

Artículo original

Manejo de precedentes inoculados con HMA para micorrizar eficientemente el boniato *Ipomoea batatas* (L.) Lam en sucesión

Alberto Espinosa-Cuéllar¹

Ramón Rivera-Espinosa^{2*}

Luís Ruiz-Martínez¹

Ernesto Espinosa-Cuéllar¹

Yasmani Lago-Gato¹

¹Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Santo Domingo, Villa Clara, Cuba

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

*Autor para correspondencia. rrivera@inca.edu.cu

RESUMEN

La utilización de cultivos precedentes, inoculados como vía para micorrizar eficientemente los cultivos en sucesión, tiene un alto valor práctico, sobre todo en cultivos como el boniato, cuya inoculación directa requiere una alta cantidad de inoculante, pero en los trabajos realizados solo se ha evaluado el intervalo de 30 días entre ambos cultivos. Con el objetivo de precisar la efectividad en intervalos superiores y su dependencia del tipo de cultivo precedente y época de plantación, se ejecutaron 12 experimentos en un suelo Pardo, utilizando maíz y dos especies de frijol como precedentes, sembrados en época lluviosa y poco lluviosa y en todos los casos bajo riego. Los precedentes presentaron una alta respuesta a la inoculación con *Rhizophagus irregularis* /INCAM11 en ambas épocas, con mayores porcentajes de colonización micorrízica, de esporas en el maíz y en la época lluviosa. La duración del efecto de permanencia en el rendimiento del boniato dependió del precedente y fue similar en ambas épocas, con las leguminosas se extendió hasta 45 días, aunque con el maíz, a los 45 días, se logró entre el 76 el 81 % del efecto y a los 60 días desapareció para ambos precedentes. Los mayores rendimientos del boniato se alcanzaron con la plantación en la época lluviosa y en la sucesión frijol-boniatto.

La potencialidad de los cultivos precedentes inoculados para provocar el efecto de permanencia, no puede ser definida a través de la simple comparación de los indicadores de funcionamiento micorrízico que presentan estos.

Palabras clave: permanencia del inoculante micorrízico, cultivos en sucesión, maíz, frijol

Recibido: 18/10/2018

Aceptado: 27/03/2019

INTRODUCCIÓN

La simbiosis micorrízica arbuscular se presenta en cerca del 80 % de las especies vegetales, en las cuales se encuentran el grueso de los cultivos económicos ⁽¹⁾ y son ampliamente reconocidos los beneficios que aportan a las plantas y al ambiente, asociados al incremento en la toma de nutrientes ⁽²⁾ y agua ⁽³⁾, al efecto de bioprotección frente al ataque de algunas plagas radicales y foliares ⁽⁴⁾, a la tolerancia a metales pesados ⁽⁵⁾, así como otros ecoservicios, entre los que se encuentran mejoras en los agregados del suelo, participación en los ciclos del Carbono y del Nitrógeno, potenciando una mayor resiliencia del ecosistema ^(6,7) y constituye un reto el manejo consciente de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), para optimizar estos beneficios en los agrosistemas ^(8,9).

Los trabajos desarrollados en Cuba, al respecto, se basan en la inoculación de cepas eficientes de HMA de carácter generalista con las especies vegetales y recomendadas en base al ambiente edáfico ⁽¹⁰⁾. De este modo se diseñan sistemas integrales de suministro de nutrientes, a partir de una micorrización efectiva de los diferentes cultivos, obteniendo altos rendimientos y satisfactorio estado nutricional, con menores dosis de fertilizantes ^(8,11-13).

Uno de los aspectos encontrados al trabajar con cultivos dependientes de la micorrización, ha sido la presencia de un positivo efecto de permanencia del inoculante aplicado a diferentes cultivos sobre el primer cultivo en sucesión, aunque desaparece para los cultivos posteriores ^(8,14). Este efecto se ha vinculado bien con el uso de los abonos verdes inoculados ^(15,16) o con el manejo de los inoculantes en secuencias de cultivos ⁽¹⁴⁾, con sustitución en ambos casos de la inoculación del primer cultivo en sucesión; aunque también ha sido evaluado en cultivos perennes inoculados ^(11,17), para definir el momento de la reinoculación. La desaparición del efecto de permanencia ha sido asociada en lo fundamental a la competencia con la micorriza

residente ⁽¹⁸⁾, a las características del cultivo, su manejo agronómico y las condiciones edáficas ^(11,19).

Ipomea batata (L.) Lam es un cultivo con significativa respuesta a la inoculación, pero que aún utilizando la vía de recubrimiento de los esquejes ⁽¹⁴⁾ requiere de muy altas cantidades de inoculantes. Los trabajos desarrollados recientemente en este cultivo ⁽²⁰⁾, establecieron que, utilizando como precedentes inoculados cultivos comunes en la agricultura cubana (una gramínea como maíz y leguminosas como frijól común o *Vigna unguiculata*, sembrados en época lluviosa y poco lluviosa), además de los beneficios de la inoculación sobre estos precedentes, se encontraron efectos de permanencia igualmente efectivos con ambos precedentes y en las dos épocas. De este modo no es necesario inocular el boniato, con independencia de los valores mayores de esporas micorrízicas reproducidas por el maíz y por los cultivos sembrados en la época lluviosa.

En las anteriores publicaciones ^(14,16,20), el intervalo entre la cosecha de los precedentes inoculados y el cultivo en sucesión no fue mayor de 30 días. Por tanto, debido a la importancia práctica de los resultados reportados, a la posible influencia de las diferencias encontradas en la reproducción de esporas entre los precedentes y épocas en la duración del efecto y al hecho de que, tanto en las secuencias de cultivos ^(8,14), como en los cultivos perennes inoculados, la respuesta positiva a la inoculación desaparece gradualmente en el tiempo ^(11,17). Para definir el manejo de los precedentes inoculados en una u otra época, se consideró necesario, determinar cómo influían intervalos superiores a los 30 días sobre la efectividad del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT) ubicado a los 22° 35' N, 80° 18' W y a 40 m s.n.m., en el municipio de Santo Domingo, provincia de Villa Clara, Cuba, sobre suelo Pardo argénico medianamente lavado ⁽²¹⁾, clasificado también como Cambisol eútrico sin carbonatos ⁽²²⁾, durante los años 2015 y 2016.

El suelo en el área experimental fue homogéneo, sin presentar diferencias significativas ($p < 0,05$) en las variables determinadas entre los diferentes experimentos, años y épocas de siembra. En la Tabla 1 se presentan los valores promedio correspondientes a cada época de siembra. El suelo presentó una reacción neutra, así como valores bajos de materia orgánica posiblemente asociados al cultivo continuo. Los contenidos de fósforo disponible fueron bajos y los de potasio fueron medios. El calcio y el magnesio intercambiable presentaron valores altos y típicos de

estos suelos. Las esporas micorrízicas fueron bajas, con valores aproximados a los reportados en áreas colindantes con similares tipos de suelo y manejo ^(12,14).

Tabla 1. Algunas propiedades iniciales del suelo en el área experimental y en ambas épocas de siembra de los precedentes. Profundidad de muestreo de 0-20 cm

Épocas de siembra de los precedentes	pH	Nitrógeno total	MO	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	Na	K	Esp./50 g
	H ₂ O	(g kg ⁻¹)		mg kg ⁻¹			(cmolc kg ⁻¹)			
Lluviosa	7,12	1,60	20,02	20,20	21,44	30,20	4,29	0,37	0,61	41,5
Z _{1-α} * S _{x̄}	±0,09	±0,07	±0,14	±0,14	±0,07	±0,38	±0,06	±0,02	±0,02	±0,64
Poco lluviosa	7,12	1,68	20,30	20,02	21,45	27,85	4,35	0,38	0,62	42,0
Z _{1-α} * S _{x̄}	±0,10	±0,06	±0,16	±0,14	±0,06	±0,35	±0,06	±0,02	±0,02	±0,77

Z_{1-α} * S_{x̄} = ± intervalo de confianza (1-α = 0,05), siendo Z₁ = 1,96. Cada valor es promedio de 24 muestras compuestas

Las precipitaciones anuales en los años 2015 y 2016 fueron de 1211 y 1370 mm, ligeramente inferiores en el año 2015 a la media histórica (periodo 1969-2016) de 1348 mm, aunque en los dos años las precipitaciones en el periodo lluvioso (mayo-octubre) alcanzaron el 76 y 78 % del total anual respectivamente, muy similar al porcentaje histórico de 77 %. Las temperaturas medias anuales fueron de 24,6 y 24,24 °C, respectivamente, similares a la media histórica de 24,3 °C, aunque en el periodo lluvioso fueron de 26,03 °C, superiores en 3,8 °C a las del periodo poco lluvioso.

Los experimentos se desarrollaron con los mismos cultivos precedentes y épocas referidos en una anterior publicación ⁽²⁰⁾. En la época lluviosa (Tabla 2) fueron maíz (*Zea mays* L./var. MC-4) y frijol vigna (*Vigna unguiculata* (L.) Walp./var. Guariba); en el caso de la siembra de enero se utilizaron la misma variedad de maíz y el frijol común (*Phaseolus vulgaris*/var. BAT-304). A continuación de la cosecha de los cultivos precedentes y en tres momentos diferentes (30, 45 y 60 días), se plantó el cultivo del boniato (*Ipomea batatas* (L) Lam/var.'CEMSA 78-354').

Como los cultivos precedentes fueron diferentes en las épocas y además no poseen la misma extensión de su ciclo biológico, los experimentos no incluyeron los cultivos, ni la época como factores y se desarrollaron como experimentos independientes. Para cada cultivo y en cada época se ejecutaron tres experimentos, cada uno con la misma fecha de siembra del precedente y variando los periodos entre la cosecha de este y la plantación del boniato (Tabla 2) para un total de 12 experimentos. Los tratamientos (Tabla 3) y el diseño utilizado en cada experimento fueron similares: bloques al azar de cuatro tratamientos, que incluían tanto la etapa del cultivo

precedente como la del boniato (factor A) y repetidos durante dos años (factor B), con arreglo factorial de 4 x 2 y con cuatro réplicas.

Los marcos de plantación utilizados fueron similares a los reportados en una publicación anterior ⁽²⁰⁾, 0,9 x 0,3 m para el maíz, 0,7 x 0,2 m para el frijol común y 0,9 x 0,1 m para la vigna. En el cultivo del boniato el marco de plantación fue 0,9 x 0,23 m para las sucesiones comenzadas en el periodo lluvioso y 0,9 x 0,3 m para las otras.

Las parcelas estuvieron constituidas por cinco surcos de 6 metros de largo, excepto para el frijol, las cuales tenían seis surcos. En cada experimento, los cultivos precedentes y el boniato de cada tratamiento se ubicaron siempre en las mismas parcelas.

Tabla 2. Fechas de siembra y cosecha de los cultivos en las diferentes sucesiones en ambos años

Época ¹	Cultivo precedente	Siembra	Cosecha	Plantación del boniato			Cosecha
				30 días	45 días	60 días	
Lluviosa	Maíz año 1	11/5/2015	12/9/2015	15/10/15	30/10/15	16/11/15	4 meses
	Vigna año 1	10/6/2015	12/9/2015	15/10/15	30/10/15	16/11/15	4 meses
	Maíz año 2	11/4/2016	12/8/2016	15/9/16	30/9/16	15/10/16	4 meses
	Vigna año 2	10/5/2016	12/8/2016	15/9/16	30/9/16	15/10/16	4 meses
Poco lluviosa	Maíz año 1	15/1/2015	16/5/2015	18/6/15	3/7/15	18/7/15	4 meses
	Fríjol año 1	9/2/2015	16/5/2015	18/6/15	3/7/15	18/7/15	4 meses
	Maíz año 2	16/1/2016	18/5/2016	18/6/16	4/7/16	19/7/16	4 meses
	Fríjol año 2	10/2/2016	18/5/2016	18/6/16	4/7/16	19/7/16	4 meses

¹La época se define por el comienzo de la sucesión

Tabla 3. Tratamientos estudiados en cada sucesión y para cada uno de los periodos entre cosecha del precedente y plantación del boniato

Tratamientos	Etapas cultivos precedentes	Etapas cultivo del boniato
1	50 % NPK+HMA	50 % NP 25 % K + HMA
2	50 % NPK+HMA	50 % NP 25 % K
3	50 % NPK	50 % NP 25 % K
4	100 % NPK	100 % NPK

Precedentes en época lluviosa: maíz (var. MC-4) y vigna (var. Guariba). Precedentes en época poco lluviosa: maíz (var. MC-4) y frijol común (var. BAT-304). Variedad de boniato 'CEMSA 78-354'. HMA: *R. irregulare*/INCAM11.

