

MELATONINA Y SU IMPORTANCIA EN PLANTAS

MELATONIN AND ITS SIGNIFICANCE IN PLANTS



Trabajo de Fin de Grado

ANDREA GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

Tutorizado por Juan Cristo Luis Jorge

Grado en Biología. Julio 2020

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract	1
1. Introducción.....	2
2. Objetivos.....	3
3. Biosíntesis y localización subcelular	3
4. La Melatonina y la Germinación	5
5. La Melatonina y su papel en el Crecimiento y Desarrollo Vegetal.....	7
6. La Melatonina y la Floración.....	9
7. La Melatonina y Cuajado, Desarrollo y Maduración del Fruto.....	11
8. El papel de la Melatonina en el Estrés Abiótico.....	12
9. La Melatonina y su papel en el Estrés Biótico	14
10. La Melatonina como Bioestimulante	16
11. Conclusiones	18
Conclusions	20
Bibliografía	22

Resumen

La Melatonina es una molécula relativamente reciente descrita en vegetales, aunque en animales es bien conocida. En esta revisión bibliográfica se pretende reunir los últimos estudios relacionados con el papel de la Melatonina en las distintas etapas de la planta, así como su función aumentando la tolerancia vegetal frente a estreses tanto abióticos (alta salinidad, temperaturas, sequía, metales tóxicos, etc.) como bióticos, producidos por virus, bacterias u hongos. Estas funciones se deben principalmente a su particular estructura, que le proporciona actividad antioxidante y le permite eliminar moléculas tóxicas para la planta. Actúa como bioestimulante, bioprotectora y biorreguladora en procesos como la germinación, el crecimiento y desarrollo vegetal, la floración, fructificación o la senescencia foliar, regulando la biosíntesis, transporte y acumulación de fitohormonas como Auxinas, Gibberelinas (GA), Ácido Abscísico (ABA), Citoquininas (CK), Ácido Salicílico (SA), Ácido Jasmónico (JA), etc. También es capaz de regular otras moléculas antioxidantes, metabolismos energéticos primarios y secundarios o la homeostasis celular. Sin embargo, los mecanismos por los que lleva a cabo la regulación de estos procesos no ha sido estudiada y sigue siendo una incógnita, así como su posible papel como fitohormona, su utilización como tratamiento en cultivos genéricos o su interacción y consecuencias en el entorno y otros organismos.

Abstract

Melatonin is a recently describe molecule in vegetable kingdom, even it's well-known in animals. The aim of this bibliographic review is compile the latest studies related to the role of Melatonin on the different stages of plants, just like its function enhancing the vegetable tolerance against abiotic stresses like high salinity or temperatures, drought, toxic molecules, etc. or biotic stresses produced by virus, bacteria or fungus. This functions must be due to its special structure, that provide an antioxidant activity and allows it to scavenger toxic molecules. Melatonin acts as a biostimulator, bioprotector and bioregulator in process such as germination, vegetable growth and development, flowering, fruition or in leaf senescence, regulating biosynthesis, transport and accumulation of phytohormones like Auxin, Gibberellin (GA), Absciscic Acid (ABA), Cytokinins (CK), Salicylic Acid (SA), Jasmonic Acid (JA), etc. Moreover, it is able to regulate other antioxidant molecules, primary and secondary energy metabolisms or cellular homeostasis. Nevertheless, the mechanisms by which it carries out that process are not study yet and they are still unknown, as the possible role of Melatonin like phytohormone, its use as a generic crops treatment or its interaction and consequences in its environment or other organisms.

1. Introducción

La Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina; **Figura 1**) es una molécula de bajo peso molecular, a la que se atribuyen numerosas actividades biológicas, presente tanto en organismos procariotas como eucariotas (Zhao et al., 2019). Su descubrimiento tuvo lugar en 1958 en tejidos de origen animal, cuando investigadores de la Universidad de Yale aislaron este compuesto en su búsqueda de sustancias útiles en el tratamiento de enfermedades de la piel (Lerner et al., 1958). Los efectos de la Melatonina en animales han sido ampliamente estudiados, observando en mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces su influencia en la regulación de los ciclos circadianos. En estos ciclos de luz-oscuridad los niveles de esta molécula oscilan de tal manera que desencadenan numerosos procesos biológicos: periodos de actividad y descanso, la época reproductiva, el comportamiento sexual, la fertilidad, la hibernación, la muda en invertebrados, etc.

En la especie humana, interviene en procesos de aprendizaje y memoria, en el funcionamiento del sistema inmune o en el control de la fisiología de la retina (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014; Debnath et al., 2019). Algunas enfermedades están directamente relacionadas con la falta, escasez o irregularidades en esta sustancia o de sus receptores, como por ejemplo el Alzheimer, Parkinson, depresión, insomnio, ansiedad o glaucoma (Fan et al., 2018). De hecho, la administración farmacológica de esta molécula se ha utilizado como tratamiento frente al autismo, insomnio o en personas ciegas como mecanismo de control de sus ritmos biológicos, ya que la retina no es capaz de captar los cambios de luz en su ambiente (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014).

Durante mucho tiempo, la Melatonina fue considerada una sustancia con actividad hormonal exclusiva del reino animal, pero 30 años después, se descubrió también en el reino vegetal. En 1991 se publicó un artículo en el que se demostró la presencia de Melatonina en el dinoflagelado *Gonyaulax polyedra* Stein y en 1993, se describió esta molécula en *Pharbitis nil* Choisy, aunque no se publicó hasta 1995, verificándose su presencia posteriormente en muchas otras especies vegetales (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014; Nawaz et al., 2016). Actualmente, el número de estudios en plantas relacionados con esta molécula ha crecido considerablemente, describiendo diversas y variadas funciones que afectan a distintas etapas del crecimiento y desarrollo vegetal, así como a distintos órganos y tejidos (Nawaz et al., 2016; Zheng et al., 2017).

Algunas de estas funciones son la regulación de la biosíntesis, percepción y señalización del Etileno (ET), GA, Auxinas, etc. (Xiao et al., 2019), la inducción de la maduración del fruto (Alam et al., 2018), la disminución de la biosíntesis y acción del ABA, etc. También se la ha asociado a rutas relacionadas con el metabolismo del nitrógeno, carbohidratos, proteínas, lípidos, transformación de ácidos tricarbóxicos (Zhang et al., 2017), en la eliminación de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), ya sea directamente (gracias a su particular estructura, que le permite donar un electrón o un

átomo de hidrógeno según el tipo de radical) o indirectamente (mejorando la actividad enzimática antioxidante) (Li et al., 2019), o disminuyendo el efecto de los distintos estreses abióticos, aumentando la tolerancia de las plantas a los daños producidos por la alta salinidad, el frío, la sequía, las altas temperaturas.

2. Objetivos

Las líneas de investigación actuales se centran en el estudio de los distintos efectos de la Melatonina en cada uno de los procesos en los que actúa, como en la movilización de sustancias de reserva durante la germinación, los genes cuya expresión está regulada por esta hormona, mecanismos de control frente a estrés abiótico, o en su aplicación exógena en la protección, mejora y rendimiento de los cultivos. En esta revisión bibliográfica se pretende reunir los últimos conocimientos acerca de la Melatonina integrándolos en los diferentes procesos de crecimiento y desarrollo vegetal, así como exponer las diferentes incógnitas que no han sido resueltas acerca de su fisiología vegetal, su interacción con otras moléculas o su papel como fitohormona.

3. Biosíntesis y localización subcelular

El precursor de la biosíntesis de la Melatonina es el aminoácido triptófano, en una ruta que para la mayoría de las especies vegetales requiere simplemente cuatro pasos (**Figura 1**). El primer paso es la transformación del Triptófano mediante una descarboxilación en Triptamina, que en una segunda reacción y mediante una hidroxilación, genera Serotonina (Posmyk & Janas, 2009). Estos dos pasos conforman la ruta principal de formación de serotonina en plantas, si bien en algunas especies el Triptófano sufre previamente la hidroxilación y posteriormente la descarboxilación, en un proceso similar al observado en las células animales (Murch et al., 2000). La Serotonina, es transformada en N-acetil-serotonina, reacción que en plantas puede ser catalizada por dos enzimas diferentes. El último paso de la biosíntesis, supone la formación de la Melatonina a partir de la N-acetil-serotonina, transformación que puede llevarse a cabo de nuevo por dos enzimas diferentes (Zuo et al., 2014). Existe una variante en la biosíntesis de Melatonina en plantas, la cual utiliza el sustrato 5-metoxi-triptamina, generado a partir de la Serotonina (Tan et al., 2016), al igual que una reacción reversible entre la N-acetil-serotonina la Serotonina (**Figura 1**).

En cuanto a la localización subcelular, la biosíntesis de la Melatonina tiene lugar en el citoplasma, cloroplastos y retículo endoplasmático. Esta distribución obedece a la presencia en estos compartimentos tanto de las enzimas como de los intermediarios implicados en su biosíntesis (Back

et al., 2016). En función de las especies estudiadas, los intermediarios y las enzimas, algunos autores han descrito 4 grandes vías en la biosíntesis de la Melatonina en plantas, siendo los cloroplastos y el citoplasma los compartimentos donde ocurren la mayoría de las reacciones (**Figura 1**). Algunos autores recientemente implican también a las mitocondrias en este proceso, ya que se ha detectado la enzima SNAT (Serotonina N-Acetiltransferasa) que cataliza la transformación de la Serotonina en N-Acetil-Serotonina, el último intermediario en su biosíntesis (Zhao et al., 2019).

