



MORFOMETRÍA Y CONTENIDO DE CLOROFILA DE *Salicornia bigelovii* (Torr.) TRATADA CON AGUA DE MAR Y *Natrum muriaticum* COMO MITIGADOR DE ESTRÉS SALINO †

[MORPHOMETRY AND CHLOROPHYLL CONTENT OF *Salicornia bigelovii* (Torr.) UNDER SEA WATER TREATMENTS AND *Natrum muriaticum* AS A SALINE STRESS MITIGATOR]

Margarito Rodríguez-Álvarez, José Leonardo Ledea-Rodríguez, Bernardo Murillo-Amador and José Manuel Mazón-Suástegui*

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Av. Instituto Politécnico Nacional No. 195, Colonia Playa Palo de Santa Rita Sur, C.P. 23096. La Paz, Baja California Sur, México. Email: jmazon04@cibnor.mx

*Corresponding author

SUMMARY

Background. *Salicornia bigelovii* (Torr) is a halophyte plant, whose cultivation could be optimized by applying eco-friendly homeopathic treatments, generating new applicable knowledge to reduce saline stress in this and other plant species. **Objective.** Evaluate physiological response in *S. bigelovii* plants irrigated with different proportions of seawater (AM), with application of the homeopathic medicine for human use *Natrum muriaticum* (HOM) in three cultivation periods, considering morphometric variables and chlorophyll content. **Methodology.** A completely randomized experimental design with factorial arrangement and four repetitions was applied. Factor one corresponded to four different proportions of AM (0, 25, 50 and 100%), factor two, to two HOM dynamizations in 7th and 13th centesimal dilution 1:99 and a control without HOM (NaM-0CH, NaM- 7CH and NaM-13CH) and factor three, at three cultivation periods (1, 2 and 3 months). The morphometric response variables evaluated were plant height (AP), stem thickness (GT), plant cover (CV), number of branches (NR) and chlorophyll content "a", "b" and total. **Results.** There were significant differences between treatments ($p \leq 0.01$). The CV and NR variables were favorably modified when applying NaM-7CH and NaM-13CH ($p \leq 0.01$ and 0.001, respectively). The highest AP was obtained with AM-0 / NaM-13CH and the highest GT with AM-50 / NaM-7CH ($p \leq 0.01$). The second degree interaction only affected the concentration of chlorophyll "b", with the highest values ($p \leq 0.05$) during T-2 with respect to T-1, indistinctly to the application of NaM and AM. The content of chlorophyll "a" and total was reduced with AM-50. **Implications.** The NaM-AM interaction modified the morphological expression of *S. bigelovii* (Torr) and the concentration of chlorophyll "a" and total. **Conclusion.** Positive morphological effects were observed at different salinity levels (% of AM) attributable to HOM treatments, such as higher AP with AM-0 / NaM-13CH and higher GT with AM-50 / NaM-7CH, but inconclusive results for chlorophylls. NaM is an eco-friendly alternative to increase the biomass production of *S. bigelovii*.

Key words: agricultural homeopathy; halophytes; salinity; aridity.

RESUMEN

Antecedentes *Salicornia bigelovii* (Torr) es una planta halófito, cuyo cultivo podría optimizarse aplicando tratamientos homeopáticos eco-amigables, generando nuevo conocimiento aplicable para reducir estrés salino en esta y en otras especies vegetales. **Objetivo.** Evaluar respuesta fisiológica en plantas de *S. bigelovii* irrigadas con diferentes proporciones de agua de mar (AM), con aplicación del medicamento homeopático de uso humano *Natrum muriaticum* (HOM) en tres periodos de cultivo, considerando variables morfométricas y contenido de clorofila. **Metodología.** Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial y cuatro repeticiones. El factor uno correspondió a cuatro diferentes proporciones de AM (0, 25, 50 y 100%), el factor dos, a dos dinamizaciones HOM en 7ª y 13ª dilución centesimal 1:99 y un control sin HOM (NaM-0CH, NaM-7CH y NaM-13CH) y el factor tres, a tres períodos de cultivo (1, 2 y 3 meses). Las variables morfométricas de respuesta evaluadas fueron altura de planta (AP), grosor de tallo (GT), cobertura vegetal (CV), número de ramificaciones (NR) y contenido de clorofila "a", "b" y total. **Resultados.** Se registraron diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.01$). Las variables CV y NR fueron modificadas favorablemente al aplicar NaM-7CH y NaM-

† Submitted April 22, 2021 – Accepted September 7, 2021. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.
ISSN: 1870-0462.

13CH ($p \leq 0.01$ y 0.001 , respectivamente). La mayor AP se obtuvo con AM-0/NaM-13CH y el mayor GT con AM-50/NaM-7CH ($p \leq 0.01$). La interacción de segundo grado solo afectó la concentración de clorofila “b”, con los valores más altos ($p \leq 0.05$) durante T-2 respecto a T-1, de forma indistinta a la aplicación de NaM y AM. El contenido de clorofila “a” y total se redujo con AM-50. **Implicaciones.** La interacción NaM-AM modificó la expresión morfológica de *S. bigelovii* (Torr) y la concentración de clorofila “a” y total. **Conclusión.** Se observaron efectos morfológicos positivos a diferentes niveles de salinidad (% de AM) atribuibles a los tratamientos HOM, tales como mayor AP con AM-0/NaM-13CH y mayor GT con AM-50/NaM-7CH, pero resultados no concluyentes para clorofilas. NaM es una alternativa eco-amigable para incrementar la producción de biomasa de *S. bigelovii*. **Palabras clave:** homeopatía agrícola; halófitas; salinidad; aridez.

