

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



T E S I S

**Efecto de inoculantes microbianos en la fijación biológica de
nitrógeno en el cultivo de alfalfa (Medicago sativa) en condiciones
de Acolla – Jauja**

Para optar el título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Autor:

Bach. Nataly Raymunda BARZOLA ROJAS

Asesor:

MSc. Josué Hernán INGA ORTIZ

Cerro de Pasco - Perú - 2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DANIEL ALCIDES CARRIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



T E S I S

**Efecto de inoculantes microbianos en la fijación biológica de
nitrógeno en el cultivo de alfalfa (Medicago sativa) en condiciones
de Acolla – Jauja**

Sustentada y aprobada ante los miembros del jurados:

Mg. Fernando James ALVAREZ RODRIGUEZ
PRESIDENTE

Mg. Toribio HURTADO ALVARADO
MIEMBRO

Mg. Moisés TONGO PIZARRO
MIEMBRO



Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Unidad de Investigación

INFORME DE ORIGINALIDAD N° 055-2026/UIFCCAA/V

La Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión ha realizado el análisis con exclusiones en el software antiplagio Turnitin Similarity, que a continuación se detalla:

BARZOLA ROJAS, Nataly Raymunda

Escuela de Formación Profesional
Agronomía – Pasco

Tipo de trabajo

Tesis

Efecto de inoculantes microbianos en la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla - Jauja

Asesor

MSc. INGA ORTIZ, Josué Hernán

Índice de similitud

22 %

Calificativo

APROBADO

Se adjunta al presente el reporte de evaluación del software anti-plagio.

Cerro de Pasco, 8 de setiembre de 2026



Firmado digitalmente por HUANES
TOVAR Luis Antonio FAU
20154605046 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.09.2026 22:02:37 -05:00

Firma Digital
Director UIFCCAA

c.c. Archivo
FCPR/UIFCCAA

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres y hermanos, quienes me apoyaron de manera especial en todo el proceso de la ejecución y en toda mi carrera profesional.

AGRADECIMIENTO

Expreso mi reconocimiento al Ing. Josué Hernán Inga Ortiz por el asesoramiento en todo el proceso de ejecución de la presente tesis.

Es propicia la oportunidad para reconocer a los siguientes docentes de la UNDAC: Mg. Fernando James ALVAREZ RODRIGUEZ, Mg. Toribio HURTADO ALVARADO y al Mg. Moisés TONGO PIZARRO, por haber revisado detenidamente la tesis y por las sugerencias realizadas para mejorar la redacción.

Agradecer también a mis profesores de la Escuela de Formación Profesional de Agronomía Cerro de Pasco de la UNDAC por todos sus consejos y compartir sus conocimientos en los años que estuve en la universidad.

Así mismo agradecer a mis colegas de aula con quienes compartí muchas experiencias, gracias a todos por su amistad.

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de diferentes inoculantes microbianos en la fijación biológica de nitrógeno y la respuesta agronómica del cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla–Jauja. El estudio fue de tipo aplicado, nivel explicativo y enfoque experimental; se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar con cinco tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos fueron T0: sin inoculantes; T1: Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua; T2: Sea Isolates 3,0 L/200 L; T3: IsoGuard 1,5 L/200 L; y T4: IsoGuard 3,0 L/200 L. Se evaluaron número y peso de nódulos, nitrógeno del suelo y de las hojas, altura de planta, número de hojas por tallo y rendimiento de forraje fresco. Los resultados mostraron diferencias significativas entre tratamientos en las variables de nodulación y crecimiento. T1 registró el mayor número de nódulos con 29,67 nódulos por planta, mientras que T4 alcanzó el mayor peso nodular con 0,21 g por planta. El nitrógeno del suelo aumentó de 0,21 % a 0,45 % con T1 después del primer corte; en cambio, el mayor nitrógeno foliar correspondió al testigo con 4,66 %, seguido de T3 y T4 con 4,63 %. Para altura de planta, T3 obtuvo 61,57 cm, mientras que T4 presentó el mayor número de hojas por tallo con 32,33. En rendimiento de forraje fresco, T3 alcanzó 22,47 t/ha, superior numéricamente a los demás tratamientos, aunque no difirió estadísticamente de T0 y T1 según Tukey. Se concluye que los inoculantes microbianos modificaron la nodulación, el contenido de nitrógeno y la respuesta agronómica de la alfalfa, destacando Sea Isolates 1,5 L en nodulación y nitrógeno del suelo, e IsoGuard 1,5 L en crecimiento y producción de forraje. Estos resultados evidencian que la respuesta depende del inoculante y de la dosis utilizada bajo las condiciones edafoclimáticas evaluadas en Acolla.

Palabras clave: alfalfa; inoculantes microbianos; fijación biológica de nitrógeno; nodulación; rendimiento de forraje.

ABSTRACT

The research aimed to evaluate the effect of different microbial inoculants on biological nitrogen fixation and the agronomic response of alfalfa (*Medicago sativa*) under the conditions of Acolla–Jauja. The study was applied, explanatory, and experimental in nature; a Randomized Complete Block Design with five treatments and three replications was used. The treatments were T0: without inoculants; T1: Sea Isolates 1.5 L/200 L of water; T2: Sea Isolates 3.0 L/200 L; T3: IsoGuard 1.5 L/200 L; and T4: IsoGuard 3.0 L/200 L. The variables evaluated were number and weight of nodules, soil and leaf nitrogen, plant height, number of leaves per stem, and fresh forage yield. The results showed significant differences among treatments for nodulation and growth variables. T1 recorded the highest number of nodules, with 29.67 nodules per plant, while T4 achieved the highest nodule weight, with 0.21 g per plant. Soil nitrogen increased from 0.21% to 0.45% with T1 after the first cutting; however, the highest leaf nitrogen content was recorded in the control treatment, with 4.66%, followed by T3 and T4 with 4.63%. Regarding plant height, T3 reached 61.57 cm, whereas T4 produced the highest number of leaves per stem, with 32.33. For fresh forage yield, T3 reached 22.47 t/ha, numerically higher than the other treatments, although it did not differ statistically from T0 and T1 according to Tukey's test. It is concluded that microbial inoculants modified nodulation, nitrogen content, and the agronomic response of alfalfa, with Sea Isolates 1.5 L standing out for nodulation and soil nitrogen, and IsoGuard 1.5 L for plant growth and forage production. These results demonstrate that the response depends on the type of inoculant and the dose applied under the edaphoclimatic conditions evaluated in Acolla.

Keywords: alfalfa; microbial inoculants; biological nitrogen fixation; nodulation; forage yield.

INTRODUCCIÓN

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) constituye una de las principales especies forrajeras empleadas en los sistemas de producción ganadera debido a su elevado valor nutritivo, contenido proteico, capacidad de rebrote y adaptación a diferentes condiciones ambientales. En el Perú, su cultivo adquiere especial importancia en las zonas altoandinas, donde representa una fuente fundamental de alimentación para el ganado vacuno lechero, ovino y animales menores, contribuyendo de manera directa con la economía y seguridad alimentaria de las familias rurales. En la región Junín y particularmente en la provincia de Jauja, esta leguminosa presenta una adecuada adaptación a las condiciones templado-frías, constituyéndose en un cultivo estratégico para el sostenimiento de la actividad pecuaria. No obstante, su crecimiento, persistencia y productividad dependen en gran medida de una adecuada disponibilidad de nutrientes, especialmente nitrógeno, elemento indispensable para la formación de proteínas, clorofila y biomasa vegetal.

Una de las principales ventajas agronómicas de la alfalfa es su capacidad para establecer asociaciones simbióticas con bacterias fijadoras de nitrógeno, principalmente pertenecientes a los géneros *Rhizobium* y *Sinorhizobium*. Mediante este proceso, denominado fijación biológica de nitrógeno (FBN), el nitrógeno atmosférico es transformado en formas que pueden ser aprovechadas por la planta, reduciendo la necesidad de incorporar fertilizantes nitrogenados al sistema productivo. Mayz-Figueroa (2004) señala que esta asociación simbiótica desempeña un papel fundamental en la nutrición nitrogenada de las leguminosas, mientras que Campillo et al. (2003) indican que la FBN puede aportar una proporción importante del nitrógeno requerido por el cultivo y contribuir a incrementar la calidad del forraje. Sin embargo, la eficiencia de este proceso está condicionada por factores relacionados con la compatibilidad entre planta y microorganismo, las propiedades del suelo, las condiciones climáticas y el manejo agronómico aplicado.

La necesidad de mejorar la eficiencia del uso del nitrógeno adquiere mayor importancia frente a los problemas económicos y ambientales relacionados con el uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos. Una proporción del nitrógeno aplicado mediante

fertilizantes puede perderse por procesos como lixiviación, volatilización y escorrentía, lo que reduce la eficiencia de aprovechamiento y puede generar efectos negativos en los ecosistemas. En las comunidades agrícolas de Acolla–Jauja, además, los costos de los fertilizantes constituyen una limitante para los pequeños y medianos productores, generando condiciones de fertilización insuficiente o poco tecnificada. A ello se suma que la escasa evaluación de la nodulación y de la actividad microbiana del suelo limita la identificación de prácticas que permitan aprovechar de manera más eficiente la capacidad natural de la alfalfa para obtener nitrógeno.

Ante esta situación, los inoculantes microbianos representan una alternativa tecnológica orientada a mejorar la interacción entre los microorganismos, el suelo y las plantas. Estos productos contienen microorganismos benéficos que pueden contribuir a una mayor disponibilidad de nutrientes, estimular el crecimiento vegetal y favorecer el funcionamiento de la rizosfera. Investigaciones realizadas en alfalfa han demostrado que el uso de microorganismos benéficos puede mejorar la supervivencia de bacterias asociadas a las raíces, la nodulación y la acumulación de nitrógeno en el tejido vegetal. Buntić et al. (2019) reportaron resultados favorables mediante formulaciones de *Sinorhizobium meliloti*, mientras que otras experiencias han señalado que la combinación de inoculación y manejo agronómico adecuado puede contribuir al crecimiento y rendimiento del forraje. En este contexto, los biofertilizantes constituyen una herramienta de interés para avanzar hacia sistemas de producción con menor dependencia de insumos químicos y mayor aprovechamiento de los procesos biológicos del suelo.

Además de su posible efecto sobre la nutrición nitrogenada, determinados microorganismos utilizados como inoculantes pueden presentar mecanismos promotores del crecimiento, entre ellos la producción de fitohormonas, solubilización de nutrientes y mejora de las condiciones de la rizosfera. Estas características pueden manifestarse en variables agronómicas como el desarrollo radicular, altura de planta, producción de hojas y acumulación de biomasa. Sin embargo, la respuesta a los inoculantes no necesariamente es uniforme, debido a que factores como la altitud, temperatura, pH, materia orgánica y

características particulares de cada suelo pueden modificar la actividad de los microorganismos introducidos. Por esta razón, la eficacia de estas tecnologías debe evaluarse directamente bajo las condiciones edafoclimáticas donde se pretende utilizarlas, evitando extrapolar automáticamente resultados obtenidos en ambientes distintos.

En el distrito de Acolla, provincia de Jauja, la alfalfa forma parte importante de los sistemas ganaderos familiares; sin embargo, se presentan rendimientos variables, limitada evaluación de la nodulación y escasa incorporación de inoculantes microbianos dentro del manejo convencional del cultivo. Frecuentemente, los productores dependen de la presencia natural de microorganismos en el suelo, cuya capacidad para favorecer la fijación biológica de nitrógeno puede ser variable. Esta situación plantea la necesidad de generar información experimental local que permita determinar si diferentes tipos y dosis de inoculantes pueden favorecer la nodulación, el comportamiento del nitrógeno y la producción de forraje. La ausencia de investigaciones desarrolladas específicamente bajo las condiciones de Acolla constituye una limitación para formular recomendaciones técnicas sustentadas en resultados experimentales.

En ese marco, la presente investigación tuvo como objetivo general evaluar el efecto de diferentes inoculantes microbianos en la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla–Jauja. Específicamente, se buscó determinar su influencia sobre el número y peso de nódulos; cuantificar su efecto sobre el contenido de nitrógeno del suelo y del tejido vegetal y la FBN; y evaluar las modificaciones producidas en el crecimiento vegetativo y rendimiento de forraje verde. El experimento se desarrolló entre diciembre de 2025 y marzo de 2026 en el distrito de Acolla, provincia de Jauja, región Junín, bajo condiciones de campo y a una altitud de 3465 m s. n. m.

Metodológicamente, el estudio fue de tipo aplicado y experimental y se empleó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con cinco tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos comprendieron un testigo sin inoculación y diferentes dosis de los inoculantes Sea Isolates® e IsoGuard®. Las variables consideradas estuvieron relacionadas con la nodulación, contenido de nitrógeno, crecimiento vegetativo y rendimiento del cultivo; entre

ellas se evaluaron número y peso de nódulos, nitrógeno en suelo y hojas, altura de planta, número de hojas por tallo y producción de forraje fresco. El diseño experimental estuvo constituido por 15 parcelas, permitiendo comparar estadísticamente la respuesta de los diferentes tratamientos.

Los resultados obtenidos permitieron comprobar que la respuesta de la alfalfa varió según el inoculante y la dosis utilizada. Sea Isolates® a 1,5 L/200 L de agua destacó en número de nódulos y presentó el mayor incremento del nitrógeno del suelo, mientras que IsoGuard® mostró respuestas favorables en otras variables agronómicas. Particularmente, IsoGuard® a 1,5 L/200 L de agua alcanzó 22,47 t/ha de forraje fresco, constituyéndose en el tratamiento de mayor rendimiento numérico, mientras que IsoGuard® a 3,0 L obtuvo el mayor número de hojas por tallo. En conjunto, la investigación aporta información experimental sobre el comportamiento de estos inoculantes bajo las condiciones de Acolla–Jauja y constituye una base para orientar su utilización en el cultivo de alfalfa, promoviendo prácticas de manejo que aprovechen los procesos biológicos del suelo, favorezcan la productividad del forraje y contribuyan a sistemas agrícolas más sostenibles.

ÍNDICE

Página.

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación y determinación del problema.....	1
1.2. Delimitación de la investigación	3
1.3. Formulación del problema.....	4
1.3.1. Problema general.....	4
1.3.2. Problemas específicos.....	4
1.4. Formulación de objetivos	4
1.4.1. Objetivo general.....	4
1.4.2. Objetivos específicos.....	5
1.5. Justificación de la investigación	5
1.6. Limitaciones de la investigación	6

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio.....	7
2.2. Bases teóricas científicas	10
2.2.1. La alfalfa	10
2.2.2. Sea Isolates.....	17

2.2.3. Iso Guard	18
2.3. Definición de términos básicos.....	18
2.4. Formulación de hipótesis	19
2.4.1. Hipótesis general	19
2.4.2. Hipótesis específicas.....	19
2.5. Identificación de variables	20
2.6. Definición operacional de variables e indicadores	20

CAPÍTULO III

METODOLOGIA Y TECNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación	21
3.2. Nivel de investigación	21
3.3. Métodos de investigación.....	21
3.4. Diseño de investigación	22
3.4.1. Características del experimento.....	22
3.5. Población y muestra.....	24
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	24
3.7. Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos de investigación	25
3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	25
3.9. Tratamiento estadístico	26
3.10. Orientación ética filosófica y epistémica.....	27

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción del trabajo de campo	28
4.1.1. Ubicación geográfica y características meteorológicas	28
4.1.2. Análisis de suelo	28
4.1.3. Datos meteorológicos.....	29
4.2. Presentación, análisis e interpretación de resultados	30

4.2.1. Número de nódulos por planta (n°)	30
4.2.2. Peso de nódulos por planta (g)	32
4.2.3. Nitrógeno de suelo después del primer corte (%)	34
4.2.4. Nitrógeno en hojas después del inóculo (%)	35
4.2.5. Altura de planta a la cosecha (cm)	35
4.2.6. Número de hojas por tallo a la cosecha (n°)	38
4.2.7. Peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)	40
4.2. Prueba de hipótesis	41
4.4. Discusión de resultados	42
4.4.1. Número de nódulos por planta (n°)	42
4.4.2. Peso de nódulos por planta (g)	42
4.4.3. Nitrógeno de suelo primer corte (%)	43
4.4.4. Nitrógeno en hoja después del inóculo (%)	44
4.4.5. Altura de planta a la cosecha (cm)	44
4.4.6. Número de hojas por tallo (n°)	45
4.4.7. Peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)	45

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

	Página.
Tabla 1 Operacionalización de variables	20
Tabla 2. Tratamientos en estudio de alfalfa	26
Tabla 3. Análisis de varianza para un DBCA	27
Tabla 4. Resultado de análisis de suelo antes del experimento.....	29
Tabla 5. Datos meteorológicos diciembre 2025 a marzo 2026.....	29
Tabla 6. Análisis de varianza para número de nódulos por planta	30
Tabla 7. Prueba de Tukey para número de nódulos por planta (n°)	31
Tabla 8 Análisis de varianza para peso de nódulos por planta	32
Tabla 9. Prueba de Tukey para peso de nódulos por planta.....	33
Tabla 10. Análisis de varianza para altura de planta a la cosecha (cm)	36
Tabla 11. Prueba de Tukey para altura de planta a la cosecha (cm)	36
Tabla 12. Análisis de varianza para número de hojas por tallo a la cosecha (n°).....	38
Tabla 13. Prueba de Tukey para número de hojas por tallo (n°)	38
Tabla 14. Análisis de varianza para peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)	40
Tabla 15 Prueba de Tukey para peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página.
Figura 1. Distintas formas de folíolos en hojas trifolioladas de alfalfa: obovados (a), oblongos (b), redondeados (c), acorazonados (d), espatulados (e) y lineales (f).	12
Figura 2. Croquis del campo experimental	23
Figura 3. Detalles de la parcela experimental.....	24
Figura.4. Número de nódulos por planta	31
Figura 5. Peso de nódulos por planta en el cultivo de alfalfa.....	33
Figura 6. Porcentaje de nitrógeno de suelo antes y después de la inoculación	34
Figura 7. Nitrógeno en hojas después del inóculo	35
Figura 8. Altura de planta a la cosecha (cm)	37
Figura 9. Número de hojas por tallo (n°).....	39
Figura 10. Peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)	41

CAPITULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Identificación y determinación del problema

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es una de las leguminosas forrajeras más importantes por su elevado valor nutritivo, su alta capacidad de rebrote y su contribución al desarrollo ganadero en sistemas de producción familiar y comercial. En el Perú, este cultivo se siembra principalmente en zonas altoandinas, donde constituye la base de la alimentación del ganado vacuno lechero, ovino y de animales menores, desempeñando un rol esencial en la seguridad alimentaria rural (Ministerio del Ambiente, 2019). En regiones como Junín y especialmente en la provincia de Jauja, la alfalfa muestra una adecuada adaptación a las condiciones templado-frías, permitiendo altos rendimientos de forraje y mejorando la productividad ganadera de las unidades agropecuarias familiares (Lara Schwartz, 2008). Sin embargo, su productividad puede verse afectada por la disponibilidad de nitrógeno en el suelo, uno de los nutrientes más limitantes en los sistemas agrícolas de altura.