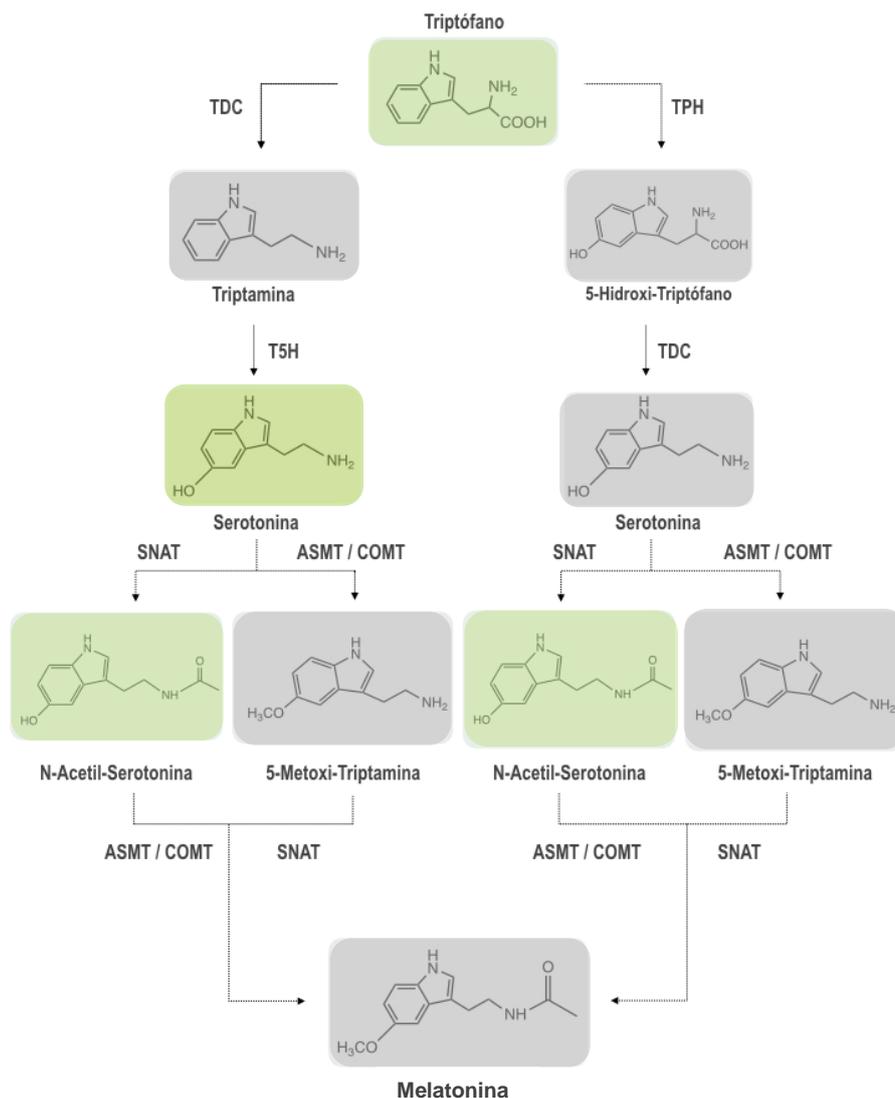


Figura 1. Rutas de las vías de biosíntesis de la Melatonina descritas en plantas con las enzimas que catalizan la transformación de sus intermediarios. Los intermediarios están sombreados indicando el compartimento celular donde tiene lugar su biosíntesis (Verde: Cloroplastos; Gris: Citoplasma; Amarillo: R. Endoplasmático). TDC: Triptófano Descarboxilasa; TPH: Triptófano Hidroxilasa; T5H: Triptamina-5-hidroxilasa; SNAT: Serotonina N-Acetiltransferasa; ASMT: N-acetilserotonina metiltransferasa; COMT: Ácido Cafeico *O*-metiltransferasa. Figura adaptada de Back, et al., 2016.

4. La Melatonina y la Germinación

La germinación es un proceso crítico en el ciclo de vida de una planta, ya que es en esta etapa en la que se experimentan profundos cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos. Antes de que esta fase se lleve a cabo, la semilla se encuentra generalmente en dormición, inducida por la deshidratación celular y la presencia de ABA (Li et al., 2019). La dormición es una etapa de reposo o inactividad en la que la semilla no es capaz de germinar, ya sea porque no se dan las condiciones óptimas en el exterior o porque la semilla no tiene los componentes necesarios para iniciar dicho proceso.

La germinación consta de tres etapas (Bewley, 1997). En primer lugar, tiene lugar la imbibición, que es la toma de agua del exterior hasta que la semilla está totalmente hidratada. Al rehidratarse la semilla, se promueve la biosíntesis de GAs e inhibe la síntesis de ABA, hecho que desencadena generalmente la pérdida de dormición. En la segunda fase tiene lugar la activación del metabolismo celular, principalmente inducido por la biosíntesis de GAs, caracterizado por la movilización de sustancias de reserva, la biosíntesis de nuevas moléculas, la producción de energía, así como la acumulación de moléculas de naturaleza orgánica e inorgánica (Kaya & Doganlar, 2019). En la última etapa, la presión de la combinación de factores tanto internos como externos ejercida sobre la testa de la semilla termina por romper dicha estructura permitiendo la emisión de la radícula, hecho que define la finalización de la germinación. Durante la germinación, las semillas son extremadamente sensibles a factores ambientales como la salinidad, temperatura, pH, sequía, etc., y es por ello por lo que se debe controlar las características ambientales a las que están expuestas y, en general, los cultivos. Además, dependiendo de la especie o incluso subespecie, se requieren de condiciones distintas para su óptimo desarrollo (Li et al., 2019; Zhao et al., 2019).

Varios son los estudios en los que se ha descrito el papel de la Melatonina en el aumento de los niveles de GAs, mientras disminuye la producción de ABA (Li et al., 2015; Li et al., 2019; Zhang et al., 2014). La Melatonina es capaz de elevar los niveles de GA₃ y además de regular la expresión de genes como GA20ox y GA3ox en semillas de pepino bajo estrés salino. Del mismo modo, promueve el catabolismo de ABA e inhibe la actividad de enzimas involucradas en su síntesis, como es 9-cis-Epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED) (Hardeland, 2016). Además, la capacidad antioxidante de la Melatonina permite proteger a las semillas eliminando (ROS) así como las Especies Reactivas de Nitrógeno (RNS), producidas por la respiración celular que se lleva a cabo para la obtención de energía o por el efecto de estreses tanto bióticos como abióticos. La Melatonina induce la expresión de genes responsables de la detoxificación de estas sustancias a nivel celular (Peroxidasa (POX), Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa (CAT), Ascorbato peroxidasa (APX), Glutación reductasa

(GR), etc.) además de compuestos antioxidantes no enzimáticos como Glutatión y Ascorbato, polifenoles y carotenoides (Kaya & Doganlar, 2019).

Gracias a diversos análisis proteómicos, se ha observado como la Melatonina promueve la elongación radicular aumentando los niveles de Tubulina β y Actina 7, que son microtúbulos corticales asociados con la división celular (Zhang et al., 2017). Igualmente, se ha descrito la relación entre la Melatonina y la síntesis de proteínas, demostrando un aumento de subunidades ribosómicas durante la imbibición, que se combinan con mRNAs formando Polisomas (Marcus et al., 1966). Por otra parte, a nivel metabólico la Melatonina regula la síntesis de algunas enzimas como son la Isocitrato-liasa y la Malato-sintasa, que intervienen en la β -oxidación y en Ciclo del Glioxilato en el catabolismo de lípidos, así como otras enzimas que intervienen en la Glicólisis, Glucogénesis y el Ciclo de Calvin (Zhang et al., 2017). En relación con la movilización de sustancias de reserva se ha demostrado que la Melatonina regula la actividad α -amilasa, enzima que degrada el almidón de reserva que contiene el endospermo (Cao et al., 2019; Li et al., 2019; Zhao et al., 2019). Del mismo modo, además de intervenir en el metabolismo de macromoléculas (lípidos, proteínas, azúcares, etc.), interviene en la adquisición y asimilación del azufre, mejorando la concentración de clorofilas, la fotosíntesis y la producción de biomasa (Yan et al., 2020). También se ha comprobado que la Melatonina aumenta la biosíntesis de poliaminas, gracias a la mejora del flujo precursor de metionina y arginina, hecho que contrarresta su degradación en condiciones estrés salino (Hasanuzzaman & Fotopoulos, 2019).

Los efectos descritos anteriormente asociados a la germinación de las semillas se han obtenido utilizando diferentes especies. Sin embargo, no parece existir una correlación clara entre la concentración utilizada y los efectos observados. Por ejemplo, en semillas de trigo la concentración de Melatonina utilizada como tratamiento exógeno fue de 500 μ M, en semillas de kiwi 100 μ M, mientras que en las semillas de algodón sólo necesitaron 20 μ M para obtener un incremento en la germinación (Cui et al., 2017). Por otro lado, la aplicación exógena de Melatonina resultaba perjudicial, llegando a impedir la germinación, si se sobrepasaban determinadas concentraciones de esta sustancia (Li et al., 2019; Xiong et al., 2019). Por lo tanto, se deben de personalizar los tratamientos de Melatonina en semillas con el fin de mejorar la germinación en condiciones óptimas o bajo estreses tanto bióticos como abióticos.

5. La Melatonina y su papel en el Crecimiento y Desarrollo Vegetal

El crecimiento y desarrollo vegetal es un proceso en el que las células experimentan por un lado expansión y división celular, además de especialización o diferenciación celular para formar los diferentes tejidos y órganos de la planta (Wang et al., 2016; Wang et al., 2017; Wei et al., 2015). El crecimiento vegetal se suele describir en dos etapas, la primera de crecimiento primario en la que la planta aumenta su tamaño longitudinalmente y la segunda de crecimiento secundario en la que células permiten el engrosamiento de las distintas estructuras de la planta. El desarrollo no sólo implica crecimiento sino además diferenciación celular y transformación a nivel de tejidos y órganos vegetales.

En todos estos procesos de crecimiento y desarrollo vegetal el papel de las Auxinas ha sido ampliamente estudiado (Arnao & Hernández-Ruiz, 2017; Pelagio-Flores et al., 2012; Ren et al., 2019). La similitud estructural y el hecho de que comparten el mismo precursor en su biosíntesis (triptófano), ha permitido que algunos estudios establezcan similitudes funcionales entre Auxinas y Melatonina. En este sentido, algunos autores establecen una relación entre la Melatonina y la formación raíces laterales, el crecimiento de la raíz y tallos primarios, el tamaño y peso de la planta, contenidos de metabolitos primarios, apertura estomática y fotosíntesis (Erdal, 2019). De hecho, la aplicación exógena de Melatonina ha demostrado que puede promover el crecimiento en distintas especies vegetales (tomate, cerezas, pepino, etc.), al igual que las Auxinas, aunque los niveles de Melatonina necesarios para llevar a cabo los mismos procesos son mucho mayores (Ren et al., 2019). Algunos autores indican que este incremento está relacionado con el aumento de los niveles de Auxinas en los tejidos vegetales, si bien en otros estudios utilizando plantas transgénicas de otra especie, se ha demostrado que disminuyen el contenido de IAA debido a cambios en los transportadores de Auxinas (Arnao, 2018). Por otro lado, en plantas de maíz (*Zea mays* L.) la aplicación exógena de Melatonina no desencadena procesos de crecimiento asociados a Auxinas, como son la elongación del coleóptilo, la inhibición del crecimiento de la raíz y la expresión de genes de la biosíntesis del ET (Pelagio-Flores et al., 2012). Estos resultados han permitido a algunos autores establecer que, a pesar de las similitudes estructurales entre la Melatonina y las Auxinas, en plantas de maíz, la ausencia de una cadena lateral no ramificada con un grupo carboxilo en su estructura imposibilita su capacidad para actuar como las Auxinas (Kim et al., 2016).