INTRODUCCIÓN

La *Salicornia bigelovii* (Torr) es una planta halófito facultativa de la familia Chenopodiaceae que se desarrolla en hábitats hiper-salinos. La especie posee capacidades fisiológicas y estructurales que le permiten almacenar sales en sus tejidos, retener y regular mediante procesos osmóticos el contenido de sales en niveles no tóxicos para la célula y seleccionar algunos iones y moléculas como NaCl, al interior de éstas (Bromham, 2015). La *S. bigelovii* es una especie anual, con ciclo biológico de 10-11 meses, que germina en diciembre y alcanza su etapa de madurez fisiológica en noviembre. Los estudios previos reportan un incremento en la producción de biomasa cuando las plantas se riegan con agua de mar a 1.17 S cm^{-1} ; sin embargo, la producción disminuye o es nula si el agua de mar supera el valor de 1.17 S cm^{-1} (Rueda *et al.*, 2011).

La salinización es un fenómeno creciente, con impacto negativo en la calidad del suelo y la disponibilidad de agua para riego (Flowers y Colmer, 2008, Cruz-Falcón *et al.*, 2016). El uso de plantas tolerantes a la salinidad puede ser una alternativa para la sostenibilidad en la producción futura de alimentos. Al respecto, Garza-Torres *et al.* (2020) y Mazón-Suástegui *et al.* (2020a), proponen el cultivo de plantas halófitas en suelos salinizados y en condiciones áridas y semiáridas donde las especies vegetales tradicionales no pueden crecer y desarrollarse. Esta opción se considera una oportunidad para la exploración de esquemas novedosos de producción agrícola y nutricional en el noroeste de México, específicamente en los Estados de Baja California Sur, Baja California y Sonora, donde predominan condiciones agroecológicas áridas y semiáridas (Beltrán-Burboa *et al.*, 2017).

La resistencia de plantas halófitas como *S. bigelovii* al estrés por salinidad está bien documentada mediante estudios del ajuste bioquímico involucrado en sus mecanismos mitigadores del estrés salino. Los niveles de salinidad bajo y alto, principalmente, afectan su crecimiento y desarrollo y aunque no provocan la muerte de la planta, perjudican su estructura morfométrica haciéndola visualmente

frágil y de productividad baja, lo cual se evidencia en un porte bajo, tallos y ramificaciones delgadas, disminución de ramificaciones y otras adaptaciones para sobrevivir en las condiciones extremas que no resultan aplicables, ni rentables en los sistemas de producción.

A fin de atenuar el estrés salino y obtener rendimientos mínimos en las especies halófitas, se precisan tratamientos profilácticos alternativos que provean a la planta de oportunidades para lograr un crecimiento y desarrollo mejor en condiciones de salinidad inferiores a 170 mol m^{-3} y también a niveles superiores a 200 mol m^{-3} . En este sentido, es interesante y novedoso el uso de medicamentos homeopáticos en la agricultura orgánica, los cuales poseen registro oficial para uso humano en la Secretaría de Salud de México (Mazón-Suástegui *et al.*, 2019). La aplicación de medicamentos homeopáticos como mitigadores del estrés salino en plantas de interés agrícola como *Ocimum basilicum* L. (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018); *Brassica napus* L. (Abasolo-Pacheco *et al.*, 2020); *Vigna unguiculata* L. Walp. (Mazón-Suástegui *et al.*, 2020a); *Capsicum annum* var *glabriusculum* (Rodríguez-Álvarez *et al.*, 2020); *Salicornia bigelovii* (Mazón-Suástegui *et al.*, 2020b); *Phaseolus vulgaris* L. variedad Quivican (García-Bernal *et al.*, 2020; Mazón-Suástegui *et al.*, 2020c), entre otras, ha demostrado un potencial muy interesante y superior al de otros productos atenuadores del estrés salino para la agricultura.

Los productos homeopáticos evaluados en esta investigación, tienen registro oficial en la Secretaría de Salud de México; están acreditados para uso en humanos y se producen en laboratorios autorizados que aplican los procedimientos descritos en la Farmacopea Homeopática de los Estados Unidos Mexicanos (Secretaría de Salud, 2015). El uso de estos medicamentos de farmacia surge a partir de la necesidad de buscar alternativas eco-amigables que coadyuven a reducir los daños causados por la salinidad del suelo y el agua de riego, que reducen la productividad agrícola. El objetivo de este estudio fue evaluar la respuesta de variables morfométricas y el contenido de clorofila de plantas de *S. bigelovii* a

la aplicación de *Natrum muriaticum* como mitigador del estrés por agua de mar en tres periodos de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El experimento se realizó en cámaras bioclimáticas del Laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), en condiciones semi-controladas de temperatura y humedad relativa y fotoperiodo de 16/8 horas de luz/oscuridad. El laboratorio está localizado a 17 km al norte de la Ciudad de La Paz Baja California Sur, México, a 24°08'10.03"LN y 110°25'35.31"LO, a 6 metros sobre el nivel del mar.

Material vegetal

Las semillas utilizadas se recibieron en donación por parte del banco de germoplasma del Laboratorio de Biotecnología Vegetal-CIBNOR, las cuales fueron seleccionadas mediante métodos estandarizados (ISTA, 2010) y germinadas en cajas Petri con papel-toalla estéril como sustrato. Las plántulas alcanzaron una talla de 10 cm y se transfirieron a macetas de plástico de 10 cm de altura por 8 cm de diámetro, con perforaciones en el fondo para permitir el drenaje del agua de riego. El sustrato utilizado como medio de cultivo fue Sunshine® (Sun Gro Horticulture Distribution Inc. USA).

Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial. El factor uno correspondió a proporciones diferentes de agua de mar con cuatro niveles (AM: 0, 25, 50 y 100%), el factor dos fueron dinimizaciones de *Natrum muriaticum* con tres niveles (NaM: 0, 7 y 13CH) y el factor tres, los periodos de cultivo con tres niveles (T: 1, 2 y 3 meses) para un total de 36 tratamientos con cuatro repeticiones. Lo anterior, asumiendo que un periodo de tres meses de cultivo/tratamiento es suficiente para obtener una respuesta biológica diferenciada de la especie objetivo, a los tratamientos salinos con agua de mar (AM) y/o a los homeopáticos con *Natrum muriaticum* (HOM).