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es el proceso mediante el cual bacterias fijadoras, principalmente del género *Rhizobium*/*Sinorhizobium*, captan nitrógeno atmosférico y lo transforman en formas asimilables para las plantas. Esta simbiosis es fundamental para el desarrollo de leguminosas como la alfalfa, al reducir la necesidad de fertilización nitrogenada y mejorar la sostenibilidad del sistema suelo–

planta (Mayz-Figueroa, 2004). La literatura científica señala que los aportes de nitrógeno provenientes de la FBN pueden cubrir una proporción considerable de los requerimientos del cultivo, incrementando además la calidad proteica del forraje y la productividad por unidad de superficie (Campillo et al., 2003). Sin embargo, la eficiencia de este proceso depende de múltiples factores, como la compatibilidad cepa–variedad, las condiciones edafoclimáticas y el manejo agronómico.

En muchos sistemas agrícolas de América Latina y del Perú persiste una dependencia significativa del uso de fertilizantes nitrogenados sintéticos, los cuales presentan baja eficiencia de aprovechamiento por parte del cultivo. Esta práctica puede generar pérdidas importantes de nitrógeno por lixiviación, volatilización y escorrentía, afectando incluso la calidad de los cuerpos de agua cercanos (Álvarez-Sánchez et al., 2014). Además, el alto costo de estos insumos limita su uso en comunidades campesinas como las de Acolla – Jauja, donde la fertilización se realiza de manera insuficiente o empírica, afectando la persistencia de los alfalfares y reduciendo su capacidad de fijar nitrógeno a lo largo del ciclo productivo (Rodríguez, 2005). La falta de un manejo técnico adecuado y la escasa evaluación de la nodulación contribuyen a la baja productividad observada en los campos de alfalfa de la zona.

Los inoculantes microbianos representan una alternativa sostenible que permite fortalecer la fijación biológica de nitrógeno mediante la incorporación de cepas eficientes de rizobios específicas para *Medicago sativa*. Investigaciones recientes han demostrado que la preinoculación de semillas con formulaciones líquidas de *Sinorhizobium meliloti* incrementa la supervivencia de los rizobios, mejora la nodulación y aumenta el contenido total de nitrógeno en el tejido vegetal (BuntiĆ et al., 2019). Asimismo, el uso combinado de inoculantes microbianos con prácticas agronómicas adecuadas puede mejorar el rendimiento del forraje, la densidad de plantas y la calidad proteica, evidenciando su potencial para sustituir parcial o totalmente la fertilización nitrogenada mineral (Abadi et al., 2020). Además, se ha

observado que la reducción de herbicidas y el manejo ajustado del suelo pueden favorecer la eficiencia de la FBN en alfalfa y otras leguminosas (Paniagua-López et al., 2023).

Los biofertilizantes y otros inoculantes basados en microorganismos benéficos aportan ventajas adicionales, como la producción de fitohormonas, la solubilización de nutrientes y la mejora de la estructura del suelo. Estas características los convierten en alternativas de bajo impacto ambiental, útiles para mitigar problemas como la degradación del suelo y la pérdida de fertilidad (Ramos-Ulate et al., 2021). Sin embargo, la efectividad de los inoculantes depende de las condiciones edafoclimáticas locales; por ello, no es posible extrapolar los resultados obtenidos en otras regiones a zonas andinas como Acolla, donde factores como altitud, temperatura del suelo, pH y contenido de materia orgánica influyen significativamente en la actividad de los rizobios (Guzmán Duchén & Quispe Choque, 2021).

En Acolla – Jauja, la alfalfa constituye un componente esencial de los sistemas ganaderos familiares; sin embargo, los campos presentan baja persistencia, rendimientos irregulares, limitada evaluación de la nodulación y escasa adopción de inoculantes microbianos en el manejo rutinario del cultivo (Ministerio del Ambiente, 2019). Los productores suelen sembrar sin inoculación, confiando en la presencia de rizobios nativos, los cuales no siempre son eficientes para maximizar la fijación biológica de nitrógeno. Esto genera una brecha tecnológica y de conocimiento que limita la productividad de la alfalfa y mantiene una dependencia parcial de fertilizantes nitrogenados de alto costo. La ausencia de estudios experimentales que evalúen tecnologías microbianas bajo las condiciones específicas de Acolla constituye un obstáculo para la mejora sostenible del cultivo.

1.2. Delimitación de la investigación

Delimitación espacial

Esta investigación se llevó a cabo en el distrito de Acolla, provincia de Jauja y región Junín. Por lo que los resultados son aceptables para zonas similares.

Delimitación temporal

La investigación experimental se desarrolló desde el mes de diciembre del 2025 hasta el mes de marzo del 2026.

Delimitación social.

La realización del experimento estuvo a cargo de la tesista, acompañada por el docente asesor, para las labores de campo se contrató mano de obra no calificada.

1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema general

¿Cuál es el efecto de diferentes inoculantes microbianos en la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla – Jauja?

1.3.2. Problemas específicos

- ¿Cómo influye la aplicación de diferentes inoculantes microbianos en el número y peso de nódulos formados en plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla – Jauja?
- ¿Cuál es el efecto de los inoculantes microbianos en el contenido de nitrógeno del suelo y tejido en la eficiencia de fijación biológica de nitrógeno (FBN) en el cultivo de alfalfa?
- ¿De qué manera la inoculación microbiana modifica el crecimiento vegetativo y el rendimiento de forraje verde de alfalfa bajo las condiciones edafoclimáticas de Acolla – Jauja?

1.4. Formulación de objetivos

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de diferentes inoculantes microbianos en la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla – Jauja.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la influencia de la aplicación de diferentes inoculantes microbianos en el número y peso de nódulos formados en plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla – Jauja.
- Cuantificar el efecto de los inoculantes microbianos en el contenido de nitrógeno del suelo y del tejido vegetal, así como en la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en el cultivo de alfalfa.
- Evaluar de qué manera la inoculación microbiana modifica el crecimiento vegetativo y el rendimiento de forraje verde de alfalfa bajo las condiciones edafoclimáticas de Acolla – Jauja.

1.5. Justificación de la investigación

a. Desde el punto de vista económico:

La implementación de la FBN en la alfalfa puede reducir significativamente la dependencia de fertilizantes nitrogenados sintéticos, lo que conlleva a una disminución de costos para los agricultores. Además, la FBN contribuye a la sostenibilidad económica al minimizar la necesidad de importación de fertilizantes, fortaleciendo la economía local y nacional.

b. Desde el punto de vista social

La alfalfa, al ser una leguminosa que fija nitrógeno atmosférico, mejora la fertilidad del suelo, beneficiando a las comunidades agrícolas al aumentar la productividad de los cultivos. Además, la reducción en el uso de fertilizantes químicos disminuye la contaminación ambiental, promoviendo un entorno más saludable para las comunidades rurales.

c. Desde el punto de vista tecnológico

La investigación y desarrollo en FBN han permitido ampliar su aplicación a plantas no leguminosas, lo que representa un avance tecnológico significativo en la agricultura. En el caso de la alfalfa, la utilización de cepas bacterianas eficientes

en la FBN mejora la eficiencia del cultivo, reduciendo la necesidad de insumos externos y potenciando la sostenibilidad agrícola.

1.6. Limitaciones de la investigación

En el periodo donde se ejecutó el experimento se encontró las siguientes limitaciones.

Limitaciones de tipo informativo

La Escuela de Agronomía UNDAC no cuenta con biblioteca especializada y el acceso a revistas indizadas es limitado, además los laboratorios recién se están implementando por lo que en la presente investigación las muestras fueron analizadas en el Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA Huancayo.

Limitaciones medio ambientales

Las limitaciones del cultivo de alfalfa incluyen sus requerimientos hídricos, sensibilidad a enfermedades, manejo de la cosecha, sensibilidad al encharcamiento y necesidad de renovación periódica. A pesar de estas limitaciones, con una gestión adecuada, el cultivo de alfalfa sigue siendo una opción valiosa en muchas regiones.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de estudio

Cangioli et al. (2025) evaluaron el efecto conjunto de rizobios simbióticos y bacterias benéficas del suelo sobre la fijación biológica de nitrógeno y la producción de biomasa de alfalfa (*Medicago sativa* L.), incluso bajo condiciones de déficit hídrico. Los autores formularon consorcios microbianos que incluían *Sinorhizobium meliloti* y bacterias promotoras del crecimiento vegetal con capacidad para fijar nitrógeno, producir sustancias promotoras y solubilizar nutrientes. El consorcio microbiano más complejo incrementó la actividad nitrogenasa respecto a la inoculación individual con *S. meliloti*. Asimismo, en condiciones de campo se observó una mayor producción de biomasa y una mayor asimilación del nitrógeno proveniente de la fijación biológica, determinada mediante ^{15}N . Estos resultados demuestran que la asociación entre rizobios y otros microorganismos benéficos puede mejorar significativamente la eficiencia de la fijación de nitrógeno y constituye un antecedente directo para evaluar inoculantes microbianos en alfalfa.

Yang et al. (2024) estudiaron el efecto de *Bacillus amyloliquefaciens* DGL1 sobre el crecimiento, nutrición y respuesta fisiológica de *Medicago sativa* sometida a diferentes niveles de estrés hídrico. La inoculación bacteriana incrementó significativamente la altura, peso fresco y desarrollo del sistema radicular,

aumentando el número de ápices radicales hasta en 87,51 % bajo determinadas condiciones de estrés. Además, *B. amyloliquefaciens* incrementó el contenido de nitrógeno nítrico del suelo de 16,25 a 34,04 mg kg⁻¹ en condiciones normales, equivalente a un aumento de 109,48 %, y también elevó el nitrógeno amoniacal. Los autores atribuyeron estos efectos a las propiedades multifuncionales de la bacteria, relacionadas con disponibilidad de nutrientes, solubilización de fósforo y promoción del crecimiento vegetal.

Gao et al. (2023) investigaron la coinoculación de *Sinorhizobium meliloti* y *Enterobacter ludwigii* en alfalfa cultivada bajo condiciones salino-alcálinas, evaluando crecimiento, nodulación, rendimiento y calidad del forraje. Los resultados mostraron que la inoculación conjunta favoreció la colonización de los rizobios y la formación de nódulos radiculares en mayor medida que las inoculaciones individuales. La coinoculación también incrementó el rendimiento de heno y el contenido de proteína cruda y fósforo de las plantas, además de mejorar diferentes respuestas fisiológicas frente al estrés. Los autores demostraron que microorganismos no rizobiales pueden actuar de manera sinérgica con *S. meliloti*, favoreciendo el establecimiento de la simbiosis responsable de la fijación biológica del nitrógeno.

Saidi et al. (2021) evaluaron la coinoculación de dos cepas de *Sinorhizobium meliloti* con actinobacterias promotoras del crecimiento en plantas de *Medicago sativa* sometidas a estrés salino. Después de dos meses, las cepas bacterianas seleccionadas incrementaron entre dos y tres veces el peso de raíces y brotes respecto al control, mientras que la coinoculación mejoró notablemente la formación de nódulos. En particular, el número de nódulos aumentó aproximadamente 61 % y 51 % con las cepas rizobiales R1 y R2, respectivamente, cuando fueron asociadas con microorganismos promotores. Los autores señalaron que estas bacterias mejoraron el establecimiento de la simbiosis fijadora de nitrógeno mediante mecanismos relacionados con producción de fitohormonas, sideróforos y solubilización de nutrientes. El trabajo demuestra que microorganismos distintos de

los rizobios pueden potenciar la nodulación y, consecuentemente, favorecer la fijación biológica de nitrógeno en alfalfa.

Noori et al. (2018) aislaron bacterias rizobiales y no rizobiales a partir de nódulos de alfalfa cultivada en suelos salinos, con el propósito de determinar su capacidad para promover el crecimiento de la planta bajo condiciones de estrés. Se seleccionaron los aislados no rizobiales *Klebsiella* sp. A36 y *Kosakonia cowanii* A37, junto con la cepa rizobial *Sinorhizobium meliloti* ARh29. La coinoculación de estas bacterias produjo efectos positivos sobre los parámetros de crecimiento de *Medicago sativa* bajo salinidad, superiores en diversos indicadores a los obtenidos únicamente con el rizobio. Aunque las bacterias no rizobiales no formaron nódulos por sí mismas, mostraron características promotoras capaces de favorecer el funcionamiento del biofertilizante rizobial. Los resultados respaldan la utilización de inoculantes multicepa para potenciar la interacción microorganismo-planta y mejorar el desempeño de la simbiosis fijadora de nitrógeno.

Guiñazú et al. (2010) estudiaron la inoculación individual y conjunta de bacterias solubilizadoras de fósforo con *Sinorhizobium meliloti* B399 en alfalfa, evaluando específicamente nodulación, crecimiento y fijación biológica de nitrógeno. De 32 aislados bacterianos analizados, seleccionaron cepas relacionadas filogenéticamente con *Pseudomonas* spp. y *Bacillus* spp., destacando *Bacillus* sp. M7c por su efecto promotor. Las plantas coinoculadas con *S. meliloti* B399 y *Bacillus* sp. M7c presentaron incrementos significativos en las variables de crecimiento, desarrollo radical y características simbióticas respecto a tratamientos individuales. Los autores concluyeron que estas cepas presentan potencial para la formulación de nuevos inoculantes destinados al cultivo de alfalfa.

2.2. Bases teóricas científicas

2.2.1. La alfalfa

A. Origen y distribución

Se informa que la alfalfa es originaria de Asia Menor y el sur del Cáucaso, con un área geográfica que incluye Turquía, Irak, Irán, Siria, Afganistán, Pakistán Occidental y Cachemira (Ponce, 2014), posteriormente se extendió a Grecia y al resto de Europa, y luego a México y Perú con la llegada de los españoles. Los colonos norteamericanos hicieron los primeros intentos de plantar alfalfa en Norteamérica. Sin embargo, estos intentos no tuvieron éxito debido al clima templado, húmedo y al suelo ácido sobre el que se establecieron las primeras colonias, y solo se cultivaron en Nueva York y Virginia, al igual que en Europa y Grecia. Los viejos cultivares de alfalfa introducidos por los colonizadores norteamericanos no eran muy adaptables, pero más tarde se trajeron a América del Norte nuevos y diversos cultivares de Chile y Perú que se adaptaron muy bien en los estados de Arizona, California, Texas y Nuevo México (Alarcón et al, 2012).

