

Critical levels of phosphorus in the soil for forage legumes, inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. Technical Note

Niveles críticos de fósforo en el suelo para leguminosas forrajeras inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. Nota técnica

P. J. González¹, J. F. Ramírez², R. Rivera¹, A. Hernández¹ and G. Crespo Flores¹

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, MES. Carretera de Tapaste km. 3,5. San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba

²Estación Experimental de Pastos y Forrajes de Villa Clara, MINAG, Cuba

Email: pgonzalez@inca.edu.cu

The effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on critical levels of phosphorus in the soil for *Neonotonia wightii* and *Stylosanthes guianensis* was evaluated. An amount of 20 places were selected, with concentrations of assimilable phosphorus from 0 to 20 cm, which varied from 9 to 55 mg kg⁻¹. In each place, the response of both legumes to phosphoric fertilization was evaluated with or without inoculation of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus cubense*. Using the method of Cate and Nelson, critical levels of phosphorus in the soil were obtained for these legumes, inoculated or not. For *N. wightii* without inoculation, the critical level was 35 mg kg⁻¹ (R²=0.90), but with the inoculation with *G. cubense*, it decreased up to 20 mg kg⁻¹ (R²=0.87). For *S. guianensis*, without inoculation, the result was 20 mg kg⁻¹ (R²=0.83). In presence of *G. cubense*, there was no response to phosphoric fertilization.

Key words: soils, nutrition, phosphoric fertilization, *Neonotonia wightii*, *Stylosanthes guianensis*.

Introduction

Inoculation of selected strains of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is an alternative for improving yields and reducing the use of fertilizers in forage species because, this way, an effective symbiosis between microorganisms and host plants is achieved, which increase the surface of absorption of its roots and, consequently, the efficiency of utilization of nutrients (Cavagnaro *et al.* 2014).

These benefits of plant nutrition may influence on critical levels of soil nutrients. That is that concentrations of a determined nutrient, from those that are expected to have a high or low response of crops to the application of fertilizers (Bai *et al.* 2013). Taking into account that knowledge of critical levels of a nutrient is a necessary tool for a proper diagnosis on the need of fertilization, it is essential to know the effect of AMF on this indicator in inoculated crops.

This study evaluated the influence of arbuscular mycorrhizal inoculation on critical levels of phosphorus in the soil for forage legumes like glycine (*Neonotonia wightii* cv. Tinaroo) and stylo (*Stylosanthes guianensis* cv. CIAT-184).

An amount of 20 places were selected, with different antecedents of P fertilization, belonging to the Empresa Pecuaria Genética “Niña Bonita”, in Artemisa, and to

Se evaluó el efecto de la inoculación micorrízica arbuscular en los niveles críticos de fósforo en el suelo para *Neonotonia wightii* y *Stylosanthes guianensis*. Se seleccionaron 20 sitios, con concentraciones de fósforo asimilables de 0 a 20 cm de profundidad, que variaron de 9 a 55 mg kg⁻¹. En cada sitio se evaluó la respuesta de ambas leguminosas a la fertilización fosfórica, estuvieran inoculadas o no con la especie de hongo micorrízico arbuscular *Glomus cubense*. Mediante el método de Cate y Nelson se obtuvieron los niveles críticos de fósforo en el suelo para estas leguminosas, inoculadas o no. Para *N. wightii* sin inocular, el nivel crítico fue de 35 mg kg⁻¹ (R²=0.90), pero con la inoculación de *G. cubense* disminuyó a 20 mg kg⁻¹ (R²=0.87). Para *S. guianensis*, sin inoculación, fue de 20 mg kg⁻¹ (R²=0.83). En presencia de *G. cubense* no hubo respuesta a la fertilización fosfórica.

Palabras clave: suelos, nutrición, fertilización fosfórica, *Neonotonia wightii*, *Stylosanthes guianensis*.