Tratamientos salinos

El agua para riego se preparó mezclando agua de mar y agua potable desalinizada en diferente proporción porcentual, 0, 25, 50 y 100%. Los tratamientos salinos se suministraron diariamente durante tres meses. Los tratamientos contenían además una solución nutritiva formulada por Schipeers, *et al.*

(1980). Las proporciones de agua de mar/agua potable utilizadas para alcanzar los rangos de salinidad en unidades prácticas de salinidad (UPS; equivalentes a g L⁻¹), fueron, 0/5 (0.76 UPS), 1.2/3.7 (9 UPS), 2.5/2.5 (18 UPS) y 5/0 (36 UPS). El agua de mar filtrada a 20 µm se obtuvo del Laboratorio de Homeopatía Acuícola y Semillas Marinas del CIBNOR. El agua preparada y utilizada como tratamientos salinos, se ajustó a un pH de 6.0 y se le midió la conductividad eléctrica (CE), la temperatura (T °C), los sólidos totales disueltos (STD) y la salinidad (UPS) con equipo portátil (Thermo Scientific®, Modelo Orion® Star A222, Serie K12692, USA). El lavado de las macetas con las plantas de salicornia se realizó cada semana, con el propósito de evitar la acumulación progresiva de sales

Tratamientos homeopáticos

El medicamento homeopático *Natrum muriaticum* en 6^a y 12^a dilución centesimal Hahnemaniana 1:99 (NaM-6CH y NaM-12CH) diluido en etanol 87 °GL (Similia®) se obtuvo del proveedor Farmacia Homeopática Nacional®, CDMX, México, el cual está autorizado por la Secretaría de Salud de México. Los tratamientos homeopáticos, NaM-7CH y NaM-13CH, se obtuvieron mediante la dilución centesimal, 1:99 en agua potable para minimizar un efecto potencial del etanol, agitando vigorosamente por dos minutos en equipo vortex (BenchMixer®, Edison, NJ, USA). Los tratamientos homeopáticos incluyendo el control (agua destilada) sin medicamento (NaM-0CH), se aplicaron vía foliar asperjando diariamente en la parte aérea de las plantas, aplicando en lo general los procedimientos de homeopatía agrícola y acuícola recomendadas por Mazón-Suástegui *et al.* (2018, 2019).

Variables de respuesta morfométricas

Las variables de respuesta se midieron a partir de la tercera semana post-trasplante, considerando esta fecha como el periodo cero (T-0) y posteriormente cada mes, durante tres meses. La altura de planta AP (cm), se midió desde el nivel del suelo a la parte apical de la planta, con regla graduada de 30 cm en etapa temprana y con regla graduada de 100 cm (Pilot®) en la etapa de crecimiento mayor. El grosor del tallo GT (mm) se midió con un calibrador vernier digital (Sterem® HER-411) a una altura de 2 cm por encima del suelo. La cobertura vegetal CV (cm) se midió con regla graduada (Pilot®) de 100 cm, considerando el área de la copa completa, en un plano horizontal y la sección media de la altura o de la parte aérea. El número de ramificaciones (NR) se contabilizó desde la base de la planta hasta la última



Figura 1. Esquema descriptivo y fotografías ilustrativas mostrando las variables de respuesta evaluadas: Altura de la planta (AP), Grosor del tallo (GT), Cobertura vegetal (CV) y Número de ramificaciones (NR).

ramificación apical, considerando aquellas que parten del tallo principal (Figura 1).

VARIABLES DE RESPUESTA BIOQUÍMICAS

El contenido de clorofila “a”, “b” y total se realizó mediante la metodología propuesta por Arnon (1949) y modificaciones aplicadas en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal del CIBNOR, producto de la experiencia del personal técnico, utilizando un espectrofotómetro UV (HACH, modelo DR 3900, serie 1575983, USA). Brevemente: se tomaron tres muestras/planta de la parte apical, y a partir de esa biomasa fresca se pesó 0.1g y se colocó en 5 mL de acetona grado analítico CAS 67-64-1 al 80% (v/v) por un periodo de 72 horas en oscuridad a temperatura ambiente ($\approx 23^{\circ}\text{C}$). Esta cantidad de biomasa fue equivalente en peso a un tercio de la contenida en un “disco” obtenido con “sacabodados” para estudios similares en otras especies vegetales que tienen hoja lanceolada como *Phaseolus vulgaris* L. y no filiforme como *S. bigelovii*. Esta modificación en la metodología permitió reducir también a un tercio la cantidad de acetona requerida, y por lo tanto reducir la cantidad de desechos tóxicos del laboratorio. Transcurrido el tiempo necesario para la extracción de clorofila, se realizaron dos lecturas por muestra en el espectrofotómetro y se evaluó el contenido utilizando las ecuaciones siguientes:

Clorofila “a” $\text{mg mL}^{-1} = 12.7 (\text{D.O } 663 \text{ nm}) - 2.69 (\text{D.O } 645 \text{ nm})$ (dilución ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)).

Clorofila “b” $\text{mg mL}^{-1} = 22.9 (\text{D.O } 645 \text{ nm}) - 4.64 (\text{D.O } 663 \text{ nm})$ (dilución).

Clorofila total $\text{mg mL}^{-1} = 20.2 (\text{D.O } 645 \text{ nm}) + 8.02 (\text{D.O } 663 \text{ nm})$ (dilución).

Dilución $\text{mg mL}^{-1} = \text{peso de la muestra} / (5 \text{ mL de acetona usada})$.

D.O = Densidad óptica.

