

**UNIVERSIDAD NACIONAL SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

ESCUELA DE POSGRADO

**UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA DE MINAS,
GEOLOGÍA Y CIVIL**



TESIS

Efecto de la Co-inoculación, *Sinorhizobium-Azospirillum* y Encalado del suelo en la Producción Sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Llachoccmayo, Ayacucho a 3814 msnm.

Para obtener el grado académico de

Maestro en Ciencias de la Ingeniería, Mención Gerencia de Proyectos y Medio Ambiente.

Presentado por

Bach. Muñoz Guzman, John Wilmer

Asesor

Dr. Palomino Malpartida, Ramiro

AYACUCHO-PERÚ

2022

A mi madre Delia Guzmán Aldonate.

A mis hermanos: Richard, Nancy,
William y Jack Muñoz.

A mis sobrinos; Kevin, Andres,
Antony, Venus, Coralie, Yoshua,
Sthefany y Flavio Muñoz.

Agradecimientos

- A la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, escuela de Posgrado, Alma mater de mi formación profesional.
- Al Dr. Ramiro Palomino Malpartida por su asesoramiento, guía y conducción en el presente trabajo de investigación.
- Al Dr. Cayo García-Blásquez Morote, por su asesoramiento y valioso aporte en el presente trabajo de investigación.
- Al Dr. Jaime Alberto Huamán Montes por sus valiosas enseñanzas.
- A todos mis maestros por haberme inculcado valores y conocimientos que facilitaron el desarrollo del presente trabajo.
- A la ing. Susan Alarcón Romani, por su gran colaboración en el desarrollo del presente trabajo.
- A mi novia Diana Méndez Castillo.
- A mis compañeros Erika Santiago y Milagros Lonazco.
- A la señora Amadea Escalante por su apoyo incondicional.
- De igual forma expreso mi gratitud a todas aquellas personas que me brindaron su apoyo y colaboración incondicional en todo el proceso del presente trabajo de investigación.

Efecto de la Co-inoculación, *Sinorhizobium-Azospirillum* y Encalado del suelo en la Producción Sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Llachoccmayo, Ayacucho a 3814 msnm.

Resumen

La inoculación de las semillas antes de la siembra es una labor cultural muy importante para el buen crecimiento, desarrollo y producción del cultivo. **Objetivo.** Evaluar la eficiencia de la co-inoculación *Sinorhizobium-Azospirillum* y el encalado en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm. **Materiales y métodos.** Para determinar una producción sostenible del cultivo se evaluaron tres variables **1) Rendimiento:** en el cual se evaluaron dos parámetros; peso de la materia seca; evaluada en el estado 5 (floración) y número de cortes por año. **2) Calidad:** se evaluaron tres parámetros; relación Hoja/Tallo, intensidad de color de hojas; usando el programa ImageJ y contenido de proteína bruta; muestras que fueron analizadas de acuerdo a la *Association of Official Analytical Chemists* **3) Implantación:** donde se evaluaron tres parámetros; cobertura la cual fue evaluada 20 días después de la siembra, área foliar calculada con el programa ImageJ y resistencia a heladas calculada diseñando una tabla por la metodología de Likert. Para determinar el efecto de la co-inoculación se siguió la metodología de Somasegaran & Hoben (1985). Los datos obtenidos fueron procesados en los programas de Minitab 17, e INFOSTAT. Realizando ANOVAS, Pruebas Post hoc (Tukey), contrastes ortogonales, regresiones múltiples y escala de Likert, según la naturaleza de los datos. **Resultados.** La aplicación de *Shinorhizobium* y *Azospirillum* en el momento de la siembra ayudó en la inoculación efectiva, calidad, implantación y rendimiento del cultivo de alfalfa. **Conclusión.** Se concluye que la co-inoculación con *Sinorhizobium-Azospirillum* y el encalado del suelo incrementan la producción de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en la comunidad de Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho.

Effect of Co-inoculation, *Sinorhizobium-Azospirillum* and Liming of the soil in the Sustainable Production of varieties of alfalfa (*Medicago sativa*, L.) in Llachoccmayo, Ayacucho a 3814 msnm.

Abstract

The inoculation of the seeds before sowing is a very important cultural work for the good growth, development and production of the crop. **Objective.** To evaluate the efficiency of *Sinorhizobium-Azospirillum* co-inoculation and liming in the sustainable production of alfalfa varieties (*Medicago sativa*, L.) in Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho at 3814 msnm. **Materials and methods.** To determine a sustainable production of the crop, three variables were evaluated **1) Yield:** in which two parameters were evaluated; dry matter weight; evaluated in stage 5 (flowering) and number of cuts per year. **2) Quality:** three parameters were evaluated; Leaf/Stem ratio, leaf color intensity; using ImageJ program and crude protein content; samples that were analyzed according to the Association of Official Analytical Chemists **3) Implementation:** where three parameters were evaluated; coverage which was evaluated 20 days after sowing, leaf area calculated with the ImageJ program and resistance to frost calculated by designing a table by the Likert methodology. To determine the effect of co-inoculation, the methodology of Somasegaran & Hoben (1985) was followed. The data obtained were processed in the Minitab 17 and INFOSTAT programs. Carrying out ANOVAS, Post hoc Tests (Tukey), orthogonal contrasts, multiple regressions and Likert scale, depending on the nature of the data. **Results.** The application of *Sinorhizobium* and *Azospirillum* at the time of sowing helped in the effective inoculation, quality, implantation and yield of the alfalfa crop. **Conclusion.** It is concluded that co-inoculation with *Sinorhizobium-Azospirillum* and liming the soil increase the production of alfalfa varieties (*Medicago sativa*, L.) in the community of Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	13
CAPÍTULO I	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
1.1 Descripción de la realidad problemática	15
1.1.1 Definición del problema	15
1.2 Formulación del problema	16
1.2.1 Problema general	16
1.2.2 Problemas específicos	16
1.3 Objetivos de la investigación	16
1.3.1 Objetivo general	16
1.3.2 Objetivos específicos	17
1.4 Justificación	17
1.5 Importancia	17
CAPÍTULO II	19
MARCO TEÓRICO	19
2.1 Marco referencial	19
2.1.1 Antecedentes de la investigación	19
2.2 Marco conceptual	21
2.2.1 Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L.)	21
2.2.2 Variedades	21
2.2.3 Rendimiento	23
2.2.4 Calidad	23
2.2.5 Adaptación	23
2.2.6 Inoculación	24
2.2.7 Coinoculación	24
2.2.8 <i>Sinorhizobium meliloti</i>	24
2.2.9 <i>Azospirillum</i>	25
2.2.10 Encalado	25
2.2.11 Dolomita	25
2.3 Hipótesis de la investigación	26
2.3.1 Hipótesis general	26
2.3.2 Hipótesis Específicos	26
CAPÍTULO III	27
METODOLOGÍA	27
3.1 Tipo de Investigación	27
3.1.1 Tipo de investigación	27
3.1.2 Nivel de investigación	27
3.2 Método	27
3.3 Diseño de investigación	27
3.4 Desarrollo del experimento	27

3.4.1 Ubicación	27
3.5 Diseños estadísticos usados	28
3.5.1 Modelo de parcelas subdivididas	28
3.5.2 Descripción de los tratamientos	29
3.5.3 Croquis del campo experimental	30
3.5.4 Descripción del campo experimental	31
3.5.5 Modelo de parcelas subdivididas	32
3.5.6 Contrastes ortogonales	32
3.7 Variables	34
3.7.1 Variables Independientes	34
3.7.2 Variable dependiente	34
3.8 Metodología para la Evaluación de las variables	35
3.8.1 Rendimiento	35
3.8.2 Calidad	35
3.8.3 Implantación	37
3.8.4 Co-inoculación	38
3.9 Evaluación económica	40
3.10 Instalación y conducción del experimento	40
3.10.1 Limpieza del terreno	40
3.10.2 Preparación del terreno	40
3.10.3 Análisis de semilla, densidad de siembra, universo, población, muestra y muestreo.	41
3.10.4 Trazado y delimitación del terreno	42
3.10.5 Colocación de letreros	42
3.10.6 Cálculo de abonamiento de fondo y dolomita.	43
3.10.7 Siembra	46
3.10.8 Deshierbos y aporques	48
3.10.9 Riego	50
3.10.10 Control Fitosanitario	53
CAPÍTULO IV	54
RESULTADOS	54
CONCLUSIONES	90
RECOMENDACIONES	91
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
ANEXOS	97

Índice de tablas

Tabla 1. Contrastes ortogonales planteados para el análisis de datos	32
Tabla 2. Operación de las variables.....	34
Tabla 3. Transformación de RGB a escala de grises	36
Tabla 4. Escala diseñada para evaluar la intensidad de color de las hojas de alfalfa.	36
Tabla 5. Tabla diseñada para determinar la calidad proteica de la alfalfa.....	37
Tabla 6. Escala utilizada para puntuar la efectividad de la nodulación.....	40
Tabla 7. Cálculos de semilla a utilizar por variedad	41
Tabla 8. Cálculo del número de plantas por tratamiento.	41
Tabla 9. Características físicas y químicas del suelo	43
Tabla 10. Valores tomados para f1, f2 y f3	44
Tabla 11. Cálculo de extracción del cultivo	44
Tabla 12. Cantidad de fertilizantes usados.	45
Tabla 13. Cálculo de dolomita a usar en el experimento	46
Tabla 14. Cálculo de Evapotranspiración por el método de Thornthwaite	50
Tabla 15. Horas de riego por día en los meses con déficit de lluvias.....	52
Tabla 16: Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para el Peso Seco de nódulos con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	54
Tabla 17. Determinación de la efectividad de la nodulación en alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L.) con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i>	57
Tabla 18. Escala utilizada para puntuar la efectividad de la nodulación por su localización en las raíces.....	58
Tabla 19. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para el Peso Seco de raíces con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	59
Tabla 20. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas para el área foliar, con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	61
Tabla 21. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para la cobertura con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	64
Tabla 22. Determinación de la resistencia a heladas en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	67

Tabla 23. Escala diseñada con la metodología de Likert para la puntuación de resistencia a heladas en tallos y hojas	68
Tabla 24. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para la relación hoja/tallo con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	70
Tabla 25. Determinación de la intensidad de color de hojas en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).....	74
Tabla 26. Escala diseñada con la metodología de Likert para la puntuación de intensidad de color de hojas	75
Tabla 27. Determinación del contenido de proteínas en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	77
Tabla 28. Tabla diseñada con la metodología de Likert, siguiendo la puntuación de contenido proteico hecha por (Ramos, 1995).	78
Tabla 29. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para la variable rendimiento con <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	80
Tabla 30. Tratamientos efectivos en los ítems; Peso Seco de Nódulos, Ubicación de los Nódulos y peso seco de las raíces para verificar la eficiencia de la Inoculación.	84
Tabla 31. Tratamientos efectivos en los ítems; Cobertura, Área Foliar y Resistencia a Heladas, para verificar la eficiencia de la Implantación.	85
Tabla 32. Búsqueda de la mejor ecuación de regresión múltiple	87
Tabla 33. Rentabilidad anual por la venta de la alfalfa.....	88

Índice de figuras

Figura 1. Diseño para evaluación de cobertura.	37
Figura 2. Muestreo realizado en campo	42
Figura 3. Determinación del riego anual para el cultivo de la alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L). 51	
Figura 6. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores Encalado*Tratamientos debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA..56	
Figura 7. Prueba de Tukey al 95% de confianza para el factor Tratamiento debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA.	60
Figura 8. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Variedad x Tratamiento x Encalado) debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA.	63
Figura 9. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Encalado x Variedad x Tratamiento) debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA	66
Figura 10. Resistencia a heladas de hojas y tallos de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	68
Figura 11. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores Encalado x Tratamiento debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA .71	
Figura 12. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Variedad x Tratamiento) debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA.	72
Figura 13. Intensidad de color de hojas en variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).....	75
Figura 14. Contenido proteico en variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L).	78
Figura 15. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Encalado x Variedad x Tratamiento) debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA.....	83
Figura 16. Regresión múltiple con mejor predicción	87

Índice de anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia.....	99
Anexo 2. Operacionalización de las variables	100
Anexo 3. Costo de instalación de una hectárea de alfalfa.....	101
Anexo 4. Costo de mantenimiento de la alfalfa (<i>Medicago sativa</i> , L.)	102
Anexo 5. Ubicación del experimento.....	103
Anexo 6. Análisis de suelo.....	104
Anexo 7. Análisis de proteína.....	105
Anexo 8. Semilla certificada.....	106
Anexo 9. Peso de la semilla en balanza de precisión.....	106
Anexo 10. Inoculante turfoso con bacterias de <i>Shinorhizobium</i> , obtenido del laboratorio AD-205 Horticultura y semillas UNSCH.	107
Anexo 11. Inoculante líquido con bacterias de <i>Azospirillum</i> . obtenido del laboratorio AD-205 Horticultura y semillas UNSCH.	107
Anexo 12. Semillas pelletizadas listas para la siembra.....	108
Anexo 13. BIOZYME.....	108
Anexo 14. Encalado del suelo (Dolomita).....	109
Anexo 15. Encalado del suelo culminado.....	109
Anexo 16. Siembra.....	110
Anexo 17. Emergencia.....	110
Anexo 18. Emergencia en todo el campo	110
Anexo 19. Evaluación de la cobertura	111
Anexo 20. Evaluación de nodulación	112
Anexo 21. Deshierbo	113
Anexo 22. Riego por aspersión.....	114
Anexo 23. Corte de nivelación.....	115
Anexo 24. Inicio de floración y evaluación de rendimiento.....	116
Anexo 25. Evaluación del área foliar.....	118
Anexo 26. Evaluación de rendimiento.....	119
Anexo 27. Midiendo la intensidad de color con ImageJ.....	120
Anexo 28. Simbiosis <i>Shinorhizobium</i> - planta.....	121

Lista de símbolos, acrónimos y abreviaturas

- N = Nitrógeno
- P = Fósforo
- K = Potasio
- CE = Conductividad eléctrica
- pH = potencial de hidrógeno
- CIC = Capacidad de intercambio catiónico.
- VF = Variedad Francesa (variedad comercial de alfalfa)
- W-350 = Variedad comercial de alfalfa
- W-450 = Variedad comercial de alfalfa
- Shin = *Shinorhizobium meliloti*
- Azos = *Azospirillum sp.*
- ANOVA = Análisis de la variancia
- PH = BIOZYME
- E = Encalado
- SE = Sin encalar
- RHT = Relación hoja tallo
- CP = Contenido de proteína

Introducción

Las leguminosas poseen la capacidad de fijar el N_2 del medio ambiente. Al ser el N un elemento deficiente en la mayor parte de los suelos en el mundo, las leguminosas ayudan así a la nutrición de los cultivos que no poseen esta capacidad (Hesterman, 1988; Kelling et al., 1993). Existe un gran grupo de bacterias, llamadas "rhizobia", en las cuales se halla el *Shinorhizobium meliloti*, el cual induce la formación de nódulos en las raíces de las plantas de la familia Leguminosae y los infecta (Giller, 2001). Se produce así una simbiosis (intercambio) en el cual las bacterias contenidas en los nódulos son capaces de fijar el nitrógeno atmosférico (N_2) y la planta le otorga ATP a los nódulos para su alimentación (Morot-Gaudry, 1997). El mecanismo de infección de esta simbiosis es complejo. Las bacterias que se encuentran en la rizosfera de la planta huésped son atraídas por quimiotropismo hacia la base de las raíces. Las plantas que requieren la simbiosis exudan por las raíces flavonoides e isoflavonoides (Giller, 2001), que estimulan la expresión de los genes bacterianos llamados "nod" que están implicados en el establecimiento rápido de la simbiosis. Estos genes codifican los enzimas específicos, los "factores Nod". Estas moléculas bacterianas que son específicas de la especie hospedera, inducen a la formación de nódulos en las raíces de la planta (Morot-Gaudry, 1997). Una vez formado los nódulos, las bacterias penetran en los nódulos desde el inicio de su formación (por los pelos radiculares, heridas o células epiteliales) y se transforma en bacteroide (Giller, 2001), que es capaz de reducir el N_2 atmosférico en amoníaco (NH_4) el cual asimilará la planta en forma de glutamina y glutamato. Si estos se producen continuamente se formarán nódulos indeterminados y alargados en caso del alfalfa y si son de corta duración, son determinados y esféricos caso de la judía, soja, etc. (Trinchant et al., 1997). Los nódulos están activos por algunas semanas, mientras aparecen sucesivamente nuevos nódulos. Por lo general tienen un color rojizo-rosado, debido a la presencia de leghemoglobina-bine-hemoproteína en su centro, esta característica permite distinguir los nódulos activos de los ineficientes. Para una excelente fijación biológica de N_2 debe estar presente el oxígeno, agua y células huésped en moléculas carbonatadas con riqueza en energía (Morot-Gaudry, 1997). También se requiere al principio una

cantidad de nitratos disponibles en el suelo para subsanar la falta de N durante la infección de los nódulos (Trinchant et al., 1997).

La co-inoculación en especies de leguminosas con bacterias gram negativas del género *Rhizobium* y *Azospirillum*, producen un incremento importante en la formación de nódulos, fijación de N₂ y desarrollo radicular los cuales inciden directamente en una mayor cantidad de absorción de agua y nutrientes y por ende el incremento del rendimiento. (Ferlini, 2006) ya que el *Rhizobium* fijará el nitrógeno atmosférico y disminuirá el uso de fertilizantes químicos nitrogenados que degrada los suelos, y el *Azospirillum* que ayuda en la formación de hormonas como son la giberelina, auxinas y citoquininas, etc.

En las zonas altas de Ayacucho existen dificultades para la siembra de la alfalfa debido a factores climáticos adversos, pH ácido del suelo y falta de inoculación de las semillas. Por eso la pregunta central del trabajo es ¿Influirán la co-inoculación con bacterias *Sinorhizobium* y *Azospirillum* como bacterias promotoras del crecimiento vegetal y el encalado del suelo para incrementar el pH del suelo, en la producción sostenible de variedades de alfalfa? El cual tiene como objetivo general evaluar la eficiencia de la co-inoculación *Sinorhizobium- Azospirillum* y encalado del suelo en el rendimiento de las variedades de alfalfa.

Para llevar a cabo el estudio, el trabajo se ha estructurado en 4 capítulos. En el capítulo I “planteamiento del problema”, se efectúa detalles de la problemática del cultivo. En el capítulo II “marco teórico”, se detallan los antecedentes, conceptos de las variables y teorías actuales. En el capítulo III “Metodología” se desarrolla el diseño, técnicas e instrumentos, muestreo y procesamiento estadístico. En el capítulo IV “resultados”, se muestra el proceso de los datos y obtención de los resultados.

Capítulo I

Planteamiento del problema

1.1 Descripción de la realidad problemática

1.1.1 Definición del problema

En las alturas de la ciudad de Ayacucho (3500-4000 msnm) existen pastizales como el Rye Grass asociado a leguminosas como el trébol, los cuales se desarrollan bien y con una producción aceptable para la alimentación de los animales de la zona, la deficiencia de estas es que no contienen un porcentaje alto de proteínas. La alfalfa es la reina de las leguminosas por su contenido proteico que puede alcanzar un 20-30% en su contenido de materia seca (Albán, 1992) , por lo que su cultivo es indispensable en muchas zonas para la alimentación de diversidad de animales como ganado vacuno y animales menores (conejos, cuyes, etc.), sin embargo en las zonas altas existe poco o nada de alfalfa cultivada, debido a factores como: falta de variedades resistentes a la altura, temperaturas muy bajas que limitan el crecimiento normal, la acides del suelo (pH bajo de 4 a 6), deficiencia del agua, desconocimiento del uso de Microorganismos Promotores del Crecimiento Vegetal que ayudan a fijar nitrógeno y disminuyen el uso indiscriminado de fertilizantes químicos nitrogenados (urea, nitrato de amonio, etc.) que no solo degrada los suelos (alteración de la parte química y biológica del suelo por los procesos químicos que este sufre al ser incorporado), si no que contaminan el medio ambiente en general (aire, debido a la producción de óxido nitroso (N₂O) gas responsable del efecto invernadero, óxido nítrico (NO) gas que destruye la capa de ozono y agua debido a la formación de nitrosaminas, eutrofización y contaminación de la napa freática por lixiviación). (Benítez, 1980).

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

- ¿Influirán la co-inoculación *Sinorhizobium-Azospirillum* y el encalado en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿La co-inoculación *Rhizobium-Azospirillum* influirá en el rendimiento de la materia seca de la alfalfa?
- ¿La co-inoculación *Rhizobium-Azospirillum* influirá en el contenido proteico de la alfalfa?
- ¿La co-inoculación *Rhizobium-Azospirillum* influirá en la implantación de la alfalfa?
- ¿El encalado del suelo influirá en el rendimiento de la materia seca y contenido proteico de la alfalfa?
- ¿La inoculación con *Sinorhizobium* influirá en el menor uso de fertilizantes químicos nitrogenados?
- ¿La inoculación con *Azospirillum* influirá en el menor uso de auxinas, citoquininas y giberelinas?
- ¿La producción de la alfalfa será rentable con el uso de la co-inoculación y el encalado?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar la eficiencia de la co-inoculación *Sinorhizobium-Azospirillum* y el encalado en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm.

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar la influencia de la co-inoculación en el rendimiento de materia seca de la alfalfa.
- Evaluar la influencia de la co-inoculación en la calidad de la alfalfa.
- Evaluar la influencia de la co-inoculación en la implantación de la alfalfa.
- Evaluar el efecto del encalado del suelo y su influencia en el rendimiento de las variedades de alfalfa.
- Evaluar si la inoculación con *Sinorhizobium* influye en el menor uso de fertilizantes químicos nitrogenados
- Evaluar si la inoculación con *Azospirillum* influye en el menor uso de productos hormonales que contengan auxinas, citoquininas y giberelinas.
- Evaluar los costos de producción y la rentabilidad económica

1.4 Justificación

Ayacucho por su ubicación geográfica cuenta con terrenos aptos para la explotación ganadera y agrícola, una gran problemática es la cantidad y calidad de los forrajes para la alimentación del ganado ya que si no se cuenta con este recurso la producción tanto en carne como leche de los animales se verá afectada.

Un forraje de excelente calidad por los nutrientes que contiene es la alfalfa (*Medicago sativa*, L.), con un porcentaje de proteínas comprendidas en un rango de 20-30 % (Albán, 1992), el cual es ideal para la alimentación de los animales de las zonas altoandinas, sin embargo se necesita conocer que variedades se adaptan mejor a esas zonas, el manejo, encalado del suelo, bacterias que ayuden en su buen desarrollo, con los cuales puedan tener un mayor rendimiento del alfalfar por eso mediante este trabajo de investigación se busca obtener la mayor producción, adaptación y calidad del cultivo de la alfalfa, que beneficiará a muchos usuarios de la zona.

1.5 Importancia

La baja producción de la ganadería en las regiones interandinas es causada por varios diversos factores como la raza, sanidad, manejo y alimentación de los animales. Pero

la escasa cantidad y baja calidad de forrajes se han señalado como los factores más limitantes. (Benítez, 1980)

Por los factores antes mencionados se deben implementar mejores tecnologías que garanticen una alta productividad por unidad animal. Estos implementos tecnológicos deben incluir una buena selección de germoplasma de leguminosas y gramíneas forrajeras ya adaptadas a las condiciones propias de cada región con relación al tipo de suelo, las condiciones climáticas, plagas y enfermedades. (CIAT, 1982)

La alfalfa (*Medicago sativa*, L), es llamada la reina de los forrajes debido a la cantidad y calidad de proteínas, vitaminas y minerales que la conforman y que son esenciales en la alimentación de los rumiantes, además la palatabilidad es muy buena en casi todas las especies por lo que es una muy buena opción para su siembra, cosecha, alimentación e investigación en las alturas. (Albán, 1992).

Se debe tomar en cuenta que; una variedad nueva instalada debe adaptarse a un nuevo clima al cual se denomina aclimatación, el cultivo de la alfalfa en sus características presenta una notable adaptabilidad a diversos suelos y climas, no obstante, para un buen desarrollo del cultivo es necesario contar con suelos profundos, con subsuelo con buena filtración, un pH ideal de 7 – 8, así la alfalfa tendrá un óptimo desarrollo (Sánchez, 1967)

La alfalfa es tolerante a la escasez del agua, a pesar de su elevada producción, esto debido a sus profundas raíces los cuales le dan un mejor alcance para dotarse de agua. La alfalfa por ser una planta de climas secos es muy sensible al exceso de humedad. (Benítez, 1980)

Es necesario entonces investigar este valioso forraje y una manera es seleccionar y adaptar variedades de alfalfa que logren mejores rendimientos en distintas condiciones climatológicas, esto permitirá ampliar más las áreas con siembras de alfalfares, e incrementar la cantidad de ganados lecheros por hectárea, todo este trabajo se verá reflejado en el incremento de la producción lechera y los ingresos económicos percibidos por la venta de estos productos y el forraje. (Albán, 1992)

Capítulo II

Marco Teórico

2.1 Marco referencial

2.1.1 Antecedentes de la investigación

2.1.1.1 Internacional

Gutiérrez et al. (2012) evaluaron la densidad de siembra e inoculación de *Rhizobium meliloti* en semillas de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Ecuador y determinaron que con 1.5 g m² de inoculante se obtiene un largo de raíces de 0.68cm, con esta misma dosis de inoculante también se obtiene un largo de tallo de 0.70 cm y un número de macollos de 3.15 unidades.

Ferlini et al. (2006) evaluaron la inoculación con *Azospirillum* en el cultivo de alfalfa en Argentina determinaron que las plantas de alfalfa que han sido inoculadas con *Azospirillum brasilense* presentaron resultados positivos en la nodulación la cual fue más abundante, también encontraron que la cantidad de plantas incrementaron su desarrollo en un 39% y el peso de la materia verde un incremento del 28%.

Belén et al. (2009) evaluaron la respuesta de la alfalfa (*Medicago sativa*, L.) a la inoculación simple y mixta con bacterias solubilizadoras de fosfato y *Sinorhizobium meliloti* determinaron un efecto beneficioso de ambos aislamientos sobre el crecimiento de alfalfa en los ensayos de co-inoculación.

Kreder (2020) al evaluar el efecto de la inoculación con rizobios sobre la nodulación y producción de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Argentina determinó que la

inoculación mejora la producción de materia seca entre un 23 y 58% llegando a la conclusión de que el inoculante es favorable para incrementar la producción de alfalfa.

2.1.1.2 Nacional

Guevara & Pinna (2020) evaluaron el efecto de la inoculación con *Sinorhizobium meliloti* y la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento de la alfalfa en Trujillo, determinaron que el rendimiento con inoculación es similar a el rendimiento obtenido con fertilización química, pero recomiendan usar inoculación con *Sinorhizobium* si se quiere realizar agricultura orgánica de alfalfa.

Adrian & Matto (2020) evaluaron el efecto de abonos orgánicos e inoculación en el rendimiento de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Huánuco, determinaron que la inoculación y los estiércoles de los animales permiten mejorar los rendimientos de forraje verde y seco del cultivo estudiado y que este debe ser replicado en otros lugares con similares condiciones.

