REVISTA DE LA FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA DE BUENOS AIRES
18 (2-3): 141-149, 1970

CDU 631.461.3

# Evolución química y microbiológica del proceso de nitrificación en el suelo

M. J. Amor Asunción [1]

(Recibido: 18 de setiembre, 1970)


## Resumen

Se estudia el proceso de nitrificación, en suelos incubados con diferentes fertilizantes y correctores mediante determinaciones periódicas de amonio, nitritos, nitratos y número de bacterias nitritadoras. Existe una relación directa entre la cantidad de nitritos determinados durante la primera semana de incubación y el número de gérmenes nitritadores desarrollados. También se verifica un mayor contenido de nitratos cuando la nitritación se intensifica, debiéndose hacer la salvedad que cuando se incorpora únicamente amonio, pero sin calcio al suelo siempre se producen elevadas cantidades de nitratos, semejantes a los tratamientos que dieron franca respuesta a la nitritación y muy superiores a los suelos que no recibieron amonio. En un caso se tuvo un suelo sin respuesta a la nitritación y no obstante fue el que produjo y acumuló la mayor cantidad de nitratos en relación a los otros suelos.

Lo expuesto últimamente plantea la necesidad del estudio cuantitativo, en este tipo de experiencias, de las bacterias nitratadoras aunque debe reconocerse que no existe todavía un método de recuento satisfactorio desde el punto de vista ecológico, para las mismas.

## Summary

The process of nitrification is studied in soils incubated with different fertilizers and soil ammendments by means of periodic determinations of ammonia, nitrites, nitrates and the number of ammonia-oxidizing bacteria. There is a direct relationship between the quantity of nitrites determined in the first week of incubation and the number of ammonia-oxidizers developed. A greater amount of nitrates also appears when the nitrite-production is intensified, but when ammonia is added without calcium, high quantities of nitrates are produced almost as in the treatments that gave a net response to nitrite-production, and much more still than in soil to which no ammonia was added. In one instance a soil gave no response to nitrite-production but it produced and accumulated the greatest quantity of nitrates as compared to the other soils.

This latest case shows the need for a quantitative study of the nitrite-oxidizing bacteria in this type of experiments, but it must be admitted that, from the ecological point of view, there is no yet a satisfactory method for counting this kind of microorganisms.


## INTRODUCCION

Uno de los principales factores de fertilidad de los suelos es la disponibilidad de nitrógeno asimilable que en forma de nitratos es absorbido por las raíces de las plantas y que en la naturaleza se producen mediante el proceso de nitrificación por acción de las bacterias nitrificadoras.

Soriano *et al.* (1970 *a*) estudiaron los diversos grupos bacterianos específicos con importancia agrícola, en muestras de tierra cuya productivi-

[1] Profesor adjunto interino del Departamento de Biología y Ecología, orientación Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad de Buenos Aires.

dad era conocida y hallaron que de los grupos estudiados, fijadores de nitrógeno no simbióticos y aerobios, celulolíticos aerobios, proteolíticos y nitrificadores, sólo en este último pudo establecerse una relación positiva entre productividad y número de gérmenes.

La incubación de los suelos para determinar la potencia de la nitrificación se viene efectuando desde hace mucho tiempo, pero aproximadamente desde hace 15 años se han desarrollado algunos métodos muy novedosos, entre otros, los de FITTS *et al.* (1953, 1955), STANFORD y HANWAY (1955), KRESGE y MERKLE (1957), CUNNINGHAM y COOKE (1958 *b*), KEENEY y BREMNER (1967) y ROBINSON (1968). Estos métodos tienen el propósito de evaluar el nitrógeno asimilable del suelo, que parece estar vinculado a los procesos de mineralización producidos durante la incubación, creyéndose actualmente que este es el procedimiento más adecuado para determinar el nitrógeno disponible para las plantas.

FITTS *et al.* (1953, 1955), STANFORD y HANWAY (1955), HANWAY y DUMENIL (1955) y MUNSON y STANFORD (1955), determinaron la cantidad de nitratos acumulados, después de un lapso de incubación (2-3 semanas) y utilizaron esa medida como un índice de la cantidad de nitrógeno disponible para los cultivos. KRESGE y MERKLE (1957) argumentaron que la respuesta de los cultivos a la fertilización nitrogenada depende además de otros factores, tales como humedad, aeración, temperatura, acidez y existencia de otros nutrientes. CUNNINGHAM y COOKE (1958 *b*) señalaron que la determinación de nitratos en la incubación de suelos puede servir de medida para predecir las necesidades de nitrógeno, pudiendo ser de valor la medida del amonio. KEENEY y BREMNER (1967) y ROBINSON (1968) consideraron que el total del nitrógeno mineral determinado por extracción y destilación, bajo la forma de amonio y como suma de nitratos, nitritos y amonio, es un índice para apreciar el nitrógeno asimilable de los suelos. ROBINSON llamó a este nitrógeno "valor N 2".

Ninguno de los autores señalados consideró las interrelaciones químico - microbiológicas. Lo expuesto indujo a estudiar el proceso de nitrificación en el laboratorio enfocándolo bajo los aspectos químicos y microbiológicos.