El contenido de clorofila “a”, “b” y total, se realizó solo durante el primer y segundo mes, debido a que, durante este periodo inicial, el efecto de los tratamientos fue evidente, con respecto al tercer mes. Esta decisión se tomó basado en el hecho de haber observado una pigmentación verde homogénea en todas las plantas, independientemente del tratamiento salino u homeopático aplicado, e incluyendo el tratamiento control.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prueba de Bartlett se ejecutó en los datos para probar la homogeneidad de varianza (Bartlett, 1937). La normalidad de los datos se probó con las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk W. Los análisis de varianza se realizaron para las variables de respuesta, altura de planta, grosor del tallo, cobertura vegetal, número de ramificaciones, contenido de clorofila “a”, “b” y total. Los valores promedio se consideraron estadísticamente diferentes cuando $p \leq 0.05$. Se realizaron comparaciones de medias de los tratamientos con la prueba de comparación múltiple de medias de Newman-Keuls ($p \leq 0.05$). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statística v. 12.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de la planta y grosor del tallo

El valor promedio significativamente ($p \leq 0.001$) mayor de AP se obtuvo en las plantas irrigadas con

Tabla 1. Altura de planta y grosor del tallo de plantas de *Salicornia bigelovii* sometidas a tratamientos de agua de mar diluida y *Natrum muriaticum* como mitigador de salino estrés.

Tratamientos salinos Dilución porcentual (%) de agua de mar (AM)	<i>Natrum muriaticum</i> (NaM)	Altura de planta (cm)	Grosor del tallo (cm)
AM-0	NaM 0CH	28.32±5.8 ^{bc*}	3.68±1.1 ^a
AM-25	NaM 0CH	27.49±5.7 ^{bcd}	3.58±1.1 ^{ab}
AM-50	NaM 0CH	27.61±5.7 ^{bcd}	3.32±1.1 ^{ab}
AM-100	NaM 0CH	24.70±5.7 ^d	2.72±1.1 ^c
AM-0	NaM 7CH	27.73±5.7 ^{bcd}	3.87±1.0 ^a
AM-25	NaM 7CH	26.48±5.8 ^{cd}	3.38±1.1 ^{ab}
AM-50	NaM 7CH	29.85±5.7 ^{bc}	3.93±1.1 ^a
AM-100	NaM 7CH	30.32±5.7 ^b	3.00±1.1 ^{bc}
AM-0	NaM 13CH	33.1±5.7 ^a	3.49±1 ^{bc}
AM-25	NaM 13CH	29.61±5.8 ^{bc}	3.64±1.1 ^a
AM-50	NaM 13CH	27.80±5.7 ^{bcd}	3.39±1.1 ^{ab}
AM-100	NaM 13CH	26.79±5.7 ^{cd}	3.31±1.1 ^{ab}
±EE		0.45	0.00036
P		0.001	0.001
F		8.49	2.68

*Valores promedio con al menos una letra en común no difieren entre sí (Keuls, 1952). La significación se alcanzó mediante la transformación \sqrt{x} . ± desviación estándar de la media.

P: Nivel de significación; F: F de Fisher; ±EE: Error estándar

agua potable sin adición de agua de mar (AM-0) y tratadas foliarmente con NaM-13CH. El valor promedio inferior de AP se obtuvo en las plantas tratadas con agua de mar al 100% sin aplicación de NaM (AM-100/NaM-0CH), comprobando que *S. bigelovii* aun siendo una planta halófila facultativa, puede soportar el riego con agua de mar, pero no se desarrolla en las óptimas condiciones, ni ofrece los mejores rendimientos en términos de producción de biomasa vegetal (Tabla 1). Los resultados mostraron que la salinidad tuvo un efecto negativo, pues en el tratamiento control se registraron los valores promedio mayores de AP, mientras que el efecto positivo de *Natrum muriaticum* fue evidente, incluso al aplicar una alta dilución centesimal Hahnemaniana 1:99 (NaM-13CH), por encima de lo establecido por la Teoría de Avogadro (Mazón-Suástegui *et al.*, 2018, 2020). Con esta alta dilución se registraron valores de AP mayores, comparado con los obtenidos al aplicar una dilución homeopática baja (NaM-7CH) y con un tratamiento control sin homeopatía (NaM-0CH). De acuerdo con esta teoría, a un nivel de dilución serial 13CH, no deberían estar presentes las sustancias contenidas en el concentrado original; sin embargo, se han demostrado efectos positivos, incluso al aplicar medicamentos homeopáticos a una 31ª dilución centesimal (Mazón-Suástegui *et al.*, 2019, 2020).

El valor promedio mayor de GT se obtuvo en las plantas tratadas con la combinación AM-50/NaM-7CH, mientras que el valor promedio menor lo presentaron las plantas tratadas con AM-100/NaM-0

(Tabla 1). Las plantas tratadas con *Natrum muriaticum* registraron valores promedio mayores de GT respecto a las no tratadas con NaM, indistintamente del grado de salinidad al que se sometieron. En las plantas tratadas con NaM-7CH se registró un efecto mayor en GT, comparado con NaM-13CH y NaM-0CH. Al respecto, Abasolo *et al.* (2020) obtuvieron resultados similares con NaM-7CH en plantas de *Cucumis sativus* L., registrando los valores promedio mayores de diámetro de tallo. Mazón-Suástegui *et al.* (2018) reportaron resultados similares a los de este estudio cuando aplicaron dinimizaciones de NaM-7 y NaM-13CH en plantas de *Ocimum basilicum* L.; las plantas tratadas con NaM-7CH registraron valores promedio mayores en las variables morfológicas, respecto a las plantas tratadas con NaM-13CH y al grupo control sin el uso del *Natrum muriaticum*.

La altura de plantas de *S. bigelovii* se relaciona directamente con la morfometría (longitud y grosor) de sus nudos, debido a la división y/o elongación celular. De acuerdo con Ayala y O'Leary (1995), este crecimiento es óptimo en salinidades de 100-200 mM L⁻¹, equivalentes a 8-16 UPS, aunque se considera idóneo en el rango de 170-200 mM L⁻¹ (13.8-16 UPS), mientras que el crecimiento y desarrollo se reducen en el intervalo de 0-50 mM L⁻¹ de NaCl, equivalente a 0-0.7 UPS. Con los tratamientos salinos reportados por Ayala y O'Leary (1995), la concentración de sales fue equivalentes a usar NaCl a una concentración de 100-600 mM L⁻¹ ≈ 48.20 UPS, mientras que en la presente investigación la