Vásquez & Millones (2019) evaluaron el crecimiento y desarrollo foliar de plantas de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Lima inoculadas con cepas de *Rhizobium* con el objetivo de evaluar el crecimiento y desarrollo de los nódulos y raíces de las plantas, determinaron que los nódulos radiculares se forman a los 7 días después de la inoculación y una vez formadas ayudan en el soporte y desarrollo del cultivo.

2.1.1.3 Local

Pacotaype (2017) al evaluar la dinámica poblacional de *Sinorhizobium meliloti* en semillas de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) pelletizadas con diferentes materiales como Goma arábica, Carbonato de Calcio, Harina de Trigo, etc. En Ayacucho determinaron que el mejor adherente y material de recubrimiento es la goma arábica y carbonato de calcio y que se podría reemplazar con la melaza de caña + harina de trigo, melaza de caña + roca fosfórica y maicena + harina de trigo. La semilla al ser recubiertos por estos soporta hasta 19 días con el rhizobio.

Caballa & Palomino (2019) evaluaron el rendimiento de cuatro variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en Ayacucho determinaron que el mejor rendimiento de 2900 kg ha⁻¹ se obtiene con un distanciamiento de 0.90m y una altura de planta de 67.59 cm

Sulca (2015) al evaluar la producción de forraje en cinco variedades de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en Ticllas a 2395 msnm – Ayacucho. Determinó que las variedades de alfalfa probadas en Ticllas. obtuvieron una buena adaptación y un desarrollo temprano, iniciando el primer corte a los 113-117 días después de la siembra. Se obtiene buena producción de materia seca acumulada en los primeros 5 cortes realizados.

2.2 Marco conceptual

2.2.1 Alfalfa (*Medicago sativa*, L.)

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es un recurso forrajero fundamental para la producción agropecuaria y ganadera en diversas regiones templadas del mundo. (Zubizarreta, 1992)

Por otro lado, gracias a su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis con *Sinorhizobium meliloti* la convierte en un importante aliado en el desarrollo de otros sistemas productivos. (Basilagup & Rossanigo, 2007)

2.2.2 Variedades

2.2.2.1 W350

- Posee una dormancia de 3.8, característica que la hace resistente a sequías y heladas; cuando las condiciones no son favorables pueden permanecer en el terreno hasta por 3 meses y cuando las condiciones son favorables pueden brotar y desarrollarse, en la sierra peruana este periodo comprende los meses de junio a octubre.
- Esta demostrado que esta variedad se desarrolla y presenta excelentes resultados entre altitudes de 2,600 y 4200 msnm, ya sea cultivada sola o en asociación con especies de gramíneas, el pH ideal requerido es de 5.5 a 6.8. el cultivo prospera

muy bien solo con agua de las lluvias, pero con instalación de riego rinde mucho más.

- Una vez instalada y con un manejo adecuado el cultivo puede permanecer entre 15 a 20 años
- En secano presenta rendimientos de 100 tm ha⁻¹ al año de follaje verde y con riego presurizado 140 Tm ha⁻¹ año de follaje verde.
- Esta variedad aporta 24% de proteínas, vitaminas, potasio, cobre, fósforo, hierro y nitrógeno.
- Se adapta al pastoreo y a su vez permite elaborar forrajes de conservación como heno, ensilado y harina
- El costo de instalación de una hectárea de alfalfa varía entre S/.2000.00 y S/.2500.00. (Rodríguez, 2003)

2.2.2.2 W450

- Esta variedad posee una dormancia de 6, la cual también la hace resistente a las sequias y heladas.
- Se ha demostrado que esta variedad tiene un buen desarrollo entre altitudes de 2,500 y 4200 msnm, ya sea sola o en asociación con gramíneas, en suelos con un pH ideal de 5.5 a 6.8. Esta variedad sólo requiere agua de lluvia, con riego se obtiene mejores rendimientos.
- Una vez instalada y con un adecuado manejo su permanencia es entre 10 a 15 años
- La calidad del forraje es buena porque tiene un crecimiento erecto de una rápida recuperación después del corte.
- Posee resistencia a pulgones, *Phytophthora* y *Verticillium*. (Cotrina et al., 2011)

2.2.2.3 Francesa

- Esta variedad tiene una dormancia de 4, característica que le hace resistente a las sequias y heladas.
- Quedó demostrado que esta variedad se desarrolla con buenos resultados entre altitudes de 2,700 a 3900 msnm.

- Una vez instalada y con un buen manejo su permanencia en el terreno es de 8 a 12 años
- La calidad del forraje es buena porque tiene un crecimiento erecto de una rápida recuperación después del corte.

2.2.3 Rendimiento

El rendimiento de los cultivos es la cantidad de cultivo cosechado por área de tierra. Por lo general, se usa en cultivos como maíz, alfalfa, frijol, etc. y puede expresarse en kilogramos hectárea⁻¹ o toneladas métricas hectárea⁻¹. (Riday & Brummer, 2006).

2.2.4 Calidad

La alfalfa es la especie que posee el mejor valor nutritivo de los cultivos forrajeros cultivados comercialmente. Por su calidad existe un gran nivel de producción y se incluye en casi todos los sistemas. (Pordomingo et al., 2004).

La alfalfa es uno de los forrajes más altos en proteína; sin embargo, para determinar una buena calidad también se debe considerar las demás características como; nivel adecuado de fibra, digestibilidad, mili calorías de la materia seca, relación hoja/tallo los cuales se verán reflejadas en un buen nivel de energía neta. (Llamas & Nuñez, 2002)

2.2.5 Adaptación

El rendimiento del cultivo y la persistencia de este son aspectos muy importantes a tener en consideración en el manejo productivo de la alfalfa, aunque estos factores son importantes, la calidad del forraje se encuentra principalmente en las hojas el cual se ha convertido en el principal factor en un sistema de producción (Bustillo, 2015). La adaptación del cultivo es un rasgo complejo que se ve afectada por ciertos factores como, el genotipo, los factores abióticos y bióticos, gestión y sus interacciones. (Riday & Brummer, 2006).

2.2.6 Inoculación

La alfalfa como leguminosa tiene la propiedad de fijar el nitrógeno del aire (FBN), gracias a la asociación con las bacterias de *Sinorhizobium meliloti*, que se establecen en las raíces de las plantas formando nódulos donde fijan el nitrógeno del aire y la transfieren a la planta, que servirá para su crecimiento y producción.

La inoculación de la leguminosa es fundamental para la buena implantación y persistencia de la alfalfa, garantizando la Fijación Biológica de Nitrógeno para el buen rendimiento en calidad y cantidad de forraje. La inoculación es la forma más fácil, económica y natural de suministrar nitrógeno a las plantas, sin contaminar el medio ambiente y garantizar una agricultura sostenible. (García-Blásquez, 2018)

Antes de la siembra de la leguminosa se procede a la inoculación de las semillas con su bacteria de *Rhizobium* (*Sinorhizobium* específico) para obtener los beneficios de esta práctica, la mejor forma de inoculación recomendada para semillas pequeñas como de la alfalfa es la inoculación en forma de “pellet”, para este tipo de inoculación, en vez de agua se debe utilizar una solución adhesiva más fuerte (goma arábiga al 40%), esta solución de goma más inoculante mezclarlas con las semillas homogéneamente y finalmente agregar el polvo de revestimiento (CaCO₃, diatomita, calcáreo, etc) (García-Blásquez, 2018)

2.2.7 Coinoculación

La co-inoculación con bacterias del género *Rhizobium* y *Azospirillum* en especies leguminosas, produce un aumento significativo en la nodulación y el desarrollo radicular los cuales tienen un efecto directo en una mayor absorción de agua y nutrientes, esto afectará de manera positiva el incremento del rendimiento. (Ferlini, 2006)

2.2.8 *Sinorhizobium meliloti*

Son un grupo de bacterias a los cuales se les conoce como rizobios, estos inducen en las raíces o en los tallos de la leguminosa la formación de estructuras especializadas, llamadas nódulos, dentro de los cuales el nitrógeno atmosférico (N₂) es reducido a

amonio (NH₄). Cada especie de rizobios comprende un grupo de cepas que comparten características que las definen como grupo. Hasta la fecha se han propuesto 6 géneros, que son: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* y *Sinorhizobium*.(Ferlini, 2006)

2.2.9 Azospirillum

Azospirillum representa el género mejor caracterizado de las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas. Otros diazótrofos de vida libre detectados repetidamente en asociación con raíces de plantas incluyen *Acetobacter*, *diazotrophicus*, *Herbaspirillum*, *seropedicae*, *Azoarcus spp.* y *Azotobacter*. Se destacan cuatro aspectos de la interacción entre *Azospirillum* y la raíz de la planta: hábitat natural, interacción de la raíz de la planta, fijación de nitrógeno y biosíntesis de las hormonas de crecimiento de la planta. Cada uno de estos aspectos es tratado de forma comparativa. Las azospirillas son predominantemente bacterias de colonización superficial, mientras que *A. diazotrophicus*, *H. seropedicae* y *Azoarcus sp.* Son diazotrofos endofíticos. (Steenhoudt & Vanderleyden, 2000)

2.2.10 Encalado

El encalado consiste en aplicar al suelo sales básicas como calcio, sodio, etc. que neutralizan la acidez. Aquellos materiales o insumos que se utilizan como alcalinizantes o correctivos de acidez son especialmente carbonatos, hidróxidos, óxidos y silicatos de calcio o magnesio. Debido a sus diversas naturalezas químicas, estos materiales presentan una diversa capacidad de neutralización. (Espinosa & Molina, 1999)

2.2.11 Dolomita

El carbonato doble de calcio y magnesio (CaCO₃MgCO₃) se le denomina dolomita. El material en su estado puro contiene 21.6% de Ca y 13.1% de Mg. Aunque la dolomita tiene una reacción más lenta en el suelo que la calcita, su ventaja es que también suministra magnesio, el cual es un elemento con frecuencia deficiente en suelos ácidos. (Espinosa & Molina, 1999)

2.3 Hipótesis de la investigación

2.3.1 Hipótesis general

- La co-inoculación con *Sinorhizobium-Azospirillum* y el encalado del suelo incrementan la producción de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en la comunidad de Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm.

2.3.2 Hipótesis Específicos

- La co-inoculación incrementa el rendimiento de la alfalfa
- La co-inoculación mejora la calidad de la alfalfa
- La co-inoculación mejora la implantación de la alfalfa
- El encalado del suelo incrementa el rendimiento y calidad de la alfalfa
- La inoculación con *Sinorhizobium* reduce el uso del fertilizante químico nitrogenado
- La inoculación con *Azospirillum* reduce el uso de BIOZYMEs que contengan citoquininas, auxinas y giberelinas.
- El uso de inoculantes disminuye los costos de producción del cultivo de alfalfa.

Capítulo III

Metodología

3.1 Tipo de Investigación

3.1.1 Tipo de investigación

Experimental (causa-efecto), prospectivo, longitudinal y analítico.

3.1.2 Nivel de investigación

Explicativo (por explicar el comportamiento de una variable en función de otras)

3.2 Método

Analítico (por la naturaleza de los datos)

3.3 Diseño de investigación

Experimental (Experimento verdadero), por cumplir una aleatoriedad.

Clasificación realizada de acuerdo al autor (Supo, 2012)

3.4 Desarrollo del experimento

3.4.1 Ubicación

El trabajo de investigación se realizó en Llachoccmayo – Chiara a 3814 msnm. Ubicado a una hora y media de la ciudad de Ayacucho. El lugar tiene una Latitud Sur 13° 24' 7" S y Longitud Oeste 74° 13' 16" W.

3.5 Diseños estadísticos usados

3.5.1 Modelo de parcelas subdivididas

El experimento corresponde a diseño de parcelas subdivididas en el cual se busca la mejor variedad de alfalfa, los efectos del encalado del suelo y probar tratamientos con bacterias (*Sinorhizobium* y *Azospirillum*) y productos químicos (urea y BIOZYME)

Descripción de los niveles de los factores en estudio:

V: Variedad

- V₁ = Francesa
- V₂ = W-350
- V₃ = W-450

E: Encalado

- E₀ = Encalado
- E₁ = Sin encalar

T: Co-inoculación y productos químicos

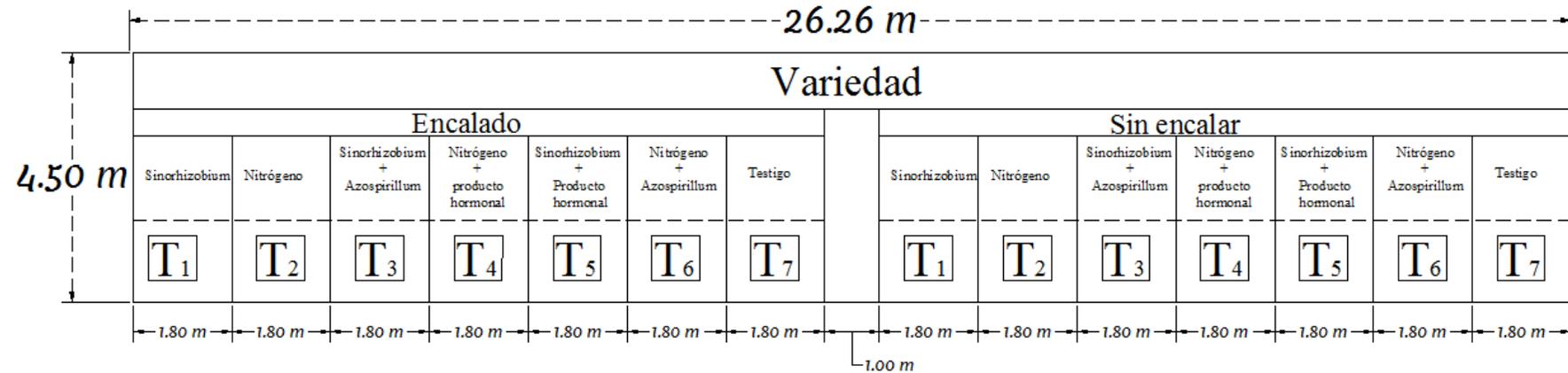
- T₁ = *Shinorhizobium*.
- T₂ = Urea
- T₃ = *Sinorhizobium* y *Azospirillum*.
- T₄ = Urea + BIOZYME
- T₅ = *Sinorhizobium* + BIOZYME
- T₆ = urea + *Azospirillum*.
- T₇ = Testigo.

BIOZYME es un BIOZYME comercial que contiene auxinas, giberelinas y ácido indol acético.

Debido a que existen 42 combinaciones (VxExT) los cuales serán expuestos en el ANOVA, reduciremos esa cantidad con contrastes ortogonales planteadas por Tineo (2012). Para realizar las comparaciones que más nos convengan.

3.5.2 Descripción de los tratamientos

Se realizó con el diseño de parcelas subdivididas dispuestos de la siguiente manera:



▪ **Donde:**

- **T₁:** Trat. que recibirá la inoculación con *Sinorhizobium*
- **T₂:** (Urea).
- **T₃:** *Sinorhizobium* y *Azospirillum*
- **T₄:** Urea + BIOZYME.
- **T₅:** *Sinorhizobium* + BIOZYME.
- **T₆:** Urea + *Azospirillum*.
- **T₇:** Testigo (control)

3.5.4 Descripción del campo experimental

3.5.4.1 Campo experimental

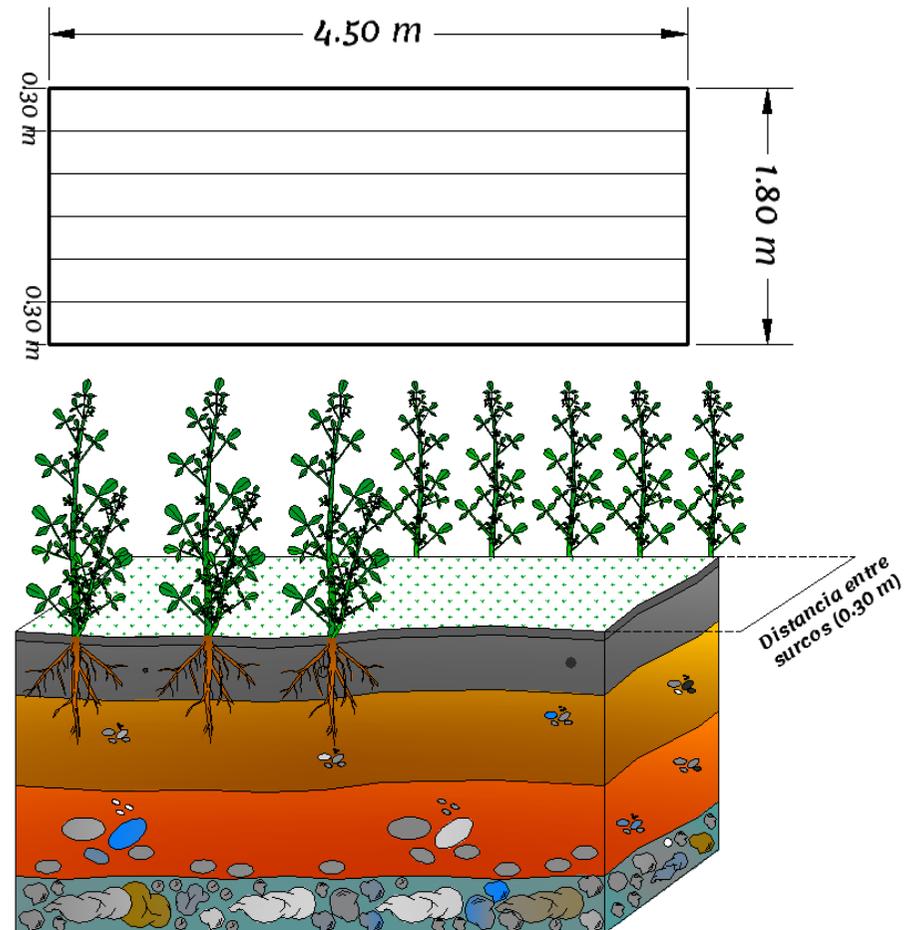
- Largo : 54 m
- Ancho : 29.5 m
- Área total de experimento : 1593 m²

3.5.4.2 Bloque

- Número de bloques : 04
- Ancho de los bloques : 4.5 m
- Largo de bloques : 79.2 m
- Área total del bloque : 356.4 m²
- Ancho de las calles : 1 m

3.5.4.3 Parcela

- Largo : 4.5 m
- Ancho : 1.80 m
- Área por parcela : 8.1 m²
- Número de surco por tratamiento : 5
- Número de surco por Bloque : 140
- Número de parcelas /Bloque : 28
- Número de parcelas / Campo experimental : 168



3.5.5 Modelo de parcelas subdivididas

El experimento corresponde a diseño de parcelas subdivididas en el cual se busca la mejor variedad de alfalfa, los efectos del encalado del suelo y probar tratamientos con bacterias (*Sinorhizobium* y *Azospirillum*) y productos químicos (urea y BIOZYME).

Se realizó Análisis de la Variancia (ANVA), prueba de Tukey, regresiones y contrastes ortogonales.

El modelo lineal para el diseño en parcelas subdivididas es:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \gamma_k + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

- μ = Es la media general
- τ_i = Efecto de las variedades de alfalfa (i=1, 2, 3)
- β_j = Efecto del bloque (j=1, 2, 3, 4)
- $(\tau\beta)_{ij}$ = Error de parcela grande
- γ_k = Efecto de los tratamientos (k=1, 2, 3...7)
- $(\tau\gamma)_{ik}, (\beta\gamma)_{jk}$ = Interacciones
- $(\tau\beta\gamma)_{ijk}$ = Error de parcela pequeña
- ϵ_{ijk} = No estimable

3.5.6 Contrastes ortogonales

Tabla 1. Contrastes ortogonales planteados para el análisis de datos

Contraste	Comparación	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
C1	<i>Sinorhizobium</i> vs Urea	1	-1	0	0	0	0	0
C2	<i>Sinorhizobium</i> + <i>Azospirillum</i> vs Urea + BIOZYME	0	0	1	-1	0	0	0
C3	<i>Sinorhizobium</i> + BIOZYME vs Urea + <i>Azospirillum</i>	0	0	0	0	1	-1	0

C1: Este contraste permite comparar el tratamiento T₁ (*Sinorhizobium*) vs T₂ (fertilización química nitrogenada), para determinar cuál de ellos influye de mejor manera en las variables dependientes (implantación, rendimiento y calidad).

C2: Este contraste permite comparar el tratamiento T₃ (*Sinorhizobium* + *Azospirillum*) vs T₄ (Urea + BIOZYME), para determinar cuál de ellos influye de mejor manera en las variables dependientes (implantación, rendimiento y calidad).

C3: Este contraste permite comparar el tratamiento T₅ (*Sinorhizobium* + BIOZYME) vs T₆ (fertilización química y *Azospirillum*), para determinar si la mezcla entre una bacteria y un producto puede mejorar las variables dependientes (implantación, rendimiento y calidad).

En total en el ANOVA se observarán 18 contrastes ortogonales los cuales se detallan a continuación:

Tabla 2. Descripción de los 18 Contrastes ortogonales que se verán en el ANOVA

Contrastes	variedad	Encalado	comparación
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	Francesa	Sin encalar	<i>Sinorh</i> (vs) Urea
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)			<i>Sinorh</i> + <i>Azosp</i> (vs) Urea + BIOZYME
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)			<i>Sinorh</i> + BIOZYME (vs) Urea + <i>Azosp</i>
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)		Encalado	<i>Sinorh</i> (vs) Urea
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)			<i>Sinorh</i> + <i>Azosp</i> (vs) Urea + BIOZYME
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)			<i>Sinorh</i> + BIOZYME (vs) Urea + <i>Azosp</i>
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	W-350	Sin encalar	<i>Sinorh</i> (vs) Urea
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)			<i>Sinorh</i> + <i>Azosp</i> (vs) Urea + BIOZYME
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)			<i>Sinorh</i> + BIOZYME (vs) Urea + <i>Azosp</i>
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)		Encalado	<i>Sinorh</i> (vs) Urea
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)			<i>Sinorh</i> + <i>Azosp</i> (vs) Urea + BIOZYME
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)			<i>Sinorh</i> + BIOZYME (vs) Urea + <i>Azosp</i>
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	W-450	Sin encalar	<i>Sinorh</i> (vs) Urea
C14: V3 x e0 (T3 vs T4)			<i>Sinorh</i> + <i>Azosp</i> (vs) Urea + BIOZYME
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)			<i>Sinorh</i> + BIOZYME (vs) Urea + <i>Azosp</i>
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)		Encalado	<i>Sinorh</i> (vs) Urea
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)			<i>Sinorh</i> + <i>Azosp</i> (vs) Urea + BIOZYME
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)			<i>Sinorh</i> + BIOZYME (vs) Urea + <i>Azosp</i>

Todas realizadas con ayuda de los softwares estadísticos; Minitab 17, SAS (Littell et al., 1996) e INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2010). Así mismo con la ayuda del Microsoft Office 2019.

3.6 Representación

Se representan en tablas de ANOVA junto a los contrastes ortogonales, prueba post hoc de Tukey al 95% de confianza, representadas en gráfico de barras para un mejor entendimiento.

3.7 Variables

3.7.1 Variables Independientes

- Variedades de alfalfa (Francesa, W-350 y W-450)
- Encalado (encalado y sin encalar)
- Tratamientos

3.7.2 Variable dependiente

- Rendimiento
- Calidad
- Implantación

3.7.3 Operacionalización de las variables

Tabla 3. Operación de las variables

Variables	Indicadores	Valores finales	Tipo de variable
Rendimiento	▪ Peso de la materia seca	Kilogramos	Cuantitativa continua
	▪ Número de cortes por año	n	Cuantitativa continua
Calidad	▪ Intensidad de color de hojas	Escala 0-250 donde 0 es la intensidad más alta y 250 la más baja	Cuantitativa discreta
	▪ Relación hoja/tallo	Cociente del Peso de hoja/Peso del tallo	Cuantitativa continua
	▪ Análisis de nitrógeno	% de proteína	Cuantitativa continua
Implantación	▪ Cobertura	Porcentaje (%)	Cuantitativa continua
	▪ Área foliar	Expresado en cm ²	Cuantitativa continua
	▪ Resistencia a heladas	Según escala de Likert	Cuantitativa discreta
Co-Inoculación	▪ Peso seco de nódulos	gramos	Cuantitativa continua
	▪ Ubicación de los nódulos	1. Corona 2. Raíz principal 3. Raíces secundarias	Cualitativa nominal
	▪ Peso seco de raíces	g	Cuantitativa continua
Encalado	pH	Alcalino-ácido-neutro	Cuantitativa continua
Variedad	-	Kg/ha	Cuantitativa continua

3.8 Metodología para la Evaluación de las variables

De acuerdo con los objetivos del estudio se evaluó las variables rendimiento, calidad e implantación, de la siguiente manera.

3.8.1 Rendimiento

Para la ayuda de la evaluación del rendimiento del cultivo de alfalfa se evaluó los siguientes indicadores.

- Peso de la materia seca
- Número de cortes por año

Para las determinaciones de rendimiento de forraje, características morfológicas y parámetros de calidad se tuvo en cuenta los estados de madurez de la alfalfa, las cuales se realizaron cuando la mayoría de las plantas alcanzaron el estado 5 (floración temprana) según Kalu & Fick (1981).

3.8.2 Calidad

Para la calidad del cultivo de alfalfa se evaluaron los siguientes indicadores:

- Relación Hoja/Tallo (RHT)
- Intensidad de color de hojas
- Contenido de proteína bruta (análisis de nitrógeno)

3.8.2.1 Relación hoja/tallo (RHT): estimado como el cociente entre el peso seco de las fracciones hoja (folíolo, pecíolos estípulas, etc.) y tallo; se usó una muestra de 200 g por parcela que, luego de secado en estufa, se separó en hojas y tallos y se pesó cada fracción.(Rébora & Bertona, 2012)

3.8.2.2 Intensidad de color de hojas: Se fotografiaron las hojas de la alfalfa de cada tratamiento y 4 repeticiones, estas fotos fueron analizadas en un computadora con el programa ImageJ (Green et al., 2012; Schneider & W. S. Rasband, 2012; Warman et al., 2011), el cual da un valor en escala de grises en un rango de 0 a 255 donde 0 (negro) y 255 (blanco).

Luego se transformó los 4 colores Verde oscuro, normal, claro y amarillento con códigos RGB a escala de grises usando la ecuación $Y = R \times 0.3 + G \times 0.59 + B \times 0.11$ determinada por Delgado (2013) y se establecieron los rangos.

Tabla 4. Transformación de RGB a escala de grises

Escala	RGB	Escala de grises	Mínimo	Máximo
Verde oscuro	0;70;0	41	24	58
verde normal	0;128;0	75	58	138
Verde claro	144;238;144	200	138	205
Verde Amarillento	173;255;47	210	205	215

luego se estableció una tabla con la metodología Likert de acuerdo a los valores máximos y mínimos obtenidos, finalmente se comparó las puntuaciones obtenidas en el programa con la escala diseñada.

Tabla 5. Escala diseñada para evaluar la intensidad de color de las hojas de alfalfa.

