en el proceso de extracción. Peech (51) extrajo el manganeso intercambiable con una solución diluida de acetato de amonio a pH 7.0 y la oxidó a ion permanganato con ion periodato. Más tarde el mismo autor (52) usó el ion bismutato como oxidante y una solución extractora de acetato de sodio a pH 4.8, por considerarla más semejante a la solución del suelo. Se ha usado también para extraer el manganeso del suelo utilizable a las plantas, ciertas soluciones reductoras de hidroquinona, quinol e hiposulfito (24, 36, 33).

Calcio

La cantidad de calcio en las plantas varía

grandemente según la especie y las condiciones ambientales. Se ha encontrado que la mayor cantidad se halla en las hojas (44).

Kenworthy (35) obtuvo de 0.69 a 3.00% de calcio en hojas maduras de varias clases y variedades de árboles frutales. Dresdeff (15), trabajando con tung, encontró que el contenido de calcio aumenta con la edad de las hojas; esto fué comprobado por Myers y Brunstetter (49) en las mismas plantas al obtener una variación en el contenido de calcio de 0.6% en hojas nuevas, a 4.9% en hojas maduras. Dresdeff encontró un mayor contenido de calcio en las hojas cogidas de ramas con frutos terminales que en las sin frutos. Supuso que debido a una mayor preteclisis hubo una mayor producción de ácidos orgánicos y por lo tanto un aumento en el contenido de sales de calcio precipitadas. Gracie y Trench (23) ha encontrado en hojas de arbusto de café 1.30 y 0.83% de calcio; Urban (64), 0.93%.

MATERIALES Y METODOS

Procedencia y toma de las muestras

Las muestras de hojas de café "macho" y sano fueron cogidas el 9 de junio de 1951 en una finca ubicada en Rincón de Arias, Distrito del Cantón de Grecia. Dentro de la misma finca se seleccionaron dos lugares lo más semejantes posible en cuanto a características físicas del suelo, precipitación anual y temperatura, en uno de los cuales crecía café "macho" y en el otro café sano de alta producción. De cada lugar se tomaron diez muestras de hojas pertenecientes a diez árboles de la misma variedad y aproximadamente de la misma edad; al mismo tiempo, al pie de cada árbol seleccionado, se tomaron muestras de suelo, a dos profundidades diferentes: de 0" a 5" y de 5" a 10".

Todas las muestras de hojas se tomaron del medio de las bandolas situadas en el medio de la planta.

La igualdad en la toma de las muestras con respecto a posición relativa de las hojas en la planta, condiciones ambientales y variedad, son factores que podrían significativamente variar el contenido de los minerales en la planta (49, 15, 55). Por esta razón se tomaron todas las precauciones mencionadas.

Preparación de las muestras

Inmediatamente que las muestras fueron tomadas, se llevaron al laboratorio, se lavaron con agua corriente, y una vez secas se pusieron en bolsas de papel y se autoclavaron durante cinco minutos a cinco libras de presión para evitar pérdidas de materia orgánica por respiración. Terminado este proceso, los pesúeles fueron quitados con la mano y las hojas fueron lavadas con agua destilada y secadas a 65° C. durante 27 horas. Posteriormente fueron molidas en un molino de porcelana con piedras de pedernal marca "Abbe", lavado previamente con agua destilada. El pelve se colocó en bolsas de papel encerado antes de guardarse en frascos oscuros, con el objeto de evitar el roce con el vidrio e impedir así contaminación.

Las muestras de tierra fueron secadas al aire y guardadas en bolsas enceradas.

Análisis de Zinc

Al comiense de este trabajo se probó el método original de Cowling y Miller (15). La disminución progresiva de la gradiente de la curva, así como también la eliminación de una gran fuente de contaminación por el uso de reactivos y cristalería ahorrada en las etapas innecesarias, hicieron al método modificado por Heinen y Banna el preferido a seguir (25).

Se pesaron aproximadamente 2 gramos del material finamente pulverizado y se secaron a 70° C. en una cápsula de porcelana. Luego se colocó la cápsula en una mufla y se incineró lentamente sin que la temperatura excediera de 550° C. Una vez fría la ceniza, se le agregó de 3 a 5 ml. de ácido clorhídrico concentrado y se hirvió por 2 minutos. Se filtró a un frasco volumétrico de 200 ml., lavando varias veces con agua caliente hasta la comprobación de la no existencia de cloruros. Antes de aferar se neutralizó con una solución de hidróxido de amonio diluido usando rojo de metilo como indicador; luego se agregó 3.2 ml. de ácido clorhídrico 1 N., se enfrió y se aforó.

El papel de filtro usado se lavó previamente con porciones de 5 ml. de ácido clorhídrico diluido y agua caliente redestilada, hasta que los lavados no contuvieron ácido clorhídrico.

Remoción de interferencias, formación de ditizonato de zinc y separación del exceso de ditizona

Se tomó de la solución-ceniza una alícuota que contuviera no más que 15 microgramos de zinc y se pasó a un embudo separador. Una alícuota de 10 ml. fué suficiente en análisis de plantas. Se agregó 10 ml. de reactivo de ditizona y se agitó fuertemente durante 1 minuto. La fase de tetracloruro de carbono fué desechada y la fase acuosa

lavada con porciones de 2 ml. de tetracloruro de carbono puro. Luego se agregó 5 ml. más del solvente, se agitó durante 15 minutos y se desechó; se lavó de nuevo con tetracloruro de carbono como antes y se quitó el tapón para que el tetracloruro de carbono remanente se volatilizara. Posteriormente se agregó a la solución acuosa de zinc 40 ml. de solución A, 5 ml. de solución de carbamato y 25 ml. de solución de ditizona. Las soluciones de carbamato y ditizona se agregaron cuidadosamente de una pipeta o bureta. Se agitó fuertemente el embudo con su contenido durante 1 minuto. Separadas las fases se extrajo la solución acuosa por medio de un sifón y se removió el exceso de ditizona del extracto de tetracloruro de carbono, agitándolo durante 30 minutos con 50 ml. de una solución de hidróxido de amonio. 0.01N.

Evaluación del zinc presente

Se midió la densidad óptica de las soluciones en un fotocolorímetro Klett-Summerson de aproximadamente 1 cm. de diámetro, con la ayuda de un filtro verde de 7 mm. de espesor que transmite las longitudes de onda de 500 a 570 milimicrones.

La curva de calibración se preparó colocando en frascos volumétricos de 200 ml. diferentes cantidades de una solución de 10 microgramos por mililitro de zinc siguiendo

exactamente el método descrito.

Preparación de reactivos

Toda el agua usada en el análisis fué redestilada, los reactivos fueron cuidadosamente purificados y la cristalería minuciosamente lavada.

Solución de ditizona.- Se disolvió 0.1 gramos de difenilditioscarbazona en 250 mililitros de tetracloruro de carbono y se filtró la solución para remover la materia insoluble. Luego se colocó la solución en un embudo separador, se le agregó un litro de hidróxido de amonio 0.02N. y se agitó para incorporar la ditizona a la fase acuosa. Se descartó el tetracloruro de carbono y se lavó varias veces con el solvente hasta cuando éste presentó un color verde claro.

Ya libre la solución amoniacal de impurezas metálicas, se le agregó 250 ml. de tetracloruro de carbono puro y 20.5 ml. de ácido clorhídrico 1N. y se agitó para pasar la ditizona al extracto de tetracloruro de carbono. Se eliminó la solución acuosa y se diluyó a un litro la solución de tetracloruro de carbono que contenía la ditizona. Se guardó este reactivo en una botella oscura y en un lugar frío.

Solución diluída de ditizona.- Un volumen de la solución de ditizona anteriormente preparada, más cuatro

volúmenes de tetracloruro de carbono.

Solución de citrato de amonio 0.5M.- Se disolvieron 113 gramos de citrato de amonio en un litro de agua, se agregó de 40 a 42.5 ml. de hidróxido de amonio concentrado, hasta cuando la solución tuvo un pH que varió de 8.5 y 8.7. Se purificó la solución con ditizona y se guardó en una botella pyrex.

Solución de carbonato.- 0.125 gramos de dietilditiocarbonato de sodio se diluyeron a 100 ml. con agua redestilada y luego se purificó la solución de metales y compuestos oxidantes extrayéndola con tetracloruro de carbono.

Solución A.- Se diluyó con agua redestilada 250 ml. de citrato de amonio 0.5 M. y 35 ml. de hidróxido de amonio 1N. a un litro.

Soluciones de hidróxido de amonio 1N. y 0.01N. y ácido clorhídrico 1N.- Las soluciones diluidas de ácido clorhídrico y hidróxido de amonio fueron preparadas destilando el ácido y la base cuando su grado de pureza no satisfizo y se valoraron para tener la normalidad exacta; cuando se usaren productos de los laboratorios Baker únicamente se redestiló el agua. El tetracloruro de carbono fué destilado con una solución de tiosulfato de sodio alcalinizada con hidróxido de sodio (1 + 100), secada con

cloruro de calcio y destilada luego con óxido de calcio.