## MATERIALES Y METODO

Se utilizó el método de incubación propuesto por SORIANO *et al.* (1970 *b*).

Se estudiaron 9 muestras de suelos (cuadro 1 *a*) extraídas, desde la superficie hasta 10 cm de profundidad, en las que se realizaron los tratamientos indicados en el (cuadro 1 *b*).

CUADRO 1. — (*a*), *muestra de suelos estudiadas*

| N° de muestra | Procedencia | pH |
|---|---|---|
| 225 | Guatimozin, Córdoba | 6,05 |
| 231 | Guatimozin, Córdoba | 5,95 |
| 232 | Cuatimozin, Córdoba | 6,10 |
| 240 | Ayacucho, Buenos Aires | 5,90 |
| 244 | Daireux, Buenos Aires | 6,50 |
| 245 | Pirovano, Buenos Aires | 5,90 |
| 246 | Pirovano. Buenos Aires | 6,25 |
| 251 | Coronel Brandsen, Buenos Aires | 6,10 |
| 252 | Coronel Brandsen, Buenos Aires | 6,30 |

(*b*), *tratamientos efectuados*

| Tratamiento | Agregado de nitrógeno, fósforo y calcio |
|---|---|
| 1..... | Testigo, sin agregado |
| 2..... | Sulfato de amonio, 0,04 % |
| 3..... | Fosfato monocálcico, 0,02 % |
| 4..... | N como 2 y P como 3 |
| 5..... | Carbonato de calcio, 0,3 % |
| 6..... | N como 2 y Ca como 5 |
| 7..... | P como 3 y Ca como 5 |
| 8 ..... | N como 2, P como 3 y Ca como 5 |

Las muestras de 150 g de suelo secadas al aire y tamizadas por tamiz de 1 mm y cuyos pH fueron determinados potenciométricamente, se incubaron con una humedad adecuada (50 % de la capacidad de retención), en Erlenmeyer de 300 ml, cubiertos con papel de estaño, durante 30 días en estufa a 28° C, reponiéndose diariamente el agua evaporada.

En 4 muestras de suelo se hicieron solo cuatro tratamientos, los N$^{os}$ 1, 2, 6, 8, ya que previamente se había comprobado con el método de SORIANO y AMOR y ASUNCIÓN (1969) que esos suelos reaccionaban positivamente al agregado de nitrógeno y calcio.