Inoculante e inoculación micorrízica

El inoculante se preparó en el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Mayabeque, Cuba, a base de *Rhizophagus irregularis* ⁽²³⁾/INCAM11 y utilizando *Urochloa decumbens* (Hochst. ex A. Rich.) como planta hospedera. Esta cepa se recomienda como cepa eficiente para esta condición edáfica ⁽¹⁰⁾. El inoculante poseía 30 esporas g⁻¹. La inoculación se ejecutó vía recubrimiento de las semillas, en el caso de los granos con una cantidad de inoculante equivalente al 8 % del peso de las mismas ⁽²⁴⁾, con dosis de 2 y 4 kg ha⁻¹ para el maíz y el frijol, respectivamente y en el boniato se recubrió el tercio inferior de los esquejes, con una mezcla de 1 kg de inoculante en 5 litros de agua y aplicando 35 kg ha⁻¹ ⁽¹⁴⁾.

Fertilización y atenciones culturales

En el caso de la fertilización para altos rendimientos (100 % NPK) se corresponden con las de los respectivos Instructivos ⁽²⁵⁻²⁸⁾ y fueron: 90, 130, 170 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, para el maíz, de 80, 60, 90 kg ha⁻¹ para el frijol y la vigna, así como de 120, 100, 300 kg ha⁻¹ de N, P₂O₅ y K₂O, para el boniato. Las dosis aplicadas para obtener un funcionamiento micorrízico óptimo en los diferentes precedentes inoculados fueron del 50 % NPK ⁽²⁴⁾ y en el caso del boniato se aplicaron 50 % NP 25 % K ⁽²⁹⁻³¹⁾. Las labores a los cultivos precedentes y al boniato, incluyendo el riego, se realizaron según los Instructivos Técnicos de estos cultivos ⁽²⁵⁻²⁸⁾. Es de señalar que cuando los cultivos precedentes se cosecharon, el suelo se preparó de forma convencional, con una secuencia de labores de roturación (arado), dos pases de grada y finalmente se surcó, ajustando los tiempos entre labores a los tres intervalos estudiados.

Evaluaciones

Análisis de suelo

Se tomaron muestras de suelos compuestas en la profundidad de 0-20 cm en cada una de las réplicas de los experimentos y al inicio de estos. Las determinaciones realizadas fueron las establecidas en el laboratorio de suelos y tejido vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas ⁽³²⁾ y consistieron en : pH en KCl y H₂O, con una relación suelo-solución de 1:2,5; nitrógeno total (Nt) por el método de micro-Kjeldahl; materia orgánica según Walkley-Black; el P₂O₅ y K₂O con extracción con solución de (NH₄)₂CO₃ con pH 9 y los cationes intercambiables (Ca, Mg, Na y K) por extracción con AcNH₄ 1N a pH 7,0.

Colonización total de las raíces con HMA (%)

Se efectuó a los 45 días después de la siembra de maíz, vigna y frijol común y a los 90 días después de la plantación del boniato. Para la colonización total se tomaron muestras de raíces finas de ocho plantas por parcela, ubicadas en los surcos centrales. Las raíces fueron teñidas ⁽³³⁾ y evaluadas por el método de los interceptos ⁽³⁴⁾.

Conteo de esporas micorrízicas

El número de esporas micorrízicas fue determinado al inicio y en el momento de la cosecha de cada cultivo y se expresó como número total de esporas en 50 g de suelo. Se tomó una muestra compuesta de 10 submuestras (0-20 cm) por parcela y la extracción de esporas se realizó por el método del decantado húmedo ⁽³⁵⁾ y el conteo en microscopio estéreo.

Rendimiento

Para su estimación en t ha⁻¹, fueron cosechadas las plantas de cada parcela, excluyendo las que se encontraban en los dos surcos de borde. En los cultivos del maíz, vigna y frijol se realizó a los 120, 90 y 100 días, respectivamente y se expresó en base a 14 % de humedad. En el boniato se realizó a los 120 días y solo se cuantificaron las raíces comerciales (>100 g).

El efecto de permanencia (EP) en cada intervalo se estimó a partir de las respuestas en el rendimiento del boniato de los tratamientos precedente inoculado-boniato (R1) y precedente inoculado-boniato inoculado (R2), en relación al rendimiento del boniato en la sucesión homóloga no inoculada y se calculó como sigue $EP (\%) = \frac{R1}{R2} \times 100$.

Análisis estadístico

Se realizaron los ANOVA de acuerdo con el diseño utilizado. Para los cultivos precedentes, al disponer de información de tres experimentos para cada combinación precedente por épocas, se procedió primeramente a evaluar si existía interacción tratamientos por repetición de experimentos por años y los resultados se presentan a partir de ese análisis. Para el cultivo del boniato los resultados se expresan de acuerdo a si la interacción tratamientos por años en cada experimento fue o no significativa. Además, en el cultivo del boniato se establecieron análisis de regresión entre el porcentaje de colonización vs el rendimiento y vs las cantidades de esporas en 50 g para cada sucesión y época, utilizando los datos correspondientes a los tres intervalos

de plantación. La comparación entre experimentos se realizó con los intervalos de confianza ($p < 0,05$), calculados a partir de los E_{sx} obtenidos en los ANOVA realizados para cada variable en los diferentes experimentos.

RESULTADOS

En ninguno de los experimentos los términos de interacción fueron significativos, por lo cual solo se presentarán los efectos del factor tratamientos sobre cada una de las variables en los diferentes experimentos.

Cultivos precedentes en época lluviosa y cultivo principal en época poco lluviosa

Tanto el maíz como la vigna presentaron respuestas significativas ($p < 0,05$) a las dosis de fertilización, como a la inoculación con la cepa eficiente de HMA, de forma tal que no existieron diferencias entre los rendimientos de los tratamientos inoculados que recibieron dosis medias de fertilización y los que recibieron las dosis superiores de fertilización en cada cultivo (Tabla 4A y B). La inoculación micorrízica también originó incrementos significativos del porcentaje de colonización micorrízica y de las cantidades de esporas, con relación a los tratamientos no inoculados, mostrando los tratamientos no inoculados que recibieron las mayores dosis de fertilización, los menores valores; no obstante, los valores de colonización y de esporas obtenidos en el precedente maíz inoculado fueron superiores ($p < 0,05$) que cuando se utilizó vigna como tal.

Tabla 4. Efectos de la inoculación con HMA en los precedentes y efectividad del efecto de permanencia en las sucesiones iniciadas en la época lluviosa

A. Maíz época lluviosa				Boniato época poco lluviosa									
Tratamientos	t ha ⁻¹	Col	# esp	30 días			45 días			60 días			
				Tratamientos	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# esp
HMA 50 %NPK	3,59a	72,8a	735a	HMA 50 %NPK	25,75a	72,3a	715a	25,1a	71,8a	713a	25,9a	73,5a	715a
HMA 50 %NPK	3,58a	71,4a	736a	50 %NPK	25,49a	70,8a	712a	24,1b	70,1a	712a	20,4b	37,1b	310b
50 % NPK	3,36b	10,9b	71b	50 % NPK	21,33b	10,1b	69b	20,9c	9,9b	69b	20,6b	8,5c	70c
100 % NPK	3,58a	9,5b	54c	100 % NPK	25,84a	9,8b	61c	25,5a	8,9b	60c	25,8a	8,5c	60d
EsX	0,01	0,53	0,99	EsX	0,235	0,38	1,1	0,20	0,49	1,1	0,21	0,39	1,3
p	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

B. Vigna época lluviosa				Boniato época poco lluviosa									
Tratamientos	t ha ⁻¹	Col	# esp	30 días			45 días			60 días			
				Tratamientos	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# esp
HMA 50 %NPK	2,47a	58,8a	521a	HMA 50 %NPK	25,8a	54,3a	517a	26,1a	53,9a	516a	26,1a	55,3a	516a
HMA 50 %NPK	2,48a	57,8a	520a	50 %NPK	25,9a	54,5a	516a	26,1a	52,9a	513a	21,1b	41,8b	226b
50 % NPK	2,26b	9,3b	56b	50 %NPK	20,9b	10,4b	56b	21,2b	9,8	56b	21,2b	10 c	56 c
100 % NPK	2,49a	8,3b	51c	100 % NPK	26,1a	8,6c	41c	26,3a	8,4	37c	26,3a	8,3d	41d
EsX	0,03	0,27	0,44	EsX	0,14	0,31	1,0	0,18	0,33	1,5	0,21	0,43	1,5
p	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

col (% colonización micorrízica); #esp (esporas 50 g⁻¹). HMA: *R. irregulare* /INCAM 11. Las interacciones con las repeticiones y años no fueron significativas. Para cada cultivo precedente o intervalo de plantación del boniato, letras diferentes en cada columna conllevan a diferencias significativas a p<0,05 según Prueba de Duncan. p: valor p del factor tratamientos en los diferentes ANOVA realizados.

En relación con el boniato, este cultivo siempre respondió significativamente a la inoculación y a la mayor fertilización, de forma tal que ambos tratamientos alcanzaron rendimientos similares en los diferentes experimentos con uno y otro precedente (Tabla 4A y B). En los tratamientos en que se inoculó el precedente y no se inoculó el boniato, el efecto de permanencia se mantuvo en los primeros 30 días, para ambos precedentes, con rendimientos similares con los tratamientos en que el boniato también se inoculó, pero ya a los 45 días, solo fue completamente efectivo en la sucesión vigna inoculada-boniato. Si bien con el precedente de maíz inoculado el rendimiento alcanzado fue superior al tratamiento homólogo sin inoculación, el efecto fue del 76 % comparado con el incremento en el rendimiento obtenido por el tratamiento en que ambos cultivos en la sucesión se inocularon. A los 60 días, el efecto desapareció completamente con ambos precedentes.

Tanto los porcentajes de colonización como las esporas, respondieron significativamente a la inoculación del boniato, con valores superiores ($p < 0,05$) cuando el maíz fue precedente. Para cada precedente y en los tratamientos con precedentes inoculados y boniato sin inocular se presentaron durante los intervalos de 30 y 45 días, valores similares para ambos indicadores micorrízicos, en relación a los tratamientos en que los dos cultivos en la sucesión se inocularon y ambos indicadores disminuyeron bruscamente ($p < 0,05$) en el intervalo de 60 días, aunque con valores superiores a los tratamientos homólogos no inoculados. Los tratamientos no inoculados y que recibieron las mayores dosis de fertilización, exhibieron siempre los menores valores de los indicadores del funcionamiento micorrízico evaluados.

En las dos sucesiones los rendimientos del boniato se asociaron fuertemente con los porcentajes de colonización micorrízica (Figura 1). En la sucesión maíz-boniatto los mayores rendimientos del boniato se alcanzaron con porcentajes de colonización en el rango de 70 a 75 %; mientras que al utilizar la vigna como cultivo precedente, se lograron rendimientos similares con porcentajes de colonización inferiores a los obtenidos en la anterior sucesión ($p < 0,05$) y del orden de 52 a 56 %.

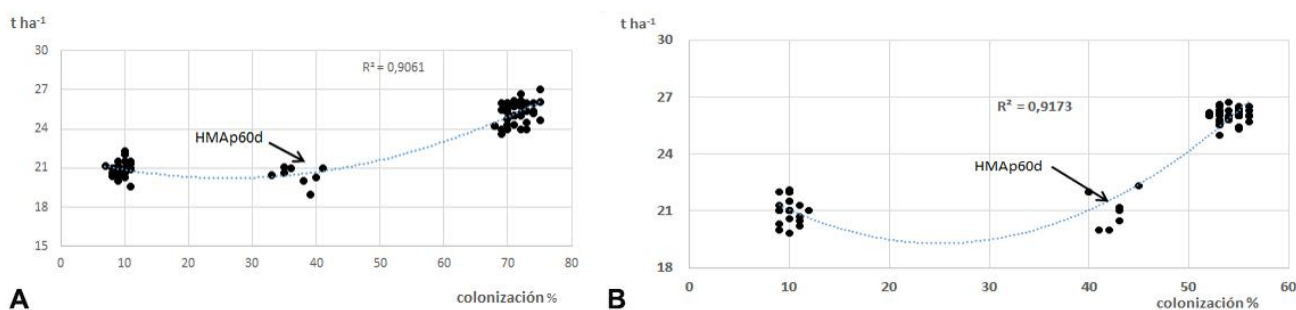


Figura 1. Relaciones en el cultivo del boniato entre el rendimiento y los porcentajes de colonización para las sucesiones maíz-boniatto (A) y vigna-boniatto (B)

Se utilizaron los datos correspondientes a los tres intervalos, los dos años y cuatro réplicas de los tres tratamientos que recibieron la misma dosis de fertilizantes con y sin inoculación ($n=72$). HMAp60d (precedente inoculado-boniatto sin inocular, intervalo 60 días).

