



Universidad del Litoral

Facultad de Ciencias Agrarias

Tesis para optar al grado académico de

Doctor en Ciencias Agrarias

‘Efecto de la aplicación de melatonina y el ‘priming’ en semillas de melón (*Cucumis melo* L.) sobre la germinación y desarrollo inicial de la planta en condiciones de salinidad’

Autor: Ing. Agr. (M.Sc.) José Luis Castañares

Director: Dr. Carlos Alberto Bouzo

Esperanza, Santa Fe, Argentina

Agosto de 2022

Dedico esta tesis a mi familia, Bautista y Débora, quienes me apoyaron en todo el camino

Agradezco enormemente a:

mi director Carlos, por acompañarme con infinita paciencia y dedicación en todo el camino,

Ezequiel, por su gran ayuda en el análisis estadístico de los datos,

Ana Julia, por orientarme en todas las determinaciones histológicas,

mis queridos amigos Marcia y Germán, por su valiosísima ayuda en los trabajos de laboratorio

a la Universidad Nacional de Luján, lugar donde pude realizar todos los ensayos

y a todos quienes de diferentes maneras hicieron posible esta tesis.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	IV
PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS	V
RESUMEN	VI
SUMMARY	VII
Introducción	1
Salinización del suelo	2
Procesos fisiológicos en plantas con estrés salino	3
Cultivo de melón	6
Melón y salinidad	7
Melatonina en plantas	8
´Priming´	11
´Priming´ en melón	13
Hipótesis y objetivos	14
Materiales y métodos	16
Resultados y discusión	26
Efecto de la salinidad en la germinación	27
Efecto de la melatonina en la germinación y crecimiento de melón en salinidad	31
Efecto del ´priming´ en la germinación y crecimiento de melón en salinidad	54
Discusión general y conclusiones	70
Bibliografía	73

LISTA DE ABREVIATURAS

CAT	Catalasa
CE	Conductividad eléctrica
CRA	Contenido relativo de agua
LE	Liberación de electrolitos
MDA	Malondialdehído
PEG	Polietilenglicol
PG	Porcentaje de germinación
POD	Peroxidasa
TTC	Trifenil tetrazolio cloruro
ψ	Potencial hídrico
ψ_0	Potencial osmótico
ψ_x	Potencial de xilema

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

Castañares, J., Bouzo, C.A., 2020. Seed priming induces biochemical changes in melon plants and increases salt tolerance. RIA. Rev. Investig. Agropecu. 46, 208–217.

Castañares, J.L., Bouzo, C.A., 2019. Effect of exogenous melatonin on seed germination and seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.) under salt stress. Hortic. Plant J. 5, 79–87.

Castañares, J.L., Bouzo, C.A., 2017. Effect of priming on germination and initial growth of melon plants under salt stress. FAVE Sección Ciencias Agrar. 16, 7–16.

RESUMEN

La salinización del suelo por causa del riego es un problema extendido mundialmente. El melón es un cultivo sensible a la salinidad en etapas iniciales. Se realizaron dos series de experimentos para evaluar posibles efectos paliativos sobre el estrés salino en el cultivo. Estos experimentos consistieron en: 1) diferentes formas de aplicación (imbibición de semillas y riego) y concentraciones (10, 50 y 100 μM) de melatonina exógena y, 2) el 'priming' con dos agentes osmóticos (NaCl y CaCl_2) y duraciones (2 y 4 días), en la germinación y crecimiento inicial de plantas de melón en condiciones de salinidad. Se evaluó el porcentaje de germinación y crecimiento de las plántulas. Se midió el contenido de clorofila total, lixiviación relativa de electrolitos, contenido relativo de agua, viabilidad de raíces, contenido de prolina, contenido de malondialdehído, actividad peroxidasa y catalasa, relación Na^+/K^+ en partes verdes y liberación K^+ por las raíces. Se realizaron cortes anatómicos en hojas y tallos. La germinación en salinidad resultó incrementada con concentraciones de melatonina de 10 y 50 μM . El tratamiento de semillas y el riego en una concentración 50 μM mejoraron los parámetros de crecimiento y las plantas tuvieron un mayor contenido de clorofila y mejor respuesta en los parámetros bioquímicos evaluados. Esto permite aumentar el conocimiento de los mecanismos de acción de la melatonina aplicada en plantas en situación de estrés. No se observaron cambios anatómicos. Para el 'priming' la mejor germinación se obtuvo con los tratamientos NaCl y CaCl_2 con dos días de duración en ambos casos. El crecimiento fue mayor en estos tratamientos y se registró una mejora en los parámetros bioquímicos, sin detectarse modificaciones anatómicas en hojas y tallos. Los resultados sugieren que la melatonina podría aliviar los efectos del estrés salino. El 'priming', por su parte, también permitió aumentar la tolerancia a la salinidad en esta especie. Estos resultados contribuyen a entender los mecanismos involucrados en la respuesta a largo plazo en semillas y plantas en situaciones de estrés salino.

Palabras clave: estrés salino; melatonina exógena; 'osmopriming'; germinación; ROS

SUMMARY

Soil salinization due to irrigation is a worldwide problem. Melon is a salinity sensitive culture in early stages. Two series of experiments were carried out to evaluate the effect of: 1) different application forms (seed imbibition y irrigation) and concentrations (10, 50 y 100 μM) of exogenous melatonin and, 2) priming with two osmotic agents (NaCl y CaCl_2) and durations (2 y 4 days), in germination and initial growth of melon plants in saline environment. Germination percentage and growth of seedlings were evaluated. Total chlorophyll content, relative electrolyte leakage, relative water content, root viability, proline content, malondialdehyde content, peroxidase and catalase activity, Na^+/K^+ ratio in green parts y K^+ roots leakage were measured. Anatomical cuts were made on leaves and stems. Germination in salinity was increased with 10 y 50 μM melatonin concentrations. Seed treatment and irrigation with 50 μM improved growth parameters and plants had a higher chlorophyll content and better response in biochemical parameters evaluated. This allows to increase our knowledge of the mechanisms of action of melatonin applied to plants under stress. No anatomical changes were observed. As to priming the best germination was obtained with the NaCl y CaCl_2 treatments with two days duration in both cases. Growth was greater in these treatments and an improvement in the biochemical parameters was registered, without anatomical modifications detected in leaves and stems. Results suggest that melatonin may alleviate the effects of salt stress. Priming also allows to increase the tolerance to salinity in this species. These results contribute to understanding the mechanisms involved in the long-term response in seeds and plants in salt stress.

Keywords: salt stress; exogenous melatonin; osmopriming; germination; ROS

1. INTRODUCCIÓN

Salinización del suelo

La salinidad y alcalinidad de los suelos se encuentran entre las más perjudiciales condiciones que afectan adversamente el crecimiento y rendimiento de las plantas. Informes recientes (FAO, 2015) indican que, a nivel mundial, más de 412 millones de has están afectadas por salinidad, y 618 millones por sodicidad. Argentina se encuentra entre los países más afectados por salinidad y alcalinidad en el mundo, junto con Ucrania, Rusia, China, EE. UU., Canadá, Sud África, y Australia (Taleisnik, 2019; Villagra *et al.*, 2021).

Las causas de la salinidad del suelo pueden ser naturales o antrópicas. El primer caso, que recibe el nombre de 'salinización primaria', es el resultado de una acumulación natural prolongada de sales en el agua o el suelo que ocurre por el proceso natural de descomposición de rocas que contienen SO_4^{2-} , Ca^{2+} , CO_3^{2-} , Cl^- , Na^+ y Mg^{2+} (Jan *et al.*, 2015). Fluctuaciones del nivel de las napas o un drenaje deficiente pueden ser responsables también de la salinización del suelo próximo a las raíces (Jakeman *et al.*, 2016). En todos los casos, las condiciones climáticas y el manejo del agua pueden intensificar este proceso (Yadav *et al.*, 2011).

La salinización por causas antrópicas, también llamada 'salinización secundaria', se debe fundamentalmente a la aplicación excesiva de fertilizantes (de Almeida Silva *et al.*, 2019) y al riego con agua salina (Ashraf *et al.*, 2008; Hossain, 2020).

Las sales presentes en el agua de riego provienen de la meteorización de las rocas y se acumulan a medida que se evapora o es consumida por los cultivos (Sánchez *et al.*, 2016). Se calcula que hasta 1000 Kg ha^{-1} de sal son adicionados al suelo cuando se aplica 1 m de lámina de agua con una concentración salina de 100 mg L^{-1} (Camara y Willadino, 2003).

Aunque el cultivo bajo riego representa solo el 15% del total de las tierras cultivadas, dado que los rendimientos duplican lo producido en cultivos en secano, esto representa un tercio de la producción de alimentos en el mundo (Shrivastava y Kumar, 2015). Por este motivo, resulta improbable el abandono del riego como práctica

común, sino que podría esperarse un aumento de la aplicación de esta práctica (Shabala y Munns, 2017).