Solución madre de zinc.- Se pesaron aproximadamente 0,025 gramos de zinc metálico marca Baker, previamente lavado con ácido clorhídrico diluido y agua redestilada y secado a 60° C., se pasó esta cantidad a un frasco volumétrico de 250 ml. Se le agregó aproximadamente 50 ml. de agua y 1 ml. de ácido sulfúrico concentrado y se calentó sobre un baño de maría hasta cuando todo el zinc se disolvió. Posteriormente se diluyó a 250 ml. y se guardó en una botella pyrex.

De esta manera se prepararon dos soluciones madres de zinc, una de 1.493 microgramos por mililitro y otra de 999.6 microgramos por mililitro. Ambas se usaron para preparar solución de 10 microgramos por mililitro de zinc. Con cada una de estas últimas soluciones se verificó la curva de calibración del aparato y así se las controló por duplicado;

Los resultados de las dos curvas con diferentes soluciones son los siguientes:

Microgramos de zinc presentes en la alícuota analizada	Curva A Densidad óptica	Curva B Densidad óptica
0	49.5	45.0
2.5	111.75	116.0
5.0	177.5	180.0
7.5	241.0	241.0
10.0	305.0	

Para los análisis se usó la curva A como curva de calibración del aparato.

Antes de comenzar los análisis de zinc en muestras de hojas, se analizó una solución cuya alícueta contenía 8.75 microgramos de zinc por mililitro y 10 microgramos de cobre por mililitro. El análisis comprobó la existencia de 9.34 microgramos de zinc por mililitro, presentándose una variación de + 0.59. Se consideró que el cobre no llegaría a interferir en los análisis de hojas ya que de acuerdo a Shirley, Benne y Miller (57), rara vez se presenta 40 microgramos de cobre por gramo de tejido vegetal, que correspondería a 10 microgramos de cobre en la alícueta tomada por el método seguido.

Análisis de manganeso

Para los análisis de manganeso en hojas se siguieron dos procedimientos: uno, digiriendo la muestra con ácidos fuertes, según el método Piper (53) y otro, incinerándola y siguiendo el método de Peech adaptado a plantas por Parks (50). Al método seguido por Piper se le hicieron pequeñas modificaciones: la muestra no se digirió desde un principio con ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido perclórico como lo exige el método, sino que primero se destruyó con ácido nítrico la materia más fácilmente oxidable, y después que se obtuvo un producto completamente

desintegrado se le puso ácido sulfúrico y ácido perclórico para completar la digestión. Esta modificación se hizo para evitar el peligro que presenta el ácido perclórico concentrado y caliente en presencia de productos fácilmente oxidables pues reacciona violentamente produciendo explosiones (11). Después de haber analizado varias veces el método descrito por Piper, se observó que se obtenía una completa formación y estabilidad del ion permanganato, poniendo un pequeño exceso de periodato de potasio y digiriendo la solución en el baño de maría durante una hora, para tener seguridad de una completa oxidación de todos los productos que destruye el ion permanganato.

La preparación de la solución-ceniza para el análisis de manganeso usando el segundo método, se hizo siguiendo el método descrito por Heinen y Benne, explicado anteriormente. Luego se tomó una alícuota y se siguió el método seguido por Peesh y adaptado por Parks para análisis de plantas (50). Se modificaron un poco las cantidades de los reactivos usados, para obtener una solución final de 25 ml.

Además de llevar un blanco en todos estos análisis, las soluciones coloreadas de las muestras 11, 19, 9, 4, 16, 15 y 10 se decoloraron con agua oxigenada comprobándose

la no existencia de iones coloreados que pudieran interferir en la determinación.

Método según Piper

Se tomó una muestra de uno a dos gramos de material secado a 70° C., se le agregaron de 10 a 15 ml. de ácido nítrico y se digirió hasta que no hubo gran desprendimiento de óxidos de nitrógeno. Se le agregaron luego 5 ml. de ácido sulfúrico y 4 ml. de ácido perclórico. Cuando la solución estuvo digerida, se le pusieron 5 ml. de solución de persulfato de amonio y se llevó nuevamente al calentador para esfumar fuertemente durante 5 minutos. Fría la digestión, se le agregaron 2 ml. de ácido fosfórico y 35 a 50 ml. de agua caliente. Se recogió el filtrado en un recipiente de aproximadamente 200 ml. y se evaporó en el baño de maría hasta obtener aproximadamente 25 ml.; luego se agregaron aproximadamente 0.5 gramos de periodato de potasio y se hirvió cuidadosamente hasta que el color del permanganato de potasio se desarrolló.

Posteriormente se diluyó con 25 a 35 ml. de agua y se hirvió nuevamente durante 2 minutos para asegurarse el desarrollo máximo del color. Se pasó la solución a un balón aforado de 100 ml. y se colocó dentro de un baño de maría durante una hora; se enfrió y se diluyó a la marca con agua previamente hervida. La densidad óptica

se midió en un fotocolorímetro Klett-Summerson en una cédula de aproximadamente un centímetro de diámetro y con la ayuda de un filtro verde.

Para la confección de la curva de calibración del aparato, se prepararon soluciones tipo, midiendo con pipeta diferentes cantidades de una solución de manganeso divalente de concentración conocida, en frascos volumétricos aforados a 100 ml. Se acidificaron las soluciones con 10 ml. de ácido sulfúrico concentrado y 2 ml. de ácido fosfórico concentrado. El color de la solución se desarrolló siguiendo exactamente el procedimiento ya descrito.

La confección de la curva se verificó dos veces, usando soluciones de manganeso, preparadas por dos procedimientos diferentes. Uno fué el método seguido por Peesh y otro el método usado por Piper. Se logró así controlar la pureza de los reactivos. Las curvas de calibración preparadas con esas soluciones resultaron iguales.

Con la solución de 104 microgramos de manganeso por mililitro, siguiendo el método de Piper, se obtuvieron los siguientes resultados:

Microgramos de manganeso	Densidad óptica
0	0
256	56
513	113
1034	227.5

Con la solución de 25 microgramos de manganeso por mililitro, siguiendo el método de Peech, se obtuvieron los siguientes resultados:

Microgramos de manganeso	Densidad óptica
0	0
100	21
250	54
500	109
1000	219
1500	338

Preparación de reactivos

Solución madre de manganeso.- Se disolvieron aproximadamente 0,2878 gramos de permanganato de potasio (reactivo de los laboratorios Baker) en un frasco volumétrico aforado a un litro; luego se le agregó 40 ml. de ácido sulfúrico concentrado y se redujo el permanganato por la adición cuidadosa de solución de bisulfito de sodio hasta que la solución estuvo completamente incolora. Se oxidó el

exceso de ácido sulfúrico por la adición de un poquito de ácido nítrico y se diluyó con agua destilada a un litro.

Solución de persulfato de amonio.- Se disolvieron 20 gramos de persulfato de amonio en agua caliente y se diluyó a 100 ml. Esta solución se preparó inmediatamente antes de usarse.

Método según Parks

Después de haber preparado la solución-ceniza por el método Benné y Heinen, se tomó una alícuota de esta solución dentro de un beaker de 50 ml. y se evaporó a sequedad en un baño de vapor para remover el ácido clorhídrico. Se disolvió el residuo con 15.8 ml. de ácido nítrico 1N. se pasó a un balón aferado de 25 ml., luego se le puso 2.5 ml. de ácido fosfórico al 85% y aproximadamente 50 mg. de periodato de sodio, y se calentó en el baño de maría durante una hora. Una vez fría se aferó con agua hervida y se leyó su densidad óptica. El contenido de manganeso se averiguó comparando las lecturas con las obtenidas en una curva de calibración del aparato, previamente confeccionada.

Preparación de solución madre de manganeso.- 0.072 gramos de permanganato de potasio se pusieron en un erlenmeyer de 250 ml.; se les agregó aproximadamente 50 ml. de agua destilada y unas pocas gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se calentó a ebullición y se redujo el

permanganato por la adición de sulfito de sodio. Se hirvió para evaporar el exceso de bióxido de azufre y se diluyó a un litro. Cada mililitro contiene 25 microgramos de manganeso.

Análisis de manganeso intercambiable en el suelo

Estos análisis se hicieron siguiendo el método de Peech (52). Dos gramos de suelo secados al aire se agitaron con aproximadamente 0.05 gramos de carbón activado y 10 ml. de solución extractora durante 30 minutos y se filtró.