Escala	Intensidad	Conclusión
Verde oscuro	<24; 58]	Planta sana
verde normal	[58; 138]	Planta sana
Verde claro	[138; 205]	Planta deficiente
Verde Amarillento	[205; 215)	Planta deficiente

3.8.2.3 Contenido de proteína bruta: se determinó el contenido de proteína bruta (PB), que resultó de determinar el contenido total de nitrógeno de la muestra analizada en un laboratorio y multiplicarla por el factor 6.25, las muestras fueron analizadas de acuerdo a la *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC., 1990) se siguieron los métodos de la *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS) para PB Kjeldahl (método 984.13).

Luego se estableció una tabla siguiendo la metodología de Likert con las puntuaciones obtenidas del autor Ramos (1995) quien clasifica la calidad del alfalfa de acuerdo a su contenido de proteína en porcentaje.

Tabla 6. Tabla diseñada para determinar la calidad proteica de la alfalfa.

Calidad	Intervalo (%)	Contenido Proteico (C.P)
Extra	<19	C.P. Excelente
Primera	[19; 17]	C.P. bueno
Segunda	<17; 14]	C.P. medio
Tercera	<14; 11]	C.P. bajo
Cuarta	<11; 08]	C.P. deficiente
Quinta	08)	C.P. malo

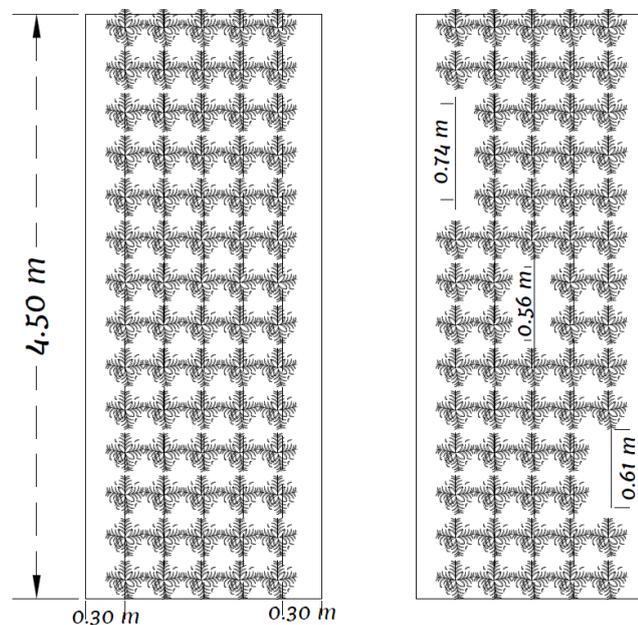
3.8.3 Implantación

Para determinar la implantación se midieron los siguientes indicadores:

- Cobertura
- Área foliar
- Resistencia a heladas.

3.6.3.1 Cobertura: Para la cobertura se evaluó el área no germinada frente al total y se llevó a porcentaje (%). La evaluación se llevó a cabo 20 días después de la siembra.

Figura 1. Diseño para evaluación de cobertura.



En la figura de la izquierda se tiene una germinación del 100% (22.5 m lineales con plantas germinadas) en la figura de la derecha se tiene una cobertura del 91,5 % (20.59 m lineales con plantas germinadas).

3.8.3.2 Área foliar: Se fotografiaron las hojas de la alfalfa de cada tratamiento y 4 repeticiones, estas fotos fueron analizadas en una computadora con el programa ImageJ. El programa te da el área total de las hojas, con los datos se realizó el ANOVA para saber si existe diferencia significativa entre áreas foliares entre tratamientos.

3.8.3.3 Resistencia a heladas: La Resistencia a heladas se evaluó después de una caída de helada en la zona con expertos en el tema que viendo el daño calcularon el daño realizado, luego se diseñó una escala de medición siguiendo la metodología de Likert.

Escala	Daño (%)	Conclusión
Excelente	[0; 5]	Muy Resistente
Muy bueno	<5; 15]	Resistente
Bueno	<15; 25]	Poco Resistente
Pobre	<25; 40]	Susceptible
Deficiente	<40 – 50)	Muy susceptible

3.8.4 Co-inoculación

Para determinar el efecto de *Shinorhizobium* y *Azospirillum* se consideraron las siguientes evaluaciones descritas por (Corbin et al., 1977; INIA, 2006; Somasegaran & Hoben, 1985)

- Características de nodulación
- Peso seco de las raíces.
- Rendimiento
- Calidad (Relación Hoja/Tallo (RHT), Intensidad de color de hojas y contenido de proteína bruta)

La metodología planteada por Corbin et al. (1977). Implica desenterrar cuidadosamente 10 plantas al azar en el cultivo (asegurando que las raíces y los nódulos no se dañen) y posteriormente obtener los datos.

3.8.4.1 Peso seco de nódulos: Se extrajeron los nódulos de la planta y se dejó en una estufa a 50 grados centígrados por un día luego se pesó, se volvió a poner los nódulos en la estufa por 1 hora y se volvió a repetir el pesado (A fin de que los nódulos ya no contengan agua); como los pesos ya no variaron se tomó esos datos para el análisis estadístico.

3.8.4.2 Peso seco de raíces: Las raíces de la planta se dejaron en una estufa a 70 grados centígrados por dos días; luego se pesó en una balanza graduada, se volvió a poner las raíces a la estufa por 1 hora y se volvió a pesar; como los pesos ya no variaron se tomó esos pesos para el análisis estadístico.

3.8.4.3 Ubicación de los nódulos: Se usó la metodología planteada por Corbin et al. (1977), el cual indica que la puntuación del nódulo se juzga por el número de nódulos efectivos en la zona corona-raíz (región 5 cm por debajo de las primeras raíces laterales) puntuando cada planta utilizando el criterio de clasificación descrito. Ejemplo; se tomó una planta y esta tenía 15 nódulos en los primeros 5 cm de raíz y 8 nódulos en la parte inferior a los 5 cm de raíz entonces se le da una puntuación de 5 como indica la figura y según la tabla su interpretación sería que “la planta tiene un excelente potencial de fijación.”

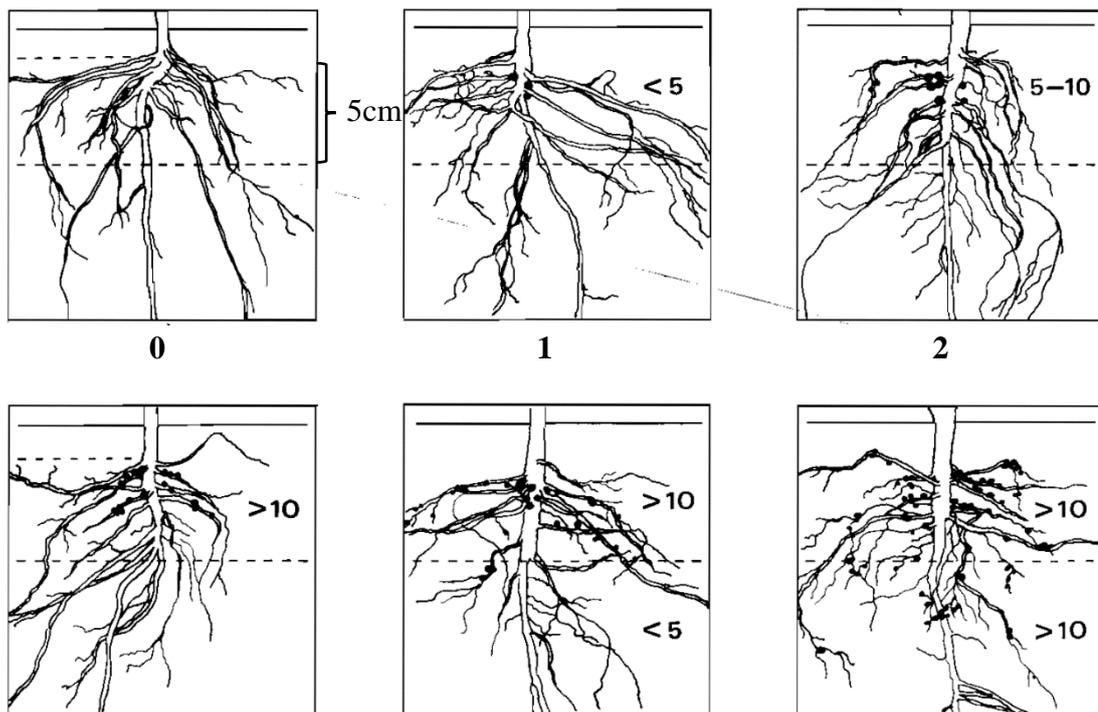


Tabla 7. Escala utilizada para puntuar la efectividad de la nodulación.

Escala diseñada por Corbin et al., (1977) para la puntuación de la nodulación.	
	Puntuación
Excelente nodulación; excelente potencial de fijación	[5 ; 4)
Buena nodulación; buen potencial para la fijación	[4 ; 2)
Nodulación justa; La fijación de N_2 puede no ser suficiente	[2 ; 1)
pobre nodulación, poca o ninguna fijación de N_2	[1 ; 0]

3.9 Evaluación económica

Se realizó la comparación de costos de una hectárea de producción de alfalfa usando bacterias promotoras de crecimiento vegetal (*Sinorhizobium* y *Azospirillum*) y fertilizante inorgánico (Urea)

3.10 Instalación y conducción del experimento

3.10.1 Limpieza del terreno

La limpieza de terreno se realizó el 05 de enero del 2019, empleando picos, palas, rastrillos, costales y guantes, también se realizó el muestreo de análisis de suelos. Las muestras de suelo se tomaron en diversos puntos, recorriendo el campo en zigzag a lo largo del terreno y a una profundidad de 20 cm, se tomaron un total de 20 muestras los cuales fueron homogenizadas y luego se separó 1 kg de suelo (INIA, 2017) que se llevó al laboratorio de Análisis de suelos y análisis foliar AGROLAB.

3.10.2 Preparación del terreno

La preparación del terreno definitivo se realizó el 10 de enero del 2019 con la ayuda de un tractor agrícola a una profundidad de 0.25 m, mediante una pasada de arado de discos y dos pasadas de rastra de discos, el nivelado y mullido se realizó el 20 de diciembre empleando rastrillos. Todas estas labores se realizaron para dejar el terreno suelto, mullido y limpio para la siembra.

3.10.3 Análisis de semilla, densidad de siembra, universo, población, muestra y muestreo.

El 18 de enero del 2019 se determinó el porcentaje de pureza, porcentaje de germinación y peso de 1000 semillas en el laboratorio de Horticultura y Semillas de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNSCH, datos con los cuales se realizó los siguientes cálculos, para determinar la cantidad de semilla a utilizar.

- Densidad de siembra 20 kg ha⁻¹ (Castiblanco, 1960; Lara & Jurado, 2014)
- Sembrados a una distancia de 30cm. (Castiblanco, 1960)

Tabla 8. Cálculos de semilla a utilizar por variedad

Dato obtenido de:		Variedad de alfalfa		
		Densidad de siembra	FrancesaW-350W450	
Laboratorio	% Pureza	95	95	95
Laboratorio	% Germinación	80	92	92
	(%) Valor de uso	76	87.4	87.4
Bibliografía	Semilla (kg ha)	20	20	20
	Semilla corregida (kg ha⁻¹)	26.316	22.88	22.88
	Semillas campo experimental (kg/1593m ²)	4.19	2.88	2.88
Cálculos	Semilla por tratamiento (kg/8.1m ²)	0.02	0.02	0.02
	Total, Semillas por variedad (kg)	1.194	1.038	1.038

Se utilizó 1.194 kg de semilla de la variedad Francesa, 1.038 kg de semilla de la variedad W-350 y 1.038 kg de semilla de la variedad W-450.

Las semillas fueron adquiridas de la empresa ALABAMA la cual dio las garantías necesarias.

Tabla 9. Cálculo del número de plantas por tratamiento.

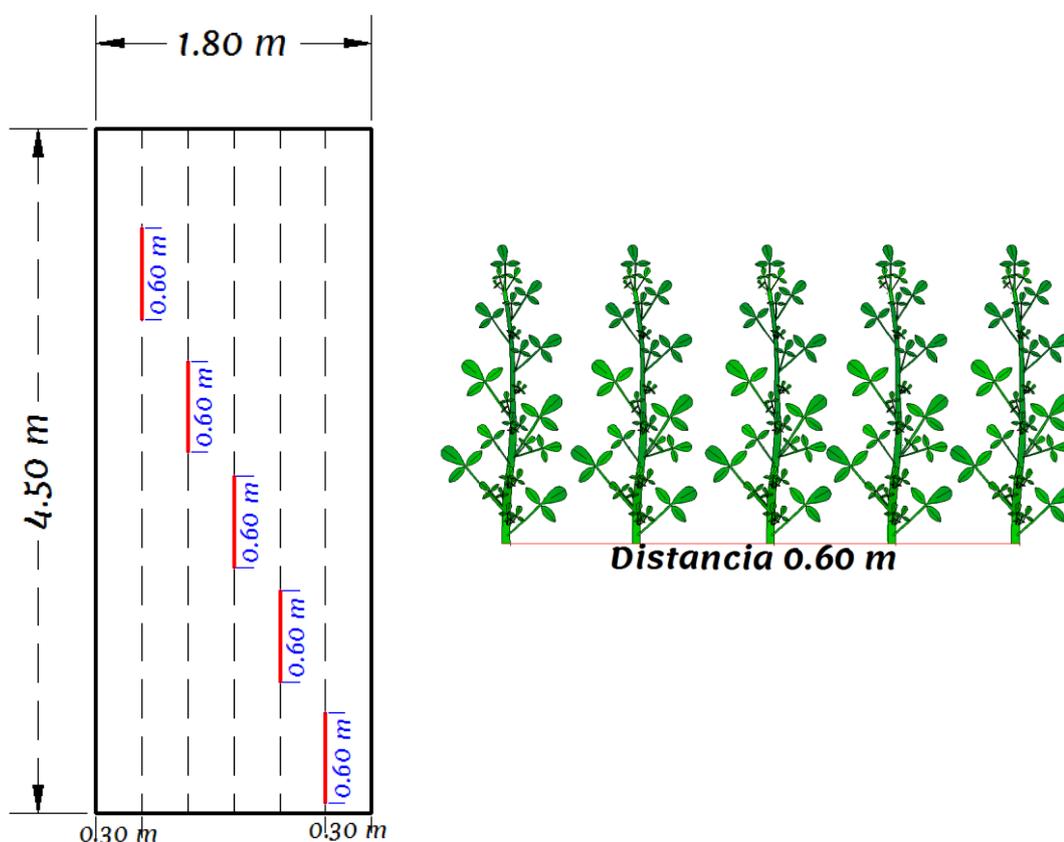
Dato obtenido de:		Cantidad de plantas
Laboratorio	Peso de 1000 semillas (kg)	0.003353
	Plantas x ha ⁻¹	7848431.1
	Plantas en 1593 m ²	1250255.0
Cálculos	Plantas por trat. (8.1m ²)	6357.23
	Plantas por Surco (4.5m ²)	1271.45

3.10.3 Muestreo

En 0.60 m hay 362 plantas de alfalfa que se evaluaron de la siguiente manera

Se tomó el muestreo según la figura 2, para evaluación de rendimiento.

Figura 2. Muestreo realizado en campo



3.10.4 Trazado y delimitación del terreno

El trazado y delimitación del terreno se realizó el día 27 de enero del 2019, de acuerdo con el croquis del experimento, empleando una wincha, un cordel, y estacas, con los que se delimitó las parcelas, bloques y calles.

3.10.5 Colocación de letreros

El 29 de enero se realizó la colocación de letreros, con la finalidad de identificar los tratamientos aplicados a cada parcela, según el experimento.

3.10.6 Cálculo de abonamiento de fondo y dolomita.

El resumen del análisis de caracterización obtenido en el laboratorio se muestra en la siguiente tabla y el documento original se encuentra en los anexos.

3.10.6.1 Cálculo de abonamiento

Tabla 10. Características físicas y químicas del suelo

Tipo de análisis	Valor	Método	Interpretación
Análisis físico			
Suelo Orgánico			
Análisis químico			
pH	5.10	Potenciometría	Suelo Ácido
C.E (dsm ⁻¹)	0.1	Conductimetría	Sin salinidad
Nt (%)	0.49	Semi – micro Kjeldahl	Alto
CO ₃ ⁼ (%)	0.00	Bernard	-
MO (%)	10.04	Walkey y Black	Muy Rico
P (ppm)	21.86	Bray-Kurtz	Alto
K (ppm)	232	Absorción atómica	Muy Alto
CIC cmol (-) Kg ⁻¹	19.34	Ext. Acetato de amonio	Medio
% Sat. De Bases	63	-	Alto

- **pH** = Ácido.
- **MO** = Muy rico (Suelo Orgánico por tener Materia Orgánica > a 1%)
- **N** = Contenido alto en nitrógeno.
- **P** = Contenido alto en fósforo por método de Bray-Kurtz para suelos ácidos.
- **K** = Contenido Muy alto en potasio.
- **C.E** = Suelo no salino.
- **CIC** = Contenido Medio.

Interpretación de acuerdo a la Guía de Fertilidad de Suelos (Tineo, Cerda, Palomino, & Girón, 2014)

3.10.6.1 Cálculo de la dosis para abonar el terreno

Datos:

- Extracción: **215 kg N x ha⁻¹, 55 kg P₂O₅ x ha⁻¹ y 150 kg K₂O x ha⁻¹** recomendado por (Tineo et al., 2014)
- Coeficiente de mineralización = 1.5 %
- Periodo de cultivo = 1 año (12 meses)

$$Q = (E - Sx f_1 - Mx f_2) \frac{1}{f_3} \quad (\text{Tineo et al., 2014})$$

Donde:

- Q= Dosis del nutriente en kg/ha
- E= Extracción del nutriente del suelo por el cultivo en kg/ha
- S= aporte de nutriente por el suelo en kg/ha
- M= Aporte de nutriente por el estiércol en kg/ha
- f1 = Porcentaje de uso de los nutrientes del suelo por la planta.
- f2= porcentaje de utilización de los nutrientes del estiércol (abono orgánico)
- f3= porcentaje de uso de nutrientes del fertilizante inorgánico (capacidad de uso)

Tabla 11. Valores tomados para f1, f2 y f3 según (Tineo et al., 2014)

DESCRIPCIÓN	N	P	K
f1	40	25	40
f2	-	-	-
f3	50	25	65

Tabla 12. Cálculo de extracción del cultivo

Dato obtenido de:	CÁLCULO DE ABONAMIENTO		
	NITRÓGENO	FÓSFORO	POTASIO
Extracción del cultivo	215	55	150
	Nitrógeno total (%)	P (ppm)	K (ppm)
ANÁLISIS DE SUELO	0.49	21.86	232
Elemento en kg ha ⁻¹	9800	100.1	556.8
Coef. Mineralización (1.5%)	147		
Periodo del cultivo (meses)	12		
kg N/ha (12 meses)	147		
Q (Extracción)	223.14	119.88	-111.88

La fórmula usada en el presente trabajo de investigación es 223 -119-0

Tabla 13. Cantidad de fertilizantes usados.

DESCRIPCIÓN	FERTILIZANTES		
	Urea (%)	Roca fosfórica (%)	Cloruro de potasio (%)
Riqueza fertilizante	46	25	60
Extracción (kg N) /ha	223.14	119.88	0.00
Fertilizante a usar (kg N/ha)	485.1	479.5	0.0
En sacos de 50kg c/u	9.7	9.6	0.0
Área de experimento (m ²)	583.2	1360.8	1360.8
Fertilizante por área (kg)	28.3	65.3	0.0
En sacos de 50kg c/u	0.57	1.31	0.00
Fertilizante (kg) en 8.1m ²	0.393	0.388	0.0

- **Urea:** Se utilizó 28.3 kg en total distribuidos en 72 parcelas de 8.1m² que se abonaran con 0.393kg de urea.
- **Roca fosfórica:** Se utilizó 65.3 kg en total distribuidos en 168 parcelas de 8.1m² que se fertilizaron con 0.388 kg de roca fosfórica.
- **Cloruro de potasio:** no se agregó este fertilizante debido a que el suelo contiene la riqueza suficiente para el cultivo de alfalfa.

3.10.6.2 Cálculo de dolomita

Se llevó muestras de suelo de 2 kilos de los primero 20 cm del lugar donde se realizará la siembra (Llachoccmayo), se midió el pH en el laboratorio de Horticultura resultando 5.1 se agregó dolomita hasta que el pH resultante sea 6.4 de los cuales se obtuvo los siguientes resultados:

Tabla 14. Cálculo de dolomita a usar en el experimento

Dolomita por usar	
Peso de muestra de suelo (kg)	2
Inicial pH suelo	5.1
Gasto de dolomita (kg)	0.005
Final pH suelo	6.4
Área experimental (m ²)	680
Densidad	1.3
Capa arable (m)	0.2
Peso del suelo (kg/680m ²)	17680
Dolomita a usar (Kg/680m ²)	442.0
Dolomita (kg) en 8.1 m ²	5.26

- **Dolomita:** Se utilizó 442kg de dolomita en total para 680 m², distribuidos en 5.26kg para 8.1m² por parcela en toda el área correspondiente al terreno encalado.

3.10.7 Siembra

La siembra manual se realizó el 30 de enero del 2019.

3.10.7.1 Proceso de la Inoculación

Existen dos tipos de inoculación la inoculación simple y en forma de “PELLET”, en el presente trabajo se utilizó la inoculación en forma de “PELLET”.

Tabla 15. Cantidades recomendadas según García-Blásquez (2018)

	Semilla(kg)	Goma arábica (ml)	Agua (Lt)	CaCO₃ (kg)
Recomendado	20	400	1	12
Tesis	0.51	10.2	0.0255	0.306

3.10.7.2 Pasos seguidos en la inoculación y siembra de la semilla

Paso 1: En un recipiente se mezcla el inoculante con *Rhizobium* con la solución adhesiva



Inoculante



Goma arábica

Paso 2: A esta mezcla se añade las semillas y se homogeniza hasta que queden cubiertos del inóculo

Paso 3: Finalmente se agrega el carbonato de calcio finamente molido (polvo de recubrimiento) y se mezcla hasta q las semillas queden cubiertas formando los “PELLETS”





Paso 4: Realizamos la siembra

Las semillas fueron inoculadas un día antes (29 de enero) de ser sembradas en campo definitivo con bacterias de *Sinorhizobium meliloti* y *Azospirillum* dependiendo de los tratamientos ya mencionados con anterioridad. El proceso de inoculación consistió en agregar el inoculante turfoso a las semillas con un adherente (goma) y envuelto con carbonato de calcio formando pellets los cuales fueron sembrados en campo.

3.10.8 Deshierbos y aporques

El primer deshierbo se realizó el 25 de febrero, a los 26 días después de la siembra y el segundo deshierbo se realizó el 25 de junio debido a la presencia e incremento de malezas.

El aporque se realizó a los 50 días después de la siembra, estas labores se realizaron con picos y azadones.

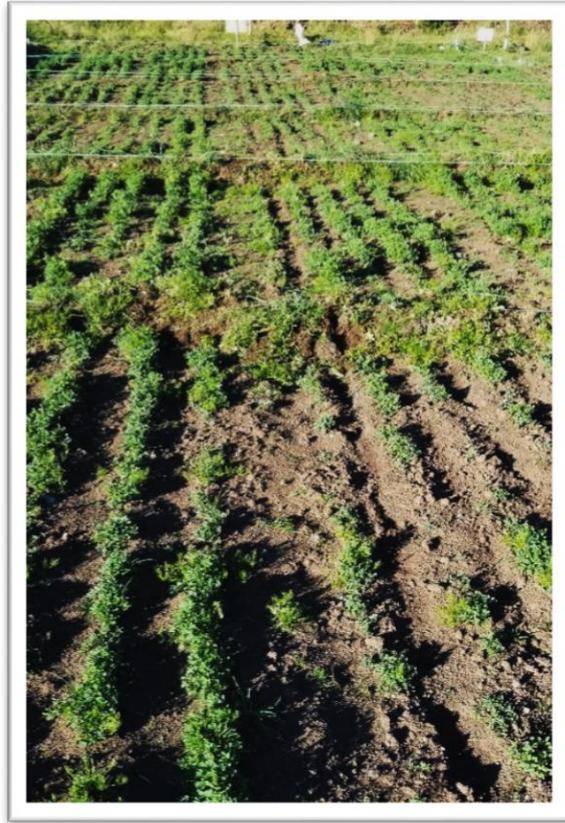


Imagen 1: Fotografía después de realizar el deshierbo

3.10.9 Riego

Tabla 16. Cálculo de Evapotranspiración por el método de Thornthwaite

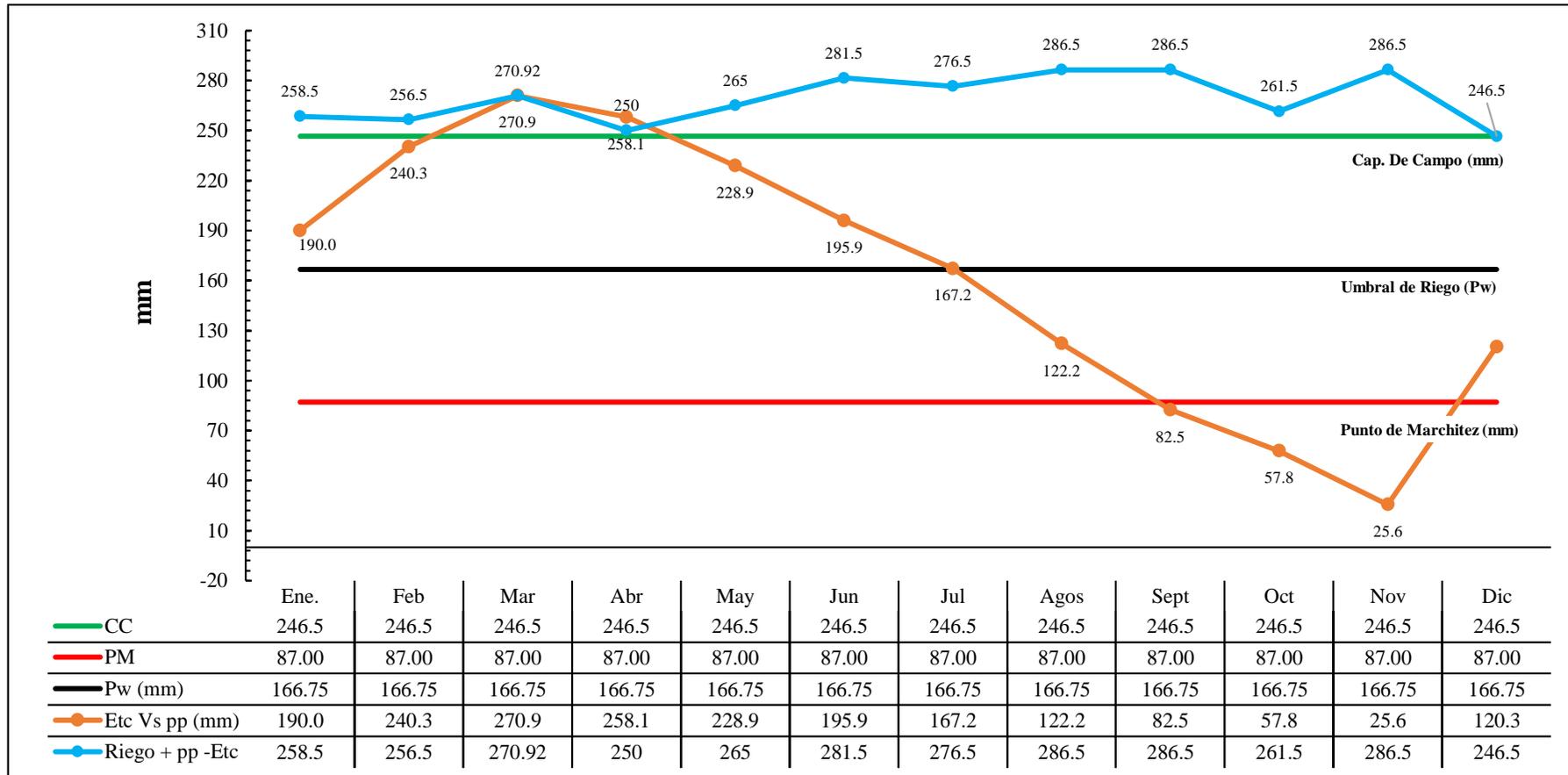
Los datos se obtuvieron de 3 estaciones experimentales: Estación Allpachaca (13°33`42.66`S 74°11`56`O), Estación Meteorológica del INIA (13°10`42`S 74°12`22.19`O) y la Estación de la Universidad San Cristóbal de Huamanga (13°08`53`S 74°13`12`O)