Procesos fisiológicos ocurridos en plantas en estrés salino

En plantas, el estrés puede definirse como cualquier condición ambiental desfavorable que altera el crecimiento, desarrollo, metabolismo, e incluso puede causar la muerte (Lichtenthaler, 1996). La sequía, la salinidad y el calor son los tipos de estrés abióticos que mayormente afectan los cultivos, causando importantes pérdidas de rendimiento (Borghain *et al.*, 2019). Asimismo, el estrés salino es considerado el factor abiótico que más compromete la producción agrícola en todo el mundo (Machado y Serralheiro, 2017). Este estrés, causado por el exceso de sales en el suelo, provoca cambios en diferentes procesos fisiológicos y metabólicos, dependiendo de su severidad y duración y, eventualmente, puede inhibir la producción (Gupta y Huang, 2014).

El primer efecto producido por la presencia de iones es la reducción del potencial osmótico (Ψ_o) de la solución edáfica (estrés osmótico) (Singh *et al.*, 2015).

La dinámica del agua en las plantas, suelo y atmósfera, se explica a través del concepto de potencial hídrico (Ψ), el cual se define como la energía libre del agua por unidad de volumen, y se expresa en unidades de presión (MPa) (Kathpalia y Bhatla, 2018). El movimiento de agua siempre se producirá siguiendo un gradiente de Ψ . En un sistema particular, el Ψ resulta de la suma de diferentes componentes (Nobel, 2020):

$$\Psi = \Psi_o + \Psi_p + \Psi_m + \Psi_g$$

Donde Ψ_o , Ψ_p , Ψ_m y Ψ_g representan el potencial osmótico, de presión, mátrico y gravitatorio respectivamente.

El Ψ_o se refiere al efecto de los solutos en la reducción del Ψ , razón por la cual siempre será negativo, a excepción del agua pura en donde $\Psi_o = 0$ MPa (Kathpalia y Bhatla, 2018). El Ψ_p , en tejidos vegetales, se debe a la presión ejercida por las paredes celulares a medida que ingresa agua, el cual limitará, a partir de ciertos niveles, el ingreso de agua a la célula (Nobel, 2020). El Ψ_m se fundamenta en las fuerzas que retienen moléculas de agua por capilaridad, adsorción e hidratación, principalmente

en la pared celular y el citoplasma (Azcón-Bieto y Talon, 2008). El Ψ_g es la acción de la gravedad sobre la columna de agua, y solo se considera en árboles de gran altura (Kathpalia y Bhatla, 2018).

Por lo tanto, la reducción del Ψ_o conducirá a la consecuente reducción de la capacidad de absorción por parte de las plantas (Singh *et al.*, 2015). A nivel celular esto puede afectar la estructura de diversas proteínas que requieren cierto nivel de hidratación y la pérdida de contenido de las vacuolas, afectando la estabilidad estructural general de las plantas (Litalien y Zeeb, 2020). Se dice entonces que las plantas se encuentran en 'sequía fisiológica' (Mahajan y Tuteja, 2005). En tales condiciones, similares a una sequía, se incrementa el cierre estomático disminuyendo la disponibilidad de CO_2 y en consecuencia la fijación de C (Ahmad y Sharma, 2008). Por otro lado, se inducen vías de señalización que hacen que las plantas acumulen sales a fin de reajustar el gradiente osmótico para permitir la entrada de agua (Deinlein *et al.*, 2014). Sin embargo, esta acumulación de sales puede provocar toxicidad por iones (Litalien y Zeeb, 2020).

La toxicidad por iones (fundamentalmente Na^+ y Cl^-) es un segundo efecto de la salinidad en plantas (Munns y Gilliham, 2015; Parihar *et al.*, 2015). Esta toxicidad conduce fundamentalmente a la acumulación de especies reactivas al oxígeno (ROS, del inglés 'Reactive Oxygen Species'), que se produce como consecuencia de la alteración del equilibrio entre la producción de ROS y las enzimas antioxidantes capaces de neutralizarlos (Rejeb *et al.*, 2014). A niveles relativamente bajos, estos compuestos cumplen importantes funciones como moléculas transmisoras de señales (Singh *et al.*, 2019), proliferación y división y muerte celular programada (Mittler, 2017). Sin embargo, cuando el delicado equilibrio entre generación y neutralización de ROS se ve alterado, estos afectarán numerosos procesos celulares mediante daños en los ácidos nucleicos, oxidación de proteínas, oxidación de lípidos de membrana y degradación de clorofila (Ashraf, 2009; Ashraf y Ali, 2008; Gill y Tuteja, 2010; Taïbi *et al.*, 2016).

Por lo expuesto anteriormente, la medición indirecta del nivel de ROS, mediante la estimación de la actividad de enzimas antioxidantes, permite inferir el grado de estrés que puede estar sufriendo una planta. Asimismo, el contenido de clorofila también

puede ser un indicador del estrés, dado que en tales situaciones puede verse afectada la síntesis e incrementada la degradación.

Sumado a lo anterior, la estimación del daño de membranas es un indicador del grado de estrés oxidativo. El producto final de la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados es el malondialdehído (MDA). Esta molécula reacciona con el ácido tiobarbitúrico (TBA) dando lugar a un compuesto rosado detectable mediante espectrofotometría (Hodges *et al.*, 1999). Además, la medición de los electrolitos liberados por un tejido vegetal puede relacionarse con la integridad de las membranas (Hniličková *et al.*, 2019).

En plantas sometidas a algún tipo de estrés suele producirse un aumento en el nivel de prolina. La prolina es un aminoácido multifuncional que se acumula en plantas en respuesta a diferentes tipos de estrés ambiental (salinidad, sequía, alta luminosidad, radiación UV, metales pesados, estrés oxidativo y biótico) (Szabados y Savoure, 2010). En situaciones de estrés salino u osmótico cumple un rol importante como osmolito compatible en el proceso de ajuste osmótico (Khanna-Chopra *et al.*, 2019), estabilización de estructuras subcelulares y proteínas (Kaur y Asthir, 2015), neutralización de ROS (Hayat *et al.*, 2012), regulación del potencial redox y almacenamiento y transferencia de energía y poder reductor (Rejeb *et al.*, 2014). Por lo tanto, la determinación del nivel de prolina en plantas también puede utilizarse para inferir el grado de estrés en plantas.

El exceso de Na^+ , debido a la similitud con el K^+ , puede provocar deficiencias de este último elemento debido a que muchos de los transportadores de K^+ no pueden discriminar entre ambos iones (Isayenkov y Maathuis, 2019). Dado que el K^+ regula los movimientos estomáticos, este se verá comprometido en situaciones de estrés salino (Chakraborty *et al.*, 2016). Por otro lado, a nivel celular, el K^+ cumple importantes funciones en la activación de enzimas, estabilización de la síntesis proteica, neutralización de proteínas cargadas negativamente y mantenimiento del pH citosólico (Hafsi *et al.*, 2017; Wang y Wu, 2017). Por lo tanto, la deficiencia de este elemento afectará el adecuado funcionamiento celular (Zhu *et al.*, 2019).

El Cl^- , si bien es un elemento esencial, en altas concentraciones puede resultar tóxico (Geilfus, 2018). Las funciones de este elemento están asociadas a la fotosíntesis,

actuando como cofactor de la clorofila (Litalien y Zeeb, 2020), y al mantenimiento de la turgencia celular (Bazihizina *et al.*, 2019). El exceso de Cl^- puede interferir con la fotosíntesis, causando clorosis y quemado de hojas (Litalien y Zeeb, 2020). Por otro lado, este anión puede competir con el NO_3^- y H_2PO_4^- causando una reducción en la absorción de N y P (Geilfus, 2018).

Estos efectos mencionados del estrés salino en plantas llevarán eventualmente a una reducción del rendimiento (Parihar *et al.*, 2015), que es el efecto más medible del estrés salino en agricultura (Fig. 1).



Figura 1: Efecto del estrés salino en plantas (adaptado de Evelin *et al.* (2009))

Cultivo de melón

El melón (*Cucumis melo* L.) se cultiva en todas las regiones del mundo con clima templado y poco lluvioso (Simsek y Comlekcioglu, 2011). La superficie mundial destinada a este cultivo asciende a 1 millón de ha con una producción de 28 millones de Tn (FAOSTAT, 2022). En Argentina se cultivan unas 3000 ha (Fernández Lozano y Budde, 2019), de las cuales el 50% corresponde a San Juan, 27% a Santiago del Estero, 14% a Mendoza, 6% a La Rioja y 3% a Salta (Bouzo comunic. pers.). Las variedades más cultivadas son 'Rocío de miel', 'Amarillo' y 'Reticulado' o 'Escrito' (Gatti, 2010).

Los principales condicionantes para el cultivo de melón están asociados a la temperatura y salinidad. Las semillas de melón requieren temperaturas templadas

para germinar (Wien, 1997), con un umbral mínimo de 15 °C (Zolezzi *et al.*, 2017). Condiciones de baja temperatura durante o luego de la siembra, conducirán a una emergencia asincrónica con el consecuente crecimiento desigual del cultivo (Singh *et al.*, 2001). Respecto de la salinidad, es considerado como moderadamente tolerante a (Sharma *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2019; Tedeschi *et al.*, 2011).