A nivel radicular la Melatonina regula el crecimiento de raíces primarias y secundarias a través del control de la síntesis de Auxinas y su transporte (Ren et al., 2019). Sin embargo, otros autores establecen que el crecimiento de raíces primarias y secundarias promovido por la Melatonina es independiente de las vías de señalización de Auxinas, ya que la Melatonina no es capaz de activar

genes reporteros como DR5, que son activados normalmente por IAA (Arnao & Hernández-Ruiz, 2017). La aplicación de altas concentraciones de Melatonina en *Arabidopsis thaliana* L., desencadenan un drástico desarrollo de las raíces laterales inhibiendo el crecimiento de la raíz primaria, mientras que concentraciones fisiológicas no muestran ningún efecto negativo. Las altas concentraciones reducen la expresión de los genes de transportadores de Auxinas PIN 1, 3 y 7, genes que juegan un papel importante en el desarrollo del meristemo radicular. Además, el transporte polar de Auxina es necesario para la regulación del tamaño del mismo, ya que la inhibición del transporte proporcionada por las altas concentraciones de Melatonina no se intensifica cuando se trata a la planta con ácido 5-Triiodobenzoico o TIBA (inhibidor del transporte de Auxinas) por lo que es necesario cierta cantidad de Auxinas (Wang et al., 2016). En otros estudios a nivel radicular se ha demostrado una relación entre la aplicación de la Melatonina y los niveles de ROS. De hecho, en plantas de alfalfa la presencia de Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) es imprescindible para la inducción y formación de raíces laterales en plantas transgénicas con una sobreexpresión de la enzima SNAT, perteneciente a la ruta de biosíntesis de Melatonina (**Figura 1**) (Chen et al., 2018).

Desde un punto de vista metabólico la Melatonina también es capaz de promover el crecimiento vegetal manteniendo un equilibrio entre los metabolismos del nitrógeno y del carbón (Erdal, 2019). El nitrógeno es importante ya que forma parte de la estructura de moléculas simples como los aminoácidos o moléculas más complejas como proteínas, ácidos nucleicos, clorofila y fitohormonas, mientras que el metabolismo del carbono proporcionado sobre todo por la fotosíntesis y la respiración mitocondrial proporcionan esqueletos de carbono, energía, agentes reductores, etc. La Melatonina es capaz de incrementar tanto la actividad como la expresión de enzimas relacionadas con el metabolismo del nitrógeno (Nitrato y Nitrito reductasa, Glutamina sintasa, etc.), así como del metabolismo del carbono (Rubisco, Citrato sintasa y Citocromo oxidasa). Del mismo modo se ha observado como la Melatonina incrementa la eficiencia fotosintética (en concreto la eficiencia del Fotosistema II) y regula positivamente la expresión de genes relacionados con este proceso. Además, se ha descrito que aumenta la capacidad de asimilación de CO_2 , conductancia estomática, reduce la degradación de clorofila e incrementa el tamaño foliar. (Erdal, 2019).

En cuanto al crecimiento foliar, las altas concentraciones (aproximadamente 500-1000 μM) de Melatonina suprimen la proliferación celular y su expansión, reduciendo el ratio de división celular, factor importante en el tamaño de la hoja y tamaño celular. Durante el crecimiento de las hojas se produce la endoreduplicación, que es la replicación de ADN sin división celular, lo que hace que haya un cambio de ploidía, además de que se forma un núcleo mayor y un aumento del tamaño de la célula. La Melatonina inhibe este proceso estabilizando las proteínas DELLA, cuya actividad inhibitoria reduce el crecimiento vegetal, y aumenta la expresión de genes CYCD (familia de ciclinas

tipo D) que regulan el equilibrio entre la división y la expansión celular, es decir, reducen la endoreduplicación (Wang et al., 2017). Además, la Melatonina es capaz de inducir un aumento del número de hojas, promover el crecimiento de las yemas e incrementar el peso fresco de la planta a concentraciones fisiológicas, mientras que a altas concentraciones actúa como un elemento inhibidor (Simlat et al., 2018).

Finalmente, existen pocos estudios donde se analicen los efectos combinados de la Melatonina con otras sustancias u hormonas vegetales. A este respecto, la aplicación conjunta de Melatonina y Serotonina inducen fitohormonas, factores de estrés y de eficiencia fotosintética que trabajan conjuntamente para dirigir el crecimiento de las plantas. Sin embargo, los resultados muestran que se pueden usar independientemente y que causan prácticamente los mismos efectos, como el crecimiento radicular y caudal, el aumento del número y longitud de los nudos etc. (Erland et al., 2018). En cuanto a la combinación de la Melatonina con Benciladenina (BA), se ha observado la formación de tejido tipo callo a partir de hipocotilos y cotiledones con diferente grado de éxito según la especie, mientras que su aplicación individual en medio de cultivo no produce ningún cambio en el crecimiento de los explantos (Chin et al., 2017).

6. La Melatonina y la Floración

La floración es un proceso en el que se pasa de la etapa de crecimiento vegetativo a la etapa reproductiva en una planta. Es un paso crítico en el ciclo de vida de aquellas especies que se reproducen mediante estructuras florales e importante desde el punto de vista económico. Normalmente la floración está inducida por diferentes estímulos relacionados con el medio ambiente (Fotoperiodo y Factores abióticos) o con procesos internos (GAs, Edad, Vernalización) (Zhang et al., 2019). Estos estímulos, que pueden actuar sinérgicamente o de manera independiente, desencadenan vías de señalización en las que intervienen numerosos genes, promoviendo-inhibiendo directa o indirectamente la floración (Blümel et al., 2015; Lee et al., 2019)(**Figura 2**).

El papel de la Melatonina en la floración y en la reproducción estacional ha sido muy poco estudiado. Sin embargo, en los últimos años nuevos datos han aparecido en estudios con un número reducido de especies entre las que se encuentra *Arabidopsis thaliana* L. (Lee et al., 2019; Shi et al., 2016; Zhang et al., 2019). El papel de las GAs en la inducción de la floración viene dado por la regulación que ejercen estas en la estabilidad del producto de expresión de los genes DELLA. La ausencia de proteínas DELLA favorece la floración al inducir la actividad del gen FT, que promueven la activación de genes implicados en la evocación floral como AP-1. La aplicación exógena de Melatonina se ha demostrado que es capaz de inducir la expresión de genes asociados a la biosíntesis

de GAs, además de estabilizar los productos de expresión de los genes DELLA, en una vía independiente de GAs. Este hecho, se manifiesta en un retraso en la floración (Shi et al., 2016) (**Figura 2**).

Por otro lado, fitohormonas como las Estrigolactonas (ESTLs), que participan en múltiples procesos en el crecimiento y desarrollo vegetal, parecen ejercer un papel de inductores de la floración (Chevalier et al., 2014). De hecho, se ha demostrado que la presencia de ESTLs suprime la señalización y síntesis de Melatonina endógena, mediante un mecanismo aún desconocido, desencadenando un efecto antagonista a esta, es decir, adelantando la floración. La señalización implica la inhibición de la transcripción del gen SPL, desencadenando una la floración temprana. La Melatonina también regula la expresión del gen FLC, que actúa como represor en la transcripción de genes como FT (Zhang et al., 2019) (**Figura 2**).

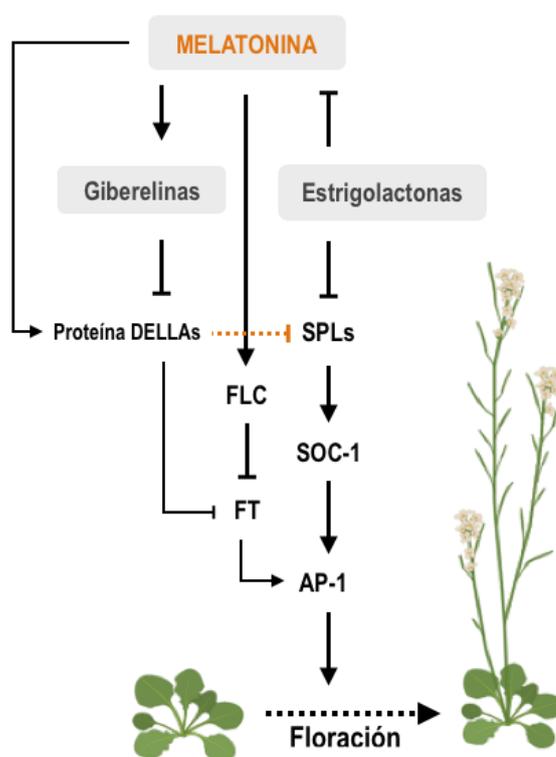


Figura 2. Papel de la Melatonina en la floración regulando la expresión de genes asociados a la biosíntesis de GAs, proteínas DELLA y el gen FLC resultando en un retraso en la floración en *Arabidopsis thaliana* L. Las Estrigolactonas actúan inhibiendo la biosíntesis y señalización de la Melatonina así como al Gen SPLs, desencadenando un adelanto en la floración. FLC, Gen Flowering locus C; SPL, Squamosa promoter-binding protein-like; FT, Flowering locus T; AP-1 Apetala-1; SOC1, Supresor de la sobreexpresión de Constans-1. Figura adaptada de Arnao & Hernández-Ruiz, 2020.

