

La Homeopatía incrementa la tolerancia al estrés por NaCl en plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán

The Homeopathy increases tolerance to stress by NaCl in plants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety Quivican

José Manuel Mazón-Suástegui¹ , Carlos Michel Ojeda-Silvera¹ , Milagro García-Bernal^{1,2} ,
Daulemys Batista-Sánchez¹  y Fernando Abasolo-Pacheco³ 

¹ Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Av. I.P.N. No. 195, Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur. 23096 La Paz, Baja California Sur, México.

² Autora para correspondencia / Corresponding author (milagariabernal@gmail.com)

³ Universidad Central de las Villas (CBQ). Carretera a Camajuaní km 5.5. Provincia de Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

³ Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias, Campus "Ingeniero Manuel Agustín Haz Álvarez". Av. Quito km 1 1/2 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.

RESUMEN

En la actualidad la comunidad científica internacional promueve cada vez más el uso de alternativas ecoamigables con el medio ambiente para la solución de problemas agrícolas como la salinización de los suelos. El uso de la homeopatía agrícola como una de estas alternativas se ha incrementado por su inocuidad y probada efectividad. En el presente estudio se evaluó el efecto atenuador del estrés salino (NaCl), del medicamento homeopático *Natrum muriaticum* (NaM), en la tasa fotosintética y variables morfométricas de plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán de testa blanca en etapa de crecimiento vegetativo inicial. Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial (2A × 4B) donde A son los niveles de salinidad (0 y 75 mM), B las dinamizaciones homeopáticas centesimales (NaM-7CH, NaM-13CH, NaM-7+13CH) y agua destilada como control (AD), con cinco réplicas por tratamiento. Se realizaron mediciones de la tasa fotosintética (TF) dos veces por semana y al concluir el periodo de evaluación experimental (35 días), se midieron las variables morfométricas. En general las variables morfométricas evaluadas se incrementaron con la aplicación de los tratamientos homeopáticos NaM-7CH y NaM-7+13CH, siendo mayor el incremento en longitud de raíz (LR) y biomasa fresca de hojas (BFH) incluso en las plantas sometidas a estrés salino (75mM de NaCl). La tasa fotosintética (TF) en

SUMMARY

Currently, the international scientific community is increasingly promoting the use of alternatives eco-friendly to the environment to solve agricultural problems, such as soil salinization. The use of agricultural homeopathy, as one of these alternatives, has increased because of its safety and proven effectiveness. This study assessed the effect of attenuating salinity stress (NaCl) of the homeopathic medicine *Natrum muriaticum* (NaM) on photosynthetic rate (TF) and morphometric variables of the common bean plant (*Phaseolus vulgaris* L.) variety white testa Quivican in initial plant growth stage. A completely randomized experimental design was applied with bifactorial arrangement (2A × 4B) where A = salinity levels (0 and 75 mM) and B = homeopathic dynamizations (NaM-7CH, NaM-13CH, NaM-7+13CH and distilled water [AD] as homeopathic control) with five replicates per treatment. The TF measurements were done twice a week, and the morphometric variables were measured at the end of the experimental evaluation period (35 days). In general, the assessed morphometric variables were favored with the application of the homeopathic treatments NaM 7CH and NaM 7+13CH; the increase in root length (LR) and fresh leaf biomass (BFH) were greater even when the plants were in salinity stress conditions (75mM NaCl). The TF reached the

Cita recomendada / Recommended citation:

Mazón-Suástegui, J. M., C. M. Ojeda-Silvera, M. García-Bernal, D. Batista-Sánchez y F. Abasolo-Pacheco. 2020. La Homeopatía incrementa la tolerancia al estrés por NaCl en plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán. Terra Latinoamericana Número Especial 38-1: 37-51. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.584>

Recibido / Received: junio 3 / June 03, 2019

Aceptado / Accepted: diciembre 12 / December 12, 2019.

Publicado en / Published in terra Latinoamericana 38: 37-51.

las plantas sometidas a estrés salino alcanzó el mayor valor con NaM-7CH, observándose un incremento mayor al 50% en TF con respecto al tratamiento control (AD). Estos resultados demuestran un gran potencial de la homeopatía agrícola como alternativa bio-segura y de bajo costo para incrementar la tolerancia al NaCl de *P. vulgaris* L. y lograr mayores áreas de este cultivo.

Palabras clave: estrés salino, homeopatía agrícola, leguminosa, *Natrum muriaticum*.

INTRODUCCIÓN

Las legumbres (familia Fabaceae) son alimentos básicos muy importantes para la población humana, y son una fuente importante de proteínas, vitaminas, minerales y fibra (Bellucci *et al.*, 2014). El frijol común *P. vulgaris* L. se cultiva en todo el mundo; es la leguminosa de grano más importante para la nutrición humana, constituye el 50% del consumido a nivel mundial (Broughton *et al.*, 2003). Sin embargo, en la actualidad se ha reportado un decremento en la producción de este importante cultivo, debido a la presencia de factores bióticos y abióticos desfavorables (Rodríguez *et al.*, 2009; Barrios *et al.*, 2011).

La salinidad del suelo es uno de los problemas globales más importantes que afecta negativamente la productividad agrícola. La salinidad afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas mediante diversos efectos asociados al estrés hídrico y a la citotoxicidad derivada de una absorción excesiva de algunos iones como el sodio (Na^+) y el cloruro (Cl^-), que causan un desequilibrio nutricional en la planta. Estos efectos nocivos de la salinidad suelen ir acompañados de estrés oxidativo, debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (Tsugane *et al.*, 1999; Hernández *et al.*, 2001; Isayenkov, 2012).

Alrededor de 800 millones de hectáreas de tierra, equivalentes a más del 6% del área global total del planeta son afectadas por la salinidad del suelo (FAO, 2008). El exceso de sales limita el crecimiento y la productividad de las plantas (Khan y Panda, 2007), e inhibe de manera importante su crecimiento porque afecta procesos metabólicos importantes como la fotosíntesis (El-Hendawy *et al.*, 2005), la síntesis de proteínas y la actividad enzimática (Liang *et al.*, 2005; Sadak y Abdelhamid, 2015). La salinidad afecta además la transpiración, el crecimiento celular y particularmente la germinación de las semillas, que es

highest value when the plants in saline medium were treated with NaM-7CH, and an increase greater than 50% in PR was observed with respect to the (AD) control treatment. These results demonstrated a great potential of agricultural homeopathy as a bio-safe and low-cost alternative to increase *P. vulgaris* L. tolerance to NaCl and achieve greater areas of this crop.

Index words: salinity stress, agricultural homeopathy, leguminosa, *Natrum muriaticum*.

INTRODUCTION

Legumes (family Fabaceae) are very important basic food for human population and an essential source of proteins, vitamins, minerals, and fiber (Bellucci *et al.*, 2014). The common bean *Phaseolus vulgaris* L. is cultivated worldwide; it is one of the most important grain legumes for human nutrition, constituting 50% of consumption at world level (Broughton *et al.*, 2003). Nonetheless, a decrease in production of this important cultivation has been currently reported due to the presence of unfavorable abiotic and biotic factors (Rodríguez *et al.*, 2009; Barrios *et al.*, 2011).

Soil salinity is one of the most important global problems that affect agricultural productivity negatively. Salinity affects plant growth and development by different effects associated to hydric stress and cytotoxicity deriving from an excessive absorption of some ions, such as sodium (Na^+) and chloride (Cl^-), which cause a nutritional disequilibrium in the plant. These harmful salinity effects tend to go together with oxidative stress due to the generation of reactive oxygen species (ROS) (Tsugane *et al.*, 1999; Hernández *et al.*, 2001; Isayenkov, 2012).

Approximately 800 million ha of land, equivalent to more than 6% of the total global area of the planet are affected by soil salinity (FAO, 2008). The excess of salts limits plant growth and productivity (Khan and Panda, 2007) and inhibits growth in a very important manner because it affects essential metabolic processes, such as photosynthesis (El-Hendawy *et al.*, 2005), protein synthesis and enzymatic activity (Liang *et al.*, 2005; Sadak and Abdelhamid, 2015). Additionally, salinity affects transpiration, cell

la fase más sensible a este agente estresante que afecta la absorción de agua e impide la hidratación de las semillas afectando de esa manera el desarrollo inicial de la planta (Meloni *et al.*, 2004).