Evaluación del manganeso.- Se tomó una alícuota de 2 ml. del extracto y se pasó a un tubo de 65 x 19 mm., se añadió 0.2 ml. de ácido sulfúrico concentrado y se mezcló. Después de enfriarse a temperatura ambiente, se le añadió aproximadamente 0.1 gramo de bismutato de sodio, se agitó durante 30 segundos, y se dejó el exceso de bismutato asentar. Tan pronto como todo el bismutato estuvo precipitado, que ocurre aproximadamente después de 30 minutos, se comparó visualmente con una serie de soluciones tipo preparadas al mismo tiempo.

Se usó una solución de 20 microgramos por mililitro de manganeso preparada por el método de Peech.

Análisis de pH en el suelo

Los pHs se analizaron en muestras tomadas a las profundidades de 0 - 5 y 5 - 10". Se analizó en un potenciómetro Beckman con una relación suelo: agua de (1:5).

Análisis de calcio

Con el objeto de averiguar si el molino de porcelana a usarse en el experimento aportaría alguna cantidad de calcio durante el proceso de la molienda, se decidió hacer análisis previos comparativos entre el contenido de calcio en hojas de café cuando se usaba dicho molino en el proceso, con el obtenido cuando se usaba un molino de cuchillas de hierro. Para el efecto se hizo uso de hojas de árboles de café de la región de Turrialba; la muestra fué seleccionada y preparada de la misma manera como se hizo para el trabajo propiamente dicho y que más adelante se describe. Se homogeneizó con las manos hasta donde fué posible, con el fin de obtener un buen cuarteo; posteriormente, se dividió en cuatro partes, dos de las cuales se molieron en uno de los molinos arriba mencionados y las dos restantes en el otro.

Los análisis se hicieron por el mismo método volumétrico usado en el transcurso del experimento.

Resultados Analíticos

Porcentajes de calcio en muestras de hojas de café			
Molido en molino de cuchillas de hierro		Molido en molino de porcelana	
No. 1	No. 2	No. 1	No. 2
1.00	0.99	0.98	0.99

Estos resultados muestran que no hay liberación de calcio por el molino de porcelana.

Para los análisis de calcio se siguió exactamente el método volumétrico descrito por Loomis y Shull (39). Este método consiste en preparar la solución-ceniza por incineración, extrayendo la ceniza con ácido clorhídrico concentrado. Se precipitó el calcio como oxalato y se tituló éste con una solución valorada de permanganato de potasio aproximadamente 0.1N.

RESULTADOS

Análisis de las plantas

Antes de presentar los resultados de los análisis químicos realizados en este trabajo, se debe hacer resaltar el hecho de que las cenizas de todas las 10 muestras de café "macho" utilizadas en este estudio, presentaron un color verde, fácilmente distinguible del color blanco-crema de las cenizas del café sano. La formación de cenizas con color verde es, según Robinson (56), una característica en plantas con alto contenido de manganeso. El color se debe a la formación de manganatos alcalinos. Esta observación concuerda con el contenido de manganeso obtenido en los análisis químicos de las hojas de café "macho".

La cantidad de zinc, manganeso y calcio obtenida en las hojas de plantas sanas y afectadas se encuentran en las tablas 1, 2 y 3, y en las figuras 1, 2, y 3 respectivamente.

En la tabla 4, se encuentran los análisis estadísticos que comparan el contenido de estos elementos entre plantas afectadas y sanas. El promedio total del contenido de zinc en las hojas de plantas afectadas fué de 15.2 microgramos, y en plantas sanas de 20.9 microgramos. La diferencia de estos promedios analizada estadísticamente resultó altamente significativa, como se expresa en la tabla 4.

El promedio total del contenido de manganeso en plantas afectadas fué de 803.9 microgramos, y en plantas sanas de 165.7 microgramos. Estos datos demuestran que la concentración de manganeso en las plantas afectadas fué aproximadamente 5 veces el presente en las sanas. La diferencia de estos promedios analizada estadísticamente, excedió enormemente el nivel para un valor altamente significativo. En los análisis de calcio se obtuvo un promedio total de 1.33 por ciento para las plantas afectadas y 1.65 por ciento para las plantas sanas. La diferencia entre estos dos valores fué significativa.

Análisis del suelo

En las tablas 5 y 6 se encuentra el contenido de manganeso intercambiable en los suelos a las profundidades de 0 - 5 y 5 - 10 pulgadas respectivamente.

El pH de los suelos a las mismas profundidades se encuentra en la tabla 7. La tabla 8 presenta un resumen de los análisis estadísticos de los valores de pH y contenido de manganeso en el suelo. Los gráficos 4 y 5 representan las tablas 6 y 7 respectivamente.

La diferencia entre los suelos de café "macho" y sano con respecto al contenido de manganeso intercambiable fué de 3.4 y 3.6, a las profundidades de 0 - 5 y 5 - 10 pulgadas respectivamente. Esta diferencia sólo fué significativa a la profundidad de 5 - 10 pulgadas, como se

demuestra en la tabla 8.

El promedio total de los valores del pH en suelos con café "macho" fué de 4.96 y 5.27 a las profundidades de 0 - 5 y 5 - 10 pulgadas respectivamente. En suelos con café sano se obtuvo un promedio de 5.74 y 5.92 respectivamente. Las diferencias entre suelos con café "macho" y sano a ambas profundidades dieron valores altamente significativos.

Observando las tablas 5 y 6 se nota un aumento de manganeso intercambiable al profundizar la toma de muestra, principalmente en los suelos con café "macho". De los 10 lugares donde se tomaron muestras de suelo con café "macho", 6 aumentaron su contenido a una profundidad de 5 a 10 pulgadas comparados con las tomadas de 0 a 5 pulgadas; en los suelos con café sano, únicamente 3 aumentaron su contenido.

La tabla 9 presenta datos sobre el contenido de manganeso en las hojas de algunas muestras analizadas por el método de Parks modificado. Los datos presentes en esta tabla, comparados con los datos obtenidos en las mismas muestras analizadas para manganeso por otro método, presentes en la tabla 2, demuestran valores más bajos. Estos resultados nos confirman la idea de Piper y otros (53) al afirmar que las preparaciones de solución-ceniza por incineración produce pérdidas de manganeso al retenerse éste en el residuo de silicatos insolubles en ácidos fuertes.

Tabla 1.- Contenido de zinc en hojas de café "macho" y café sano.

Microgramos de zinc por gramo de materia seca

Muestra No.	En café "macho"		Muestra No.	En café sano		
	Análisis			Análisis		
	A	B		A	B	
1	15.1	15.8	11	20.4	19.8	20.1
2	19.9	-----	12	19.0	19.9	19.5
3	13.2	12.9	13	20.1	22.8	21.5
4	17.9	14	17.8	-----	17.8
5	15.8	13.5	15	20.1	19.5 ^b	19.5
				19.3	21.4	
				19.4	19.4	
6	16.1	16.5	16	27.0	28.2	27.6
7	11.8	11.6	17	15.6	15.1	15.4
8	13.4	13.8	18	23.9	26.3	25.1
9	13.3	12.6	19	23.9	25.1	24.5
10	16.5 ^a	17.3	20	15.9	19.3	17.6
Promedio total	15.2				20.9	

a - Promedio de 16.6-16.4 analizados en alícuotas de una misma solución ceniza.
 b - Promedio de 18.9-20.0-19.5-19.5 analizados en alícuotas de una misma solución ceniza.