B. Taxonomía

Según Rosado (2011) afirma que la Clasificación taxonómica de la alfalfa (*Medicago sativa*) es:

Reino: Vegetal

División: Magnoliophita

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Leguminosae

Género: *Medicago*

Especie: *sativa*

Nombre científico: *Medicago sativa*.

C. Descripción botánica

Raíz

Basigalup (2007) en general, el sistema de raíces de la alfalfa es fuerte y profundo, y su función principal es la absorción de agua. Si las raíces no se ven afectadas por la morfología del suelo, pueden alcanzar alturas de 2 a 5 metros en cada dirección en solo 2 a 4 años, la alfalfa tiene la reputación de ser tolerante a la sequía porque se puede extraer de capas profundas del suelo.

Tallo

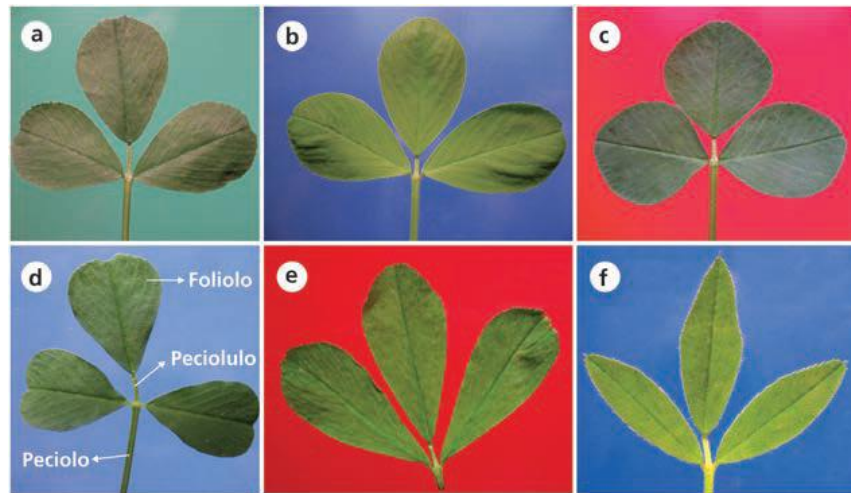
Los tallos de la alfalfa son uniformes, delgados y erguidos, y soportan el peso de las hojas y los cogollos, por este motivo, esta especie es apta para esquejes, pero también se puede utilizar como pasto, las hojas son trifoliadas, pero la primera hoja verdadera es única, el pecíolo central es más largo que el lateral, tiene un borde casi liso y es ligeramente cóncavo en el borde delantero (Box, 2005).

Hojas

Basigalup (2007) la primera hoja de una plántula de alfalfa es de una sola hoja y redondeada, la segunda y posteriores ramas pinnadas o pinnadas descienden desde la parte superior del tallo, posteriormente, cuando la planta ya se ha desarrollado, las hojas pueden salir de la parte superior del tallo o de las yemas laterales en los nudos del tallo, las hojas están unidas al tallo con un pecíolo y suelen ser trifoliadas, es decir, están formadas por tres pecíolos. Los folíolos suelen ser oblongos u obovados, pero hay formas que van desde redondas hasta obovado-oblongas e incluso lineales.

Figura 1 Distintas formas de folíolos en hojas trifolioladas de alfalfa: obovados (a), oblongos (b), redondeados (c), acorazonados (d), espatulados (e) y lineales (f).

Inflorescencia



Infoagro, (2015) la característica de la subfamilia Papilionoideas es que las flores de alfalfa son de color azul o púrpura y tienen inflorescencias agrupadas en las axilas de las hojas: el fruto es un frijol espiral indehisciente y sin espinas que contiene de 2 a 6 semillas amarillentas en forma de riñón de 1,5 a 2,5 mm de largo.

D. Condiciones ecológicas y clima

La temperatura óptima para germinar semillas de alfalfa es de 18-25°C, la temperatura media anual para la producción de alfalfa ronda los 15 °C. El rango de temperatura óptimo es de 18-28°C, dependiendo de la variedad, con un mínimo de nubosidad y días frescos. Días largos con al menos 12 horas de luz (Becker, 2011).

La alfalfa requiere riego parcial ya que sus necesidades cambian a lo largo del ciclo de producción, en cultivos establecidos generalmente deben recibir 1100 a 1200 mm/ha/año como riego o lluvia (INFOAGRO, 2002).

La alfalfa requiere entre 600 a 700 mm de precipitación anual bien distribuida es suficiente ya que sus necesidades cambian a lo largo del ciclo de producción, cuando el suministro de agua es más de diez veces las necesidades de la alfalfa, la eficiencia en el uso del agua disponible disminuye, el aporte de agua durante la inundación es de 1000 m³/ha, con riego por aspersión es de 880 m³/ha (León, 2003).

La exposición a la luz, fuente de energía de la planta, tiene un efecto directo sobre el metabolismo a través de la fotosíntesis. La eficiencia es baja, solo del 1 al 3 por ciento de toda la luz que recibe la planta se fija en procesos fotosintéticos. La luz es un factor muy importante que incide positivamente en el cultivo de la alfalfa, ya que el número de horas de luz solar aumenta a medida que disminuye la latitud de la región, y el cultivo necesita un fotoperiodo adecuado de 500-600 horas de luz por yarda (INFOAGRO, 2012).

E. Suelo

La alfalfa crece satisfactoriamente en diferentes tipos de suelo, arena muy ligera y franco arcilloso. El pH ideal para este cultivo es de 7,5. Cuando la planta es pequeña, es muy sensible a la salinidad tanto del agua como del suelo (INFOAGRO, 2002).

La alfalfa es muy sensible a la sal. Los síntomas comienzan con el enrojecimiento de algunos tejidos, la caída de las hojas y, finalmente, la muerte de la planta (INFOAGRO, 2012).

F. Labores culturales

Preparación de terreno

Se deben conocer las características del terreno, los niveles de macronutrientes como fósforo y potasio, las condiciones de drenaje y el pH. Los trabajos de preparación del suelo comienzan con la erosión del subsuelo para eliminar capas profundas que mejoran las condiciones de

drenaje y aumentan la permeabilidad del suelo. Este trabajo es necesario durante el cultivo de la alfalfa, porque las raíces son muy profundas y fáciles de penetrar (INFOAGRO, 2010). Otras labores, como la nivelación del terreno, la reducción del riego y la eliminación de las malas hierbas existentes, mediante la limpieza del terreno, y al mismo tiempo la realización de labores de fumigación de abonos minerales y complementarios, mezclando los abonos con el terreno y repartiéndolos uniformemente. Dos meses antes de la siembra, es recomendable aplicar fertilizantes básicos y cal, para que se descomponga y esté disponible para la planta (INFOAGRO, 2010).

Cama de siembra

Las condiciones óptimas de plantación son colocar las semillas a la profundidad adecuada y en estrecho contacto con el suelo, proporcionando un entorno para un desarrollo sin restricciones. Este último requiere que el terreno esté limpio de malezas, que no existan barreras físicas bajo el suelo, que tenga una humedad óptima, que tenga una cubierta baja y un subsuelo fuerte. La labranza tardía debe mantener el suelo libre de malezas que desperdician agua y nutrientes (Duarte, 2007).

Siembra

Duarte (2007) afirma que la profundidad de las semillas de alfalfa es el principal problema a resolver en el campo, ya que a partir del crecimiento de las semillas va disminuyendo su reserva hasta que aparecen las hojas verdes y la planta se independiza de ellas. Esto significa que en todas las plantas hay un período crítico cuando el recurso es bajo y el área de fotosíntesis no es suficiente. Cualquier desgracia puede causar grandes pérdidas. Por lo tanto, esta etapa debe acortarse lo más posible. Y dado que el tamaño de la semilla y el tipo de suelo

interactúan con la profundidad, la eficiencia de plantación es mejor en suelos livianos y semillas más grandes. Según Clemente *et al.* (2010) la profundidad de siembra depende del tipo de suelo, en suelo pesado alcanza de 1 a 1,25 centímetros, en suelo ligero o arenoso hasta 2,5 centímetros.

Riego

La cantidad de agua que se le da a la alfalfa depende de la capacidad del suelo para suministrar agua, la eficiencia del sistema de riego y la profundidad de las raíces. La alfalfa requiere un suministro fraccionado de agua, ya que sus requerimientos son diferentes durante el período de producción. Cuando el agua excede las necesidades de la alfalfa, la eficiencia en el uso del agua disponible disminuye. El aporte de agua para riego submarino es de 1000 m³/ha y para riego por aspersión es de 880 m³/ha (Infoagro, 2015).

Manejo de plagas

Terranova, E. (2001), para obtener una alfalfa óptima, es necesario conocer no solo la calidad del forraje, sino también las enfermedades y plagas que suelen presentarse en la alfalfa. Lo más importante es la prevención. Las principales plagas y enfermedades que afectan a la alfalfa son:

- Polillas o polillas (*Loxostege sticticalis* y *Dichomeris lotellus*): Son lepidópteros y causan graves daños a los cultivos. La alfalfa se debe cosechar antes de aplicar Foxim 3%.
- Gusano verde (*Phytonomus variabilis*): es un escarabajo de la familia Cucurionidae y afecta no sólo a la alfalfa sino también a muchas otras plantas forrajeras. Contra estas plagas se pueden utilizar en el tratamiento: Tau-Fluvalinate, Deltamethrin, Carbaril, Cipermetrin, Foxim.

- Gorgojo (*Colaspidema atrum*): escarabajo de la familia de los crisomílidos que destruye este cultivo. Cualquiera de los siguientes productos puede usarse contra Cuca: alfacipermetrina, malatión, cipermetrina, fosadona, etc. Otras plagas que también afectan a la alfalfa, pero que son menos comunes, incluyen: hongo negro, gusano soldado y oruga gris.

Manejo de enfermedades

Según [http://www.satanso.com/noticia.\(2013\)](http://www.satanso.com/noticia.(2013)), las principales enfermedades que afectan el cultivo de alfalfa en nuestro país son:

- Mal vinoso de la alfalfa (*Rhizoctonia violacea*): La especie *Medicaginis* es una alfalfa, especialmente en el norte de España, es el más afectado. Tratar con 20% de pentacloronitrobenceno (PCNB).
- Roya (*Uromyces striatus*): infección principalmente en invierno cuando la humedad es más alta. No se conocen métodos efectivos de tratamiento de esta enfermedad.
- Mildiu (*Peronospora trifoliorum*): El acortamiento de sus nudos internos causa retraso en el crecimiento de la planta.

G. Valor nutricional

La alfalfa es uno de los cultivos forrajeros más valiosos, tanto en términos de pastos directos como en términos de diferentes métodos de conservación de sus alimentos. El valor de la alfalfa está en la alta capacidad de producción de materia seca, alta concentración de proteína, alta digestibilidad y alta capacidad de consumo del ganado. Además, contiene gran cantidad de vitaminas A, E y K o sus precursores, así como la mayoría de los minerales útiles que necesita el ganado lechero y de carne, especialmente calcio, potasio, magnesio y fósforo (Romero, 1995).

2.2.2. Sea Isolates

DB Organic Science S.A.C. (2026) señala que Sea Isolates® es un inoculante microbiano de suelo formulado a base de extractos del alga marina *Ascophyllum nodosum* y microorganismos benéficos, entre los que se encuentran *Bacillus amyloliquefaciens* y *Bacillus subtilis*. De acuerdo con la ficha técnica, *B. amyloliquefaciens* se encuentra en una concentración de 1×10^5 UFC mL⁻¹ y se caracteriza por actuar como microorganismo multifuncional, principalmente por su capacidad de solubilizar fósforo orgánico e inorgánico insoluble. Asimismo, el producto puede colonizar o sobrevivir en diferentes órganos de la planta, como hojas, frutos y tallos, además de ejercer una acción bioprotectora frente a determinados hongos fitopatógenos. La presencia de *Ascophyllum nodosum* contribuye a estimular mecanismos fisiológicos asociados con el vigor vegetal y la tolerancia al estrés, complementando la acción de las bacterias benéficas presentes en la formulación. Su formulación presenta 0,10 % de nitrógeno total, 0,10 % de nitrógeno soluble en agua y 0,10 % de potasio soluble (K₂O), lo que evidencia que su función principal no corresponde a un fertilizante nitrogenado convencional, sino a un inoculante orientado a mejorar procesos biológicos y nutricionales de la planta. Además, puede aplicarse tanto al suelo como al área foliar, lo que facilita su incorporación en programas de fertilización y manejo agronómico. La información comercial de Organic Science coincide en destacar la capacidad de *B. amyloliquefaciens* para solubilizar fósforo y actuar como bioprotector, así como la contribución de las algas marinas al vigor y resistencia de las plantas. En el cultivo de alfalfa, estas características justifican su evaluación como inoculante microbiano complementario, debido a que una mayor disponibilidad de fósforo y un mejor desarrollo radicular pueden favorecer indirectamente la nodulación y el establecimiento de la simbiosis responsable de la fijación biológica de nitrógeno; sin embargo, la ficha técnica no afirma que Sea Isolates fije nitrógeno directamente, por lo que este efecto debe ser determinado experimentalmente en la investigación.

2.2.3. Iso Guard

DB Organic Science S.A.C. (2026) señala que IsoGuard® es un inoculante microbiano de suelo y bioestimulante vegetal formulado con una mezcla de microorganismos benéficos pertenecientes a las especies *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* y *Paenibacillus polymyxa*. Según la ficha técnica del producto, *B. amyloliquefaciens* y *B. subtilis* se encuentran en concentraciones de 5×10^5 UFC mL⁻¹, mientras que *P. polymyxa* presenta una concentración de 1×10^3 UFC mL⁻¹. La formulación está orientada a mejorar la eficiencia de las plantas en la absorción y asimilación de nutrientes, así como su capacidad de respuesta frente a condiciones de estrés biótico y abiótico, entre ellas heladas, salinidad y sequía. Asimismo, presenta una solubilidad en agua de aproximadamente 99 %, característica que facilita su aplicación en sistemas agrícolas mediante suelo o área foliar. La información oficial del fabricante confirma que la acción conjunta de estos microorganismos favorece la nutrición vegetal y puede contribuir a mejorar determinadas características agronómicas y la calidad de las cosechas. En cultivos de leguminosas como la alfalfa, la presencia de especies de *Bacillus* y *Paenibacillus* resulta de interés debido a su potencial función como bacterias promotoras del crecimiento vegetal, principalmente mediante una mayor disponibilidad y aprovechamiento de nutrientes en la rizosfera. En consecuencia, IsoGuard® puede actuar como un inoculante complementario dentro de sistemas de fertilización biológica, favoreciendo el desarrollo radicular y las condiciones necesarias para una adecuada interacción entre la planta y los microorganismos del suelo. No obstante, la ficha técnica no indica que IsoGuard® realice directamente la fijación simbiótica de nitrógeno en alfalfa, por lo que su posible efecto sobre la nodulación y la fijación biológica de nitrógeno debe determinarse experimentalmente.

2.3. Definición de términos básicos

- Alfalfa (*Medicago sativa*): Es un tipo de planta herbácea que pertenece a la familia de las leguminosas.

- Inoculantes microbianos: Los inoculantes microbianos son productos que contienen microorganismos vivos capaces de interactuar con las plantas y el suelo para mejorar la disponibilidad de nutrientes, estimular el crecimiento y proteger contra patógenos.
- Rendimiento: Se refiere al resultado deseado realmente logrado por cada unidad.
- Suculencia: Que almacena agua, blando y jugoso.

2.4. Formulación de hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

La aplicación de diferentes inoculantes microbianos influye significativamente en la fijación biológica de nitrógeno en el cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla – Jauja, presentándose diferencias entre los inoculantes evaluados.

2.4.2. Hipótesis específicas

- La aplicación de diferentes inoculantes microbianos influye significativamente en el número y peso de nódulos formados en las raíces de alfalfa (*Medicago sativa*) en condiciones de Acolla – Jauja, obteniéndose una mayor nodulación con al menos uno de los inoculantes respecto al tratamiento sin inoculación.
- La aplicación de diferentes inoculantes microbianos produce diferencias significativas en el contenido de nitrógeno del suelo y del tejido vegetal, así como en la eficiencia de la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en el cultivo de alfalfa, siendo al menos uno de los inoculantes más eficiente que el tratamiento sin inoculación.
- La inoculación con diferentes microorganismos modifica significativamente el crecimiento vegetativo y el rendimiento de forraje verde de alfalfa bajo las condiciones edafoclimáticas de Acolla – Jauja, alcanzándose mayores valores de crecimiento y producción con al menos uno de los inoculantes microbianos en comparación con el tratamiento sin inoculación.