Introducción

La inoculación de cepas seleccionadas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) constituye una alternativa para mejorar los rendimientos y reducir el uso de fertilizantes en las especies forrajeras porque por esta vía se logra establecer una simbiosis efectiva entre esos microorganismos y las plantas hospedadoras que incrementan la superficie de absorción de sus raíces y, en consecuencia, la eficiencia de la utilización de los nutrientes (Cavagnaro *et al.* 2014).

Estos beneficios para la nutrición de las plantas pueden influir en los niveles críticos de los nutrientes del suelo, es decir, en las concentraciones de un nutriente determinado, a partir de las que se puede esperar una alta o baja respuesta de los cultivos a la aplicación de fertilizantes (Bai *et al.* 2013). Si se tiene en cuenta que el conocimiento de los niveles críticos de determinado nutriente constituye una herramienta necesaria para el diagnóstico certero de la necesidad de fertilización, en los cultivos inoculados resulta indispensable conocer el efecto de los HMA en este indicador.

En este trabajo se evaluó la influencia de la inoculación micorrízica arbuscular en los niveles críticos de fósforo en el suelo para las leguminosas forrajeras glicine (*Neonotonia wightii* vc. Tinaroo) y stylo (*Stylosanthes guianensis* vc. CIAT-184).

the Cooperativa de Créditos y Servicios Fortalecida "Orlando López", in Havana. These facilities are located in lixiviated red ferrallitic soils, lixiviated yellow ferrallitic soil and red brown fersialitic soil (Hernández *et al.* 2015), with contents of assimilable P that had a growing variation, from 9 to 56 mg kg⁻¹. In each place, the response of glycine (*Neonotonia wightii* cv. Tinaroo) and stylo (*Stylosanthes guianensis* cv. CIAT-184) to phosphoric fertilization was determined, with or without arbuscular mycorrhizal inoculation.

A field with 1,000 m² of surface was defined in each place. An amount of 10 subsamples were taken from the soil, from 0 to 20 cm deep, according to the zigzag method, in order to form a compound sample, as a representation of this area. The content of P was determined in the samples regarding the method of Bray and Kurtz I (van Reeuwijk 2002).

Later, plots of glycine and stylo, with a surface of 500 m² each, were established in the selected places. Through a completely randomized design with ten repetitions, three treatments were distributed in those plots. These treatments were composed by a control without phosphorus and without mycorrhizal inoculation, another without phosphorus and with inoculation with *Glomus cubense*, and the last treatment with only the application of 50 kg ha⁻¹ of P₂O₅. This dose is traditionally used in both units for phosphoric fertilization of protein banks. *G. cubense* was used because of its high efficiency in improving yield of crops under the conditions of the soil used for this study (Rivera *et al.* 2015).

Legumes were sown in June, 2013, in furrows separate at 70 cm and light stream, with doses of 8 kg of total seeds ha⁻¹ (2 kg of pure germinable seed ha⁻¹). Inoculation was performed at the moment of sowing using the method of seed covering. For that purpose, these seeds were submerged into a fluid paste, product of a mixture of an amount of solid inoculum equivalent to 10 % of their weight (800 g) and 300 mL of water. Once the seeds were covered and the inoculum was solid, the sowing started.

The inoculum was obtained from a clayey substratum, sterilized in an autoclave at 120 °C for an hour for three days, with *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk as host plant. It contained 35 spores g⁻¹ of substratum, abundant fragments of hyphae from INCAM-4 strain, belonging to *Glomus cubense* species (Y. Rodr. and Dalpé) (Rodríguez *et al.* 2012) and rootlets from the host plant. The strain belonged to the collection of the Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) from the Republic of Cuba.