Es de señalar que en los gráficos de rendimiento vs colonización y para ambas sucesiones (Figura 1A y 1B), se puede observar cómo valores del orden de 40 % de colonización, alcanzados en el intervalo de 60 días, presentaron el mismo rendimiento que los tratamientos no inoculados con cerca de 10 % de colonización. Asimismo, en ambas sucesiones, la reproducción de esporas por el boniato se asoció significativamente con los porcentajes de colonización

alcanzado por este cultivo ($R^2 = 0,99$), con valores siempre crecientes para ambas variables, aunque la producción de esporas, cuando la vigna fue precedente, fue mucho menor que con el maíz (Tabla 4).

Cultivos precedentes en época poco lluviosa y cultivo principal en época lluviosa

Con ambos precedentes se encontró una respuesta significativa en el rendimiento a la inoculación y a la fertilización (Tabla 5A y B), de forma tal que los tratamientos inoculados con la cepa eficiente HMA y dosis media de fertilización alcanzaron rendimientos similares a los obtenidos con las mayores dosis de fertilización. Asimismo, tanto el maíz como el frijol inoculados presentaron valores muy superiores ($p < 0,05$) de porcentajes de colonización y de cantidades de esporas que los no inoculados, aunque ambos fueron significativamente mayores en maíz que en frijol ($p < 0,05$). A su vez, las mayores dosis de fertilización presentaron los menores valores de estos dos indicadores del funcionamiento micorrízico.

Además, en la época lluviosa el maíz alcanzó no solo mayores rendimientos que cuando fue sembrado en la poca lluviosa, sino también mayores porcentajes de colonización micorrízica y de producción de esporas. Asimismo, la vigna alcanzó valores superiores ($p < 0,05$) de los indicadores de funcionamiento micorrízico evaluados que el frijol.

El boniato asimismo, presentó una respuesta positiva a la inoculación y a la fertilización mineral (Tabla 5A y B) con rendimientos similares entre ambos en los diferentes experimentos, aunque mayores ($p < 0,05$) cuando el cultivo precedente fue frijol. De forma similar a la anterior época, el efecto de permanencia se alcanzó con ambos precedentes en el intervalo de 30 días; a los 45 solo se mantuvo completamente con el precedente de frijol inoculado, aunque con el maíz fue del orden del 81 % y desapareció totalmente en ambas sucesiones a los 60 días.

Tanto los porcentajes de colonización como las esporas, respondieron significativamente a la inoculación del boniato, con valores superiores ($p < 0,05$) cuando el maíz fue precedente. Para cada precedente y en los tratamientos con precedentes inoculados y boniato sin inocular y con los intervalos de 30 y 45 días, se presentaron valores similares de ambos indicadores micorrízicos, en relación a los tratamientos en que los dos cultivos en sucesión se inocularon. Sin embargo, ambos indicadores disminuyeron bruscamente ($p < 0,05$) en el intervalo de 60 días, aunque con valores superiores a los tratamientos homólogos no inoculados. En los tratamientos

no inoculados, las mayores dosis de fertilización redujeron ($p < 0,05$) los valores de los indicadores del funcionamiento micorrízico evaluados.

Asimismo, en las dos sucesiones, el rendimiento del boniato se asoció fuertemente con los porcentajes de colonización micorrízica, obtenidos en este cultivo (Figura 2). Cuando el precedente fue maíz los mayores rendimientos del boniato se alcanzaron con porcentajes de colonización en el rango de 59 a 64 %; mientras que en la sucesión frijol-boniato los porcentajes de colonización que se asociaron con los mayores rendimientos fueron inferiores a los alcanzados con el maíz ($p < 0,05$) y estuvieron en el rango de 51 a 57 %; no obstante, los rendimientos del boniato fueron superiores en esta última sucesión. En ambas sucesiones, las reproducciones de esporas realizadas por el boniato se asociaron fuertemente con los porcentajes de colonización alcanzados por este cultivo ($R^2 = 0,98$), con valores siempre crecientes para ambas variables, aunque la esporulación con el frijol precedente fue mucho menor que con el maíz (Tabla 5).

Tabla 5. Efecto de la inoculación con HMA en los precedentes y efectividad del efecto de permanencia en las sucesiones iniciadas en la época poco lluviosa

A. Maíz época poco lluviosa				Boniato época lluviosa									
Tratamientos	t ha ⁻¹	col	# esp	30 días			45 días			60 días			
				Tratamientos	t ha ⁻¹	col	# esp	t ha ⁻¹	col	# esp	t ha ⁻¹	col	# esp
HMA 50 %NPK	3,14a	50,6a	562a	HMA 50 %NPK	29,7a	62,5a	553a	29,4a	61,75a	552a	29,8a	61,5a	552a
HMA 50 %NPK	3,13a	59,25a	562a	50 %NPK	29,3a	61,3a	551a	28,4a	60,6a	549a	25,5b	56,5b	229b
50 % NPK	2,61b	10,5b	62b	50 % NPK	24,9b	10b	61b	24,1b	9,5b	60,8b	24,2b	10c	61c
100 % NPK	3,15a	5,3c	58c	100 % NPK	30,2a	8,6b	57c	29,3a	8,5b	55,6c	29,3a	9,8c	55d
EsX	0,03	0,36	0,5	EsX	0,14	0,41	0,7	0,14	0,36	0,9	0,21	0,4	0,8
p	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

B. Frijol época poco lluviosa				Boniato época lluviosa									
Tratamientos	t ha ⁻¹	col	# esp	30 días			45 días			60 días			
				Tratamientos	t ha ⁻¹	col	# esp	t ha ⁻¹	col	# esp	t ha ⁻¹	col	# esp
HMA 50 %NPK	2,42a	51,5a	449a	HMA 50 %NPK	31,5a	54,0a	438a	31,1a	53,8a	437a	31,03a	55,5a	437a
HMA50 %NPK	2,41a	50,8a	448a	50 %NPK	31,2a	53,5a	437a	30,7a	53,1a	436a	25,08b	35,5b	139b
50 % NPK	2,06b	9,1b	49b	50 % NPK	25,4b	11,1b	47 b	25,4b	10,1b	47 b	25,11b	9,1c	46c
100 % NPK	2,42a	8,4b	44c	100 % NPK	31,4a	9,5c	40c	31,2a	8,6	39c	31,38a	8,6c	38d
EsX	0,02	0,38	0,70	EsX	0,235	0,40	0,81	0,271	0,42	1,0	0,21	0,36	1,0
p	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

col (% colonización micorrízica); #esp (esporas 50 g⁻¹). HMA: *R. irregularis* /INCAM 11. Las interacciones con las repeticiones y años no fueron significativas. Para cada cultivo precedente o intervalo de plantación del boniato, letras diferentes en cada columna conllevan a diferencias significativas a $p < 0,05$ según Prueba de Duncan. p:valor p del factor tratamientos en los diferentes ANOVA realizados.

De forma similar a la otra época, los valores del orden de 40 % de colonización, alcanzados con ambos precedentes en el intervalo de 60 días, resultaron en el mismo rendimiento que los tratamientos no inoculados con porcentajes de colonización cercanos al 10 % (Figura 2A y 2B). Hubo diferencias significativas entre épocas ($p < 0,05$) para los porcentajes de colonización y cantidad de esporas en el boniato, con los mayores valores cuando los precedentes se sembraron en la época lluviosa; no obstante, el rendimiento del boniato fue superior al plantar el mismo en la época lluviosa; es decir, con los precedentes sembrados en la poca lluviosa.

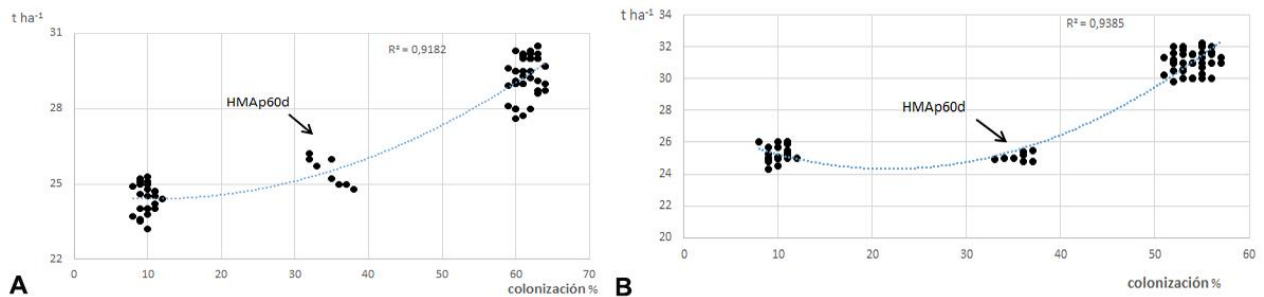


Figura 2. Relaciones entre el rendimiento y el porcentaje de colonización micorrízica en el cultivo del boniato, para las sucesiones maíz-boniató (A) y para la sucesión vigna-boniató (B)

Se utilizaron los datos correspondientes a los tres intervalos, los dos años y cuatro réplicas de los tres tratamientos que recibieron la misma dosis de fertilizantes ($n=72$ en cada caso). HMA p60d (precedente inoculado-boniató sin inocular en intervalo 60 días).

DISCUSIÓN

La respuesta a la inoculación con una cepa eficiente de HMA de los cultivos precedentes en ambas épocas, expresada de que con solo el 50 % de la fertilización se garantizan altos rendimientos, superiores al homólogo no inoculado ($p < 0,05$) y similares a los obtenidos con altas dosis de fertilizantes (100 % NPK) corrobora los resultados obtenidos anteriormente en diferentes cultivos y condiciones edáficas ^(8,24) y deja claro uno de los beneficios de la inoculación.

Asimismo, los cultivos precedentes inoculados alcanzan altos porcentajes de colonización propios de un funcionamiento micorrízico efectivo ⁽⁸⁾. Así, en maíz, los registros son superiores a los de las leguminosas y, a su vez, en la época lluviosa de siembra los porcentajes son mayores que los obtenidos en la poca lluviosa y corroboran lo obtenido con anterioridad ⁽²⁰⁾. Esto último

posiblemente esté asociado con los mayores crecimientos y rendimientos obtenidos en la época lluviosa, que puede conllevar a un incremento de las necesidades de estructuras fúngicas que satisfagan los requerimientos de las plantas, tal como ocurre con diferentes especies de forrajeras inoculadas cuando se cultivan en una y otra época ⁽³⁶⁾.

Los mayores conteos de esporas obtenidos en las siembras de los precedentes en la época lluviosa pueden ser explicados por los mayores porcentajes de colonización y un mayor crecimiento existentes en ambos cultivos inoculados en esta época. De forma similar en el maíz, su sistema radical más profuso de conjunto con las mayores colonizaciones alcanzadas, deben explicar la mayor cantidad de esporas asociadas. Además, de que estos resultados fueron similares a los obtenidos anteriormente con estos cultivos ⁽²⁰⁾, diversos autores han reportado en diferentes cultivos inoculados con cepas eficientes de HMA, mayores cantidades de esporas asociadas con los mayores porcentajes de colonización micorrízica y con las mayores producciones de biomasa o rendimiento ^(29,30,36,37), así como para un mismo cultivo, mayores en periodo lluvioso que en poco lluvioso ⁽³⁶⁾. En correspondencia con lo anterior otros autores ⁽³⁸⁾ plantean que un funcionamiento micorrízico eficiente puede conllevar a que las ganancias de C obtenidas por el hongo se inviertan en la producción de esporas, mecanismo que no solo es favorecido en las especies de carácter generalista que se caracterizan por una alta producción de esporas ⁽³⁹⁾, sino que se presenta para un grupo amplio de géneros y especies de Glomeromicota ⁽⁴⁰⁾.