El cultivo de melón se inicia a partir de la semilla botánica, cuyo tamaño se cuantifica entre 32 a 50 semillas por gramo (Reche Mármol, 2008). La implantación del cultivo tradicionalmente se realizaba por siembra directa, aunque debido al elevado valor de la semilla de los cultivares híbridos, como así también a la obtención de primicias, se adoptó el trasplante como método de propagación (Cantamutto *et al.*, 2001; Rodríguez Torresi, 2011). La producción de plantines se realiza en bandejas multiceldas. El volumen de celda habitualmente utilizado es de 26 cm³ (228 celdas por bandeja). Con este volumen el trasplante debe realizarse con una hoja y media expandida a fin de reducir el estrés postrasplante (Rodríguez Torresi, 2011). El melón no tolera el trasplante a raíz desnuda, por lo que siempre debe hacerse mediante el cepellón (Galmarini *et al.*, 2010).

Los marcos de plantación varían entre los diferentes genotipos y el manejo cultural que serán expuestos. En la región de Cuyo se suelen utilizar distancias de plantación de entre 1,5 y 2,5 m entre surcos y 0,25 a 1,0 m entre plantas, utilizando densidades de 7500 a 12000 plantas por hectárea (Galmarini *et al.*, 2010).

Melón y salinidad

El melón es una de las primeras plantas en la cual se reportaron problemas de salinidad (Kusvuran *et al.*, 2007b; Navarro *et al.*, 1999). Aunque es considerada una especie moderadamente tolerante a la salinidad (Sharma *et al.*, 2016; Tedeschi *et al.*, 2011), en las etapas de germinación y crecimiento inicial se manifiesta como sensible (Carvajal *et al.*, 1998; Gola *et al.*, 2019; Pinheiro *et al.*, 2019). Esta sensibilidad comienza a disminuir cuando el estrés es impuesto entre el establecimiento del fruto (54 a 56 días desde el trasplante) y el crecimiento de este (69 a 71 días desde el trasplante) (Botía *et al.*, 1998; del Amor *et al.*, 1999; Sivritepe *et al.*, 2005).

Los efectos de la elevada salinidad en melón se manifiestan como reducción o retraso

de la germinación (Suárez-Hernández *et al.*, 2019; Tanveer *et al.*, 2012), reducción de la biomasa de las plántulas (Kusvuran *et al.*, 2007b; Pinheiro *et al.*, 2019) y la duración foliar (Sivritepe *et al.*, 2003). Todo ello puede conducir a la reducción del rendimiento (Huang *et al.*, 2012).

Entre las estrategias para reducir los efectos adversos de la salinidad en melón se incluyen, entre otras, prácticas culturales como riego localizado (Reche Mármol, 2008), riego con lámina de lavado (Suárez-Hernández *et al.*, 2019), drenaje y riego con agua de alta calidad (Ashraf y Foolad, 2005), enmienda del suelo (Sharma *et al.*, 2016), compuestos exógenos aplicados a las plantas (ej. prolina, potasio, calcio, etc.) (Jin *et al.*, 2019; Kaya *et al.*, 2007; Rafiq y Rizwana, 2005), injerto sobres pies resistentes a la salinidad (San Bautista *et al.*, 2011), tratamientos pre germinativos (Guzmán y Olave, 2006; Sivritepe *et al.*, 2005, 2003) y modificación genética de las plantas (Bordas *et al.*, 1997). Cada una de ellas presenta ventajas y limitaciones.

Melatonina en plantas

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una molécula que fue aislada por primera vez en la glándula pineal de los bovinos (Lerner *et al.*, 1958). Los principales roles en humanos y animales se refieren a la sincronización del ritmo circadiano, maduración sexual, marcador endócrino estacional para la reproducción de muchas especies estacionales y neutralizadora de radicales libres (Karasek y Winczyk, 2006). En 1995 fue detectada su presencia en plantas superiores (Dubbels *et al.*, 1995; Hattori *et al.*, 1995). Desde entonces han aparecido diversas publicaciones reportando su rol en la fisiología de las plantas (Arnao y Hernández Ruiz, 2015; Zhan *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2015).

Es poca la información acerca del lugar de síntesis de la melatonina en plantas. Sin embargo, existe evidencia que indica la capacidad de las plantas de tomarla del medio de cultivo (Paredes *et al.*, 2009). Las funciones fisiológicas de la melatonina incluyen estimulación del crecimiento de raíces y tallos (Kim *et al.*, 2016), generación de nuevas raíces (Arnao y Hernández Ruiz, 2007), retraso de la senescencia foliar (Wang *et al.*, 2012), reducción de la degradación de la clorofila (Arnao y Hernández Ruiz, 2009), mantenimiento de la respiración mitocondrial (Turk y Genisel, 2019), entre otras.

Algunas de las ventajas de la aplicación de melatonina en plantas reportadas son mejora de la germinación a baja temperatura (Han *et al.*, 2017; Posmyk *et al.*, 2009), prevención del estrés por altas temperaturas (Byeon y Back, 2014; Hernández *et al.*, 2015), aumento de la tolerancia al frío (Li *et al.*, 2019; Turk y Genisel, 2019) mejora de la germinación y crecimiento de las plantas en suelos contaminados (Posmyk *et al.*, 2008; Szafrńska *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2017) e incremento de la tolerancia al estrés hídrico y salino (Li *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2014).

Otros alcances de los estudios en la aplicación de melatonina en plantas se muestran en la Figura 2.

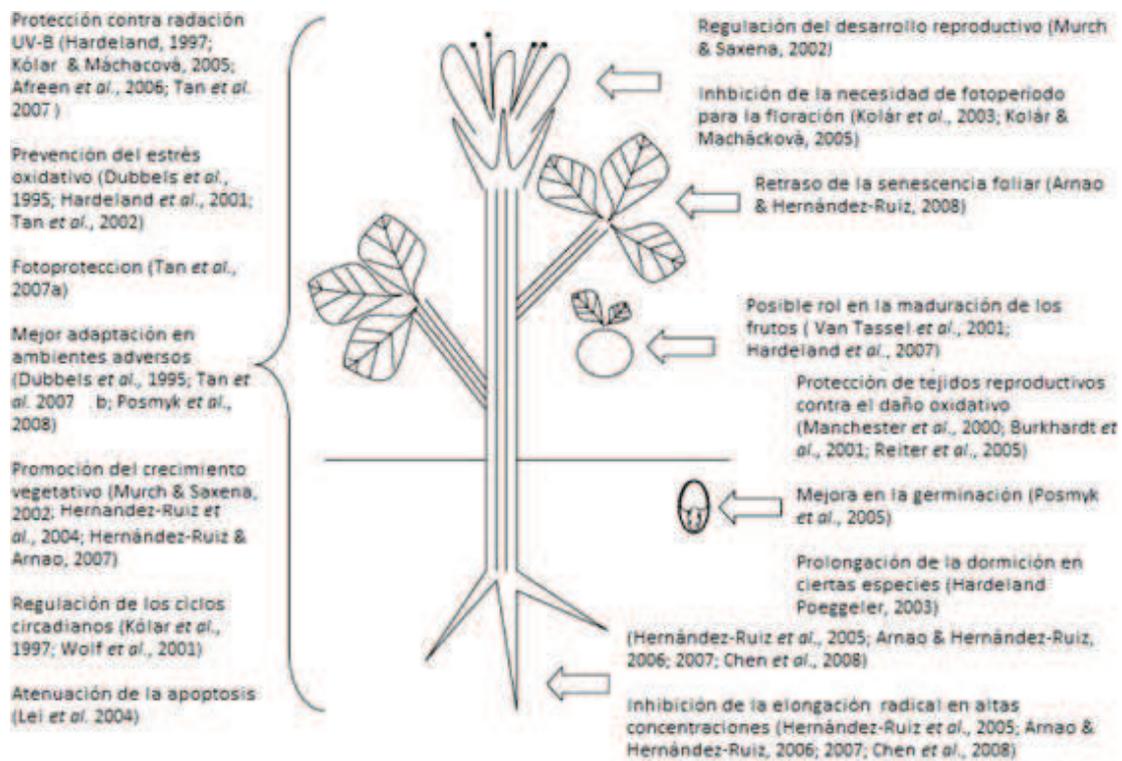


Figura 2: Efectos reportados o propuestos de la aplicación de melatonina en plantas superiores (adaptado de Paredes *et al.* (2009)).