2.5. Identificación de variables

Variable independiente

Inoculantes microbianos.

Variable dependiente

Fijación biológica de nitrógeno en alfalfa

Variable interviniente

Condiciones ambientales de Acolla – Jauja.

2.6. Definición operacional de variables e indicadores

Tabla 1 Operacionalización de variables

Variable	Tipo	Dimensión	Indicadores	Unidad de medida
Aplicación de inoculantes microbianos	Independiente	Tipo de inoculante	Testigo, Sea Isolates®, IsoGuard®	Cualitativa nominal
Fijación biológica de nitrógeno y respuesta agronómica de la alfalfa	Dependiente	Nodulación	Número de nódulos, peso de nódulos	N.º/planta, g/planta
		Contenido de nitrógeno y FBN	Nitrógeno en suelo, nitrógeno en tejido vegetal, eficiencia de FBN	%, % N
		Crecimiento vegetativo	Altura de planta, número de tallos	cm, N.º/planta
		Rendimiento	Rendimiento de forraje verde	t/ha

CAPÍTULO III

METODOLOGIA Y TECNICAS DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

Este estudio tiene un carácter aplicado y experimental, debido a que se utilizan diferentes herramientas y conocimientos previos para observar el efecto de inoculantes microbianos en el cultivo de la alfalfa.

3.2. Nivel de investigación

En la presente investigación se trabajó a un nivel explicativo de cómo influye los inoculantes microbianos en la fijación de nitrógeno en el suelo por el cultivo de alfalfa.

3.3. Métodos de investigación

Se utilizó el método científico con observaciones, registros y análisis de datos.

3.3.1. Conducción del experimento

a. Preparación del Terreno

Se despejó el campo de malezas, luego se marcó el campo y se organizaron bloques y tratamientos en cada parcela experimental. Este trabajo se realizó un día antes de la siembra.

b. Siembra

Se realizó en forma manual, en melgas y al voleo, con 250 plantas por m². Para realizar la siembra de alfalfa se desinfectó la semilla con el

fungicida captan a razón de 20 gr/Kg de semilla. Luego se sumergió las semillas y posteriormente fueron sembrados en la parcela experimental según el croquis.

c. Fertilización

Se realizó en base a los resultados del respectivo análisis de suelo.

d. Control de Malezas

Durante el experimento, el deshierbe del campo se realizó manualmente. Esta labor fue importante para evitar la competencia por nutrientes, espacio, luz entre otros.

e. Control fitosanitario

Control de plagas

Se realizaron evaluaciones frecuentes y no se encontraron plagas, por su crecimiento rápido el cultivo logró evitar las plagas.

Control de enfermedades

Se realizó la evaluación y no se tuvo presencia de enfermedades que causen daño económico.

f. Cosecha

La cosecha se realizó en forma manual, según la maduración de los tratamientos.

3.4. Diseño de investigación

Se utilizó el Diseño de Bloques Completo al Azar (DBCA) con cinco tratamientos y tres repeticiones. La unidad experimental consistió de una parcela (4.0 m x 2.3 m). El área total del experimento fue de 160 m².

3.4.1. Características del experimento

a. Del campo experimental

- Largo: 20 m
- Ancho: 8 m

- Área total: 160 m²
- Área Experimental: 139.8 m²
- Área de caminos: 20.2 m²

b. De la parcela

- Largo: 4.0 m
- Ancho: 2.3 m
- Área neta: 9.2 m²

c. Bloques

- Largo: 20 m
- Ancho: 2.33 m
- Total: 46.6 m²
- N° de parcelas por bloque: 5
- N° total de parcelas del experimento: 15

Figura 2. Croquis del campo experimental

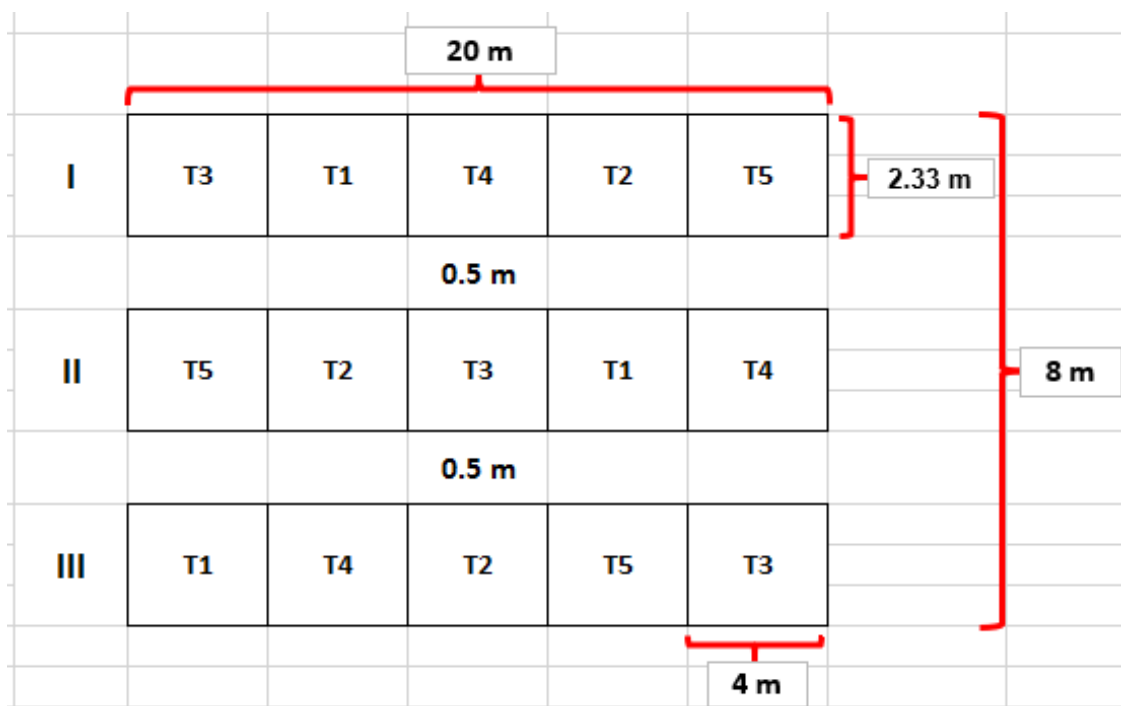
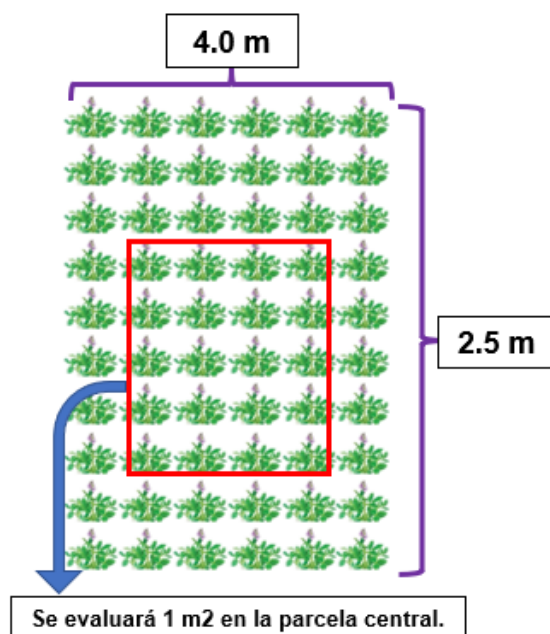


Figura 3. *Detalles de la parcela experimental*



3.5. Población y muestra

Población

La población fue de 3750 plantas de alfalfa que fueron sembradas; 250 plantas por m² en tres repeticiones o bloques y un área de 160 m² donde cada parcela experimental contó con 250 plantas.

Muestra

El muestreo en cada parcela experimental fue al azar, 5 plantas de alfalfa haciendo un total de 15 plantas por tratamiento evaluadas, considerando los tres bloques. Para el rendimiento se tomó 1 m².

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- Observación experimental
- Análisis documental

Se realizó el muestreo de suelo de acuerdo a las normas técnicas de suelo, luego estas muestras uniformizadas fueron entregadas al laboratorio de análisis de suelo del Instituto Nacional de Innovación Agraria Santa Ana Huancayo. También se

obtuvo información meteorológica del Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del SENAMHI a fin de analizar los datos climatológicos.

3.7. Selección, validación y confiabilidad de los instrumentos

Se utilizó el sistema internacional de unidades para evaluar cada indicador, tales como: razón (% visual), metro, conteo, balanza electrónica, vernier, el cual se describe en la operacionalización de variables.

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Las evaluaciones se realizaron desde el día de la instalación del experimento, con una frecuencia de cada 15 días a partir de entonces. Se evaluaron quince plantas por cada tratamiento, evaluando las siguientes variables:

a. Altura de planta

La altura de la planta se determinó midiendo desde el suelo hasta el final de la planta con una balanza en el momento de la cosecha.

b. Número de hojas / planta

Se cuantificó el número de hojas, al momento antes de la cosecha.

c. Peso de plantas / m²

Se cortó las plantas de 1m² y se llevó a una balanza electrónica, después de la cosecha.

d. Registro de insectos plagas y enfermedades

Las plagas y enfermedades de insectos se evaluaron semanalmente, pero la infestación no fue económicamente significativa ya que representó menos del 5% del daño.

e. Porcentaje de nitrógeno antes y después de aplicar los inoculantes microbianos

Se enviaron las muestras al Instituto Nacional de Innovación Agraria INIA Huancayo, también se analizó el % de nitrógeno en hojas de cada uno de los tratamientos.

f. Peso de forraje en fresco - rendimiento por hectárea

El avalúo consistió en determinar el peso del área comercial por metro cuadrado y convertirlo a una hectárea.

3.9. Tratamiento estadístico

Tabla 2. *Tratamientos en estudio de alfalfa*

Trat.	Inoculantes y dosis	Contenido
T1	Sealsolates 1.5 L/200LH2O	<i>Ascophyllum nodosum</i>
T2	Sealsolates 3.0 L/200LH2O	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y <i>Bacillus subtilis</i>
T3	IsoGuard 1.5 L/200LH2O	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> y
T4	IsoGuard 3.0 L/200LH2O	<i>Paenibacillus polymyxa</i>
T0	Sin inoculantes	--

Aplicación de los inoculantes microbianos

La primera aplicación fue a la siembra, se hizo remojar la semilla en inoculantes microbianos según los tratamientos, la segunda, tercera y cuarta aplicación fueron cada 15 días después de la emergencia.

Los datos recolectados para las distintas variables fueron sometidos a un análisis de varianza (ANAVA, $\alpha \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico Infostat, mediante el siguiente modelo general lineal.

$$Y_{ij} = u + T_i + B_j + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Observación de la unidad experimental.

u = Media general.

T_i = Efecto del i -ésimo tratamiento.

B_j = Efecto del j -ésimo bloque.

Además, se realizó la prueba de Tukey para la comparación de medias.

Esquema del análisis de varianza:

Tabla 3. *Análisis de varianza para un DBCA*

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F Calculado
Bloques	r-1	$\frac{\sum_j^n X_{.j}^2}{t} - T.C.$	$\frac{SC_{Bloques}}{G.L_{Bloques}}$	$\frac{C.M_{Bloques}}{C.M_{Error}}$
Tratamientos	t-1	$\frac{\sum_i^n X_{i.}^2}{r} - T.C.$	$\frac{SC_{Tratam}}{G.L_{Tratam}}$	$\frac{C.M_{Tratam}}{C.M_{Error}}$
Error Experimental	(r-1) (t-1)	$SC_{Total} - SC_{Trat.} - SC_{Bloq.}$	$\frac{SC_{Error}}{G.L_{Error}}$	
Total	r t - 1	$\sum_{ij}^n X_{ij}^2 - T.C.$		

3.10. Orientación ética filosófica y epistemológica

Autoría: Se puede precisar con claridad que Nataly Raymunda BARZOLA ROJAS es la autora del presente trabajo de investigación.

Originalidad: Las citas y textos mencionados en este trabajo de investigación han sido revisados por los autores y figuran en la bibliografía sin modificar su contenido.

Reconocimiento de fuentes: En la bibliografía se citaron fuentes de varios autores sin cambiar su contenido según el formato de la 7ª edición de APA.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Descripción del trabajo de campo

4.1.1. Ubicación geográfica y características meteorológicas

La presente investigación se realizó en condiciones de campo:

Región: Junín

Provincia: Jauja

Distrito: Acolla

Altitud: 3465 m.s.n.m

Latitud Sur: 11°43'54" S

Longitud Oeste: 75°32'46" W

4.1.2. Análisis de suelo

Se tomaron muestras de cinco puntos de la parcela donde se montó el experimento, luego se tomó una muestra de 1 kg y se envió al laboratorio de suelos de la Estación Experimental Santa Ana (INIA) para su respectivo análisis.

Los resultados se muestran en la sección anexos (Anexo 02), la recomendación para el cultivo de alfalfa es: 00-120-90 kg/ha de NPK (Rebuffo et al, 2000).

Tabla 4. Resultado de análisis de suelo antes del experimento

Valores		Interpretación del Análisis Químico
pH	6.9	Neutro
M.O	3.6 %	Alto
P	53.3 ppm	Tiene un contenido alto
K	217.1 ppm	El contenido es alto
N	0.20%	El contenido es alto

Fuente: INIA Huancayo.

Mamani et al (2011) manifiesta que la alfalfa se desarrolla muy bien en suelos francos, arenosos, con pH ácido, neutro o básico, requiere un drenaje moderado y días soleados.

4.1.3. Datos meteorológicos

Tabla 5. Datos meteorológicos diciembre 2025 a marzo 2026

Meses	Temperatura		Humedad	Precipitación
	Max	Min	Relativa %	Total, mensual (mm)
Diciembre-2025	12.8	5.0	78.66	139.7
Enero-2026	12.7	4.6	80.69	161.9
Febrero-2026	12.3	5.0	83.42	221.8
Marzo-2026	12.7	4.5	81.9	193.8
Total, de pp				717.2

Fuente: Estaciones meteorológica SENAMHI- Jauja

- Interpretación de los datos meteorológicos**

Durante el periodo experimental de diciembre de 2025 a marzo de 2026, las temperaturas máximas oscilaron entre 12,3 y 12,8 °C y las mínimas entre 4,5 y 5,0 °C, evidenciando condiciones térmicas frías características de Acolla–Jauja. La humedad relativa se mantuvo elevada, entre 78,66 y 83,42 %, mientras que la precipitación mensual varió de 139,7 a 221,8 mm, alcanzando su mayor valor en febrero. Estas condiciones proporcionaron una adecuada disponibilidad de

humedad para el establecimiento y crecimiento de la alfalfa; sin embargo, las bajas temperaturas pudieron reducir parcialmente la velocidad de crecimiento y la actividad de los microorganismos asociados a la fijación biológica de nitrógeno. En general, las condiciones meteorológicas fueron relativamente favorables para el desarrollo del cultivo, aunque la elevada precipitación registrada durante algunos meses pudo incrementar temporalmente la humedad del suelo y representar un riesgo de encharcamiento.

4.2. Presentación, análisis e interpretación de resultados

4.2.1. Número de nódulos por planta (n°)

Los resultados de la evaluación de número de nódulos por planta se muestran en la sección de Anexo.

Tabla 6. *Análisis de varianza para número de nódulos por planta*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.	Sig. 0.05
Trat.	4	359.73	89.93	33.52	3,83	*
Bloques	2	10.53	5.27	1.96	4,45	n.s.
Error	8	21.47	2.68			
Total	14	391.73				

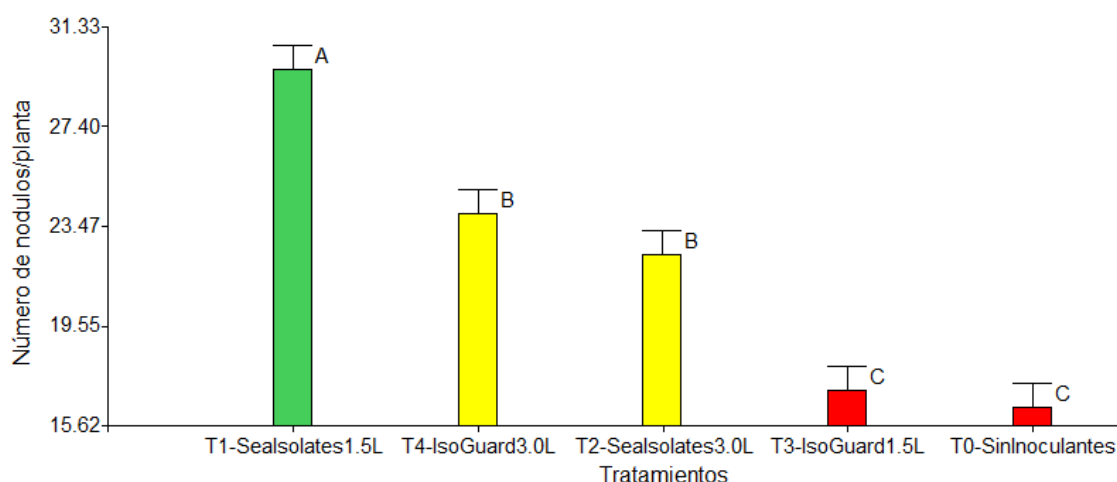
CV: 7.49 %

El análisis de varianza para el número de nódulos por planta mostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, debido a que el valor de $F_c = 33,52$ fue superior al $F_t = 3,83$ al nivel de significancia de 0,05; por lo tanto, los inoculantes microbianos ejercieron un efecto diferente sobre la formación de nódulos en alfalfa. En cambio, entre bloques no se presentaron diferencias significativas ($F_c = 1,96 < F_t = 4,45$), lo que indica que la variabilidad entre bloques no influyó de manera importante en los resultados. Además, el coeficiente de variación de 7,49 % evidencia una adecuada precisión experimental y buena homogeneidad de los datos obtenidos.