La información corroboró el efecto de permanencia encontrado en los primeros 30 días para los diferentes precedentes en ambas épocas ⁽²⁰⁾, pero solo se hace completamente extensivo hasta los 45 días con los precedentes de leguminosas, pese a que en ese caso, se producen menos esporas que cuando el precedente fue el maíz. No obstante, con el maíz inoculado se alcanza a los 45 días un rendimiento equivalente a cerca del 80 % del efecto, lo cual tiene una notable importancia práctica. Es de destacar que el efecto se logra aun cuando se ejecutaron las labores comunes de preparación del suelo, previo a la plantación del boniato.

Se reconoce que las labores al suelo afectan la estabilidad de la micorrización residente ⁽⁴¹⁾, aunque en los diversos trabajos realizados en Cuba sobre manejo de la inoculación en secuencias de cultivos ^(8,14,20) este efecto se ha reportado en presencia de las labores del suelo e incluso en un trabajo en que se compararon laboreo mínimo y convencional, se obtuvieron efectos de permanencia similares entre ambos ⁽⁴²⁾ y posiblemente relacionado con el hecho de que las cepas generalistas como *R. irregulari* se caracterizan por la alta producción de esporas ⁽³⁹⁾, propágulos más resistentes al laboreo que el micelio extraradical.

En diferentes trabajos realizados con cultivos micótrofos e inoculando una cepa eficiente (11,14,17), el efecto desaparece en algún momento, dependiente su extensión de la interacción con las poblaciones de hongos micorrízicos residentes y la propia competitividad de la cepa inoculada (18), aunque también influyen la condición edáfica, el tipo de cultivo y su manejo (11,19). La desaparición del efecto parece ser importante, ya que disminuye posibles riegos ecológicos asociados a la inoculación de cepas no residentes (18), aunque en el caso específico de *R. irregulare* se ha reportado muy bajo endemismo (43) y dichos autores consideran que el riesgo de introducción de una cepa “exótica” de esta especie parece menor que con otras especies.

Un aspecto interesante es que las magnitudes de la colonización y las cantidades de esporas reproducidas por los precedentes inoculados parecen mantener una influencia directa en los porcentajes de colonización y la cantidad de esporas obtenidas en el boniato en sucesión. Muy probablemente la mayor cantidad de esporas micorrízicas existentes al plantar el boniato y derivadas de la inoculación del cultivo precedente, originan mayores colonizaciones del mismo, tal y como ha sido encontrado en experimentos anteriores con estos mismos cultivos (20) o por otro autor con variedades de forrajes inoculadas en la siembra y sometidas a cortes periódicos (44), el cual fundamenta con la cantidad de esporas presentes al realizar un corte, la permanencia o no de una micorrización efectiva para la nueva etapa de crecimiento.

Asimismo la mayor colonización del boniato, debe originar altas cantidades de esporas, lo cual es un resultado similar al encontrado en los precedentes inoculados y ha sido encontrado en este mismo cultivo (29-31) y, además, en diversos experimentos de comparación de cepas de HMA, en que la inoculación de la cepa eficiente no solo origina mayores porcentajes de colonización y rendimiento, sino también mayores cantidades de esporas (45-47); sin embargo, no explica porque se mantienen cantidades similares de esporas a lo largo de cada sucesión en los tratamientos inoculados.

Además, aún los cultivos inoculados no se colonizan solo con la cepa aplicada y los diferentes cultivos poseen diferentes capacidades, tanto para colonizarse con una u otra cepa (6,38,40), por lo cual, aunque los porcentajes de colonización son un indicador del funcionamiento y se relacionan, de forma general, positivamente con el rendimiento (48,49), el funcionamiento micorrízico es un fenómeno muy complejo y no se pueden inferir mejores funcionamientos al comparar cultivos inoculados, solo por los valores de estos porcentajes.

De forma similar en un experimento con 17 especies de crotalaria (50) para evaluar la respuesta a la inoculación micorrízica y el efecto de permanencia sobre un cultivo de cebolla (*Allium cepa*

L.) en sucesión, los mayores porcentajes de colonización en la cebolla no se asociaron con las especies de crotalaria que presentaron los mayores porcentajes de colonización.

Por otro lado, aunque algunos autores han relacionado positivamente la existencia del efecto de permanencia con la cantidad de esporas asociadas al cultivo inoculado; por ejemplo, en la sucesión *Canavalia ensiformis* inoculada–banano ⁽¹²⁾ y en áreas de forraje de varias especies de braquiarias inoculadas ⁽⁴⁴⁾, las diferentes características en la reproducción de esporas por los diversos cultivos ⁽⁵¹⁾, las diferencias en la comunidad micorrízica residente, la influencia de las épocas y el propio hecho de que las esporas no son el único propágulo infeccioso ^(6,38), si bien pueden permitir hacer valoraciones para cada cultivo inoculado en un agrosistema en particular, no permiten comparar la potencialidad de los diferentes cultivos precedentes inoculados para obtener el efecto de permanencia, a partir de las esporas totales reproducidas por cada uno de ellos.

La información obtenida confirma la existencia de un efecto de permanencia del inoculante aplicado con una alta importancia para su uso en las tecnologías de los cultivos y algunos autores han establecido, utilizando técnicas moleculares, una confirmación positiva de las cepas aplicadas en los cultivos inoculados hasta un periodo de dos años posterior a la inoculación ⁽¹⁸⁾; sin embargo, otros plantean que el efecto positivo de la inoculación no se vincula necesariamente a un efecto directo de la cepa inoculada ⁽⁵²⁾ y, por tanto, es imprescindible desarrollar los protocolos para el seguimiento de la cepa INCAM11, mediante marcadores moleculares específicos, para establecer el mecanismo presente en el efecto de permanencia encontrado.

La utilización del frijol inoculado como precedente parece presentar otro beneficio adicional, asociado a los mayores rendimientos encontrados en el boniato, en comparación a los obtenidos en la sucesión maíz-boniato, lo cual puede estar relacionado, entre otros, con la influencia positiva de los residuos de las leguminosas con mayor facilidad para mineralizarse que los residuos de maíz con mayor relación C/N y, además, la importancia del nitrógeno para el boniato ⁽²⁹⁾.

Resultó interesante que los valores intermedios de colonización alcanzados en el boniato en el intervalo de 60 días por las diferentes sucesiones con precedentes inoculados y boniato sin inocular no originaran rendimientos, aunque fuera ligeramente superiores a los obtenidos en los tratamientos homólogos sin inocular, indicando que esta cantidad de estructuras fúngicas es insuficiente para garantizar una respuesta positiva en el rendimiento ⁽⁵³⁾. El porcentaje de colonización, tal como se evaluó, es inespecífico y en esta situación de desaparición del efecto de permanencia, es lógico considerar que también ha disminuido la proporción en que la cepa

eficiente inoculada está presente en la colonización del boniato, lo cual enmascara posibles valoraciones sobre eficiencia de la cepa inoculada. No obstante, resultados similares han sido reportados en un experimento de manejo de la inoculación con esta misma cepa en secuencia de cultivos y en el mismo tipo de suelo ⁽¹⁴⁾, en que el boniato era el tercer cultivo en sucesión y en el cual los porcentajes de colonización alcanzados de 38 % no originaban rendimientos superiores a los controles no inoculados, los cuales presentaban valores muy inferiores de colonización.

Sin embargo, en cultivos perennes inoculados se ha reportado una desaparición gradual del funcionamiento micorrízico con decrecimientos proporcionales entre las colonizaciones y los rendimientos asociados ^(17,44). La aparente contradicción puede estar relacionada, entre otros, con características diferentes del funcionamiento micorrízico en los cultivos ⁽³⁸⁾, como con el hecho de que quizás no sea lo mismo establecer una colonización efectiva, que debe requerir de un número mínimo de propágulos de cepas eficientes ⁽⁵³⁾, que ir disminuyendo la efectividad de un funcionamiento existente en un cultivo perenne, en el cual sin duda, está presente un efecto acumulado sobre el crecimiento, que puede enmascarar las relaciones entre el porcentaje de colonización actual y la respuesta de la planta ⁽⁵⁴⁾.

En los diferentes cultivos las dosis superiores de fertilizantes presentaron los menores valores de los indicadores de funcionamiento, corroborando los aspectos más generales ya reportados de que las cantidades de fertilizantes diseñadas para altos rendimientos, disminuyen o inhiben el funcionamiento micorrízico, tanto en cultivos inoculados ⁽⁸⁾, como el proveniente de las comunidades micorrízicas residentes ^(6,38).

CONCLUSIONES

- La inoculación con cepas eficientes de HMA de los cultivos precedentes, resulta una vía adecuada para lograr un funcionamiento micorrízico efectivo en el boniato en sucesión en las dos épocas de plantación de este cultivo.
- La utilización de la vinya y frijol común como cultivos precedentes, permite aprovechar este efecto de permanencia de la inoculación, hasta 45 días después de la cosecha de estos cultivos y superior a los resultados obtenidos con el maíz.

- La potencialidad de los precedentes inoculados para desarrollar el efecto de permanencia no puede ser establecida a través de la simple comparación de los indicadores de funcionamiento obtenidos en cada uno de estos.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo para la Ciencia y la Innovación (FONCI) de Cuba, por el apoyo financiero para la ejecución de esta investigación, en el marco del proyecto FONCI 56-2016.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lanfranco L, Bonfante P, Genre A. The mutualistic interaction between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. In: Heitman J, Howlett B, Crous P, Stukenbrock E, James T, Gow N, editors. *The Fungal Kingdom* [Internet]. Washington, DC: ASM Press; 2017 [cited 2019 May 20]. p. 727–47. Available from: <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555819583.chap35>
2. Bhandari P, Garg N. Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis and its role in nutrient acquisition: An overview. In: Varma A, Prasad R, Tuteja N, editors. *Mycorrhiza - Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [cited 2019 May 20]. p. 21–43. doi:10.1007/978-3-319-68867-1_2
3. Augé RM, Toler HD, Saxton AM. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*. 2015;25(1):13–24. doi:10.1007/s00572-014-0585-4
4. Jung SC, Martinez-Medina A, Lopez-Raez JA, Pozo MJ. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of Chemical Ecology*. 2012;38(6):651–64. doi:10.1007/s10886-012-0134-6
5. Cabral L, Soares CRFS, Giachini AJ, Siqueira JO. Arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of contaminated areas by trace elements: mechanisms and major benefits of their applications. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2015;31(11):1655–64. doi:10.1007/s11274-015-1918-y
6. van der Heijden MGA, Martin FM, Selosse M-A, Sanders IR. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *The New Phytologist*. 2015;205(4):1406–23. doi:10.1111/nph.13288

7. Lehmann A, Leifheit EF, Rillig MC. Mycorrhizas and Soil Aggregation. In: Johnson NC, Gehring C, Jansa J, editors. Mycorrhizal Mediation of Soil Fertility, Structure, and Carbon Storage [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2019 May 20]. p. 241–62. doi:10.1016/B978-0-12-804312-7.00014-0
8. Rivera R, Fernández F, Fernández K, Ruiz L, Sánchez C, Riera M. Advances in the management of effective arbuscular mycorrhizal symbiosis in tropical ecosystems. In: Hamel C, Plenchette C, editors. Mycorrhizae in crop production. 1st Edition. Haworth Food & Agricultural Products Press; 2007. p. 151–196.
9. Hamel C, Plenchette C. Implications of past, current, and future agricultural practices for mycorrhiza-mediated nutrient flux. In: Johnson NC, Gehring C, Jansa J, editors. Mycorrhizal Mediation of Soil Fertility, Structure, and Carbon Storage [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2019 May 21]. p. 175–86. doi:10.1016/B978-0-12-804312-7.00010-3
10. Rivera R, González PJ, Hernández A, Martín G, Ruiz L, Fernández K, et al. 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 - Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo; 2015. p. 9.
11. González PJ, Ramírez JF, Rivera R, Hernández A, Plana R, Crespo G, et al. Management of arbuscular mycorrhizal inoculation for the establishment, maintenance and recovery of grasslands. Cuban Journal of Agricultural Science. 2016;49(4):535–40.
12. Simó González JE, Ruiz Martínez LA, Rivera Espinosa R. Manejo de la simbiosis micorrízica arbuscular y el suministro de nutrientes en plantaciones de banano cv. 'FHIA-18' (*Musa AAAB*) en suelo Pardo mullido carbonatado. Cultivos Tropicales. 2015;36(4):43–54.
13. João JP, Rivera-Espinosa R, Martín-Alonso G, Riera-Nelson M, Simó-González J. Sistema integral de nutrición con HMA, abonos verdes y fertilizantes minerales en *Manihot esculenta* Crantz. Cultivos Tropicales. 2017;38(3):117–28.
14. Martínez LAR, Simo J, Rodríguez S, Rivera R. Las micorrizas en cultivos tropicales [Internet]. España: Editorial Académica Española; 2012 [cited 2019 May 21]. 256 p. Available from: <https://www.morebooks.de/store/es/book/las-micorrizas-en-cultivos-tropicales/isbn/978-3-8484-5382-5>