El principal mecanismo de acción de la melatonina en las plantas sometidas a condiciones de estrés podría estar relacionado a una función antioxidante (Allegra *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2014; Manchester *et al.*, 2000). Los radicales libres y otras especies reactivas al oxígeno son responsables de los daños en la mayoría de las biomoléculas, causando desórdenes fisiológicos (Aguilera *et al.*, 2015). Los compuestos antioxidantes neutralizan estos excesos de radicales, conduciendo a una homeostasis celular (Ashraf,

2009). Se ha sugerido que la melatonina tendría la capacidad de neutralizar los agentes oxidantes más tóxicos que son generados en las células, tales como el radical hidroxilo (OH^\cdot) y el anión peroxinitrito (ONOO^-). Además, podría ser capaz de capturar oxígeno (O_2), anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), óxido nítrico (NO_3^-) y ácido hipocloroso (HClO) (Aguilera *et al.*, 2015). Diversos metabolitos, producidos cuando la melatonina reacciona con radicales, son también antioxidantes (Milczarek *et al.*, 2010). Sumado a lo anterior, la melatonina también sería capaz de activar enzimas antioxidantes (Paredes *et al.*, 2009) (Fig. 3).

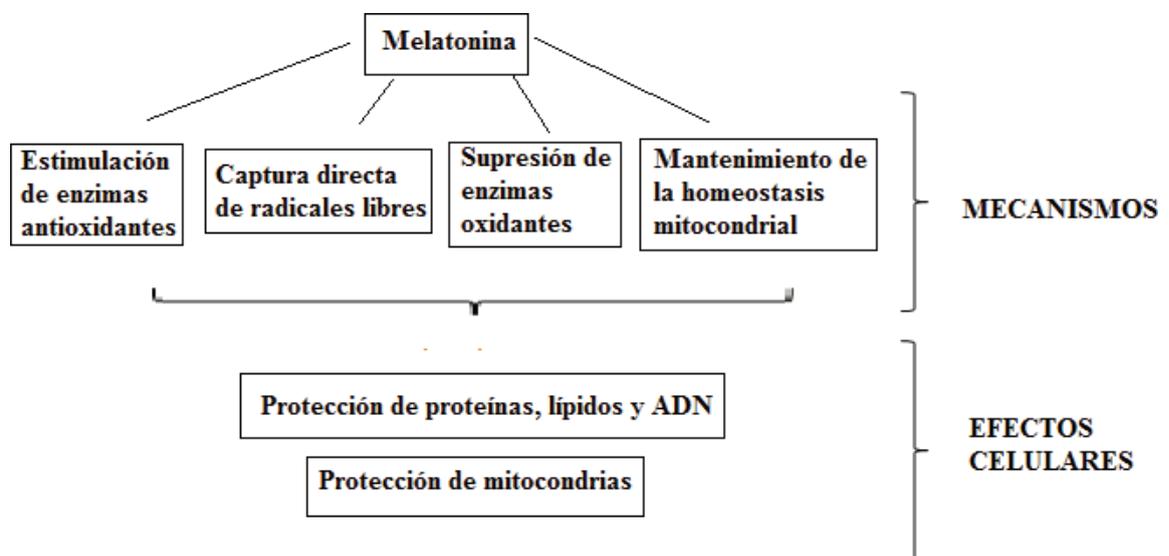


Figura 3. Mecanismos de protección de la melatonina contra el daño oxidativo (adaptado de Zhang y Zhang, 2014)

En melón existen muy pocos antecedentes de la utilización de melatonina. Wu *et al.*, (2019) aplicaron melatonina y calcio a plantines de melón que luego fueron sometidos a condiciones de salinidad y midieron una mayor actividad de enzimas antioxidantes y un mejor crecimiento de las plantas. Zhang *et al.* (2017a, b) lograron aumentar la tolerancia al frío luego de rociar las plántulas de melón con soluciones de melatonina. No obstante, no hay trabajos que evalúen diferentes dosis y formas de aplicación de melatonina y el efecto en el crecimiento, bioquímica y anatomía de las plantas sometidas a estrés salino.

‘Priming’

El ‘priming’ es un tratamiento de semillas previo a la siembra que permite aumentar la germinación, la velocidad y sincronía de esta tanto en condiciones óptimas como subóptimas (Dutta, 2018).

La germinación comienza con la absorción de agua (imbibición) por parte de la semilla seca. Esta hidratación es un proceso de tres fases (Baskin y Baskin, 2014). En la Fase I se produce una rápida entrada de agua, debido fundamentalmente al potencial hídrico (Ψ) extremadamente negativo de las semillas secas (entre entre -350 y -50 MPa) (Weitbrecht *et al.*, 2011). Este proceso es fundamentalmente físico, razón por la cual también puede ocurrir en semillas muertas (Krishnan *et al.*, 2004). En la Fase II disminuye el gradiente de Ψ entre las semillas y el medio y el contenido de agua se aproxima a un ‘plateau’ (Weitbrecht *et al.*, 2011). En esta fase tiene lugar la mayor parte de los eventos metabólicos, en preparación para la siguiente fase. Durante este lapso la respiración se incrementa y se produce un transporte activo de las sustancias desdobladas en la fase anterior, desde el tejido de reserva hacia el eje embrionario. Asimismo, durante esta fase se acentúan los mecanismos de reparación de los daños que pueden haberse producido durante la madurez de secado por la desregulación del metabolismo respiratorio (Dutta, 2018; Wojtyla *et al.*, 2016). La fase II finaliza con el comienzo de la división celular, germinación propiamente dicha (Weitbrecht *et al.*, 2011). La fase III coincide con la emisión de la radícula, es decir, la germinación propiamente dicha. En esta fase se acentúa la entrada de agua (salida del ‘plateau’), lo que se debe inicialmente al crecimiento celular y ruptura de la cubierta seminal (Bradford, 1995) (Fig. 4).

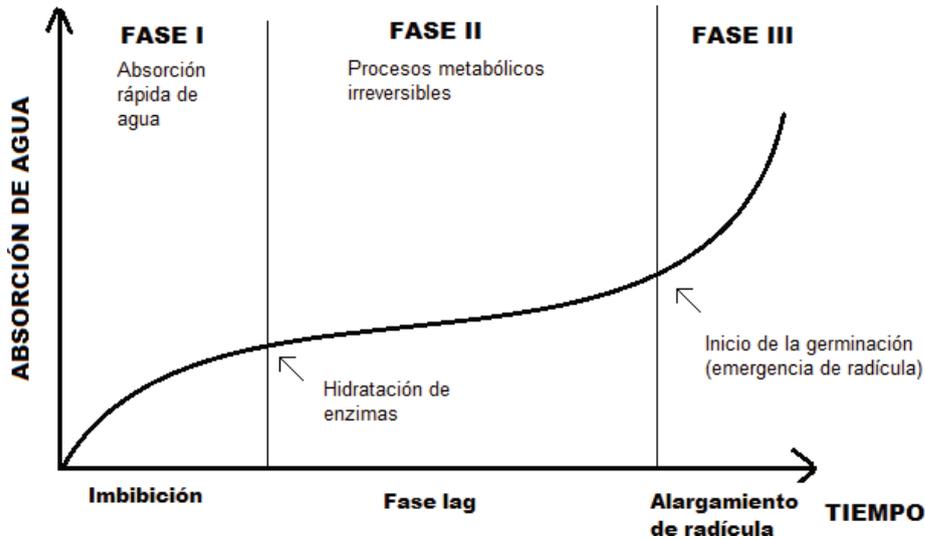


Figura 4: Esquema del proceso de absorción de agua por semillas en germinación (modificado de Bewley (1997))

El 'priming' es una técnica de hidratación controlada de las semillas que permite la activación de los procesos metabólicos y de reparación (activación de los procesos de reparación de ADN y mecanismos antioxidantes) que ocurren en las primeras etapas de la imbibición (fase II) (Paparella *et al.*, 2015), sin la emisión de la radícula (Fig. 5).

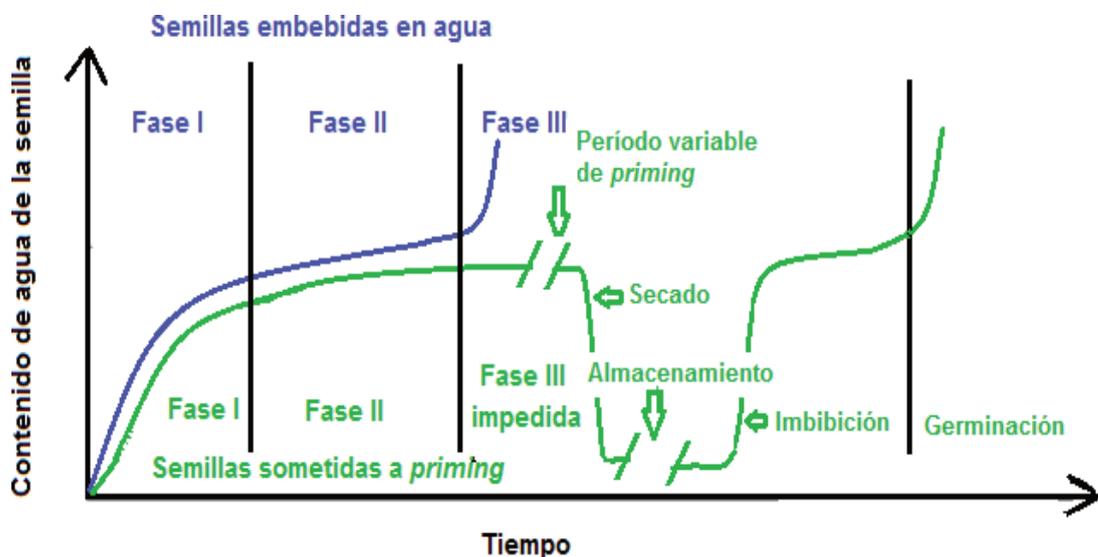


Figura 5: Esquematización del 'priming' (modificado de Rajjou *et al.*, (2012))