Tabla 7. Prueba de Tukey para número de nódulos por planta (n°)

OM	Trat.	Dosis de inoculante microbiano 200L agua	Promedio (n°)	Sig. $\alpha=0,05$
1	T1	Sealsolates1.5L	29.67	a
2	T4	IsoGuard3.0L	24.00	b
3	T2	Sealsolates3.0L	22.33	b
4	T3	IsoGuard1.5L	17.00	c
5	T0	SinInoculantes	16.33	c

La prueba de Tukey al 5 % para el número de nódulos por planta mostró que el tratamiento T1 (Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua) alcanzó el mayor promedio con 29,67 nódulos por planta, ubicándose en el grupo estadístico “a” y siendo significativamente superior a los demás tratamientos. Los tratamientos T4 (IsoGuard 3,0 L) y T2 (Sea Isolates 3,0 L) presentaron valores intermedios de 24,00 y 22,33 nódulos, respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ellos al pertenecer al grupo “b”. Por su parte, T3 (IsoGuard 1,5 L) y el T0 (sin inoculante) registraron los menores promedios, con 17,00 y 16,33 nódulos por planta, respectivamente, conformando el grupo “c”. Estos resultados indican que la aplicación de Sea Isolates a 1,5 L/200 L de agua fue el tratamiento más eficiente para estimular la nodulación de la alfalfa bajo las condiciones del experimento.

Figura.4. Número de nódulos por planta

La Figura 4 evidencia que el tratamiento T1 (Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua) presentó la mayor formación de nódulos, con 29,67 nódulos por planta, seguido de T4 (IsoGuard 3,0 L) con 24,00 y T2 (Sea Isolates 3,0 L) con 22,33 nódulos por planta. En contraste, T3 (IsoGuard 1,5 L) y el T0 sin inoculante registraron los valores más bajos, con 17,00 y 16,33 nódulos por planta, respectivamente. En términos agronómicos, la figura muestra que la aplicación de inoculantes microbianos favoreció la nodulación de la alfalfa, destacando Sea Isolates a la dosis de 1,5 L/200 L de agua como el tratamiento de mejor respuesta para esta variable.

4.2.2. Peso de nódulos por planta (g)

Tabla 8 *Análisis de varianza para peso de nódulos por planta*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.	Sig. 0,05
Trat.	4	0.02	0.0045	13.04	3,83	*
Bloques	2	0.001	0.00025	1.45	4,45	n.s.
Error	8	0.002	0.00035			
Total	14	0.02				

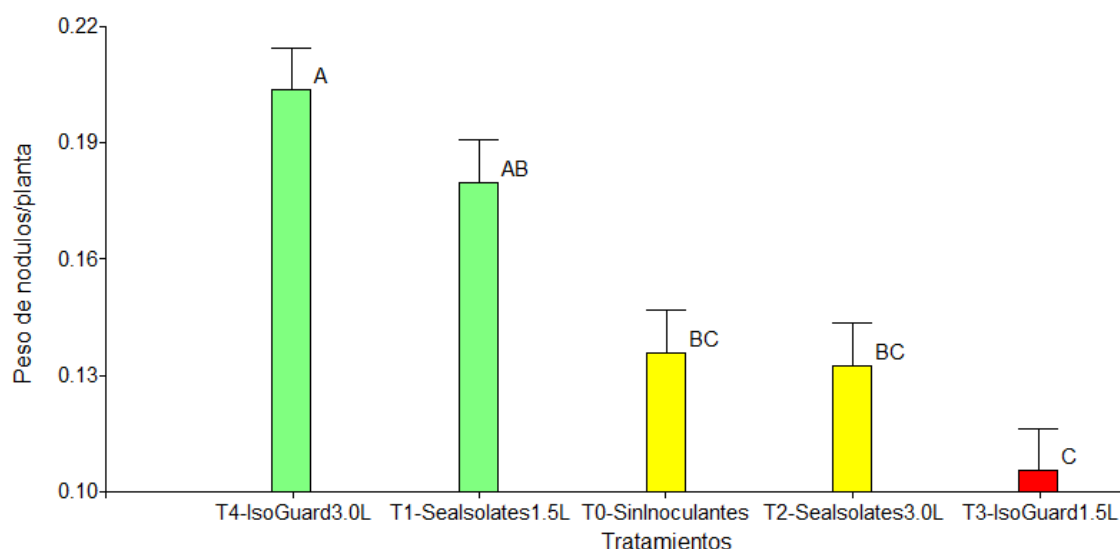
CV: 12.0 %

El análisis de varianza para el peso de nódulos por planta mostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, debido a que el valor de $F_c = 13,04$ fue superior al $F_t = 3,83$ al nivel de significancia de 0,05; esto indica que la aplicación de los diferentes inoculantes microbianos influyó significativamente en el peso de los nódulos de la alfalfa. Por otro lado, entre bloques no se encontraron diferencias significativas ($F_c = 1,45 < F_t = 4,45$), evidenciando que las condiciones entre bloques fueron homogéneas. Asimismo, el coeficiente de variación de 12,0 % indica una aceptable precisión experimental y confiabilidad de los datos obtenidos.

Tabla 9. *Prueba de Tukey para peso de nódulos por planta*

OM	Trat.	Dosis de inoculante microbiano 200L agua	Promedio (g)	Sig. $\alpha=0,05$
1	T4	IsoGuard3.0L	0.21	a
2	T1	Sealsolates1.5L	0.18	a b
3	T0	Sin Inoculantes	0.14	b c
4	T2	Sealsolates3.0L	0.14	b c
5	T3	IsoGuard1.5L	0.11	c

La prueba de Tukey al 5 % para el peso de nódulos por planta mostró que el tratamiento T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua) alcanzó el mayor promedio con 0,21 g, ubicándose en el grupo estadístico “a”. El tratamiento T1 (Sea Isolates 1,5 L) presentó 0,18 g y se ubicó en el grupo “ab”, por lo que no difirió estadísticamente de T4. Los tratamientos T0 (sin inoculante) y T2 (Sea Isolates 3,0 L) registraron ambos 0,14 g, mientras que T3 (IsoGuard 1,5 L) obtuvo el menor valor con 0,11 g. En conjunto, los resultados indican que la dosis alta de IsoGuard (3,0 L/200 L de agua) favoreció en mayor medida el peso de los nódulos formados en las raíces de alfalfa.

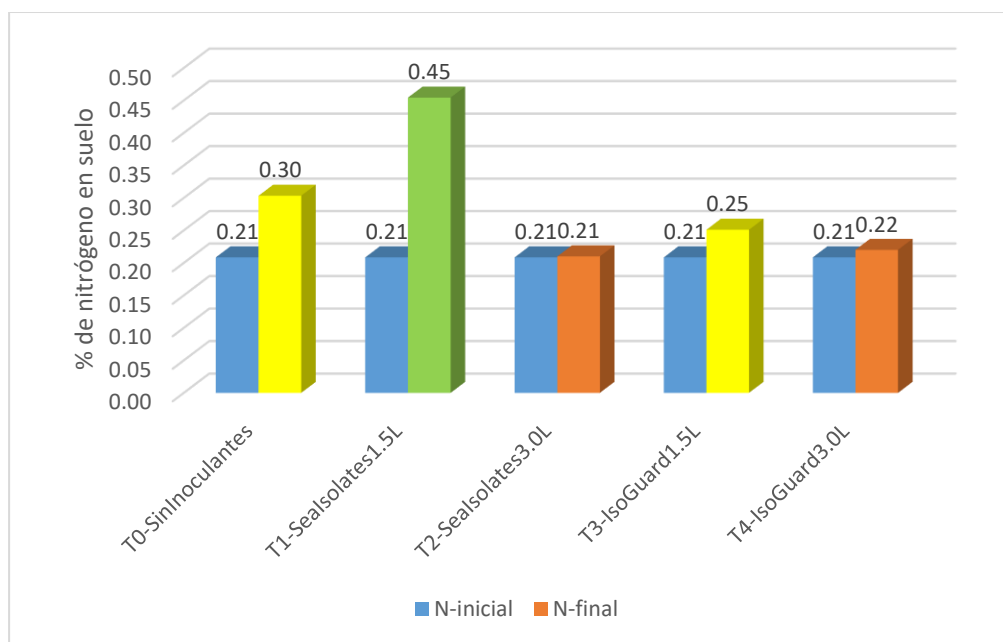
Figura 5. *Peso de nódulos por planta en el cultivo de alfalfa*

La Figura 5 muestra que el tratamiento T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua) presentó el mayor peso de nódulos por planta, con 0,21 g, seguido de T1 (Sea Isolates 1,5 L) con 0,18 g. Los tratamientos T0 (sin inoculante) y T2 (Sea Isolates 3,0 L) presentaron ambos 0,14 g. El tratamiento T3 (IsoGuard 1,5 L) obtuvo el menor valor con 0,11 g.

registraron valores intermedios e iguales de 0,14 g, mientras que T3 (IsoGuard 1,5 L) obtuvo el menor peso, con 0,11 g. Estos resultados evidencian que la respuesta en peso de nódulos dependió del tipo y dosis del inoculante, destacando IsoGuard a 3,0 L/200 L de agua como el tratamiento de mejor desempeño para esta variable.

4.2.3. Nitrógeno de suelo después del primer corte (%)

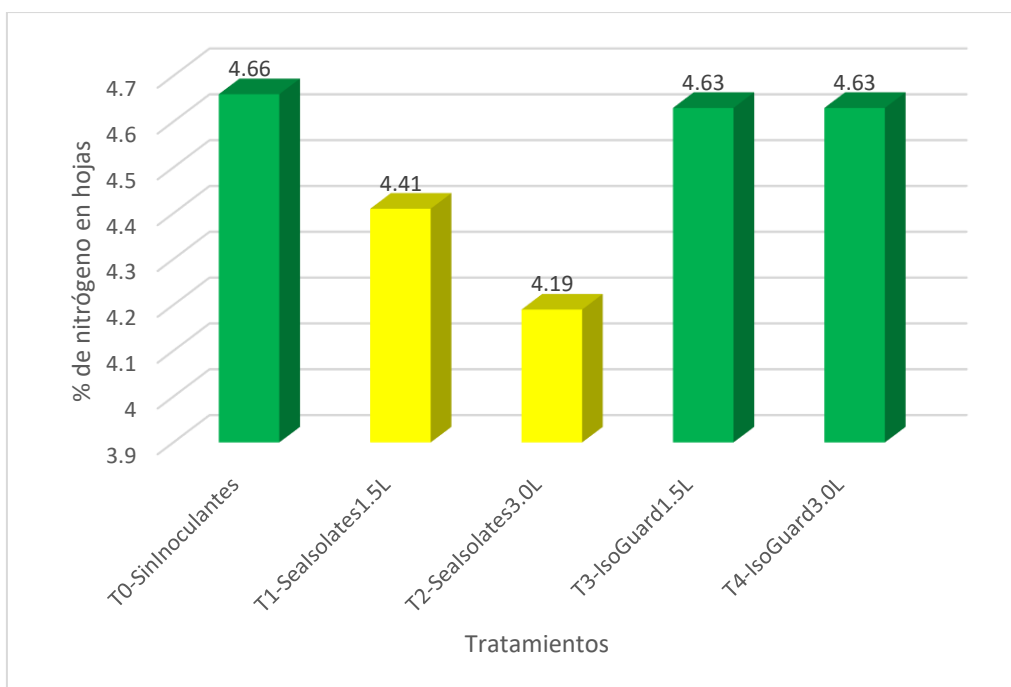
Figura 6. Porcentaje de nitrógeno de suelo antes y después de la inoculación



La Figura 6 muestra que el contenido inicial de nitrógeno del suelo fue uniforme en todos los tratamientos, con 0,21 %. Después de la inoculación y del primer corte, el tratamiento T1 (Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua) alcanzó el mayor contenido de nitrógeno con 0,45 %, seguido del T0 (sin inoculantes) con 0,30 % y T3 (IsoGuard 1,5 L) con 0,25 %; mientras que T4 (IsoGuard 3,0 L) registró 0,22 % y T2 (Sea Isolates 3,0 L) permaneció en 0,21 %. Estos resultados evidencian que Sea Isolates a 1,5 L/200 L produjo el mayor incremento del nitrógeno en el suelo, pasando de 0,21 a 0,45 %, equivalente a un aumento aproximado de 114,3 % respecto al valor inicial. En consecuencia, T1 presentó la respuesta más favorable para esta variable bajo las condiciones del experimento.

4.2.4. Nitrógeno en hojas después del inóculo (%)

Figura 7. Nitrógeno en hojas después del inóculo



La Figura 7 muestra que el mayor contenido de nitrógeno en hojas se registró en el tratamiento T0 (sin inoculantes) con 4,66 %, seguido de T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) y T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua), ambos con 4,63 %. Por su parte, T1 (Sea Isolates 1,5 L) alcanzó 4,41 %, mientras que T2 (Sea Isolates 3,0 L) presentó el menor valor con 4,19 %. Estos resultados indican que, para esta variable, la aplicación de inoculantes no produjo un incremento uniforme del nitrógeno foliar, ya que el tratamiento sin inoculación presentó el valor numéricamente más alto.

4.2.5. Altura de planta a la cosecha (cm)

Los resultados de la evaluación se muestran en la sección de Anexo.

Tabla 10. *Análisis de varianza para altura de planta a la cosecha (cm)*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.	Sig. 0,01
Trat.	4	186.68	46.67	20.26	2,80	**
Bloques	2	40.31	20.15	8.75	3,11	**.
Error	8	18.43	2.30			
Total	14	245.42				

CV: 2.69 %

El análisis de varianza para la altura de planta a la cosecha mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos, debido a que el valor de $F_c = 20,26$ fue superior al $F_t = 2,80$ al nivel de significancia de 0,01, lo que evidencia que los inoculantes microbianos influyeron en la altura de las plantas de alfalfa. Asimismo, se encontraron diferencias altamente significativas entre bloques, ya que $F_c = 8,75 > F_t = 3,11$, indicando cierta variabilidad entre las condiciones de los bloques experimentales. El coeficiente de variación de 2,69 % refleja una alta precisión experimental y una adecuada homogeneidad de los datos obtenidos.