10

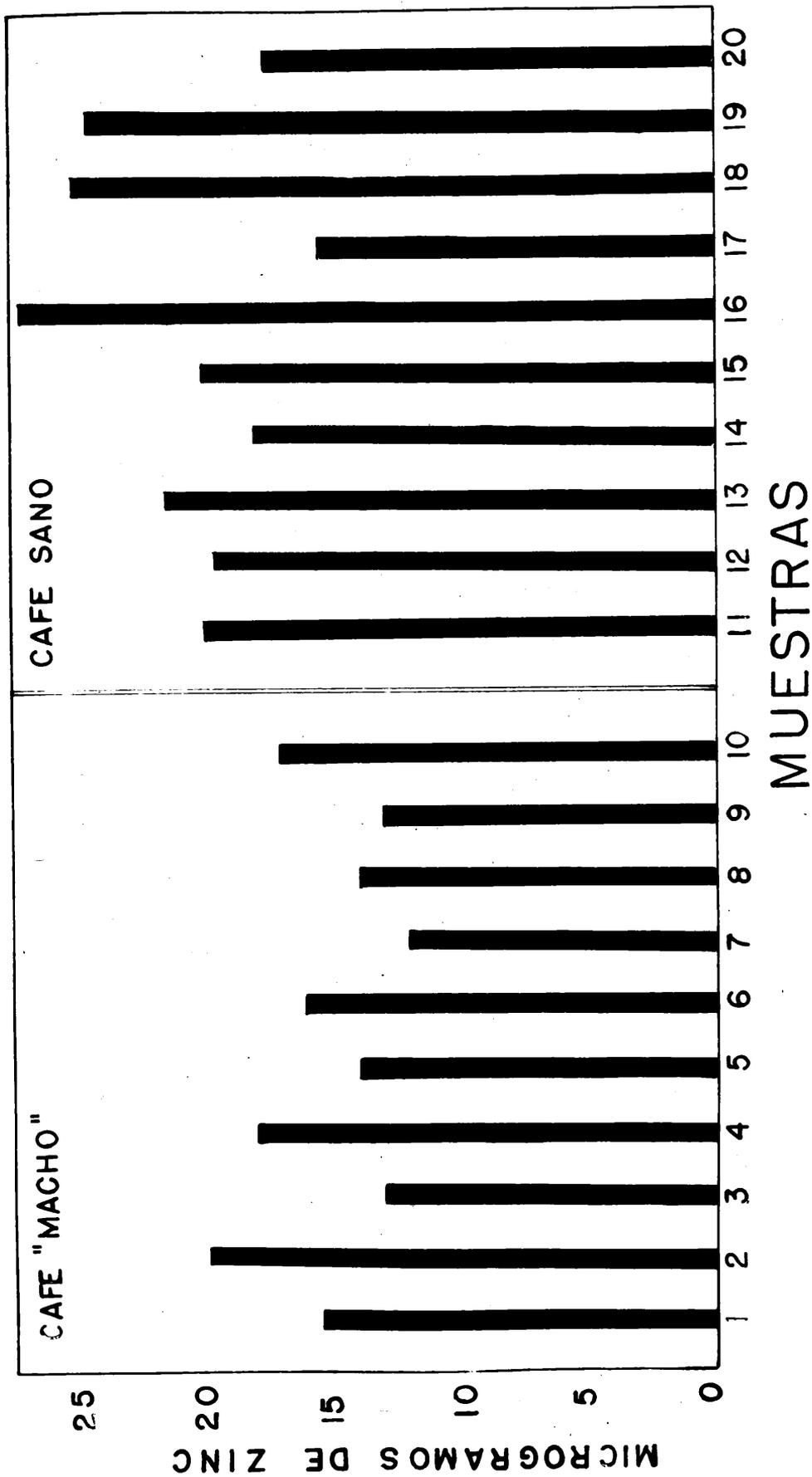


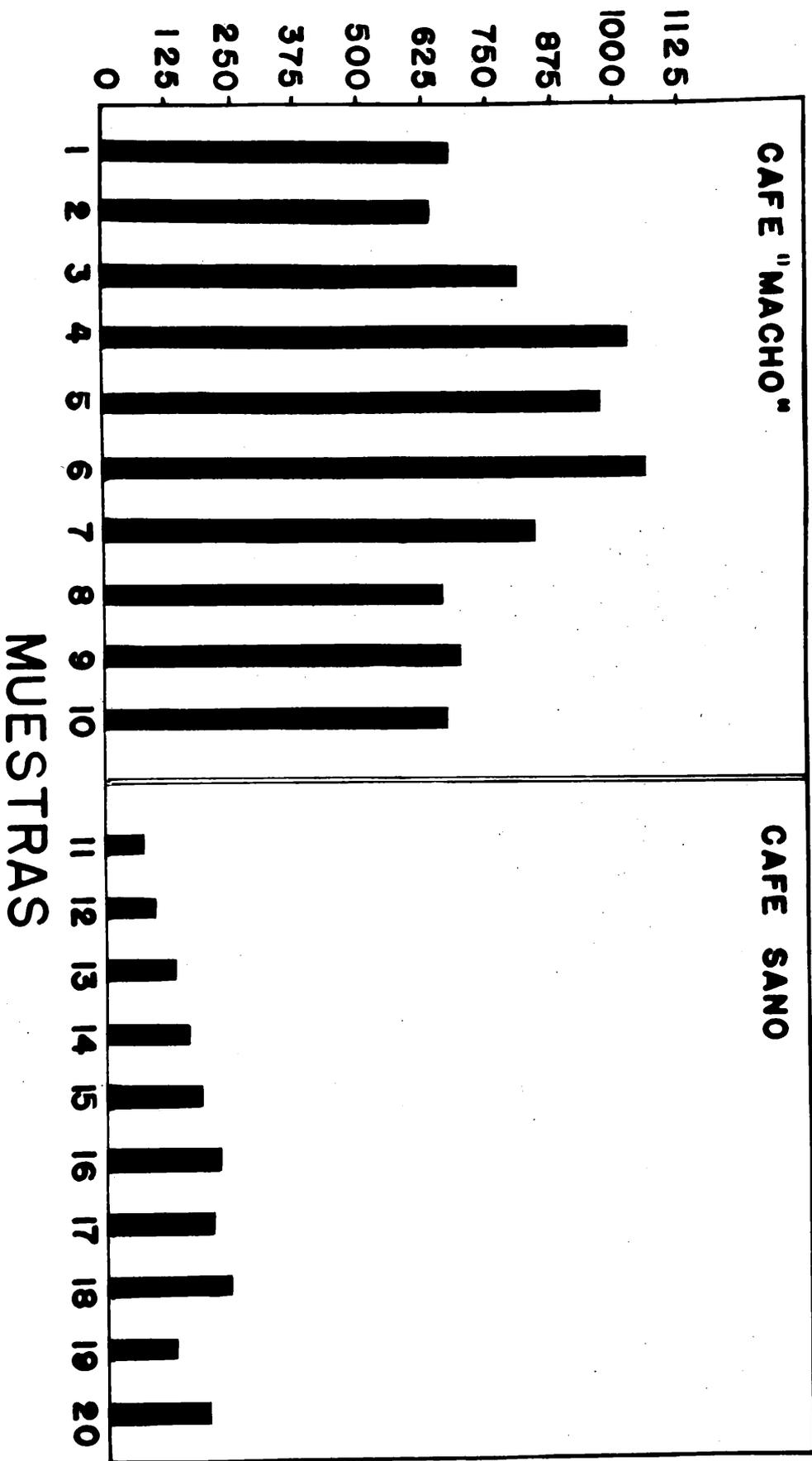
GRAFICO - I - CONTENIDO DE ZINC POR GRAMO DE MATERIA SECA EN HOJAS DE CAFE "MACHO" Y SANO

Tabla 2.- Contenido de manganeso en hojas de café "macho" y café sano por el método de Piper

Microgramos de manganeso por gramo de materia seca

Muestra No.	Café "macho"		Café sano		
	Análisis		Muestra No.	Análisis	
	A	B		A	B
1	709.5	697.4	74.9	80.2	77.6
2	653.6	632.9	120.0	118.0	119.0
3	756.8	780.6	150.7	136.9	143.8
4	987.2	1023.0	148.5	146.1	147.3
5	992.2	991.4	174.6	172.7	175.1
6	1049.5	1065.4	226.3	232.0	229.2
7	818.2	814.9	196.9	193.8	195.4
8	671.1	671.9	235.1	233.1	234.1
9	710.9	705.1	142.0	146.4	144.2
	689.2	685.4			
10	649.9	697.2	200.6	181.9	191.3
Promedio total	803.9		165.7		

MICROGRAMOS DE Mn.



CAFE "MACHO"

CAFE SANO

MUESTRAS

GRAFICO 2 - CONTENIDO DE MANGANESO POR GRAMO DE MATERIA SECA EN HOJAS DE CAFE "MACHO" Y SANO

Tabla 3.- Contenido de calcio en hojas de café "macho" I
café sano

Porcentaje de calcio en materia seca

Muestra No.	Café "macho"		Muestra No.	Café sano	
	A	B		A	B
1	1.71	1.72	11	1.41	1.41
2	1.83	1.81	12	2.03	2.02
3	1.84	1.85	13	1.98	1.99
4	2.00	1.92	14	1.35	1.30
5	2.06	2.01	15	1.52	1.54
6	1.81	1.82	16	1.64	1.64
7	1.76	1.74	17	1.65	1.66
8	1.71	1.72	18	1.59	1.61
9	1.93	1.90	19	1.45	1.42
10	2.19	2.15	20	1.71	1.69
Promedio total		1.88			1.63