Diversas investigaciones se han realizado buscando alternativas para atenuar los efectos negativos de la salinidad (NaCl), entre las que se encuentran la obtención de variedades tolerantes, mediante complejas y costosas técnicas genéticas (Pedroza-Sandoval *et al.*, 2016), y la utilización de productos naturales como biofertilizantes y bioestimulantes que favorecen crecimiento, desarrollo y rendimiento de la planta (Álvarez, 2014¹). En los últimos años se han venido experimentando tratamientos alternativos y ecoamigables, que promuevan la evolución del sector agrícola hacia una agricultura sostenible en el mediano y largo plazo. Esto implica el desarrollo de nuevas opciones que permitan cultivar el suelo con niveles de productividad y rendimiento económico aceptables, reduciendo al máximo posible el daño al medio ambiente (Singh *et al.*, 2011). El uso de medicamentos homeopáticos es rentable en comparación con otras alternativas más costosas y nocivas para el medio ambiente, ya que son altamente diluidos y son efectivos y se requieren en muy poca cantidad (Sen *et al.*, 2018). El uso de la homeopatía agrícola ha ido en aumento por su inocuidad y probada efectividad en la estimulación del crecimiento vegetal (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018). También se ha comprobado que la aplicación de medicamentos homeopáticos de uso en humanos, con registro en la Secretaría de Salud de México (SSA, 2015), puede estimular el crecimiento y desarrollo vegetal aún en condiciones de estrés abiótico (Pereira *et al.*, 2012; Mazón-Suástegui *et al.*, 2019). Por esa razón, la homeopatía agrícola puede ser una excelente alternativa para mitigar los efectos del estrés salino (Sen *et al.*, 2018). Teniendo en cuenta estos antecedentes, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto atenuador del estrés salino (NaCl), del medicamento homeopático de uso humano *Natrum muriaticum* (NaM), en la tasa fotosintética y variables morfológicas de plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán de testa blanca, durante su etapa de crecimiento vegetativo inicial.

growth and particularly seed germination, which is the most sensitive to this stressing agent that affects water absorption and hinders seed hydration, affecting initial plant development in this manner (Meloni *et al.*, 2004).

Different research studies have been performed searching for alternatives to attenuate negative effects of salinity (NaCl), among which those found are obtaining tolerant varieties by complex and costly genetic techniques (Pedroza-Sandoval *et al.*, 2016), and the use of natural products, such as biofertilizers and biostimulants that favor plant growth, development, and yield (Álvarez, 2014¹). In the last years, alternative and eco-friendly experiments have been performed, promoting the evolution of the agricultural sector toward a sustainable agriculture in the medium and long terms. To achieve this purpose implies developing new options that allow cultivating soil with acceptable levels of productivity and economic yield, reducing harm to the environment to its possible maximum (Singh *et al.*, 2011). The use of homeopathic medicine is feasible in comparison with other most costly and harmful alternatives for the environment since they are highly diluted, effective and required in a very small amount (Sen *et al.*, 2018). The use of agricultural homeopathy has been increasing because of its innocuousness and tested efficiency in plant growth promotion (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018). Moreover, the application of homeopathic medicines with registry in the Health Ministry of Mexico (SSA, 2015) for use in humans, have also proven to stimulate plant growth and development even in abiotic stress conditions (Pereira *et al.*, 2012; Mazón-Suástegui *et al.*, 2019). Thus, agricultural homeopathy could be an excellent alternative to mitigate salinity stress conditions (Sen *et al.*, 2018). Taking this background into account, the objective of this study was to assess the attenuating effect of the homeopathic medicine for human use *Natrum muriaticum* (NaM) on salinity stress (NaCl), photosynthetic rate and morphometric variables of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety white testa Quivican during initial plant growth stage.

¹ Álvarez, C. N. 2014. Comportamiento agroproductivo del cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con diferente frecuencia de aplicación del VIUSID agro. Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo, Facultad Agropecuaria, Universidad de Sancti Spiritus "José Martí Pérez". Sancti Spiritus, Cuba. 35 p.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de Estudio

La investigación experimental se realizó durante 35 días (septiembre-octubre 2018), en el Campo Agrícola Experimental del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR), bajo una estructura metálica totalmente cubierta con malla anti-áfidos de color blanco con 30% de sombra, y por encima de la misma, una malla de color negro, con 35% de sombra. El campo agrícola se localiza al noroeste de la Ciudad de La Paz, B.C.S., México, a los 24° 08' 10.03" N y 110° 25' 35.31" O, a 7 m de altitud (Batista-Sánchez *et al.*, 2017).

Material Genético

Se utilizaron semillas certificadas de frijol común *P. vulgaris* variedad Quivicán de testa blanca, provenientes de la Empresa Productora y Comercializadora de Semillas Biofábrica Villa Clara, Cuba. Previo al experimento se realizó una prueba de germinación utilizando la metodología del ISTA (2010).

Diseño Experimental

El experimento se realizó empleando un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial de (2A × 4B), siendo el factor A dos niveles de NaCl (0 y 75 mM), el factor B, dinamizaciones centesimales Hahnemanianas (CH) del medicamento homeopático *Natrum muriaticum*: NaM-7CH, NaM-13CH, NaM-7CH+NaM-13CH (en lo sucesivo MaM-7+13CH), y como tratamiento control agua destilada (AD), para tener un total de ocho tratamientos con cinco réplicas cada uno.

Desarrollo Experimental

Los tratamientos homeopáticos (NaM-7CH, NaM-13CH y NaM-7+13CH) fueron preparados en agua destilada, a partir de los medicamentos oficinales (*Natrum muriaticum* 6CH y *Natrum muriaticum* 12 CH) de marca Similia® adquiridos de proveedor autorizado (Farmacia Homeopática Nacional®, CDMX, México), que tienen registro en la Secretaría de Salud de México y autorización oficial para uso en humanos. Durante

MATERIALS AND METHODS

Study Site

Experimental research was performed in the Experimental Agricultural Field of Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) under a metallic structure totally covered with a white anti-aphid 30% shade mesh and over it a black 35% shade mesh for 35 days (September-October 2018). The agricultural field is located on the northeastern side of the City of La Paz, Baja California Sur, Mexico, at 24° 08' 10.03" N and 110° 25' 35.31" W, at 7 m altitude (Batista-Sánchez *et al.*, 2017).

Genetic Material

Certified seeds of the common bean *P. vulgaris* variety white testa Quivicán were used from Empresa Productora y Comercializadora de Semillas Biofábrica Villa Clara, Cuba. Previous to the experiment, a germination test was performed following the International Seed Testing Association methodology (ISTA, 2010).

Experimental Design

The experiment was performed using a completely randomized design with bifactorial arrangement (2A × 4B); factor A two levels of NaCl (0 and 75 mM); factor B, centesimal Hahnemanian (CH) dynamizations of the homeopathic medicine *Natrum muriaticum*: NaM-7CH, NaM-13CH, NaM-7CH+NaM-13CH (hereinafter MaM-7+13CH), and as control treatment distilled water (AD) to have a total of eight treatments with five replicates each one.

Experimental Development

The homeopathic treatments (NaM-7CH, NaM-13CH and NaM-7+13CH) were prepared in distilled water, starting from officinal homeopathic medicines (*Natrum muriaticum* 6CH and *Natrum muriaticum* 12 CH), Similia® (Ciudad de México, MX) acquired through authorized provider (Farmacia Homeopática Nacional® (CDMX, México), with registry in the Health Ministry of Mexico (Secretaría de Salud) and official authorization for its use in humans. During its preparation, the basic procedures established by

su preparación se aplicaron los procedimientos básicos que establece la farmacopea homeopática mexicana (SSA, 2015), incluyendo dilución serial centesimal (1:99) y agitación vigorosa, según la técnica descrita por Mazón-Suástegui *et al.* (2018).