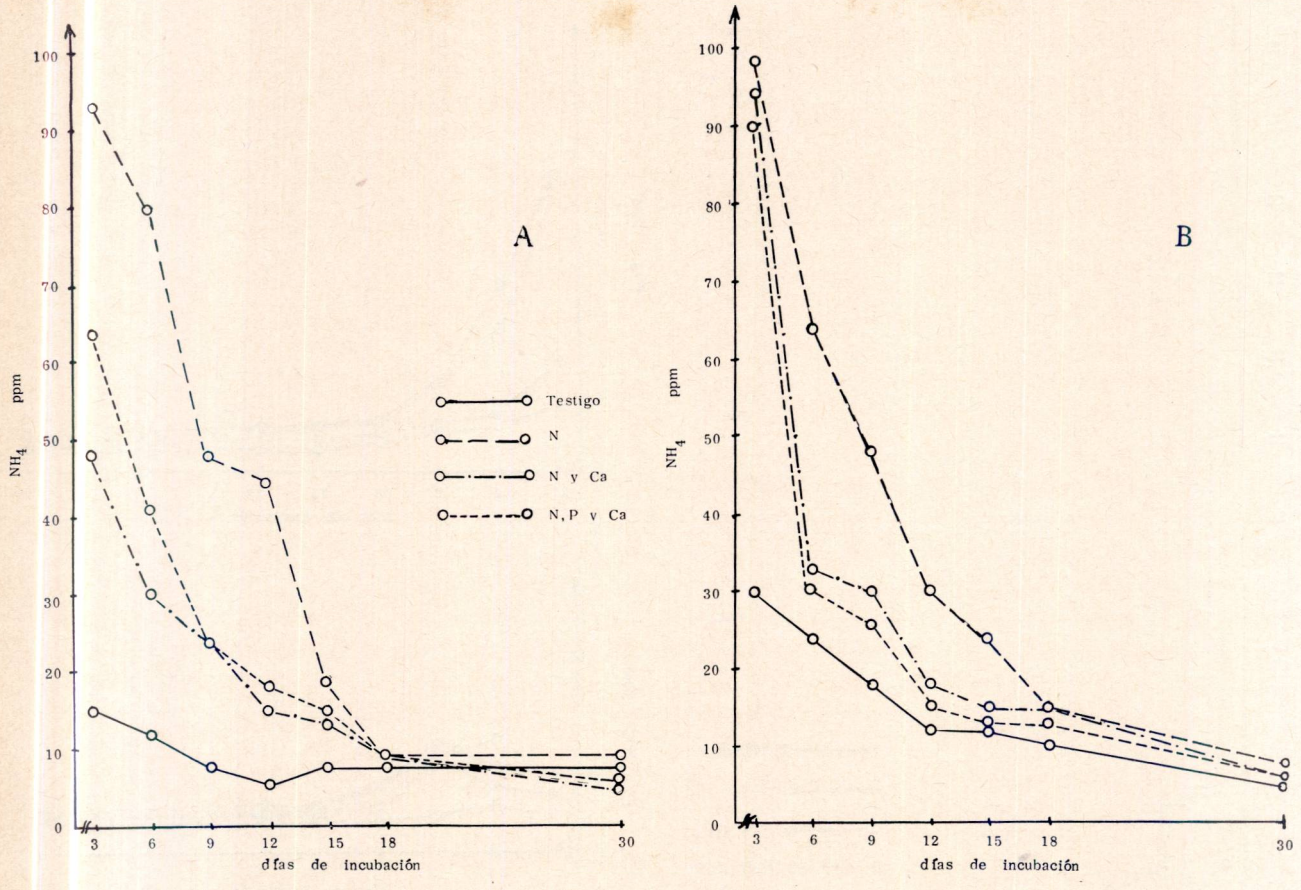


Fig. 1. — Variación del contenido de amonio en el curso de la incubación. A, muestra 231; B, muestra 252; C, muestra 240

A los 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 30 días de incubación a 28° C se realizaron las siguientes determinaciones:

*a*) microbiológicas.: cuenta promedio viable de bacterias nitritadoras vivas en medio de silico-gel de acuerdo con la técnica de SORIANO (1966). Las siembras se efectuaron en dos repeticiones con dos niveles de dilución cada una.

*b*) químicas: contenido de amonio según JACKSON (1960) y de nitritos y nitratos según PRINCE (1945) sobre la base de reacciones de coloración, midiéndose la absorción de luz en un espectrofotómetro Zeitz-Jena modelo Spekol. Las determinaciones se efectuaron por duplicado y se promediaron los resultados.

## RESULTADOS

Las figuras 1, 2, 3 y 4 muestran el contenido de amonio, nitritos, nitratos y bacterias nitritadoras, respectivamente, en el transcurso de la incubación de las muestras 231, 240 y 252. Estos suelos fueron elegidos porque sus respectivos procesos de nitri-