15. Martín Alonso GM, Rivera Espinosa R, Arias Pérez L, Pérez Díaz A. Respuesta de la *Canavalia ensiformis* a la inoculación micorrízica con *Glomus cubense* (cepa INCAM-4), su efecto de permanencia en el cultivo del maíz. *Cultivos Tropicales*. 2012;33(2):20–8.
16. Simó González JE, Rivera Espinosa R, Ruiz Martínez LA, Espinosa Cuellar E. Necesidad de reinoculación micorrízica en el trasplante del banano en áreas con precedente de canavalia inoculada con HMA. *Centro Agrícola*. 2016;43(2):28–35.
17. Fernández F, Juárez J, Nicolas E, Kirchmair M, García FJ, Bernabe AJ, et al. Evolución de la efectividad y persistencia del hongo micorrízico arbuscular *Glomus iranicum* var *tenuihypharum* var. *nova* sobre la fisiología, la adquisición de nutrientes y el rendimiento de las variedades de uva Red Globe y Crimson, tratadas durante tres años en condiciones del sureste de España. In: VIII Simposio internacional de Uva de Mesa de Italia [Internet]. Italia; 2017 [cited 2019 May 21]. p. 36. doi:10.13140/RG.2.2.18158.10561
18. Pellegrino E, Turrini A, Gamper HA, Cafà G, Bonari E, Young JPW, et al. Establishment, persistence and effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal inoculants in the field revealed using molecular genetic tracing and measurement of yield components. *The New Phytologist*. 2012;194(3):810–22. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04090.x
19. Farmer MJ, Li X, Feng G, Zhao B, Chatagnier O, Gianinazzi S, et al. Molecular monitoring of field-inoculated AMF to evaluate persistence in sweet potato crops in China. *Applied Soil Ecology*. 2007;35(3):599–609. doi:10.1016/j.apsoil.2006.09.012
20. Espinosa-Cuéllar A, Rivera-Espinosa R, Ruiz-Martínez L, Espinosa-Cuéllar E, Lago-Gato Y. Inoculación micorrízica de cultivos precedentes: vía para micorrizar eficientemente el boniato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Cultivos Tropicales*. 2018;39(2):51–8.
21. Hernández Jiménez A, Pérez J, Bosch D, Castro N. Clasificación de los suelos de Cuba. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA; 2015. 93 p.
22. FAO and IUSS. World reference base for soil resources 2014 [Internet]. Rome: FAO; 2015 [cited 2018 Apr 4]. 203 p. (Reports No. 106.). Available from: www.fao.org/3/i3794en/I3794EN.pdf
23. Sieverding E, Silva GA da, Berndt R, Oehl F. Rhizoglomus, a new genus of the Glomeraceae. *Mycotaxon*. 2014;129:373–86. doi:10.5248/129.373
24. Rivera R, Ruiz L, Martín G, Pérez E, Nápoles MC, García M, et al. Manejo conjunto e impacto de biofertilizantes micorrízicos y otros bioproductos en la producción agrícola de diferentes cultivos [Internet]. Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas; 2015 [cited 2019 May 21] p. 31. Report No.: P131LH0010003. Available from:

https://www.researchgate.net/publication/294582507_Manejo_conjunto_e_impacto_de_biofertilizantes_micorrizicos_y_otros_bioproductos_en_la_produccion_agricola_de_diferentes_cultivos

25. Alemán R, Gil V, Quintero E, Saucedo O, Álvarez U, García JC, et al. Producción de granos en condiciones de sostenibilidad. Villa Clara, Cuba: Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2008 p. 53.
26. Faure B, Benítez R, León N, Chaveco O, Rodríguez O. Guía técnica para el cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). La Habana, Cuba: Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales; 2013. 12 p.
27. INIFAT. Frijol Carita Rojo. INIFAT-93. Una opción nada despreciable. Ciudad de la Habana, Cuba: Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical; 1993. 4 p.
28. MINAG. Instructivo Técnico sobre el cultivo del boniato. Ciudad de la Habana, Cuba: SEDARI/AGRINFOR; 2012. 24 p.
29. Espinosa Cuéllar A, Ruiz Martínez L, Rivera Espinosa R, Espinosa Cuéllar E. Efecto del Nitrógeno y hongos micorrízicos arbusculares en dos clones comerciales de boniato sobre un suelo pardo mullido carbonatado. Centro agrícola. 2015;42(2):39–46.
30. Espinosa Cuéllar A, Ruiz Martínez L, Rivera Espinosa R, Espinosa Cuéllar E. Inoculación de HMA y requerimientos de fertilizante fosfórico en *Ipomea batata* (L.) Lam. Centro Agrícola. 2016;43(3):37–45.
31. Cuéllar AE, Martínez LAR, Espinosa RR, Espinosa E. Efecto de dosis de potasio y hongos micorrízicos arbusculares en dos clones comerciales de boniato sobre suelo pardo mullido carbonatado. Agrotecnia de Cuba. 2017;41(1):1–16.
32. Paneque Pérez VM, Calaña Naranjo JM, Calderón Valdés M, Borges Benítez Y. Manual de técnicas analíticas para análisis del suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos [Internet]. 1ra ed. La Habana, Cuba: Ediciones INCA; 2010 [cited 2019 May 21]. 157 p. Available from: <http://bida.uclv.edu.cu/handle/123456789/7811>
33. Rodríguez Yon Jy, Arias Pérez L, Medina Carmona A, Mujica Pérez Y, Medina García LR, Fernández Suárez K, et al. Alternativa de la técnica de tinción para determinar la colonización micorrízica. Cultivos Tropicales. 2015;36(2):18–21.
34. Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist. 1980;84(3):489–500. doi:10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x

35. Gerdemann JW, Nicolson TH. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*. 1963;46(2):235–44. doi:10.1016/S0007-1536(63)80079-0
36. González Cañizares PJ, Ramírez Pedroso JF, Morgan Rosemond O, Rivera Espinosa R, Plana Llerena R. Contribución de la inoculación micorrízica arbuscular a la reducción de la fertilización fosfórica en *Brachiaria decumbens*. *Cultivos Tropicales*. 2015;36(1):135–42.
37. Ramírez-Pedroso JF, González-Cañizares PJ, Salazar-Ruiz X, Llanes-Torres D, Rivera-Espinosa R, Hernández-Jimenez A, et al. Inoculación micorrízico-arbuscular y reducción de la fertilización orgánica y nitrogenada en *Megathyrsus maximus* cv. Likoni. *Pastos y Forrajes*. 2017;40(2):108–17.
38. Willis A, Rodrigues BF, Harris PJC. The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2013;32(1):1–20. doi:10.1080/07352689.2012.683375
39. Helgason T, Fitter AH. Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum Glomeromycota*). *Journal of Experimental Botany*. 2009;60(9):2465–80. doi:10.1093/jxb/erp144
40. Koch AM, Antunes PM, Maherali H, Hart MM, Klironomos JN. Evolutionary asymmetry in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: conservatism in fungal morphology does not predict host plant growth. *The New Phytologist*. 2017;214(3):1330–7. doi:10.1111/nph.14465
41. Yang C, Ellouze W, Navarro-Borrell A, Taheri AE, Klabi R, Dai M, et al. Management of the arbuscular mycorrhizal symbiosis in sustainable crop production. In: Solaiman ZM, Abbott LK, Varma A, editors. *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014 [cited 2019 May 21]. p. 89–118. (Soil Biology). doi:10.1007/978-3-662-45370-4_7
42. Marrero Y, Rivera R, Plana R, Simó J, Ruiz L. Influencia del laboreo sobre el manejo de la simbiosis micorrízica efectiva en una secuencia de cultivos sobre un suelo Pardo con Carbonatos. *Cultivos Tropicales*. 2008;29(2):11–5.
43. Savary R, Masclaux FG, Wyss T, Droh G, Cruz Corella J, Machado AP, et al. A population genomics approach shows widespread geographical distribution of cryptic genomic forms of the symbiotic fungus *Rhizophagus irregularis*. *The ISME Journal*. 2018;12(1):17–30. doi:10.1038/ismej.2017.153
44. González Cañizares PJ. Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica arbuscular vía inoculación y la fertilización mineral en pastos del género *Brachiaria* [Internet] [Tesis de

- Doctorado]. [Mayabeque, Cuba]: Universidad Agraria de La Habana; 2015 [cited 2019 May 21]. 97 p. Available from: <http://beduniv.reduniv.edu.cu/index.php?page=13&id=945&db=1>
45. Martín GM, Arias L, Rivera R. Selección de las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) más efectivas para la *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo. *Cultivos Tropicales*. 2010;31(1):27–31.
46. González Cañizares PJ, Pedroso JFR, Rivera R, Hernández A, Crespo G. Efectividad de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en dos leguminosas forrajeras cultivadas en dos tipos de suelo. *Tropical Grasslands-Forrajeras Tropicales*. 2016;4(2):82–90. doi:10.17138/TGFT(4)82-90
47. García Rubido M, Rivera Espinosa R, Cruz Hernandez Y, Acosta Aguiar Y, Ramón Cabrera J. Respuesta de *Canavalia ensiformis* (L.) a la inoculación con diferentes cepas de hongo micorrízico arbuscular en un suelo FARL. *Cultivos Tropicales*. 2017;38(1):7–12.
48. Pellegrino E, Öpik M, Bonari E, Ercoli L. Responses of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi: A meta-analysis of field studies from 1975 to 2013. *Soil Biology and Biochemistry*. 2015;84:210–7. doi:10.1016/j.soilbio.2015.02.020
49. Zhang S, Lehmann A, Zheng W, You Z, Rillig MC. Arbuscular mycorrhizal fungi increase grain yields: a meta-analysis. *New Phytologist*. 2019;222(1):543–55. doi:10.1111/nph.15570
50. Germani G, Plenchette C. Potential of *Crotalaria* species as green manure crops for the management of pathogenic nematodes and beneficial mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 2005;266(1):333–42. doi:10.1007/s11104-005-2281-9
51. Bever JD, Morton JB, Antonovics J, Schultz PA. Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland. *Journal of Ecology*. 1996;84(1):71–82. doi:10.2307/2261701
52. Rodriguez A, Sanders IR. The role of community and population ecology in applying mycorrhizal fungi for improved food security. *The ISME journal*. 2015;9(5):1053–61. doi:10.1038/ismej.2014.207
53. Verbruggen E, Heijden MGA van der, Rillig MC, Kiers ET. Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: factors determining inoculation success. *New Phytologist*. 2013;197(4):1104–9. doi:10.1111/j.1469-8137.2012.04348.x
54. Janos DP. Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*. 2007;17(2):75–91. doi:10.1007/s00572-006-0094-1

Original article

Management of AMF inoculated precedent crops to mycorrhize efficiently sweet potato *Ipomoea batatas* (L.) Lam in succession

Alberto Espinosa-Cuéllar¹

Ramón Rivera-Espinosa^{2*}

Luís Ruiz-Martínez¹

Ernesto Espinosa-Cuéllar¹

Yasmani Lago-Gato¹

¹Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Santo Domingo, Villa Clara, Cuba

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

*Author for correspondence. rrivera@inca.edu.cu

ABSTRACT

The use of inoculated precedent crops as via to mycorrhize efficiently crops in succession have a practice high value and overall in crops like sweet potato which its direct inoculation needs a high amount of inoculants, but in the carried out studies only 30 days between both crops have been evaluated. With the purpose of precise the effectiveness in superior intervals and its dependence of the precedent crop and sowing season 12 experiments were executed in Brown soil, using maize and two species of bean as precedent seeded in rainy and little rainy seasons and in all cases under irrigation. The precedents presented a high response to inoculation with *Rhizophagus irregulare*/INCAM11 in both seasons with high percentages of mycorrhizal colonization and spores in maize and rainy season. The duration of the permanence effect in the sweet potato yield depended of the precedent and it was similar in both seasons, with leguminous it was extended until 45 days, although the maize at to the 45 days was achieved between 76 to 81 % of effect and at to the 60 days disappear for both precedents. The highest yields of sweet potato were achieved with the planting in the rainy season and in the bean-sweet potato succession. The potentiality of the precedent crops inoculated to provoke the permanence effect

cannot be defined through the simple comparison of the indicators of mycorrhizal functioning that are presented in them.