Existen diferentes métodos de 'priming', dependiendo de la forma en que la hidratación de las semillas es controlada, y los más comunes son: adición controlada de agua pura y resecado hasta contenido original humedad ('hidropriming'), empleo

de alguna matriz sólida con capacidad de retención de agua ('matric priming') y utilización de agentes osmóticos que limitan la entrada de agua al reducir el potencial hídrico ('osmopriming') (Dutta, 2018). Algunas técnicas más recientes incluyen el agregado de bacterias promotoras del crecimiento ('biopriming'), micronutrientes ('nutrient priming') o reguladores de crecimiento ('hormonal priming') durante el proceso de hidratación controlada (Sher *et al.*, 2019).

El 'osmopriming' es el método más utilizado dado que es simple, económico y efectivo (Ibrahim, 2016).

Los tratamientos de 'priming' han demostrado sus ventajas y actualmente se investigan para los siguientes fines: a) revigorización de semillas durante el almacenamiento, b) incremento, aceleración y sincronía de la germinación y establecimiento de las plántulas, c) acondicionamiento para eliminar diferentes tipos de dormiciones, d) mejora de la germinación y establecimiento de las plántulas bajo condiciones ambientales adversas (Arunkumar *et al.*, 2019; Balmer *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2001).

Aunque el 'priming' es un tratamiento de semillas que tiene un efecto benéfico en la germinación, estas ventajas no son exclusivas del estado de semilla, sino que puede mejorar el crecimiento y rendimiento del cultivo e incluso pueden prolongarse los efectos por más de una generación (Wojtyla *et al.*, 2016). Se dice que las plantas se encuentran en un 'estado priming' (Pastor *et al.*, 2014).

'Priming' en melón

Una de las aplicaciones del 'priming' en semillas de melón que ha sido objeto de estudio, es el efecto de este en la germinación en condiciones de temperaturas subóptimas. Diversos investigadores reportaron una mejora en la velocidad y porcentaje de germinación en estas condiciones desfavorables (Demir y Oztokat, 2003; Nascimento y West, 2000; Nerson y Govers, 1986).

Aún en temperaturas óptimas, el 'priming' ha demostrado aumentar la velocidad de germinación, aunque no se manifieste un aumento en el porcentaje de esta (Nascimento, 2003), lo que estaría asociado a una mejora del vigor.

Nascimento y West (1998) observaron una reducción de la adherencia del tegumento en las semillas de melón durante el proceso de germinación cuando fueron sometidas a 'priming'. Esto se traduce en una emergencia más rápida.

La respuesta del 'priming' en función del tipo de agente osmótico empleado, también ha sido estudiada. Nascimento (2003), comparó diferentes agentes osmóticos (KNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{KNO}_3 + \text{KH}_2\text{PO}_4$, manitol y PEG) y observó que con el agregado de sales la velocidad de germinación resultó mayor que cuando se empleó manitol o PEG, aunque el porcentaje de germinación se vio reducido.

En lo que respecta a los efectos del 'priming' en condiciones de salinidad, se han observado respuestas favorables en la germinación y establecimiento de las plántulas en semillas tratadas con agentes osmóticos (Guzmán y Olave, 2006; Nascimento, 2002; Sivritepe *et al.*, 2005). El uso de semillas acondicionadas osmóticamente podría permitir el rápido establecimiento del cultivo por siembra directa, en condiciones salinas, y, por otro, lado favorecería la implantación del cultivo por trasplante, otorgándole a la planta una mayor capacidad de ajuste osmótico (Cuartero y Fernández-Muñoz, 1998).

Sivritepe *et al.* (2008) observaron una mayor actividad de enzimas antioxidantes en plantas provenientes de semillas sometidas a 'priming' y puestas a germinar en un medio salino. Este hecho permitiría una mejor adaptación a estas condiciones adversas.

No existen trabajos de 'priming' en melón y salinidad que estudien simultáneamente distintos agentes osmóticos y tiempos de tratamiento y evalúen los efectos a nivel de crecimiento, bioquímico y anatómico en las plantas.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis

La aplicación de melatonina en melón (*Cucumis melo* L.) y el 'priming' de semillas inducen cambios fisiológicos y anatómicos que conducen a una mejor adaptación a condiciones de salinidad.

Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de melatonina y el 'priming' en la germinación y desarrollo inicial de plantas de melón cultivadas en condiciones salinas.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la melatonina sobre la germinación de semillas de melón en condiciones de salinidad
- Evaluar el efecto de dos agentes osmóticos y tiempos de 'priming' en la germinación de semillas de melón en condiciones de salinidad
- Conocer el efecto de la melatonina sobre la fisiología y anatomía en plantas de melón
- Evaluar los cambios fisiológicos y anatómicos producidos en plantas de melón provenientes de semillas sometidas al 'priming'

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de trabajo

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Luján (UNLu).

Material vegetal

Se utilizaron semillas de melón (*Cucumis melo* L.) de dos variedades botánicas: i) *inodorus* (nc. 'Honey Dew' o 'Rocío de miel') y, ii) *reticulatus* (nc. 'Reticulado').

Experimentos realizados

Se realizaron cinco experimentos para determinar el efecto de la salinidad en la germinación, el efecto de la utilización de melatonina y 'priming' sobre la germinación en condiciones de salinidad, como así también en el crecimiento inicial de las plantas. A continuación, se describen estos experimentos.

[1] Efecto de la salinidad en la germinación

Las semillas fueron desinfectadas superficialmente en una solución de hipoclorito de sodio durante 10 min, lavadas con agua desionizada, colocadas entre dos papeles de filtro (Whatman n° 1) en placas de Petri de 8,5 cm de diámetro y embebidas con soluciones de NaCl de diferentes conductividades eléctricas (CE) (0 a 22 dS m⁻¹) en una proporción 1:5 (peso volumen) (Farooq *et al.*, 2013). Se utilizaron diez semillas por placa, equidistantes entre sí, con cinco repeticiones por valor de CE. El experimento se realizó en una cámara de cultivo (Semedic I-500 PF) a 25 °C (± 0,5 °C) y oscuridad. Al cabo de 8 días se registró la germinación, (ISTA, 2013). Se consideró como germinada la semilla en la cual se produjo la protusión de la radícula (> 2mm) (Mavi *et al.*, 2010).

[2] Efecto de la melatonina en la germinación en condiciones de salinidad

Las semillas se esterilizaron superficialmente, se colocaron entre dos papeles de filtro (Whatman n° 1) en placas de Petri de 8,5 cm de diámetro y se embebieron durante 6 o 12 h con soluciones de melatonina de 0, 10, 50 y 100 µM. Durante estos tiempos de imbibición, las semillas permanecieron en una cámara de cultivo a 25 °C (± 0,5 °C) y oscuridad. Una vez completado los tiempos de 6 y 12 h, se retiraron las semillas de la

cámara, procediéndose a su enjuagado y secado. A continuación, fueron colocadas a germinar tal como en el experimento anterior, utilizándose como solución salina aquella que produjo una media de 50% en la reducción de la germinación. El tratamiento control consistió en la siembra sin tratamiento previo. Al cabo de 8 días se evaluó el porcentaje de germinación, considerándose como germinada aquellas semillas donde se produjo la protusión de la radícula (> 2mm).

[3] Efecto del 'priming' en la germinación en condiciones de salinidad

El 'priming' se realizó en una cámara de cultivo a 25 °C (\pm 0,5 °C) y oscuridad. Las semillas, previamente esterilizadas como en el experimento anterior, se colocaron entre dos papeles de filtro (Whatman n° 1) en placas de Petri de 8,5 cm de diámetro y embebidas con dos soluciones osmóticas: NaCl y CaCl₂, en una relación 1:5 (peso:volumen). La concentración de los agentes osmóticos se ajustó para lograr un potencial hídrico (Ψ) de -1,5 MPa, según la ecuación de van't Hoff (Shabala y Munns, 2017). Se estudiaron dos duraciones de tratamiento: 2 y 4 días. Las soluciones se cambiaron diariamente a fin de asegurar el mantenimiento constante del Ψ . Luego del 'priming' las semillas se enjuagaron tres veces con agua destilada y se secaron a 25 °C durante 24 h para reducir el contenido de humedad (<10 %). Posteriormente, se colocaron a germinar de la misma manera que en el experimento anterior y se embebieron con la correspondiente solución salina que condujo a un 50% de reducción de germinación, y que fuera determinado en el experimento 1. El tratamiento control consistió en la siembra sin tratamiento previo. Al cabo de 8 días se evaluó el número de semillas germinadas y se calculó el porcentaje de germinación (PG) (ISTA, 2013).