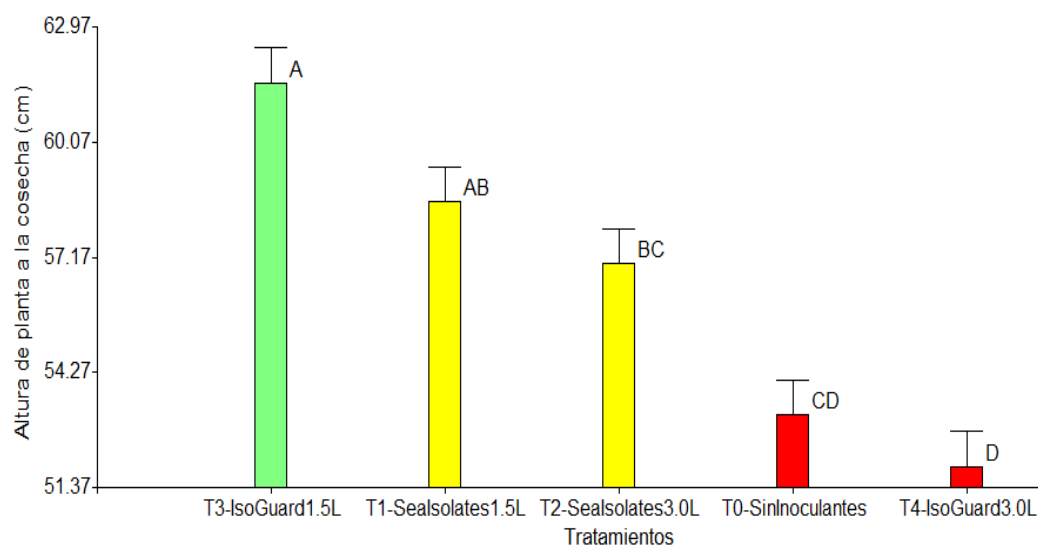
Tabla 11. *Prueba de Tukey para altura de planta a la cosecha (cm)*

OM	Trat.	Dosis de inoculante microbiano 200L agua	Promedio (cm)	Sig. $\alpha=0,05$
1	T3	IsoGuard1.5L	61.57	a
2	T1	Sealsolates1.5L	58.57	a b
3	T2	Sealsolates3.0L	57.00	b c
4	T0	Sin Inoculantes	53.20	c d
5	T4	IsoGuard3.0L	51.90	d

La prueba de Tukey al 5 % para la altura de planta a la cosecha mostró que el tratamiento T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) alcanzó la mayor altura promedio con 61,57 cm, ubicándose en el grupo estadístico “a”, seguido de T1 (Sea Isolates 1,5 L) con 58,57 cm y T2 (Sea Isolates 3,0 L) con 57,00 cm. El tratamiento T0 (sin inoculantes) presentó una altura de 53,20 cm, mientras que T4 (IsoGuard 3,0 L)

registró el menor valor con 51,90 cm. De acuerdo con los grupos de significancia, T3 no difirió estadísticamente de T1, mientras que sí presentó diferencias respecto a los tratamientos de menor respuesta, especialmente T4. En conjunto, los resultados indican que IsoGuard a 1,5 L/200 L de agua favoreció en mayor medida el crecimiento en altura de la alfalfa bajo las condiciones del experimento.

Figura 8. *Altura de planta a la cosecha (cm)*



La Figura 8 evidencia que el tratamiento T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) alcanzó la mayor altura de planta a la cosecha con 61,57 cm, seguido de T1 (Sea Isolates 1,5 L) con 58,57 cm y T2 (Sea Isolates 3,0 L) con 57,00 cm. En contraste, el T0 (sin inoculantes) registró 53,20 cm y T4 (IsoGuard 3,0 L) presentó la menor altura con 51,90 cm. La tendencia observada muestra que IsoGuard a 1,5 L/200 L de agua favoreció en mayor medida el crecimiento en altura de la alfalfa, mientras que el incremento de la dosis a 3,0 L no produjo una respuesta favorable para esta variable.

4.2.6. Número de hojas por tallo a la cosecha (n°)

Tabla 12. *Análisis de varianza para número de hojas por tallo a la cosecha (n°)*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.	Sig. 0,05
Trat.	4	171.59	42.90	258.93	3,83	*
Bloques	2	6.72	3.36	20.29	4,45	*
Error	8	1.33	0.17			
Total	14	179.63				

CV: 1.52 %

El análisis de varianza para el número de hojas por tallo a la cosecha mostró diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, debido a que el valor de $F_c = 258,93$ fue ampliamente superior al $F_t = 3,83$ al nivel de significancia de 0,05; por tanto, los inoculantes microbianos tuvieron un efecto significativo sobre esta variable. Asimismo, entre bloques se presentaron diferencias significativas ($F_c = 20,29 > F_t = 4,45$), lo que evidencia cierta variabilidad entre las condiciones de los bloques experimentales. El coeficiente de variación de 1,52 % indica una alta precisión experimental, baja variabilidad de los datos y buena confiabilidad de los resultados obtenidos.

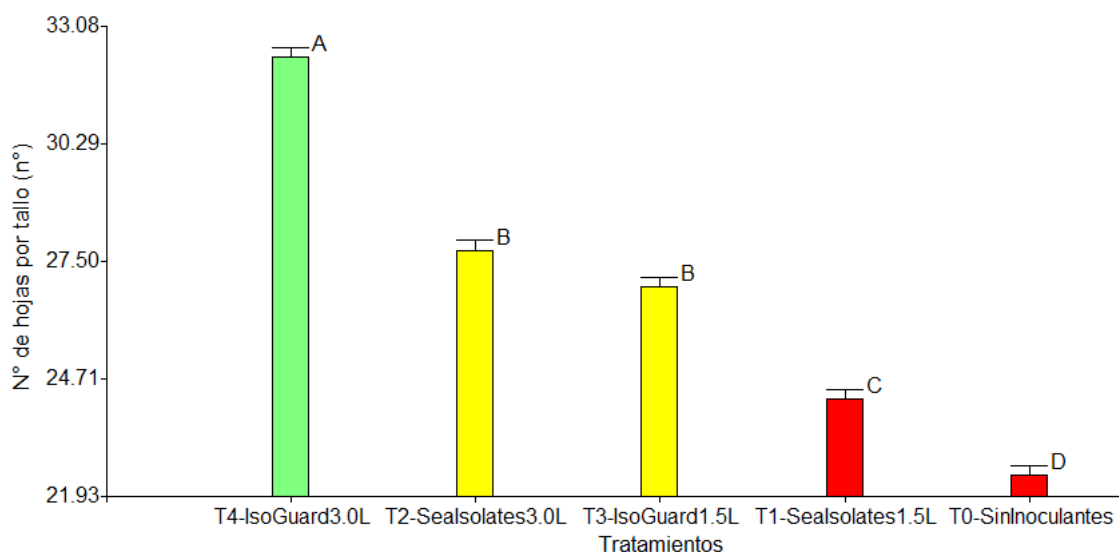
Tabla 13. *Prueba de Tukey para número de hojas por tallo (n°)*

OM	Trat.	Dosis de inoculante microbiano 200L agua	Promedio (n°)	Sig. $\alpha=0,05$
1	T4	IsoGuard3.0L	32.33	a
2	T2	Sealsolates3.0L	27.77	b
3	T3	IsoGuard1.5L	26.90	b
4	T1	Sealsolates1.5L	24.23	c
5	T0	Sin Inoculantes	22.43	d

La prueba de Tukey al 5 % para el número de hojas por tallo mostró que el tratamiento T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua) alcanzó el mayor promedio con 32,33 hojas por tallo, ubicándose en el grupo estadístico "a" y siendo superior a los demás tratamientos. Los tratamientos T2 (Sea Isolates 3,0 L) y T3 (IsoGuard 1,5 L)

presentaron valores intermedios de 27,77 y 26,90 hojas, respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ellos al pertenecer al grupo “b”. El tratamiento T1 (Sea Isolates 1,5 L) registró 24,23 hojas, mientras que el T0 sin inoculantes obtuvo el menor promedio con 22,43 hojas por tallo. En consecuencia, IsoGuard a 3,0 L/200 L de agua fue el tratamiento más efectivo para incrementar el número de hojas por tallo en alfalfa.

Figura 9. Número de hojas por tallo (n°)



La Figura 9 muestra que el tratamiento T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua) alcanzó el mayor número de hojas por tallo, con 32,33 hojas, ubicándose claramente por encima de los demás tratamientos. Le siguieron T2 (Sea Isolates 3,0 L) con 27,77 hojas y T3 (IsoGuard 1,5 L) con 26,90 hojas, mientras que T1 (Sea Isolates 1,5 L) registró 24,23 hojas y el T0 sin inoculantes presentó el menor valor con 22,43 hojas por tallo. La tendencia evidencia que IsoGuard a 3,0 L/200 L de agua favoreció en mayor medida el desarrollo foliar de la alfalfa, incrementando el número de hojas por tallo respecto al tratamiento sin inoculación.

4.2.7. Peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)

Tabla 14. *Análisis de varianza para peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)*

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.	Sig. 0,01
Trat.	4	27.16	6.79	5.25	2,80	**
Bloques	2	0.01	0.0027	0.0021	3,11	n.s.
Error	8	10.35	1.29			
Total	14	37.52				

CV: 5.72 %

El análisis de varianza para el peso fresco de forraje por hectárea mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos, debido a que el valor de Fc = 5,25 fue superior al Ft = 2,80 al nivel de significancia de 0,01; por tanto, los diferentes inoculantes microbianos influyeron significativamente en el rendimiento de forraje fresco de la alfalfa. En cambio, entre bloques no se presentaron diferencias significativas (Fc = 0,0021 < Ft = 3,11), indicando que la variación entre bloques no afectó de manera importante esta variable. El coeficiente de variación de 5,72 % evidencia una buena precisión experimental y adecuada confiabilidad de los resultados obtenidos.

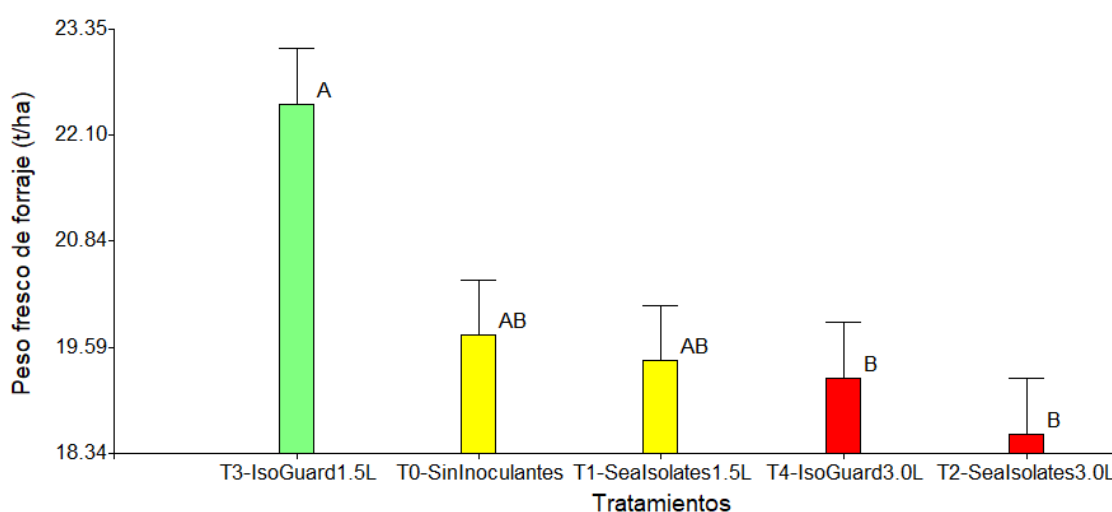
Tabla 15 *Prueba de Tukey para peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)*

OM	Trat.	Dosis de inoculante microbiano 200L agua	Promedio (t/ha)	Sig. $\alpha=0,05$
1	T3	IsoGuard1.5L	22.47	a
2	T0	Sin Inoculantes	19.73	a b
3	T1	Sealsolates1.5L	19.43	a b
4	T4	IsoGuard3.0L	19.23	b
5	T2	Sealsolates3.0L	18.57	b

La prueba de Tukey al 5 % para el peso fresco de forraje por hectárea mostró que el tratamiento T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) alcanzó el mayor rendimiento con 22,47 t/ha, ubicándose en el grupo estadístico "a". Los tratamientos T0 (sin

inoculantes) y T1 (Sea Isolates 1,5 L) obtuvieron 19,73 y 19,43 t/ha, respectivamente, perteneciendo al grupo “ab”, por lo que no presentaron diferencias significativas respecto a T3 ni entre sí. En cambio, T4 (IsoGuard 3,0 L) y T2 (Sea Isolates 3,0 L) registraron los menores rendimientos, con 19,23 y 18,57 t/ha, respectivamente, formando el grupo “b”. En conjunto, los resultados indican que IsoGuard a 1,5 L/200 L de agua presentó la mejor respuesta productiva en rendimiento de forraje fresco de alfalfa.

Figura 10. *Peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)*



La Figura 10 muestra que el tratamiento T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) alcanzó el mayor rendimiento de forraje fresco, con 22,47 t/ha, seguido del T0 sin inoculantes con 19,73 t/ha y T1 (Sea Isolates 1,5 L) con 19,43 t/ha. Los menores rendimientos correspondieron a T4 (IsoGuard 3,0 L) con 19,23 t/ha y T2 (Sea Isolates 3,0 L) con 18,57 t/ha. La tendencia gráfica evidencia que IsoGuard a 1,5 L/200 L de agua favoreció en mayor medida la producción de biomasa fresca de alfalfa, mientras que el aumento de la dosis a 3,0 L no mejoró el rendimiento.

4.2. Prueba de hipótesis

De acuerdo con los análisis de varianza realizados, se evidenciaron diferencias significativas o altamente significativas entre los tratamientos para el número y peso de nódulos, altura de planta, número de hojas por tallo y rendimiento

de forraje fresco, demostrando que los inoculantes microbianos produjeron respuestas diferentes en la alfalfa. Asimismo, se observaron variaciones en el contenido de nitrógeno del suelo y de las hojas entre los tratamientos evaluados. En consecuencia, los resultados experimentales respaldan la hipótesis general de investigación, indicando que la aplicación de diferentes inoculantes microbianos influye en la fijación biológica de nitrógeno y en la respuesta agronómica del cultivo de alfalfa bajo las condiciones de Acolla–Jauja.

4.4. Discusión de resultados

4.4.1. Número de nódulos por planta (n°)

Los resultados obtenidos evidenciaron que la aplicación de inoculantes microbianos influyó significativamente en la formación de nódulos en alfalfa, destacando T1 (Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua) con 29,67 nódulos por planta, frente a 16,33 nódulos del tratamiento sin inoculación, lo que representa un incremento aproximado de 81,7 %. Estos resultados sugieren que la interacción entre los microorganismos del inoculante y la rizosfera favoreció las condiciones necesarias para el establecimiento de la simbiosis y la nodulación. Han et al. (2024) señalan que el número y peso de los nódulos constituyen indicadores importantes para evaluar la capacidad de nodulación y la eficiencia de la asociación simbiótica en alfalfa, observando además diferencias en la respuesta según la combinación planta–microorganismo. En ese sentido, la mayor nodulación registrada con Sea Isolates a la dosis de 1,5 L respalda la existencia de una respuesta favorable de los microorganismos presentes en el inoculante sobre el sistema radical de la alfalfa. Por tanto, los resultados confirman que la inoculación microbiana puede favorecer la formación de nódulos, aunque su efectividad depende del tipo de microorganismo y de la dosis aplicada.

4.4.2. Peso de nódulos por planta (g)

Los resultados mostraron diferencias significativas en el peso de nódulos por planta, destacando el tratamiento T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua) con 0,21 g,

seguido de T1 con 0,18 g, mientras que el testigo alcanzó 0,14 g y T3 presentó el menor valor con 0,11 g. En comparación con el testigo, T4 incrementó el peso nodular aproximadamente en 50 %, evidenciando una respuesta favorable a la inoculación. Ben-Laouane et al. (2020) demostraron en alfalfa que la aplicación de microorganismos benéficos, particularmente rizobios solos o combinados con hongos micorrízicos, modificó favorablemente el peso seco de los nódulos, mostrando que la biomasa nodular depende de la interacción entre la planta y los microorganismos de la rizosfera. Estos resultados concuerdan con la respuesta obtenida en la presente investigación y sugieren que IsoGuard a mayor dosis favoreció el desarrollo y acumulación de biomasa de los nódulos. Por tanto, el peso nodular constituye un indicador importante de la respuesta simbiótica de la alfalfa frente a la aplicación de inoculantes microbianos.

4.4.3. Nitrógeno de suelo primer corte (%)

Los resultados mostraron que el contenido inicial de nitrógeno del suelo fue de 0,21 % en todos los tratamientos; después del primer corte, T1 (Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua) alcanzó el mayor valor con 0,45 %, equivalente a un incremento de aproximadamente 114,3 %, mientras que T0, T3, T4 y T2 registraron 0,30; 0,25; 0,22 y 0,21 %, respectivamente. Esta respuesta evidencia que la inoculación a dosis moderada pudo favorecer los procesos microbianos relacionados con la incorporación y disponibilidad de nitrógeno en el sistema suelo-planta. Gatabazi et al. (2023) señalan que la inoculación de alfalfa con *Sinorhizobium meliloti* favorece la fijación simbiótica de N_2 y la absorción de nitrógeno por la planta, resaltando el aporte de esta leguminosa al enriquecimiento nitrogenado del sistema agrícola. En concordancia con ello, el incremento observado con Sea Isolates 1,5 L sugiere una mayor actividad biológica en la rizosfera capaz de contribuir a conservar o incrementar el nitrógeno disponible después del primer corte. Por tanto, T1 presentó la respuesta más favorable para mejorar el contenido de nitrógeno del suelo, aunque este comportamiento dependió del tipo y dosis de inoculante utilizado.