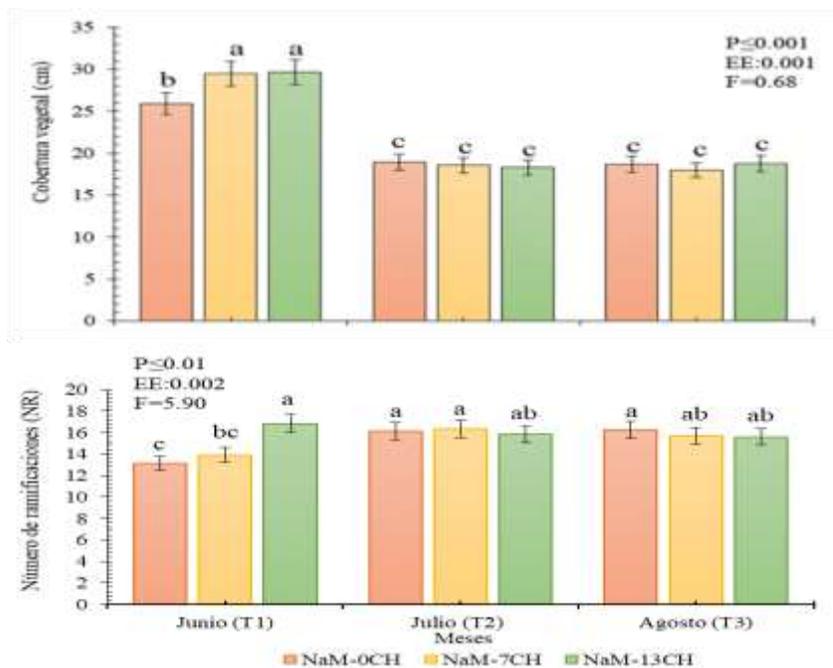


Figura 2. Variación temporal de cobertura vegetal y número de ramificaciones, en plantas de *Salicornia bigelovii* sometidas a tratamientos de agua de mar diluida y *Natrum muriaticum* como mitigador de estrés.

Valores promedio con al menos una letra en común no difieren entre sí (Keuls, 1952).

La significación se obtuvo mediante la transformación de $\sqrt{x+4}$.

Barras verticales indican la desviación estándar.

salinidad máxima utilizada AM-100 fue de 35.6 UPS.

Mazón-Suástegui et al. (2020b) evaluaron *Natrum muriaticum* en dos dinamizaciones (NaM-7CH y NaM-13CH) y *Phosphoricum acidum* (PhA-13CH) en *S. bigelovii*, observando que los tres tratamientos incrementaron significativamente la tasa y el porcentaje de germinación, así como la longitud de tallo, de radícula y la producción de biomasa. Estos autores concluyen que los resultados con aplicabilidad productiva se obtuvieron con NaM-7CH, debido posiblemente a oligoelementos de sal de mar que caracterizan el principio activo de NaM, mismos que se encuentran en concentración mayor con respecto a la 13ª dinamización del *Natrum muriaticum* (NaM-13CH). Sin embargo, Rodríguez-Álvarez et al. (2020) señalaron una respuesta mayoritariamente positiva a NaM-13CH con respecto a NaM-7CH en *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*, lo que pudiera relacionarse al efecto de la dinamización y al tipo de cultivo (especie), pudiendo incluso existir alguna respuesta diferencial por predisposición genética de esta especie y de sus variedades o líneas genéticas a los efectos de los productos aplicados.

Cobertura vegetal (CV) y Número de ramificaciones (NR)

Los valores de CV y NR presentaron diferencias respecto al uso del medicamento homeopático NaM y los periodos de cultivo. La CV presentó los valores promedio mayores ($p \leq 0.001$) al concluir el primer periodo del bioensayo (T-1), comparado con los periodos T-2 y T-3. En el T-1, las plantas tratadas con NaM-7CH y NaM-13CH registraron los valores promedio mayores en comparación con las que recibieron el tratamiento control sin medicación homeopática (NaM-0CH) (Figura 2).

Al concluir el primer periodo del bioensayo (T1), el número de ramificaciones (NR) se incrementó mayormente ($p \leq 0.01$) por NaM-13CH en comparación con NaM-7CH y NaM-0CH (Control), incluso comparándolo entre T-2 y T-3. Sin embargo, la respuesta de las plantas se hizo menos evidente a partir del segundo y el tercer periodo de cultivo (T-2 y T-3), cuando no se presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre las plantas tratadas NaM-7CH y NaM-13CH.

Acorde con Garza-Torres et al. (2020), los valores promedios de CV y NR, no se relacionan proporcionalmente ya que las ramas de *S. bigelovii*

Tabla 2. Respuesta estacional del contenido de clorofila “b” de plantas de *Salicornia bigelovii* sometidas a tratamientos de agua de mar diluida y *Natrum muriaticum* como mitigador de estrés salino.

Tratamientos salinos Dilución porcentual (%) de agua de mar (AM)	Periodos de cultivo (meses)	<i>Natrum muriaticum</i> (NaM)	Contenido de clorofila “b” (g/mL ⁻¹)
AM-0	T-1	NaM 0CH	0.05±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-25	T-1	NaM 0CH	0.05±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-50	T-1	NaM 0CH	0.05±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-100	T-1	NaM 0CH	0.04±0.001 ^{bc} (1.75)
AM-0	T-1	NaM 7CH	0.05±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-25	T-1	NaM 7CH	0.16±0.01 ^{ab} (1.75)
AM-50	T-1	NaM 7CH	0.04±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-100	T-1	NaM 7CH	0.03±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-0	T-1	NaM 13CH	0.05±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-25	T-1	NaM 13CH	0.04±0.01 ^{bc} (1.75)
AM-50	T-1	NaM 13CH	0.11±0.001 ^a (1.76)
AM-100	T-1	NaM 13CH	0.04±0.001 ^a (1.75)
AM-0	T-2	NaM 0CH	0.07±0.03 ^a (1.75)
AM-25	T-2	NaM 0CH	0.10±0.02 ^a (1.76)
AM-50	T-2	NaM 0CH	0.11±0.001 ^a (1.76)
AM-100	T-2	NaM 0CH	0.10±0.001 ^a (1.76)
AM-0	T-2	NaM 7CH	0.11±0.01 ^a (1.76)
AM-25	T-2	NaM 7CH	0.11±0.01 ^a (1.76)
AM-50	T-2	NaM 7CH	0.11±0.001 ^a (1.75)
AM-100	T-2	NaM 7CH	0.10±0.05 ^a (1.76)
AM-0	T-2	NaM 13CH	0.11±0.03 ^a (1.76)
AM-25	T-2	NaM 13CH	0.11±0.01 ^a (1.76)
AM-50	T-2	NaM 13CH	0.09±0.02 ^a (1.76)
AM-100	T-2	NaM 13CH	0.10±0.001 ^a (1.76)
±EE			0.0004
<i>P</i>			0.04
<i>F</i>			2.57