[4] Efecto de la melatonina en el crecimiento de plantas de melón en condiciones de salinidad

En este experimento se evaluaron dos formas diferentes de aplicación de melatonina. El primer método (I) consistió en humedecer semillas tal como se realizó en el experimento 3 con solución 0, 10, 50 y 100 μ M de melatonina (MS 0, 10, 50 y 100, respectivamente) con la duración que permitió la mejor germinación en tal experimento. Luego del tratamiento las semillas se enjuagaron y secaron de la misma

manera que en los experimentos anteriores. Posteriormente se procedió a la siembra en macetas con un volumen de 1000 cm³, llenas previamente con perlita y el riego se efectuó con solución nutritiva tipo Hoagland (Hoagland y Arnon, 1950) con CE 2,0 dS m⁻¹ (S0). En el segundo método (II), luego de una esterilización superficial de las semillas, fueron sembradas en macetas como en el método anterior y se regaron con la solución nutritiva tipo Hoagland. Después de la emisión de la primera hoja, las plántulas se regaron, en tres momentos, cada dos días, con 100 mL de solución de melatonina 0, 10, 50 y 100 µM (MR 0, 10, 50 y 100, respectivamente). El riego con melatonina se realizó durante el nictoperíodo dado que la melatonina es una molécula fotosensible (De Luca *et al.*, 2013). Luego de la emisión de segunda hoja las plantas comenzaron a regarse con la solución nutritiva más la adición de 60 mM de NaCl, para lograr una CE de 8,0 dSm⁻¹. La CE fue monitoreada diariamente con un conductímetro portátil (Milwaukee WPMC66 0-10MS/C). El valor de CE de 8,0 dS m⁻¹ fue adoptado considerando que el rendimiento de los cultivos se reduce aproximadamente un 50% (Tanji y Kielen, 2002; Tedeschi *et al.*, 2011). Un grupo de plantas continuó siendo regado con la solución nutritiva (CE = 2,0 dS m⁻¹) sin la adición del NaCl (control S0). A los 20 días se realizaron las diferentes determinaciones bioquímicas y de crecimiento.

El experimento se realizó en un fitotrón con un ciclo de 16 h de luz/8 h de oscuridad y temperaturas de 25/18 °C (± 1,0 °C), consideradas como óptimas para el crecimiento vegetativo del melón (Ruiz *et al.*, 2013). A los 20 días se realizaron las diferentes determinaciones bioquímicas y de crecimiento.

Se utilizaron 40 repeticiones por tratamiento en un diseño completamente aleatorizado (DCA). Los factores considerados fueron la concentración de melatonina en 4 niveles y el tipo de aplicación.

[5] Efecto del 'priming' en el crecimiento de plantas de melón en condiciones de salinidad

Se seleccionaron los dos tratamientos de 'priming' del experimento 3 en los que se registró el mayor porcentaje de germinación.

La siembra de semillas con 'priming' se realizó en macetas de polietileno con un volumen de 1000 cm³ llenas con perlita. El riego se realizó diariamente con solución nutritiva tipo Hoagland (CE = 2,0 dS m⁻¹). Luego de la emisión de segunda hoja las plantas comenzaron a regarse con la solución nutritiva más la adición de 60 mM NaCl (8,0 dS m⁻¹). El tratamiento control estuvo representado por plantas provenientes de semillas sin 'priming' y regadas con la solución salina de 8,0 dS m⁻¹ (Control S1). Un tratamiento control externo consistió en plantas obtenidas de semillas sin tratamiento previo y regadas con la solución nutritiva tipo Hoagland (CE = 2,0 dS m⁻¹) sin la adición de NaCl (Control S0).

El experimento se llevó a cabo en un fitotrón con un ciclo de 16 h de luz/8 h de oscuridad y temperaturas de 25/18 °C (± 1,0 °C), al igual que el experimento anterior. A los 20 días se realizaron las determinaciones bioquímicas y de crecimiento.

Se utilizaron 40 repeticiones de cada tratamiento en un diseño completamente aleatorizado (DCA). Los factores fueron el tipo de 'priming'.

Mediciones realizadas

Evaluación del crecimiento

El crecimiento de las plantas fue medido mediante la determinación del peso seco total, longitud del tallo principal, número de hojas y área foliar. El peso seco se obtuvo luego de introducir las muestras en estufa a 60 °C hasta peso constante (Miller, 1997). La longitud del tallo se consideró como la extensión entre la inserción de los cotiledones y el extremo apical y su determinación se logró mediante una cinta métrica. La determinación del número de hojas se realizó mediante un conteo, considerando solamente aquellas que presentaron su limbo expandido. El área foliar por planta fue medida utilizando el software de procesamiento de imágenes Image J (Schneider *et al.*, 2012).

Para analizar los efectos globales de la salinidad y cada tratamiento en el crecimiento, se construyó un índice de parámetros biométricos (IPB), según la siguiente expresión (Larraburu y Llorente, 2015):

$$IPB(t) = \sum_{i=1}^4 (Vp(i,t) - X(i))/DS(i)$$

Donde:

$Vp(i,t)$ = Valor para el parámetro fitométrico i en el tratamiento t

$X(i)$ = Promedio del parámetro fitométrico i

$D(i)$ = Desvío estándar para el parámetro fitométrico i

Determinación del potencial hídrico del xilema (Ψ_x)

Previo a la extracción de las plantas, se midió el Ψ_x utilizando una cámara de presión tipo Schölander (Biocontrol 0-6 MPA) (Schölander *et al.*, 1964). Las mediciones se realizaron in situ, en hojas desarrolladas, bien iluminadas, ubicadas en el tercio medio del tallo.

Determinación de la concentración de clorofila total (Ct)

La Ct se estimó según el protocolo de Lichtenthaler y Wellburn (1983). Se cortaron 100 mg de hojas frescas y se homogeneizaron con 20 mL de acetona al 80% (v/v) en un mortero. Luego, la mezcla se centrifugó a 8000 x g durante 10 min. La absorción del sobrenadante se midió usando un espectrofotómetro (Shimadzu UV- 1800) y el contenido de clorofila se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$Ct \text{ (mg g}^{-1} \text{ PF)} = 7,15 A_{663,2 \text{ nm}} + 18,71 A_{646,8 \text{ nm}}$$

Donde $A_{663,2 \text{ nm}}$ y $A_{646,8 \text{ nm}}$ representan la absorbancia a 663,2 nm y 646,8 nm, respectivamente.

Estimación de la lixiviación relativa de electrolitos (LE)

La LE se estimó de acuerdo con el procedimiento descrito por Restrepo *et al.*, (2013). Se extrajeron 100 mg de hojas frescas, las que fueron cortadas en segmentos de 5 mm e introducidos posteriormente en tubos de ensayo que contenían 10 mL de agua desionizada. Después de 2 h de incubación a 30 °C se midió la CE inicial del medio (CE1), usando un medidor de conductividad (Altronix CTX-II). Los tubos de ensayo que contenían estos segmentos de las hojas se incubaron a 100 °C durante 15 minutos, y finalmente se midió la CE final (CE2). La LE se estimó según la fórmula: $LE (\%) = (CE1 / CE2) \times 100$.

Cálculo del contenido relativo de agua (CRA)

El CRA se calculó de acuerdo con Cao *et al.*, (2015). Se extrajo la segunda hoja de cada planta y se determinó el peso fresco (PF). Luego, las hojas se colocaron en un vaso de precipitados con agua destilada durante 5 h y se registró el peso saturado (PSat). Finalmente, las hojas se secaron a 80 °C hasta peso constante y se determinó el peso seco (PS). El CRA se calculó usando la ecuación: $CRA (\%) = [(PF-PS) / (PSat -PS)] \times 100$.

Determinación del vigor de raíces

El vigor de raíces se estimó mediante el método de reducción del cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC) ($C_{19}H_{15}ClN_4$) (Chen, 2003). Se cortó una muestra de 500 mg de raíces en trozos pequeños y se colocaron en tubos de ensayo con 5 mL de TTC al 0,4% y 5 mL de tampón fosfato (pH = 7) y se incubaron 3 h a 37 °C. Las muestras se extrajeron luego en acetato de etilo ($C_4H_8O_2$) durante 15 min. Luego, mediante un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800) se midió la absorbancia a una longitud de onda de 485 nm. Los resultados se expresaron como absorbancia en relación con el peso seco de la raíz ($A_{485\text{ nm}} g^{-1} PS$).