Meses del año 2018	T° media mensual	(i) Índice térmico mensual	ETP Teórico	(N)	f=N/12	N° de días por mes	d/30	ETP=ETo (mm/mes)	Días	Kc	ETc	CC (mm)	PM (mm)	Pw (mm)	pp (mm)	Riego	Balance
Ene.	13	4.25	56.75	12.81	1.07	31	1.03	62.61	31	0.599	37.48	246.5	87.00	166.75	99.7	12	90.00
Feb	13.05	4.27	57.01	12.54	1.05	28	0.93	55.62	59	0.734	40.85	246.5	87.00	166.75	191.1	10	250.25
Mar	13.25	4.37	58.08	12.17	1.01	31	1.03	60.87	90	0.843	51.33	246.5	87.00	166.75	82	0	280.92
Abr	11.25	3.41	47.57	11.80	0.98	30	1.00	46.77	120	0.913	42.71	246.5	87.00	166.75	29.9	0	268.11
May	11	3.30	46.28	11.46	0.95	31	1.03	45.66	150	0.930	42.46	246.5	87.00	166.75	13.2	20	258.85
Jun	10.45	3.05	43.47	11.29	0.94	30	1.00	40.88	180	0.950	38.84	246.5	87.00	166.75	5.9	35	260.91
Jul	10.35	3.01	42.96	11.39	0.95	31	1.03	42.12	211	0.927	39.04	246.5	87.00	166.75	10.3	30	262.18
Agos	11.5	3.53	48.86	11.66	0.97	31	1.03	49.05	241	0.918	45.01	246.5	87.00	166.75	0	40	257.17
Sept	13.6	4.55	59.96	12.00	1.00	30	1.00	59.96	272	0.908	54.47	246.5	87.00	166.75	14.8	40	257.50
Oct	12.14	3.83	52.20	12.44	1.04	31	1.03	55.93	302	0.899	50.30	246.5	87.00	166.75	25.6	15	247.80
Nov	13.65	4.57	60.23	12.74	1.06	30	1.00	63.96	333	0.890	56.93	246.5	87.00	166.75	3.5	40	234.37
Dic	12.35	3.93	53.30	12.91	1.08	31	1.03	59.27	363	0.881	52.23	246.5	87.00	166.75	172.5	0	354.64
		(I) Índice térmico anual	46.08	a= 1.22				ETP Anual	642.71								

- T° : Temperatura
- ETP : Evapotranspiración potencial
- Kc : Coeficiente del cultivo
- ETc : Evapotranspiración del cultivo

- CC : Capacidad de campo
- PM : Punto de Marchitez
- Pw : Umbral de riego
- Pp : Precipitación

Figura 3. Determinación del riego anual para el cultivo de la alfalfa (*Medicago sativa*, L).



De acuerdo a los cálculos establecidos se hizo la siguiente programación de riego durante el año 2019.

Tabla 17. Horas de riego por día en los meses con déficit de lluvias

Meses	Riego (mm)	Lts/m ²	Lts/ 1500 m ²	Distribución en días	Caudal Lts/min	Horas de riego /día
Ene.	12	12	18000	600	7	1:25:43
Feb	10	10	15000	500	7	1:11:26
Mar	0	0	0	0	7	0:00:00
Abr	0	0	0	0	7	0:00:00
May	20	20	30000	1000	7	2:22:51
Jun	35	35	52500	1750	7	4:10:00
Jul	30	30	45000	1500	7	3:34:17
Agos	40	40	60000	2000	7	4:45:43
Sept	40	40	60000	2000	7	4:45:43
Oct	15	15	22500	750	7	1:47:09
Nov	40	40	60000	2000	7	4:45:43
Dic	0	0	0	0	7	0:00:00

La tabla muestra los cálculos de riego realizado por día en los meses con ausencia de lluvias; en enero ese regó 1h 25m 43s por día aproximadamente.



Imagen 2: Riego por aspersión

3.10.10 Control Fitosanitario

3.10.10.1 Enfermedades

- **Peca de la alfalfa:** En las hojas, sobre todo las inferiores, se observan manchas pequeñas, circulares, de color café a negro, causado por *Pseudopeziza medicaginis*, el hongo inverna en las hojas en descomposición y sobre la superficie del suelo, cuando el tiempo es adecuado las ascosporas se desarrollan en el aire y sobre las hojas de las plantas, esta enfermedad fue más frecuente en épocas de lluvia, en el terreno se controló usando oxiclورو de cobre en polvo (3 kg ha^{-1}).
- **Mildiu de la alfalfa:** En el tejido enfermo y principalmente en el haz de los foliolos se observan áreas cloróticas, causado por *Peronospora trifoliorum*, los conidios se producen en oscuridad y con alta humedad relativa. La diseminación es por el viento o por la salpicadura de la lluvia, la incidencia fue muy leve en el campo se controló reduciendo un poco el riego en las zonas afectadas.

3.10.10.2 Virus

- **Virus del mosaico de la alfalfa:** la alfalfa es hospedero natural del virus del mosaico, si no se controla disminuye el rendimiento y la calidad del forraje, los síntomas son visibles en hojas tiernas presentando reducido crecimiento, redondeadas y con manchas verde amarillentas, su diseminación es a través de áfidos, en el cultivo realizado se vio muy poca incidencia, se eliminó las pocas plantas que la presentaron.

3.10.10.2 Plaga

- **Insecto defoliador:** Se alimenta de la alfalfa, la especie que daño el cultivo mínimamente fue identificado como *Epicauta spp*, el estado adulto se alimenta del follaje, las plantas muestran una apariencia rasgada y defoliada. Las larvas invernan en el suelo se transforman en pupa y emerge como adulto en la primavera, como los daños fueron muy leves no se aplicó ningún insecticida, solo se observó después del segundo corte, pero en mínima cantidad, la población no generaba daños económicos.

Capítulo IV

Resultados

4.1 Nodulación

4.1.1 Peso seco de nódulos por planta

Tabla 18: Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para el Peso Seco de nódulos con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

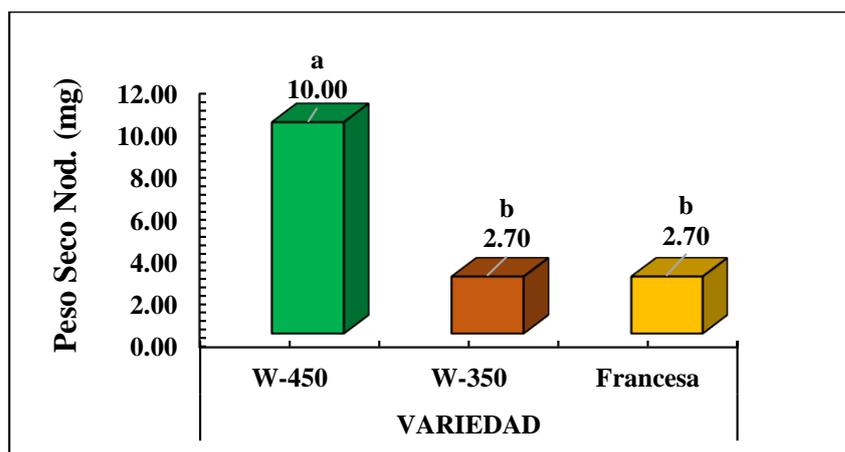
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	1.50E-03	59	2.50E-05	3.69	<0.0001	
Bloques	3.10E-05	3	1.00E-05	0.72	0.6029	(Enc*Bloq)
Encalado	9.50E-06	1	9.50E-06	0.66	0.4753	(Enc*Bloq)
Encalado*Bloques	4.30E-05	3	1.40E-05	2.14	0.0991	
Variedad	2.70E-04	2	1.30E-04	6.91	0.0101	* (Enc>Bloq*Var
Encalado*Variedad	2.00E-05	2	1.00E-05	0.53	0.604	(Enc>Bloq*Var
Encalado>Bloques*Variedad	2.30E-04	12	1.90E-05	2.91	0.0016	
Tratamiento	5.60E-04	6	9.30E-05	13.91	<0.0001	
Encalado*Tratamiento	1.40E-04	6	2.30E-05	3.37	0.0043	**
Tratamiento*Variedad	9.90E-05	12	8.20E-06	1.23	0.2727	
Encalado*Tratamiento*Variedad	5.60E-05	12	4.70E-06	0.7	0.7494	
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	7.30E-05	1	7.30E-05	10.96	0.0013	
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)	4.80E-06	1	4.80E-06	0.72	0.3983	
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)	1.00E-05	1	1.00E-05	1.52	0.221	
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)	7.90E-05	1	7.90E-05	11.88	0.0008	**
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)	8.30E-05	1	8.30E-05	12.45	0.0006	**
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)	7.80E-05	1	7.80E-05	11.69	0.0009	**
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	5.80E-05	1	5.80E-05	8.73	0.0038	**
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)	1.30E-05	1	1.30E-05	1.87	0.1742	
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)	9.80E-07	1	9.80E-07	0.15	0.7025	
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)	3.50E-05	1	3.50E-05	5.28	0.0235	**
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)	2.80E-05	1	2.80E-05	4.21	0.0426	
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)	1.10E-06	1	1.10E-06	0.17	0.6824	
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	6.80E-05	1	6.80E-05	10.24	0.0018	

C14: V3 x e0 (T3 vs T4)	4.50E-08	1	4.50E-08	0.01	0.9347
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)	2.20E-06	1	2.20E-06	0.33	0.5669
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)	9.70E-06	1	9.70E-06	1.45	0.2314
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)	7.30E-05	1	7.30E-05	10.96	0.0013
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)	4.50E-05	1	4.50E-05	6.75	0.0107
Error	7.20E-04	108	6.70E-06		
Total	2.20E-03	167			

Donde: (V₁ = Francesa; V₂= W-350; V₃=W-450) y (e0=Sin encalar; e1=Encalado)

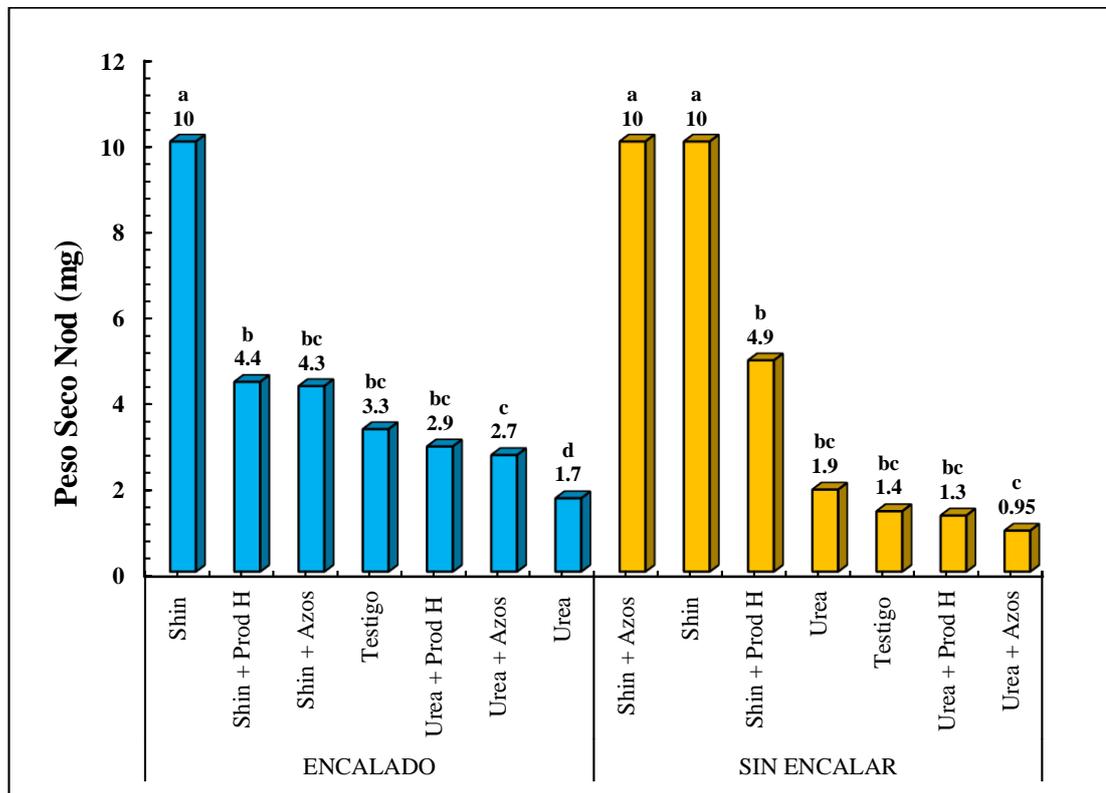
Interpretación: En el ANOVA realizado para la variable peso seco de nódulos se observa que P es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$, en los ítems **Variedad** ($P = 0.01$) y **Encalado*Tratamiento** ($P = 0.004$). Entonces hay evidencia suficiente para sustentar la aseveración de que las medias de los **pesos secos** no son iguales. Usaremos la prueba Post Hoc (Tukey) para saber cuáles son las medias que difieren una de otras ya que con base en la prueba ANOVA, no concluimos que alguna media en particular sea distinta de la otra.

Figura 4. Prueba de Tukey al 95% de confianza para el factor Variedad debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA.



Interpretación: En la figura se observa la prueba de Tukey al 95% de confianza, se tiene un promedio de peso seco de nódulos de 10mg en la variedad W-450 la cual es superior estadísticamente a las variedades W-350 y Francesa. En conclusión, si queremos obtener nódulos con buen peso seco en la siembra de alfalfa, la mejor opción es adquirir la variedad W-450.

Figura 5. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores Encalado*Tratamientos debido a la significancia (p -valor <0.05) resultante en el ANOVA.



Interpretación: En la figura se observa la prueba de Tukey al 95% de confianza, se tiene un promedio de peso seco de nódulos de 10mg en el terreno con encalado previo y tratamiento con *Sinorhizobium*, el mismo promedio de 10mg se obtiene en el terreno sin encalar y con los tratamientos de *Sinorhizobium* y *Sinorhizobium*+*Azospirillum* los cuales son superiores a los demás tratamientos. En conclusión, si queremos obtener nódulos con buen peso seco en la siembra de alfalfa, la mejor opción sería aplicar el tratamiento con *Sinorhizobium* sin necesidad de encalar el terreno.

4.1.2 Ubicación de los nódulos

Tabla 19. Determinación de la efectividad de la nodulación en alfalfa (*Medicago sativa*, L.) con *Sinorhizobium* y *Azospirillum*.

Variedad	Encalado	Tratamiento	Puntaje \bar{x} .	Interpretación
Francesa	e	Shin	4.23	Nodulac. excelente
Francesa	e	Urea	1.1	Nodulación pobre
Francesa	e	Shin + Azos	4.12	Nodulac. excelente
Francesa	e	Urea + Prod H	1.25	Nodulación pobre
Francesa	e	Shin + Prod H	3.42	Nodulación buena
Francesa	e	Urea + Azos	1.2	Nodulación pobre
Francesa	e	Testigo	1.7	Nodulación pobre
Francesa	se	Shin	3.46	Nodulación buena
Francesa	se	Urea	1.2	Nodulación pobre
Francesa	se	Shin + Azos	3.42	Nodulación buena
Francesa	se	Urea + Prod H	1.1	Nodulación pobre
Francesa	se	Shin + Prod H	2.37	Nodulación justa
Francesa	se	Urea + Azos	0.5	Nodulación pobre
Francesa	se	Testigo	1.75	Nodulación pobre
W-350	e	Shin	3.58	Nodulación buena
W-350	e	Urea	1.05	Nodulación pobre
W-350	e	Shin + Azos	3.8	Nodulación buena
W-350	e	Urea + Prod H	1.01	Nodulación pobre
W-350	e	Shin + Prod H	3.02	Nodulación buena
W-350	e	Urea + Azos	1.2	Nodulación pobre
W-350	e	Testigo	1.85	Nodulación pobre
W-350	se	Shin	3.18	Nodulación buena
W-350	se	Urea	1.2	Nodulación pobre
W-350	se	Shin + Azos	3.02	Nodulación buena
W-350	se	Urea + Prod H	0.5	Nodulación pobre
W-350	se	Shin + Prod H	2.37	Nodulación buena
W-350	se	Urea + Azos	1.05	Nodulación pobre
W-350	se	Testigo	1.90	Nodulación pobre
W-450	e	Shin	4.26	Nodulac. excelente
W-450	e	Urea	1.2	Nodulación pobre
W-450	e	Shin + Azos	4.58	Nodulac. excelente
W-450	e	Urea + Prod H	0.5	Nodulación pobre
W-450	e	Shin + Prod H	2.02	Nodulación buena
W-450	e	Urea + Azos	1.5	Nodulación pobre
W-450	e	Testigo	1.74	Nodulación pobre
W-450	se	Shin	2.15	Nodulación buena
W-450	se	Urea	1.02	Nodulación pobre
W-450	se	Shin + Azos	3.24	Nodulación buena
W-450	se	Urea + Prod H	0.9	Nodulación pobre
W-450	se	Shin + Prod H	2.37	Nodulación buena
W-450	se	Urea + Azos	1.25	Nodulación pobre
W-450	se	Testigo	1.82	Nodulación pobre

Tabla 20. Escala utilizada para puntuar la efectividad de la nodulación por su localización en las raíces.

Escala diseñada por Corbin et al., (1977) para la puntuación de los efectos de la nodulación.	
	Puntuación
Excelente nodulación; excelente potencial de fijación	[5 ; 4)
Buena nodulación; buen potencial para la fijación	[4 ; 2)
Nodulación justa; La fijación de N_2 puede no ser suficiente	[2 ; 1)
pobre nodulación, poca o ninguna fijación de N_2	[1 ; 0]

Interpretación: En la tabla 17 se observa las puntuaciones promedio de 10 plantas evaluadas, donde las variedades Francesa, W-350 y W-450 encaladas previamente y tratadas con *Sinorhizobium* y *Sinorhizobium* + *Azospirillum*, tienen de buena a excelente nodulación lo cual indica que tienen un excelente potencial de fijación de nitrógeno atmosférico.

Las plantas que recibieron en su tratamiento el fertilizante inorgánico urea, al ser evaluadas tenían poca cantidad de nódulos en las raíces, por lo que recibieron una puntuación comprendida entre 0.5 a 1.5 concluyendo así que dichas plantas fijan muy poco nitrógeno atmosférico.

4.1.3 Peso seco de las raíces

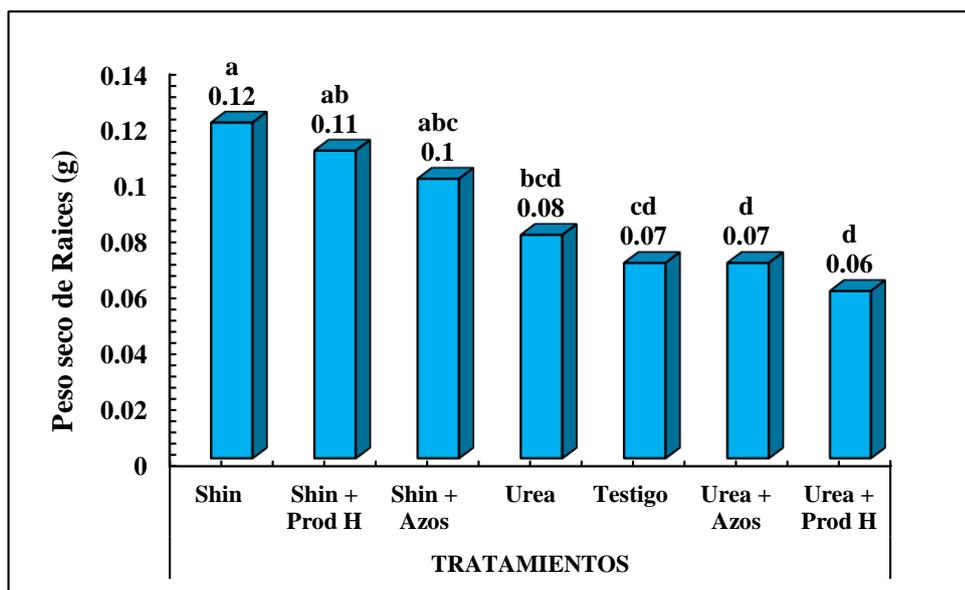
Tabla 21. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para el Peso Seco de raíces con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	3.00E-01	59	1.00E-02	3.89	<0.0001	
Bloques	4.00E-02	3	1.00E-02	0.67	0.6262	(Enc*Bloq)
Encalado	2.00E-02	1	2.00E-02	1.28	0.3396	(Enc*Bloq)
Encalado*Bloques	6.00E-02	3	2.00E-02	14.63	<0.0001	
Variedad	1.00E-02	2	1.00E-02	0.96	0.4115	(Enc>Bloq*Var
Encalado*Variedad	3.10E-03	2	1.50E-03	0.29	0.7519	(Enc>Bloq*Var
Encalado>Bloques*Variedad	6.00E-02	12	1.00E-02	4.02	<0.0001	
Tratamiento	7.00E-02	6	1.00E-02	9.16	<0.0001**	
Encalado*Tratamiento	1.00E-02	6	1.10E-03	0.82	0.5555	
Tratamiento*Variedad	2.00E-02	12	1.70E-03	1.27	0.2446	
Encalado*Tratamiento*Variedad	1.00E-02	12	4.80E-04	0.37	0.9717	
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	1.20E-03	1	1.20E-03	0.92	0.3397	
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)	3.70E-03	1	3.70E-03	2.84	0.0948	
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)	1.70E-03	1	1.70E-03	1.31	0.2547	
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	3.95	0.0493*	
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)	3.10E-03	1	3.10E-03	2.37	0.1264	
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)	3.50E-03	1	3.50E-03	2.68	0.1043	
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	3.70E-03	1	3.70E-03	2.87	0.093	
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)	3.20E-03	1	3.20E-03	2.45	0.1203	
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)	3.90E-04	1	3.90E-04	0.3	0.5848	
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)	3.40E-03	1	3.40E-03	2.58	0.111	
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)	2.50E-03	1	2.50E-03	1.95	0.1657	
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)	8.70E-04	1	8.70E-04	0.67	0.4162	
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	3.00E-04	1	3.00E-04	0.23	0.6353	
C14: V3 x e0 (T3 vs T4)	5.60E-04	1	5.60E-04	0.43	0.5134	
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	11.23	0.0011**	
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	5.86	0.0171*	
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)	2.40E-03	1	2.40E-03	1.82	0.1803	
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	4.94	0.0283*	
Error	0.14	108	1.30E-03			CV (%)
Total	0.44	167				35.2

(V₁ = Francesa; V₂= W-350; V₃=W-450), (e0=Sin encalar; e1=Encalado), T₁=*Sinorhizobium*, T₂=Urea, T₃=*Shino*+*Azosp.* T₄=Urea+Prod. Horm. T₅=*Shino* + Prod. Horm. T₆=Urea + *Azosp.* T₇=testigo)

Interpretación: En el ANOVA realizado para la variable peso seco de las raíces, se observa que P es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$, en el ítem Tratamiento ($P = 0.0001$). Entonces hay evidencia suficiente para sustentar la aseveración de que las medias de los pesos secos de las raíces no son iguales. Usaremos la prueba Post Hoc (Tukey) para saber cuáles son las medias que difieren una de otras ya que con base en la prueba ANOVA, no concluimos que alguna media en particular sea distinta de la otra.

Figura 6. Prueba de Tukey al 95% de confianza para el factor Tratamiento debido a la significancia ($p\text{-valor} < 0.05$) resultante en el ANOVA.



Interpretación: En la figura se observa la prueba de Tukey gráfica al 95% de confianza, se tiene un promedio de peso seco de las raíces de 0.12g, 0.11g y 0.10g para los tratamiento con *Sinorhizobium*, *Sinorhizobium*+ BIOZYME y *Sinorhizobium*+*Azospirillum* los cuales son superiores a los demás tratamientos Urea (0.08g); Testigo (0.07g); Urea+ *Azospirillum* (0.07g) y Urea + BIOZYME (0.06g).

En conclusión, si queremos obtener raíces con buen peso seco en la siembra de alfalfa, deberíamos aplicar los tratamientos con *Sinorhizobium*, *Sinorhizobium*+ BIOZYME o *Sinorhizobium*+*Azospirillum*.