Key words: beans, corn, crops in succession, permanence of mycorrhizal inoculant

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhizal symbiosis occurs in about 80 % of the plant species in which the bulk of the economic crops are found ⁽¹⁾. This brings benefits to plants and the environment associated with the increase in the intake of plants are widely recognized nutrients ⁽²⁾ and water ⁽³⁾ as well as to the effect of bioprotection against the attack of some radical and foliar pests ⁽⁴⁾. Also to the tolerance to heavy metals ⁽⁵⁾, as well as other eco-services among which are improvements in the aggregates of soil, participation in the Carbon and Nitrogen cycles, promoting greater ecosystem resilience ^(6,7) and the conscious management of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) is a challenge to optimize these benefits in agrosystems ^(8,9).

The works developed in Cuba in this regard are based on the inoculation of efficient strains of AMF of a general nature with the plant species and recommended based on the edaphic environment ⁽¹⁰⁾. In this way, integral nutrient supply systems are designed from an effective mycorrhization of the different crops, obtaining high yields and satisfactory nutritional status, with lower doses of fertilizers ^(8,11–13).

One of the aspects found when working with mycorrhization-dependent cultures has been the presence of a positive effect of permanence of the inoculant applied to different crops on the first crop in succession, although it disappears for subsequent crops ^(8,14). This effect has been linked either with the use of inoculated green manures ^(15,16) or with the management of inoculants in crop sequences ⁽¹⁴⁾, with replacement in both cases of the inoculation of the first crop in succession; although it has also been evaluated in inoculated perennial crops ^(11,17) to define the moment of reinoculation. The disappearance of the permanence effect has been fundamentally associated with competition with the resident mycorrhizae ⁽¹⁸⁾, with the characteristics of the crop, its agronomic management and the edaphic conditions ^(11,19).

Ipomea batata (L.) Lam is a culture with a significant response to inoculation, but even using the pathway of the cuttings ⁽¹⁴⁾ requires very high amounts of inoculants. The recently developed works in this crop ⁽²⁰⁾ established that, using inoculated precedents common crops in Cuban agriculture (a grass such as corn and legumes such as common beans or *Vigna unguiculata*, sown in the rainy and dry season). In addition, to the benefits of inoculation on these precedents,

permanence effects were found equally effective with both precedents and in both periods. In this way, it is not necessary to inoculate the sweet potato, regardless of the higher values of mycorrhizal spores reproduced by corn and by crops planted in the rainy season.

In the previous publications ^(14,16,20), the interval between the harvest of the inoculated precedents and the cultivation in succession was not more than 30 days. Therefore, it was necessary, in order to define the management of precedents inoculated at one time or another, to determine how intervals greater than 30 days influenced their effectiveness due to the practical importance of the reported results. Also the possible influence of the differences found in the reproduction of spores between the preceding and times in the duration of the effect and to the fact that both in the sequences of cultures ^(8,14) and in the inoculated perennial crops the positive response to inoculation gradually disappears in time ^(11,17).

MATERIALS AND METHODS

The research was carried out at the Tropical Food Research Institute (INIVIT) located at 22° 35' N, 80° 18' W and at 40 m a.s.l., in Santo Domingo municipality, Villa Clara province, Cuba, on Brown argenic soil moderately washed ⁽²¹⁾, also classified as Cambisol Eutric without carbonates ⁽²²⁾, during 2015 and 2016.

The soil in the experimental area was homogeneous, without presenting significant differences ($p < 0.05$) in the variables determined between the different experiments, years and planting seasons. Table 1 shows the average values corresponding to each planting season. The soil presented a neutral reaction, as well as low values of organic matter possibly associated with continuous cultivation. The phosphorus contents available were low and those of potassium were medium. Calcium and interchangeable magnesium showed high and typical values of these soils. The mycorrhizal spores were low, with approximate values to those reported in adjacent areas with similar soil type and management ^(12,14).

Table 1. Some initial properties of the soil in the experimental area and in both times of sowing of the previous ones. Sampling depth of 0-20 cm

Sowing times of precedents	pH	Total nitrogen	MO	P ₂ O ₅	K ₂ O	AC	Mg	Na	K	Sp/50 g
	H ₂ O	(g kg ⁻¹)	mg kg ⁻¹			(cmol c kg ⁻¹)				
Rainy	7.12	1.60	20.02	20.20	21.44	30.20	4.29	0.37	0.61	41.5
Z _{1-α} *S _{\bar{x}}	± 0.09	± 0.07	± 0.14	± 0.14	± 0.07	± 0.38	± 0.06	± 0.02	± 0.02	± 0.64
little rainy	7.12	1.68	20.30	20.02	21.45	27.85	4.35	0.38	0.62	42.0
Z _{1-α} *S _{\bar{x}}	± 0.10	± 0.06	± 0.16	± 0.14	± 0.06	± 0.35	± 0.06	± 0.02	± 0.02	± 0.77

Z_{1-α}*S _{\bar{x}} = ± confidence interval (1-α = 0.05), where Z₁ = 1.96. Each value is averaged of 24 composite samples

Annual rainfall in 2015 and 2016 was 1211 and 1370 mm, slightly lower in 2015 to the historical average (1969-2016 period) of 1348 mm, although in the two years rainfall in the rainy season (May-October) reached 76 and 78 % of the annual total respectively, very similar to the historical percentage of 77 %. The average annual temperatures were 24.6 and 24.24 °C respectively, similar to the historical average of 24.3 °C, although in the rainy period they were 26.03 °C, higher at 3.8 °C those of the dry season.

The experiments carried out with the same previous cultures and times referred to in a previous publication ⁽²⁰⁾. In the rainy season (Table 2) they were corn (*Zea mays* L./var.MC-4) and bean vigna (*Vigna unguiculata* (L.) Walp./var. Guariba); in the case of sowing of January the same maize variety were used and the common bean (*Phaseolus vulgaris*/var. BAT-304). Following the harvest of the previous crops and at three different times (30, 45 and 60 days), the sweet potato crop (*Ipomea batatas* (L) Lam/var. 'CEMSA 78-354') was planted.

As the previous cultures were different in the ages and also do not have the same extension of their biological cycle, the experiments did not include the cultures, nor the time as factors and were develop as independent experiments. For each crop and at each time, three experiments were carried out, each with the same sowing date of the previous one and varying the periods between the harvest of this and the plantation of the sweet potato to (Table 2) for a total of 12 experiments . The treatments (Table 3) and the design used in each experiment were similar: randomized blocks of four treatments, which included both the previous crop stage and the sweet potato stage (factor A) and repeated for two years (factor B), with 4 x 2 factorial arrangement and with four replicas.

The planting frames used were similar to those reported in a previous publication ⁽²⁰⁾, 0.9 x 0.3 m for corn, 0.7 x 0.2 m for common beans and 0.9 x 0.1 m for the vigna. In the sweet potato

cultivation, the plantation frame was 0.9 x 0.23 m for the successions started in the rainy season and 0.9 x 0.3 m for the others.

The plots consisted of five 6-meter long furrows, except for beans, which had six furrows. In each experiment, the previous cultures and the sweet potato of each treatment were always located in the same plots.

Table 2. Dates of sowing and harvesting of crops in different successions in both years

Season ¹	Culture preceding	Sowing	Harvest	Sweet potato plantation			Harvest
				30 days	45 days	60 days	
Rainy	Corn Year 1	5/11/2015	9/12/2015	10/15/15	10/30/15	11/16/15	4 months
	Vigna year 1	6/10/2015	9/12/2015	10/15/15	10/30/15	11/16/15	4 months
	Corn Year 2	4/11/2016	8/12/2016	9/15/16	9/30/16	10/15/16	4 months
	Vigna year 2	5/10/2016	8/12/2016	9/15/16	9/30/16	10/15/16	4 months
Little rainy	Corn Year 1	1/15/2015	5/16/2015	6/18/15	3/7/15	7/18/15	4 months
	Bean year 1	2/9/2015	5/16/2015	6/18/15	3/7/15	7/18/15	4 months
	Corn Year 2	1/16/2016	5/18/2016	6/18/16	4/7/16	7/19/16	4 months
	Bean year 2	02/10/2016	5/18/2016	6/18/16	4/7/16	7/19/16	4 months

¹The epoch is defined by the beginning of the succession

Table 3. Treatments studied in each succession and for each of the periods between harvest of the precedent and plantation of the sweet potato

Treatments	Previous crop stage	Sweet potato cultivation stage
1	50 % NPK + AMF	50% NP 25% K + AMF
2	50 % NPK + AMF	50% NP 25% K
3	50 % NPK	50% NP 25% K
4	100 % NPK	100% NPK

Precedents in the rainy season: corn (var. MC-4) and vigna (var. Guariba). Precedents in the dry season: corn (var. MC-4) and common beans (var. BAT-304). Sweet potato variety 'CEMSA 78-354'. HMA: *R. irregular* / INCAM 11.

Inoculating and mycorrhizal inoculation

The inoculant was prepared at the National Institute of Agricultural Sciences (INCA), Mayabeque, Cuba, based on *Rhizophagus irregular* ⁽²³⁾/INCAM 11 and using *Urochloa decumbens* (Hochst. Ex A. Rich) As a host plant. This strain is recommended as an efficient strain for this edaphic condition ⁽¹⁰⁾. The inoculant had 30 g⁻¹ spores. Inoculation carried out

using to seed coatings. In the case of grains was done with an equivalent amount of inoculant to 8 % by weight of the same ⁽²⁴⁾, at doses of 2 and 4 kg ha⁻¹ for maize. Respectively bean and sweet potato was coated the lower third of cuttings with a mixture of 1 kg of inoculant in 5 liters of water and applying 35 kg ha⁻¹ ⁽¹⁴⁾.

Fertilization and cultural care

In the case of fertilization for high yields (100 % NPK) they correspond to those of the respective Instructions ⁽²⁵⁻²⁸⁾, and they were 90, 130, 170 kg ha⁻¹ of N, P₂O₅ and K₂O for corn. 80, 60, 90 kg ha⁻¹ for beans and vigna, as well as 120, 100, 300 kg ha⁻¹ for N, P₂O₅ and K₂O, for sweet potato. The doses applied to obtain optimal mycorrhizal functioning in the different inoculated precedents were 50 % NPK ⁽²⁴⁾ and in the case of sweet potato 50 % NP 25 % K ⁽²⁹⁻³¹⁾ were applied. Work on the previous crops and sweet potatoes, including irrigation, was carried out according to the Technical Instructions for these crops ⁽²⁵⁻²⁸⁾. It should be noted that when the previous crops were harvested, the soil was prepared in a conventional manner, with a sequence of rotational work (plowing), two harrows, and finally furrowed, adjusting the times between workings at the three intervals studied.

Evaluations

Soil analysis

Composite samples of soils were taken in the depth of 0-20 cm in each of the replicas of the experiments and at the beginning of these. The determinations made were established in the soil and plant tissue laboratory of the National Institute of Agricultural Sciences ⁽³²⁾ and it was consisted of pH in KCl and H₂O, with a soil-solution ratio of 1:2.5; total nitrogen (Nt) by the micro-Kjeldahl method. Also, organic matter according to Walkley-Black; P₂O₅ and K₂O with extraction with solution of (NH₄)₂CO₃ with pH 9 and the exchangeable cations (Ca, Mg, Na and K) by extraction with AcNH₄ 1N at pH 7.0.

Total colonization of roots with AMF (%)

45 days after planting corn it was carried out, vigna and common beans and 90 days after planting sweet potatoes. For total colonization, samples of fine roots were from eight plants per plot, located in the central furrows. The roots were stained ⁽³³⁾ and evaluated by the method of the intercepts ⁽³⁴⁾.