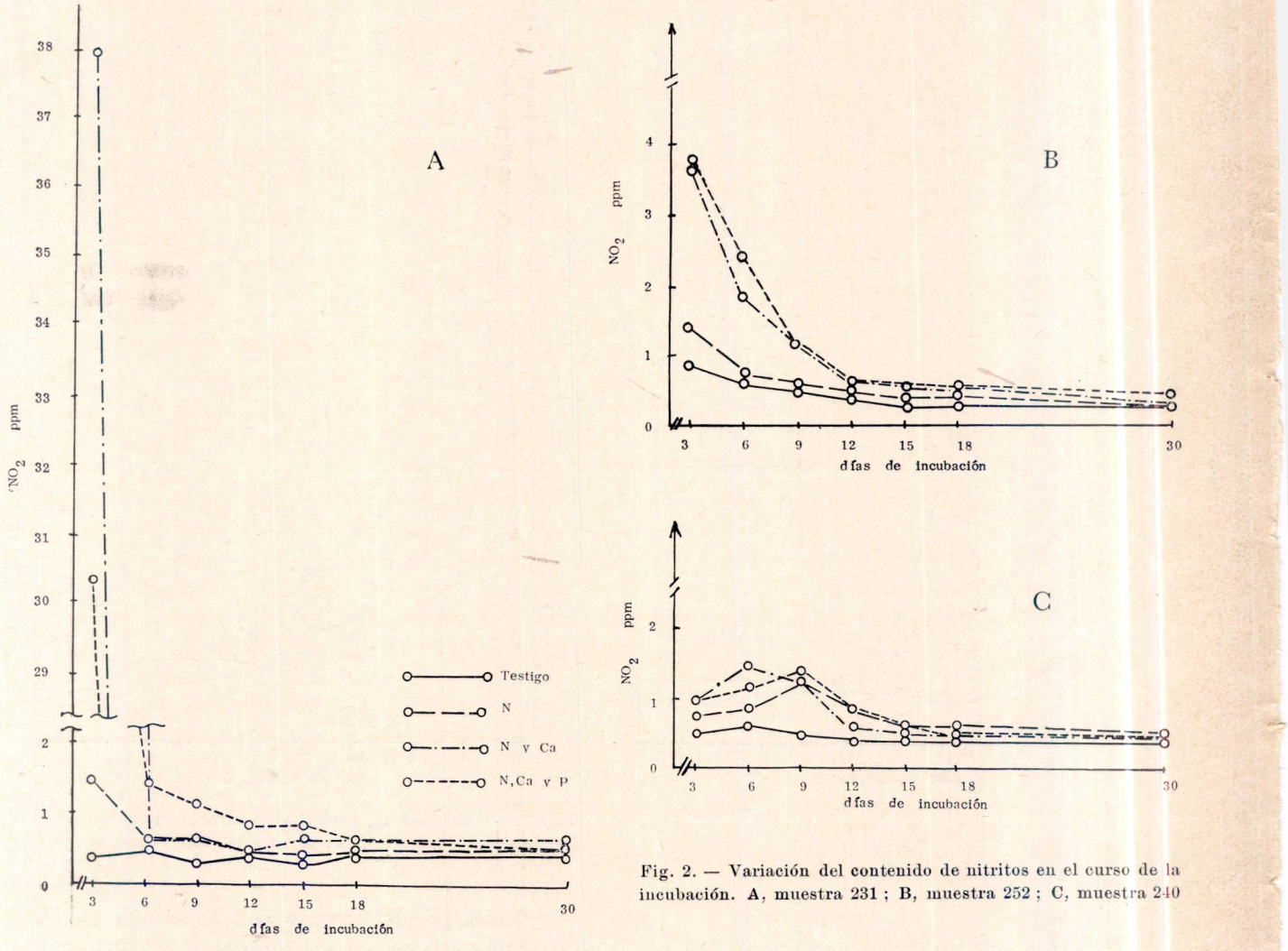


Fig. 2. — Variación del contenido de nitritos en el curso de la incubación. A, muestra 231 ; B, muestra 252 ; C, muestra 240

ficación difieren debido a la respuesta que se obtuvo en el aumento del contenido de gérmenes nitritadores y de nitritos, determinados al tercer día de incubación, por el agregado simultáneo de nitrógeno y calcio. La muestra 231 dio una respuesta muy intensa, la 252 una respuesta menor y en la 240 hubo una respuesta tan débil que se consideró negativa. Las muestras 225, 232, 245, 246 se pueden asimilar a la 231 y la muestra 251 a la 252. El caso de la muestra 240 es único, pues entre los suelos estudiados ninguno tuvo un proceso de nitrificación similar.

La representación gráfica comprende los cuatro tratamientos —1, 2, 6 y 8— considerados más ilustrativos. Se adoptó este criterio por cuanto los resultados de los tratamientos 3 y 5 difieren poco de los del 1, y los del 4, tuvieron diferencias pequeñas respecto de los del 2.

## DISCUSION

*Evolución del contenido de amonio, nitritos, nitratos y bacterias nitritadoras.*

*a) Amonio.* Los tratamientos con amonio mostraron siempre los más altos contenidos en relación al testigo. En todos los casos, con agregados únicamente de amonio, los valores iniciales resultaron los más elevados en comparación con los otros tratamientos que recibieron nitrógeno. Si el nitrógeno fue acompañado por calcio la transformación del amonio fue más rápida (tratamientos 6 y 8).

Los contenidos iniciales de amonio fueron más bajos en la muestra 240 que en las 231 y 252, por lo que aquella mostró más potencial de transformación del amonio.

Los valores de amonio descendieron fuertemente a través del tiempo para todos los tratamientos