4.2 Implantación

4.2.1 Área foliar

Tabla 22. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas para el área foliar, con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	30087.4	59	509.96	48.53	<0.0001	
Bloques	696.03	3	232.01	8.85	0.0532	(Enc*Bloq)
Encalado	4445.1	1	4445.1	169.59	0.001	(Enc*Bloq)
Encalado*Bloques	78.63	3	26.21	2.49	0.0638	
Variedad	1433.44	2	716.72	46.09	<0.0001	(Enc>Bloq*Var
Encalado*Variedad	186.93	2	93.47	6.01	0.0155	(Enc>Bloq*Var
Encalado>Bloques*Variedad	186.6	12	15.55	1.48	0.1428	
Tratamiento	21048.7	6	3508.1	333.83	<0.0001	
Encalado*Tratamiento	1230.98	6	205.16	19.52	<0.0001	
Tratamiento*Variedad	68.63	12	5.72	0.54	0.8811	
Encalado*Tratamiento*Variedad	712.28	12	59.36	5.65	<0.0001	
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	64.99	1	64.99	6.18	0.0144	
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)	840.56	1	840.56	79.99	<0.0001	
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)	280.85	1	280.85	26.72	<0.0001	
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)	31.09	1	31.09	2.96	0.0883	
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)	98	1	98	9.33	0.0028	
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)	50.2	1	50.2	4.78	0.031	
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	64.98	1	64.98	6.18	0.0144	
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)	840.5	1	840.5	79.98	<0.0001	
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)	280.84	1	280.84	26.72	<0.0001	
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)	44.94	1	44.94	4.28	0.041	
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)	98	1	98	9.33	0.0028	
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)	280.85	1	280.85	26.72	<0.0001	
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	64.98	1	64.98	6.18	0.0144	
C14: V3 x e0 (T3 vs T4)	840.5	1	840.5	79.98	<0.0001	
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)	117.05	1	117.05	11.14	0.0012	
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)	142.38	1	142.38	13.55	0.0004	
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)	264.73	1	264.73	25.19	<0.0001	
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)	307.52	1	307.52	29.26	<0.0001	
Error	1134.94	108	10.51			CV (%)
Total	31222.3	167				8.72

Donde: (V₁ = Francesa; V₂= W-350; V₃=W-450) y (e0=Sin encalar; e1=Encalado) (T₁=*Sinorhizobium*, T₂=Urea, T₃=*Shino*+*Azosp.* T₄=Urea+Prod. Horm. T₅=*Shino* + Prod. Horm. T₆=Urea + *Azosp.*, T₇=testigo)

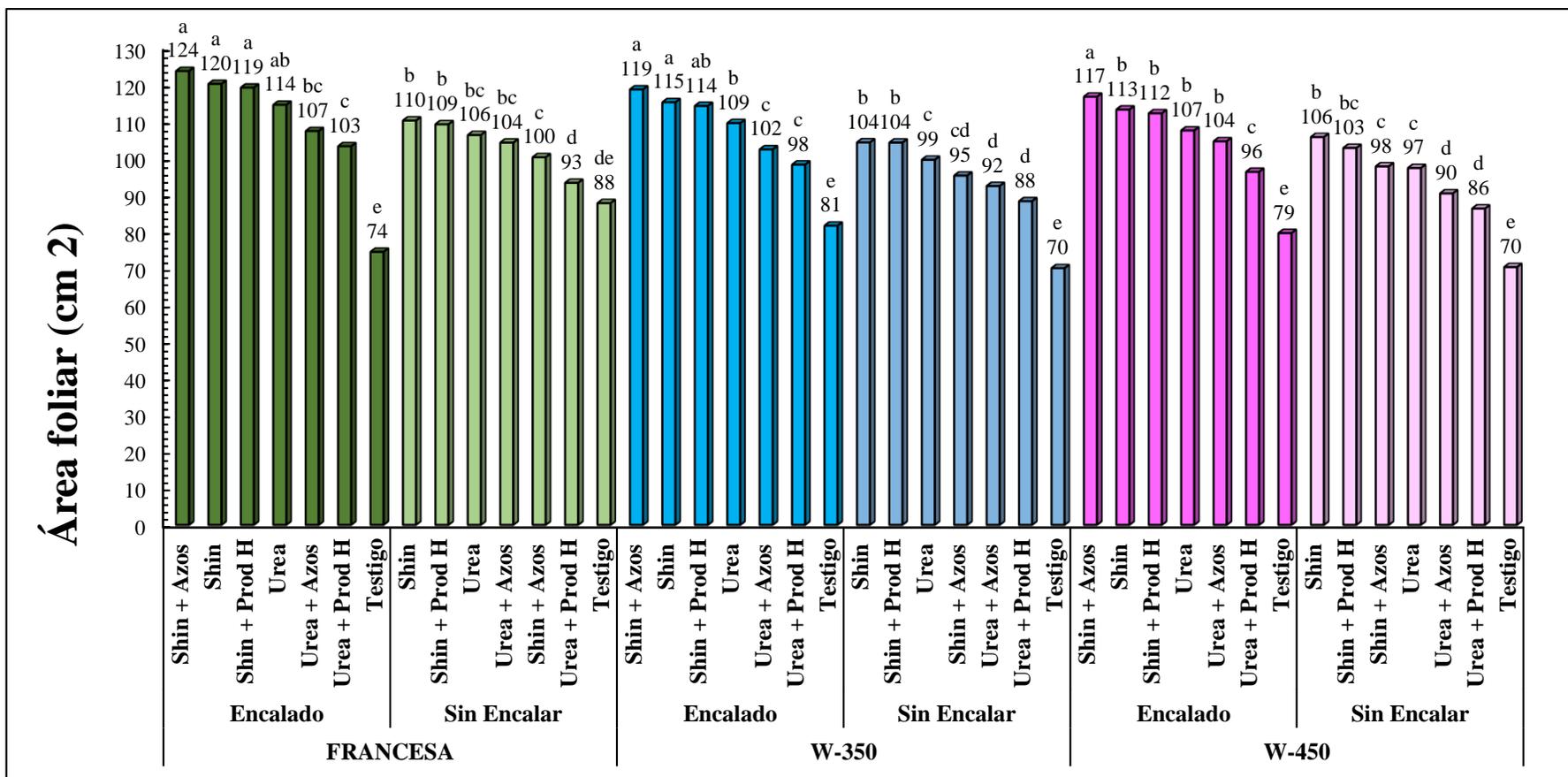
Interpretación: En el ANOVA realizado para la variable Área foliar, se observa que P es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$, en el ítem Encalado*Tratamiento*Variedad ($P = 0.0001$). Entonces hay evidencia suficiente para sustentar la aseveración de que las medias de las áreas foliares no son iguales. Usaremos la prueba Post Hoc (Tukey) para saber cuáles son las medias que difieren una de otras ya que con base en la prueba ANOVA, no concluimos que alguna media en particular sea distinta de la otra.

Interpretación: En la figura 8 se observa la prueba de Tukey gráfica al 95% de confianza, para el ítem Encalado*Tratamiento*Variedad donde el mayor promedio de área foliar se da en el terreno con un encalado previo y con el tratamiento de *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con promedios que varían entre 124, 119 y 117 cm² para las tres variedades usadas, también resultaron con un promedio bueno en su área foliar aquellas hojas que recibieron el tratamiento de *Sinorhizobium* y un encalado previo del terreno con promedios de 120, 115 y 113 cm².

Las plantas con la menor área foliar son los testigos, aquellos que no recibieron ningún tratamiento.

En conclusión, si queremos obtener buen follaje en la planta debemos encalar el suelo antes de sembrar y usar el inoculante con *Sinorhizobium* o *Sinorhizobium*+*Azospirillum*.

Figura 7. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Variedad x Tratamiento x Encalado) debido a la significancia (p-valor<0.05) resultante en el ANOVA.



4.2.2 Cobertura

Tabla 23. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para la cobertura con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	10950.2	59	185.6	16.75	<0.0001	
Bloques	831.77	3	277.26	174.63	0.0007	(Enc*Bloq)
Encalado	1073.72	1	1073.7	676.29	0.0001	(Enc*Bloq)
Encalado*Bloques	4.76	3	1.59	0.14	0.9338	
Variedad	1062.47	2	531.23	2.66	0.1106	(Enc>Bloq*Var
Encalado*Variedad	962.04	2	481.02	2.41	0.1319	(Enc>Bloq*Var
Encalado>Bloques*Variedad	2395.94	12	199.66	18.02	<0.0001	
Tratamiento	2572.31	6	428.72	38.69	<0.0001	
Encalado*Tratamiento	318.85	6	53.14	4.8	0.0002	
Tratamiento*Variedad	867.52	12	72.29	6.52	<0.0001	
Encalado*Trat. *Variedad	860.84	12	71.74	6.47	<0.0001**	
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	1.58	1	1.58	0.14	0.7061	
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)	2.46	1	2.46	0.22	0.6382	
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)	0.19	1	0.19	0.02	0.8955	
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)	191.3	1	191.3	17.26	0.0001	
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)	227.48	1	227.48	20.53	<0.0001	
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)	35.7	1	35.7	3.22	0.0755	
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	267.27	1	267.27	24.12	<0.0001	
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)	512	1	512	46.2	<0.0001	
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)	47.82	1	47.82	4.32	0.0401	
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)	227.7	1	227.7	20.55	<0.0001	
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)	0.4	1	0.4	0.04	0.8504	
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)	107.6	1	107.6	9.71	0.0023	
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	417.61	1	417.61	37.68	<0.0001	
C14: V3 x e0 (T3 vs T4)	344.01	1	344.01	31.04	<0.0001	
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)	12.01	1	12.01	1.08	0.3003	
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)	417.03	1	417.03	37.63	<0.0001	
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)	343.48	1	343.48	30.99	<0.0001	
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)	11.96	1	11.96	1.08	0.3013	
Error	1196.86	108	11.08			CV (%)
Total	12147.1	167				13.72

(V₁ = Francesa; V₂= W-350; V₃=W-450), (e₀=Sin encalar; e₁=Encalado), T₁=*Sinorhizobium*, T₂=Urea, T₃=*Shino*+*Azosp.* T₄=Urea+Prod. Horm. T₅=*Shino* + Prod. Horm. T₆=Urea + *Azosp.* T₇=testigo)

Interpretación: En el ANOVA realizado para la variable Área foliar, se observa que P es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$, en el ítem Encalado*Tratamiento*Variedad ($P = 0.0001$). Entonces hay evidencia suficiente para sustentar la aseveración de que las medias de las áreas foliares no son iguales. Usaremos la prueba Post Hoc (Tukey) para saber cuáles son las medias que difieren una de otras ya que con base en la prueba ANOVA, no concluimos que alguna media en particular sea distinta de la otra.

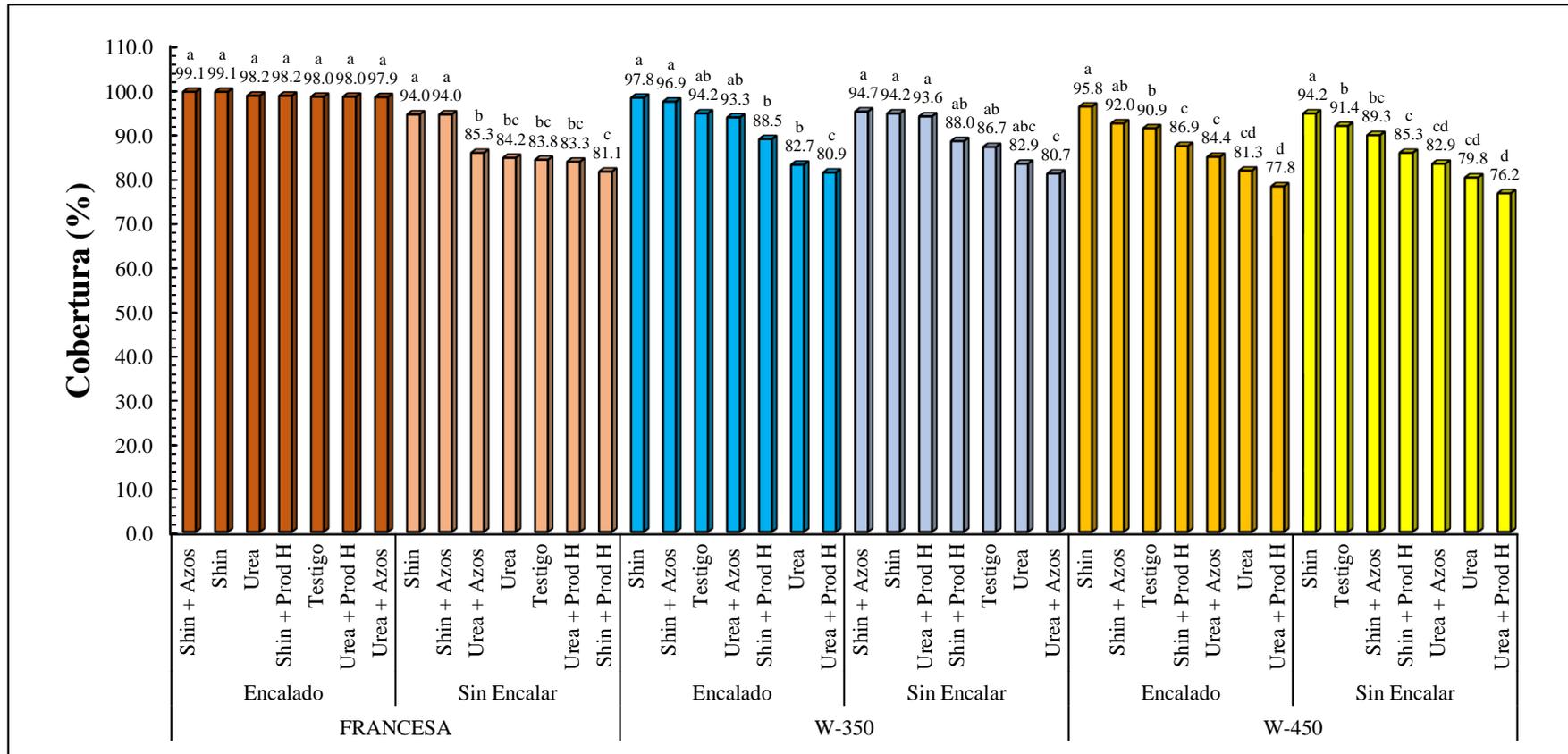
Interpretación: En la figura 9 se observa la prueba de Tukey gráfica al 95% de confianza, para el ítem Encalado*Tratamiento*Variedad donde el mayor promedio de cobertura vegetal se da en el terreno con un encalado previo y con los tratamientos de *Sinorhizobium*+*Azospirillum* y *Sinorhizobium* con coberturas de 95 a 99 %.

En la variedad Francesa, con un encalado previo se obtuvo para todos los tratamientos incluidos el testigo una cobertura que varía entre el 97 y 99%

En las parcelas que no se les hicieron un encalado previo pero que recibieron el tratamiento con *Sinorhizobium* obtuvieron un promedio de cobertura vegetal que varía de 94 a 95%.

En conclusión, si queremos obtener una buena cobertura en la siembra de alfalfa la opción más viable sería sembrar la variedad Francesa sin encalado ni tratamientos.

Figura 8. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Encalado x Variedad x Tratamiento) debido a la significancia (p -valor <0.05) resultante en el ANOVA



4.2.3 Resistencia a heladas

Tabla 24. Determinación de la resistencia a heladas en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

Estado fenológico	Botón floral	Temperatura: 10° C	Tallos		Hojas	
Variedad	Encal.	Trat.	Daño (%)	Clasf.	Daño (%)	Clasf.
Francesa	E	Shin	2	Muy Resistente	5	Muy Resistente
Francesa	E	Urea	5	Muy Resistente	8	Resistente
Francesa	E	Shin + Azos	2	Muy Resistente	5	Muy Resistente
Francesa	E	Urea + Prod H	8	Resistente	11	Resistente
Francesa	E	Shin + Prod H	6	Resistente	13	Resistente
Francesa	E	Urea + Azos	7	Resistente	10	Resistente
Francesa	E	Testigo	5	Muy Resistente	15	Resistente
Francesa	SE	Shin	5	Muy Resistente	8	Resistente
Francesa	SE	Urea	8	Resistente	11	Resistente
Francesa	SE	Shin + Azos	4	Muy Resistente	8	Resistente
Francesa	SE	Urea + Prod H	5	Muy Resistente	14	Resistente
Francesa	SE	Shin + Prod H	8	Resistente	15	Resistente
Francesa	SE	Urea + Azos	8	Resistente	16	Poco resistente
Francesa	SE	Testigo	5	Muy Resistente	18	Poco resistente
W-350	E	Shin	7	Resistente	10	Resistente
W-350	E	Urea	10	Resistente	10	Resistente
W-350	E	Shin + Azos	4	Muy Resistente	7	Resistente
W-350	E	Urea + Prod H	2	Muy Resistente	13	Resistente
W-350	E	Shin + Prod H	5	Muy Resistente	17	Poco resistente
W-350	E	Urea + Azos	7	Resistente	15	Resistente
W-350	E	Testigo	5	Muy Resistente	17	Poco resistente
W-350	SE	Shin	7	Resistente	10	Resistente
W-350	SE	Urea	10	Resistente	13	Resistente
W-350	SE	Shin + Azos	7	Resistente	10	Resistente
W-350	SE	Urea + Prod H	8	Resistente	16	Poco resistente
W-350	SE	Shin + Prod H	8	Resistente	18	Poco resistente
W-350	SE	Urea + Azos	9	Resistente	18	Poco resistente
W-350	SE	Testigo	8	Resistente	20	Poco resistente
W-450	E	Shin	5	Muy Resistente	20	Poco resistente
W-450	E	Urea	7	Resistente	10	Poco resistente
W-450	E	Shin + Azos	2	Muy Resistente	5	Muy Resistente
W-450	E	Urea + Prod H	9	Resistente	12	Resistente
W-450	E	Shin + Prod H	5	Muy Resistente	15	Resistente
W-450	E	Urea + Azos	7	Resistente	14	Resistente
W-450	E	Testigo	7	Resistente	16	Poco resistente
W-450	SE	Shin	8	Resistente	11	Resistente
W-450	SE	Urea	5	Muy Resistente	12	Resistente
W-450	SE	Shin + Azos	7	Resistente	10	Resistente
W-450	SE	Urea + Prod H	8	Resistente	15	Resistente
W-450	SE	Shin + Prod H	5	Muy Resistente	25	Poco resistente
W-450	SE	Urea + Azos	9	Resistente	20	Poco resistente
W-450	SE	Testigo	5	Muy Resistente	25	Poco resistente

Figura 9. Resistencia a heladas de hojas y tallos de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

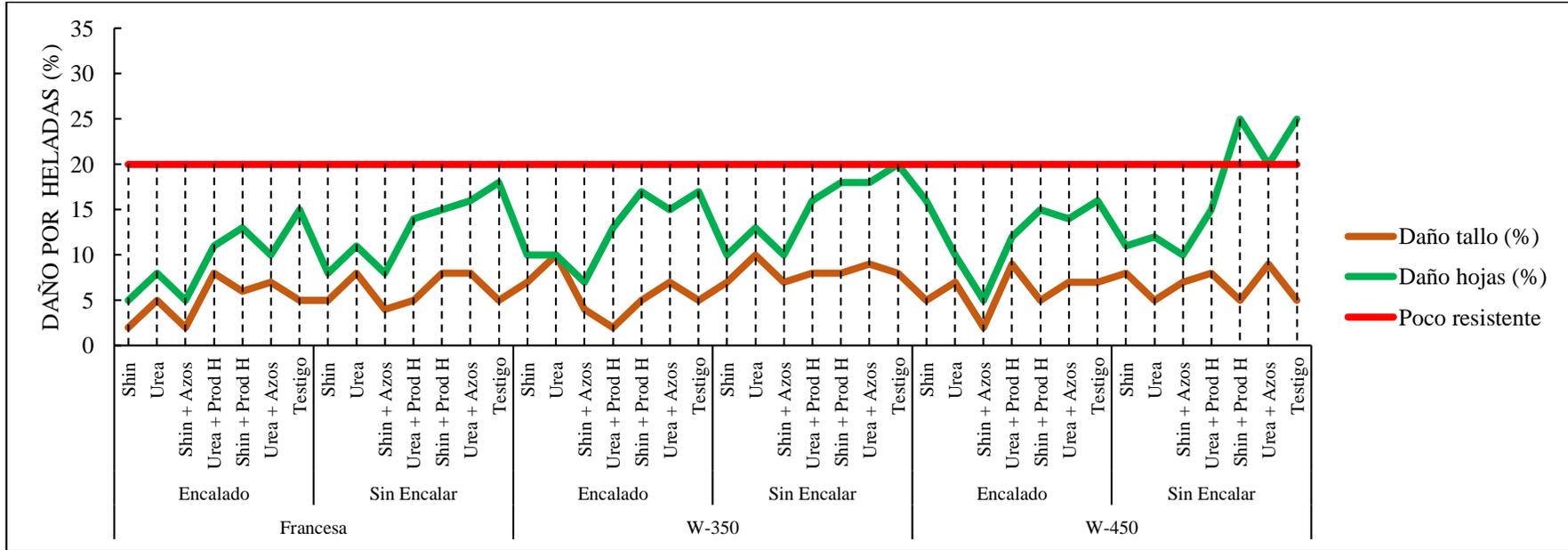


Tabla 25. Escala diseñada con la metodología de Likert para la puntuación de resistencia a heladas en tallos y hojas

Escala	Daño (%)	Conclusión
Excelente	[0; 5]	Muy Resistente
Muy bueno	(5; 15]	Resistente
Bueno	(15; 25]	Poco Resistente
Pobre	(25; 40]	Susceptible
Deficiente	(40; 50)	Muy susceptible

En la tabla 22 se tiene la evaluación de resistencia a heladas tanto de las hojas como de los tallos, la evaluación se realizó cuando la planta estaba en estado fisiológico de botón floral y una temperatura del ambiente de 10° C.

De las 10 plantas seleccionadas al azar se evaluó el daño causado a las hojas y tallos, si tenía 10 hojas y una estaba dañada pues había un daño del 10%. La escala diseñada por la metodología de Likert indica que si las heladas dañaron de 0-5% pues las plantas son muy resistentes; si hubo un daño del 6-15% pues las plantas son resistentes, etc.

En la figura 10 se observa que los tratamientos que resistieron mejor a la helada y recibieron menor daño de sus tallos fueron:

- Variedad Francesa con encalado previo y con aplicación de *Sinorhizobium*, Urea y *Sinorhizobium*+ *Azospirillum* en la
- Variedad W-350 con encalado previo y *Sinorhizobium*+ *Azospirillum*, Urea+ BIOZYME y *Sinorhizobium* +BIOZYME.
- Variedad W-450 con encalado previo y *Sinorhizobium*+ *Azospirillum*.

Los tratamientos que resistieron mejor a la helada y recibieron menor daño de sus hojas fueron:

- Variedad Francesa con encalado previo y con aplicación de *Sinorhizobium*, Urea y *Sinorhizobium*+ *Azospirillum* en la
- Variedad W-350 con encalado previo y *Sinorhizobium*+ *Azospirillum*, Urea y *Sinorhizobium*.
- Variedad W-450 con encalado previo y *Sinorhizobium*+ *Azospirillum*.

Estudios demuestran que con el uso de bacterias fijadoras de nitrógeno aumenta la resistencia a las heladas.

4.3 Calidad

4.3.1 Relación Hoja/Tallo

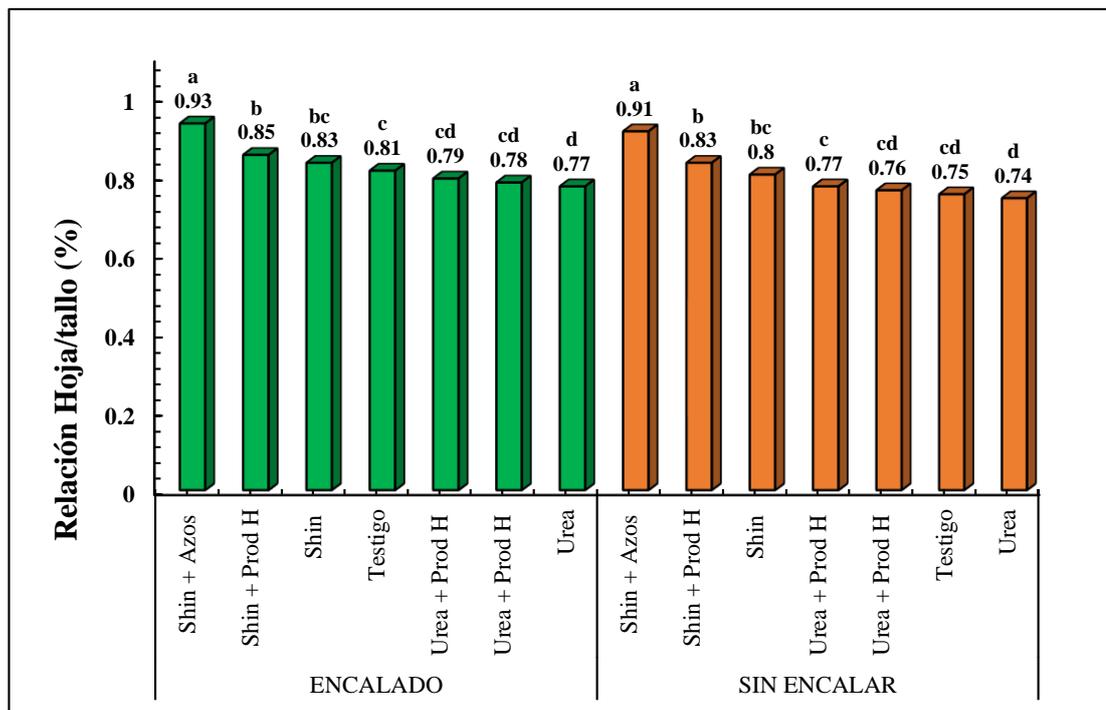
Tabla 26. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para la relación hoja/tallo con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	5.50E-01	59	1.00E-02	155.3	<0.0001	
Bloques	3.00E-02	3	1.00E-02	166.7	0.0008	(Enc*Bloq)
Encalado	4.00E-02	1	4.00E-02	604.9	0.0001	(Enc*Bloq)
Encalado*Bloques	1.80E-04	3	5.90E-05	0.99	0.4022	
Variedad	2.00E-02	2	1.00E-02	202.2	<0.0001	(Enc>Bloq*Var
Encalado*Variedad	1.30E-06	2	6.70E-07	0.01	0.9882	(Enc>Bloq*Var
Encalado>Bloques*Variedad	6.80E-04	12	5.70E-05	0.94	0.5064	
Tratamiento	4.50E-01	6	7.00E-02	1248	<0.0001	
Encalado*Tratamiento	1.00E-02	6	1.10E-03	18.32	<0.0001	
Variedad*Tratamiento	4.70E-03	12	3.90E-04	6.58	<0.0001	
Encalado*Tratamiento*Variedad	2.60E-05	12	2.20E-06	0.04	0.9999	
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	101	<0.0001	
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)	4.00E-02	1	4.00E-02	726.2	<0.0001	
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	130.4	<0.0001	
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	120.2	<0.0001	
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)	4.00E-02	1	4.00E-02	751	<0.0001	
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	120.2	<0.0001	
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	101	<0.0001	
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)	4.00E-02	1	4.00E-02	701.8	<0.0001	
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	130.4	<0.0001	
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	130.4	<0.0001	
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)	4.00E-02	1	4.00E-02	751	<0.0001	
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	120.2	<0.0001	
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	101	<0.0001	
C14: V3 x e0 (T3 vs T4)	4.00E-02	1	4.00E-02	726.2	<0.0001	
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	130.4	<0.0001	
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)	1.00E-02	1	1.00E-02	130.4	<0.0001	
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)	4.00E-02	1	4.00E-02	726.2	<0.0001	
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)	1.00E-02	1	1.00E-02	120.2	<0.0001	
Error	1.00E-02	108	6.00E-05			CV (%)
Total	5.60E-01	167				5.28

(V₁ = Francesa; V₂= W-350; V₃=W-450), (e₀=Sin encalar; e₁=Encalado), T₁=*Sinorhizobium*, T₂=Urea, T₃=*Shino*+*Azosp.* T₄=Urea+Prod. Horm. T₅=*Shino* + Prod. Horm. T₆=Urea + *Azosp.*, T₇=testigo)

Interpretación: En el ANOVA realizado para la variable relación Hoja/Tallo, se observa que P es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$, en los ítems Encalado*Tratamiento ($P = 0.0001$) y Variedad*Tratamiento ($P = 0.0001$) Entonces hay evidencia suficiente para sustentar la aseveración de que las medias de las áreas foliares no son iguales. Usaremos la prueba Post Hoc (Tukey) para saber cuáles son las medias que difieren una de otras.