Los niveles endógenos de Melatonina en plantas no son constantes a lo largo de las estaciones. Los niveles más altos se encontraron en el otoño, durante la senescencia floral, mientras que en primavera, los niveles más bajos de Melatonina desencadenan la evocación floral a nivel de meristemos (Zhang et al., 2019). En cuanto a la calidad espectral de la luz, longitudes de onda en el

azul rojo lejano inducen rápidamente un incremento en la biosíntesis de Melatonina, mientras que la roja la disminuye (Zhang et al., 2019). Por otro lado, dentro de un fotoperiodo determinado, en la especie *Paeonia lactiflora* Pall. se observan 2 picos de Melatonina durante el ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. El primero a las 2 a.m., durante el periodo de oscuridad y otro pico a las 11 a.m. durante el periodo de luz. Este último puede corresponder al aumento de ROS debido a la alta irradiancia y a la capacidad de la Melatonina para eliminar estas moléculas tóxicas. Además, en este estudio se pudo observar como las plantas expuestas a la luz contenían mayores cantidades de Melatonina que aquellas que crecen en la sombra, aunque esta diferencia no es significativa (Zhao et al., 2018), y que aquellas flores blancas contenían mayor contenido de Melatonina, por lo que pueden ser usadas con usos medicinales. El color de las flores está relacionado con el contenido de flavonoides, que son metabolitos secundarios con capacidades antioxidantes y que pueden ser inducidos por la Melatonina (Wang et al., 2017; Zhao et al., 2012).

7. La Melatonina y Cuajado, Desarrollo y Maduración del Fruto

La fructificación es un término que describe principalmente tres etapas del desarrollo del fruto: el cuajado (transformación de las paredes del ovario en el fruto), desarrollo o llenado (caracterizado por una alta expansión y división celular, además de acumulación de agua y sustancias de reserva) y la maduración (caracteriza por cambios externos e internos que desencadenan en la liberación de las semillas) (Lei et al., 2013).

La Melatonina se puede encontrar en flores, frutos y semillas, si bien dependiendo de la especie las concentraciones varían mucho de una estructura a otra. De hecho, se han encontrado en altas concentraciones en óvulos y endocarpo de algunos frutos (Zhao et al., 2013), mientras que en el mesocarpo suele presentar bajas concentraciones (Murch et al., 2009). En el tomate, en concreto la variedad Micro-Tom, la Melatonina suele acumularse durante el proceso de llenado del fruto, observándose las máximas concentraciones al comienzo la fase de maduración, caracterizada por un cambio en el color del mismo (Okazaki & Ezura, 2009). Estas oscilaciones en la concentración interna de Melatonina parecen estar reguladas por diversos factores como la especie, la temperatura a la que esté sometido el fruto en su desarrollo así como la irradiancia que recibe la planta durante la fructificación (Wang et al., 2016). Estos cambios en la concentración de Melatonina están asociados a cambios en la actividad de las enzimas (TDH y T5H, **Figura 1**) relacionadas con su biosíntesis (Lei et al., 2013).

La partenocarpia, que es la formación de frutos sin fecundación parece estar promovida por la Melatonina (Liu et al., 2018). El mecanismo conlleva la inducción de la síntesis de GAs, concretamente de GA₃ y GA₄, regulando favorablemente el gen GA20ox y negativamente GA2ox,

hecho que se ha comprobado utilizando Paclobutrazol (PAC), un inhibidor de la síntesis de estas fitohormonas. La fruta desarrollada mediante partenocarpia bajo la influencia de la Melatonina presenta una morfología alargada, asociada a una mayor división y expansión celular. Sin embargo, no es capaz de provocar un desarrollo normal del ovario, aunque aumenta el contenido de IAA en el mismo, y disminuye el de ABA, permitiendo así el crecimiento de la fruta (Liu et al., 2018)

La aplicación exógena de Melatonina en la especie *Pyrus communis* L., en la variedad Zaosu, produjo un aumento de peso en la fruta, así como un cambio en la morfología de la misma durante la etapa de llenado, además de un aumento en azúcares solubles, sorbitol y sacarosa. Sin embargo, no se encontraron diferencias en el número de semillas por fruto, el contenido en ácidos orgánicos o la firmeza del mismo (Liu et al., 2019). Las frutas tratadas con Melatonina suelen presentar una acumulación de sustancias relacionadas con la maduración del fruto (azúcares simples, antocianinas, flavonoides, fenoles...). Estos tratamientos exógenos con Melatonina también promueven la producción de ET, el cual contribuye parcialmente a la acumulación de fenoles y promueve su actividad antioxidante (Xu et al., 2017).

Una vez se separa el fruto de la planta comienza la postcosecha y la Melatonina ha demostrado extender la calidad de la fruta en la etapa de conservación, así como durante su comercialización. En este sentido, se ha estudiado desde la metodología de aplicación hasta sus efectos en los frutos durante su permanencia en cámaras de conservación. En un estudio reciente (Pranil et al., 2020), se estudió como el pH, la temperatura y la luz podían influir en la estabilidad de la Melatonina en medios acuosos, ya que el tratamiento por inmersión es el más utilizado en postcosecha. Sus resultados demostraron que la Melatonina es más estable en pH ácidos, mientras que la exposición prolongada a la luz y a altas temperaturas desencadenaba su degradación. Su aplicación en frutos no climatéricos induce un retraso en su senescencia (Wang et al., 2019) mientras que en frutos climatéricos, como el plátano, retrasa su maduración (Arnao & Hernández-Ruiz; 2020).

8. El papel de la Melatonina en el Estrés Abiótico

La adaptación y control de condiciones ambientales capaces de modificar patrones de crecimiento y desarrollo vegetal es crucial desde un punto de vista ecológico y también económico. Cualquier tipo de estrés abiótico es capaz de modificar negativamente el crecimiento y desarrollo vegetal, dependiendo de su duración y grado de intensidad (Antoniou et al., 2017; Chen et al., 2018). La mayoría de los estreses abióticos como la salinidad, la sequía, toxicidad por metales pesados etc., modifican de manera negativa crecimiento, la fotosíntesis, la producción y acumulación de ROS y RNS, el flujo de la toma de agua, la disponibilidad de metabolitos, así como los contenidos de

hormonas como, Auxinas, ABA, CK, ET, Brasinoesteroides (BRs), etc. (Alam et al., 2018; Hasanuzzaman & Fotopoulos, 2019; Li et al., 2018; Wang et al., 2017; Zheng, et al., 2017).

La presencia de Melatonina en diferentes compartimentos celulares y su capacidad en la eliminación de ROS ha sido demostrada recientemente. De hecho, la Melatonina activa los mecanismos enzimáticos de detoxificación de ROS (SOD, CAT, POX, GR, APX, etc.) y los no enzimáticos (Ácido ascórbico, carotenoides, Glutación, etc.) (Li et al., 2019). A nivel celular, la biosíntesis de Melatonina en plantas está asociada mayoritariamente a cloroplastos y también mitocondrias, observándose un aumento de la expresión de enzimas relacionadas con su biosíntesis en condiciones de estrés. Esto se traduce en una menor degradación de estos compartimentos celulares asociada a la producción y acumulación de ROS (Wang et al., 2017).

Por otro lado, el incremento de los niveles de Melatonina se ha demostrado que regula la osmoprotección mediante el control de la homeostasis de Prolina a nivel enzimático y genético, además del contenido de azúcares solubles (Antoniou et al., 2017), Sólidos Solubles Totales (SST) y proteínas solubles (Debnath et al., 2019). A nivel de membrana celular, la Melatonina reduce los daños en su integridad y fluidez gracias a una disminución en los niveles de Peroxidación lipídica (Gao et al., 2019). En cuanto a la eficiencia del Fotosistema II (PSII) y la conductancia estomática, la Melatonina revierte los efectos de los estreses, mejorando el transporte de electrones fotosintético, con incrementos en los niveles de clorofila, una menor necrosis foliar y mejorando la transpiración (Chen et al., 2018). Además, mantiene y mejora la expansión celular y la integridad de la pared celular, evitar cambios en los estomas y en la ultraestructura de la semilla (Cui et al., 2017; Kaya & Doganlar, 2019b; Khan et al., 2019).

Plantas sometidas a estrés por altas temperaturas, activan proteínas de choque térmico (HSP, las chaperonas), que impiden la agregación de proteínas desnaturalizadas uniéndose a ellas, así como el sistema de degradación de proteínas por autofagia. La Melatonina induce la expresión de distintos genes HSP para aumentar el plegamiento de proteínas desnaturalizadas y de genes relacionadas con la autofagia, mejorando la termotolerancia de las plantas (Xu et al., 2016). Además, activa el sistema de detoxificación metilglioxal, regulando la actividad enzimática de Glioxilasa I y II (Gly I y Gly II) (Li et al., 2019).

En condiciones de estrés por metales pesados (por ejemplo: el Cadmio[Cd]), se reduce la elongación de las semillas, de las raíces y el peso fresco de los tejidos de la raíz. La Melatonina revierte estos efectos gracias al aumento de su biosíntesis. Además, elimina la acumulación de Cadmio en tejidos gracias a cambios en los transportadores de membrana (ABC transporter, PCE2, Nramp6, etc.) y reestablece la homeostasis redox mediante la transcripción microRNA398 (Gu et al., 2017). La aplicación exógena de Melatonina reduce el contenido de Cd en hojas, pero no en raíces,

lo que sugiere que la Melatonina interviene en el transporte de Cd. Además, mejora la actividad H⁺-ATPasa y de enzimas antioxidantes, y aumenta los contenidos de Glutación y fitoquelatinas, mitigando el estrés por Cadmio (Hasan et al., 2015).

En cuanto a la aplicación externa de Melatonina en la protección frente a estreses abióticos, esta parece ser dependiente de la concentración y de la especie estudiada. En varios estudios se ha demostrado protección a concentraciones relativamente bajas, pero al subir dicha concentración óptima, resultaba perjudicial e incluso en algunos casos mortal para la planta. Por ejemplo, en la cereza o mostaza a bajas concentraciones la Melatonina alivia el efecto de los estreses abióticos, pero a altas concentraciones impide la germinación de sus semillas (Li et al., 2019; Xiong et al., 2019).

9. La Melatonina y su papel en el Estrés Biótico

El estrés biótico en plantas está causado por viroides, virus, bacterias y hongos, que son una de las causas principales de la pérdida de cultivos en todo el mundo debido a plagas con gran capacidad de extensión e infección. Para su contención y erradicación se utilizan pesticidas, fungicidas, etc. que son dañinos para el medio ambiente, ya que liberan partículas tóxicas al aire. Para evitar el uso de esas sustancias químicas, se están investigando tratamientos con moléculas y sustancias naturales que sean más cuidadosos con el medio ambiente (Zhang et al., 2017). El papel de la Melatonina contra el estrés biótico se ha empezado a estudiar recientemente, encontrando que es una molécula eficiente a la hora de tratar a la planta y aumentar su tolerancia frente a patógenos y que es capaz de reducir la resistencia de patógenos a sustancias y a otros estreses (Wei et al., 2018; Zhang et al., 2018; Zhao et al., 2019).