1/2

PORCENTAJE DE CA

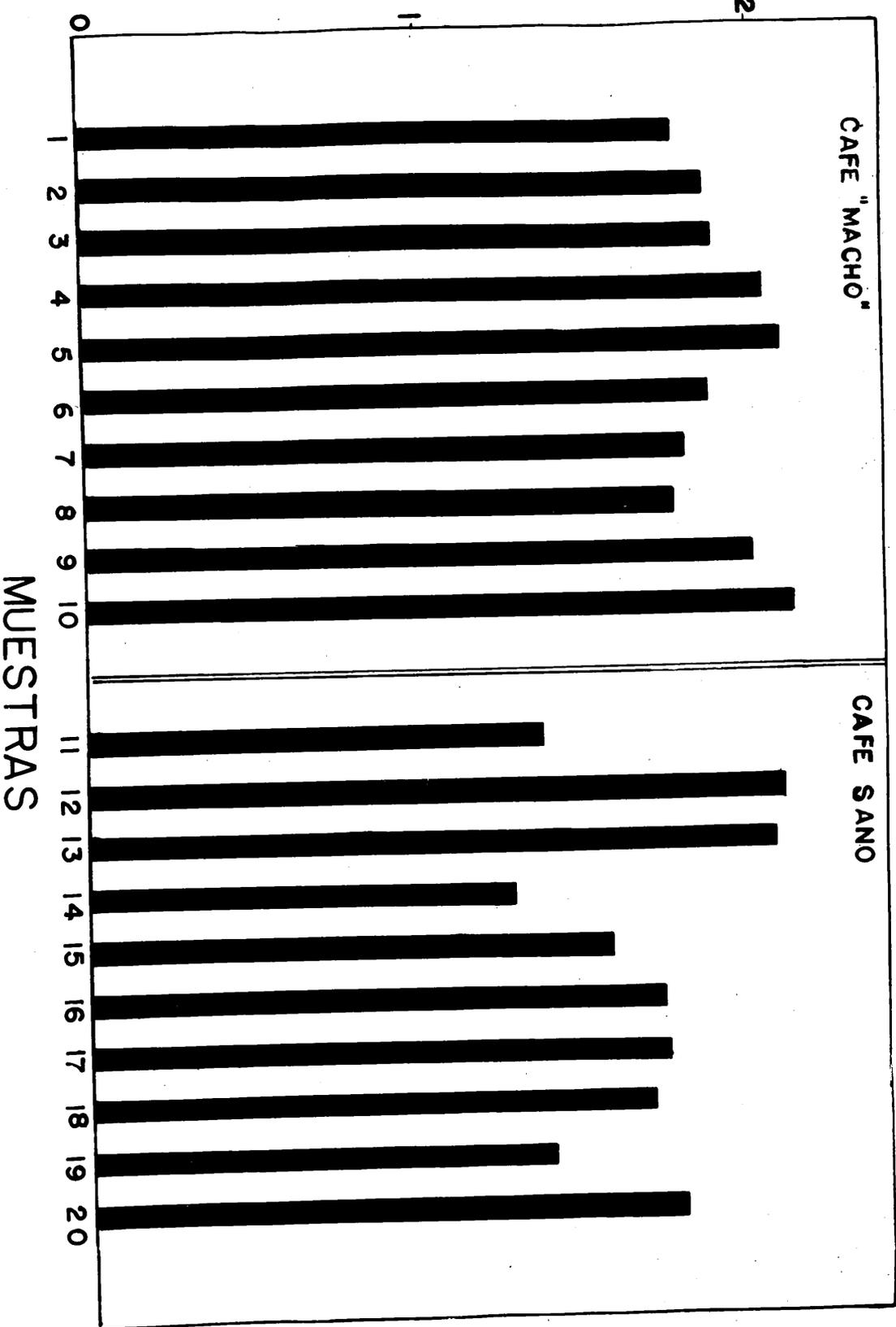


GRAFICO 3 - CONTENIDO DE CALCIO SOBRE MATERIA SECA EN HOJAS DE CAFE "MACHO" Y SANO

MUESTRAS

Tabla 4.- Diferencias y prueba de significación en el contenido
de manganeso, zinc y calcio en plantas con café "macho"
y café sano

Elemento analizado	Diferencia entre Macho vs. Normal	Error standard de la diferencia entre promedios	Valor de t.
Zinc	- 5.64	1.451	3.886 ^{NI}
Manganeso	638.18	52.69	12.111 ^{NI}
Calcio	0.244	0.08656	2.818 [*]

* Excede el nivel de t. al 5% (2.101)

NI Excede el nivel de t. al 1% (2.876)

Tabla 5.- Análisis de manganeso intercambiable en suelos con
café "macho" y café sano. Muestras tomadas a una
profundidad de 0-5 pulgadas.

MICROGRAMOS POR GRAMO

Muestra No.	Con café "macho"		Con café sano	
	Análisis No. 1	Análisis No. 2	Análisis No. 1	Análisis No. 2
1	10.0	10.0	6.0	5.0
2	25.0	25.0	6.0	6.0
3	13.0	13.0	5.0	5.0
4	8.0	8.0	4.0	4.0
5	10.0	10.0	4.0	5.0
6	6.0	8.0	12.0	10.0
7	6.0	6.0	8.0	8.0
8	10.0	3.0	20.0	20.0
9	6.0	6.0	4.0	3.0
10	12.0	10.0	3.0	3.0
Promedio Total	10.6		7.2	

1/4

Tabla 6.- Análisis de manganeso intercambiable en suelos con
café "macho" y café sano. Muestras tomadas a una
profundidad de 5 - 10 pulgadas

P.P.M.

Muestra No.	Con café "macho"		Con café sano	
	Análisis No. 1	No. 2 Promedio	Muestra No.	Análisis No. 1 No. 2 Promedio
1	6.0	5.0	11	6.0 6.0 6.0
2	9.0	9.0	12	6.0 6.0 6.0
3	15.0	13.0	13	5.0 4.0 5.0
4	9.0	10.0	14	4.0 4.0 4.0
5	9.0	10.0	15	8.0 8.0 8.0
6	10.0	10.0	16	12.0 10.0 11.0
7	14.0	15.0	17	8.0 8.0 8.0
8	8.0	7.0	18	16.0 15.0 16.0
9	13.0	12.0	19	5.0 4.0 5.0
10	16.0	15.0	20	6.0 5.0 6.0
Promedio total		11.1		7.5