Las semillas se desinfectaron previo a la siembra mediante inmersión en etanol al 70% durante 10 segundos seguido de una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% durante 10 min y por último se lavaron tres veces con agua desionizada para eliminar cualquier residuo de desinfectante (Collado *et al.*, 2013). Seguidamente las semillas fueron colocadas en papel filtro para su secado y posteriormente fueron embebidas durante 30 min con el tratamiento homeopático correspondiente o con agua destilada en el caso del tratamiento control. Enseguida las semillas se sembraron en macetas de plástico (tres semillas/maceta) cada uno con 5 kg de sustrato comercial (Sogemix PM®).

Una vez que las plantas emergieron se inició de manera gradual la aplicación de los tratamientos salinos, para evitar un shock osmótico (Murillo-Amador *et al.*, 2007), iniciando con una concentración 25 mM de NaCl hasta llegar a la concentración deseada de 75 mM, cuando las plantas tenían 14 días de emergidas (DE).

Variables Fisiológicas

Se midió la tasa fotosintética (TF) en seis muestreos no destructivos iniciando a los 14 DE con una frecuencia de dos veces por semana, utilizando el medidor de fotosíntesis LI-COR, modelo 6400XT (Li-cor®, Lincoln, Nebraska, USA). Las mediciones se realizaron en hojas completamente expandidas y sanas, en el horario de mayor radiación solar.

Variables Morfométricas

Al concluir el periodo de evaluación experimental (35 días), se procedió a separar la raíz, el tallo y las hojas de cada una de las plantas para las determinaciones biométricas. Se midió (cm) longitud de tallo (LT) y de raíz (LR). Se determinó el peso (g) de la biomasa fresca de raíz (BFR), tallo (BFT), hojas (BFH) y biomasa seca de raíz (BSR), tallo (BST), hojas (BSH) y área foliar (AF). Para determinar peso fresco y seco de biomasa, se utilizó una balanza analítica (Mettler Toledo®, modelo AG204. USA). Para obtener la biomasa seca, los tejidos correspondientes (raíz, tallo y hojas)

the Mexican homeopathy pharmacopea were applied (SSA, 2015), including centesimal serial dilution (1:99) and vigorous agitation, according to the technique described by Mazón-Suástegui *et al.* (2018).

Seeds were disinfected previous to sowing by immersion in ethanol at 70% for 10 s followed by a sodium hypochlorite 1.5% solution for 10 min and finally washed thrice with deionized water to eliminate any disinfectant residual (Collado *et al.*, 2013). Subsequently, seeds were placed on filter paper for drying and then soaked in the corresponding homeopathic treatment or with distilled water in the case of the control treatment for 30 min. Next, seeds were sowed in plastic pots (three seeds/pot) each one with 5 kg of commercial substrate (Sogemix PM®).

Once the plants emerged, the application of the saline treatments were provided gradually to avoid osmotic shock (Murillo-Amador *et al.*, 2007), beginning with a concentration of 25 mM of NaCl up to the desired concentration of 75 mM when plants had an emergence of 14 days (DE).

Physiological Variables

The photosynthetic rate (TF) measurement was performed in leaves completely expanded and healthy at the time of greater solar radiation in six non-destructive samplings starting at 14 DE twice per week using the photosynthesis measurement LI-COR, modelo 6400XT (Li-cor®, Lincoln, Nebraska, USA).

Morphometric Variables

At the end of the experimental assessment period (35 days), the root, stem, and leaves of each one of the plants were separated for biometric determination, measuring (cm) stem (LT) and root (LR) length; fresh root (BFR), stem (BFT), and leaf biomass (g) (BFH), and dry root (BSR), stem (BST) leaf (BSH) weight (g), and foliar area (AF) were determined. To determine fresh and dry biomass, an analytical balance (Mettler Toledo®, model AG204. USA) was used. To obtain dry biomass, the corresponding tissues (root, stem, and leaves) of each plant were placed in paper bags and introduced in a drying stove (Shel-Lab®, modelo FX-5, series-1000203. USA) maintaining a temperature of 70 °C until its complete dehydration had been obtained

de cada planta, se colocaron en bolsas de papel y se introdujeron en una estufa de secado (Shel-Lab®, modelo FX-5, serie-1000203, USA) manteniéndose a temperatura de 70 °C hasta obtener su deshidratación completa (aproximadamente 72 horas). Posteriormente se pesaron en balanza analítica (Mettler Toledo®, AG204). El área foliar (cm²) se determinó en un equipo integrador de área foliar (Li-Cor®, modelo-163 LI-3000A, serie PAM 1701, USA).

Análisis Estadístico

Se realizaron análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias (Tukey HSD, $P \leq 0.05$). En todas las variables, los valores promedio se consideraron significativamente diferentes cuando $P \leq 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statistica v.10.0 para Windows® (StatSoft® Inc., 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resultado del análisis reveló una acción directa del NaCl en todas las variables estudiadas (Cuadro 1), ya que con una concentración de 75 mM de NaCl, la cual está considerada como salinidad moderada (Batista-Sánchez *et al.*, 2017), las plantas de *P. vulgaris* experimentaron un decremento significativo en LT ($P = 0.04$), BFR ($P = 0.02$), BSH ($P = 0.00002$), BST ($P = 0.00004$), AF ($P = 0.0000$) y en el número de hojas ($P = 0.0000$).

La salinidad reduce el crecimiento de las plantas al afectar sus procesos fisiológicos, incluida la interrupción del equilibrio iónico, la nutrición mineral, la respuesta estomática y la eficiencia fotosintética (Garzón y García, 2011). La disparidad en el potencial

(approximately 72 h) and weighed in analytical balance (Mettler Toledo®, AG204, USA). Foliar area (cm²) was determined in a foliar area integrating equipment (Li-Cor®, model-163 LI-3000A, series PAM 1701, USA).

Statistical Analyses

Analyses of variance and multiple comparison of means (Tukey's HSD, $P \leq 0.05$) were performed. In all variables, average values were considered significantly different when $P \leq 0.05$. The statistical analyses were performed with the program Statistica v.10.0 for Windows® (StatSoft® Inc., 2011).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the analyses revealed a direct action of NaCl in all the studied variables (Table 1) since with a concentration of 75 mM of NaCl, which is considered as moderate salinity (Batista-Sánchez *et al.*, 2017), *P. vulgaris* plants experimented a significant decrease in LT ($P = 0.04$), BFR ($P = 0.02$), BSH ($P = 0.00002$), BST ($P = 0.00004$), AF ($P = 0.0000$) and in the number of leaves ($P = 0.0000$).

Salinity reduces plant growth by affecting its physiological processes, including the interruption of ionic equilibrium, mineral nutrition, stomatal response, and photosynthetic efficiency (Garzón and García, 2011). Disparity in osmotic potential leads to water deficit, a reduced foliar area expansion and stomatal closing, which carries photosynthesis reduction and plant growth (Roy *et al.*, 2014). Ionic disequilibrium provokes an excessive accumulation of Na⁺ and Cl⁻ in the oldest leaves; this situation leads to premature

Cuadro 1. Efecto de diferentes concentraciones de NaCl en las variables morfométricas de *Phaseolus vulgaris* sin tratamiento homeopático.

Table 1. Effect of different NaCl concentrations on the morphometric variables of *Phaseolus vulgaris* without homeopathic treatment.

	NaCl	LT	BFR	BSR	BSH	BST	AF	No. H
	mM	cm	g				cm ²	
<i>P. vulgaris</i>	0	17.5a	7.8a	0.5b	2.1a	1.1a	610.2a	8.0a
	75	15.8b	6.1b	0.6a	1.5b	0.7b	425.7b	6.95b

LT = longitud del tallo; BFR = biomasa fresca de raíz; BSR = biomasa seca raíz; BSH = biomasa seca hojas; BST = biomasa seca tallo; AF = área foliar; No. H = número de hojas. Valores promedio con literales diferentes en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $P \leq 0.05$).