Three cuts were performed, the first at 120 d after sowing, the second and the third at intervals of 60 and 90 d between cuts, depending on biomass availability. In each cut, yield of dry mass (DM) of the aerial part was evaluated through the distribution at random of 10 frame of 1 m² per each treatment, and the green

Se seleccionaron 20 sitios con diferentes antecedentes de fertilización fosfórica, pertenecientes a áreas ganaderas de la Empresa Pecuaria Genética "Niña Bonita", en Artemisa, y a la Cooperativa de Créditos y Servicios Fortalecida "Orlando López", en La Habana. Estas instalaciones están ubicadas sobre suelos ferralítico rojo lixiviado, ferralítico amarillento lixiviado y fersialítico pardo rojizo (Hernández *et al.* 2015), con contenidos de P asimilable que variaron en orden creciente, de 9 hasta 56 mg kg⁻¹. En cada sitio se determinó la respuesta de glycine (*Neonotonia wightii* cv. Tinaroo) y stylo (*Stylosanthes guianensis* cv. CIAT-184) a la fertilización fosfórica, en presencia y ausencia de inoculación micorrízica arbuscular.

En cada sitio se delimitó un campo con una superficie de 1 000 m². Se tomaron 10 submuestras de suelo, a profundidad de 0 a 20 cm, según el método del zigzag, con el objetivo de formar una muestra compuesta, representativa de esa área. A las muestras se les determinó el contenido de P disponible por el método Bray y Kurtz I (van Reeuwijk 2002).

Posteriormente, en los sitios seleccionados se establecieron parcelas de glycine y stylo, cada una con superficie de 500 m². En ellas, mediante un diseño completamente aleatorizado con diez repeticiones, se distribuyeron tres tratamientos que estuvieron conformados por un testigo sin fósforo y sin inoculación micorrízica, otro sin fósforo más inoculación con la especie de HMA *Glomus cubense*, y otro con la aplicación de 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ solamente. Esta dosis se utiliza tradicionalmente en ambas unidades para la fertilización fosfórica de los bancos de proteína. Se utilizó *G. cubense* por su alta eficiencia para mejorar el rendimiento de los cultivos en las condiciones de los suelos en que se realizó este estudio (Rivera *et al.* 2015).

Las leguminosas se sembraron en junio de 2013, en surcos separados a 70 cm y a chorrillo ligero, con dosis de 8 kg de semilla total ha⁻¹ (2 kg de semilla pura germinable ha⁻¹). La inoculación se realizó en el momento de la siembra por el método del recubrimiento de las semillas. Para ello se sumergieron en una pasta fluida que se logró a partir de la mezcla de una cantidad de inóculo sólido, equivalente a 10 % del peso de las mismas (800 g) y 300 mL de agua. Una vez recubiertas las semillas y solidificado el inóculo, se procedió a la siembra.

El inóculo se obtuvo en un sustrato arcilloso esterilizado en autoclave a 120 °C por una hora durante tres días, con el cultivo de *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk como planta hospedera. Este contenía 35 esporas g⁻¹ de sustrato, abundantes fragmentos de hifas de la cepa INCAM-4, correspondiente a la especie de HMA *Glomus cubense* (Y. Rodr. y Dalpé) (Rodríguez *et al.* 2012) y raicillas de la planta hospedera. La cepa procedía de la colección del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas de la República de Cuba (INCA).

Se realizaron tres cortes, el primero a los 120 d después de la siembra, y el segundo y el tercero a intervalos de 60 y 90 d entre cortes, en función de la disponibilidad de biomasa. En cada corte se evaluó

mass (GM) was cut at 10 cm high the over soil surface. Samples of 200 g were taken from each frame, and were put into a circulated air oven at 70 °C until reaching a constant mass, in order to determine the percentage of dry mass (DM) and estimate DM yield.

The experiment was conducted under dry conditions. Due to the lack of efficient isolates of ryzobium and to not limit the response to phosphoric fertilization, 35 kg of N were applied at the moment of sowing and after each cut. Urea and triple superphosphate were used as N and P sources, respectively. There was no application of potassium fertilization because the contents of this element in the soil were considered as enough for these legumes.

In each place, relative yield (RY) of both species, in presence and absence of arbuscular mycorrhizal inoculation, was calculated using the following formulas:

RY (%) in absence of inoculation = [yield of DM (kg ha⁻¹) of the treatment without P₂O₅ / yield of DM (kg ha⁻¹) with the application of 50 kg P₂O₅ ha⁻¹] x 100.