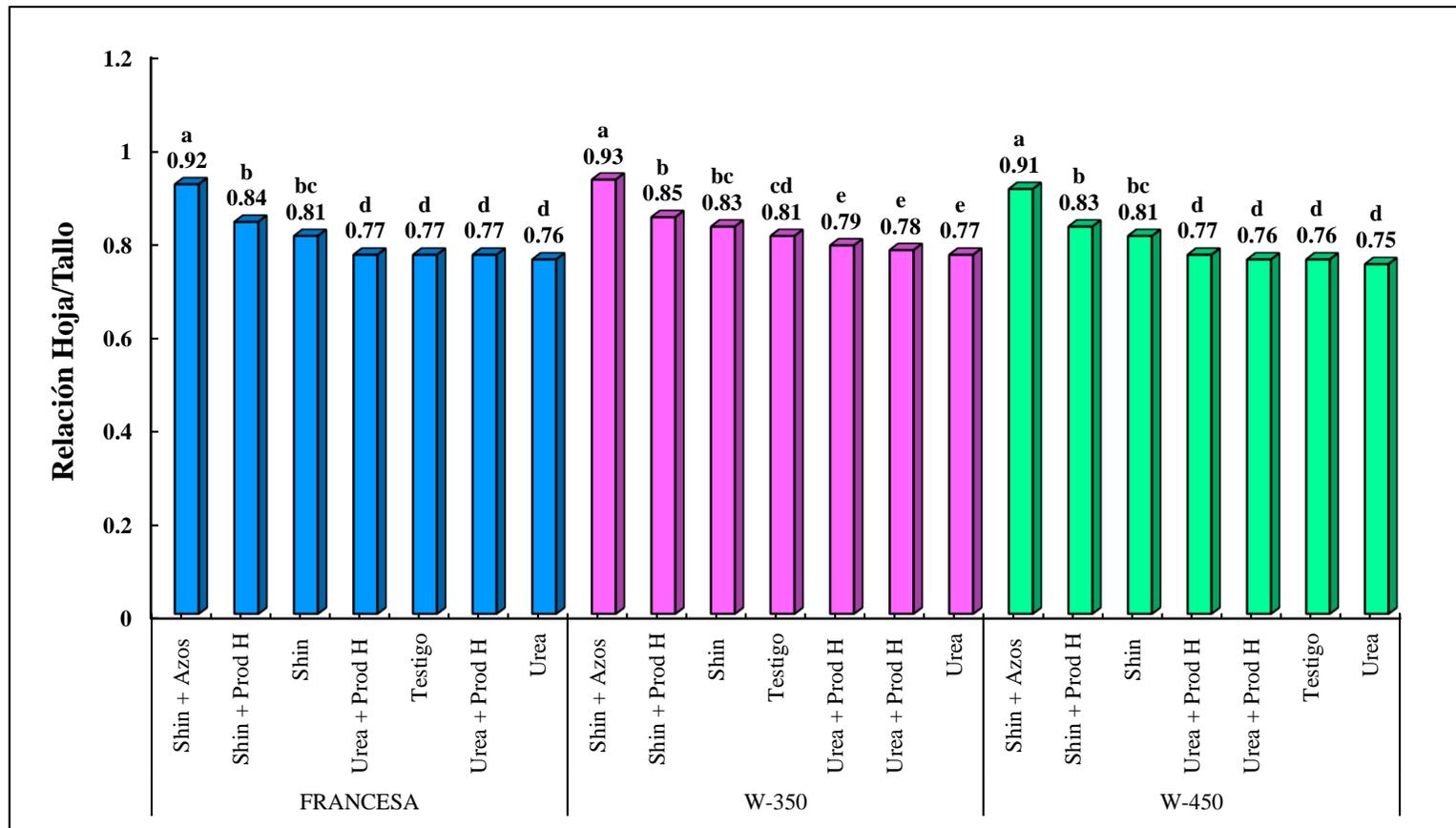
Figura 10. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores Encalado x Tratamiento debido a la significancia (p -valor <0.05) resultante en el ANOVA



Interpretación: En la figura se observa la prueba de Tukey al 95% de confianza, donde los mayores índices de relación hoja/tallo se presentan en aquellas plantas que recibieron el tratamiento con *Sinorhizobium*+*Azospirillum* ya sea encalado o sin encalar. Las plantas que recibieron el tratamiento con urea desarrollaron un poco más los tallos y una menor cantidad de hojas como se puede observar en el gráfico.

En conclusión, si queremos elevar la relación hoja/tallo es necesario agregar *Sinorhizobium*+*Azospirillum* al momento de la siembra.

Figura 11. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Variedad x Tratamiento) debido a la significancia (p -valor <0.05) resultante en el ANOVA.



Interpretación: En la figura se observa la prueba de Tukey al 95% de confianza, donde los mayores índices de relación hoja/tallo son:

- Variedad Francesa con *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con una relación de 0.92
- Variedad W-350 con *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con una relación de 0.93
- Variedad W-450 con *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con una relación de 0.91

Aquellos que tienen una menor relación hoja/tallo fueron las plantas que recibieron los siguientes tratamientos:

- Variedad Francesa con urea, con una relación de 0.76
- Variedad W-350 con urea, con una relación de 0.77
- Variedad W-450 con urea, con una relación de 0.75

En conclusión, para elevar los índices de relación Hoja/Tallo en el cultivo de alfalfa, es necesario aplicar al momento de la siembra las bacterias de *Sinorhizobium* y *Azospirillum*.

Estos resultados fueron similares a lo obtenido por Belén et al., (2009), donde la Relación Hoja/Tallo fue de 0.95, en condiciones similares de siembra.

4.3.2 Intensidad de color de hojas

Tabla 27. Determinación de la intensidad de color de hojas en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

Estado fenológico: Botón floral					
variedad	Encalado	Tratamiento	Hojas		Conclusión
			Intensidad	Escala	
Francesa	e	Shin	47.66	Verde oscuro	Planta sana
Francesa	e	Urea	50.13	Verde oscuro	Planta sana
Francesa	e	Shin + Azos	49.11	Verde oscuro	Planta sana
Francesa	e	Urea + Prod H	78.16	Verde normal	Planta sana
Francesa	e	Shin + Prod H	62.15	Verde normal	Planta sana
Francesa	e	Urea + Azos	84.16	Verde normal	Planta sana
Francesa	e	Testigo	95.15	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Shin	59.91	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Urea	64.26	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Shin + Azos	69.11	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Urea + Prod H	88.34	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Shin + Prod H	72.15	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Urea + Azos	124.16	Verde normal	Planta sana
Francesa	se	Testigo	138.15	Verde claro	Planta deficiente
W-350	e	Shin	50.12	Verde oscuro	Planta sana
W-350	e	Urea	52.59	Verde oscuro	Planta sana
W-350	e	Shin + Azos	51.57	Verde oscuro	Planta sana
W-350	e	Urea + Prod H	80.62	Verde normal	Planta sana
W-350	e	Shin + Prod H	64.61	Verde normal	Planta sana
W-350	e	Urea + Azos	86.62	Verde normal	Planta sana
W-350	e	Testigo	97.61	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Shin	62.37	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Urea	66.72	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Shin + Azos	71.57	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Urea + Prod H	90.8	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Shin + Prod H	74.61	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Urea + Azos	95.25	Verde normal	Planta sana
W-350	se	Testigo	110.25	Verde normal	Planta sana
W-450	e	Shin	53.71	Verde normal	Planta sana
W-450	e	Urea	56.18	Verde normal	Planta sana
W-450	e	Shin + Azos	41.18	Verde oscuro	Planta sana
W-450	e	Urea + Prod H	84.21	Verde normal	Planta sana
W-450	e	Shin + Prod H	68.2	Verde normal	Planta sana
W-450	e	Urea + Azos	120.23	Verde normal	Planta sana
W-450	e	Testigo	112.36	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Shin	78.26	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Urea	70.31	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Shin + Azos	75.16	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Urea + Prod H	94.39	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Shin + Prod H	78.2	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Urea + Azos	98.84	Verde normal	Planta sana
W-450	se	Testigo	167.23	Verde claro	Planta deficiente

Figura 12. Intensidad de color de hojas en variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

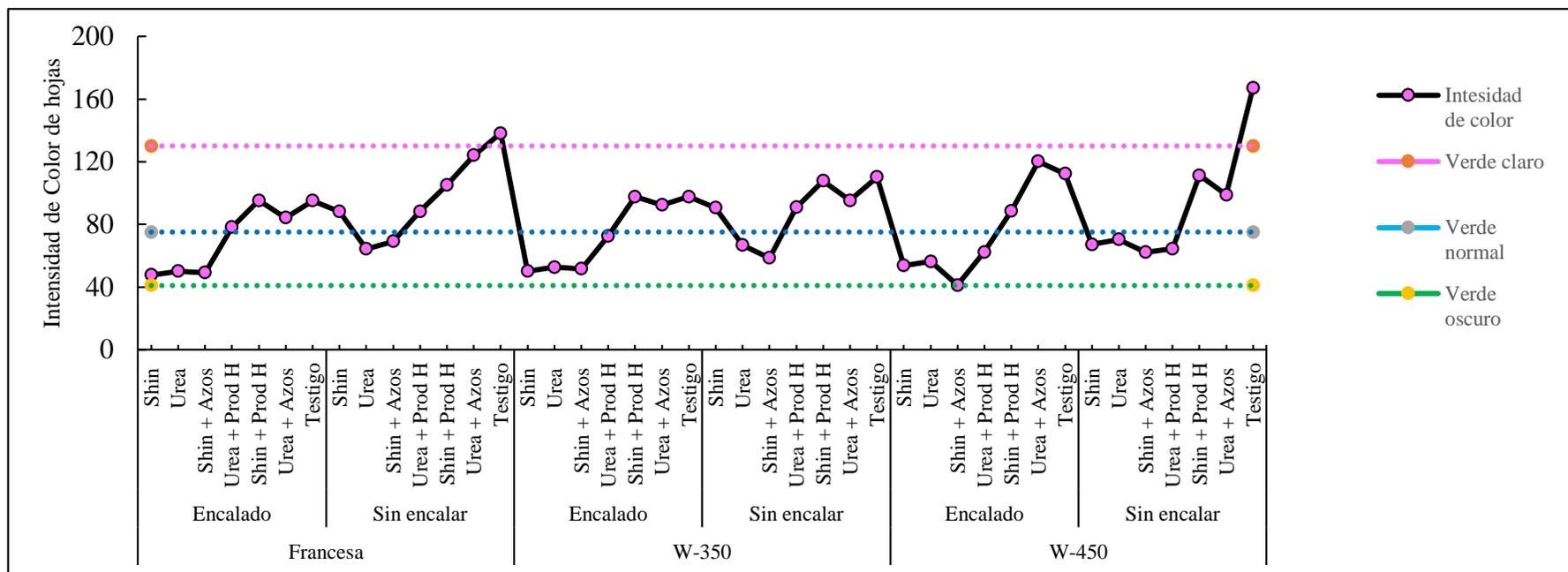


Tabla 28. Escala diseñada con la metodología de Likert para la puntuación de intensidad de color de hojas

Escala	Intensidad	Conclusión
Verde oscuro	<35; 55]	Planta sana
verde normal	[55; 130]	Planta sana
Verde claro	[130; 190]	Planta deficiente
Verde Amarillento	[190; 210)	Planta deficiente

Interpretación: En la figura 13 se observa la clasificación de acuerdo a la intensidad de color que presentan las hojas. Los tratamientos que resultaron con un color óptimo (verde oscuro) y favorable (plantas sanas) fueron:

- Variedad Francesa con Encalado y *Sinorhizobium*. con 47.66 de valor en la escala de grises
- Variedad Francesa con Encalado y Urea con 50.13 de valor en la escala de grises
- Variedad Francesa con Encalado y *Sinorhizobium* + *Azospirillum* 49.11 de valor en la escala de grises.
- Variedad W-350 con Encalado y *Sinorhizobium*. con 50.12 de valor en la escala de grises
- Variedad W-350 con Encalado y Urea con 52.59 de valor en la escala de grises
- Variedad W-350 con Encalado y *Sinorhizobium* + *Azospirillum* 51.57 de valor en la escala de grises.
- Variedad W-450 con Encalado y *Sinorhizobium*. con 53.71 de valor en la escala de grises
- Variedad W-450 con Encalado y Urea con 56.18 de valor en la escala de grises
- Variedad W-450 con Encalado y *Sinorhizobium* + *Azospirillum* 41.18 de valor en la escala de grises.

Los tratamientos que resultaron con un color bajo (amarillento) y desfavorable (deficiente) fueron:

- Variedad Francesa sin Encalado y sin ningún tratamiento (testigo) con 138.15 de valor en la escala de grises
- Variedad W-450 sin Encalado y sin ningún tratamiento (testigo) con 167.23 de valor en la escala de grises

4.3.3 Contenido de proteína

Tabla 29. Determinación del contenido de proteínas en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

Variedad	Encalado	Tratamiento	% Nitrógeno	% Proteína	Contenido Proteico (C.P)
Francesa	Encalado	Shin	2.90	18.15	C.P. bueno
Francesa	Encalado	Urea	2.64	16.52	C.P. medio
Francesa	Encalado	Shin + Azos	2.76	17.23	C.P. bueno
Francesa	Encalado	Urea + Prod H	2.61	16.29	C.P. medio
Francesa	Encalado	Shin + Prod H	2.72	16.98	C.P. medio
Francesa	Encalado	Urea + Azos	2.55	15.94	C.P. medio
Francesa	Encalado	Testigo	2.44	15.26	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Shin	2.60	16.27	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Urea	2.45	15.32	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Shin + Azos	2.55	15.95	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Urea + Prod H	2.46	15.35	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Shin + Prod H	2.56	16.02	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Urea + Azos	2.44	15.26	C.P. medio
Francesa	Sin encalar	Testigo	2.38	14.89	C.P. medio
W-350	Encalado	Shin	3.06	19.12	C.P. Excelente
W-350	Encalado	Urea	2.64	16.52	C.P. medio
W-350	Encalado	Shin + Azos	2.90	18.14	C.P. bueno
W-350	Encalado	Urea + Prod H	2.49	15.57	C.P. medio
W-350	Encalado	Shin + Prod H	2.60	16.26	C.P. medio
W-350	Encalado	Urea + Azos	2.63	16.45	C.P. medio
W-350	Encalado	Testigo	2.49	15.56	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Shin	2.56	16.02	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Urea	2.34	14.60	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Shin + Azos	2.44	15.23	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Urea + Prod H	2.34	14.63	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Shin + Prod H	2.45	15.30	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Urea + Azos	2.33	14.54	C.P. medio
W-350	Sin encalar	Testigo	2.27	14.17	C.P. medio
W-450	Encalado	Shin	2.96	18.52	C.P. bueno
W-450	Encalado	Urea	2.66	16.65	C.P. medio
W-450	Encalado	Shin + Azos	2.79	17.45	C.P. bueno
W-450	Encalado	Urea + Prod H	2.56	16.02	C.P. medio
W-450	Encalado	Shin + Prod H	2.62	16.38	C.P. medio
W-450	Encalado	Urea + Azos	2.65	16.58	C.P. medio
W-450	Encalado	Testigo	2.44	15.26	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Shin	2.58	16.13	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Urea	2.36	14.72	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Shin + Azos	2.44	15.23	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Urea + Prod H	2.36	14.75	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Shin + Prod H	2.47	15.42	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Urea + Azos	2.35	14.66	C.P. medio
W-450	Sin encalar	Testigo	2.29	14.29	C.P. medio

Figura 13. Contenido proteico en variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

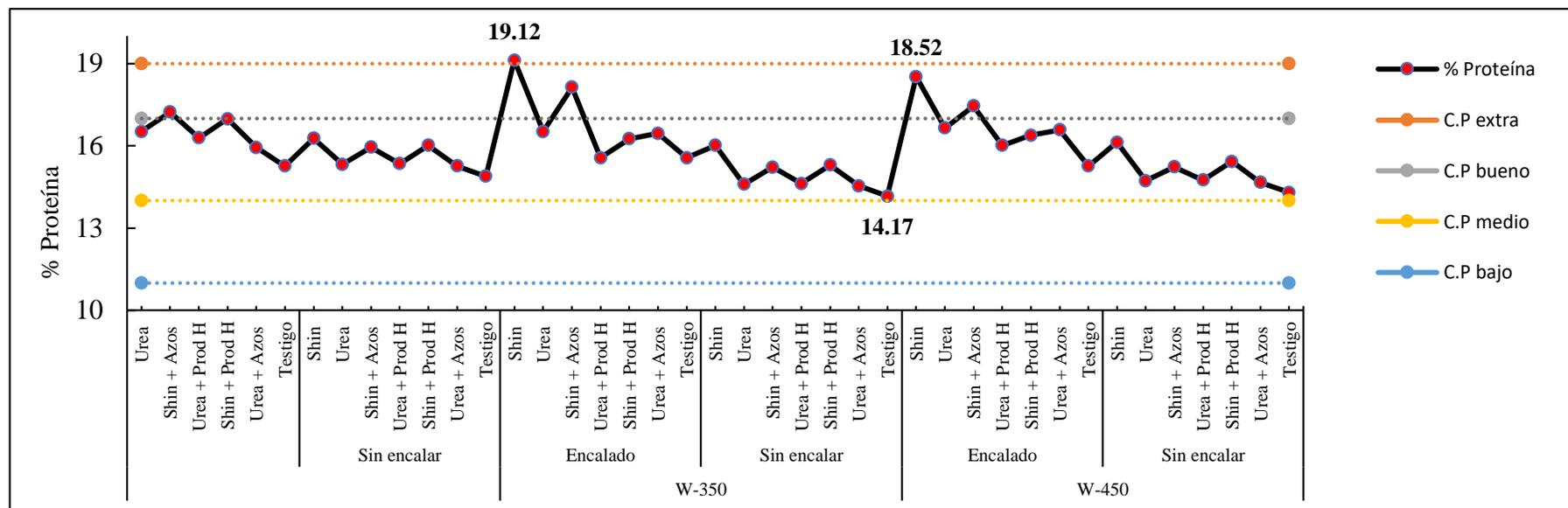


Tabla 30. Tabla diseñada con la metodología de Likert, siguiendo la puntuación de contenido proteico hecha por Ramos (1995).

Calidad	Intervalo	Contenido Proteico (C.P)
Extra	<19	C.P. Excelente
Primera	[19; 17]	C.P. bueno
Segunda	<17; 14]	C.P. medio
Tercera	<14; 11]	C.P. bajo
Cuarta	<11; 08]	C.P. deficiente
Quinta	08)	C.P. malo

Interpretación: En la figura 14 se observa la clasificación de acuerdo con el contenido proteico que presentan las hojas.

El tratamiento con un contenido proteico excelente fue:

- Variedad W-350 con encalado + *Sinorhizobium*, con un contenido proteico de 19.12%

Los tratamientos con contenidos proteicos buenos fueron los siguientes:

- Variedad Francesa con encalado y *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con un contenido proteico de 17.23%
- Variedad W-450 con encalado y *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con un contenido proteico de 18.14%
- Variedad W-350 con encalado y *Sinorhizobium*+*Azospirillum*, con un contenido proteico de 18.52%

La mayor cantidad de tratamientos se encuentran con un nivel medio de contenido proteico.

El menor porcentaje de proteína lo observamos en el tratamiento:

- Variedad W-350 sin encalar y sin ningún aporte (testigo).

El contenido de proteína máximo alcanzado en el presente trabajo fue de 19.52% , estos datos se asemejan a lo obtenido por Mendoza et al. (2007) quien en su análisis proteico alcanzo un contenido de proteínas de 23% , en condiciones similares.

4.4 Rendimiento

4.4.1 Rendimiento de materia seca (MS) de 4 cortes en (kg ha⁻¹ año⁻¹)

Tabla 31. Análisis de la variancia (ANOVA) de parcelas subdivididas, para la variable rendimiento con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* en la producción sostenible de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L).

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	(Error)
Modelo.	1.62E+08	59	2742784.36	45.15	<0.0001	
Bloques	1591043	3	530347.77	42.09	0.006	(Enc*Bloq)
Encalado	56899347	1	56899346.6	4515.24	<0.0001	(Enc*Bloq)
Encalado*Bloques	37804.83	3	12601.61	0.21	0.8911	
Variedad	2129069	2	1064534.61	20.02	0.0002	(Enc>Bloq*Var)
Encalado*Variedad	1341441	2	670720.37	12.61	0.0011	(Enc>Bloq*Var)
Enc>Bloques*Variedad	638176.8	12	53181.4	0.88	0.5739	
Tratamiento	83407596	6	13901266.1	228.82	<0.0001	
Encalado*Tratamiento	8387823	6	1397970.44	23.01	<0.0001	
Tratamiento*Variedad	4415482	12	367956.85	6.06	<0.0001	
Enc*Trat*Variedad	2976495	12	248041.23	4.08	<0.0001	
C1: V1 x e0 (T1 vs T2)	6616067	1	6616066.88	108.9	<0.0001	
C2: V1 x e0 (T3 vs T4)	298764.5	1	298764.5	4.92	0.0287	
C3: V1 x e0 (T5 vs T6)	564346.9	1	564346.88	9.29	0.0029	
C4: V1 x e1 (T1 vs T2)	4392944	1	4392944.41	72.31	<0.0001	
C5: V1 x e1 (T3 vs T4)	2149701	1	2149701.13	35.38	<0.0001	
C6: V1 x e1 (T5 vs T6)	50434.88	1	50434.88	0.83	0.3643	
C7: V2 x e0 (T1 vs T2)	9411725	1	9411724.98	154.92	<0.0001	
C8: V2 x e0 (T3 vs T4)	31752	1	31752	0.52	0.4713	
C9: V2 x e0 (T5 vs T6)	194313.8	1	194313.78	3.2	0.0765	
C10: V2 x e1 (T1 vs T2)	5710848	1	5710848.08	94	<0.0001	
C11: V2 x e1 (T3 vs T4)	21632	1	21632	0.36	0.5519	
C12: V2 x e1 (T5 vs T6)	914087.2	1	914087.21	15.05	0.0002	
C13: V3 x e0 (T1 vs T2)	9243280	1	9243280.08	152.15	<0.0001	
C14: V3 x e0 (T3 vs T4)	2592	1	2592	0.04	0.8367	
C15: V3 x e0 (T5 vs T6)	651397	1	651396.98	10.72	0.0014	
C16: V3 x e1 (T1 vs T2)	5443680	1	5443680.08	89.6	<0.0001	
C17: V3 x e1 (T3 vs T4)	35912	1	35912	0.59	0.4437	
C18: V3 x e1 (T5 vs T6)	616494.1	1	616494.08	10.15	0.0019	
Error	6561304	108	60752.81			CV (%)
Total	1.68E+08	167				12.64

(V₁ = Francesa; V₂= W-350; V₃=W-450), (e₀=Sin encalar; e₁=Encalado), T₁=*Sinorhizobium*, T₂=Urea, T₃=*Shino*+*Azosp.* T₄=Urea+Prod. Horm. T₅=*Shino* + Prod. Horm. T₆=Urea + *Azosp.* T₇=testigo)

Interpretación: En el ANOVA realizado para la variable Rendimiento, se observa que P es menor que el nivel de significancia $\alpha = 0.05$, en el ítem Encalado*Tratamiento*Variedad ($P = 0.0001$). Entonces hay evidencia suficiente para sustentar la aseveración de que las medias de los rendimientos no son iguales. Usaremos la prueba Post Hoc (Tukey) para saber cuáles son las medias que difieren una de otras.

Interpretación: En la figura 15 se observa la prueba de Tukey al 95% de confianza, para el ítem Encalado*Tratamiento*Variedad donde los mayores rendimientos que se obtuvieron están ordenados de la siguiente forma:

Suelo con encalado previo (uso de dolomita):

- Variedad Francesa con *Sinorhizobium*+*Azospirillum* con un rendimiento de 11,629.00 kg ha⁻¹ de materia seca en 4 cortes realizados.
- Variedad W-350 con *Sinorhizobium* y *Sinorhizobium*+*Azospirillum* con rendimientos de 10,860. y 10,700.00 kg ha⁻¹ de materia seca en 4 cortes realizados.
- Variedad W-450 con *Sinorhizobium* y Urea+BIOZYME con rendimientos de 10,651 y 10,320 kg ha⁻¹ de materia seca en 4 cortes realizados.

Suelo sin un encalado previo (uso de dolomita):

- Variedad Francesa con *Sinorhizobium*+*Azospirillum* y *Sinorhizobium* con rendimientos de 9400 y 9331 kg ha⁻¹ de materia seca respectivamente.
- Variedad W-350 con *Sinorhizobium*, con un rendimiento de 9229 kg ha⁻¹ de materia seca en 4 cortes realizados.
- Variedad W-450 con *Sinorhizobium*, con rendimientos de 9340, 9310 y 9291 kg ha⁻¹ de materia seca respectivamente.

En conclusión, si queremos elevar el rendimiento de la alfalfa en el campo de cultivo debemos encalar el terreno con dolomita y luego sembrar la variedad Francesa con *Sinorhizobium*+*Azospirillum*.

En el trabajo de tesis realizado el mayor rendimiento que se obtuvo fue de 11.6 t ha⁻¹, estos resultados son inferiores a lo obtenido por:

Somohano (2003) quien en su trabajo de investigación utilizando riego por aspersión reportó rendimientos de 15 t ha⁻¹ en cuatro cortes de alfalfa.