La aplicación exógena de Melatonina incrementa la expresión de enzimas relacionados con la defensa vegetal, como son Quitinasa (CHI), Glucanasa (GLU), relacionadas con la degradación de la pared celular de hongos, Fenilalanina amonio liasa (PAL), una enzima crucial para la vía de Fenilpropanoide, clave en la resistencia a enfermedades, y Polifenol oxidasa (PPO), que cataliza la oxidación de fenoles, y aquellas relacionados con la apoptosis en los patógenos. Además, incrementa la transcripción de enzimas antioxidantes, como POD, SOD y APX, permitiendo así la eliminación de ROS (Liu et al., 2019). Además, la infección de hongos, como *Botrytis cinerea*, promueve la biosíntesis de Melatonina gracias a un incremento en los niveles de SNAT.

A nivel celular, la aplicación de Melatonina es capaz de reducir el tamaño celular tanto en longitud como en grosor, la motilidad de los organismos patógenos, su división, expansión y multiplicación celular (posiblemente a través de la señalización del SA y ET). Además, se ha demostrado que puede modificar la ultraestructura, morfología y los componentes celulares en las

células vegetales (Zhang et al., 2017). Un ejemplo de ello, son las vesículas lipídicas celulares (importantes en la motilidad y la capacidad infecciosa de los patógenos), la fragmentación del citoplasma o el engrosamiento de la pared celular gracias a la acumulación de celulosa, galactosa, xilosa y calosa. Además, reduce el área dañada en la planta, pudiendo a altas concentración incluso evitar cualquier toxicidad (Chen et al., 2018; Zhang et al., 2017)

A nivel de expresión génica, la Melatonina regula genes relacionados con el metabolismo de carbohidratos y de aminoácidos. Incrementa la biosíntesis y señalización de JA, aumentando la expresión de enzimas como la Aleno óxido ciclasa (AOC) o Lipoxigenasa (LoxD) y regulando negativamente la actividad de otras como el inhibidor de la Proteínasa II (PI II) y MYC2, el regulador negativo de la respuesta a patógenos en la señalización de JA, y JASMONATE ZIM DOMAIN 1 (JAZ1), gen que regula la señalización de JA de forma inhibitoria (Liu et al., 2019). También incrementa el contenido de Óxido nítrico y del SA, dos moléculas que intervienen en la defensa de la planta frente a organismos patógenos. Las Proteínas de Choque Térmico o HSP tienen un papel importante en la resistencia de los patógenos a otros estreses. La Melatonina inhibe la expresión de estas proteínas en patógenos y la induce en las plantas, por lo que los vegetales resisten las altas temperaturas, pero los organismos infecciosos no. Gracias a GAD (inhibidor de HSP90 o Proteínas de Choque Térmico de 90 kDa) se ha comprobado cómo las chaperonas son esenciales para que la Melatonina pueda actuar, ya que la aplicación de estos inhibidores elimina la resistencia que proporciona la Melatonina (Wei et al., 2017). Es decir, la combinación de estrés biótico con estreses abióticos puede favorecer la tolerancia de las plantas a patógenos.

Los genes RAV1 y RAV2, que intervienen en la formación de la flor en la yuca y que pertenecen a la familia del factor de respuesta apetala2/etileno, son esenciales para la resistencia a enfermedades de las plantas. Se ha demostrado gracias a un gen silenciador inducido por virus (VIGS), que impide la transcripción de RAVs y no permite que los efectos de la Melatonina en la respuesta a estreses bióticos se lleven a cabo. También son promotores de tres genes relacionados con la biosíntesis de Melatonina, que son TDC, T5H y ASMT (**Figura 1**) (Wei et al., 2018).

Se ha comprobado que la aplicación de Melatonina ofrece mejores resultados en la resistencia vegetal si se trata a las plantas dos veces separadas en el tiempo con esta molécula, así como si se combina la Melatonina con otras sustancias, como fungicidas, pesticidas, etc., ya que tienen un mayor efecto, mejorando la eficacia de dicha sustancia frente a los diferentes microorganismos. Se ha probado con el fungicida Infinito[®] contra *Phytophthora infestans* (Zhang et al., 2017), con el que se necesita muy poca cantidad de Melatonina para que se inhiba MFS, un mecanismo de defensa que permite a *P. infestans* sacar del citoplasma al espacio extracelular el principio activo aplicado. Esta inhibición de MFS hace al organismo más susceptible a la sustancia química y así el daño se minimiza

en la planta. También se ha comprobado esta sinergia con la combinación de Melatonina con Etilicina, molécula que se utiliza como fungicida inorgánico. Por separado, estas moléculas producen los mismos efectos, como supresión de la viabilidad celular o la virulencia de *Phytophthora nicotiana*, pero su combinación potencia estos efectos, obteniendo resultados más beneficiosos. Aplicando un tratamiento combinado, se podría reducir el uso de fungicidas, siendo más respetuosos con el medio ambiente y obteniendo mejores resultados en el cultivo (Zhang et al., 2018).

10. La Melatonina como Bioestimulante

Se conocen muchos efectos beneficiosos de la Melatonina en las plantas, desde inducir la germinación o el crecimiento y desarrollo de raíces, tallos o brotes, hasta retrasar la senescencia foliar, además de aumentar la tolerancia de la planta frente a estreses abióticos y bióticos. Estas características permiten que actúa como bioestimulante, bioregulador y bioprotector. Los niveles descritos en plantas son mayores que en animales, pero no resultan tóxicos hasta que se utilizan concentraciones muy altas de esta molécula.

Cumple las condiciones para ser un bioestimulante, ya que estos se definen como moléculas de origen natural que incrementan la productividad vegetal como consecuencia de sus propiedades y constituyentes. Los bioestimulantes no son nutrientes, pero estimulan los procesos de nutrición, además de mejorar la tolerancia al estrés abiótico o aumentar los rasgos de calidad de la planta, además de incrementar la disponibilidad de nutrientes presentes en el suelo o en la rizosfera. También optimizan la actividad de fertilizantes (Arnao & Hernández-Ruiz, 2019).

La Melatonina tiene un origen natural aunque se puede sintetizar fácilmente, no es tóxica, no es cara, se disuelve en diferentes solventes como agua, alcohol e incluso lípidos, las plantas las pueden obtener fácilmente por el ambiente, además es una pequeña molécula con fácil asimilación celular y compartimentación, tiene importantes actividades antioxidantes y mejora la tolerancia al estrés (Kołodziejczyk & Posmyk, 2016).

Como bioestimulante, regula los genes relacionados con las diferentes vías redox de la planta, permitiendo así la inducción de genes que protegen la integridad de los cloroplastos, así como de los pigmentos que contiene y del PSII, incrementando la fotosíntesis y así aumentando el metabolismo del carbono y el nitrógeno, importantes para el aumento de biomasa vegetal induciendo la división y expansión celular durante la germinación y durante el desarrollo y crecimiento de las raíces, tallos, hojas, etc. Además, induce respuestas hormonales y respuestas frente a estreses abióticos, como la salinidad, sequía, altas o bajas temperaturas, etc., y bióticos, como plagas fúngicas o bacterianas. Sin embargo, es capaz de inhibir la muerte celular mediante la inactivación de genes relacionados con

esta, con marcadores de la senescencia, con la degradación de clorofila, etc. (Arnao & Hernández-Ruiz, 2014).

Su estructura le permite actuar como un gran antioxidante estabilizando la membrana y manteniendo la fluidez de esta, eliminando ROS y RNS, etc. Su función regulando el crecimiento vegetal viene dada por su capacidad de activar genes de señalización o de biosíntesis de hormonas como ABA, GA, ET, SA, o JA, que intervienen en las diferentes respuestas al estrés, y de inducir el crecimiento de raíces, tallo, cotiledones, etc. Por otro lado, favorece el desarrollo de raíces primarias, laterales y adventicias. Todos estos procesos están relacionados con la capacidad de la Melatonina de regular los niveles de IAA mediante cambios en el transporte y señalización de estas (Arnao, 2018).

Como protector vegetal, la Melatonina es capaz de mejorar la tolerancia de la planta frente a bacterias, hongos y virus, activando la respuesta inmune y el metabolismo energético primario y secundario. Sin embargo, para utilizarlo como tal se necesitan más estudios sobre su impacto en el suelo, en animales como artrópodos y en ambientes acuáticos (Arnao & Hernández-Ruiz, 2019).

Sin embargo, en un estudio reciente, se ha encontrado e identificado el primer receptor de Melatonina CAND2/PMTR1 en *Arabidopsis thaliana* L., relacionado con la regulación del cierre estomático (Wei et al., 2018). Este proceso depende de la cascada de señalización y transducción de este receptor, que está mediada por H_2O_2 y Ca^{+} , que activan la subunidad $G\alpha$ de una proteína G de la membrana. Estos son componentes importantes en la señalización relacionados con el crecimiento y desarrollo de la planta, con respuestas ambientales y con la apertura estomática. CAND2/PMTR1 se encuentra en la membrana plasmática, en varios tejidos, su expresión está inducida por la Melatonina y, además, tienen una unión específica y saturable con esta. Mutantes que no contienen este receptor son insensibles a la Melatonina.

Este descubrimiento presenta a la Melatonina como una nueva fitohormona, y no como un bioestimulante, biorregulador o bioprotector, aunque puede tener actividades dependientes e independientes de este receptor, como se ha descrito anteriormente. Se deben realizar más estudios para verificar que la Melatonina sea una fitohormona, y de ser así, descubrir otros receptores que median otras respuestas de esta molécula y su fisiología en vegetales.

11. Conclusiones

La Melatonina es una molécula ampliamente distribuida en los distintos reinos. Sus funciones son bien conocidas en animales, donde actúa como hormona, y difieren de aquellas encontradas en vegetales, jugando diferentes papeles desde la germinación de la semilla hasta la maduración del fruto. De muchas de estas funciones hay muy poca información documentada y se necesita ampliar los estudios para resolver todas las incógnitas.

Su síntesis se lleva a cabo en cloroplastos principalmente y también en mitocondrias debido a que es en estos orgánulos donde se generan mayores cantidades de ROS y RNS, además de intermediarios necesarios para el crecimiento y desarrollo vegetal. La Melatonina protege las estructuras que forman parte de estos orgánulos, regulando la homeostasis, el flujo de iones, manteniendo la integridad de la membrana, la turgencia celular, etc.