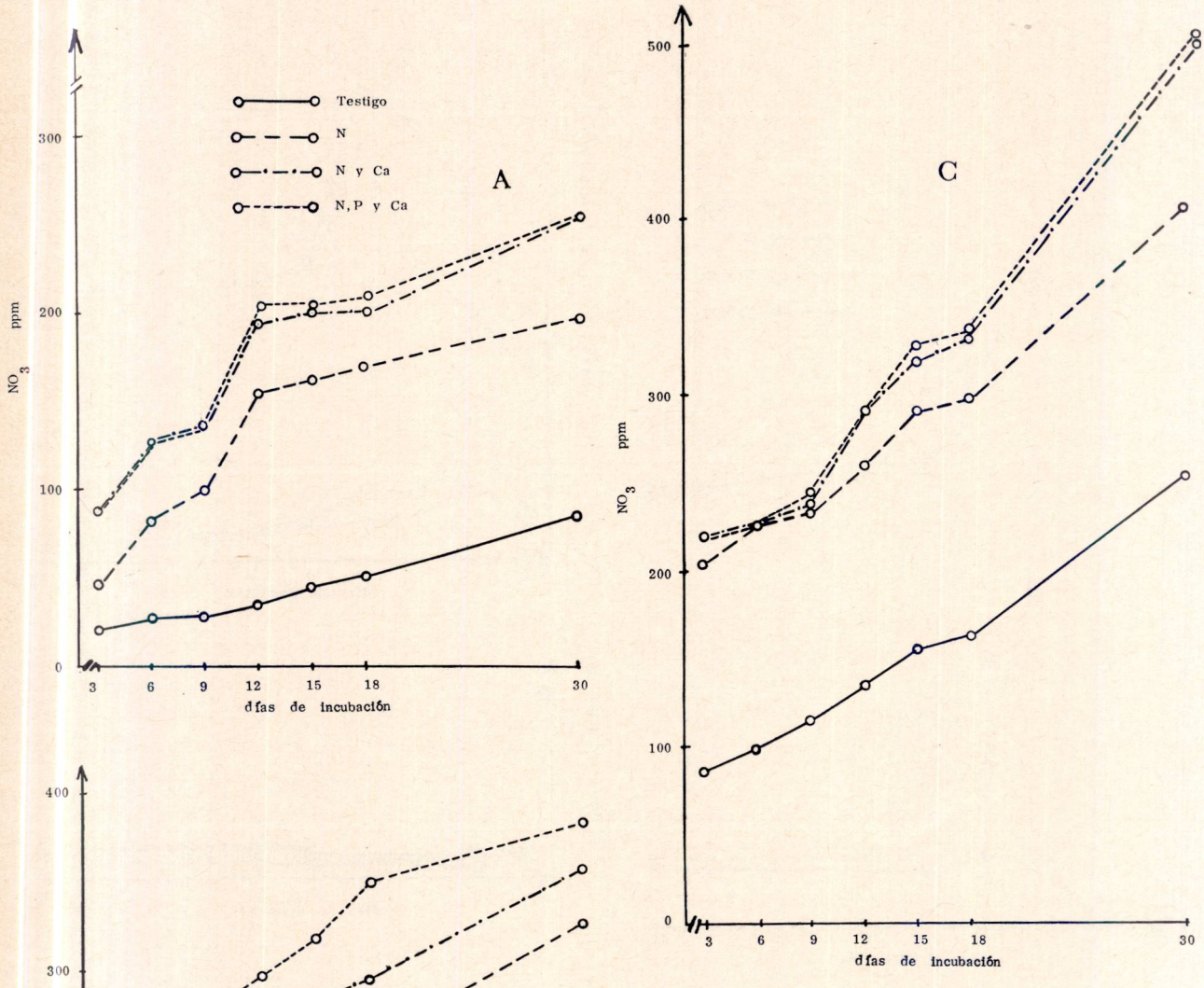


Fig. 3. — Variación del contenido de nitratos en el curso de la incubación. A, muestra 231 ; B, muestra 252, C, muestra 240

que incluían nitrógeno, tendiendo a ser similares a los 15-18 días de incubación, para casi igualarse al fin de la misma.

En el testigo, el amonio comenzó con un contenido máximo que luego, en forma algo irregular, bajó paulatinamente. Al final de la incubación el contenido en amonio fue casi igual en todos los tratamientos.

*b*) *Nitritos.* Se presentaron tres casos diferentes. Uno correspondió a la muestra 231 en la que los tratamientos 6 y 8 mostraron al tercer día un contenido de nitritos mucho más elevado que los demás tratamientos. En el segundo caso, muestra 252, se observó que el mayor contenido de nitritos, si-