4.4.4. Nitrógeno en hoja después del inóculo (%)

Los resultados mostraron que el T0 (sin inoculantes) presentó numéricamente el mayor contenido de nitrógeno en hojas con 4,66 %, seguido de T3 y T4 (IsoGuard 1,5 y 3,0 L/200 L de agua) con 4,63 %, mientras que T1 y T2 alcanzaron 4,41 y 4,19 %, respectivamente. Este comportamiento indica que los inoculantes evaluados no incrementaron de manera uniforme la concentración foliar de nitrógeno respecto al testigo. En contraste, He et al. (2026) encontraron que determinados consorcios de rizobacterias promotoras del crecimiento incrementaron el nitrógeno total de la parte aérea de alfalfa entre 10,2 y 11,8 % respecto al control, evidenciando que la respuesta depende de la composición y compatibilidad del inoculante. Por ello, los menores valores observados con Sea Isolates podrían relacionarse con diferencias en la actividad microbiana, dosis aplicada y condiciones edafoclimáticas del experimento. En conjunto, los resultados indican que IsoGuard mantuvo concentraciones de nitrógeno foliar próximas al testigo, pero no se evidenció un incremento numérico superior a este.

4.4.5. Altura de planta a la cosecha (cm)

Los resultados mostraron que la aplicación de inoculantes microbianos influyó significativamente en la altura de planta de alfalfa, destacando T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) con 61,57 cm, seguido de T1 con 58,57 cm y T2 con 57,00 cm, mientras que el testigo alcanzó 53,20 cm y T4 presentó 51,90 cm. El tratamiento T3 superó al testigo en aproximadamente 15,7 %, evidenciando una respuesta favorable del crecimiento vegetativo a esta dosis de inoculante. Wu et al. (2022) comprobaron que la inoculación de alfalfa con microorganismos benéficos, particularmente rizobios y hongos micorrízicos, promovió el crecimiento e incrementó la altura de planta, el número de ramas y la acumulación de biomasa. Esta respuesta se relaciona con una mejor interacción entre microorganismos y raíces, que puede favorecer la absorción de nutrientes y el desarrollo de la parte aérea. En consecuencia, los resultados

obtenidos confirman que IsoGuard a 1,5 L/200 L de agua fue la dosis más favorable para promover la altura de las plantas de alfalfa bajo las condiciones evaluadas.

4.4.6. Número de hojas por tallo (n°)

Los resultados evidenciaron diferencias significativas en el número de hojas por tallo, destacando el tratamiento T4 (IsoGuard 3,0 L/200 L de agua) con 32,33 hojas, seguido de T2 con 27,77 y T3 con 26,90 hojas, mientras que el tratamiento sin inoculación presentó el menor promedio con 22,43 hojas por tallo. En comparación con el testigo, T4 produjo un incremento aproximado de 44,1 %, evidenciando una respuesta favorable del crecimiento foliar a la inoculación microbiana. Ma et al. (2024) encontraron resultados concordantes al evaluar rizobacterias promotoras del crecimiento en alfalfa, señalando que la inoculación con las cepas HL6 y HG12 incrementó significativamente el número total de hojas durante la etapa de floración en comparación con el tratamiento control. Este efecto puede estar asociado con características promotoras del crecimiento de las rizobacterias, como la producción de ácido indolacético, solubilización de fósforo y actividad ACC-desaminasa, que favorecen el desarrollo vegetativo. En consecuencia, los resultados obtenidos indican que IsoGuard a 3,0 L/200 L de agua fue el tratamiento más favorable para incrementar el desarrollo foliar de la alfalfa en las condiciones del experimento.

4.4.7. Peso fresco de forraje por hectárea (t/ha)

Los resultados mostraron que el tratamiento T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L de agua) presentó el mayor peso fresco de forraje con 22,47 t/ha, superando en aproximadamente 13,9 % al testigo T0, que alcanzó 19,73 t/ha; mientras que T2 registró el menor rendimiento con 18,57 t/ha. Este comportamiento evidencia que la respuesta productiva de la alfalfa dependió del tipo y dosis del inoculante aplicado, siendo favorable la dosis baja de IsoGuard. Gao et al. (2023) encontraron que la inoculación conjunta de *Sinorhizobium meliloti* y *Enterobacter ludwigii* promovió el crecimiento de la alfalfa e incrementó significativamente su rendimiento y calidad, debido al mejor establecimiento de la simbiosis y actividad fijadora de nitrógeno. Estos

resultados concuerdan con la tendencia observada en la presente investigación, donde T3 obtuvo el mayor rendimiento de forraje fresco, aunque estadísticamente no se diferenció de T0 y T1 según la prueba de Tukey. Por tanto, la inoculación microbiana puede contribuir al aumento de la producción de biomasa de alfalfa, pero su efectividad está condicionada por la combinación microorganismo–dosis y las condiciones edafoclimáticas del cultivo.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos planteados y los resultados obtenidos se puede concluir que:

- Se concluye que los inoculantes microbianos produjeron respuestas diferenciadas en la fijación biológica de nitrógeno y en las características agronómicas de la alfalfa bajo las condiciones de Acolla–Jauja. Ningún tratamiento fue superior en todas las variables, evidenciándose que la respuesta dependió del tipo de inoculante y de la dosis aplicada.
- Respecto a la nodulación, T1 (Sea Isolates 1,5 L/200 L de agua) presentó el mayor número de nódulos con 29,67 nódulos/planta, mientras que T4 (IsoGuard 3,0 L) alcanzó el mayor peso nodular con 0,21 g/planta.
- En el contenido de nitrógeno, T1 (Sea Isolates 1,5 L) incrementó el nitrógeno del suelo de 0,21 a 0,45 %, constituyéndose en la respuesta más favorable después del primer corte; sin embargo, en las hojas el mayor valor correspondió al testigo con 4,66 %, seguido de T3 y T4 con 4,63 %.
- En el crecimiento y rendimiento, T3 (IsoGuard 1,5 L/200 L) alcanzó la mayor altura con 61,57 cm y el mayor peso fresco de forraje con 22,47 t/ha, mientras que T4 (IsoGuard 3,0 L) obtuvo el mayor número de hojas con 32,33 hojas/tallo. En consecuencia, IsoGuard 1,5 L mostró la respuesta más favorable para la producción de forraje, aunque estadísticamente su rendimiento no difirió de T0 y T1 según Tukey.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda a los agricultores de Acollla–Jauja y zonas con condiciones edafoclimáticas similares utilizar IsoGuard a 1,5 L/200 L de agua cuando el objetivo principal sea favorecer el crecimiento y la producción de forraje de alfalfa, debido a que este tratamiento alcanzó 61,57 cm de altura y 22,47 t/ha de forraje fresco.
- Para favorecer la nodulación y el contenido de nitrógeno del suelo, se recomienda considerar Sea Isolates a 1,5 L/200 L de agua, tratamiento que obtuvo 29,67 nódulos por planta y elevó el nitrógeno del suelo de 0,21 a 0,45 % después del primer corte. Su aplicación debe realizarse respetando la dosis y condiciones de manejo evaluadas en el experimento.
- Se recomienda evitar incrementar las dosis de los inoculantes sin una evaluación previa, ya que las dosis mayores no siempre produjeron mejores resultados; por ejemplo, IsoGuard a 3,0 L presentó menor rendimiento de forraje que la dosis de 1,5 L. Por ello, es conveniente realizar pequeñas parcelas de prueba antes de adoptar estos productos a mayor escala.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadi, H. S. K., Jalilian, J., & Zareian, A. (2020). Evaluation of meliloti rhizobium activity effectiveness on seed yield and yield components of mung bean. *Revista de la Facultad de Agronomía*. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7852477.pdf>
- Alaska (2015) Importadora de Semillas. Pastos de clima frío [Internet], [15 de marzo 2015]. http://www.imporalaska.com/26-semillas_de_pastos_de_frio.html 2015.
- Álvarez-Sánchez, E., Hernández-Garay, A., Vaquera-Huerta, H., Vaquera-Huerta, H., et al. (2014). Pérdidas de nitrógeno por lixiviación en una pradera mixta de alfalfa y pasto ovillo bajo pastoreo. *Terra Latinoamericana*, 32(3), 245–254. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802014000300014
- Ben-Laouane, R., Baslam, M., Ait-El-Mokhtar, M., Anli, M., Boutasknit, A., Ait-Rahou, Y., Toubali, S., Mitsui, T., Oufdou, K., Wahbi, S., & Meddich, A. (2020). Potential of native arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia, and/or green compost as alfalfa (*Medicago sativa*) enhancers under salinity. *Microorganisms*, 8(11), 1695. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111695>
- BuntiĆ, A. V., Stajković-Srbinović, O. S., Knežević, M. M., Kuzmanović, Đ. Ž., & DeliĆ, D. I. (2019). Development of liquid rhizobial inoculants and pre-inoculation of alfalfa seeds. *Archives of Biological Sciences*, 71(2), 379–387. <https://www.serbiosoc.org.rs/arch/index.php/abs/article/view/3503>
- Calizaya Limaco, C. del P. (2015). Influencia del arsénico y boro sobre la fijación biológica de nitrógeno entre *Sinorhizobium meliloti* y *Medicago sativa* (alfalfa) in vitro. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.
- Campillo, R., Urquiaga, S., Pino, I., & Montenegro, A. (2003). Estimación de la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas forrajeras mediante la metodología del ¹⁵N. *Agricultura Técnica (Chile)*, 63(2), 169–179. https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072003000200006

- Cangioli, L., Fagorzi, C., Vaccaro, F., Varriale, S., Amenta, M. L., Mengoni, A., Ingraffia, R., Lo Porto, A., Amato, G., Giambalvo, D., Sangaré, J. R., Defez, R., & Bianco, C. (2025). Soil bacteria and symbiotic rhizobia synergistically promote nitrogen fixation and biomass production of alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants even under water shortage conditions without altering the native rhizospheric microbiota. *Applied Soil Ecology*, 213, 106283. DOI: 10.1016/j.apsoil.2025.106283
- DB Organic Science S.A.C. (2026). IsoGuard. Organic Science. <https://organicscience.pe/producto/isoguard/>
- DB Organic Science S.A.C. (2026). Sea Isolates. Organic Science. <https://organicscience.pe/producto/sea-isolates/>
- Duarte, G. (2007). Fertilización de la alfalfa. Disponible: http://www.produccionbovina.com/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_cultivadas_alfalfa/53fertilizacion.pdf.
- EOS. (2023). Cultivo de alfalfa: siembra, cuidado y cosecha productivas. Recuperado de <https://eos.com/es/blog/cultivo-de-alfalfa/>
- Gallace, P., Barraco, M., & Peticari, A. (2022). Fijación biológica de nitrógeno e inoculación en leguminosas forrajeras. HorizonteA Digital.
- Gao, H., Yang, D., Yang, L., Han, S., Liu, G., Tang, L., Chen, J., Wang, D., & Guo, C. (2023). Co-inoculation with *Sinorhizobium meliloti* and *Enterobacter ludwigii* improves the yield, nodulation, and quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under saline-alkali environments. *Industrial Crops and Products*, 199, 116818. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.116818
- Gao, H., Yang, D., Yang, L., Han, S., Liu, G., Tang, L., Chen, J., Wang, D., & Guo, C. (2023). Co-inoculation with *Sinorhizobium meliloti* and *Enterobacter ludwigii* improves the yield, nodulation, and quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under saline-alkali environments. *Industrial Crops and Products*, 199, 116818. DOI: 10.1016/j.indcrop.2023.116818

- Gatabazi, A., Botha, M., & Mvondo-She, M. A. (2023). Assessing liquid inoculant formulation of biofertilizer (*Sinorhizobium meliloti*) on growth, yield, and nitrogen uptake of lucerne (*Medicago sativa*). *Nitrogen*, 4(1), 125–134. <https://doi.org/10.3390/nitrogen4010009>
- Guiñazú, L. B., Andrés, J. A., Del Papa, M. F., Pistorio, M., & Rosas, S. B. (2010). Response of alfalfa (*Medicago sativa* L.) to single and mixed inoculation with phosphate-solubilizing bacteria and *Sinorhizobium meliloti*. *Biology and Fertility of Soils*, 46(2), 185–190. DOI: 10.1007/s00374-009-0408-5
- Guzmán Duchén, D., & Quispe Choque, L. (2021). Interacción de bacterias y plantas en la fijación del nitrógeno. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(2), 87–100. <https://www.scielo.org.bo/pdf/riiarn/v8n2/2409-1618-riiarn-8-02-87.pdf>
- Han, Y., Kang, W., Shi, S., Guan, J., Du, Y., He, F., Lu, B., & Wang, M. (2024). Investigation of nitrogen fixation efficiency in diverse alfalfa varieties utilizing *Sinorhizobium meliloti* LL2. *Agronomy*, 14(11), 2732. <https://doi.org/10.3390/agronomy14112732>
- He, A., Shen, B., Yang, Y., Wang, T., Zhang, Y., & Li, A. (2026). Isolation, Identification, and Growth Promotion Effects of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Alfalfa. *Microorganisms*, 14(6), 1275. <https://doi.org/10.3390/microorganisms14061275>
- Herrera, A. (1990). Fijación simbiótica del nitrógeno en alfalfa. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- INFOAGRO. (2010). El cultivo de la Alfalfa. Disponible: <http://www.infoagro.com/herbaceos/forrajes/alfalfa>. Consultado 13 de julio 2017.
- Infoagro. 2015. (www.infoagro.com)
- Lara Schwartz, G. (2008). [Tesis sobre cultivo de alfalfa en la sierra central del Perú]. Universidad Nacional del Centro del Perú. <https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/2928/Lara%20Schwartz.pdf>

- Ma, X., Huang, C., Zhang, J., Pan, J., Guo, Q., Yang, H., & Xue, X. (2024). Comparative analysis of plant growth-promoting rhizobacteria's effects on alfalfa growth at the seedling and flowering stages under salt stress. *Microorganisms*, 12(3), 616. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030616>
- Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación biológica de nitrógeno. *Revista UDO Agrícola*, 4(1), 1–20. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2221548.pdf>
- Ministerio del Ambiente (MINAM). (2019). Línea de base de la alfalfa con fines de bioseguridad. Dirección General de Diversidad Biológica. https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2020/02/estudio_lb_alfalfa.pdf
- Noori, F., Etesami, H., Najafi Zarini, H., Khoshkholgh-Sima, N. A., Hosseini Salekdeh, G., & Alishahi, F. (2018). Mining alfalfa (*Medicago sativa* L.) nodules for salinity tolerant non-rhizobial bacteria to improve growth of alfalfa under salinity stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162, 129–138. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2018.06.092
- Olmo Nadal, D., & Ruiz, A. (2006). El cultivo de la alfalfa. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado de https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Ferti%5CFerti_2006_23_49_52.pdf
- Paniagua-López, M., Jiménez-Pelayo, C., Gómez-Fernández, G. O., Herrera-Cervera, J. A., & López-Gómez, M. (2023). Reduction in the use of some herbicides favors nitrogen fixation efficiency in *Phaseolus vulgaris* and *Medicago sativa*. *Plants*, 12(8), 1608. <https://www.ugr.es/~fijanitro/es/publicaciones.php>
- Ramos-Ulate, C. M., Madriz-Sandoval, L. A., & colaboradores. (2021). Biofertilización y nanotecnología en la alfalfa (*Medicago sativa* L.) como alternativas para un cultivo sustentable. *Cultivos Tropicales*, 42(3), 1–14. <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1594/html>

- Rodríguez, M. B. (2005). Impacto ambiental del uso de fertilizantes nitrogenados en la agricultura [Tesis de maestría]. Universidad de Buenos Aires.
https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n3905_Rodriguez.pdf
- Romero, N.; Comerón, E. y Ustarroz, E. (1995). La Alfalfa en la Argentina, INTA Cuyo, 150-170. Manejo Y Utilización De La Alfalfa.
- Saidi, S., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Silini, A., Eshelli, M., Luptakova, L., Alenezi, F. N., & Belbahri, L. (2021). Improvement of *Medicago sativa* crops productivity by the co-inoculation of *Sinorhizobium meliloti*–*Actinobacteria* under salt stress. *Current Microbiology*, 78, 1344–1357. DOI: 10.1007/s00284-021-02394-z
- Sofoval. (2014). Origen de la Alfalfa. Recuperado de
<https://www.sofoval.com/media/2014/08/ALFALFA-Sofoval-2014-pdf2.pdf>
- TERRANOVA, E. 2001, Enciclopedia Agropecuaria Ecológica. 2a ed. Bogotá, Colombia. Edit. KLimonar. pp. 12 - 29
- TodoAgro. (2025). Alfalfa, un cultivo con historia. Recuperado de
<https://www.todoagro.com.ar/alfalfa-un-cultivo-con-historia/>
- Wei, W., Wu, S., Zhang, X., et al. (2023). Long-term fertilization coupled with rhizobium inoculation alters soil properties and enhances legume productivity. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1161983.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2023.1161983/full>.
- Wu, Y., Li, Y., Deng, Q., Zhao, X., Qiu, C., Xia, S., Feng, Y., Zhang, X., & Liu, H. (2022). Promotion effect of AM fungi and rhizobia co-inoculations on alfalfa (*Medicago sativa* L.) growth. *Rhizosphere*, 22, 100537. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100537>
- Yang, X., Xie, Y., Qiao, Y., Chang, F., Wang, T., Li, J., Wu, L., Li, C., & Gao, Y. (2024). Drought stress tolerance and metabolomics of *Medicago sativa* induced by *Bacillus amyloliquefaciens* DGL1. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1378707. DOI: 10.3389/fpls.2024.1378707

ANEXOS

Instrumentos para recolección de datos

- Fichas de evaluación para recojo de datos
- Dispositivos mecánicos y electrónicos
- Cuaderno de campo
- USB, Celulares
- Cámara fotográfica
- Balanzas
- Wincha y vernier
- Software estadísticos como Excel e Infostat
- Observación y entrevista como técnicas para recojo de la información.
- Suposiciones o ideas
- Métodos de recolección de datos: métodos analíticos y métodos cuantitativos.