En la germinación es capaz de reducir los niveles de ABA y de incrementar los de GAs, promoviendo así la ruptura de la dormición y el comienzo de la germinación. También induce varios metabolismos relacionados con la movilización y obtención de sustancias energéticas de reserva que le permiten a la semilla tener la energía suficiente para realizar los distintos procesos relacionados con la germinación.

Durante el crecimiento y desarrollo vegetal, la Melatonina permite la formación de raíces laterales, el crecimiento de la raíz y tallos primarios, la formación de biomasa, etc. gracias a que controla la síntesis y el transporte de Auxinas, la regulación de diferentes metabolismos como son los del nitrógeno y del carbono, permite el engrosamiento y agrandamiento longitudinal de las células en los distintos tejidos, etc.

En la floración, la Melatonina regula la expresión de DELLAs a través del control de la biosíntesis de GAs, por lo que se produce un retraso de la floración. En el fruto, las mayores concentraciones de Melatonina se encuentran en óvulos y endocarpo. Además, estas concentraciones oscilan durante las diferentes etapas de la fructificación, acumulándose durante el llenado y alcanzando concentraciones máximas durante la maduración. Promueve la partenocarpia gracias a la inducción de GAs y permite el crecimiento de la fruta aumentando IAA y disminuyendo ABA. En el fruto, incrementa la calidad del mismo gracias a que regula la acumulación de Sólidos Solubles Totales, azúcares solubles, proteínas solubles, antocianinas, flavonoides, etc. En la post-cosecha retrasa la senescencia o degradación de la fruta, manteniendo sus propiedades durante más tiempo.

En cuanto a su papel en la mejora de la tolerancia de las plantas frente a estreses abióticos y bióticos, se ha observado que es una molécula excelente para ello, que no sólo impide la necrosis celular y tisular, sino que además permite mejorar las funciones que se llevan a cabo y alivia los efectos que tienen sobre la planta. En todos estos procesos, la Melatonina elimina las ROS y RNS

producidas directamente o induciendo la expresión de enzimas y otras moléculas antioxidantes. Su principal papel en vegetales viene determinado por esta función fisiológica.

En cuanto a la utilización de Melatonina exógena como tratamiento, se sabe que aumenta los niveles endógenos de Melatonina promoviendo la expresión de los diferentes genes que intervienen en su biosíntesis. Sin embargo, a la hora de aplicar la Melatonina como tratamiento exógeno en cultivos no se debe generalizar, ya que los niveles óptimos para cada especie de esta molécula varían enormemente, y si se aplica una cantidad mayor a la necesaria, podría ser tóxico o incluso mortal para la planta. Es por ello que, aunque hay varios estudios en los que se estudian las concentraciones óptimas para algunas especies, no son suficientes para fabricar un tratamiento estándar y se necesitan más estudios utilizando diferentes especies para tratar de descubrir las cantidades necesarias para cada una de ellas o para establecer alguna relación entre algunos parámetros vegetales y concentración de Melatonina.

Se conocen muy pocas interacciones de la Melatonina con otras sustancias naturales, como son la Serotonina y fitohormonas, o sustancias artificiales, como los fungicidas. Es necesario un estudio exhaustivo de la sinergia entre la Melatonina y diferentes moléculas y sustancias para poder utilizarla como tratamiento contra estreses abióticos y bióticos y mejorar el efecto de dichas sustancias, pudiendo así utilizar menos cantidad y ser más responsables y respetuosos con el medio ambiente.

Se suma la incógnita de si funciona como una fitohormona en todos estos procesos, o es capaz de actuar independientemente de receptores específicos. Actualmente sólo se conoce un receptor de Melatonina, por lo que serían necesarios más estudios que pretendan desentrañar su papel como fitohormona en los diferentes procesos vegetales.

Por último, destacar que, aunque todavía quedan muchos ámbitos y aspectos de la Melatonina por estudiar, sobre todo en las etapas de floración y fecundación vegetal, se puede constatar cómo esta molécula es fundamental en las plantas, tanto para su correcto desarrollo como para su supervivencia a estreses de diversas índoles.

Conclusions

Melatonin is extensively distributing molecule in different kingdoms. Its functions are well-known in animals, where it acts as a hormone and differ from those found in vegetables, playing different roles from seed germination to fruit ripening. There is little information about these functions and it is necessary to expand the studies to solve all the unknown.

Melatonin's synthesis is carried out mainly in chloroplast and mitochondria because it is in these organelles where the greatest quantities of ROS and RNS are generated, in addition to other necessary molecules related to vegetable growth and development. Melatonin protects the structures that are part of those organelles, regulates homeostasis, ion flux, maintains membrane integrity, cell turgor, etc.

In germination, Melatonin is able to reduce the levels of ABA and increase the GA content, promoting the end of the dormancy and the start of the germination. In addition, Melatonin also induces various metabolisms related to the mobilisation and obtaining of reserve energy substances that allow the seed to have enough energy to carry out different processes associated with germination.

During plant growth and development, Melatonin allows the formation of lateral roots, the growth of primary root and shoot, the formation of biomass, etc. thanks to the fact that it controls the synthesis and transport of Auxins, the regulation of different metabolisms such as nitrogen and carbon, it allows the longitudinal thickening and enlargement of cells in different tissues, etc.

In flowering, Melatonin regulates the expression of DELLAs through the control of the biosynthesis of GAs, causing a delay in flowering. In fruits, the highest concentrations of Melatonin are located in ovaries and endocarp. Furthermore, these concentrations fluctuate during the different stages of fruiting and accumulate during filling and reaching maximum concentrations during maturation. Melatonin promotes parthenocarpy thanks to the induction of GAs and allows fruit growth by increasing IAA and decreasing ABA. It enhances the quality of fruits thanks to the fact that it regulates the accumulation of Total Soluble Solids, Soluble Sugars, Soluble Proteins, anthocyanin, flavonoids, etc. In post-harvest it delays the senescence or degradation of the fruits, maintaining its properties for a longer time.

Regarding its role in improving the tolerance of plants against abiotic and biotic stresses, it has been proven that it is an excellent molecule for this, which not only prevents cell and tissue necrosis, but also allows improving the functions that are carried out and alleviates the effects they have on the plant. In all of these processes, Melatonin scavenges ROS and RNS produced directly or inducing the

expression of some antioxidant enzymes and molecules. Its main role in vegetables is determined by this physiological function.

It is known that the use of exogenous Melatonin as a treatment increases endogenous Melatonin levels by promoting the expression of different genes involved in its biosynthesis. However, when applying Melatonin as an exogenous treatment in crops, it should not be generalized, since the optimal levels of Melatonin for each species vary enormously, and if a greater amount than the necessary is applied to the plant, it could be toxic or even deadly to vegetables. That is why, although there are several studies that study the optimal concentrations for some species, they are not enough to make a standard treatment and more studies are needed using different plant species to try to discover the correct amounts for each one of them or to establish some relationship between some plant parameters and Melatonin concentration.

Very few interactions of Melatonin with other natural substances, such as Serotonin and phytohormones, or artificial substances, like fungicides, are known. An exhaustive study of the synergy between Melatonin and different molecules and substances is necessary to be able to use it as a treatment against abiotic and biotic stresses and to enhance the effect of these substances, thus being able to use less quantity and be more responsible and respectful with the environment.

Furthermore, there is the unknown of whether Melatonin works as a phytohormone in all these processes, or it is able to act independently of specific receptors. Currently only one Melatonin receptor is known, so more studies would be necessary to try to unravel its role as a phytohormone in the different plant processes.

Finally, it should be noted that, although there are still many areas and aspects of Melatonin to study, especially in the stages of flowering and plant fertilization, it can be seen how this molecule is fundamental in plants, both for its correct development and for its survival to stresses of various kinds.

Bibliografía

- Alam, M. N., Zhang, L., Yang, L., Islam, M. R., Liu, Y., Luo, H., Yang, P., Wang, Q., & Chan, Z. (2018). Transcriptomic profiling of tall fescue in response to heat stress and improved thermotolerance by Melatonin and 24-epibrassinolide. *BMC Genomics*, *19*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4588-y>
- Antoniou, C., Chatzimichail, G., Xenofontos, R., Pavlou, J. J., Panagiotou, E., Christou, A., & Fotopoulos, V. (2017). Melatonin systemically ameliorates drought stress-induced damage in *Medicago sativa* plants by modulating nitro-oxidative homeostasis and proline metabolism. *Journal of Pineal Research*, *62*(4), 1–14. <https://doi.org/10.1111/jpi.12401>
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2017). Growth activity, rooting capacity, and tropism: three auxinic precepts fulfilled by Melatonin. *Acta Physiologiae Plantarum*, *39*(6). <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2428-3>
- Arnao, M. B. (2018). *Melatonin and its relationship to plant hormones*. 195–207. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx114>
- Arnao, M. B. & J. Hernández-Ruiz. 2020. Melatonin in flowering, fruit set and fruit ripening. *Plant Reproduction* <https://doi.org/10.1007/s00497-020-00388-8>
- Arnao, Marino B., & Hernández-Ruiz, J. (2014). Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends in Plant Science*, *19*(12), 789–797. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.006>
- Arnao, Marino B., & Hernández-Ruiz, J. (2019). Melatonin as a chemical substance or as phytoMelatonin rich-extracts for use as plant protector and/or biostimulant in accordance with EC legislation. *Agronomy*, *9*(10). <https://doi.org/10.3390/agronomy9100570>
- Back, K., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2016). Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to Melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *Journal of Pineal Research*, *61*(4), 426–437. <https://doi.org/10.1111/jpi.12364>
- Bewley, J. D. (1997). Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, *9*(7), 1055–1066. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1055>
- Blümel, M., Dally, N., & Jung, C. (2015). Flowering time regulation in crops-what did we learn from *Arabidopsis*? *Current Opinion in Biotechnology*, *32*, 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.023>
- Cao, Q., Li, G., Cui, Z., Yang, F., Jiang, X., Diallo, L., & Kong, F. (2019). Seed Priming with Melatonin Improves the Seed Germination of Waxy Maize under Chilling Stress via Promoting the Antioxidant System and Starch Metabolism. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51122-y>
- Chen, X., Sun, C., Laborda, P., Zhao, Y., Palmer, I., Fu, Z. Q., Qiu, J., & Liu, F. (2018). Melatonin treatment inhibits the growth of *Xanthomonas Oryzae* Pv. *Oryzae*. *Frontiers in Microbiology*, *9*(OCT), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02280>
- Chen, Y. E., Mao, J. J., Sun, L. Q., Huang, B., Ding, C. B., Gu, Y., Liao, J. Q., Hu, C., Zhang, Z. W., Yuan, S., & Yuan, M. (2018). Exogenous Melatonin enhances salt stress tolerance in maize seedlings by improving antioxidant and photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, *164*(3), 349–363. <https://doi.org/10.1111/ppl.12737>
- Chen, Z., Gu, Q., Yu, X., Huang, L., Xu, S., Wang, R., Shan, W., & Shen, W. (2018). Hydrogen peroxide acts downstream of Melatonin to induce lateral root formation. *Annals of Botany*,