LT = stem length; BFR = fresh root biomass; BSR = dry root biomass; BSH = dry leaf biomass; BST = dry stem biomass; AF = foliar area, No. H = number of leaves. Average values with different letters in the same column differ statistically (Tukey's HSD, $P \leq 0.05$).

osmótico conduce a un déficit de agua, una expansión reducida del área foliar y un cierre estomático, lo cual conlleva a la reducción de la fotosíntesis y del crecimiento de las plantas (Roy *et al.*, 2014). El desequilibrio iónico provoca una acumulación excesiva de Na^+ y Cl^- en las hojas más viejas, esto lleva a su senescencia prematura (Roy *et al.*, 2014) y genera un desequilibrio iónico que reduce la captación de iones beneficiosos e indispensables para el desarrollo de los procesos fisiológicos como K^+ , Ca^{2+} y Mn^{2+} (Hasegawa *et al.*, 2000), con lo cual se disminuye la fotosíntesis y la actividad enzimática (Muchate *et al.*, 2016). Según Távora *et al.* (2001) el efecto nocivo más notable de la salinidad en las plantas, además de la alteración del potencial osmótico, es la toxicidad y la falta de equilibrio en la absorción de nutrientes, lo que provoca una disminución generalizada en el crecimiento de las plantas estresadas por salinidad.

Los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con los reportados por Can-Chulim *et al.* (2017) quienes demostraron que la disminución de la biomasa fresca y seca del vástago del frijol *P. vulgaris* es atribuible al estrés salino que provoca una reducción en la absorción de agua. En el presente estudio, la salinidad provocada por NaCl (75 mM) redujo la biomasa fresca de la raíz en un 8.2%. Esta tendencia es muy clara y ya ha sido observada para la misma especie (*P. vulgaris* L.) en otros estudios realizados en años recientes (Radi *et al.*, 2013; Habtamu *et al.*, 2014).

El número de hojas por planta se redujo en las plantas de frijol sometidas a estrés salino por adición de NaCl, en comparación con las plantas del grupo control (sin tratar). Este resultado pudo estar asociado a una deficiencia de potasio y coincide con Murillo-Amador y Troyo-Diéguez (2007) quienes informaron que la salinidad indujo una reducción en el número de hojas en plantas de frijol Yorimón (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), sometidas a estrés salino.

Al analizar la interacción del medicamento homeopático NaM y el agente estresor Cloruro de Sodio ($\text{NaM} \times \text{NaCl}$), se observó que las plantas de *P. vulgaris* sin estrés salino inducido (0mM de NaCl) y recibiendo el tratamiento homeopático NaM-7CH, experimentaron un incremento significativo de LR ($P = 0.00509$), BFR ($P = 0.00019$), BFH ($P = 0.0065$), BFT ($P = 0.00002$), BSR ($P = 0.0188$), BSH ($P = 0.032$), BST ($P = 0.003$) y AF ($P = 0.033$). Esto significa que el medicamento tiene un efecto favorable *per se* en las plantas de *P. vulgaris*, de manera que con su aplicación

senescence (Roy *et al.*, 2014) that generates an ionic disequilibrium, reducing capture of beneficial and essential ions for the development of physiological processes, such as K^+ , Ca^{2+} and Mn^{2+} (Hasegawa *et al.*, 2000), decreasing photosynthesis and enzymatic activity (Muchate *et al.*, 2016). According to Távora *et al.* (2001) the most notable harmful salinity effect on plants, besides altering osmotic potential, is toxicity and lack of equilibrium in nutrient absorption, which causes a generalized decrease in growth in plants stressed by salinity.

The results obtained in this study agree with those reported by Can-Chulim *et al.* (2017) who demonstrated that fresh and dry shoot biomass decrease of the common bean *P. vulgaris* is attributed to salinity stress that causes a reduction in water absorption. In this study, salinity caused by NaCl (75 mM) reduced fresh root biomass in 8.2%. This tendency was very clear and has already been observed for the same species (*P. vulgaris* L.) in other recent studies (Radi *et al.*, 2013; Habtamu *et al.*, 2014).

The number of leaves per plant reduced in bean plants subjected to salinity stress by addition to NaCl, compared with the plants in the control group (untreated). This result could have been associated to a difference in potassium, which agrees with Murillo-Amador and Troyo-Diéguez (2007) who reported that salinity induced to a reduction in the number of leaves in bean Yorimon (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) plants subjected to salinity stress.

While analyzing the interaction of the homeopathic medicine NaM and the stressor agent NaCl ($\text{NaM} \times \text{NaCl}$), *P. vulgaris* plants without induced salinity stress (0mM de NaCl) and with the homeopathic NaM-7CH treatment were observed experimenting a significant increase of LR ($P = 0.00509$), BFR ($P = 0.00019$), BFH ($P = 0.0065$), BFT ($P = 0.00002$), BSR ($P = 0.0188$), BSH ($P = 0.032$), BST ($P = 0.003$) and AF ($P = 0.033$). These results mean the medicine has a favorable effect *per se* in *P. vulgaris* plants, so efficiency and productivity of the common bean *P. vulgaris* could increase with its application.

On the other hand, when the plants were subjected to salinity stress by NaCl without NaM homeopathic medicine, the response markers assessed LR, BFR, BFH, BFT, BSH, BST and AF decreased 8.04, 7.87, 55.55, 38.25, 6.0, 41.66 and 49.68%, respectively.

se podría incrementar eficiencia y productividad en el cultivo del frijol común *P. vulgaris*.

Por otro lado, cuando las plantas se sometieron a estrés por NaCl sin medicación homeopática con NaM, los indicadores de respuesta evaluados LR, BFR, BFH, BFT, BSH, BST y AF disminuyeron 8.04, 7.87, 55.55, 38.25, 6.0, 41.66 y 49.68%; respectivamente. Esto confirma el efecto favorable *per se*, que tiene el tratamiento homeopático NaM-7CH. Un resultado adicional que ratifica lo anterior, es que las plantas sometidas a estrés salino por adición de NaCl que recibieron los tratamientos homeopáticos NaM-7CH y NaM-7+13CH (Cuadro 2), todas las variables de respuesta (excepto BST y AF), mostraron un incremento con respecto a las plantas del grupo control (AD). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Lensi *et al.* (2010) quienes demostraron la efectividad de dinamizaciones homeopáticas de NaM (NaM-6CH y NaM-30CH) en plantas de frijol común (*P. vulgaris* L.), al no presentar signos de toxicidad durante su etapa de crecimiento. El mecanismo de acción de los medicamentos homeopáticos puede implicar cambios fisiológicos que conducen a la formación de productos metabólicos secundarios relacionados con el mecanismo de defensa de las plantas tratadas (Lensi *et al.*, 2010). De acuerdo con estos autores, las plantas de frijol tratadas con

These results confirm the favorable effect *per se* that NaM-7CH homeopathic treatment has. An additional result that ratifies the previous information is that plants subjected to salinity stress by adding NaCl that were provided with NaM-7CH and NaM-7+13CH homeopathic treatments (Table 2), all the response variables (except for BST and AF), showed an increase with respect to the plants in the control group (AD). These results agree with those obtained by Lensi *et al.* (2010) who demonstrated the efficiency of NaM (NaM-6CH and NaM-30CH) homeopathic dynamizations in common bean (*P. vulgaris* L.) plants after showing no signs of toxicity during their growth stage. The mechanism of action of the homeopathic medicines can imply physiological changes that conduce to the formation of secondary metabolic products related with the defense mechanism of the treated plants (Lensi *et al.*, 2010). According to these authors, bean plants treated with NaM-6CH showed a greater growth when compared to plants of the control group; in general, a low dilution of NaM-6CH showed to be more effective than a high dilution of NaM-30CH since no significant results were obtained in these treated plants when compared to non-treated in the control group. In agreement with these results, Siqueira *et al.* (2010) proved that the use of NaM

Cuadro 2. Efecto de la interacción niveles de salinidad × tratamiento homeopático en el valor promedio de las variables morfométricas evaluadas en plantas de frijol común *Phaseolus vulgaris* variedad Quivicán, sometidas a estrés por NaCl.