RY (%) in presence of inoculation = [yield of DM (kg ha⁻¹) of the treatment without P₂O₅ + *G. cubense* / yield of DM (kg ha⁻¹) with the application of 50 kg P₂O₅ ha⁻¹] x 100.

Two graphs were built for each legume. These graphs contained the relative yield obtained in each place, in absence of mycorrhizal inoculation and in presence of *G. cubense*, respectively, with their own content of soil P. Two perpendicular lines were located using the graphic method of Cate and Nelson (1965). The horizontal line cut the Y axis and divided relative yields that showed a high response to P from those that had a low or null response to the application of this element. The vertical line cut the X axis and indicated the critical level of P in the soil. It was statistically calculated from the following division of the population in two groups, and was located in the point where the highest correlation coefficient (R²) was reached between both, according to Cate and Nelson (1971).

Figures 1 and 2 show critical levels of soil P for glycine and stylo, respectively, inoculated or not with *G. cubense*. For glycine, with or without inoculation, and for stylo without inoculation, the location of most of the points in the left inferior and right superior quadrants, which form the perpendicular lines of graphics, indicated that soil P contents and relative yield of legumes were related (Cate and Nelson 1965). Consequently, the used method was valid for determining the critical levels of this element, with or without arbuscular mycorrhizal inoculation.

According to Cate and Nelson (1971), crop yield, under field conditions, is affected by a group of edaphic and climatic conditions that are inherent to each locality. However, the fact that even though a division between two populations may be established, one with high and another with low or null response to the application of an specific nutrient, indicates that

el rendimiento de masa seca (MS) de la parte aérea mediante la distribución al azar de 10 marcos de 1 m² por cada tratamiento, cuya masa verde (MV) se cortó a 10 cm de altura sobre la superficie del suelo. De cada marco se tomó una muestra de 200 g, que se llevó a una estufa de circulación de aire a 70 °C hasta alcanzar una masa constante, con el propósito de determinar el porcentaje de masa seca (MS) y estimar el rendimiento de MS.

El experimento se condujo en condiciones de secano. Al no disponer de aislados eficientes de rizobios, y para que no se limitara la respuesta a la fertilización fosfórica, se aplicaron 35 kg de N en el momento de la siembra y después de cada corte. Se utilizó la urea y el superfosfato triple como portadores de N y P, respectivamente. No se aplicó fertilizante potásico porque los contenidos de este elemento en el suelo se consideraron suficientes para las leguminosas.

En cada sitio se calculó el rendimiento relativo (RR) de ambas especies, en presencia y ausencia de la inoculación micorrízica arbuscular, mediante las fórmulas siguientes:

RR (%) en ausencia de inoculación = [rendimiento de MS (kg ha⁻¹) del tratamiento sin P₂O₅ / rendimiento de MS (kg ha⁻¹) con la aplicación de 50 kg P₂O₅ ha⁻¹] x 100.

RR (%) en presencia de inoculación = [rendimiento de MS (kg ha⁻¹) del tratamiento sin P₂O₅ + *G. cubense* / rendimiento de MS (kg ha⁻¹) con la aplicación de 50 kg P₂O₅ ha⁻¹] x 100.

Para cada leguminosa se construyeron dos gráficos. En estos se relacionó el rendimiento relativo que se obtuvo en cada sitio, en ausencia de inoculación micorrízica y en presencia de *G. cubense*, respectivamente, con su correspondiente contenido de P del suelo. Mediante el método gráfico de Cate y Nelson (1965) se ubicaron dos líneas perpendiculares. La horizontal cortó el eje Y y dividió los rendimientos relativos que mostraron alta respuesta al P de los que tuvieron una respuesta baja o nula a la aplicación de este elemento. La línea vertical cortó el eje X e indicó el nivel crítico de P en el suelo. Este se calculó estadísticamente a partir de la división sucesiva de la población de datos en dos grupos, y se situó en el punto donde se logró el mayor coeficiente de correlación (R²) entre ambos, según Cate y Nelson (1971).