121(6), 1127–1136. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx207>

- Chevalier, F., Nieminen, K., Sánchez-Ferrero, J. C., Rodríguez, M. L., Chagoyen, M., Hardtke, C. S., & Cubas, P. (2014). Strigolactone promotes degradation of DWARF14, an α/β hydrolase essential for strigolactone signaling in Arabidopsis. *Plant Cell*, 26(3), 1134–1150. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.122903>
- Chin, C. K., Lee, Z. H., Subramaniam, S., & Chew, B. L. (2017). Effect of plant growth regulators and Melatonin on callus induction of white eggplant (*Solanum melongena*). *Malaysian Applied Biology*, 46(4), 119–124. ISSN: 0126-8643
- Cui, G., Zhao, X., Liu, S., Sun, F., Zhang, C., & Xi, Y. (2017). Beneficial effects of Melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 138–149. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.014>
- Debnath, B., Islam, W., Li, M., Sun, Y., Lu, X., Mitra, S., Hussain, M., Liu, S., & Qiu, D. (2019). Melatonin mediates enhancement of stress tolerance in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5). <https://doi.org/10.3390/ijms20051040>
- Erdal, S. (2019). Melatonin promotes plant growth by maintaining integration and coordination between carbon and nitrogen metabolisms. *Plant Cell Reports*, 38(8), 1001–1012. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02423-z>
- Erland, L. A. E., Shukla, M. R., Singh, A. S., Murch, S. J., & Saxena, P. K. (2018). Melatonin and serotonin: Mediators in the symphony of plant morphogenesis. *Journal of Pineal Research*, 64(2), 1–24. <https://doi.org/10.1111/jipi.12452>
- Fan, J., Xie, Y., Zhang, Z., & Chen, L. (2018). Melatonin: A multifunctional factor in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms19051528>
- Gao, W., Feng, Z., Bai, Q., He, J., & Wang, Y. (2019). Melatonin-mediated regulation of growth and antioxidant capacity in salt-tolerant naked oat under salt stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms20051176>
- Gu, Q., Chen, Z., Yu, X., Cui, W., Pan, J., Zhao, G., Xu, S., Wang, R., & Shen, W. (2017). Melatonin confers plant tolerance against cadmium stress via the decrease of cadmium accumulation and reestablishment of microRNA-mediated redox homeostasis. *Plant Science*, 261(February), 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.05.001>
- Hardeland, R. (2016). *Melatonin in Plants – Diversity of Levels and Multiplicity of Functions*. 7(February), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00198>
- Hasan, M. K., Ahammed, G. J., Yin, L., Shi, K., Xia, X., Zhou, Y., Yu, J., & Zhou, J. (2015). Melatonin mitigates cadmium phytotoxicity through modulation of phytochelatin biosynthesis, vacuolar sequestration, and antioxidant potential in *Solanum lycopersicum* L. *Frontiers in Plant Science*, 6(AUG), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00601>
- Hasanuzzaman, M., & Fotopoulos, V. (2019). Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings. In *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-8625-1>
- Kaya, A., & Doganlar, Z. B. (2019a). Melatonin improves the multiple stress tolerance in pepper (*Capsicum annuum*). *Scientia Horticulturae*, 256(May), 108509. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.036>
- Kaya, A., & Doganlar, Z. B. (2019b). Melatonin improves the multiple stress tolerance in pepper (*Capsicum annuum*). *Scientia Horticulturae*, 256(January), 108509. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.036>
- Khan, M. N., Zhang, J., Luo, T., Liu, J., Rizwan, M., Fahad, S., Xu, Z., & Hu, L. (2019). Seed

priming with Melatonin coping drought stress in rapeseed by regulating reactive oxygen species detoxification: Antioxidant defense system, osmotic adjustment, stomatal traits and chloroplast ultrastructure perseveration. *Industrial Crops and Products*, 140(July), 111597. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111597>

- Kim, M., Seo, H., Park, C., & Park, W. J. (2016). Examination of the auxin hypothesis of phytoMelatonin action in classical auxin assay systems in maize. *Journal of Plant Physiology*, 190, 67–71. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.009>
- Kołodziejczyk, I., & Posmyk, M. M. (2016). Melatonin – a new plant biostimulator? *Journal of Elementology*, 21(4), 1187–1198. <https://doi.org/10.5601/jelem.2015.20.3.1012>
- Lee, H. Y., Lee, K., & Back, K. (2019). Knockout of arabidopsis serotonin N-acetyltransferase-2 reduces Melatonin levels and delays flowering. *Biomolecules*, 9(11), 1–12. <https://doi.org/10.3390/biom9110712>
- Lei, Q., Wang, L., Tan, D. X., Zhao, Y., Zheng, X. D., Chen, H., Li, Q. T., Zuo, B. X., & Kong, J. (2013). Identification of genes for Melatonin synthetic enzymes in “Red Fuji” apple (*Malus domestica* Borkh.cv.Red) and their expression and Melatonin production during fruit development. *Journal of Pineal Research*, 55(4), 443–451. <https://doi.org/10.1111/jpi.12096>
- Lerner, A. B., & Takahashi, Y. (1958). *Isolation of Melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes*. 934(2), 3600. <https://doi.org/10.1021/ja01543a060>
- Li, C., Tan, D. X., Liang, D., Chang, C., Jia, D., & Ma, F. (2015). Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behaviour in two *Malus* species under drought stress. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 669–680. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru476>
- Li, Jiahao, Yang, Y., Sun, K., Chen, Y., Chen, X., & Li, X. (2019). Exogenous Melatonin enhances cold, salt and drought stress tolerance by improving antioxidant defense in tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Molecules*, 24(9). <https://doi.org/10.3390/molecules24091826>
- Li, Jingjing, Zeng, L., Cheng, Y., Lu, G., Fu, G., Ma, H., & Liu, Q. (2018). Exogenous Melatonin alleviates damage from drought stress in *Brassica napus* L. (rapeseed) seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(3), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2601-8>
- Li, Junpeng, Zhao, C., Zhang, M., Yuan, F., & Chen, M. (2019). Exogenous Melatonin improves seed germination in *Limonium bicolor* under salt stress. *Plant Signaling and Behavior*, 14(11). <https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1659705>
- Li, Z. G., Xu, Y., Bai, L. K., Zhang, S. Y., & Wang, Y. (2019). Melatonin enhances thermotolerance of maize seedlings (*Zea mays* L.) by modulating antioxidant defense, methylglyoxal detoxification, and osmoregulation systems. *Protoplasma*, 256(2), 471–490. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1311-4>
- Li, Z., Pei, X., Yin, S., Lang, X., Zhao, X., & Qu, G. Z. (2019). Plant hormone treatments to alleviate the effects of salt stress on germination of *Betula platyphylla* seeds. *Journal of Forestry Research*, 30(3), 779–787. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0661-2>
- Liu, C., Chen, L., Zhao, R., Li, R., Zhang, S., Yu, W., Sheng, J., & Shen, L. (2019). Melatonin Induces Disease Resistance to *Botrytis cinerea* in Tomato Fruit by Activating Jasmonic Acid Signaling Pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(22), 6116–6124. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00058>
- Liu, J., Yue, R., Si, M., Wu, M., Cong, L., Zhai, R., Yang, C., Wang, Z., Ma, F., & Xu, L. (2019). Effects of Exogenous Application of Melatonin on Quality and Sugar Metabolism in ‘Zaosu’ Pear Fruit. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(3), 1161–1169. <https://doi.org/10.1007/s00344-019-09921-0>

- Liu, J., Zhai, R., Liu, F., Zhao, Y., Wang, H., Liu, L., Yang, C., Wang, Z., Ma, F., & Xu, L. (2018). Melatonin induces parthenocarpy by regulating genes in gibberellin pathways of 'starkrimson' pear (*Pyrus communis* L.). *Frontiers in Plant Science*, 9(July), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00946>
- Marcus, A., Feeley, J., & Volcani, T. (1966). Protein Synthesis in Imbibed Seeds III. Kinetics of Amino Acid Incorporation Ribosome Activation, and Polysome Formation. *Plant Physiology*, 41(7), 1167–1172. <https://doi.org/10.1104/pp.41.7.1167>
- Murch, S. J., KrishnaRaj, S., & Saxena, P. K. (2000). Tryptophan is a precursor for Melatonin and serotonin biosynthesis in in vitro regenerated St. John's wort (*Hypericum perforatum* L. cv. Anthos) plants. *Plant Cell Reports*, 19(7), 698–704. <https://doi.org/10.1007/s002990000206>
- Murch, Susan J., Alan, A. R., Cao, J., & Saxena, P. K. (2009). Melatonin and serotonin in flowers and fruits of *Datura metel* L. *Journal of Pineal Research*, 47(3), 277–283. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2009.00711.x>
- Nawaz, M. A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R. J., Niu, M., & Hameed, S. (2016). Melatonin: Current status and future perspectives in plant science. *Frontiers in Plant Science*, 6(JAN2016), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01230>
- Okazaki, M., & Ezura, H. (2009). Profiling of Melatonin in the model tomato (*Solanum lycopersicum* L.) cultivar Micro-Tom. *Journal of Pineal Research*, 46(3), 338–343. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2009.00668.x>
- Pelagio-Flores, R., Muñoz-Parra, E., Ortiz-Castro, R., & López-Bucio, J. (2012). Melatonin regulates Arabidopsis root system architecture likely acting independently of auxin signaling. *Journal of Pineal Research*, 53(3), 279–288. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2012.00996.x>
- Posmyk, M. M., & Janas, K. M. (2009). Melatonin in plants. In *Acta Physiologiae Plantarum* (Vol. 31, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0213-z>
- Pranil, T., Moongngarm, A., & Loypimai, P. (2020). Heliyon Influence of pH, temperature, and light on the stability of Melatonin in aqueous solutions and fruit juices. *Heliyon*, 6(December 2019), e03648. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03648>
- Ren, S., Rutto, L., & Katuuramu, D. (2019). Melatonin acts synergistically with auxin to promote lateral root development through fine tuning auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, 14(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221687>
- Shi, H., Wei, Y., Wang, Q., Reiter, R. J., & He, C. (2016). Melatonin mediates the stabilization of DELLA proteins to repress the floral transition in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 60(3), 373–379. <https://doi.org/10.1111/jpi.12320>
- Simlat, M., Ptak, A., Skrzypek, E., Warchoń, M., Morańska, E., & Piórkowska, E. (2018). Melatonin significantly influences seed germination and seedling growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PeerJ*, 2018(6), 1–24. <https://doi.org/10.7717/peerj.5009>
- Tan, D. X., Hardeland, R., Back, K., Manchester, L. C., Alatorre-Jimenez, M. A., & Reiter, R. J. (2016). On the significance of an alternate pathway of Melatonin synthesis via 5-methoxytryptamine: comparisons across species. *Journal of Pineal Research*, 27–40. <https://doi.org/10.1111/jpi.12336>
- Wang, C., Yin, L. Y., Shi, X. Y., Xiao, H., Kang, K., Liu, X. Y., Zhan, J. C., & Huang, W. D. (2016). Effect of Cultivar, Temperature, and Environmental Conditions on the Dynamic Change of Melatonin in Mulberry Fruit Development and Wine Fermentation. *Journal of Food Science*, 81(4), M958–M967. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13263>