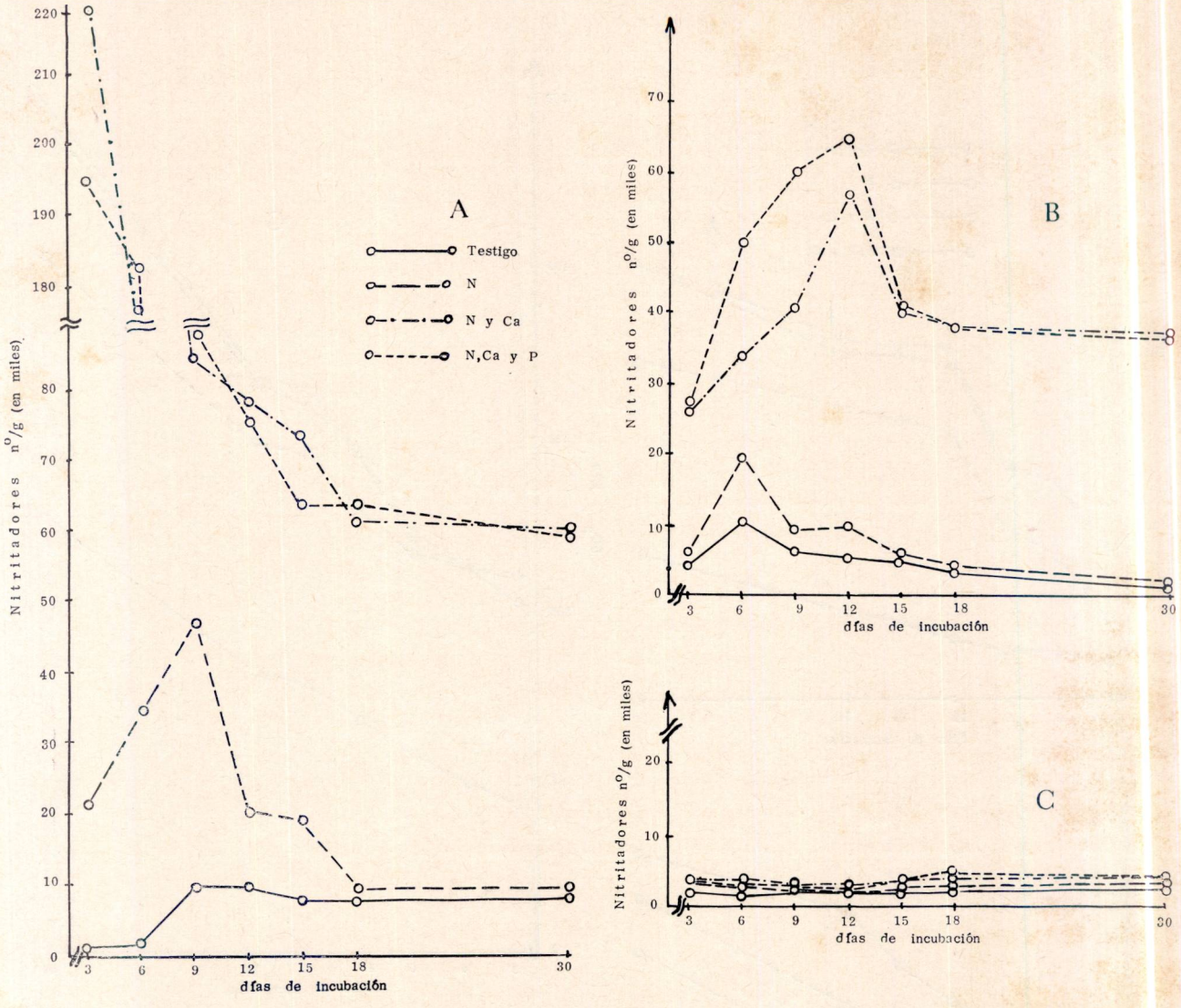


Fig. 4. — Variación del contenido de bacterias nitritadoras en el curso de la incubación : A, muestra 231 ; B, muestra 252 ; C, muestra 240

milar a los tratamientos 6 y 8, fue mucho menor que en la muestra 231. Es decir, en la muestra 252 también se observó una respuesta en el contenido de nitritos a esos tratamientos, pero en menor grado.

El tercer y último caso es el de la muestra 240; si bien los tratamientos 6 y 8 determinaron también mayor contenido de nitritos, la diferencia con los otros tratamientos fue muy escasa. En un suelo de estas características, la respuesta a los diversos tratamientos en relación al contenido de nitritos es mínima, pudiendo considerarse que no hay respuesta. Este criterio se confirmará al discutir los valores del número de bacterias nitritadoras.

En todas las muestras y en todos los tratamientos el contenido de nitritos, en general disminuyó a través de la incubación; a partir de 9-12 días todos los valores tendieron a igualarse, haciéndose esta similitud más estrecha hacia el final de la incubación (30 días).

*c) Nitratos.* Considerando las tres muestras correspondientes a los tres casos estimados diferentes, se observó: la muestra 231, caracterizada por muy elevada acumulación inicial de nitritos y poseer menor rapidez de transformación de amonio en relación a la muestra 240, acumuló cantidades de nitratos inferiores a la de las otras dos muestras. Los tratamientos 6 y 8 dieron los valores máximos, con valores muy próximos. El tratamien-

to con nitrógeno sólo dio valores inferiores pero muy superiores al testigo, en el cual se registraron los más bajos. Las curvas de los tratamientos con nitrógeno (2, 6, 8) fueron fuertemente ascendentes desde el 3 al 12 día y luego la pendiente se hizo mucho más suave; la curva del testigo mostró en cambio un ligero ascenso a través de todo el proceso, según se observa en la figura 3.

En la muestra 252, que reaccionó medianamente en el contenido de nitritos y que tuvo un poder de transformación del amonio parecido al de la muestra 231, se encontró la máxima cantidad de nitratos en los tratamientos 6 y 8, que fue donde se acumularon inicialmente los nitritos. La curva correspondiente al tratamiento 2 es inferior a la de los dos anteriores, pero muy superior a la del testigo. Las curvas de los tratamientos 2, 6 y 8 fueron fuertemente ascendentes entre el 3º y 6º día, después se hicieron mucho más suaves. El testigo tuvo desde el comienzo un moderado y constante ascenso en su curva.

La muestra 240. caracterizada por no haber dado respuesta en el contenido inicial de nitritos y tener mayor rapidez de transformación del amonio, se destacó por ser la que mostró en relación a las otras dos muestras los contenidos mayores de nitratos. Los tratamientos 6 y 8 fueron los que dieron los valores mayores de nitratos, con curvas prácticamente iguales. El tratamiento 2 dio valores más bajos pero muy superiores a los del testigo, en el que se obtuvieron valores de nitratos superiores a los respectivos testigos de las muestras 231 y 252. Todas las curvas muestran un fuerte ascenso durante el proceso de incubación.

Como consideración válida para todas las muestras, se puede decir que la incorporación de amonio se tradujo en aumento de los nitratos y que este aumento se intensificó cuando se agregó carbonato de calcio.

*d*) *Bacterias nitritadoras:* Teniendo en cuenta los tres casos considerados diferentes, se observó: la muestra 231, caracterizada por una intensa respuesta en el contenido de nitritos por adición de nitrógeno y calcio juntos (tratamientos 6 y 8), por más lenta transformación inicial del amonio (respecto a la muestra 240) y por menor acumulación de nitratos en relación a las otras dos muestras, mostró una respuesta muy intensa en el aumento del número de bacterias nitritadoras, precisamente en los tratamientos 6 y 8. Los valores, que fueron máximos al tercer día, disminuyeron hasta el 15-18 día, para luego permanecer constantes pero siendo siempre superiores a los de los otros tratamientos. Los valores del tratamiento 2 fueron muy inferiores, pero superiores a los del testigo hasta el 15º día, después ambos tratamientos arrojaron valores similares.