En las figuras 1 y 2 se presentan los niveles críticos de P en el suelo para glycine y stylo, respectivamente, inoculados o no con *G. cubense*. Para glycine no inoculada o inoculada como para stylo sin inocular, la ubicación de la mayoría de los puntos en los cuadrantes inferior izquierdo y superior derecho, que forman las líneas perpendiculares de los gráficos, indicó que los contenidos de P del suelo y el rendimiento relativo de las leguminosas estuvieron relacionados (Cate y Nelson 1965). Consecuentemente, el método utilizado fue válido para la determinación de los niveles críticos de este elemento, con inoculación micorrízica arbuscular o sin ella.

Según Cate y Nelson (1971), el rendimiento de los cultivos en condiciones de campo se afecta por un

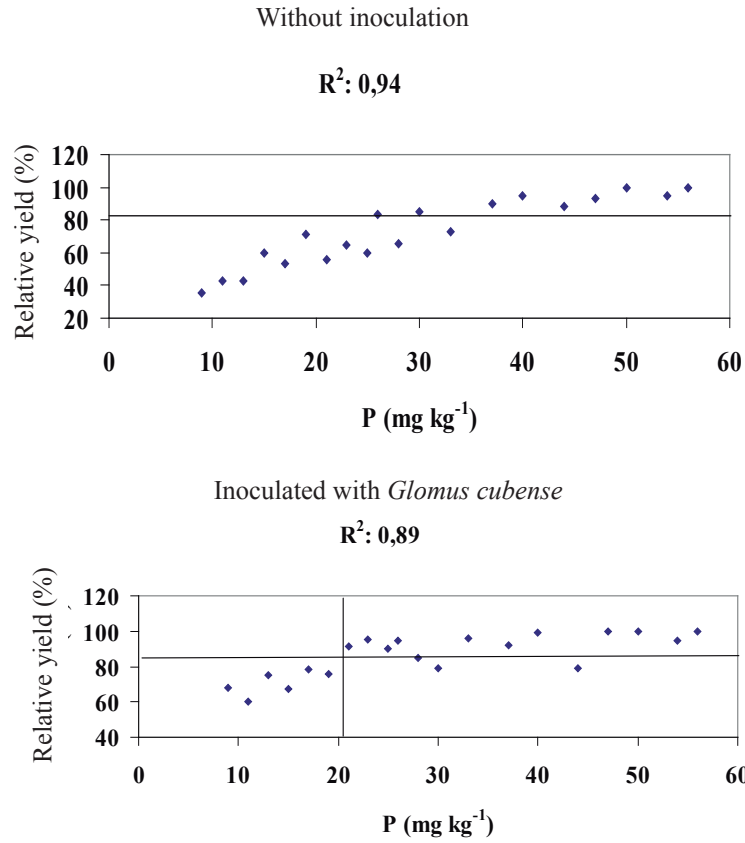


Figure 1. Critical levels of soil P for glycine, inoculated or not with *Glomus cubense* species.