- Wang, F., Zhang, X., Yang, Q., & Zhao, Q. (2019). Exogenous Melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries. *Food Chemistry*, 301(August), 125311. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125311>
- Wang, L., Feng, C., Zheng, X., Guo, Y., Zhou, F., Shan, D., Liu, X., & Kong, J. (2017). Plant mitochondria synthesize Melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. *Journal of Pineal Research*, 63(3), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jpi.12429>
- Wang, Q., An, B., Shi, H., Luo, H., & He, C. (2017). *High Concentration of Melatonin Regulates Leaf Development by Suppressing Cell Proliferation and Endoreduplication in Arabidopsis*. <https://doi.org/10.3390/ijms18050991>
- Wang, Q., An, B., Wei, Y., Reiter, R. J., Shi, H., Luo, H., & He, C. (2016). Melatonin regulates root meristem by repressing auxin synthesis and polar auxin transport in arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 7(DECEMBER2016), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01882>
- Wang, Y., Gao, Y., Ding, H., Liu, S., Han, X., Gui, J., & Liu, D. (2017). Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 218, 152–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.058>
- Wei, J., Li, D. X., Zhang, J. R., Shan, C., Rengel, Z., Song, Z. B., & Chen, Q. (2018). PhytoMelatonin receptor PMTR1-mediated signaling regulates stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*, 65(2), 1–13. <https://doi.org/10.1111/jpi.12500>
- Wei, W., Li, Q. T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., Zhang, W. K., Ma, B., Lin, Q., Zhang, J. S., & Chen, S. Y. (2015). Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 695–707. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru392>
- Wei, Y., Chang, Y., Zeng, H., Liu, G., He, C., & Shi, H. (2018). RAV transcription factors are essential for disease resistance against cassava bacterial blight via activation of Melatonin biosynthesis genes. *Journal of Pineal Research*, 64(1), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jpi.12454>
- Wei, Y., Hu, W., Wang, Q., Zeng, H., Li, X., Yan, Y., Reiter, R. J., He, C., & Shi, H. (2017). Identification, transcriptional and functional analysis of heat-shock protein 90s in banana (*Musa acuminata* L.) highlight their novel role in Melatonin-mediated plant response to *Fusarium* wilt. *Journal of Pineal Research*, 62(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jpi.12367>
- Xiao, S., Liu, L., Wang, H., Li, D., Bai, Z., Zhang, Y., Sun, H., Zhang, K., & Li, C. (2019). Exogenous Melatonin accelerates seed germination in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *PLoS ONE*, 14(6), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216575>
- Xiong, F., Zhuo, F., Reiter, R. J., Wang, L., Wei, Z., Deng, K., Song, Y., Qanmber, G., Feng, L., Yang, Z., Li, F., & Ren, M. (2019). Hypocotyl Elongation Inhibition of Melatonin Is Involved in Repressing Brassinosteroid Biosynthesis in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 10(September), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01082>
- Xu, L., Yue, Q., Bian, F., Sun, H., Zhai, H., & Yao, Y. (2017). Melatonin enhances phenolics accumulation partially via ethylene signaling and resulted in high antioxidant capacity in grape berries. *Frontiers in Plant Science*, 8(August), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01426>
- Xu, W., Cai, S. Y., Zhang, Y., Wang, Y., Ahammed, G. J., Xia, X. J., Shi, K., Zhou, Y. H., Yu, J. Q., Reiter, R. J., & Zhou, J. (2016). Melatonin enhances thermotolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants. *Journal of Pineal Research*, 61(4), 457–469. <https://doi.org/10.1111/jpi.12359>
- Yan, H., Jia, S., & Mao, P. (2020). Melatonin priming alleviates aging-induced germination inhibition by regulating β -oxidation, protein translation, and antioxidant metabolism in oat (*Avena sativa* L.) seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1–26.

<https://doi.org/10.3390/ijms21051898>

- Zhang, H. J., Zhang, N., Yang, R. C., Wang, L., Sun, Q. Q., Li, D. B., Cao, Y. Y., Weeda, S., Zhao, B., Ren, S., & Guo, Y. D. (2014). Melatonin promotes seed germination under high salinity by regulating antioxidant systems, ABA and GA4 interaction in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of Pineal Research*, *57*(3), 269–279. <https://doi.org/10.1111/jpi.12167>
- Zhang, H., Wang, L., Shi, K., Shan, D., Zhu, Y., Wang, C., Bai, Y., Yan, T., Zheng, X., & Kong, J. (2019). Apple tree flowering is mediated by low level of Melatonin under the regulation of seasonal light signal. *Journal of Pineal Research*, *66*(2), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jpi.12551>
- Zhang, N., Zhang, H. J., Sun, Q. Q., Cao, Y. Y., Li, X., Zhao, B., Wu, P., & Guo, Y. D. (2017). Proteomic analysis reveals a role of Melatonin in promoting cucumber seed germination under high salinity by regulating energy production. *Scientific Reports*, *7*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00566-1>
- Zhang, S., Liu, S., Zhang, J., Reiter, R. J., Wang, Y., Qiu, D., Luo, X., Khalid, A. R., Wang, H., Feng, L., Lin, Z., & Ren, M. (2018). Synergistic anti-oomycete effect of Melatonin with a biofungicide against oomycetic black shank disease. *Journal of Pineal Research*, *65*(2). <https://doi.org/10.1111/jpi.12492>
- Zhang, S., Zheng, X., Reiter, R. J., Feng, S., Wang, Y., Liu, S., Jin, L., Li, Z., Datla, R., & Ren, M. (2017). Melatonin attenuates potato late blight by disrupting cell growth, stress tolerance, fungicide susceptibility and homeostasis of gene expression in *Phytophthora infestans*. *Frontiers in Plant Science*, *8*(November), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01993>
- Zhang, Z., Hu, Q., Liu, Y., Cheng, P., Cheng, H., Liu, W., Xing, X., Guan, Z., Fang, W., Chen, S., Jiang, J., & Chen, F. (2019). Strigolactone represses the synthesis of Melatonin, thereby inducing floral transition in *Arabidopsis thaliana* in an FLC-dependent manner. *Journal of Pineal Research*, *67*(2), 1–11. <https://doi.org/10.1111/jpi.12582>
- Zhao, Dake, Yu, Y., Shen, Y., Liu, Q., Zhao, Z., Sharma, R., & Reiter, R. J. (2019). Melatonin synthesis and function: Evolutionary history in animals and plants. *Frontiers in Endocrinology*, *10*(APR), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00249>
- Zhao, Daqiu, Tao, J., Han, C., & Ge, J. (2012). Flower color diversity revealed by differential expression of flavonoid biosynthetic genes and flavonoid accumulation in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *Molecular Biology Reports*, *39*(12), 11263–11275. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-2036-7>
- Zhao, Daqiu, Wang, R., Liu, D., Wu, Y., Sun, J., & Tao, J. (2018). Melatonin and expression of tryptophan decarboxylase gene (TDC) in herbaceous peony (*paeonia lactiflora* pall.) flowers. *Molecules*, *23*(5). <https://doi.org/10.3390/molecules23051164>
- Zhao, L., Chen, L., Gu, P., Zhan, X., Zhang, Y., Hou, C., Wu, Z., Wu, Y. F., & Wang, Q. C. (2019). Exogenous application of Melatonin improves plant resistance to virus infection. *Plant Pathology*, *68*(7), 1287–1295. <https://doi.org/10.1111/ppa.13057>
- Zhao, Y., Tan, D. X., Lei, Q., Chen, H., Wang, L., Li, Q., Gao, Y., & Kong, J. (2013). Melatonin and its potential biological functions in the fruits of sweet cherry. *Journal of Pineal Research*, *55*(1), 79–88. <https://doi.org/10.1111/jpi.12044>
- Zheng, X., Tan, D. X., Allan, A. C., Zuo, B., Zhao, Y., Reiter, R. J., Wang, L., Wang, Z., Guo, Y., Zhou, J., Shan, D., Li, Q., Han, Z., & Kong, J. (2017). Chloroplastic biosynthesis of Melatonin and its involvement in protection of plants from salt stress. *Scientific Reports*, *7*(December 2016), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep41236>
- Zheng, X., Zhou, J., Tan, D. X., Wang, N., Wang, L., Shan, D., & Kong, J. (2017). Melatonin

improves waterlogging tolerance of *malus baccata* (Linn.) borkh. seedlings by maintaining aerobic respiration, photosynthesis and ROS migration. *Frontiers in Plant Science*, 8(April), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00483>

Zuo, B., Zheng, X., He, P., Wang, L., Lei, Q., Feng, C., Zhou, J., Li, Q., Han, Z., & Kong, J. (2014). Overexpression of MzASMT improves Melatonin production and enhances drought tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants. *Journal of Pineal Research*, 57(4), 408–417. <https://doi.org/10.1111/jpi.12180>