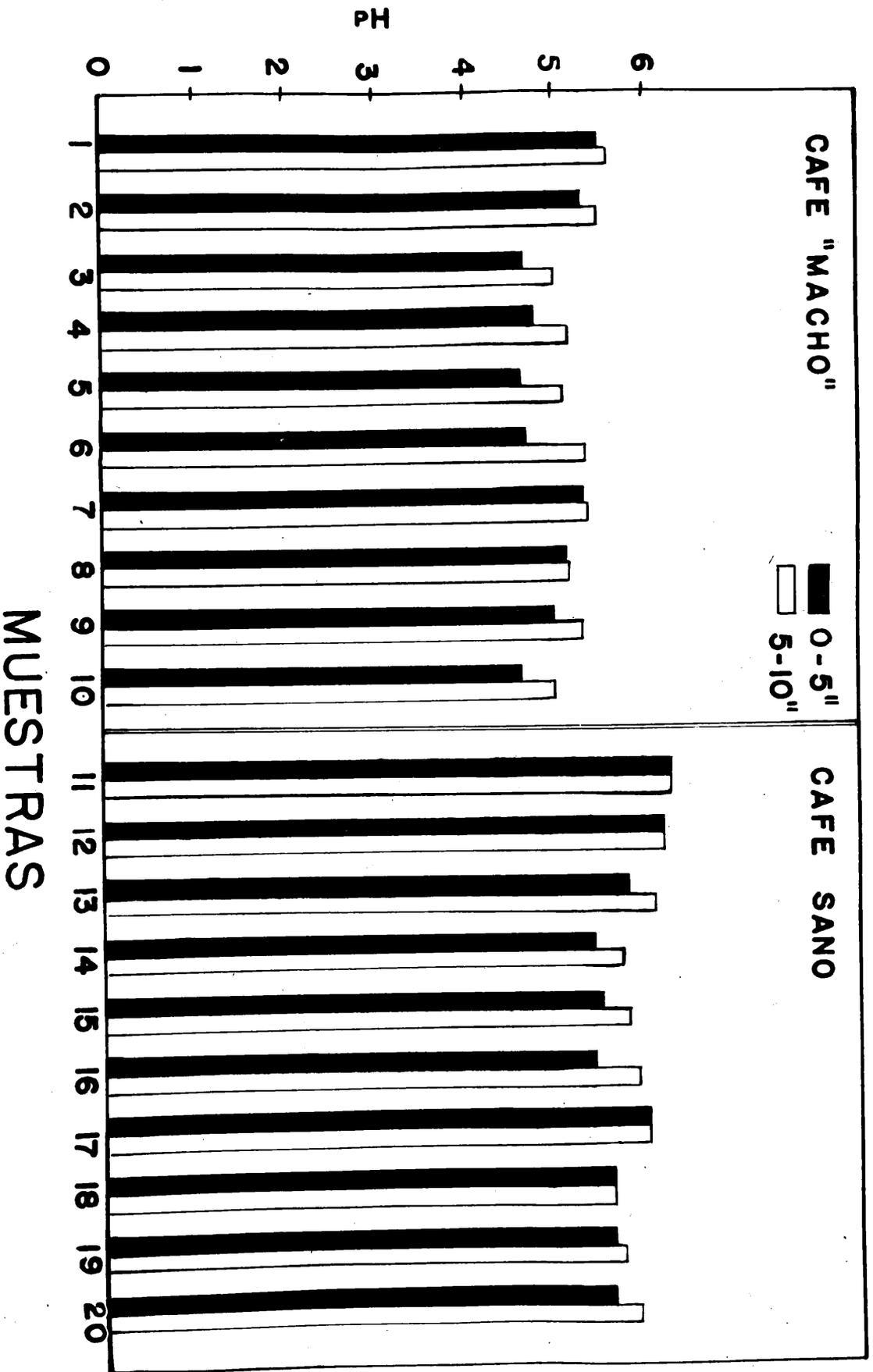


GRAFICO 5 - PH DE LOS SUELOS CON CAFE "MACHO" Y SANO A DOS PROFUNDIDADES: 0-5 Y 5-10 PULGADAS

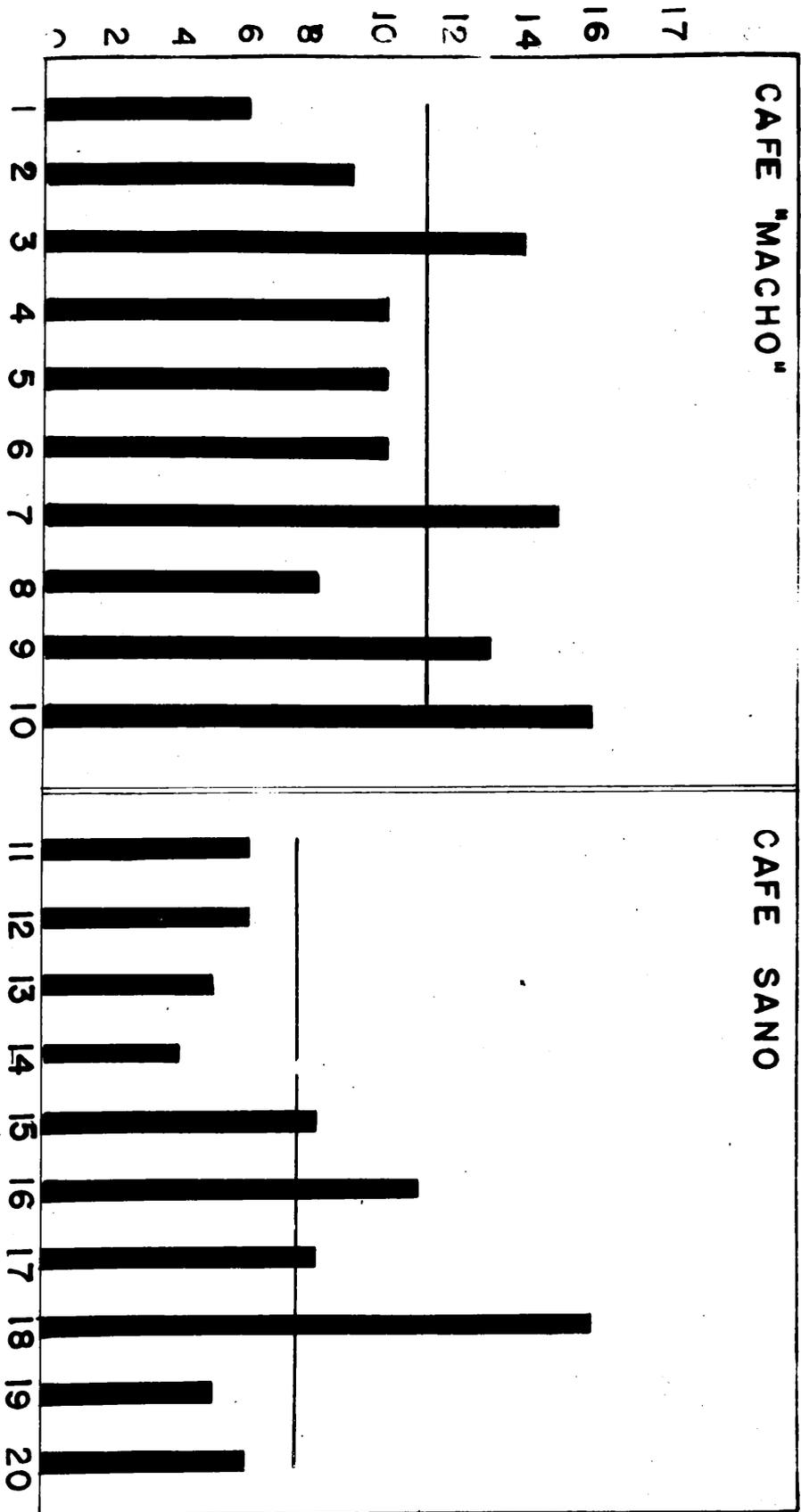
^A Tabla 7.- Valores del pH de los suelos con café "macho" y café sano

		Profundidad 0" - 5"					Profundidad 5" - 10"				
Nuestra No.	Con café "macho"	Nuestra No.	Con café sano	Nuestra No.	Con café "macho"	Nuestra No.	Con café "macho"	Nuestra No.	Con café sano		
1	5.5	11	6.3	1	5.6	11	6.3				
2	5.3	12	6.2	2	5.5	12	6.2				
3	4.7	13	5.8	3	5.0	13	6.1				
4	4.8	14	5.4	4	5.2	14	5.7				
5	4.6	15	5.5	5	5.1	15	5.8				
6	4.7	16	5.4	6	5.4	16	5.9				
7	5.3	17	6.0	7	5.4	17	6.0				
8	5.1	18	5.6	8	5.2	18	5.6				
9	5.0	19	5.6	9	5.3	19	5.7				
10	4.6	20	5.6	10	5.0	20	5.9				
Promedio total		4.96		5.74		5.27		5.92			

46-

^A Promedio de dos duplicados.

MICROGRAMOS DE MANGANESO



MUESTRAS

GRAFICO 4 - CONTENIDO DE MANGANESO INTERCAMBIABLE EN SUELOS CON CAFE "MACHO" Y SANO (PROF. 5 - 10")

Tabla 8.- Diferencias y prueba de significación en el contenido de manganeso intercambiable y pH a las profundidades de 0 a 5 y 5 a 10 pulgadas en el suelo donde crece café "macho" y sano

Factor analizado	Diferencia entre Macho vs. Normal	Error standard de la diferencia entre promedios	Valor de t.
Manganeso intercambiable (Prof. 0 - 5")	3.4	2.371	1.433
Manganeso intercambiable (Prof. 5 - 10")	3.6	1.532	2.349 ^a
pH (Prof. 0-5")	- 0.78	0.1456	5.357 ^{ab}
pH (Prof. 5-10")	- 0.65	0.2053	3.166 ^{ab}

Tabla 9.- Contenido de manganeso en hojas de café "macho" Y
café sano por el método de Parks

Microgramos de manganeso por gramo de materia seca

Muestra No.	Café "macho"		Promedio	Muestra No.	Café sano		Promedio
	Análisis A	B			Análisis A	B	
	4	965.5			---	---	
5	974.8	981.3	965.1	15	196.1	---	---
6	970.0	1012.2		16	199.1	186.5	
7	775.0	760.0		17	205.1	188.8	

±
φ

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las muestras de hojas de café "macho" analizadas revelaron un contenido de manganeso aproximadamente cinco veces mayor al presente en las muestras de hojas de café sano. También se notó una disminución en el contenido de zinc y un aumento en el porcentaje de calcio en las hojas de café "macho" en comparación con las hojas de los arbustos sanos. Los suelos con café "macho" presentaron mayor acidez que los suelos con plantas normales.

En los últimos años, varios autores han demostrado que una de las principales causas de la infertilidad de los suelos ácidos está en la excesiva cantidad de manganeso soluble generalmente encontrado en ellos (48, 61, 38, 46, 24). Una alta concentración de iones de hidrógeno facilita los procesos de reducción y por lo tanto aumenta la concentración de iones divalentes de manganeso, que son los más fácilmente absorbidos por las plantas (18). Los síntomas de toxicidad de manganeso que se observan en plantas cultivadas en estos suelos se corrigen por medio de tratamientos que reducen la acidez del terreno, como por ejemplo la aplicación de cal (46, 48, 3). Aunque ningún trabajo ha sido publicado hasta la fecha sobre la posible utilización de cal, como tratamiento curativo para el café "macho", muchos finqueros costarricenses de la zona

cafetalera donde ocurre la afección, consideran la aplicación de cal como una medida eficaz contra la enfermedad.