Table 2. Effect of the interaction levels of salinity × homeopathic treatment on the average value of the morphometric variables evaluated in plants of common bean *Phaseolus vulgaris* variety Quivican subjected to stress by NaCl.

NaCl	<i>Natrum muraticum</i>	LR	BFR	BFH	BFT	BSR	BSH	BST	AF
mM		cm	g						cm ²
0	0	20.5abcd	6.6abc	21.5a	14.9a	0.4b	1.5cd	1.2ab	498.3b
0	NaM-7CH	25.1ab	11.0a	22.4a	13.3a	0.8a	2.3ab	1.3a	780.8a
0	NaM-13CH	22.8abcd	10.0ab	16.7ab	11.1a	0.7ab	2.1abc	0.9abcd	594.9ab
0	NaM-7+13CH	24.2abc	3.6c	22.5a	13.6a	0.4b	2.5a	0.9abcd	566.9b
75	0	16.0cd	5.8bc	11.3b	5.7b	0.4b	0.9d	0.5d	247.6c
75	NaM-7CH	28.8a	7.2abc	23.8a	13.7a	0.6ab	2.4a	1.0abc	479.7b
75	NaM-13CH	17.4cd	3.9c	17.3ab	12.2a	0.3b	1.1d	0.8bcd	537.4b
75	NaM-7+13CH	27.5ab	7.6abc	21.3a	14.1a	0.5ab	1.7abcd	0.6cd	438.1bc

LR = longitud de raíz; BFR = biomasa fresca de raíz; BFH = biomasa fresca de hojas; BFT = biomasa fresca de tallo; BSR = biomasa seca de raíz; BSH = biomasa seca de hojas; BST = biomasa seca de tallo; AF = área foliar. Valores promedios con literales diferentes en una misma columna difieren estadísticamente (Tukey HSD, $P \leq 0.05$).

LR = root length; BFR = fresh root biomass; BFH = fresh leaf biomass; BFT = fresh stem biomass; BSR = dry root biomass; BSH = dry leaf biomass; BST = dry stem biomass; AF = foliar area. Average values with different letters in the same column differ statistically (Tukey's HSD, $P \leq 0.05$).

NaM-6CH presentaron mayor tasa de crecimiento en comparación con las plantas del grupo de control y en general, una baja dilución NaM-6CH demostró ser más efectiva que una alta dilución NaM-30CH, ya que no se obtuvieron resultados significativos en las plantas así tratadas, en comparación con las no tratadas de su grupo control. En coincidencia con estos resultados, Siqueira *et al.* (2010) comprobaron que el uso de NaM promovió un aumento significativo del crecimiento vegetal, especialmente en las plantas de frijol tratadas con NaM-6CH, que cuya aplicación pudo asociarse a una mayor Tasa de Crecimiento Relativo de este cultivo.

En una investigación realizada por Mondal *et al.* (2012) en plantas de frijol Yorimón *Vigna unguiculata* tratadas de manera profiláctica con NaM y luego sometidas a estrés salino con NaCl, se obtuvo un aumento en la germinación de las semillas en comparación con los controles estresados, y el análisis bioquímico de las plántulas mostró un aumento en el contenido total de proteínas, clorofila total y azúcares. En el presente estudio, las plantas de *P. vulgaris* L, revelaron diversas respuestas favorables a la aplicación profiláctica de NaM, confirmando su efecto preventivo-protector en plantas cultivadas bajo condiciones de estrés salino por adición de NaCl. Estos resultados se explican en función de los oligoelementos contenidos en el ingrediente activo de NaM que pueden estar actuando como estimuladores de los procesos fisiológicos de las plantas tratadas, aún y cuando estas se encuentran bajo condiciones de estrés salino por NaCl (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018).

Otros investigadores como Jaski *et al.* (2016), realizaron un estudio en plantas de frijol aplicando aceites esenciales y preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora* y *E. globulus* y demostraron la estimulación del crecimiento en longitud, de la radícula y del hipocótilo; demostrando así el potencial de los preparados homeopáticos para estimular el desarrollo inicial de plántulas de frijol. Bonato *et al.* (2009) aplicaron los medicamentos homeopáticos de uso humano *Sulphur* y *Arsenicum album* (dinamizaciones 6, 12, 24 y 30CH) en plantas de menta (*Mentha arvensis* L.) y registraron incrementos en altura, biomasa fresca y biomasa seca de las plantas, concluyendo que los preparados homeopáticos pueden promover cambios fisiológicos en los vegetales, tales como mayor crecimiento y resistencia a las enfermedades.

promoted a significant plant growth, especially in the bean plants treated with NaM-6CH, whose application could be associated to a greater Relative Growth Rate of this cultivation.

In a research study Mondal *et al.* (2012) obtained an increase in seed germination of Yorimon *Vigna unguiculata* bean plants treated prophylactically with NaM and then subjected to salinity stress with NaCl; the biochemical analysis of the plants showed an increase in total protein content, total chlorophyll and sugar. In this study, *P. vulgaris* L plants revealed different favorable responses to the prophylactic application of NaM, confirming its preventive-protector effect in cultivated plants under salinity stress by addition of NaCl. These results can be explained in function of the oligoelements contained in the active ingredient of NaM that could have been acting as stimulators of physiological processes of the plants treated even when they were under salinity stress conditions by NaCl (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018).

Other researchers as Jaski *et al.* (2016) performed a study in bean plants applying essential oils of *Eucalyptus citriodora* and *E. globulus* and homeopathically prepared, demonstrating growth stimulation in hypocotyl and radicle length, confirming the potential of homeopathic preparations to stimulate initial development of bean plants. Bonato *et al.* (2009) applied the homeopathic medicines *Sulphur* and *Arsenicum album* (dynamizations 6, 12, 24 and 30CH), for human use, in mint (*Mentha arvensis* L.) plants and recorded increases in plant height, fresh and dry biomass, concluding that homeopathic preparation can promote physiological changes in plants, such as greater growth and disease resistance. In this study, with the common bean *P. vulgaris* variety Quivican plants, no significant differences were observed in the variable FRB among the plants that received the treatments NaM-7CH and NaM-7+13CH under salinity conditions (75 mM of NaCl); nonetheless, these treatments showed differences with respect to the plants that received NaM-13CH. These finding can be explained because NaM-13CH dynamization has a smaller amount of nanoparticles of the active ingredient which could decrease the capacity of this homeopathic dynamization to induce measurable responses in the treated plants.

En el presente estudio con frijol común *P. vulgaris* variedad Quivican, no se observaron diferencias significativas en la variable BFR entre las plantas que recibieron los tratamientos NaM-7CH y NaM-7+13CH bajo condiciones salinas (75 mM de NaCl); sin embargo, estos tratamientos sí presentaron diferencias con respecto a las plantas que recibieron NaM-13CH. Estos hallazgos se pueden explicar debido a que la dinamización de NaM-13CH presenta una menor cantidad de nanopartículas del ingrediente activo lo que puede disminuir la capacidad de esta dinamización homeopática, para inducir respuestas medibles en las plantas tratadas.

En este estudio, se observó una disminución en la TF, cuando las plantas de *P. vulgaris*, variedad Quivican se sometieron a estrés por NaCl (Figura 1). Se conoce que la salinidad afecta el proceso de la fotosíntesis en las plantas terrestres, provocando una disminución en sus parámetros de crecimiento (Pérez *et al.*, 2014). La disminución de la fotosíntesis bajo condiciones de salinidad no solo se atribuye al cierre de las estomas que conduce a una reducción de la concentración de CO₂ intercelular, sino también a factores no estomáticos,

In this study a decrease in TF was observed when *P. vulgaris*, variety Quivican plants were subjected to stress (Figure 1). Salinity is known to affect the photosynthesis process in land plants, causing a decrease in their growth parameters (Pérez *et al.*, 2014). Photosynthesis decrease under salinity conditions is not only attributed to stomatal closing that leads to a reduction of intercellular CO₂ concentration but also to non-stomatal factors since evidence exist that salinity affects photosynthetic enzymes, chlorophyll and carotenoids (Stepien and Klbus, 2006). Growth reduction of plants under salinity stress is attributed to photosynthetic rate, modification of carbohydrate metabolism, and to its subsequent distribution in the organism (Argente *et al.*, 2009). Taffouo *et al.* (2009) reported that salinity reduced the concentration of K⁺, the relationship K/Na, plant length, foliar chlorophyll content, and photosynthetic activity in different bean (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars.