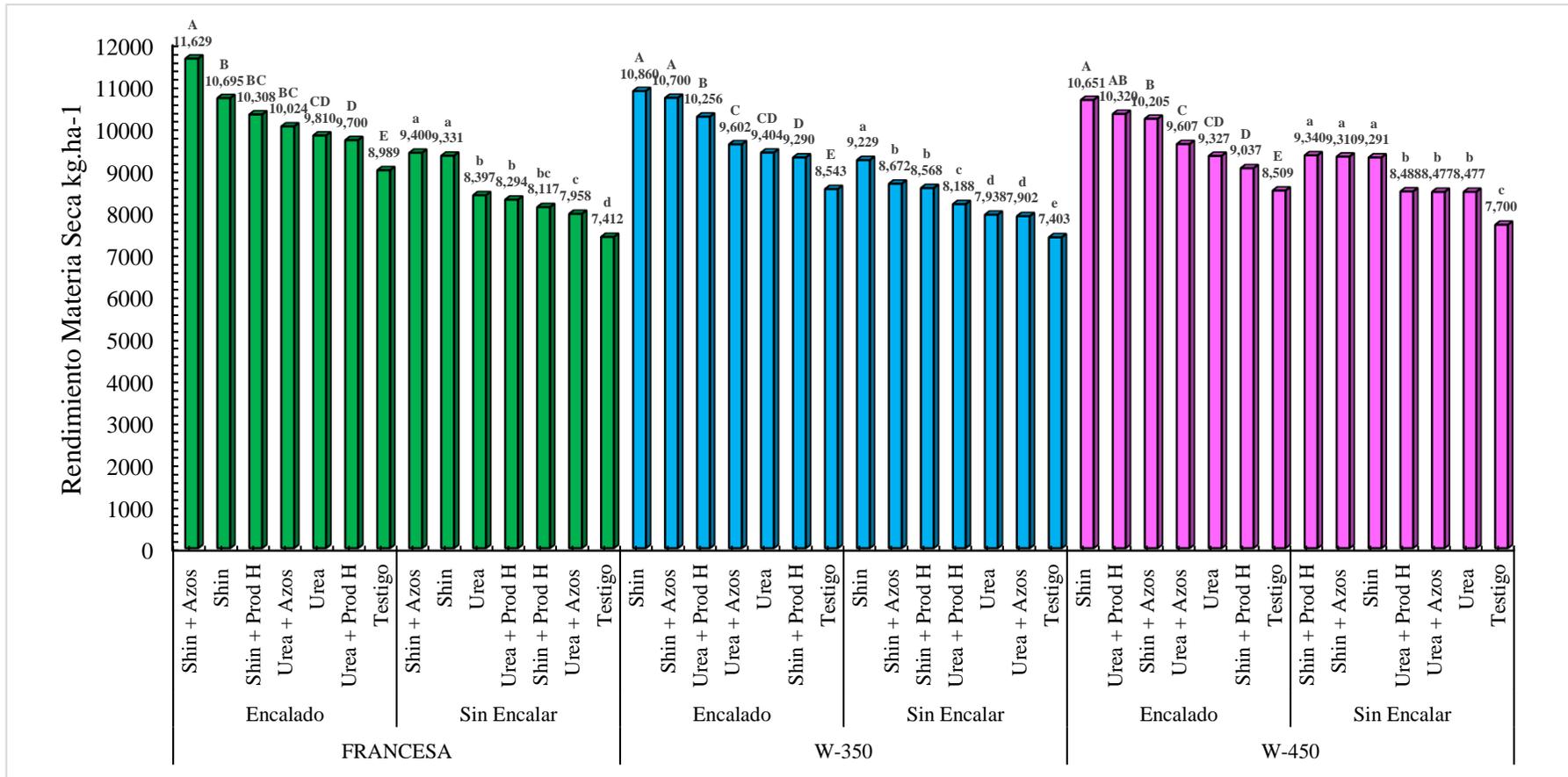
Godoy & Reyes (2004) con riego por aspersión alcanzaron rendimientos de 14 t ha⁻¹, en cuatro cortes de alfalfa.

Cavero, Medina, & Martínez (2019), Obtuvieron rendimientos de 16.3 t ha⁻¹ en cuatro cortes realizados.

Callizaya (2018) En su tesis de maestría uso tecnología de riego por aspersión, y obtuvo un rendimiento de 9.2 t ha⁻¹, en cuatro cortes de alfalfa.

Tazola (2007) En su tesis uso tecnología de riego por aspersión, y obtuvo un rendimiento de 10.5 t ha⁻¹, en cuatro cortes de alfalfa.

Figura 14. Prueba de Tukey al 95% de confianza para la interacción de los factores (Encalado x Variedad x Tratamiento) debido a la significancia (p -valor <0.05) resultante en el ANOVA



4.5 Resumen de Inoculación, Implantación y Calidad.

4.5.1 Resumen de resultados para la variable inoculación.

Tabla 32. Tratamientos efectivos en los ítems; Peso Seco de Nódulos, Ubicación de los Nódulos y peso seco de las raíces para verificar la eficiencia de la Inoculación.

Variedad	Enc	Tratamiento	P.S Nód	Ubic. de Nód	P.S. Raíces	INOCULACIÓN
-	-	Shin	+		+	Óptima
-	-	Shin + Azos	+		+	Óptima
-	-	Shin + PH	+			Buena
Francesa	E	Shin	+	+	+	Excelente
Francesa	E	Shin+Azos	+	+	+	Excelente
W-450	E	Shin	+	+	+	Excelente
W-450	E	Shin+Azos	+	+	+	Excelente

(+ = Buena; ++=Óptima; +++=Excelente)

Interpretación:

Si se quiere obtener una Inoculación Buena (+); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Cualquier variedad + *Sinorhizobium* + PH.

Si se quiere obtener una Inoculación Óptima (++); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Cualquier variedad + *Sinorhizobium*
- Cualquier variedad + *Sinorhizobium* + *Azospirillum*.

Si se quiere obtener una Inoculación Excelente (+++); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Variedad Francesa + Encalado + *Sinorhizobium*
- Variedad Francesa + Encalado + *Sinorhizobium* + *Azospirillum*.
- Variedad W-450 + Encalado + *Sinorhizobium*
- Variedad W-450 + Encalado + *Sinorhizobium* + *Azospirillum*.

4.5.2 Resumen de resultados para la variable implantación.

Tabla 33. Tratamientos efectivos en los ítems; Cobertura, Área Foliar y Resistencia a Heladas, para verificar la eficiencia de la Implantación.

Variedad	Enc.	Tratamiento	Cobertura	Área foliar	Res. heladas	IMPLANTACIÓN
Francesa	E	Shin + Azos	+	+	+	Excelente
Francesa	E	Shin	+	+	+	Excelente
Francesa	E	Shin+PH	+	+		Óptima
Francesa	E	Urea		+		Buena
Francesa	E	Urea + PH		+		Buena
Francesa	SE	Shin	+			Buena
Francesa	SE	Shin + Azos	+			Buena
W-350	E	Shin + Azos	+	+		Óptima
W-350	E	Shin	+	+		Óptima
W-350	E	Shin+PH	+	+		Óptima
W-350	SE	Shin	+	+		Óptima
W-450	E	Shin + Azos		+	+	Óptima
W-450	E	Shin		+		Buena
W-450	E	Shin+PH		+		Buena

(+ = Buena; ++=Óptima; +++=Excelente)

Interpretación:

Si se quiere obtener una Implantación Buena (+); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Variedad Francesa + Urea + suelo encalado.
- Variedad Francesa + (*Sinorhizobium* ó *Sinorhizobium* + *Azospirillum*).
- Variedad W-450 + (*Sinorhizobium* ó *Sinorhizobium* + PH).

Si se quiere obtener una Implantación Óptima (++); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Variedad Francesa + Encalado + *Sinorhizobium* + PH.
- Variedad W-350 + Encalado + (*Sinorhizobium* ó *Sinorhizobium* + *Azospirillum* ó *Sinorhizobium* + PH).

Si se quiere obtener una Implantación Excelente (+++); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Variedad Francesa + Encalado + *Sinorhizobium*
- Variedad Francesa + Encalado + *Sinorhizobium* + *Azospirillum*

4.5.3 Resumen de resultados para la variable calidad.

Tratamiento	Rel. hoja/tallo	Int. Color de hojas	Anal. De Nitrógeno	CALIDAD
Shin	+	+	+	Excelente
Shin+PH	+	+		Óptima
Shin + Azos	+	+	+	Excelente
Urea		+		Buena
Urea + PH		+		Buena
Urea + Azos		+		Buena

(+ = Buena; ++=Óptima; +++=Excelente)

Si se quiere obtener una Calidad Buena (+); se debería usar los siguientes tratamientos:

- Urea
- Urea + BIOZYME
- Urea + *Azospirillum*

Si se quiere obtener una Calidad Óptima (++); se debería usar los siguientes tratamientos:

- *Sinorhizobium* + BIOZYME

Si se quiere obtener una Calidad Excelente (+++); se debería usar los siguientes tratamientos:

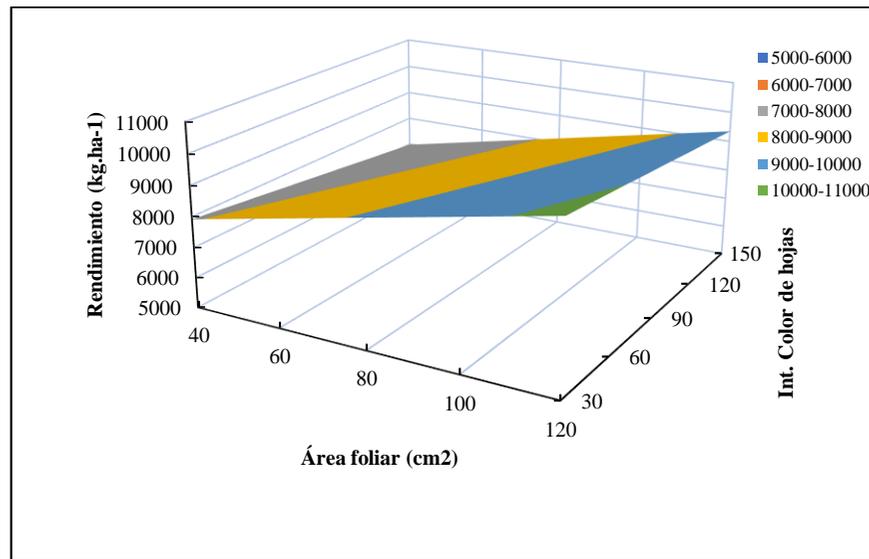
- *Sinorhizobium*
- *Sinorhizobium*+ *Azospirillum*

4.5.4 Regresión múltiple para predicción de rendimiento.

Tabla 34. Búsqueda de la mejor ecuación de regresión múltiple

Items	P.S Nód	P.S. Raíces	Cobertura	Área foliar	Rel. hoja/tallo	Int. Color de hojas	Anal. De Nitrógeno	Área foliar/ Int. Color de hojas
	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X5/X7
R2 (%)	37.10	37.67	47.20	61.30	39.60	55.90	78.20	68.27
R2 Ajustado (%)	36.60	37.12	46.70	60.90	39.10	55.50	78.00	67.46
Significancia General	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.001

Figura 15. Regresión múltiple con mejor predicción



$$Y = Y = 6966 + 29.79X_5 - 7.96X_7 \quad R^2 = 68.27$$

La tabla 34 muestra los valores de R^2 y la significancia mínima ($P < 0.05$) de las regresiones donde:

$$Y = \text{Rendimiento y } X_1, X_2, X_3 \dots \text{Variables independientes.}$$

Se puede notar que las variables con un mayor valor de R^2 son X_5, X_7 y X_8 . Tomaremos las variables X_5 y X_7 debido a que los datos de estas variables son mas fáciles de obtener, dejaremos la variable X_8 ya que sus datos son costosos de obtener. Con las dos variables X_5 y X_7 graficamos la figura 15 donde se ve la variación del rendimiento frente a las variables Área foliar y Intensidad de color de hojas.

4.6 Análisis económico

Tabla 35. Rentabilidad anual por la venta de la alfalfa

Descripción del tratamiento			Rendimiento (kg)	Precio de venta (S/.)	ingresos (S/.)	Costo de producción (S/.)	Ganancia anual bruta (S/.)
VF	E	Shin	10694.5	3	32083.5	24085.81	7997.69
VF	E	Urea	9809.7	3	29429.1	24285.81	5143.29
VF	E	Shin + Azos	11628.5	3	34885.5	24085.81	10799.69
VF	E	Urea + Prod H	9700.23	3	29100.69	24585.81	4514.88
VF	E	Shin + Prod H	10308	3	30924	24385.81	6538.19
VF	E	Urea + Azos	10023.9	3	30071.7	24305.81	5765.89
VF	E	Testigo	8989	3	26967	24045.81	2921.19
VF	SE	Shin	9330.5	3	27991.5	17585.81	10405.69
VF	SE	Urea	8397.2	3	25191.6	17785.81	7405.79
VF	SE	Shin + Azos	9400.2	3	28200.6	17585.81	10614.79
VF	SE	Urea + Prod H	8293.75	3	24881.25	18085.81	6795.44
VF	SE	Shin + Prod H	8116.7	3	24350.1	17885.81	6464.29
VF	SE	Urea + Azos	7957.9	3	23873.7	17805.81	6067.89
VF	SE	Testigo	7412.3	3	22236.9	17545.81	4691.09
W-350	E	Shin	10860.2	3	32580.6	24085.81	8494.79
W-350	E	Urea	9404.2	3	28212.6	24285.81	3926.79
W-350	E	Shin + Azos	10700.3	3	32100.9	24085.81	8015.09
W-350	E	Urea + Prod H	10255.75	3	30767.25	24585.81	6181.44
W-350	E	Shin + Prod H	9290.45	3	27871.35	24385.81	3485.54
W-350	E	Urea + Azos	9602.15	3	28806.45	24305.81	4500.64
W-350	E	Testigo	8543.25	3	25629.75	24045.81	1583.94
W-350	SE	Shin	9228.7	3	27686.1	17585.81	10100.29
W-350	SE	Urea	7937.95	3	23813.85	17785.81	6028.04
W-350	SE	Shin + Azos	8671.75	3	26015.25	17585.81	8429.44
W-350	SE	Urea + Prod H	8188.2	3	24564.6	18085.81	6478.79
W-350	SE	Shin + Prod H	8567.75	3	25703.25	17885.81	7817.44
W-350	SE	Urea + Azos	7902.2	3	23706.6	17805.81	5900.79
W-350	SE	Testigo	7403.25	3	22209.75	17545.81	4663.94
W-450	E	Shin	10650.9	3	31952.7	24085.81	7866.89
W-450	E	Urea	9327.45	3	27982.35	24285.81	3696.54
W-450	E	Shin + Azos	10205.25	3	30615.75	24085.81	6529.94
W-450	E	Urea + Prod H	10320.3	3	30960.9	24585.81	6375.09
W-450	E	Shin + Prod H	9036.7	3	27110.1	24385.81	2724.29
W-450	E	Urea + Azos	9607.4	3	28822.2	24305.81	4516.39
W-450	E	Testigo	8509	3	25527	24045.81	1481.19
W-450	SE	Shin	9290.5	3	27871.5	17585.81	10285.69
W-450	SE	Urea	8477.2	3	25431.6	17785.81	7645.79
W-450	SE	Shin + Azos	9310.2	3	27930.6	17585.81	10344.79
W-450	SE	Urea + Prod H	8487.5	3	25462.5	18085.81	7376.69
W-450	SE	Shin + Prod H	9340.3	3	28020.9	17885.81	10135.09
W-450	SE	Urea + Azos	8476.7	3	25430.1	17805.81	7624.29
W-450	SE	Testigo	7700.2	3	23100.6	17545.81	5554.79

INTERPRETACIÓN

En la tabla 35 se observa las ganancias anuales que se obtienen por la venta de alfalfa, el precio por kilo es de 3 soles, los costos de producción varían de acuerdo a los insumos que se apliquen en la siembra, los detalles de los costos de producción se describen en los anexos 3 y 4; ahora se describirán las ganancias más importantes obtenidas con un menor costo y un mejor margen:

La mayor ganancia anual es de S/.10,799.69 correspondiente a la variedad Francesa con un encalado previo del terreno y agregando inoculante con *Sinorhizobium* + *Azospirillum*; tratamiento que obtuvo un rendimiento de 11,628.5 kg de materia seca por año y un costo de producción de S/.24085.81

En segundo lugar, tenemos una ganancia de S/.10,614.79 con la siembra de la variedad Francesa sin encalar el terreno y agregando el inoculante con *Sinorhizobium* + *Azospirillum*; con un rendimiento de materia seca anual de 9,400 kg y un costo de producción de S/.17,585.81.

En conclusión, pese a que existe una diferencia considerable en cuanto a rendimiento (11,628kg frente a 9,400 kg) 2,228 kg de diferencia que con un costo de 3 soles sería S/.6,684; también existe una diferencia de costos de producción (S/.24085.81 frente a S/.17,585.81) 6500 soles. Lo que nos lleva a obtener ganancias netas similares. Se tiene entonces q al encalar el suelo se obtiene un rendimiento superior, pero con costos elevados de producción. Lo cual será beneficioso al pasar los años; ya q en el segundo año tendrás más producción, pero ya los gastos se habrán reducido.

Conclusiones

Para la hipótesis general

Se concluye que la co-inoculación con *Sinorhizobium-Azospirillum* y el encalado del suelo incrementan la producción de variedades de alfalfa (*Medicago sativa*, L.) en la comunidad de Llachoccmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm.

Para las hipótesis específicas

1.- La co-inoculación incrementa el rendimiento de la alfalfa, como se ve en los resultados obtenidos, donde la variedad Francesa tratada con *Sinorhizobium* y *Azospirillum* obtiene un rendimiento de 11,629 kg ha⁻¹ que es superior a todas las demás.

2.- La co-inoculación mejora la calidad de la alfalfa, como se observa en los análisis de nitrógeno realizadas donde la variedad w-350 con *Sinorhizobium* tiene un contenido protéico de 19.12% que es superior a las demás.

3.- La co-inoculación mejora la implantación de la alfalfa, como se observa en los resultados donde para obtener una excelente calidad del cultivo se debe usar en la siembra el *Sinorhizobium* ó *Sinorhizobium* + *Azospirillum* independientemente de la variedad de alfalfa utilizada.

4.- La inoculación con *Sinorhizobium* reemplaza el uso de la urea (46% N), se demuestra en el rendimiento obtenido; en la variedad Francesa tratada con *Sinorhizobium* se obtiene un rendimiento de 10,695 kg ha⁻¹, y en la misma variedad usando urea se obtiene un rendimiento de 9810 kg ha⁻¹.

5.- La inoculación con *Azospirillum* reduce el uso de BIOZYME como se observa en los rendimientos obtenidos, donde el *Azospirillum* cumple la función hormonal en la planta potenciando su crecimiento desarrollo, producción y calidad.

6.- El uso de inoculantes disminuye los costos de producción del cultivo de alfalfa, ya que para suplir la deficiencia de nitrógeno en la siembra de una hectárea de alfalfa se utiliza 500g de inoculante con un precio de 20 soles, mientras que si usamos

fertilizante nitrogenado (Urea) gastaríamos 348 soles como se indica en los gastos de producción.

Recomendaciones

El presente trabajo de investigación se realizó a 3814 msnm, por lo que el encalado del suelo es muy importante, ya que a esa altitud el suelo es relativamente ácido y muchos nutrientes se encuentran fijados.

Se recomienda el uso de las bacterias *Sinorhizobium* y *Azospirillum* para ayudar en el crecimiento y desarrollo de la planta ya que son amigables con el medio ambiente y disminuyen notablemente el uso de fertilizantes nitrogenados.

Referencias bibliográficas

- Adrian, W., & Matto, N. (2020). *Efecto de abonos orgánicos inoculados en el rendimiento del forraje del cultivo de alfalfa (Medicago sativa L.) variedad "Alta Sierra" en condiciones edafoclimáticas de Marías Dos de Mayo, Huánuco - 2020.*
- Albán, R. (Universidad C. del E. (1992). *Evaluación de quince variedades de alfalfa en dos localidades en la sierra ecuatoriana.*
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemist, Inc., Virginia, USA.*
- Basilagup, D. ., & Rossanigo, R. (2007). El cultivo de la alfalfa en Argentina. *Basilagup*, 15–17.
- Belén, L., Florencia, M., Pistorio, M., & Rosas, S. (2009). Respuesta de la alfalfa (Medicago sativa L.) a la inoculación simple y mixta con bacterias solubilizadoras de fosfato y Sinorhizobium meliloti. *Springer*. <https://doi.org/DOI 10.1007/s00374-009-0408-5>
- Benítez, A. (1980). Pastos y Forrajes. *Editorial Universitaria*, 173–210.
- Bustillo, E. (2015). *Pasturas y forrajes*. <http://www.pasturasyforrajes.com>
- Caballa, R., & Palomino, E. (2019). *Producción de forraje en líneas a diferente distanciamiento en cuatro variedades de alfalfa (Medicago sativa), a 2750 msnm. Ayacucho. UNSCH.*
- Callizaya, J. (2018). *Aplicacion de tres laminas de agua con riego por aspersión en el cultivo de la alfalfa en la Estacion Experimental de Choquenaira La Paz.*
- Castiblanco, L. (1960). Métodos de siembra y cantidad de semilla en alfalfa (Medicago sativa L.). *SciELO*, X, 23. <https://doi.org/10.15446%2Facag>
- Cavero, J. ., Medina, E. T., & Martínez, A. (2019). Riego por aspersión de la alfalfa en

el valle del Ebro: dosis y manejo del riego. *DIGITAL.CSIC+*, 7.

CIAT. (1982). Manual para la Evaluación Agronómica. *Cali - Colombia*, 150.

Corbin, E., Brockwell, J., & Gault, R. R. (1977). Nodulation studies on chickpea (*Cicer arietinum*). *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 126-134.

Cotrina, A., Florián, R., & Tapia, A. (2011). *Producción de alfalfa dormante utilizando cal y magnekling para corregir la acidez del suelo*. Universidad Nacional de Cajamarca.

Delgado, H. (2013). *Colores HTML para páginas Web - Código hexadecimal en RGB*.

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., & W., R. C. (2010). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. *Versión 2010*.

Espinosa, J., & Molina, E. (1999). *ACIDEZ Y ENCALADO DE LOS SUELOS*.

Ferlini, A. (2006). *Co-inoculación en Soja (*Glycine max*) con *Bradyrhizobium japonicum* y *Azospirillum brasilense**.

Ferlini, H., Díaz, S., & Génesis, C. (2006). Inoculación con *Azospirillum* en cultivo de alfalfa. *Cámara de Semilleristas de La Bolsa de Cereales*, 19(60), 15–16.

García-Blásquez, C. (Universidad N. S. C. de H. (2018). Manual del cultivo del alfalfa. *Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga*, 2–10.

Giller, K. E. (2001). Nitrogen fixation in tropical cropping system. *2o Ed. CABI Publishing. Waillingford. UK*.

Godoy, A., & Reyes, I. (2004). Riego en alfalfa. Memorias de la XVI Semana Internacional de Agronomía. *FAZ-UJED*, 46–51.

Green, J. H., H. Appel, E., Rehrig, J., Harnsomburana, J., Chang, P., & BalintKurti, and C. S. (2012). *A Flexible and affordable method to quantify 2D phenotypes*

from imagery Plant Method. 8–45.

Guevara, L., & Pinna, J. (2020). Influencia de la inoculación con *Sinorhizobium meliloti* (Rhizobiaceae) y la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento de la “alfalfa” “*Medicago sativa* L., (Fabaceae) en las parcelas del Seminario Mayor San Carlos San Marcelo, Moche-Trujillo: Perú. *Alicia*, 80.

Gutiérrez, A., Palate, A., & Franklin, R. (2012). *Densidad de siembra e inoculación de rhizobium (rhizobium meliloti) en semillas de alfalfa (medicago sativa, l.) en semilleros.*

Hesterman, O. (1988). Exploiting forage legumes for nitrogen contribution in cropping systems. *Madison Wisconsin. USA*, 155–166.

INIA. (2006). Efecto del cultivo intercalado de trigo (*Triticum aestivum* L.) y lenteja (*Lens culinaris*) sobre la absorción de nitrógeno. *Chile*.

INIA. (2017). Manual de procedimientos de los Análisis de Suelos y Agua con fines de Riego. *Gráfica Bracamonte Lima-Perú*, 15-19 pp.

Kalu, B. A., & Fick, G. W. (1981). Quantifying morphological development of alfalfa *medicago sativa* cultivar iroquois for studies of herbage quality. *Crop Science*, 21(2), 267–271. <https://eurekamag.com/research/006/239/006239115.php>

Kelling, K. A., Bundy, L. G., & Wolkowski, R. P. (1993). Why are legume nitrogen credits changing? En. *Proceedings 23th National Alfalfa Symposium. Appleton. Wisconsin. USA.*

Kreder, P. (2020). Efecto de la inoculación con rizobios y la fertilización fosfatada sobre la nodulación y producción de alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Agriscientia*, 37(2), 40. <https://doi.org/doi.org/10.31047/1668.298x.v37.n2.24067>

Lara, C., & Jurado, P. (2014). Paquete tecnológico para producir alfalfa. *Centro de Investigación Regional Norte Centro*, 10-12 pp.

Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W., & Wolfinger, R. (1996). SAS System for

Mixed Models. Cary: SAS Institute.

- Llamas, G., & Nuñez, G. (2002). USO DE ENSILAJES DE GRAMÍNEAS EN RACIONES BAJAS EN ALFALFA Y SU EFECTO EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE. *Memorias de La XIV Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED*, 419.
- Mendoza, S., Inzunza, M., Catalán, E., Villa, M., Román, A., & Rodríguez, A. (2007). *Producción de alfalfa irrigada con sistemas de riego por aspersión y superficial*. 8.
- Morot-Gaudry, J. F. (1997). Assimilation de Im azote chez les plantes. Aspects physiologiques, biochimique et moleculaire. INRA. Ed. Paris. France.
- Pacotaype, H. (2017). *Dinámica poblacional de Sinorhizobium meliloti en semillas de alfalfa (Medicago sativa L.) pelletizadas con diferentes materiales, Ayacucho 2017*. UNSCH.
- Pordomingo, A., G, Volpi Lagreca, G., Orienti, W., & Welsh, R. (2004). Evaluación del agregado de taninos en dietas de distinto nivel energético en vaquillonas para carne. *Revista Argentina de Producción Animal* 24(1), 67.
- Ramos, A. C. (1995). Calidad del forraje y del heno. *Departamento de Producción Agraria*, 102.
- Rébora, C., & Bertona, A. (2012). *Con una alta relación hoja/tallo se logra alfalfa de mejor calidad*. Universidad Nacional de Cuyo Argentina. <https://losandes.com.ar/article/alta-relacion-hojatallo-logra-alfalfa-mejor-calidad-704971>
- Riday, H., & Brummer, E. (2006). Persistence and yield stability of intersubspecific alfalfa hybrids. *Crop Sci.* 46, 1058–1063.
- Rodríguez, F. P. (2003). *Desarrollo ganadero en zonas altoandinas con la introducción del cultivo de la alfalfa dormante en seco*. Universidad de Sevilla.

- Sánchez, N. (1967). Mejoramiento de cosechas. *Editorial Limusa*, 72.
- Schneider, C. A., & W. S. Rasband, and K. W. E. (2012). *Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat. Method.* 9.
- Somasegaran, P., & Hoben, J. (1985). *Handbook for Rhizobia: Methods in legume-Rhizobium technology.* <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8375-8>
- Somohano, M. (2003). Sistema por aspersión para la producción de forrajes. *ENGALEC. Torreón, Coah. México.*
- Steenhoudt, O., & Vanderleyden, J. (2000). Azospirillum , a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 487–506. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x>
- Sulca, A. (2015). *Producción en forraje de cinco variedades de alfalfa (Medicago sativa L). Ticllas a 2395 msnm – Ayacucho.*
- Supo, J. (2012). *Seminarios de investigación científica.*
- Tazola, V. (2007). *Evaluación de la producción de una pradera de alfalfa (Medicago sativa L.) asociada con festuca (Festuca arundinaceae Scherb) bajo diferentes láminas de riego y profundidades de aplicación de fósforo en Choquenaira.*
- Tineo, A., Cerda, M., Palomino, R., & Girón, J. (2014). *Fertilidad de suelos (Guía de Prácticas).*
- Tineo, A. L. (2012). El Análisis funcional de la Variancia. *AMI Ayacucho E.I.R.L*, 140.
- Trinchant, J. C., Devron, J. J., & Rigaud, J. (1997). Assimilation symbiotique de Im azote. *INRA. Ed. Paris. France*, 134–147.
- Vásquez, E., & Millones C; (2019). Crecimiento y desarrollo foliar de plantas de alfalfa (*Medicago sativa L.*), inoculadas con cepas de *Rhizobium*, aisladas de pajuro (*Erythrina edulis*). *Revista Científica UNTRM*, 2(1), 10.