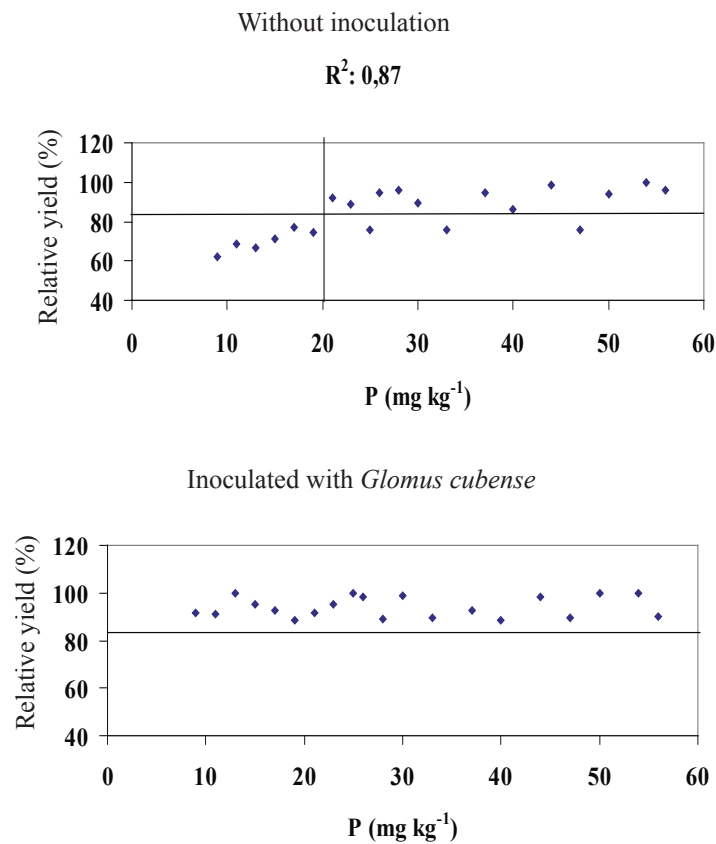


Figure 2. Critical soil P levels for stylo, inoculated or not with *Glomus cubense* species

the content of this nutrient in the soil is more important than those variables that cannot be controlled, in order to determine the response of these crops to its application.

In absence of mycorrhizal inoculation, the critical level of soil P for glycine was 35 mg kg⁻¹. However, after inoculating with *G. cubense*, this level decreased to 20 mg kg⁻¹. For stylo, there was a critical level of 20 mg kg⁻¹ of P in absence of *G. cubense*, and there was no response of this crop to phosphoric fertilization with the presence of this AMF species.

According to these results, in absence of arbuscular mycorrhizal inoculation, a response of glycine to phosphoric fertilization may be expected when the tenors of soil P are lower than 35 mg kg⁻¹. However, after inoculating it with *G. cubense*, inferior values indicate that plants are sufficiently provided of P. In this case, a response to the application of this element should be expected when its content within the soil is inferior to 20 mg kg⁻¹.

In stylo without inoculation, a response to phosphoric fertilization may be obtained when the contents of soil P are inferior to 20 mg kg⁻¹, but, with the presence of *G. cubense*, its application is unnecessary, apart from the indicators of this element in the soil. This way, it may be inferred that, with arbuscular mycorrhizal inoculation, this species may obtain all the P necessary for fulfilling its requirements.

The effect of *G. cubense* on the modification of critical levels of P for both forage legumes, may be related to the increase of absorption surface of roots of inoculated plants, which could explore a superior volume of soil and access to less available forms of this element. It has been demonstrated that the inoculation of AMF species, previously selected due to their ability of improving productivity of crops, may produce an effective mycorrhizal functioning that improves absorption efficiency of nutrients, increases yields and decreases the requirements of fertilizers (Taffouo *et al.* 2014).

Phosphorus is a macronutrient within the soil in low concentrations, and it is characterized by its low mobility. Under these conditions, the introduction of efficient AMF species is a determinant element for phosphoric nutrition of plants, which roots increase the places of absorption with higher affinity for this element, and may access to less mobile forms of it (Cozzolino *et al.* 2013).

The difference between the critical levels of P in both forage legumes may be caused by the difference in their requirements of this nutrient. Glycine needs soils of high fertility, provided of nutrients, mainly P, for a good development. Stylo is better developed in soils of low fertility and high acidity. In fact, it is stated that this species may be cultivated under low P availability conditions, reaching the maximum growth with relatively low doses of this element (Lopes *et al.* 2011).

espectro de condiciones edáficas y climáticas inherentes a cada localidad. Sin embargo, el hecho de que aun así se pueda establecer una división entre dos poblaciones, una con alta y otra con baja o nula respuesta a la aplicación de un nutriente determinado, indica que el contenido de ese nutriente en el suelo es más importante que las variables que no se pueden controlar, si se trata de determinar la respuesta de estos cultivos a su aplicación.