Cuantificación de prolina

El contenido de prolina se calculó siguiendo el protocolo propuesto por Bates *et al.* (1973). Se homogeneizaron 300 mg de hojas frescas en 10 mL de solución de ácido sulfosalicílico ($C_7H_6O_6S$) acuoso al 3% y la mezcla se filtró a través de un papel de filtro Whatman n° 1. Se hicieron reaccionar 2 mL de filtrado con 2 mL de ninhidrina ($C_9H_6O_4$) ácida 0,2% y 2 mL de ácido acético glacial ($C_2H_4O_2$) concentrado en un tubo de ensayo durante 1 h a 100 °C. La reacción se detuvo en hielo durante 15 min. Se añadieron 4 mL de tolueno (C_7H_8) y se mezclaron durante 20 s con vórtex. La absorción de la fase superior se midió mediante un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800) a una longitud de onda de 520 nm. La concentración de prolina se determinó usando una curva de concentración estándar y se expresó como $\mu\text{mol g}^{-1} PF$.

Determinación del contenido de malondialdehído (MDA)

El MDA fue determinado según el método de Heath y Packer (1968). Se tomaron 300 mg de hojas frescas, se maceraron con 3 mL de ácido tricloroacético (TCA) ($C_2HCl_3O_2$) 0,1%. El homogenizado se centrifugó a $3000 \times g$ durante 10 min y se descartó el pellet. Se extrajo 1 mL del sobrenadante y se lo introdujo en un tubo de ensayo, al que se le agregó 1 mL del reactivo TCA-BHT-TBA (TCA 20%, ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,37% y butilhidroxitolueno (BHT) 0,01 g). La muestra se incubó en baño María 25 min a $95 \text{ }^\circ\text{C}$. Se detuvo la reacción en hielo. Posteriormente se centrifugó la muestra a $10000 \times g$ durante 10 min. Finalmente, en el sobrenadante se midió la absorbancia mediante un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1800) a las longitudes de onda de 532 y 600 nm. El contenido de MDA se expresó como $\mu\text{M g}^{-1}$ PF.

Determinación de la actividad peroxidasa (PO) y catalasa (CAT)

Una muestra de hojas de 60 mg de masa fue molida en mortero, re suspendida con 1,5 mL de buffer fosfato 10 mM (pH = 6) y centrifugada a $12000 \times g$ durante 20 min. El sobrenadante se conservó a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta su análisis.

Para la actividad PO, a 100 μL del extracto se le adicionaron 2000 μL de buffer fosfato de sodio 10 mM (pH = 6), 20 μL de guayacol y 50 μL de H_2O_2 0,88 M. La absorbancia fue medida a 470 nm a los 45, 60, 90 y 120 s. La actividad se expresó como el cociente entre el incremento de absorbancia por unidad de tiempo (Abs min^{-1}) y el PF de la muestra vegetal (George, 1953).

La actividad CAT fue medida según el método de Aebi (1984). A 50 μL de extractivo se adicionaron 2000 μL de buffer fosfato de sodio y potasio 50 mM (pH = 7), y la reacción se inició con 20 μL de H_2O_2 0,88 M. La actividad fue determinada midiendo el descenso de la concentración de H_2O_2 por 60 s a 240 nm y se expresó como $\mu\text{moles de H}_2\text{O}_2$ reducidos por mg de proteínas solubles totales por unidad de PF de la muestra vegetal.

Cuantificación de la relación Na^+/K^+

Para esta determinación, el acondicionamiento de las muestras fue realizado según el procedimiento indicado por Campbell y Plank (1998) con algunas modificaciones. Una muestra de 2 g de masa seca de plantas se colocó en una mufla ($600 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 4 h. Las cenizas se hirvieron con 40 mL de HCl (30%) y 5 mL de HNO_3 . La mezcla se filtró, se

enfrió y se añadió agua desionizada hasta completar 250 mL. Los contenidos de K^+ y Na^+ se determinaron con un fotómetro de llama (Metrolab 315).

Análisis de la liberación de K^+ por las raíces

La liberación de K^+ se estimó siguiendo el procedimiento descrito por Chen *et al.* (2005), para lo cual se seleccionaron 5 plántulas de cada tratamiento. Las raíces se lavaron superficialmente y se sumergieron en un vaso de precipitados con 10 mL de solución de NaCl 80 mM durante 2 h. Luego se eliminaron las plántulas, se secó la superficie de las raíces con una toalla de papel y se determinó el peso fresco de la raíz. La cantidad de K^+ liberado se determinó usando un fotómetro de llama (Metrolab 315) y se expresó en $mmol K^+ g^{-1} PS$.

Estudios anatómicos por microscopía óptica

En ambos experimentos, a los 20 días se seleccionaron por triplicado muestras al azar de plantas de aquellos tratamientos en los cuales se observó la mejor respuesta a las condiciones de estrés. Las mismas fueron procesadas para realizar los estudios anatómicos (Pacheco y García, 2017). Además, se tomaron muestras de plantas creciendo en ausencia de estrés salino (Control S0).

Las muestras se fijaron en FAA (formol: ácido acético: etanol: agua desionizada, 2:1:10:7). De las plantas fijadas se seleccionó la porción central de la segunda hoja verdadera, la porción media del tallo principal y las raíces completas. Las muestras fueron incluidas en parafina y se realizaron cortes transversales y longitudinales de 15 a 20 μm con un micrótopo rotatorio (Numak MRF-1). Los cortes se colorearon con safranina-Fast Green y se montaron en bálsamo sintético. Las observaciones y fotografías se realizaron con una cámara digital (Amscope Md 35) de 1,3 MP acoplada a un microscopio óptico binocular (Numak XSZ 107 BN).

Con la utilización del software de procesamiento de imagen digital de dominio público Image J (Schneider *et al.*, 2012) se determinará el ancho del mesófilo, la longitud paradermal de las células del mesófilo, el ancho de la epidermis adaxial y abaxial, el ancho de la corteza del tallo y los diámetros de los elementos del vaso.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de Tukey con $\alpha \leq 0,05$ con el software estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2011).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EFECTO DE LA SALINIDAD EN LA GERMINACIÓN

4.1 EFECTO DE LA SALINIDAD EN LA GERMINACIÓN

La reducción en la germinación fue gradual al aumentar la CE del medio. Para ambas variedades de melón, valores de 14 dS m⁻¹ redujeron la germinación al 50%, mientras que la misma se inhibió por completo a 22 dS m⁻¹ en la variedad 'Rocío de miel' y a 20 dS m⁻¹ en la variedad 'Reticulado' (Fig. 5).

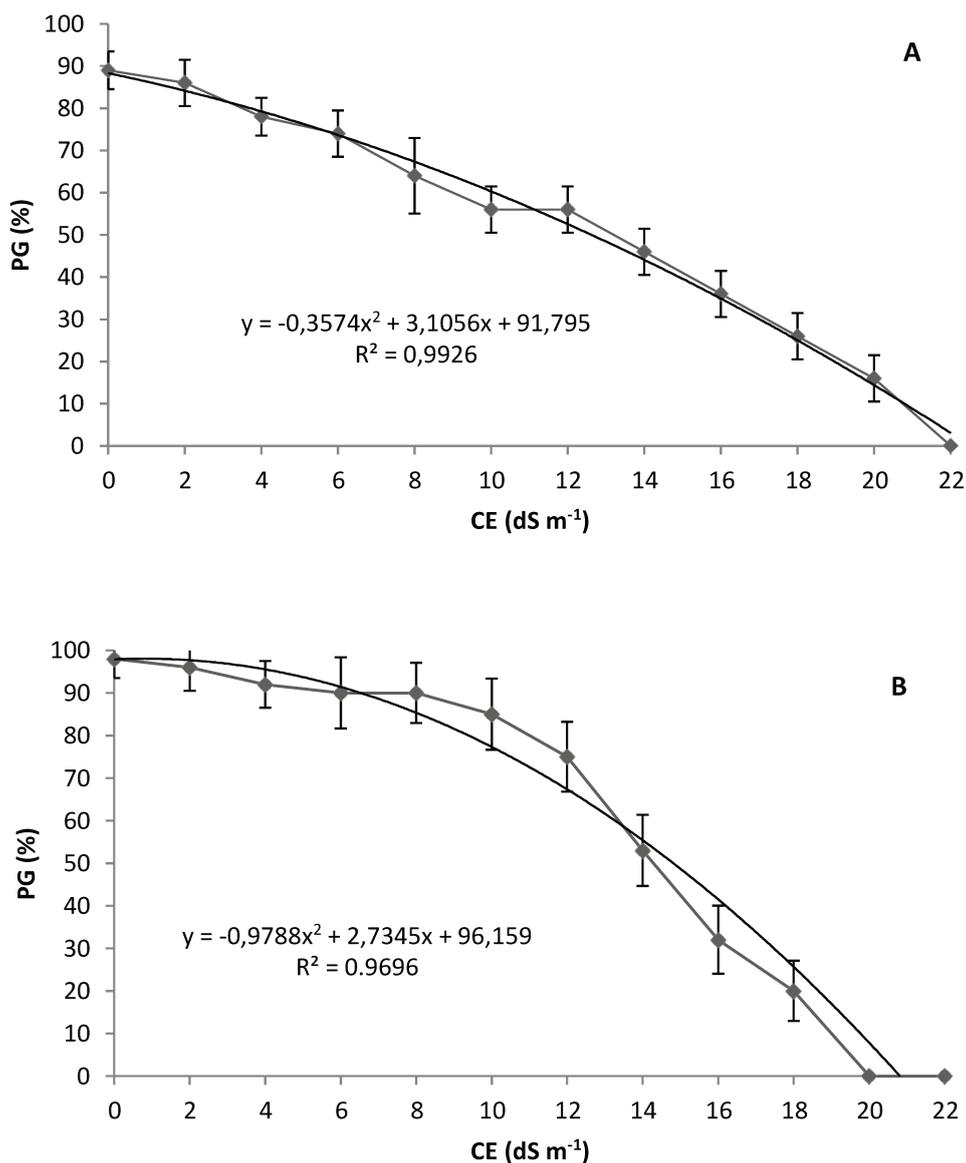


Figura 5: Evolución del porcentaje de germinación (PG) en función del aumento de la CE para semillas de melón variedad Rocío de miel (A) y Reticulado (B), al cabo de ocho días desde la siembra (ISTA 2013).