*Valores promedios con al menos una letra en común no difieren entre sí (Keuls, 1952).

Valores entre paréntesis corresponden a promedios transformados mediante \sqrt{x} . ± desviación estándar de la media.

P: Nivel de significación; F: F de Fisher; EE: Error estándar.

tienden a engrosarse y a mostrarse estructuralmente ásperas en función del crecimiento y la madures de la planta. Debido a esto la planta podría incrementar la parte aérea sin que deba haber un incremento en el número de ramificaciones. Para los fines del presente estudio, la reducción de la CV se atribuye al periodo de experimentación, el cual solo representó 3/9 partes del ciclo de vida de la especie, que equivale a nueve meses. Durante su ciclo de crecimiento, la especie renueva sus ramas, que se observan delgadas y muchas veces endebles, por lo cual su cobertura vegetal se reduce. Durante el segundo y tercer periodo de cultivo (T-2 y T-3), los tratamientos con NaM-7CH y NaM-13CH no tuvieron un efecto significativo respecto al control (NaM-0CH).

Contenido de clorofila “b”

La interacción de segundo grado afectó la concentración de clorofila “b” en T-1 y T-2 (Tabla 2). Los valores promedio significativamente mayores ($p \leq 0.05$) se observaron al concluir el segundo mes de cultivo (T-2). De igual forma, los valores promedio estadísticamente inferiores ($P \leq 0.05$), se ubicaron en los primeros periodos del estudio (T-1), combinándose sin una clara definición hacia un tratamiento salino (AM) o un tratamiento homeopático (NaM).

De acuerdo con El-Tarabily *et al.* (2020), la concentración de pigmentos fotosintéticos se relaciona con la pérdida o nula preservación de las

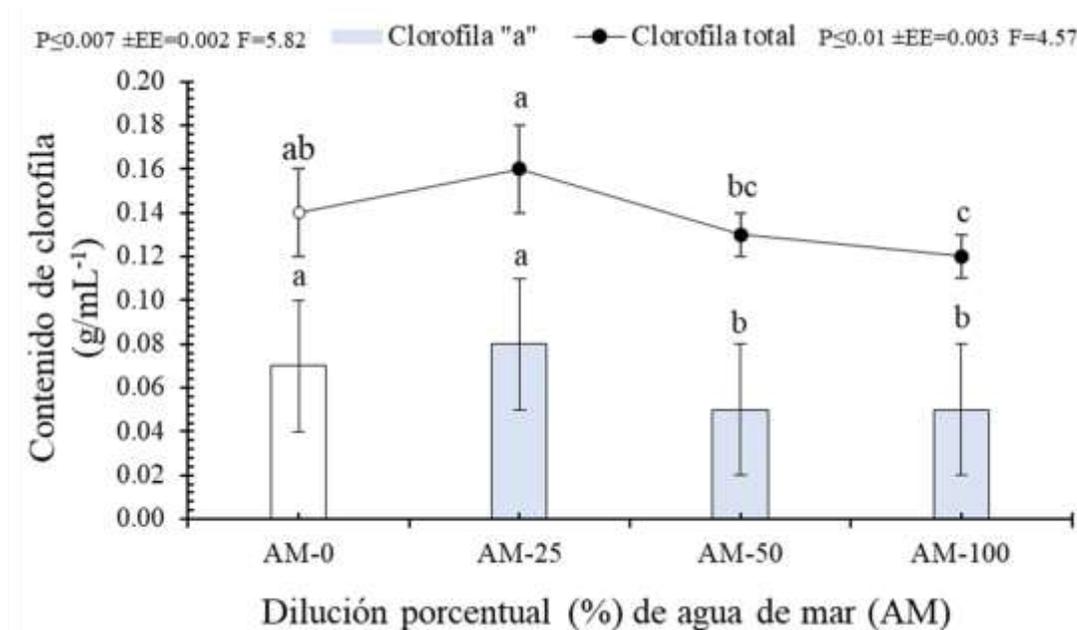


Figura 3. Contenido de clorofila "a" y total de plantas de *Salicornia bigelovii*, sometidas a tratamientos de dilución porcentual (%) de agua de mar (AM).

†Valores promedio con al menos una letra en común en una misma columna, no presentan diferencias significativas para $p \leq 0.05$ según (Keuls, 1952). ††La significación se alcanzó mediante la transformación $\sqrt{x+1}$. Se presentan valores promedio \pm la desviación estándar de la media. P: Nivel de significación; F: F de Fisher; $\pm EE$: Error estándar

membranas tilacoides en los sitios del complejo clorofila-proteína. En este estudio se observó cierta similitud entre los valores promedio obtenidos con los tratamientos de NaM-7CH y NaM-13CH, así como con el tratamiento control (NaM-0CH). Al concluir el segundo periodo de cultivo (T-2) se registraron los valores promedio mayores ($p \leq 0.05$) respecto a T-1. Esta respuesta se asocia a un proceso fisiológico que ocurre conforme la planta crece (Tabla 2). Acorde con Ayala y O'Leary (1995), la concentración de pigmentos fotosintéticos se afecta de forma paulatina conforme avanza la maduración de la planta y se incrementa la salinidad. Esta respuesta coincide con los resultados de este estudio para el efecto de la madurez; sin embargo, para los niveles de salinidad, los resultados no coinciden con el planteamiento correspondiente de los autores mencionados. Esta respuesta se explica en función de algún efecto fotoprotector del *Natrum muriaticum*, específicamente relacionado con los pigmentos de longitud de onda corta (clorofila "b"), una hipótesis que se debería comprobar en estudios posteriores.