Among the groups of treated plants, the one with greater TF was that with the NaM-7CH treatment in salinity stress (75 mM of NaCl) conditions, whose

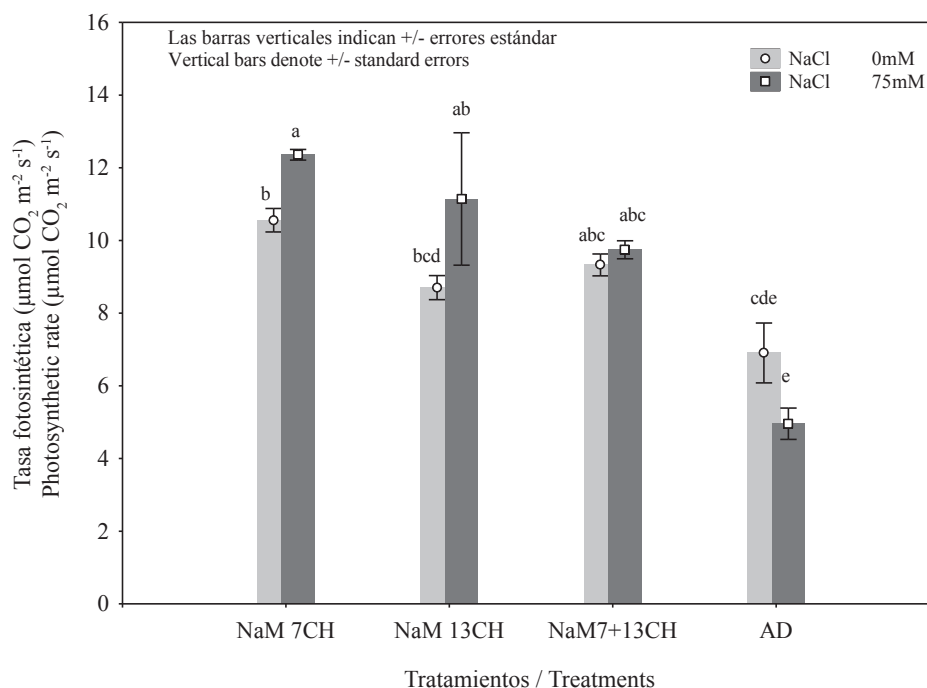


Figura 1. Efecto de Natrum muriaticum en la tasa fotosintética de plantas de *Phaseolus vulgaris* sometidas a estrés por NaCl.

Figure 1. Effect of Natrum muriaticum on the photosynthetic rate of *Phaseolus vulgaris* plants subjected to stress by NaCl.

ya que existen evidencias de que la salinidad afecta a las enzimas fotosintéticas, clorofilas y carotenoides (Stepien y Klbus, 2006). La reducción del crecimiento de las plantas bajo estrés salino se atribuye a una alteración en la tasa fotosintética, a la modificación en el metabolismo de los carbohidratos y a su posterior distribución en el organismo (Argentel *et al.*, 2009). Taffouo *et al.* (2009) reportaron que la salinidad reduce la concentración de K⁺, la relación K/Na, la longitud de las plantas, el contenido de clorofila foliar y la actividad fotosintética en diferentes cultivares de frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp.).

Entre los grupos de plantas tratadas, el de mayor TF fue el que recibió NaM-7CH en condiciones de estrés salino (75 mM de NaCl), y las plantas así tratadas experimentaron un incremento superior al 50% en esta variable (Figura 1), comparado con el grupo control (AD). Estos resultados se pueden justificar debido a que NaM-7CH contiene nanopartículas del ingrediente activo (sal de mar), que está formada por oligoelementos como el magnesio, siendo este fundamental para la molécula de clorofila que juega un rol primordial en la fotosíntesis (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018). En una investigación similar en plantas de frijol (*Vigna unguiculata* L. Walp.) sometidas a estrés salino y tratadas con el medicamento homeopático de uso humano *Sepia sucus*, se obtuvieron respuestas positivas como aumento significativo en el crecimiento y contenido de azúcar, clorofila, proteínas y contenido relativo de agua, en comparación con el grupo control sin homeopatía (Sukul *et al.*, 2012).

De forma general, la condición de salinidad a la cual fueron sometidas las plantas de frijol, reveló una disminución de la fotosíntesis, lo cual se vio reflejado en las variables morfológicas evaluadas. Sin embargo, *P. vulgaris* reveló tolerancia a la salinidad, ya que generó respuestas de tipo morfológico, evitando una disminución drástica del crecimiento en su etapa de crecimiento vegetativo inicial. Estos y otros resultados previamente descritos sugieren que la medicina homeopática tiene gran potencial como tratamiento profiláctico para prevenir daños causados a la planta por el estrés salino. Sin embargo, los resultados obtenidos en las variables morfométricas de plantas tratadas con NaM, demuestran que los beneficios de su aplicación son incluso mayores en ausencia de un agente estresor como el NaCl. Es sabido que, mediante la autorregulación, las plantas responden intensamente a la medicación homeopática en condiciones normales

plants experimented an increase higher than 50% in this variable (Figure 1), compared with the control group (AD). These results can be justified because NaM-7CH contains nanoparticles of the active ingredient (sea salt), which is formed by oligoelements, such as magnesium, essential for the chlorophyll molecule that plays a priority role in photosynthesis (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018). In a similar research study in bean (*Vigna unguiculata* L. Walp.) plants subjected to salinity stress and treated with the homeopathic medicine *Sepia sucus* for human use, positive responses were obtained, such as a significant increase in growth, content of sugar, chlorophyll, proteins and relative content of water in comparison to the control group without homeopathy (Sukul *et al.*, 2012).

In general, the salinity condition to which bean plants were subjected revealed a decrease in photosynthesis, which was reflected on the morphological variables assessed. Nevertheless, *P. vulgaris* revealed tolerance to salinity since it generated morphological responses, avoiding a drastic decrease in its initial growth stage. These and other results previously described suggest that homeopathic medicine has a great potential as prophylactic treatment to prevent damage caused to the plant by salinity stress. However, the results obtained in the morphometric variables of the plants treated with NaM demonstrated that the benefits of its application are even greater in the absence of a stressing agent as NaCl. By means of autoregulation, plants are known to respond intensely to homeopathic medicine in normal or stress conditions (Casali, 2004) and that sustainable agriculture and homeopathic agriculture are compatible (Mazón-Suástegui *et al.*, 2019), which allows at the same time maintaining or improving the quality of the environment and conserving natural resources (Lisboa *et al.*, 2005).

The selection of the homeopathic medicines used to increase tolerance to abiotic stress in plants (mainly toxicity by metals and salt stress) is relatively simple because the denominated “Principle of Similars” (*Similia Similibus Curentur*: ‘Let Likes Be Treated By Likes’) has demonstrated that it is one of the philosophical and conceptual cornerstones of homeopathy with a positive application in agriculture. This principle confirms the “diseases can be cured with something that induces the same symptoms of the disease itself” (Sen *et al.*, 2018). During the

o de estrés (Casali, 2004) y que la agricultura sostenible y la homeopatía agrícola son compatibles (Mazón-Suástegui *et al.*, 2019), lo que permite a la vez mantener o mejorar la calidad del medio ambiente y conservar los recursos naturales (Lisboa *et al.*, 2005).