Análisis de suelos



Instituto Nacional de Innovación Agraria

INFORME DE ENSAYO LABSAF SANTA ANA N° N°020851-26NA / SU / SA

I. INFORMACIÓN GENERAL

Cliente	: BARZOLA ROJAS, NATALY RAYMUNDA
Propietario / Productor	: BARZOLA ROJAS, NATALY RAYMUNDA
Dirección del cliente	: ACOLLA-JAUJA-JUNÍN
Solicitado por	: BARZOLA ROJAS, NATALY RAYMUNDA
Muestreado por	: Cliente
Referencia del muestreo	: Reservado por el cliente
Procedencia de muestra(s) (***)	: ACOLLA-JAUJA-JUNÍN
Fecha(s) de muestreo (****)	: 2026-01-12
Fecha de recepción de muestra(s)	: 2026-01-12
Lugar de ensayo	: LABSAF SANTA ANA
Fecha(s) de análisis	: 026-02-10
Cotización del servicio	: 005-26-SA

II. RESULTADO DE ANÁLISIS

ÍTEM	1	2	3	4	5	6
Código de Laboratorio	SU0005-SA-26	-	-	-	-	-
Matriz Analizada	Suelo	-	-	-	-	-
Fecha de Muestreo (***)	2026-01-12	-	-	-	-	-
Hora de Inicio de Muestreo (h) (**)	9:00	-	-	-	-	-
Código/Identificación de la Muestra por el Cliente (***)	T - 01	-	-	-	-	-
Ensayo	Unidad	LC	Resultados			
Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/g	0.50	208	-	-	-
LECO CNS 928	%	-	0.208	-	-	-



Red de Laboratorios de Suelos, Aguas y Foliaves
Acreditado con la Norma
NTP-ISO/IEC 17025:2017

LABSAF Santa Ana

Dirección: Carretera Saños Grande-Hualahoyo km 08 Santa Ana, El Tambo, Huancayo
Email: labsafsantaana@inia.gob.pe

F-46 / Ver.07
www.inia.gob.pe

INFORME DE ENSAYO

LABSAF SANTA ANA

N° 043302-26NA / SU / SA

I. INFORMACIÓN GENERAL

Cliente : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Propietario / Productor : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Dirección del cliente : JAUJA
 Solicitado por : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Muestreado por : CLIENTE
 Referencia del muestreo : Reservado por el cliente
 Procedencia de muestra(s) (***) : JUNIN-JAUJA-ACOLLA
 Fecha(s) de muestreo (***) : 2026-03-27
 Fecha de recepción de muestra(s) : 2026-03-30
 Lugar de ensayo : LABSAF SANTA ANA
 Fecha(s) de análisis : 2026-04-09
 Cotización del servicio : 084-26-SA

II. RESULTADO DE ANÁLISIS

ÍTEM	1	2	3	4	5	6		
Código de Laboratorio	SU0830-SA-26	SU0831-SA-26	SU0832-SA-26	SU0833-SA-26	SU0834-SA-26	SU0835-SA-26		
Matriz Analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo		
Fecha de Muestreo (***)	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27		
Hora de Inicio de Muestreo (h) (***)	9:00	9:10	9:20	9:27	9:35	9:43		
Código/Identificación de la Muestra por el Cliente (***)	T0B1	T0B2	T0B3	T1B1	T1B2	T1B3		
Ensayo	Unidad	LC	Resultados					
Nitrógeno Total	%	-	0.25	0.20	0.46	0.825	0.386	0.152

LABORATORIOS DE SUELOS, AGUAS Y FOLIARES

INFORME DE ENSAYO

LABSAF SANTA ANA

N° 043303-26NA / SU / SA

I. INFORMACIÓN GENERAL

Cliente : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Propietario / Productor : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Dirección del cliente : JAUJA
 Solicitado por : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Muestreado por : CLIENTE
 Referencia del muestreo : Reservado por el cliente
 Procedencia de muestra(s) (***) : JUNIN-JAUJA-ACOLLA
 Fecha(s) de muestreo (***) : 2026-03-27
 Fecha de recepción de muestra(s) : 2026-03-30
 Lugar de ensayo : LABSAF SANTA ANA
 Fecha(s) de análisis : 2026-04-09
 Cotización del servicio : 084-26-SA

II. RESULTADO DE ANÁLISIS

ITEM	1	2	3	4	5	6		
Código de Laboratorio	SU0836-SA-26	SU0837-SA-26	SU0838-SA-26	SU0839-SA-26	SU0840-SA-26	SU0841-SA-26		
Matriz Analizada	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo	Suelo		
Fecha de Muestreo (***)	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27		
Hora de Inicio de Muestreo (h) (***)	9:54	10:04	10:15	10:26	10:34	10:44		
Código/Identificación de la Muestra por el Cliente (***)	T2B1	T2B2	T2B3	T3B1	T3B2	T3B3		
Ensayo	Unidad	LC	Resultados					
Nitrógeno Total	%	-	0.24	0.21	0.18	0.161	0.215	0.377

LABORATORIOS DE SUELOS, AGUAS Y FOLIARES

INFORME DE ENSAYO
LABSAF SANTA ANA
N° 043304-26NA / SU / SA

I. INFORMACIÓN GENERAL

Cliente : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Propietario / Productor : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Dirección del cliente : JAUJA
 Solicitado por : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Muestreado por : CLIENTE
 Referencia del muestreo : Reservado por el cliente
 Procedencia de muestra(s) (***) : JUNIN-JAUJA-ACOLLA
 Fecha(s) de muestreo (***) : 2026-03-27
 Fecha de recepción de muestra(s) : 2026-03-30
 Lugar de ensayo : LABSAF SANTA ANA
 Fecha(s) de análisis : 2026-04-09
 Cotización del servicio : 084-26-SA

II. RESULTADO DE ANÁLISIS

ITEM	1	2	3	4	5	6
Código de Laboratorio	SU0842-SA-26	SU0843-SA-26	SU0844-SA-26	-	-	-
Matriz Analizada	Suelo	Suelo	Suelo	-	-	-
Fecha de Muestreo (***)	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	-	-	-
Hora de Inicio de Muestreo (h) (***)	10:56	11:08	11:20	-	-	-
Código/Identificación de la Muestra por el Cliente (***)	T4B1	T4B2	T4B3	-	-	-
Ensayo	Unidad	LC	Resultados			
Nitrógeno Total	%	-	0.13	0.34	0.19	-

LABORATORIOS DE SUELOS, AGUAS Y FOLIARES

INFORME DE ENSAYO

LABSAF SANTA ANA

N° 050001-26NA / FO / SA

I. INFORMACIÓN GENERAL

Cliente : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Propietario / Productor : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Dirección del cliente : JAUJA
 Solicitado por : BARZOLA ROJAS NATALY RAYMUNDA
 Muestreado por : CLIENTE
 Referencia del muestreo : Reservado por el cliente
 Procedencia de muestra(s) (***) : JUNIN-JAUJA-ACOLLA
 Fecha(s) de muestreo (***) : 2026-03-27
 Fecha de recepción de muestra(s) : 2026-03-30
 Lugar de ensayo : LABSAF SANTA ANA
 Fecha(s) de análisis : 2026-04-09
 Cotización del servicio : 085-26-SA

II. RESULTADO DE ANÁLISIS

ITEM	1	2	3	4	5	6
Código de Laboratorio	FO0001-SA-26	FO0002-SA-26	FO0003-SA-26	FO0004-SA-26	FO0005-SA-26	-
Matriz Analizada	Foliare	Foliare	Foliare	Foliare	Foliare	-
Fecha de Muestreo (***)	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	2026-03-27	-
Hora de Inicio de Muestreo (h) (***)	9:00	9:10	9:20	9:30	9:36	-
Código/Identificación de la Muestra por el Cliente (***)	T0	T1	T2	T3	T4	-
Ensayo	Unidad	LC	Resultados			
Nitrógeno Total	%	-	4.66	4.41	4.19	4.63

LABORATORIOS DE SUELOS, AGUAS Y FOLIARES

INFORME DE ENSAYO
LABSAF SANTA ANA
N° 050001-26NA / FO / SA

III. METODOLOGÍA DE ENSAYO

ENSAYO	NORMA DE REFERENCIA
Nitrógeno Total	ISO 13878:1998, First Edition 1998 Soil Quality - Determination of total nitrogen by dry combustion (elemental analysis)

IV. CONSIDERACIONES

- Este informe no puede ser reproducido total, ni parcialmente sin la autorización de LABSAF y del cliente.
- Los resultados se relacionan solamente con los ítems sometidos a ensayo
- Los resultados se aplican a las muestras, tales como se recibieron
- Este documento es válido sólo para el producto mencionado anteriormente.
- El Laboratorio no es responsable cuando la información proporcionada por el cliente pueda afectar la validez de los resultados.
- Medición de pH realizada a 25 °C.
- Medición de Conductividad Eléctrica realizada a 25 °C.

(***) Este dato ha sido proporcionado por el cliente, por lo que el laboratorio no es responsable de dicha información.

V. AUTORIZACIÓN DEL INFORME DE ENSAYO

- El presente Informe de ensayo ha sido autorizado por: Ing Lidiana Alejandro Mendez - Responsable de Laboratorio del LABSAF - SANTA ANA



LABSAF



Firmado digitalmente por:
ALEJANDRO MENDEZ LIDIANA RENE FAU
20131365994 upe
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 04/05/2026 14:26:46-0500

LABORATORIOS DE SUELOS, AGUAS Y FOLIARES

Firma

FIN DE INFORME DE ENSAYO

Número de nódulos por planta			
	Bloque1	Bloque2	Bloque3
T0-SinInoculantes	18	15	16
T1-Sealsolates1.5L	30	28	31
T2-Sealsolates3.0L	20	22	25
T3-IsoGuard1.5L	17	15	19
T4-IsoGuard3.0L	23	25	24

Peso de nódulos (g/plata)			
	Bloque1	Bloque2	Bloque3
T0-SinInoculantes	0.14	0.15	0.13
T1-Sealsolates1.5L/200LH2O	0.16	0.21	0.18
T2-Sealsolates3.0L/200LH2O	0.12	0.13	0.16
T3-IsoGuard1.5L/200LH2O	0.10	0.11	0.12
T4-IsoGuard3.0L/200LH2O	0.21	0.23	0.18

ANALISIS DE SUELO y FOLIAR							
	Bloque1	Bloque2	Bloque3	Promedio	N-inicial	Incremento	FOLIAR
T0-SinInoculantes	0.25	0.20	0.46	0.30	0.21	0.09	4.66
T1-Sealsolates1.5L	0.83	0.39	0.15	0.45	0.21	0.25	4.41
T2-Sealsolates3.0L	0.24	0.21	0.18	0.21	0.21	0.00	4.19
T3-IsoGuard1.5L	0.16	0.22	0.38	0.25	0.21	0.04	4.63
T4-IsoGuard3.0L	0.13	0.34	0.19	0.22	0.21	0.01	4.63

ALTURA DE PLANTA A LOS 65 DIAS (cm)													
	BLOQUE I				BLOQUE II				BLOQUE III				
	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PROM.	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PROM	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PROM	
T1-Sealsolates1.5L/200LH2O	53	52	55	53.3	54	53	55	54.0	52	54	51	52.3	
T2-Sealsolates3.0L/200LH2O	59	61	58	59.3	60	58	61	59.7	57	56	57	56.7	
T3-IsoGuard1.5L/200LH2O	61	59	57	59.0	60	61	59	60.0	50	53	53	52.0	
T4-IsoGuard3.0L/200LH2O	63	61	64	62.7	62	64	64	63.3	59	58	59	58.7	
T0-SinInoculantes	54	51	53	52.7	50	53	53	52.0	52	50	51	51.0	

N° de hojas/Planta primer corte													
	BLOQUE I				BLOQUE II				BLOQUE III				
	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PROM.	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PROM	PLANTA 1	PLANTA 2	PLANTA 3	PROM	
T0-SinInoculantes	23	21	22	22.0	23	23	24	23.3	24	21	21	22.0	
T1-Sealsolates1.5L/200LH2O	23	24	25	24.0	29	26	22	25.7	24	22	23	23.0	
T2-Sealsolates3.0L/200LH2O	27	28	27	27.3	30	28	28	28.7	29	27	26	27.3	
T3-IsoGuard1.5L/200LH2O	27	26	26	26.3	29	27	27	27.7	28	26	26	26.7	
T4-IsoGuard3.0L/200LH2O	31	33	31	31.7	34	32	33	33.0	34	31	32	32.3	

PESO FRESCO POR M2 PRIMER CORTE (Kilogramos)						
	BLOQUE I		BLOQUE II		BLOQUE III	
	Evaluacion 1	promedio	evaluacion 1	promedio	evaluacion 1	promedio
T0-SinInoculantes	1.906	1.91	2.001	2.00	2.01	2.01
T1-Sealsolates1.5L/200LH2O	2.048	2.05	1.86	1.86	1.920	1.92
T2-Sealsolates3.0L/200LH2O	1.702	1.70	2.040	2.04	1.832	1.83
T3-IsoGuard1.5L/200LH2O	2.280	2.28	2.196	2.20	2.261	2.26
T4-IsoGuard3.0L/200LH2O	2.006	2.01	1.826	1.83	1.931	1.93

Panel fotográfico



Ilustración 1 Enmarcado del terreno



Ilustración 2 Preparado de los inoculantes para ser aplicado en campo



Ilustración 3 Aplicación en campo de diversas dosis de los inoculantes



Ilustración 4 Evaluación de altura de planta



Ilustración 5 Enmarcado de la muestra (1x1) de cada tratamiento



Ilustración 6 Cosecha y corte de las muestras

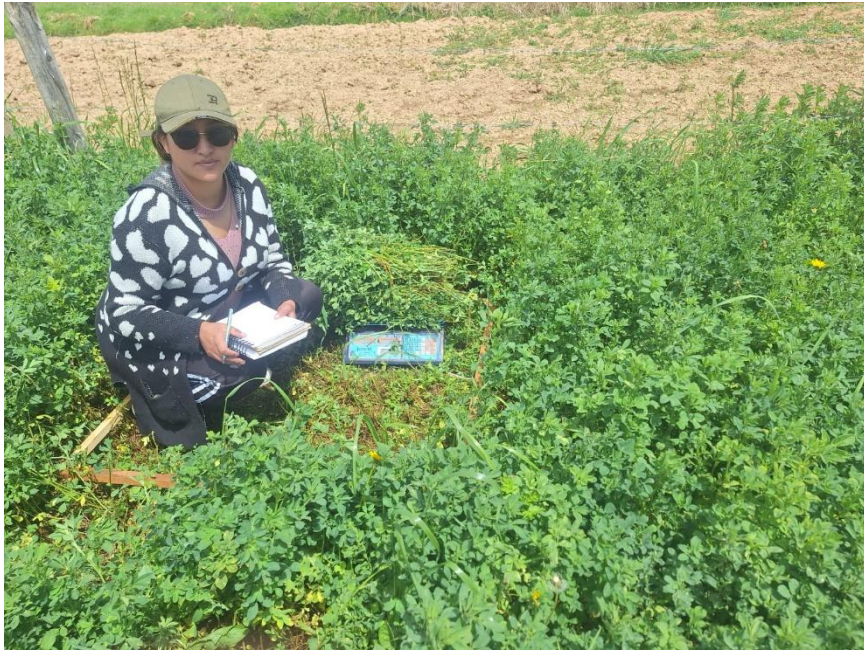


Ilustración 7 Pesado de las muestras cosechadas



Ilustración 8 Caracterización física de la planta por planta al azar