La muestra 252 caracterizada por una mediana respuesta en el contenido de nitritos por adición de nitrógeno y calcio juntos (tratamientos 6 y 8), por una transformación del amonio similar a la de la muestra 231 y por una acumulación de nitratos inferiores a la muestra 240 pero superior a la 231, tuvo también una respuesta positiva, aunque menor que en la muestra 231, en el contenido de bacterias nitritadoras a los tratamientos 6 y 8 ya que los valores del número de gérmenes fueron, en esos tratamientos más elevados, en relación a los otros. Esto aconteció a través de toda la incubación, aumentando el número de gérmenes desde el principio hasta el 12º día de la incubación para luego descender, pero registrándose siempre valores mucho más altos con relación a los otros tratamientos. Los contenidos de nitritadores de los tratamientos 1 y 2 fueron muy inferiores, pero los de 2 fueron algo superiores a los del 1.

En el último caso, muestra 240, caracterizada por una mayor rapidez en la transformación del amonio, por no dar respuesta en el contenido de nitritos y por acumular los tenores más elevados de nitratos, no se halló respuesta en el contenido de bacterias nitritadoras, en ninguno de los tratamientos. El número de gérmenes fue siempre muy bajo (menos de 5000 por g). Por consiguiente, se considera que este suelo no respondió a los tratamientos efectuados con desarrollo de gérmenes nitritadores, en forma similar a la respuesta que se obtuvo en el contenido de nitritos y que también fue negativa.

De lo expuesto se desprende que la respuesta de estos suelos a los tratamientos efectuados, medida en los primeros días de incubación por el contenido de nitritos y por el número de bacterias nitritadoras, es similar para ambas determinaciones, lo que confirma el método de SORIANO y AMOR ASUNCIÓN (1969).

Teniendo en cuenta la marcha de la evolución del nitrógeno mineral en estos experimentos y el hecho que los nitritos a los 12 días de incubación alcanzan valores prácticamente sin importancia,

se opina que como en los métodos de FITTS y col. (1953, 1955), STANFORD y HANWAY (1955), HANWAY y DUMENIL (1955) y MUNSON y STANFORD (1955), KEENEY y BREMNER (1967), KRESGE y MERKLE (1957), CUNNINGHAM y COOKE (1958 *b*) y ROBINSON (1968) las determinaciones químicas no se hacen nunca antes del 12º día de incubación, el nitrógeno de los nitritos puede ser no considerado. En cuanto al amonio podría tener cierta importancia ya que sus valores representan una mayor proporción del nitrógeno mineral que el de los nitritos.

Los valores que parecen más importantes son los correspondientes a los nitratos, que aumentan constantemente y finalmente son los que representan la mayor proporción del nitrógeno mineral del suelo, razón por la cual gran número de investigadores lo consideren como una medida del nitrógeno asimilable del suelo.

En lo que concierne a otros aspectos, CUNNINGHAM y COOKE (1958 *a*) estudiando la evolución del nitrógeno mineral en parcelas abonadas con urea y sulfato de amonio y GIAMBIAGI y CERRI (1969), en suelos incubados tratados también con urea y sulfato de amonio, comprobaron una rápida disminución del amonio y un incremento, también rápido, de los nitratos, lo que se confirma en este trabajo.

Por otra parte, los datos microbiológicos de este estudio se refieren sólo a las bacterias nitritadoras, cuyo número, entre los 3-6 días de la incubación, indica claramente la respuesta operada en la primera etapa de la nitrificación (nitritación) seguida luego por una producción y acumulación de nitratos que es máxima para los tratamientos que dieron franca respuesta a la nitritación. No obstante, el agregado único de sulfato de amonio, que en los suelos estudiados produce un pequeño aumento del número de nitritadores, provoca una producción de nitratos que si bien es algo menor, puede considerarse semejante a la que se verifica en los casos de máxima respuesta a la nitritación y siempre mucho más alta que en los tratamientos sin nitrógeno.

Además, se observó un suelo (240) que no dio respuesta medida por el número de nitritadores a ningún tratamiento y que sin embargo fue el que acumuló la mayor cantidad de nitratos. Estos hechos hacen pensar en la necesidad de examinar más a fondo el problema microbiológico con miras a encarar el estudio cuantitativo de los gérmenes nitratadores, que son los que producen los nitratos. En esta investigación no se realizó la determinación cuantitativa porque se consideró que no hay métodos seguros de recuento por determinación visual simple en medio sólido, sino que los métodos son indirectos, por diluciones en medios líquidos y determinación del desarrollo positivo mediante caracterización química. Podría pensarse que los nitratos determinados químicamente dan una idea de la cantidad de gérmenes nitratadores existentes pero esta suposición es errónea ya que la producción de nitratos en el suelo depende, no sólo del número de bacterias nitratadoras y de la capacidad nitratadora de las mismas y el nitrato determinado en el suelo es un balance que resulta de la producción de los nitratadores y del consumo por la heterogénea población microbiana del suelo.

## CONCLUSIONES

1. El amonio agregado al suelo es transformado durante el período de incubación siendo los valores al final de ella similares a los de suelos que no recibieron este fertilizante.