Como dato interesante cabe mencionar que los suelos con café "macho" de donde se obtuvieron las muestras incluidas en este trabajo fueron posteriormente abonadas con carbonato de calcio por Camacho (9), obteniéndose mejoras en el aspecto de la planta y aumento en la floración. Estas observaciones concuerdan con trabajos realizados en otras plantas, en las cuales la toxicidad de manganeso se corrigió con aplicación de cal al suelo.

El zinc presente en el suelo no ha sido muy estudiado en sus formas utilizables por las plantas. Parece que la fijación del zinc en el suelo no se debe únicamente a fenómenos de cambio de cationes (6). La cantidad de zinc en el suelo asimilable por las plantas disminuye con la elevación del pH, y por esto las deficiencias de este elemento generalmente ocurren en plantas que crecen en suelos neutros o alcalinos (29). En estos suelos se forman compuestos insolubles o poco solubles, como carbonatos, óxidos e hidróxidos de zinc, hierro, manganeso y cobre(61). El aumento de la concentración de iones hidrógeno en un suelo, produce en general un aumento de estos micro-elementos en forma soluble y utilizable por las plantas.

La selección de los suelos analizados en este trabajo

se hizo tomando en cuenta que tanto el café "macho" como el sano, crecían en terrenos cercanos y lo más semejantes posible en cuanto a sus características físicas; basándose en este hecho no hay motivo para suponer que exista diferencia en el contenido de microelementos de los suelos con café "macho" y café sano, causada por diferencias en el origen del suelo, pero sí cabe suponer que existe diferencia en cuanto a la forma más o menos asimilable en que se encuentran esos elementos.

El aumento de acidez en los suelos con café "macho" no nos permite creer que la causa de la menor concentración de zinc en las plantas afectadas se deba a una disminución del zinc en el suelo en forma utilizable por las plantas. Si la causa de la afección de café "macho" fuera una deficiencia de zinc en el suelo, esta afección debería aparecer en suelos menos ácidos, en donde la disponibilidad del zinc es disminuída.

En los últimos años se ha estudiado la interrelación de los microelementos en las plantas, principalmente hierro, manganeso, boro y zinc. Hay indicaciones de que cuando uno de estos elementos está presente en cantidades tóxicas, puede desplazar a otros microelementos en los sistemas enzimáticos de las plantas (55). Lucas (40) abonando con sulfato de zinc disminuyó el contenido de manganeso en las

plantas. Otros autores han disminuido la concentración de manganeso en las plantas con aplicaciones de ácido bórico al suelo (20) y también con aplicaciones de molibdato de amonio (45).

La diferencia que se presenta en el contenido de manganeso entre las hojas de café "macho" y café sano, es mucho más grande que la diferencia encontrada con respecto al contenido de zinc. Por consiguiente hay más motivos para suponer que la causa primaria de la afección sea la toxicidad de manganeso y que el menor contenido de zinc en las plantas afectadas, sea probablemente una consecuencia de la sustitución del zinc por el manganeso en alguno de los sistemas enzimáticos de las plantas.

El mayor contenido de calcio en plantas con café "macho" es probable que se deba a un mayor contenido de ceniza, debido a un crecimiento más lento en dichas plantas que en las normales. Morris (47) da la misma explicación al interpretar un aumento de calcio en plantas crecidas en soluciones nutritivas con un alto contenido de manganeso.

Los análisis de manganeso intercambiable en el suelo mostraron mayor concentración en los suelos con café "macho". La diferencia es aparentemente pequeña, en comparación con las encontradas en los análisis de las hojas. Löhnis (38)

estudiando toxicidad de manganeso en frijoles, no encontró correlación entre el contenido de manganeso en las plantas y en el suelo. Es importante considerar que los métodos analíticos de extracción de manganeso disponible a las plantas en el suelo, no son perfectamente comparables a la capacidad de absorción de las raíces. Es posible también que esta diferencia hubiera sido mayor, si las muestras no hubieran sido recogidas en época de invierno. En esta época hay en general grandes pérdidas de minerales por la lixiviación que se produce por las fuertes lluvias.

SUMARIO

La autora hizo análisis químicos comparativos de zinc, manganeso y calcio entre hojas de café "macho" y café sano. Determinó los pHs y las concentraciones de manganeso intercambiable de los suelos donde crecían las plantas estudiadas.

Las plantas normales presentaron un promedio de 165.7 microgramos de manganeso, 20.9 microgramos de zinc y 1.63 por ciento de calcio sobre materia seca.

Las plantas afectadas presentaron aproximadamente cinco veces el contenido de manganeso de las plantas sanas (803.9). El contenido de zinc fué de 15.2 microgramos y el de calcio de 1.88 por ciento.

Después de discutir estos resultados la autora concluye que la principal diferencia química entre café "macho" y café sano está en el contenido de manganeso en las plantas.

La mayor concentración de manganeso en las plantas afectadas es explicado como una consecuencia de la solubilización del manganeso en el suelo, por efecto del aumento en el contenido de iones de hidrógeno.

La autora expresa la opinión de que la causa fundamental de la afección es aparentemente una toxicidad de manganeso. La más baja cantidad de zinc en las plantas

afectadas es interpretado como probablemente una consecuencia de la toxicidad de manganeso.

La mayor concentración de calcio en las plantas afectadas con café "macho" es explicada como un resultado de la disminución en el crecimiento de estas plantas.

LITERATURA CITADA

1. Alvim, P. de T., Turrialba, Costa Rica. Comunicación personal. 1952.
2. Association of Official Agricultural Chemists. Official and tentative methods of analysis. 6th ed. Washington, D.C., The Association, 1945. 932 p.
3. Berger, K.C. & Gerloff, G.C. Manganese toxicity of potatoes in relation to strong soil acidity. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 12:310-314. 1947.
(Original no disponible para consultar; compendiado en Bibliography of the Literature on the Minor elements. 4th ed. New York, Chilean Nitrate Educational Bureau, 1951. Vol. 2, Col. 152).
4. Billman, J.H. & Cleland, E.S. An improved method for the preparation of dithizone (diphenylthiocarbazone).. Am. Chem. Soc. Jour. 65(7):1300-1301. 1943.
5. Bould, C. and others. Zinc deficiency of fruit trees in Britain. Nature 164(4175):801-802. 1949.
6. Brown, A.L. Zinc relationships in Aiken clay loam. Soil Sci. 69(5):349-358. 1950.

7. Buch, K. Dithizone method for determining zinc and copper in natural waters. (In Finnish). *Finska Kemistsamfundets Medd.* 53(1-2):25-37. 1944. (Original no disponible para consultar; compendiado en *Chem. Abs.* 41(12):3891c. 1947).
8. _____ & Koroleff, F. Equilibrium studies on lead and alkali dithizonates. (In Finnish). *Finska Kemistsamfundets Medd.* 54:98-110. 1945. (Original no disponible para consultar; compendiado en *Chem. Abs.* 44(19):8750c. 1950).
9. Camacho, Carlos, Naranjo, Costa Rica. Comunicación personal. 1952.
10. _____, Naranjo, Costa Rica. Síntomas del café "macho". Comunicación personal. 1952.
11. Cook, J.W. Rapid method for determination of manganese in feeds. *Indus. and Engin. Chem. Analyt. Ed.* 13(1):48-50. 1941.
12. Corwin, A.H. & Jackson, G.R. The structure of dyphenylthiocarbazono. *Am. Chem. Soc. Jour* 71(11): 3698-3701. 1949.
13. Cowling, H. & Miller, E.J. Determination of small amounts of zinc in plant materials. *Indus. and Engin. Chem. Analyt. Ed.* 13(3):145-149. 1941.

14. Dion, H.G. & Mann, P.J.G. Three-valent manganese in soils. Jour. Agr. Sci. (England) 36(4): 239-245. 1946.
15. Drosdoff, Matthew. Leaf composition in relation to the mineral nutrition of tung trees. Soil Sci. 57(4):281-291. 1944.
16. _____ Minor element content of leaves from tung orchards. Soil Sci. 70(2):91-98. 1950.
17. Franco, G.M. & Mendes, H.C. Sintomas de deficiencias minerais no cafeeiro. Bragantia 9(9-12): 165-173. 1949.
18. Fujimoto, C.K. & Sherman, G.D. Behavior of manganese in the soil and the manganese cycle. Soil Sci. 66(2):131-145. 1948.
19. Garretsen, F.C. Manganese deficiency of oats and its relation to soil bacteria. Ann. Bot. (N.S.) 1(2):207-230. 1937.
20. Gisiger, L. & Hasler, A. The Gray-speck disease of oats. (In German). Plant and Soil 1(1):18-50. 1948. (Original no disponible para consultar; compendiado en Bibliography of the Literature on the Minor Elements. 4th ed. New York, Chilean Nitrate Educational Bureau, 1951. Vol. 2, Col. 159).