En ausencia de inoculación micorrízica, el nivel crítico de P en el suelo para glycine fue de 35 mg kg⁻¹. Sin embargo, cuando se inoculó con *G. cubense*, este nivel disminuyó a 20 mg kg⁻¹. Para stylo se obtuvo un nivel crítico de 20 mg kg⁻¹ de P en ausencia de *G. cubense*, y con esta especie de HMA no hubo respuesta del cultivo a la fertilización fosfórica.

De acuerdo con estos resultados, en ausencia de la inoculación micorrízica arbuscular se puede esperar una respuesta de glycine a la fertilización fosfórica cuando los tenores de P en el suelo sean menores de 35 mg kg⁻¹. Sin embargo, cuando se inocula con la especie de HMA *G. cubense*, valores inferiores al señalado indican que las plantas aún se encuentran suficientemente abastecidas de P. En este caso, solo se puede esperar una respuesta a la aplicación de este elemento cuando sus contenidos en el suelo sean inferiores a 20 mg kg⁻¹.

En stylo sin inocular se puede obtener una respuesta a la fertilización fosfórica cuando los contenidos de P en el suelo sean inferiores a 20 mg kg⁻¹, pero en presencia de *G. cubense* su aplicación resulta innecesaria, independientemente de los tenores de este elemento en el suelo. De este modo, se infiere que mediante la inoculación micorrízica arbuscular esta especie puede obtener todo el P necesario para satisfacer sus requerimientos.

El efecto de *G. cubense* en la modificación de los niveles críticos de P, para ambas leguminosas forrajeras, pudo estar relacionado con el aumento de la superficie de absorción de las raíces de las plantas inoculadas, que pudieron explorar mayor volumen de suelo y acceder a formas menos disponibles de este elemento. Se ha demostrado que la inoculación de especies de HMA, previamente seleccionadas por su capacidad para mejorar la productividad de los cultivos, puede producir un funcionamiento micorrízico efectivo que mejora la eficiencia de la absorción de los nutrientes, aumenta los rendimientos y disminuye los requerimientos de fertilizantes (Taffouo *et al.* 2014).

El P es un macronutriente presente en el suelo en bajas concentraciones y se caracteriza por su baja movilidad. En esas condiciones, la introducción de especies de HMA eficientes es determinante para la nutrición fosfórica de las plantas, cuyas raíces aumentan los sitios de absorción con mayor afinidad por este elemento, y pueden acceder a formas menos móviles del mismo (Cozzolino *et al.* 2013).

La diferencia entre los niveles críticos de P, en una y otra leguminosa forrajera, se puede deber a que sus requerimientos del nutriente difieren. Glycine necesita

It can be concluded the arbuscular mycorrhizal inoculation may modify the critical levels of soil P for forage legumes. Under the conditions of this study, for glycine without inoculation, the critical level was 35 mg kg⁻¹, but with the presence of *G. cubense*, it was reduced to 20 mg kg⁻¹. For stylo, the critical level of P was 20 mg kg⁻¹ without inoculation. In presence of *G. cubense*, there was no response to phosphoric fertilization.

suelos de alta fertilidad, abastecidos de nutrientes, fundamentalmente de P, para un buen desarrollo. Stylo crece bien en suelos de baja fertilidad y elevada acidez. De hecho, se plantea que esta especie se puede cultivar en condiciones de baja disponibilidad de P, donde llega a alcanzar el máximo crecimiento con dosis relativamente bajas de este elemento (Lopes *et al.* 2011).

Se concluye que la inoculación micorrízica arbuscular puede modificar los niveles críticos de P en el suelo para las leguminosas forrajeras. En las condiciones de este estudio, para glycine sin inocular el nivel crítico fue de 35 mg kg⁻¹, pero en presencia de *G. cubense* se redujo a 20 mg kg⁻¹. Para stylo, el nivel crítico de P fue de 20 mg kg⁻¹ sin inoculación. En presencia de *G. cubense* no hubo respuesta a la fertilización fosfórica.