Mycorrhizal spore count

The number of mycorrhizal spores was determined at the beginning and at the time of harvest of each crop and expressed as a total number of spores in 50 g of soil. A sample composed of 10 subsamples (0-20 cm) per plot was taken and the spore extraction was performed using the wet decanting method ⁽³⁵⁾ and the stereomicroscope count.

Yield

For its estimation in t ha⁻¹, the plants of each plot harvested, excluding those found in the two edge furrows. In corn, vigna and bean crops, it performed at 120, 90 and 100 days respectively and expressed based on 14 % humidity. The sweet potato made at 120 days and only commercial roots (>100 g) quantified.

The effect of permanence (EP) in each interval was estimated from the response in the yield of the sweet potato of the inoculated-sweet potato (R1) and inoculated-sweet potato (R2) sweet potato treatments in relation to the sweet potato yield in the homologous sequence not inoculated and calculated as follows $EP (\%) = \frac{R1}{R2} \times 100$.

Statistical analysis

The ANOVA performed according to the design used. For the previous cultures, by having information on three experiments for each preceding combination x seasons, it was proceeded first to assess whether there was interaction treatments x repetition of experiments x years and the results are presented from that analysis. For sweet potato cultivation, the results expressed according to whether the interaction treatments x years in each experiment was significant or not. In addition, regression analysis between colonization percentage vs. yield and vs spore quantities in 50 g for each succession and season established in the sweet potato culture, using the data corresponding to the three planting intervals. The comparison between experiments was made with the confidence intervals ($p < 0.05$), calculated from the Esx obtained in the ANOVA performed for each variable in the different experiments.

RESULTS

In none of experiments, the interaction terms were significant, whereby only the effects of the treatments on each of the variables in the different experiments will present factor.

Precedent crops in rainy season and principal culture in little rainfull season

Both maize and the cowpea showed significant responses ($p < 0.05$) at doses of fertilization, as inoculation with AMF efficient strain, so that no differences between yields inoculated treatments receiving average doses of fertilization and those who received the highest doses of fertilization in each crop (Table 4A and B). The mycorrhizal inoculation also caused significant increases in the mycorrhizal colonization percentage and the amounts of spores in relation to the non-inoculated treatments, showing the non-inoculated treatments that received the highest doses of fertilization, the lowest values; however, the colonization and spore values obtained in the previous inoculated corn were higher ($p < 0.05$) than when vigna was used as such.

Table 4. Effects of inoculation with AMF on the precedents and effectiveness of the effect of permanence on the successions initiated in the rainy season

A. Corn rainy season				Sweet potato-rainy season										
Treatments	t ha ⁻¹	Col	# sp	30 days			45 days			60 days				
				Treatments	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# sp	
AMF 50% NPK	3.59a	72.8a	735 a	AMF 50% NPK	25.75a	72.3a	715a	25,1a	71.8a	713a	25.9a	73.5a	715a	
AMF 50% NPK	3.58a	71.4a	736 a	50% NPK	25.49a	70.8a	712a	24.1b	70.1a	712a	20.4b	37.1b	310b	
50% NPK	3.36b	10.9b	71b	50% NPK	21.33b	10.1b	69b	20.9c	9.9b	69b	20.6b	8.5c	70c	
100% NPK	3.58a	9.5b	54c	100% NPK	25.84a	9.8b	61c	25.5a	8.9b	60c	25.8a	8.5c	60d	
Esx	0.01	0.53	0.99	Esx	0.235	0.38	1.1	0.20	0.49	1.1	0.21	0.39	1.3	
p	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

B. Vigna -rainy season				Sweet potato-rainy season										
Treatments	t ha ⁻¹	Col	# sp	30 days			45 days			60 days				
				Treatments	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# esp	t ha ⁻¹	Col	# sp	
AMF 50% NPK	2.47a	58.8a	521a	AMF 50% NPK	25.8a	54.3a	517a	26.1a	53.9a	516a	26.1a	55.3a	516a	
AMF 50% NPK	2.48a	57.8a	520a	50% NPK	25.9a	54.5a	516a	26.1a	52.9a	513a	21.1b	41.8b	226b	
50% NPK	2.26b	9.3b	56b	50% NPK	20.9b	10.4b	56b	21.2b	9.8	56b	21.2b	10 c	56 c	
100% NPK	2.49a	3.3b	51c	100% NPK	26,1a	8.6c	41c	26.3a	8.4	37c	26.3a	8.3d	41d	
Esx	0.03	0.27	0.44	Esx	0.14	0.31	1.0	0.18	0.33	1.5	0.21	0.43	1.5	
p	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

col (% mycorrhizal colonization); #sp (spores 50 g⁻¹). AMF: *R. irregulare*/INCAM 11. Interactions with repetitions and years were not significant. For each previous crop or sweet potato planting interval, different letters in each column lead to significant differences at $p < 0.05$ according to Duncan's Test. p: p- value of the treatment factor in the different ANOVA performed.

In relation to sweet potato, this crop always responded significantly to inoculation and increased fertilization so that both treatments achieved similar yields in the different experiments with one and the other preceding (Table 4 A and B). In the treatments in which the precedent inoculated and the sweet potato not inoculated, the permanence effect was maintained in the first 30 days for both precedents with similar yields with the treatments, in which the sweet potato was also inoculated, but already at 45 days, it was only completely effective in the inoculated vigna-sweet potato succession. Although with the precedent of inoculated corn the yield achieved was superior to the homologous treatment without inoculation, the effect was 76 % compared to the increase in yield obtained by the treatment in which both crops in the succession inoculated. At 60 days, the effect disappeared completely with both precedents.

Both colonization and spore percentages responded significantly to sweet potato inoculation, with higher values ($p < 0.05$) when corn was precedent. For each precedent and in the treatments with inoculated precedents and uninoculated sweet potato, similar values for both mycorrhizal indicators were presented during the intervals of 30 and 45 days in relation to the treatments. In this two cultures in succession were inoculated and both indicators decreased sharply ($p < 0.05$) in the 60-day interval, although with values higher than non-inoculated homologous treatments. The treatments not inoculated and that received the highest fertilization doses, always exhibited the lowest values of HMAp of the mycorrhizal performance indicators evaluated.

In both sequences, sweet potato yields were strongly associated with mycorrhizal colonization percentages (Figure 1). In the corn-sweet potato sequence, the highest yields of sweet potatoes were achieved with colonization rates in the range of 70 to 75 %; while using vigna as a previous crop, similar yields were achieved with colonization percentages lower than those obtained in the previous sequence ($p < 0.05$) and of the order of 52 to 56 %.

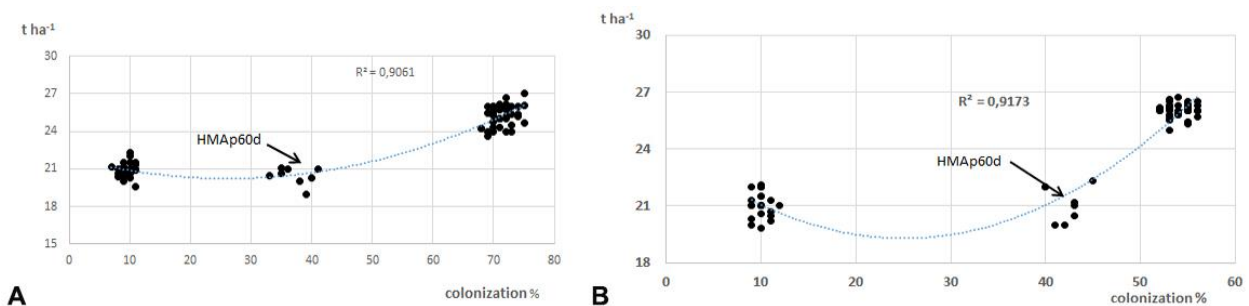


Figure 1. Relationships in sweet potato cultivation between yield and colonization percentages for corn-sweet potato (A) and vigna-sweet potato (B) sequences

The data corresponding to the three intervals, the two years and four replications of the three treatments that received the same dose of fertilizers with and without inoculation were used (n=72). AMFp60d (precedent inoculated-sweet potato without inoculation, interval 60 days). It should be noted that in the graphs of performance vs colonization and for both sequences (Figure 1A and 1B), it can be observed that values of the order of 40 % of colonization achieved in the 60-day interval presented the same performance as the treatments not inoculated with about 10 % colonization. Also in both sequences, the reproduction of spores by sweet potatoes was significantly associated with the colonization percentages achieved by this crop ($R^2 = 0.99$), with always increasing values for both variables, although the spore production when the vigna was the preceding was much lower than with corn (Table 4).

Previous crops in a little rainy season and main culture in a rainy season

With both precedents a significant response was found in the yield to inoculation and fertilization (Table 5A and B), so that the treatments inoculated with the efficient strain AMF and average fertilization dose reached yields similar to those obtained with the highest doses of fertilization. Likewise, both inoculated corn and beans had much higher values ($p < 0.05$) of colonization percentages and spore quantities than non-inoculated, although both were significantly higher in corn than in beans ($p < 0.05$). In turn, the highest doses of fertilization had the lowest values of these two indicators of mycorrhizal functioning.

In addition, in the rainy season the corn not reached only higher yields than when it was sown in the rainy season, but also higher percentages of mycorrhizal colonization and spore production. Likewise, the vigna reached higher values ($p < 0.05$) of the mycorrhizal performance indicators evaluated than the beans.

The sweet potato also presented a positive response to inoculation and mineral fertilization (Table 5 A and B) with similar yields between them in the different experiments, although higher ($p < 0.05$) when the previous crop was beans. Similar to the previous period, the effect of permanence achieved with both precedents in the 30-day interval; at 45, it only kept completely with the precedent of inoculated beans, although with corn it was of the order of 81 % and disappeared completely in both successions at 60 days.

Both colonization and spore percentages responded significantly to sweet potato inoculation, with higher values ($p < 0.05$) when corn was precedent. For each precedent and in the treatments with inoculated precedents and sweet potato without inoculation and with the intervals of 30

and 45 days, similar values of both mycorrhizal indicators presented in relation to the treatments in which the two cultures in succession were inoculated. However, both indicators decreased sharply ($p < 0.05$) in the 60-day interval, although with values higher than non-inoculated homologous treatments. In non-inoculated treatments, higher fertilization doses reduced ($p < 0.05$) the values of mycorrhizal performance indicators evaluated.

In addition, in the two sequences, sweet potato yield was strongly associated with the percentages of mycorrhizal colonization obtained in this culture (Figure 2). When the precedent was corn, the highest yields of sweet potatoes were achieved with colonization rates in the range of 59 to 64 %. While in the bean-sweet potato sequence, the colonization percentages that were associated with the highest yields were lower than those achieved with corn were ($p < 0.05$) and they were in the range of 51 to 57 %; however, sweet potato yields were higher in this last succession. In both sequences, the spore reproductions made by the sweet potato were strongly associated with the colonization percentages achieved by this crop ($R^2 = 0.98$), with always increasing values for both variables, although the sporulation with the preceding bean was much or less than with corn (Table 5).

Table 5. Effect of inoculation with AMF on the precedents and effectiveness of the effect of permanence on the successions initiated in the dry season

A. Corn- rainy season				Sweet potato -rainy season									
Treatments	t ha ⁻¹	col	# sp	30 days			45 days			60 days			
				Treatments	t ha ⁻¹	col	# sp	t ha ⁻¹	col	# sp	t ha ⁻¹	col	# sp
AMF 50% NPK	3.14a	60.6a	562a	AMF 50% NPK	29.7a	62.5a	553a	29.4a	61.75a	552a	29.8a	61.5a	552a
AMF 50% NPK	3.13a	59.25a	562a	50% NPK	29.3a	61.3a	551a	28.4a	60.6a	549a	25.5b	36.5b	229b
50% NPK	2.61b	10.5b	62b	50% NPK	24.9b	10b	61b	24.1b	9.5b	60.8b	24.2b	10c	61c
100% NPK	3.15a	9c	58c	100% NPK	30.2a	8.6b	57c	29.3a	8.5b	55.6c	29.3a	9.8c	55d
Esx	0.03	0.36	0.5	Esx	0.14	0.41	0.7	0.14	0.36	0.9	0.21	0.4	0.8
p	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

B. Bean- little rainy season				Sweet potato-rainy season									
Treatments	t ha ⁻¹	col	# sp	30 days			45 days			60 days			
				Treatments	t ha ⁻¹	col	# sp	t ha ⁻¹	col	# sp	t ha ⁻¹	col	# sp
AMF 50% NPK	2.42a	51.5a	449a	AMF 50% NPK	31.5a	54.0a	438a	31,1a	53.8a	437a	31.03a	55.5a	437a
AMF % NPK	2.41a	50.8a	448a	50% NPK	31.2a	53.5a	437a	30.7a	53,1a	436a	25.08b	35.5b	139b
50% NPK	2.06b	9.1b	49b	50% NPK	25.4 b	11,1b	47 b	25.4b	10.1b	47 b	25.11b	9.1c	46c
100% NPK	2.42a	8.4b	44c	100% NPK	31.4a	9.5c	40c	31.2a	8.6	39c	31.38a	8.6c	38d
Esx	0.02	0.38	0.70	Esx	0.235	0.40	0.81	0.271	0.42	1.0	0.21	0.36	1.0
p	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

col (% mycorrhizal colonization); #sp (spores 50 g⁻¹). AMF: *R. irregularis*/INCAM 11 . Interactions with repetitions and years were not significant. For each previous crop or sweet potato planting interval, different letters in each column lead to significant differences at p <0.05 according to Duncan's Test. p: p value of the treatment factor in the different ANOVA performed.