21. González, C.A., Camacho C., Carlos y Guevara P., Luis.
Informe preliminar sobre el efecto de zinc en la corrección de ciertas formas de crecimiento anormal del café. Costa Rica, Ministerio de Agricultura e Industrias, Boletín Técnico No. 7, 1952. 8 p.
22. Goodall, D. W. & Gregory, F. G. Chemical composition of plants as an index of their nutritional status. Great Britain, Imp. Bur. Hort. and Plantation Crops. Tech. Commun. No. 17. 1947. 167 p.
23. Gracie, D.S. & Trench, A.D. L. Soil conditions affecting coffee in Kenya. Kenya Department of Agriculture Bulletin No. 7. 1951. 45 p.
24. Hale, J.B. & Heintze, S. G. Manganese toxicity affecting crops on acid soils. Nature 157(3991): 554. 1946.
25. Heinen, E. J. & Benne, E.J. Report on zinc in plants. Assoc. Off. Agr. Chem. Jour. 34(3):692-697. 1951.
26. Hewitt, E.J., Jones, E.W. & Williams, A.H. Relation of molybdenum and manganese to the free amino-acid content of the cauliflower. Nature 163(4148): 681-682. 1949.

27. Hibbard, P.L. Estimation of copper, zinc and cobalt (with nickel) in soil extracts. *Indus. and Eng. Chem. Analyt. Ed.* 10(10):615-618 1938.
28. Hoagland, D.R. Lectures on the inorganic nutrition of plants. Waltham, Mass., Chronica Botanica Co., 1944. 226 p.
29. Ignatieff, Vladimir, comp. El uso eficaz de los fertilizantes. F.A.O. Estudios Agropecuarios No. 9. 1950. 228 p.
30. Irving, S.J.H. and others. Dithizone. II. Dithizone as a monobasic acid. *Jour. Chem. Soc.* pp. 1847-1855. 1949. (Original no disponible para consultar; compendiado en *Chem. Abs.* 44(1):23d. 1950.
31. Javillier. Zinc deficiency in cultivated plants. *Compt. Rend. Acad. Agr. France.* 34:176-177. 1948. (Original no disponible para consultar; compendiado en *Bibliography of the Literature on the Minor Elements.* 4th ed. New York, Chilean Nitrate Educational Bureau, 1951. Vol. 2, Col. 244.
32. Jones, L.H.P. & Leeper, G.W. Available manganese oxides in neutral and alkaline soils. *Plant and Soil.* 3(2):154-159. 1951.

33. Jones, L.H.P. & Leeper, G.W. The Availability of various manganese oxides to plants. *Plant and Soil* 3(2):141-153. 1951.
34. _____ and others. The function of manganese in the assimilation of nitrates. *Plant Physiol.* 24(2):300-306. 1949.
35. Kenworthy, A.L. Nutrient-element composition of leaves from fruit trees. *Am. Soc. Hort. Sci. Proc.* 55:41-46. 1950.
36. Leeper, G.W. The forms and reactions of manganese in the soil. *Soil Sci.* 63(2):79-94. 1947
37. _____ Manganese deficiency and accumulation of nitrites in plants. *Australian Inst. Agr. Sci. Jour.* 7:161-162. 1941. (Original no disponible para consultar; compendiado en *Chem. Abs.* 36(11):33117. 1942.
38. Löhnis, Marie P. Manganese toxicity in field and market garden crops. *Plant and Soil* 3(3):193-222. 1951.
39. Loomis, W.E. & Skull, C.A. *Methods in plant physiology.* New York, McGraw-Hill Book Co., 1937. 472 p.
40. Lucas, Robert E. The effect of the addition of sulfates of copper, zinc, and manganese on the

- absorption of these elements by plants grown
organic soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc.
10:269-274. 1945. (Original no disponible
para consultar; compendiado en Bibliography of
the Literature on the Minor Elements. 4th ed.
New York, Chilean Nitrate Educational Bureau,
1943. Vol. 1, Col. 711).
41. Lundegardh, H. Leaf analysis. London, Hilger &
Watts, 1951. 176 p.
42. Mehlig, J.P. Stability of the permanganate-periodate
color system. Indus. and Eng. Chem. Analyt. Ed.
13(11)819. 1941.
43. _____ Colorimetric determination of manganese with
periodate. Indus. and Eng. Chem. Analyt. Ed.
11(5):274-277. 1939
44. Miller, E.C. Plant physiology with reference to the
green plant. 2d. ed. New York, McGraw-Hill
Book Co., 1938. 1201 p.
45. Millikan, C.R. Antagonism between molybdenum and
certain heavy metals in plant nutrition. Nature
161(4092):528. 1948.
46. Morris, H.D. The soluble manganese content of acid
soils and its relation to the growth and manga-
nese content of sweet clover and lespedeza.
Soil Sci. Soc. Am. Proc. 13:362-371. 1948.

47. Morris, H.D. & Pierre, W.H. Minimum concentrations of manganese necessary for injury to various legumes in culture solutions. *Agron. Jour.* 41(3):107-112. 1949.
48. Mulder, E.G. Mineral nutrition of plants. *Annual Review of Plant Physiology.* 1:1-24. 1950.
49. Myers, A.T. & Brunstetter, B. C. Spectrographic determination of mineral composition of the tung leaf as influenced by the position on the plant. *Am. Soc. Hort. Sci. Proc.* 47:169-174. 1946.
50. Parks, R. Q. and others. Quantitative chemical micro-determination of twelve elements in plant tissue, a systematic procedure. *Indus. and Eng. Chem. Analyt. Ed.* 15(8):527-533. 1943.
51. Peech, M. Determination of exchangeable bases in soils. *Indus. and Eng. Chem. Analyt. Ed.* 13(6):436-441. 1941.
52. _____ & English, L. Rapid microchemical soil tests. *Soil Sci.* 57(3):167-195. 1944.
53. Piper, C.S. *Soil and plant analysis.* New York, Interscience Publishers, 1949. 368 p.
54. Quastel, J.H., Hewitt, E.J. & Nicholas, D.J.D. The control of manganese deficiency in soils. I. The effects of sulphur and thiosulfates on crops

- growing on manganese-deficient soils. Jour. Agr. Sci. 38(3):315-322. 1948.
55. Robertson, R.N. Mechanism of absorption and transport of inorganic nutrients in plants. Annual Review of Plant Physiology 2:1-24. 1951.
56. Robinson, W.O. Green color of plant ash due to manganese, not to cobalt. Science 102(2641): 158. 1945.
57. Shirley, R.L. and others. Report on zinc in plants. Assoc. Off. Agr. Chem. Jour. 32(2):276-280. 1949.
58. Skoog, Folke. Relationships between zinc and auxin in the growth of higher plants. Am. Jour. Bot. 27(10):939-951. 1940. (Original no disponible para consultar; compendiado en Bibliography of the literature on the minor elements. 4th ed. New York, Chilean Nitrate Educational Bureau, 1948. Vol. 2, Col. 1934).
59. Snell, F.D. & Snell, C.T. Colorimetric methods of analysis including some turbidimetric and nephelometric methods. 3rd ed. New York, D. Van Nostrand Co., 1949. Vol. 2, 950 p.
60. Somers, I.I. & Shive, J.W. The iron-manganese relation in plant metabolism. Plant Physiology. 17(4):582-602. 1942.

61. Stout, P.R. & Overstreet, Roy. Soil chemistry in relation to inorganic nutrition of plants. Annual Review of Plant Physiology 1:305-342. 1950.
62. Thomas, W. and others. Foliar diagnosis: the range in the zinc content of young apple trees. Am. Soc. Hort. Sci. Proc. 53:6-10. 1949.
63. Tsui, Cheng. The role of zinc in auxin synthesis in the tomato plant. Am. Jour. Bot. 35(3): 172-179. 1948. (Original no disponible para consultar; compendiado en Bibliography of the Literature on the Minor Elements. 4th ed. New York, Chilean Nitrate Educational Bureau, 1951. Vol. 2, Col. 249-250).
64. Urhan, Otto. Comunicación personal. 1952.
65. Welcher, Frank J. Organic analytical reagents. New York, D. Van Nostrand Co., 1947. Vol. 3, 593 p.
66. Wellman, F.L., Turrialba, Costa Rica. Report on the so-called "café Macho" disease in Costa Rica. Private communication. 1949.
67. Whatley, F.R. and others. Distribution of micro-nutrient metals in leaves and chloroplast fragments. Plant Physiol. 26(2):414-418. 1951.

68. Whitehead, E.I. & Olson, O.E. Factors affecting the nitrate content of plants. South Dakota Acad. Sci. Proc. 21:67-72. 1941. (Original no disponible para consultar; compendiado en Chem. Abs. 36(11):32262. 1942.
69. Wichmann, H.J. Isolation and determination of traces of metals: the dithizone system. Indus. and Eng. Chem. Analyt. Ed. 11(2):66-72. 1939.