Warman, L., Moles, A. T., & Edwards, W. (2011). Not so simple after all: searching for ecological advantages of compound leaves. *Oikos*, 120(6), 813–821. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.19344.x>

Zubizarreta, J. (1992). Producción lechera en Estados Unidos. *CREA*, 80–84.

Anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	INVESTIGACIÓN
<p>Problema General</p> <ul style="list-style-type: none"> ¿Influirán la co-inoculación <i>Sinorhizobium-Azospirillum</i> y el encalado en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>, L.) en Llachocmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm? <p>Problemas específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> ¿La co-inoculación <i>Rhizobium-Azospirillum</i> influirá en el rendimiento de la materia seca de la alfalfa? ¿La co-inoculación <i>Rhizobium-Azospirillum</i> influirá en el contenido proteico de la alfalfa? ¿La co-inoculación <i>Rhizobium-Azospirillum</i> influirá en la implantación de la alfalfa? ¿El encalado del suelo influirá en el rendimiento de la materia seca y contenido proteico de la alfalfa? ¿La inoculación con <i>Sinorhizobium</i> influirá en el menor uso de fertilizantes químicos nitrogenados? ¿La inoculación con <i>Azospirillum</i> influirá en el menor uso auxinas, citoquininas y giberelinas? ¿La producción de la alfalfa será rentable con el uso de la co-inoculación y el encalado? 	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> Evaluar la eficiencia de la co-inoculación <i>Sinorhizobium</i> y <i>Azospirillum</i> y el encalado en la producción sostenible de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>, L.) en Llachocmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm. <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Evaluar la influencia de la co-inoculación en el rendimiento de materia seca de la alfalfa. Evaluar la influencia de la co-inoculación en la calidad de la alfalfa. Evaluar la influencia de la co-inoculación en la implantación de la alfalfa. Evaluar el efecto del encalado del suelo y su influencia en el rendimiento de las variedades de alfalfa. Evaluar si la inoculación con <i>Sinorhizobium</i> influye en el menor uso de fertilizantes químicos nitrogenados Evaluar si la inoculación con <i>Azospirillum</i> influye en el menor uso de productos hormonales que contengan auxinas, citoquininas y giberelinas. Evaluar los costos de producción y la rentabilidad económica. 	<p>Hipótesis general</p> <ul style="list-style-type: none"> La co-inoculación con <i>Sinorhizobium-Azospirillum</i> y el encalado del suelo incrementan la producción de variedades de alfalfa (<i>Medicago sativa</i>, L.) en la comunidad de Llachocmayo-Chiara-Ayacucho a 3814 msnm. <p>Hipótesis Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> La co-inoculación incrementa el rendimiento de la alfalfa La co-inoculación mejora la calidad de la alfalfa La co-inoculación mejora la implantación de la alfalfa El encalado del suelo incrementa el rendimiento y calidad de la alfalfa La inoculación con <i>Sinorhizobium</i> reduce el uso del fertilizante químico nitrogenado La inoculación con <i>Azospirillum</i> reduce el uso de BIOZYMEs que contengan citoquininas, auxinas y giberelinas. El uso de inoculantes disminuye los costos de producción del cultivo de alfalfa. 	<p>Variable independiente</p> <ul style="list-style-type: none"> Co-inoculación. <p>Variables dependientes</p> <ul style="list-style-type: none"> Rendimiento Calidad Implantación <p>Variables intervinientes</p> <ul style="list-style-type: none"> Semilla Encalado Hormonas Fertilización 	<p>1. Línea de investigación Desarrollo sostenible</p> <p>2. Tipo de investigación</p> <p>2.1 Por su propósito fundamental Aplicada</p> <p>2.2 Por su función científica Descriptiva-explicativa</p> <p>3. Nivel Explicativo</p> <p>4. Población Plantas de alfalfa</p> <p>(clasificado según el autor: José Supo)</p>

Anexo 2. Operacionalización de las variables

Variables dependientes	dimensiones	Indicador	Valores finales	Tipo de variable
Rendimiento	Toneladas por hectárea	Peso de la materia seca	Kilogramos	Cuantitativa continua
		Número de cortes por año		Cuantitativa continua
Calidad	Crecimiento y desarrollo	Intensidad de color de hojas	Escala 0-250 donde 0 es la intensidad más alta y 250 la más baja	Cuantitativa discreta
		Contenido de clorofila	Escala	Cuantitativa continua
		Relación hoja/tallo	Cociente del Peso de hoja/Peso del tallo	Cuantitativa continua
		Análisis de nitrógeno	% de proteína	Cuantitativa continua
Implantación	Resistencia y desarrollo	Cobertura	Porcentaje (%)	Cuantitativa continua
		Área foliar	Expresado en cm ²	Cuantitativa continua
		Resistencia a heladas	Según escala de Likert	Cuantitativa discreta
Variable independiente	dimensiones	Indicador	Valores finales	Tipo de variable
Co-Inoculación	<i>Sinorhizobium</i>	Peso seco de nódulos	gramos	Cuantitativa continua
		Ubicación de los nódulos	1. Corona 2. Raíz principal 3. Raíces secundarias	Cualitativa nominal
	<i>Azospirillum</i>	Altura de planta	Centímetros	Cuantitativa continua
		Peso de raíces	gramos	Cuantitativa continua

Anexo 3. Costo de instalación de una hectárea de alfalfa

COSTO DE PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DEL ALFALFA (INSTALACIÓN)					
Clase de semilla	Certificada				
Sistema de siembra	Surcos				
Nivel tecnológico	alto				
ACTIVIDAD	UNIDAD DE MEDIDA	Nº DE UNIDAD	VALOR UNITARIO (S/.)	COSTO TOTAL (S/.)	
I.-COSTOS DIRECTOS					
A. GASTOS DE CULTIVO					
1. Mano de Obra:					
1.1 Preparación de terreno					
- Limpieza de terreno	Jor.	2	35	70	
- Preparación de camas	Jor.	10	35	349	
1.2 Siembra					
- Distribución de semilla	Jor.	5	35	174	
1.3 Abonamiento					
- Abonamiento	Jor.	3	35	105	
1.4 Labores Culturales					
- 1er. Deshierbo	Jor.	5	35	174	
- 2do. Deshierbo	Jor.	5	35	174	
- 3er. Deshierbo	Jor.	5	35	174	
- Riegos	Jor.	1	35	35	
1.5 Control Fitosanitario					
- Aplicación pesticidas	Jor.	5	35	174	
1.6 Cosecha					
- 1er. Corte (5 meses)	Jor.	5	35	174	
- 2do. Corte	Jor.	5	35	174	
- 3er al 5vo. Corte	Jor.	15	35	523	
SUB-TOTAL DE MANO DE OBRA			66	35	2302
- Instalación sistema de riego presurizado					
	uid	1	5000	5000	
2. Maquinaria Agrícola:					
- Pasada dos rejas cruzadas	H/M	4	130	520	
- Rastra	H/M	3	130	390	
- Mullido (roto-vector)	H/M	2	130	260	
SUB-TOTAL MAQUINARIA AGRÍCOLA			9		6169
3. Insumos:					
3.1 Inoculante	bolsa	4	10	40	
3.2 Semilla	Kg.	25	27	672	
3.3 Fertilizantes (40-160-30)					
- Urea	Kg.	150	2	240	
- Abono orgánico	t	3	500	1500	
- Cloruro de Potasio	Kg.	50	2	80	
3.4 BIOZYME	UND	2	150	300	
3.4 Pesticidas					
- Agridex	Lt.	1	29	29.12	
3.5 Agua	m3	450	0.2	81.36	

SUB-TOTAL DE INSUMOS				2942.48
Imprevistos (2%)				228.3
COSTOS DIRECTOS				11414
TOTAL DE COSTOS DIRECTOS				11642.1

Anexo 4. Costo de mantenimiento de la alfalfa (*Medicago sativa*, L.)

COSTO DE PRODUCCIÓN DEL CULTIVO DEL ALFALFA (MANTENIMIENTO)				
Clase de semilla	Certificada			
Sistema de siembra	Surcos			
Nivel tecnológico	alto			
ACTIVIDAD	UNIDAD DE MEDIDA	Nº DE UNIDAD	VALOR UNITARIO (S/.)	COSTO TOTAL (S/.)
I.-COSTOS DIRECTOS				
A. GASTOS DE CULTIVO				
1. Mano de Obra:				
1.1 Abonamiento				
- Abonamiento	Jor.	2	35	70.2
1.4 Labores Culturales				
- Deshierbos (3)	Jor.	30	35	1053.0
- Riegos	Jor.	15	35	526.5
1.5 Control Fitosanitario				
- Aplicación pesticidas	Jor.	6	35	210.6
1.6 Cosecha				
- Cortes (5)	Jor.	60	35	2106.0
SUB-TOTAL DE MANO DE OBRA				3966.3
2. Insumos:				
2.1 Inoculante				
- <i>Sinorhizobium</i>	Unid.	4	10.0	40.0
2.1 Fertilizantes (20-80-30)				
- Urea	Kg.	80	1.4	108.0
- Abono orgánico	t	3	500.0	1500.0
- Cloruro de Potasio	Kg.	40	1.6	64.8
2.2 Pesticidas				
- Agridex	Lt.	2	27.2	54.4
- Kenyo	Lt.	1	182.0	182.0
2.3 Agua				
	m3	750	0.181	135.7
SUB-TOTAL DE INSUMOS				2084.83
Imprevistos (5%)				302.56
COSTOS DIRECTOS				6353.69

Anexo 7. Análisis de proteína



VALLE GRANDE | **50 AÑOS**
Laboratorio de Química Agrícola | 1965-2015

SOLICITANTE : MUÑOZ GUZMÁN, John Wilmer
PREDIO : MUÑOZ GUZMÁN, John Wilmer
MATRIZ : ALFALFA (*Medicago sativa*, L.)

ANÁLISIS N.º : 2330-01FRUT-42FRUT-2020
LUGAR : AYACUCHO
FECHA DE RECEP.: 05/01/2020

INFORME DE ANÁLISIS DE FRUTO-ESPECIAL
PARÁMETRO: NITRÓGENO TOTAL

Variedad	Encalado	Tratamiento	Resultado	Unidad
Francesa	Encalado	Shin	2.90	%
		Urea	2.64	%
		Shin + Azos	2.76	%
		Urea + Prod H	2.61	%
		Shin + Prod H	2.72	%
		Urea + Azos	2.55	%
		Testigo	2.44	%
	Sin encalar	Shin	2.60	%
		Urea	2.45	%
		Shin + Azos	2.55	%
		Urea + Prod H	2.46	%
		Shin + Prod H	2.56	%
		Urea + Azos	2.44	%
		Testigo	2.38	%
W-350	Encalado	Shin	2.06	%
		Urea	2.64	%
		Shin + Azos	2.90	%
		Urea + Prod H	2.49	%
		Shin + Prod H	2.60	%
		Urea + Azos	2.63	%
		Testigo	2.49	%
	Sin encalar	Shin	2.56	%
		Urea	2.34	%
		Shin + Azos	2.44	%
		Urea + Prod H	2.34	%
		Shin + Prod H	2.45	%
		Urea + Azos	2.33	%
		Testigo	2.27	%
W-450	Encalado	Shin	2.96	%
		Urea	2.66	%
		Shin + Azos	2.79	%
		Urea + Prod H	2.56	%
		Shin + Prod H	2.62	%
		Urea + Azos	2.65	%
		Testigo	2.44	%
	Sin encalar	Shin	2.58	%
		Urea	2.36	%
		Shin + Azos	2.44	%
		Urea + Prod H	2.36	%
		Shin + Prod H	2.47	%
		Urea + Azos	2.35	%
		Testigo	2.29	%

Los resultados están expresados en muestra seca

Donde: %: masa/masa

Técnica : Dumas

MSc. Quím. Alexis Saucedo Chacón
JEFE DE LABORATORIO



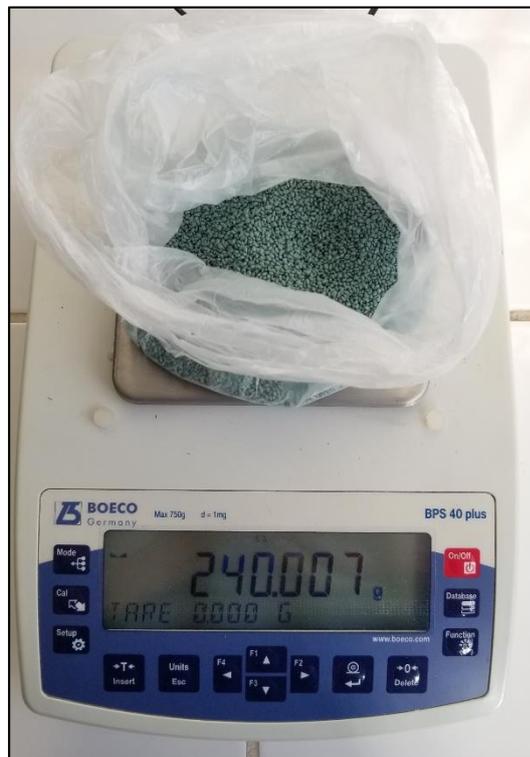
MSc. Agr. Julio Castro Lazo
DIRECTOR DEL LABORATORIO

Promotora de Obras Sociales y de Instrucción Popular
Panamericana Sur Km. 144, San Vicente de Cañete, Lima-Perú
Teléfono: (511) 581 2261 | Celular: 991 692 563
Email: Laboratorio@vallegrande.edu.pe | Web: www.vallegrande.edu.pe

Anexo 8. Semilla certificada



Anexo 9. Peso de la semilla en balanza de precisión.



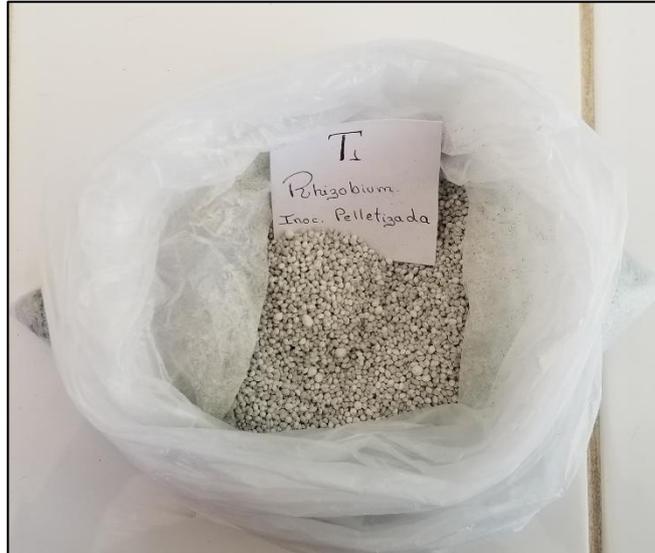
Anexo 10. Inoculante turfoso con bacterias de *Sinorhizobium*, obtenido del laboratorio AD-205 Horticultura y semillas UNSCH.



Anexo 11. Inoculante liquido con bacterias de *Azospirillum*. obtenido del laboratorio AD-205 Horticultura y semillas UNSCH.



Anexo 12. Semillas pelletizadas listas para la siembra



Anexo 13. BIOZYME



Anexo 14. Encalado del suelo (Dolomita)



Anexo 15. Encalado del suelo culminado



Anexo 16. Siembra



Anexo 17. Emergencia



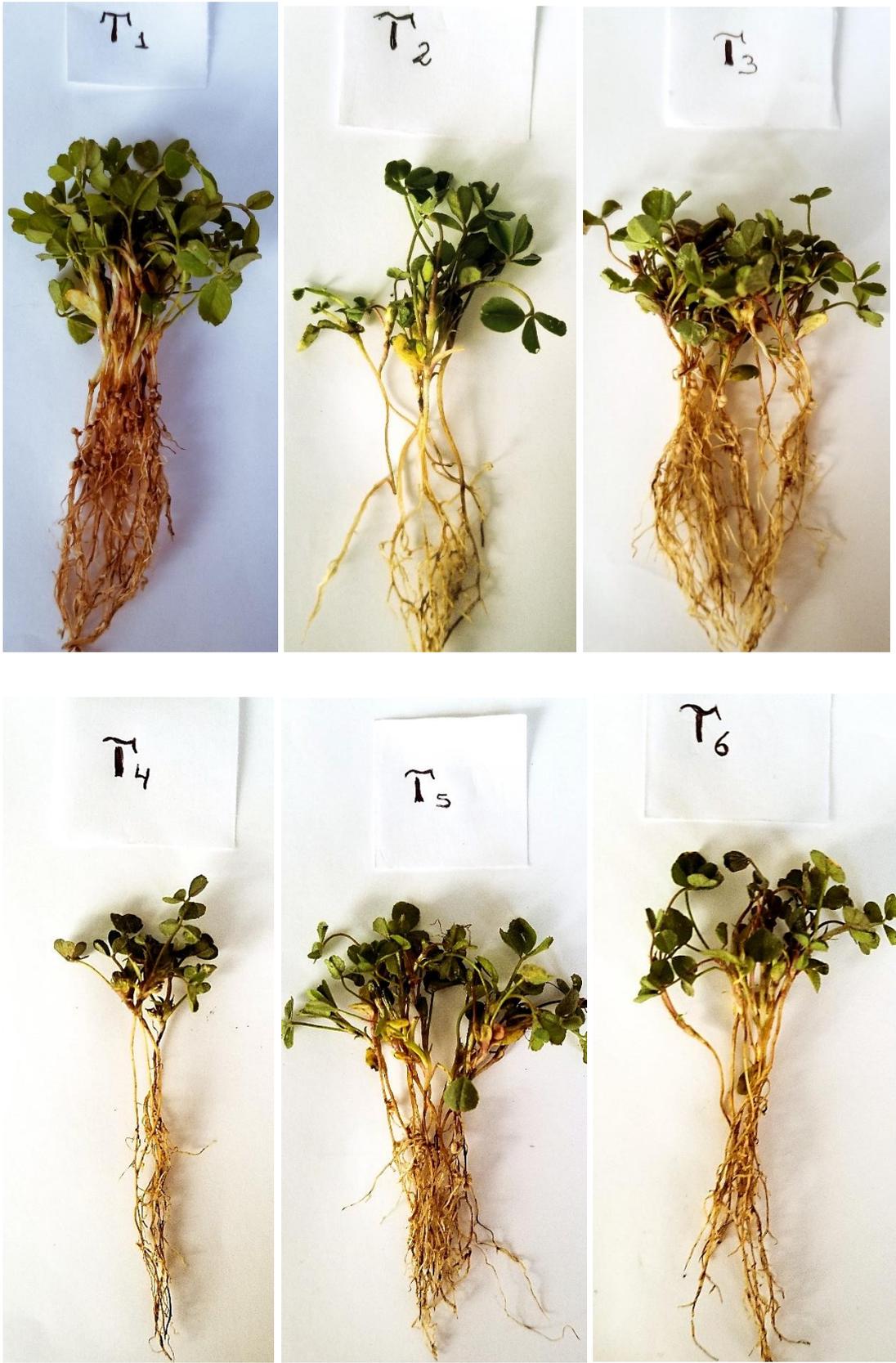
Anexo 18. Emergencia en todo el campo



Anexo 19. Evaluación de la cobertura



Anexo 20. Evaluación de nodulación





Anexo 21. Deshierbo



Anexo 22. Riego por aspersión



Anexo 23. Corte de nivelación

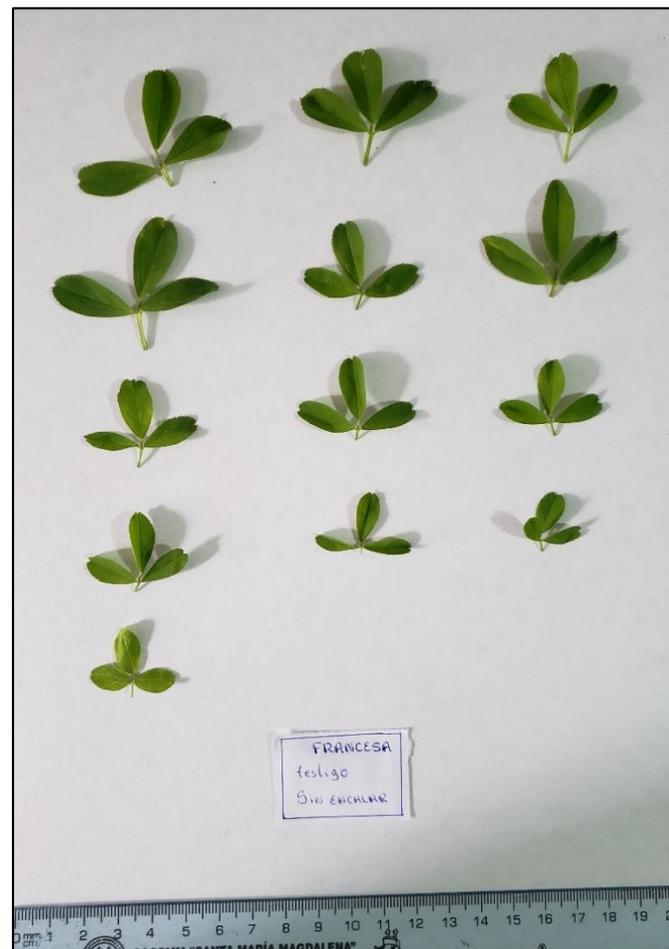


Anexo 24. Inicio de floración y evaluación de rendimiento

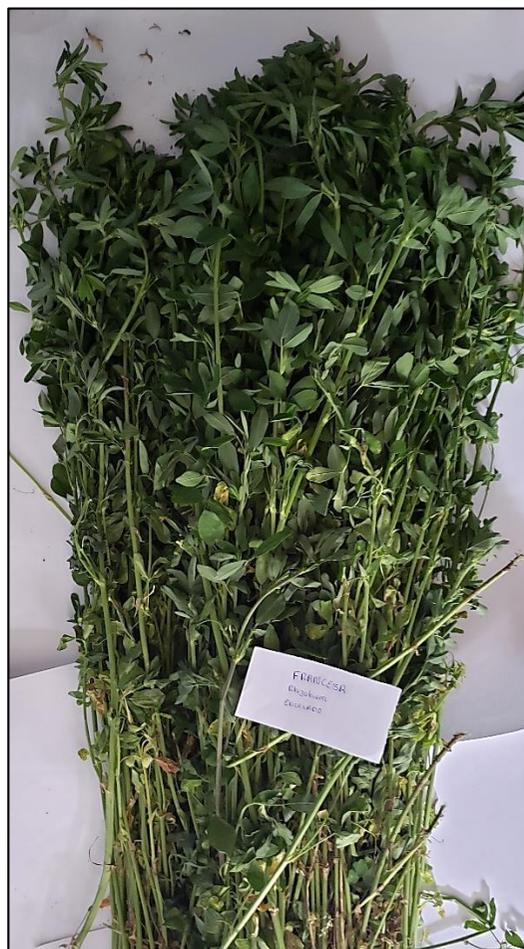




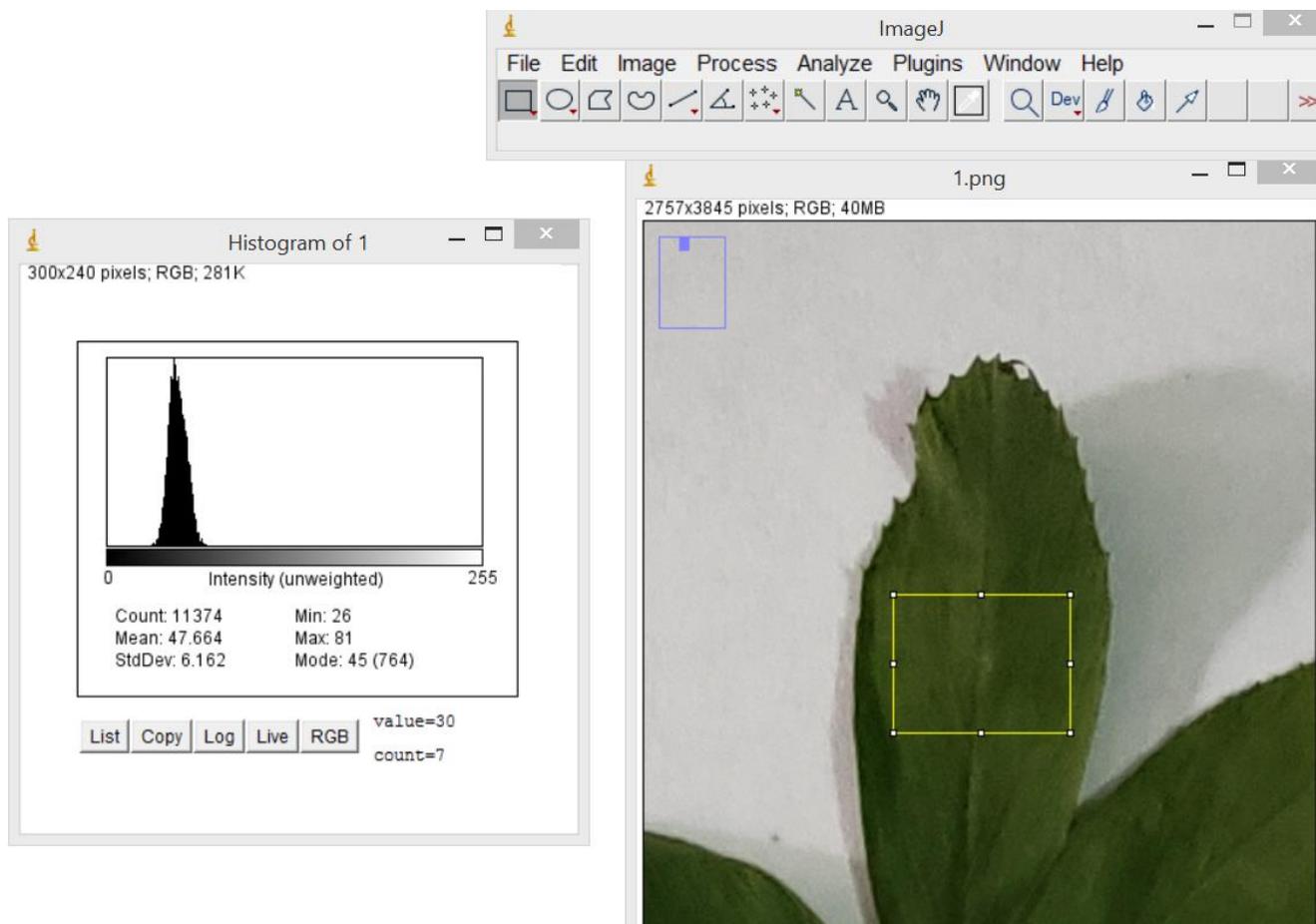
Anexo 25. Evaluación del área foliar



Anexo 26. Evaluación de rendimiento



Anexo 27. Midiendo la intensidad de color con ImageJ



Anexo 28. Simbiosis *Sinorhizobium* - planta.