Contenido de clorofila "a" y total

El contenido de clorofila "a" y total, no mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos homeopáticos (NaM-7CH y NaM-13CH) pero sí ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos salinos (Figura 3), obtenidos por adición de agua de mar

(AM-0, AM-25, AM-50 y AM-100). El contenido de clorofila "a" fue mayor en las plantas que recibieron el tratamiento AM-25 y el tratamiento control AM-0. El valor promedio estadísticamente mayor ($p \leq 0.05$) de clorofila total se registró en las plantas tratadas con AM-25 y con el control agua potable AM-0 (Figura 3).

En relación a la concentración de pigmentos fotosintéticos en plantas sometidas a diferentes gradientes de salinidad, Ayala y O'Leary (1995) observaron respuestas similares a las observadas en la presente investigación y concluyen que este gradiente afecta dicha concentración en salinidades óptimas como 200 mM de NaCl (10.7 UPS), con respecto a salinidades subóptimas de 5 mM de NaCl (0.7 UPS). Estos autores mencionan que la economía del agua fue mayor en concentraciones óptimas (10.7 UPS) que en subóptimas (0.7 UPS), sugiriendo una redistribución de la energía en la planta, utilizable para la dilatación de tejidos o el crecimiento celular, lo que permite a la planta tolerar concentraciones mayores de NaCl.

CONCLUSIONES

Las plantas sometidas a la interacción de los tratamientos AM-0/NaM-13CH mostraron los valores mayores de altura, mientras que las tratadas con AM-50/NaM-7CH mostraron grosor de tallo mayor. La cobertura vegetal se incrementó en las

plantas sometidas al tratamiento homeopático NaM-7CH, siendo más evidente su efecto al concluir el primer periodo del estudio (T-1). El número de ramificaciones se incrementó en las plantas que recibieron el tratamiento homeopático NaM-13CH, incluso al comparar resultados entre el primero y segundo periodo del experimento (T2). El contenido de clorofila “b” se incrementó durante el segundo periodo de experimentación. La interacción AM-25/NaM-7CH solo afectó la concentración de clorofila “b”, con los valores más altos ($p \leq 0.05$) durante T-2 respecto a T-1, de forma indistinta a la aplicación de NaM y AM. El contenido de clorofila “a” y total se redujo con AM-50. Los resultados globales del presente estudio coinciden con publicaciones recientes citadas en texto y sugieren que un mejor desempeño de *S. bigelovii* es atribuible a la reducción del estrés asociado a la salinidad, mismo que las halófitas soportan gracias a mecanismos fisiológicos que le son propios y evolutivamente adquiridos. Adicionalmente, se observó un buen desarrollo en las plantas no sometidas a estrés salino y tratadas con NaM. *S. bigelovii* es una planta halófito facultativa y puede soportar el riego con agua de mar, pero no se desarrolla en las óptimas condiciones, ni ofrece los mejores rendimientos en términos de producción de biomasa vegetal, a menos que se apliquen productos para atenuar el estrés salino. El uso de tratamientos de origen natural formulados a partir de medicamentos homeopáticos podría ser una alternativa eco-sostenible para optimizar el cultivo de *S. bigelovii* y de otras especies de interés agronómico, en sustitución de agroquímicos utilizables para ese mismo fin. Por regla general, estos tratamientos tienen un altísimo grado de inocuidad y sustentabilidad ya que no se acumulan en los tejidos afectando la calidad bromatológica del producto cosechado, para consumo humano directo. Todo lo antes expuesto permite concluir que los tratamientos a base de *Natrum muriaticum* 7CH y 13CH, son eco-amigables, reducen el estrés salino y favorecen el desarrollo de *S. bigelovii*.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo del personal técnico del CIBNOR, Lidia Hirales-Lucero, Kassandra Rodríguez-Macías, Pedro Luna-García y Adrián Jordán-castro.

Funding. The research was funded by *Fondo Sectorial de Investigación para la Educación, 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”*, under JMMS academic responsibility.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interest. The funding sources had no role in the study design, in the data collection, analysis or interpretation, in the writing of the manuscript or in the decision to publish the results.

Compliance with ethical standards. The research did not include measurements with humans or animals. The study site is not considered a protected area nor is the species under study protected or in danger of extinction, therefore, its use has negligible effects on the broader functioning of the ecosystem.

Data availability. The authors confirm that all the data underlying the findings are fully available without restrictions, upon reasonable request to the corresponding author, Dr. José Manuel Mazón Suástegui, at the email jmazon04@cibnor.mx. All relevant data required to replicate this study are described in the document.

REFERENCIAS

- Arnon, D.I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in (*Beta vulgaris*). *Plant Physiology*, 24, pp. 1-5.
- Abasolo Pacheco, F., Ojeda Silvera, C.M., Cervantes Molina, J.E., Moran Villacreses, M., Vera Aviles, D., Ganchozo Mendoza, E. y Mazón Suástegui, J.M., 2020. Respuesta agronómica del nabo (*Brassica napus* L.) a la aplicación de medicamentos homeopáticos. *Terra Latinoamericana*, número especial 38(1), pp. 183-198. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.667>.
- Ayala, F., and O’Leary, J.W., 1995. Growth and Physiology of (*Salicornia bigelovii* Torr), at suboptimal salinity. *International journal of Plant Sciences*, 156(2), pp.197-205.
- Bartlett, M.S., 1937. Properties of sufficiency and statistical test. Proceedings of the Royal Society of London. Series A-Mathematical and Physical Sciences, 160(901), pp.268-282.
- Beltran Burboa, C.E., Arce, M.E., Blanclotto, O., López Ahumada, G.A., Vargas, J.M., Hernández Montiel L.G., Reyes Pérez, J.J., Nieto Garibay, A., Ruiz Espinosa, F.H., Ayala Álvarez, F., Cisneros Almazán, R., Wong Corral, F.J., Flores Borboa, J. y Rueda Puente, E.O., 2017. *Salicornia bigelovii* (Torr.): un sistema modelo para incorporarse como cultivo agrícola en zonas árido-desérticos. *Biotecnica*, 19(E3), pp. 46-50.