La selección de medicamentos homeopáticos utilizables para incrementar tolerancia al estrés abiótico en plantas (principalmente toxicidad por metales y estrés por sal) es relativamente simple porque se ha demostrado que el denominado “Principio de los Similares” (*Similia Similibus Curentur*: ‘Let Likes Be Treated By Likes’), que es uno de los pilares filosóficos y conceptuales de la homeopatía, tiene una aplicación positiva en la agricultura. Este principio afirma que “las enfermedades se pueden curar con algo que induce los mismos síntomas que la enfermedad en sí” (Sen *et al.*, 2018). Durante el desarrollo del presente estudio se utilizó un medicamento de uso en humanos (NaM), que es elaborado a partir de sal marina, justamente para atenuar el estrés causado por la adición de cloruro de sodio, principal componente de la sal de mar. Los resultados permiten hipotetizar que las plantas tratadas de manera profiláctica con NaM, pueden desarrollar tolerancia al NaCl, debido a que el principio activo del medicamento pudiera activar mecanismos celulares (aun por estudiar), capaces de enviar a la planta señales de resistencia a la salinidad, antes de ser expuesta a este agente estresante. Con base en los resultados experimentales obtenidos, es posible asumir que la aplicación de MaM podría generar en plantas de Frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán de testa blanca, una respuesta fisiológica para minimizar los efectos negativos del estrés salino por NaCl.

CONCLUSIONES

El tratamiento de las plantas de frijol común *P. vulgaris* con el medicamento homeopático NaM incrementó las variables morfométricas y la tasa fotosintética (TF), propiciando una reducción de los efectos del estrés causado por la salinidad (NaCl). Los valores mayores en todas las variables de respuesta evaluadas se obtuvieron al aplicar los tratamientos NaM-7CH y NaM-7+13CH, con una mayor repercusión en la TF. Ambos tratamientos incluyen la dilución centesimal 7CH y fueron más eficientes que la dilución mayor (13CH). La homeopatía agrícola demostró su valor como alternativa eco-amigable para la agricultura, al reducir los efectos negativos

development of this study a medicine used for humans (NaM) was applied, which was made from marine salt, precisely to attenuate the stress caused by the addiction to sodium chloride, main sea salt component. The results allowed hypothesizing that plants treated prophylactically with NaM may develop tolerance to NaCl because the active principle of the medicine could activate cellular mechanisms (still needs further study), capable of sending resistance to salinity signals to the plant before being exposed to a stressing agent. Based on the experimental results obtained, the application of MaM in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety white testa Quivican plants could generate a physiological response to minimize the negative effects of salinity stress by NaCl.

CONCLUSIONS

The treatment of the common bean *P. vulgaris* plants with NaM homeopathic medicine treatment increased the morphometric variables and Photosynthetic rate (TF), favoring a reduction of the stress effects caused by salinity (NaCl). Greater values of all the response variables assessed were obtained with the applications of NaM-7CH and NaM-7+13CH treatments, with a greater impact in TF. Both treatments included the centesimal dilution 7CH and were more efficient than higher (13CH) dilution. Agricultural homeopathy has demonstrated its value as an eco-friendly alternative for agriculture by reducing the negative effects of salinity stress without the use of chemical treatments that leave harmful residues in air, soil, and water. In general, the results obtained in this study suggest that the use of NaM has a great potential in sustainable organic agriculture, and its application may contribute to increase the biological productivity of *P. vulgaris*.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was financed by the Sectorial Research Fund for Education (Fondo Sectorial de Investigación para la Educación de México), Project Ciencia Básica SEP-CONACYT No. 258282 “Evaluación experimental de homeopatía y nuevos probióticos en el cultivo de moluscos, crustáceos y peces de interés comercial” (Experimental Assessment of homeopathy and new probiotics in rearing mollusks, crustacea,

del estrés salino sin el uso de tratamientos químicos que dejan residuos nocivos en aire, suelo y agua. En general, los resultados obtenidos sugieren que el uso de NaM tiene un gran potencial en agricultura orgánica sostenible y que su aplicación puede contribuir a elevar la productividad biológica de *P. vulgaris*.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue financiado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación de México, proyecto Ciencia Básica SEP-CONACYT No. 258282 “Evaluación experimental de homeopatía y nuevos probióticos en el cultivo de moluscos, crustáceos y peces de interés comercial”, bajo la responsabilidad académica de JMMS. Se agradece el apoyo del personal técnico del CIBNOR: Lidia Hiraes-Lucero y Pedro Luna-García.

-Fin de la versión en español-

REFERENCIAS / REFERENCES

- Argentel, L., D. R. López, L. M. González, R. C. López, E. Gómez, R. Girón, e I. Fonseca. 2009. Contenido de clorofila e iones en la variedad de trigo harinero Cuba-C-204 en condiciones de estrés salino. *Cult. Trop.* 30: 32-37.
- Barrios G., E. J., C. López C., J. Kohashi Shibata, J. A. Acosta G., S. Miranda C. y N. Mayek Pérez. 2011. Avances en el mejoramiento genético del frijol en México por tolerancia a temperatura alta y a sequía. *Rev. Fitotec. Mex.* 34: 247-255.
- Batista Sánchez, D., B. Murillo Amador, A. Nieto Garibay, L. Alcaraz Meléndez, E. Troyo Diéguez, L. Hernández Montiel y C. M. Ojeda Silvera. 2017. Mitigación de NaCl por efecto de un bioestimulante en la germinación de *Ocimum basilicum* L. *Terra Latinoamericana* 35: 309-320.
- Bellucci, E., E. Bitocchi, D. Rau, M. Rodriguez, E. Biagetti, A. Giardini, G. Attene, L. Nanni, and R. Papa. 2014. Genomics of origin, domestication and evolution of *Phaseolus vulgaris*. pp. 483-507. *In*: R. Tuberosa, A. Graner, and E. Frison (eds.). *Genomics of plant genetic resources*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. doi: https://doi.org/10.1007/978-94-007-7572-5_20.
- Bonato, C. M., G. T. Proença, and B. Reis. 2009. Homeopathic drugs *Arsenicum album* and *Sulphur* affect the growth and essential oil content in mint (*Mentha arvensis* L.). *Acta Sci. Agron.* 31: 101-105. doi: 10.4025/actasciagron.v31i1.6642.
- Broughton, W. J., G. Hernández, M. Blair, S. Beebe, P. Gepts, and J. Vanderleyden. 2003. Beans (*Phaseolus* spp.)-Model food legumes. *Plant Soil* 252: 55-128. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1024146710611>.
- Can-Chulim, Á., E. Cruz-Crespo, H. M. Ortega-Escobar, E. I. Sánchez-Bernal, A. Madueño-Molina, J. I. Bojórquez-Serrano y Ó. R. Mancilla-Villa. 2017. Respuesta de *Phaseolus vulgaris* a la salinidad generada por NaCl, Na₂SO₄ y NaHCO₃. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 8: 1287-1300. doi: <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i6.294>.
- Casali, V. W. D. 2004. Utilização da homeopatia em vegetais. pp. 89-117. *In*: Proceedings of the Seminário Brasileiro sobre Homeopatia na Agropecuária Orgânica. Toledo, PR, Brazil.
- Collado, R., N. Veitia, I. Bermúdez-Caraballoso, L. R. García, D. Torres, C. Romero, J. L. Rodríguez-Lorenzo, and G. Angenon. 2013. Efficient in vitro plant regeneration via indirect organogenesis for different common bean cultivars. *Sci. Hortic.* 153: 109-116. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.02.007>.
- El-Hendawy, S., Y. Hu, and U. Schmidhalter. 2005. Growth, ion content, gas exchange, and water relations of wheat genotypes differing in salt tolerance. *Aust. J. Agric. Res.* 56: 123-134. doi: 10.1071/AR04019.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2008. FAO land and plant nutrition management service. FAO, Rome, Italy. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>. (Consulta: marzo 15, 2019).
- Garzón, P. y M. García. 2011. Efecto del estrés por NaCl sobre la anatomía radical y foliar en dos genotipos de frijol (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Bioagro* 23: 153-160.
- Habtam, A., E. Ermias, E. Muluken, T. Mulugeta, and N. Shitaye. 2014. Seed germination and early seedling growth of haricot bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars as influenced by salinity stress. *Inter. J. Agric. Sci.* 4: 125-130.
- Hasegawa, P. M., R. A. Bressnan, J. K. Zhu, and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 51: 463-499. doi: 10.1146/annurev.arplant.51.1.463.
- Hernández, J. A., M. A. Ferrer, A. Jiménez, A. R. Barceló, and F. Sevilla. 2001. Antioxidant systems and O₂⁻/H₂O₂ production in the apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins. *Plant Physiol.* 127: 817-831. doi: 10.1104/pp.010188.
- Isayenkov, S. V. 2012. Physiological and molecular aspects of salt stress in plants. *Cytol. Genet.* 46: 302-318. doi: 10.3103/S0095452712050040.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2010. Rules proposals for the International Rules for Seed Testing 2010