2. El número de gérmenes nitritadores guarda estrecha relación con la producción de nitritos que se acumulan en la primera semana de incubación para luego disminuir constantemente hasta casi desaparecer al final de la misma. El mayor aumento de bacterias nitritadoras y de nitritos se verifica con el agregado de nitrógeno y calcio juntos y no separadamente.

3. La producción y acumulación de nitratos se eleva constantemente a través de todo el período de incubación y los tratamientos con amonio determinan valores muy superiores a los que no recibieron ese fertilizante.

4. Cuando el tratamiento provoca una respuesta a la nitritación, la acumulación de nitratos es mayor en relación a los otros tratamientos con respuesta más débil. En los casos en que se obtiene débil respuesta a la nitritación, con el agregado al suelo de amonio pero sin calcio, el aumento de nitratos resulta no obstante elevado, semejante a los tratamientos con franca respuesta a la nitritación y muy superiores a los suelos que no reciben amonio.

5. En uno de los suelos investigados, en que no se verificó respuesta a la nitritación con ninguno de los tratamientos efectuados, se obtuvo sin em-

bargo el mayor contenido de nitratos de todos los suelos estudiados, coincidiendo con un mayor contenido en el testigo.

6. Se plantea la necesidad del estudio cuantitativo de las bacterias nitratadoras del suelo, aunque para estas determinaciones no existe aún un método suficientemente satisfactorio desde el punto de vista ecológico.

## BIBLIOGRAFIA


CUNNINGHAM, R. K. and COOKE, G. W., 1958 *a*. *Soil Nitrogen II Changes in levels of inorganic nitrogen in a clay-loan soil caused by fertilizer additions, by leaching and uptake by grass*. Journ. Sci. Food. Agric. 9 : 317-324.

— 1958 *b*. *Soil Nitrogen III Mineralizable nitrogen determined by a incubation technique*. Journ. Sci. Food. Agric. 9 : 324-330.

FITTS, J. W., BARTHOLOMEW, W. V. and HEIDEL, H., 1953. *Correlation between nitrifiable nitrogen and yield response of corn to nitrogen fertilization on Iowa Soils*. Soil Sci. Amer. Proc. 17 : 119-122.

— 1955. *Predicting nitrogen fertilizer needs of Iowa Soils : I Evaluation and control of factors in nitrate production and analysis*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 19 : 69-73.

GIAMBIAGI, N. y CERRI, O. C., 1969. *Fertilización nitrogenada : metabolismo del sulfato de amonio y de la urea en ensayos a campo y en laboratorio*. Ciencia e Investigación 25 : 296-307.

HANWAY, J. and DUMENIL, L., 1955. *Predicting nitrogen fertilizer needs of Iowa Soils :* III *Use of nitrate production together with other information as a basis for making nitrogen fertilizer recommendation for corn in Iowa*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 19 : 77-80.

JACKSON, M. L., 1960. *Soil chemical analysis*. Englewood Cliffss, N. J., U. S. A.

KEENEY, D. R. and BREMNER, M. J., 1967. *Determination and isotope- ratio analysis of different forms of nitrogen in soil : 6 Mineralizable nitrogen*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 31 : 34-39.

KRESGE, C. B. and MERKLE, F. G., 1957. *A study of laboratory techniques in appraising the available nitrogen producting capacity of soils*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 21 : 516-521.

MUNSON, R. D. and STANFORD, G., 1955. *Predicting nitrogen fertilizer needs of Iowa Soils :* IV. *Evaluation of nitrate production as a criterion of nitrogen availability*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 19 : 464-468.

PRINCE, A. L., 1945. *Determination of total nitrogen, ammonia, nitrates and nitrites in soils*. Soil Sci., 59 : 47-52.

ROBINSON, J. B. D., 1968. *A simple available soil nitrogen index*. I *Laboratory and greenhouse studies*. Jour. of Soil Sci. 19 : 269-279.

SORIANO, S., 1966. *Método para la determinación cuantitativa de microorganismos del suelo*. Actas del Primer Coloquio Latinoamericano de Biología del Suelo (realizado en Bahía Blanca), T. I : 641-650, Montevideo.

SORIANO, S. y AMOR ASUNCIÓN, M. J., 1969. *Método rápido para el estudio de la nitrificación en el suelo*. Ciencia e Investigación 25 : 119-121.

SORIANO, S., AMOR ASUNCIÓN, M. J. y DELLEPIANE, E., 1970 *a*. *Método de análisis microbiológico cuantitativo del suelo en relación con su fertilidad*. Resúmenes de trabajos presentados al 2º Coloquio Latinoamericano de Biología del Suelo (1968). Oficina de Ciencias de la Unesco para América Latina, pág. 34-35, Montevideo.

— 1970 *b*. *Diagnóstico de deficiencias en el suelo por un método microbiológico*. Rev. Fac. de Agr. y Veter. de Bs. As. 18 (1) : 65-68.

STANFORD, G. and HANWAY, J., 1955. *Predicting nitrogen fertilizer needs of Iowa Soils :* II *A simplified technique for determining relative nitrate produetion in soil*. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 19 : 74-77.