Similar to the other era, values of the order of 40 % colonization achieved with both precedents in the 60-day interval resulted in the same performance as non-inoculated treatments with colonization percentages close to 10% (Figure 2A and 2B). There were significant differences between periods (p<0.05) for the colonization percentages and the amount of spores in the sweet potato, with the highest values when the precedents were sown in the rainy season; however, the yield of sweet potato was superior to planting it in the rainy season, that is, with the precedents sown in the rainy season.

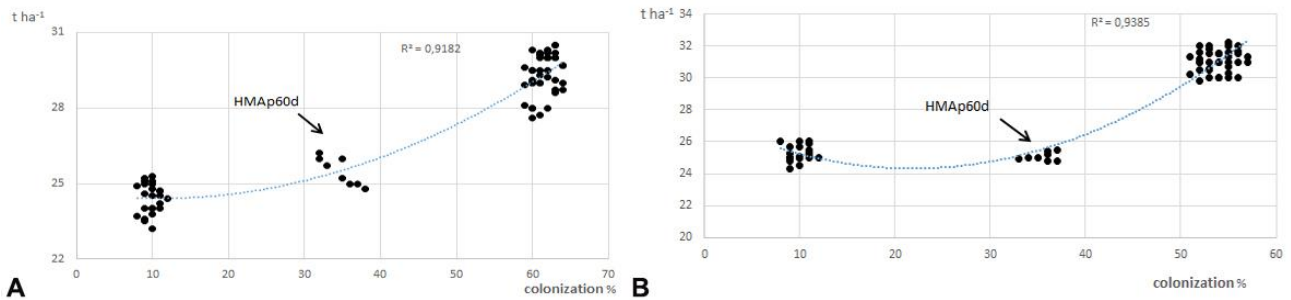


Figure 2. Relationships between yield and percentage of mycorrhizal colonization in sweet potato cultivation, for corn-sweet potato (A) sequences and for vigna-sweet potato succession (B)

The data corresponding to the three intervals, the two years and four replicates of the three treatments that received the same dose of fertilizers were used (n=72 in each case). AMF p60d (precedent inoculated- sweet potato without inoculation in 60 days interval).

DISCUSSION

The response to inoculation with an AMF effective strain of previous crops in both periods, expressed to that with only 50 % of fertilization ensure high yields. Even higher than homolog uninoculated ($p < 0.05$) and the like to those obtained with high doses of fertilizers (100 % NPK) corroborates the results obtained previously in different crops and edaphic conditions ^(8,24) and makes clear one of the benefits of inoculation.

Likewise, the previous inoculated cultures reach high colonization rates of an effective mycorrhizal functioning ⁽⁸⁾. Thus, in corn, the records are higher than those of legumes are and, in turn, in the rainy season of planting the percentages are higher than those obtained in the dry season are and corroborate what previously obtained ⁽²⁰⁾. The latter may be associated with higher growths and yield obtained at the season rainy, which can lead to an increase in the needs of fungal structures that meet the requirements of plants, such as with different species of forage inoculated when they grow at 1 season and another ⁽³⁶⁾.

The higher spore counts obtained in the sowings of the precedents in the rainy season can be explained by the higher colonization percentages and higher growth existing in both crops inoculated at this time. Similarly, in corn its most profuse radical system, together with the highest colonization achieved, should explain the greater number of associated spores. In addition, that these results were similar to those obtained previously with these cultures ⁽²⁰⁾. Several authors have reported in different cultures inoculated with efficient strains of AMF,

higher amounts of spores associated with the highest percentages of mycorrhizal colonization and with the highest yields of biomass or yield ^(29,30,36,37), as well as for the same crop, higher in the rainy season than in the dry season ⁽³⁶⁾. In correspondence with the above other authors ⁽³⁸⁾ argue that an efficient mycorrhizal operation can lead to earnings C obtained by the fungus invest in the production of spores. A mechanism that not only is favored in species of generalist that they are characterized by a high production of spores ⁽³⁹⁾, but it is presented for a broad group of Glomeromicota genera and species ⁽⁴⁰⁾.

The information corroborated the effect of permanence found in the first 30 days for the different precedents in both periods ⁽²⁰⁾, but it only becomes fully extensive until 45 days with the precedents of legumes, although in that case there are less spores than when the precedent was corn. However, with the inoculated corn, a yield equivalent to about 80 % of the effect achieved at 45 days, which has a remarkable practical importance. It is noteworthy that the effect achieved even when the common work of soil preparation prior to the sweet potato plantation was executed.

The soil work is recognized to affect the stability of the resident mycorrhization ⁽⁴¹⁾. In the various works carried out in Cuba on the management of inoculation in crop sequences ^(8,14,20) this effect has been reported in the presence of soil work and even in a work in which minimum and conventional tillage were compared. Similar permanence effects were obtained between the two ⁽⁴²⁾ and possibly related to the fact that generalist strains such as *R. irregulari* are characterized by the high production of spores ⁽³⁹⁾, propagules more resistant to tillage than extraradical mycelium.

In different works carried out with micotrophic cultures and inoculating an efficient strain ^(11,14,17) the effect disappears at some point, depending on its extension of the interaction with resident mycorrhizal fungal populations and the competitiveness of the inoculated strain itself ⁽¹⁸⁾, although they also influence the edaphic condition, the type of crop and its management ^(11,19). The disappearance of the effect seems to be important since it reduces possible ecological risks associated with the inoculation of non-resident strains ⁽¹⁸⁾. In the specific case of *R. irregulare* it has been reported very low endemism ⁽⁴³⁾ and these authors consider that the risk The introduction of an “exotic” strain of this species seems smaller than with other species.

An interesting aspect is that the magnitudes of the colonization and quantities of spores reproduced by the inoculated precedents seem to maintain a direct influence on the colonization percentages and quantity of spores obtained in the sweet potato in succession. Probably the most existing mycorrhizal spores to plant the potato and derived from the inoculation of the preceding

crop origin to greater colonizations thereof, as has been found in previous experiments with these same cultures ⁽²⁰⁾ or other author with varieties of forage inoculated in the sowing and subjected to periodic cuts ⁽⁴⁴⁾. It is bases with the amount of spores present when making a cut, the permanence or not of an effective mycorrhization for the new growth stage.

Likewise, the greater colonization of sweet potato should cause high amounts of spores, which is a similar result to that found in the inoculated precedents and has been found in this same culture ⁽²⁹⁻³¹⁾. Also in various experiments comparing strains of AMF in that inoculation of the strain not only causes efficient colonization percentages and higher performance but also greater is amount is of spores ⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾; however, it does not explain why similar amounts of spores are maintained throughout each succession in the inoculated treatments.

In addition, even the inoculated cultures are not colonized only with the strain applied and the different cultures have different capacities both to colonize with one or another strain ^(6,38,40). So although the colonization percentages are an indicator of the functioning and they are generally positively related to yield ^(48,49), mycorrhizal functioning is a very complex phenomenon and better performances cannot be inferred when comparing inoculated cultures, only by the values of these percentages.

Similarly in an experiment with 17 species of crotalaria ⁽⁵⁰⁾ to evaluate the response to mycorrhizal inoculation and the effect of permanence on an onion crop (*Allium cepa* L.) in succession, the highest percentages of colonization in the onion are not associated with the species of crotalaria that presented the highest percentages of colonization.

On the other hand, although some authors have positively related the existence of the permanence effect with the amount of spores associated with the inoculated culture. For example in the succession *Canavalia ensiformis* inoculated-banana ⁽¹²⁾ and in forage areas of several species of inoculated brachiae ⁽⁴⁴⁾. The different characteristics in the reproduction of spores by the different cultures ⁽⁵¹⁾, the differences in the resident mycorrhizal community, the influence of the seasons and the very fact that the spores are not the only infective propagule ^(6,38). They may allow evaluations for each culture inoculated in a particular agrosystem; they do not allow comparing the potential of the different previous cultures inoculated to obtain the permanence effect, from the total spores reproduced by each of them.

The information obtained confirms the existence of an effect of permanence of the inoculant applied with a high importance for its use in crop technologies. Some authors have established using molecular techniques a positive confirmation of the strains applied in the inoculated

cultures until a period of two years after inoculation ⁽¹⁸⁾. However, others suggest that the positive effect of inoculation not necessarily linked to a direct effect of the inoculated strain ⁽⁵²⁾ and therefore it is essential to develop the protocols for the follow-up of the INCAM11 strain using specific molecular markers, to establish the mechanism present in the permanence effect found.

The use of inoculated beans as a precedent seems to present another additional benefit, associated with the higher yields found in sweet potatoes compared to those obtained in the corn-sweet potato succession. It may be related among others to the positive influence of the residues of legumes easier to mineralize the corn stover with higher C/N and also, the importance of nitrogen for yams ⁽²⁹⁾.

It was interesting that the intermediate colonization values reached in the sweet potato in the 60-day interval by the different successions with inoculated precedents and uninoculated sweet potato did not cause yields. Even if they were slightly higher than those obtained in the homologous treatments without inoculating, indicating that this amount of fungal structures is insufficient to guarantee a positive response in performance ⁽⁵³⁾. The percentage of colonization as assessed is nonspecific and in this situation of disappearance of the permanence effect, it is logical to consider that the proportion in which the efficient inoculated strain is present in the sweet potato colonization has also decreased, which masks possible assessments of efficiency of the inoculated strain. However, similar results have been reported in an inoculation management experiment with this same strain in sequence of crops and in the same type of soil ⁽¹⁴⁾, in which sweet potato was the third crop in succession. In addition, the percentages of colonization reached of 38 % did not originate yield superior to the inoculated controls, which presented much lower values of colonization.

However, in inoculated perennials crops a gradual disappearance of operation mycorrhizal with proportional decreases between colonization and associated yields has been reported ^(17,44). The apparent contradiction may be related among others with different characteristics of mycorrhizal functioning in crops ⁽³⁸⁾. As with the fact that it may not be the same to establish an effective colonization, which should require a minimum number of efficient strain propagules ⁽⁵³⁾, which will decrease the effectiveness of an existing operation in a perennial crop in which there is undoubtedly an accumulated effect on growth. It can mask the relationship between the percentage of current colonization and the response of the plant ⁽⁵⁴⁾.

In the different crops the higher doses of fertilizers presented the lowest values of the performance indicators, corroborating the more general aspects already reported that the

amounts of fertilizers designed for high yields decrease or inhibit mycorrhizal functioning in both inoculated crops ⁽⁸⁾ as from the resident mycorrhizal communities ^(6,38).

CONCLUSIONS

- The inoculation with AMF efficient strains from the previous cultures is an adequate way to achieve an effective mycorrhizal function in the sweet potato in succession in the two planting seasons of this crop.
- The use of cowpea and common bean crops as above, can exploit this effect permanency inoculation 45 days after harvest of these crops and superior to the results obtained with corn.
- The potential of the inoculated precedents to develop the permanence effect not established through the simple comparison of the performance indicators obtained in each of these.

ACKNOWLEDGEMENT

To the Fund for Science and Innovation (FONCI) from Cuba for financial support for the execution of this research within the framework of the FONCI 56-2016 project.