-End of english version-

- Edition. OM Rules Proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition.doc. Approved by ECOM Decision. No.498. Bassersdorf, Switzerland.
- Jaski, J. M., F. J. Telaxka, D. Scheffer, G. Franzener, and G. S. Moura. 2016. Efeito de preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus globulus* sobre a germinação de sementes de feijão. Resumos do IX Congresso Brasileiro de Agroecologia. 28.09 a 01.10.2015. Belém, PA, Brasil.
- Khan, M. H. y S. K. Panda. 2007. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiol. Plant.* 30: 81-89. doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-007-0093-7>.
- Lensi, M. M., T. J. Siqueira, and G. H. Silva. 2010. A pilot study of the influence of natrum muriaticum at 6CH and 30CH potency in a standardized culture of *Phaseolus vulgaris*. *Int. J. High Dilut. Res.* 9: 43-50.
- Liang, Y. C., J. Si, M. Nikolic, Y. Peng, W. Chen, and Y. Jiang. 2005. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization. *Soil Biol. Biochem.* 37: 1185-1195. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.11.017>.
- Lisboa, S. P., M. C. Cupertino, V. M. Arruda, e V. W. D. Casali. 2005. Nova visão dos organismos vivos e o equilíbrio pela homeopatia. UFV. Viçosa, Brazil.
- Mazón-Suástegui, J. M., B. Murillo-Amador, D. Batista-Sánchez, Y. Agüero-Fernández, M. R. García-Bernal, and C. M. Ojeda-Silvera. 2018. *Natrum muriaticum* as an attenuant of NaCl-salinity in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Nova Sci.* 10: 120-136. doi: 10.21640/ns.v10i21.1423.
- Mazón-Suástegui, J. M., C. M. Ojeda-Silvera, M. García-Bernal, M. A. Avilés-Quevedo, F. Abasolo-Pacheco, D. Batista-Sánchez, D. Tovar-Ramírez, F. Arcos-Ortega, B. Murillo-Amador, A. Nieto-Garibay, Y. Ferrer-Sánchez, R. M. Morelos-Castro, A. Alvarado-Mendoza, M. Díaz-Díaz, and B. Bonilla-Montalvan. 2019. Agricultural homeopathy: A new insights into organic's. IntechOpen Books. doi: 10.5772/intechopen.84482.
- Meloni, D. A., M. R. Gulotta, C. A. Martínez, and M. A. Oliva. 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz. J. Plant Physiol.* 16: 39-46. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202004000100006>.
- Mondal, S., N. C. Sukul, and S. Sukul. 2012. *Natrum mur* 200c promotes seed germination and increases total protein, chlorophyll, rubisco and sugar in early seedlings of cowpea under salt stress. *Int. J. High Dilut. Res.* 11: 128.
- Muchate, N. S., G. C. Nikalje, N. S. Rajurkar, P. Suprasanna, and T. D. Nikam. 2016. Plant salt stress: Adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. *Bot. Rev.* 82: 371-406. doi: 10.1007/s12229-016-9173-y.
- Murillo-Amador, B. and E. Troyo-Díeguez. 2007. Effects of salinity on the germination and seedling characteristics of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *Austr. J. Exp. Agric.* 40: 433-438. doi: 10.1071/EA99009.
- Murillo-Amador, B., S. Yamada, T. Yamaguchi, E. Rueda-Puente, N. Ávila-Serrano, J. L. García-Hernández, R. López-Aguilar, E. Troyo-Díeguez, and A. Nieto-Garibay. 2007. Influence of calcium silicate on growth, physiological parameters and mineral nutrition in 431 two legume species under salt stress. *J. Agron. Crop Sci.* 193: 413-421. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2007.00273.x>.
- Pedroza-Sandoval, A., R. Trejo-Calzada, I. Sánchez-Cohen, J. A. Samaniego-Gaxiola y L. G. Yáñez-Chávez. 2016. Evaluación de tres variedades de frijol pinto bajo riego y sequía en Durango, México. *Agron. Mesoam.* 27: 167-76. doi: <http://dx.doi.org/10.15517/am.v27i1.21896>.
- Pérez, A., K. Lisseth, P. Sandoval y E. Hernando. 2014. Comportamiento fisiológico de plantas de rábano (*raphanus sativus* L.) sometidas a estrés por salinidad. *Conexagro JDC* 4: 13-24.
- Radi, A. A., F. A. Farghaly, and A. M. Hamada. 2013. Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. *J. Biol. Earth Sci.* 3: B72-B88.
- Rodríguez Miranda, O., O. Chaveco Pérez, R. Ortiz, M. Ponce Brito, H. Ríos, S. Miranda Lorigados, O. Días, Y. Portelles, R. Torres y L. Cedeño. 2009. Líneas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) resistentes a la sequía. Evaluación de su comportamiento frente a condiciones de riego, sin riego y enfermedades. *Temas Cienc. Tecnol.* 13: 17-26.
- Roy, S. J., S. Negrão, and M. Tester. 2014. Salt resistant crop plants. *Curr. Opin. Biotechnol.* 26: 115-124. doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004>.
- Sadak, M. S. and M. T. Abdelhamid. 2015. Influence of amino acids mixture application on some biochemical aspects, antioxidant enzymes and endogenous polyamines of Vicia faba plant grown under seawater salinity stress. *Gesunde Pflanzen* 67: 119-129. doi: <https://doi.org/10.1007/s10343-015-0344-2>.
- Sen, S., I. Chandra, A. Khatun, S. Chatterjee, and N. R. Das. 2018. Agrohmeopathy: An emerging field of agriculture for higher crop productivity and protection of plants against various stress conditions. *IJRAR* 5: 52-56. doi: 10.1729/Journal.18583.
- Singh, J. S., V. C. Pandey, and D. P. Singh. 2011. Efficient soil microorganisms: A new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agric. Ecosyst. Environ.* 140: 339-353. doi: 10.1016/j.agee.2011.01.017.
- Siqueira, T. J., M. M. Lensi, e G. H. da Silva. 2010. Estudo piloto da influência de Natrum muriaticum 6cH e 30cH numa cultura padronizada de *Phaseolus vulgaris* L. *Rev. Homeopatia* 73: 68-76.
- SSA (Secretaría de Salud). 2015. Farmacopea homeopática de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM-SSA. Biblioteca Nacional de México 615.532-scdd21. ISBN: 978-607-460-509-9.
- Stepien, P. and G. Klbus. 2006. Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biol. Plant.* 50: 610-616. doi: 10.1007/s10535-006-0096-z.
- Sukul, S., S. Mondal, and N. C. Sukul. 2012. Sepia 200cH at 1:1000 dilution ameliorates salt stress in cowpea seedlings but its medium 90% ethanol proves ineffective at the same dilution. *Int. J. High Dilut. Res.* 11: 237-246.
- Taffouo, V. D., J. K. Kouamou, L. M. Tchiengue N., B. A. N. Ndjeudji, and A. Akoo. 2009. Effects of salinity stress on growth, ions partitioning and yield of some Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars. *Int. J. Bot.* 5: 135-143. doi: 10.3923/ijb.2009.135.143.

Távora, F. J. A. F., R. G. Ferreira, F. F. F. Hernandez. 2001. Crescimento e relações hídricas em plantas de goiabeira submetidas a estresse salino com NaCl. Rev. Bras. Frutic. 23: 441-446. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452001000200050>.

Tsugane, K., K. Kobayashi, Y. Niwa, Y. Ohba, K. Wada, and H. Kobayashi. 1999. A recessive Arabidopsis mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. Plant Cell 11: 1195-1206. doi: 10.1105/tpc.11.7.1195.