- <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/413/232>
- Bromham, L., 2015. Macroevolutionary patterns of salt tolerance in angiosperms. In *Annals of Botany*, Vol.115, Issue 3, pp.333-341. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu299>
- Cruz Falcón, A., Murillo Jiménez, J.M., Troyo Diéguez, E. y Nava Sánchez, E.H., 2016. Distribución de sales y arsénico en el acuífero de La Paz B.C.S, México. *Recursos Naturales y Sociedad*, 02(02), pp.56-75.
- El-Tarabily, K.A., ElBafhdady, K.Z., AlKhajeh, A.S., Ayyash, M.M., Aljneibi, R.S., El-Keblawy, A. and AbuQamar, S.F., 2020. Polyamine-producing actinobacteria enhance biomass production and seed yield in (*Salicornia bigelovii*). *Biology and Fertility of Solis*, 56(4), pp.499-519.
- Flower, T.J. and Colmer, T.D., 2008. Tansley review Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179: pp. 945-963. <http://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02531.x>
- García Bernal, M., Ojeda Silvera, C.M., Batista Sánchez, D., Abasolo Pacheco, F. y Mazón Suástegui, J.M., 2020. Respuesta del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán a la aplicación de medicamentos homeopáticos. *Terra Latinoamericana*, número especial 38(1), pp.137-147. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.583>.
- Garza Torres, R., Troyo Diéguez, E., Nieto Garibay, A., Lucero Vega, G., Magallón Barajas, F.J., García Galindo, E., Fimbres Acedo, Y. and Murillo Amador, B., 2020. Environmental and management considerations for adopting the halophyte (*Salicornia bigelovii* Torr.) as a sustainable seawater-irrigated crop. *Sustainability* (Switzerland), 12(2).
- ISTA (International Seed Testing Association), 2010. Rules proposals for the International Rules for Seed Testing 2010 Edition. Approved by ECOM Decision. No. 498. Bassersdorf, Switzerland
- Keuls, M., 1952. The use of the studentized range in connection with an analysis of variance. *Euphytica*, 1(2), pp.112-122.
- Mazón Suástegui, J.M., Murillo Amador, B., Batista Sánchez, D., Agüero Fernández, Y.M., García Bernal, M. y Ojeda Silvera, C.M., 2018. Natrum muriaticum como atenuante de la salinidad (NaCl) en albahaca (*Ocimum basilicum* L.). *Nova Scientia*. 10(2), pp.148-164.
- Mazón Suástegui J.M., Ojeda Silvera C.M., García Bernal M., Avilés Quevedo M.A., Abasolo Pacheco F., Batista Sánchez D., Tovar Ramírez D., Arcos Ortega F., Murillo Amador B., Nieto Garibay A., Ferrer-Sánchez Y., Morelos Castro R.M., Alvarado Mendoza A., Díaz Díaz M., and Bonilla Montalvan B., 2019. *Agricultural homoeopathy: A new insights into organics.*, In: Jan Moudry (ed.) *Multifunctionality and Impacts of Organic and Conventional Agriculture*, IntechOpen. <http://dx.doi.org/19.5772/intechopen.84482>
- Mazón Suástegui J.M., Ojeda Silvera C.M., García Bernal M.R., Batista Sánchez D., Gurrola Mesa A.D. y Mesa Zavala E., 2020a. Efecto de medicamentos homeopáticos en indicadores fisiológicos y del desarrollo inicial del frijol Yorimón (*Vigna unguiculata* L, Walp.). *Terra Latinoamericana*, número especial 38(1), pp.13-23. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.581>.
- Mazón Suástegui, J.M., Ojeda Silvera, C.M., Agüero Fernández, Y.M., Batista Sánchez, D., Batista Sánchez, D., García Bernal, M. and Abasolo Pacheco, F., 2020b. Effect of homeopathic medicines on the germination and initial growth of (*Salicornia bigelovii* Torr). *Terra Latinoamericana*, número especial 38(1), pp.113-124. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.580>.
- Mazón Suástegui J.M., Ojeda Silvera, C.M., García Bernal M., Batista Sánchez D. y Abasolo Pacheco, F., 2020c. Homeopatía incrementa la tolerancia al estrés por NaCl en plantas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad Quivicán. *Terra Latinoamericana*, número especial 38(1), pp.37-51. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.584>.
- Rodríguez Álvarez, M., Morales Roblero, N., Batista Sánchez, D., y Mazón Suástegui, J.M., 2020. Natrum muriaticum attenuates NaCl stress in (*Capsicum annuum* L. Var. *Glabriusculum*). *Terra Latinoamericana*, número especial 38(1), pp.83-102. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.677>.
- Rueda Puente, E.O., Beltrán Morales, F.A., Ruiz Espinoza, F.H., Valdez Cepeda, R.D., García Hernández, J.L., Ávila Serrano, N.Y., Partida Ruvalcaba, L. y Murillo Amador B. 2011. Opciones de manejo

sostenible del suelo en zonas áridas: aprovechamiento de la halòfito (*Salicornia bigelovii* Torr) y uso de biofertilizantes en la agricultura moderna. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 13(2), pp.157-167.
<https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/442/534>

Secretaría de Salud, 2015. Farmacopea homeopática de los Estados Unidos Mexicanos. FEUM-SSA. Biblioteca Nacional de México 615.532-scdd21.

Schippers, P.A., 1980. Composition changes in the nutrient solution during the growth of plants in recirculating nutrient culture. *Acta Horticulture* 98: pp.103-117.