References

- Bai, Z., Li, H., Yang, X., Zhou, B., Shi, X., Wang, B., Li, D., Shen, J., Chen, Q., Qin, W., Oenema, O. & Zhang, F. 2013. "The critical soil P levels for crop yield, soil fertility and environmental safety in different soil types". *Plant and Soil*, 372 (1-2): 27–37, ISSN: 0032-079X, 1573-5036, DOI: 10.1007/s11104-013-1696-y.
- Cate, R. B. & Nelson, L. A. 1965. A Rapid Method for Correlation of Soil Test Analyses with Plant Response Data. (ser. International Soil Testing series: Technical bulletin, no. ser. 1), United States: N.C. State University Agricultural Experiment Station, 13 p., Available: <https://books.google.com/cu/books/about/A_Rapid_Method_for_Correlation_of_Soil_T.html?id=eXaltgAACAAJ&redir_esc=y>, [Consulted: April 22, 2016].
- Cate, R. B. & Nelson, L. A. 1971. "A Simple Statistical Procedure for Partitioning Soil Test Correlation Data Into Two Classes". *Soil Science Society of America Journal*, 35 (4): 658, ISSN: 0361-5995, DOI: 10.2136/sssaj1971.03615995003500040048x.
- Cavagnaro, R. A., Oyarzabal, M., Oesterheld, M. & Grimoldi, A. A. 2014. "Screening of biomass production of cultivated forage grasses in response to mycorrhizal symbiosis under nutritional deficit conditions". *Grassland Science*, 60 (3): 178–184, ISSN: 17446961, DOI: 10.1111/grs.12057.
- Cozzolino, V., Di Meo, V. & Piccolo, A. 2013. "Impact of arbuscular mycorrhizal fungi applications on maize production and soil phosphorus availability". *Journal of Geochemical Exploration*, 129: 40–44, ISSN: 03756742, DOI: 10.1016/j.gexplo.2013.02.006.
- Hernández, J. A., Pérez, J. J. M., Bosch, I. D. & Castro, S. N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA, 93 p., ISBN: 978-959-7023-77-7.
- Lopes, J., Evangelista, A. R., Fortes, C. A., Pinto, J. C., Furtini Neto, A. E. & de Souza, R. M. 2011. "Nodulação e produção de raízes do estilozante Mineirão sob efeito de calagem, silicatagem e doses de fósforo". *Ciência e Agrotecnologia*, 35 (1): 99–107, ISSN: 1413-7054, DOI: 10.1590/S1413-70542011000100012.
- Rivera, R., González, P. J., Hernández, A., Martín, G., Ruiz, L., Fernández, K., Simó, J., García, M., Pérez, A., Riera, M., Bustamante, C., Joao, J. P. & Ruiz, M. 2015. "La importancia del ambiente edáfico y del pH sobre la efectividad y la recomendación de cepas eficientes de HMA para la inoculación de los cultivos". In: VIII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo, La Habana, Cuba: Instituto de Suelos, Ministerio de la Agricultura y Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo, ISBN: 978-959-296-039-8.
- Rodríguez, Y., Dalpé, Y., Séguin, S., Fernández, K., Fernández, F. & Rivera, R. A. 2012. "*Glomus cubens* sp. nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba". *Mycotaxon*, 118 (1): 337–347, ISSN: 00934666, 21548889, DOI: 10.5248/118.337.
- Taffouo, V. D., Ngwene, B., Akoa, A. & Franken, P. 2014. "Influence of phosphorus application and arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, foliar nitrogen mobilization, and phosphorus partitioning in cowpea plants". *Mycorrhiza*, 24 (5): 361–368, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-013-0544-5.
- van Reeuwijk L. P. (ed.). 2002. Procedures for soil Analysis. 6th ed., Wageningen, Netherlands: International Soil Reference and Information Centre-FAO, ISBN: 90-6672-044-1, Available: <http://www.isric.org/sites/all/modules/pubdlcnt/pubdlcnt.php?file=/isric/webdocs/docs/ISRIC_TechPap09_2002.pdf&nid=334>, [Consulted: April 24, 2016].

Received: November 29, 2015