La menor germinación observada en las semillas de ambos genotipos utilizados puede deberse a una combinación de la reducción del potencial osmótico (Ψ_o), el cual es afectado con la CE según la ecuación Ψ_o (MPa) = $-0,036 \times CE$ ($dS\ m^{-1}$) (Trejo-Téllez y Gómez-Merino, 2012), y a la toxicidad generada por la concentración de NaCl (Shitole y Dhumal, 2012; Singh *et al.*, 2015).

El ingreso de agua a las semillas se explica fundamentalmente por el gradiente de Ψ entre la misma y el medio (Bennett, 2004). El principal componente del Ψ en este caso será el Ψ_o , generado por la elevada concentración de solutos y el estado de desecación de estas (Baskin y Baskin, 2014). Los solutos reducen el Ψ_o según la siguiente relación (Shabala y Munns, 2017):

$$\Psi_o = -iCRT$$

En donde i es el factor de van't Hoff, que depende de la sal, C es la concentración de solutos en la solución (molar), R es la constante universal de los gases y T es la temperatura.

La alta concentración de sales en el medio donde se embeben las semillas reducirá el Ψ_o y con ello el gradiente entre la semilla y el medio, dificultándose la absorción de agua (Ibrahim, 2016).

Por otro lado, la elevada salinidad puede afectar la germinación por los efectos tóxicos, de los iones (Daszkowska-Golec, 2011; Parihar *et al.*, 2015). Pueden producirse cambios en la actividad de enzimas vinculadas al metabolismo de ácidos nucleicos (Gomes-Filho *et al.*, 2008), alteraciones en el metabolismo proteico (Zhang *et al.*, 2017), desbalances hormonales (Iqbal y Ashraf, 2013) y reducción de la utilización de las reservas seminales (Othman *et al.*, 2006).

Resulta difícil discriminar el efecto osmótico del tóxico de la salinidad. Zhang *et al.* (2010), trabajando con semillas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) y soluciones con concentraciones crecientes de NaCl y PEG, observaron que a iguales Ψ_o el PEG causa una mayor reducción de la germinación. Similares resultados fueron obtenidos por Sayar *et al.*, (2010) en trigo duro (*Triticum durum* L.) y Sikha *et al.*, (2013) en semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Se ha propuesto que esta diferencia se debe a que

las sales pueden ser absorbidas por las semillas, dando cierta capacidad de ajuste osmótico (Shitole y Dhumal, 2012; Zhang *et al.*, 2010). Sin embargo, otros investigadores han observado un mayor efecto negativo a causa de la toxicidad que del reducido Ψ_0 (Moghanibashi *et al.*, 2013; Pritchard, 1994).

El descenso del PG al aumentar CE responde a una función polinómica con un coeficiente de correlación de 0,99 y 0,96 para 'Rocío de Miel' y 'Reticulado' respectivamente. De este modo, y a partir de la ecuación de la curva, es posible predecir la respuesta de la germinación al aumento de la CE mediante las siguientes ecuaciones:

$$\text{PG (\%)} \text{ Rocío de miel} = -0,3574 \text{ CE}^2 + 3,1056 \text{ CE} + 91,7950$$

$$\text{PG (\%)} \text{ Reticulado} = -0,9788 \text{ CE}^2 + 2,7345 \text{ CE} + 96,1590$$

4.2 EFECTO DE LA MELATONINA EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE MELÓN EN SALINIDAD

La germinación en condiciones de estrés salino (14 dS m^{-1}) resultó significativamente incrementada luego de someter a las semillas a un pretratamiento de soluciones de melatonina con concentraciones de 10 y 50 μM . Aunque no se utilizaron concentraciones intermedias, no obstante, se observó que con la utilización de una concentración más elevada (100 μM) no hubo un incremento en el PG, e incluso resultó en una reducción de la germinación, mayor aún que en semillas no tratadas (0 μM). Por otro lado, el aumento del tiempo de tratamiento de las semillas de 6 a 12 h no condujo a un incremento en la germinación (Fig. 6). En ambos genotipos se observó esta misma tendencia con una relación inversa entre el tiempo de imbibición con melatonina y el PG. Puede observarse en el tratamiento de MS 50, que la germinación se redujo de 80 a 63% y de 78 a 58% en melón rocío de miel y reticulado, respectivamente, con el aumento del tiempo de tratamiento (Fig. 6).

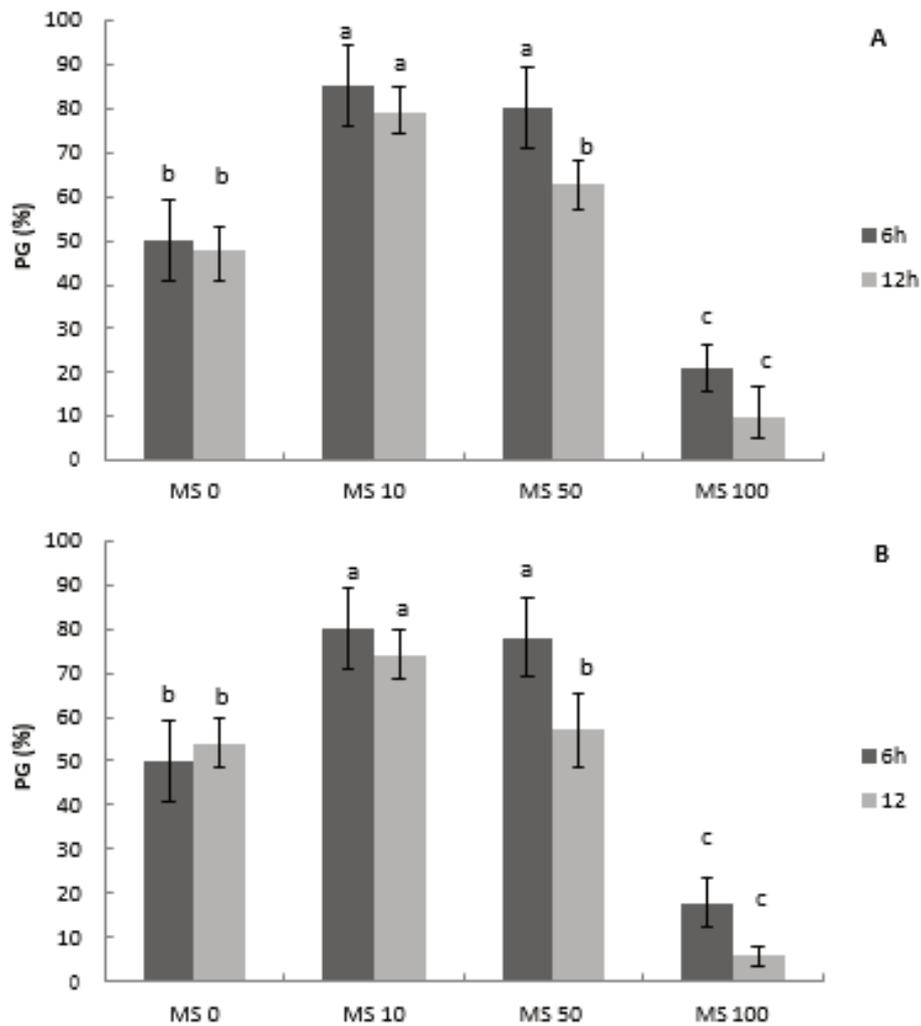


Figura 6: Efecto del pretratamiento de semillas con solución de melatonina 0, 10, 50 y 100 μM (MS 0, 10, 50 y 100 respectivamente) durante 6 o 12 h, sobre el porcentaje de germinación (PG) del melón variedad Rocío de miel (A) y Reticulado (B) a 14 dS m^{-1} . Las barras verticales representan \pm D.E. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

Posteriormente, y una vez superada la fase de la germinación, al considerar la respuesta en el crecimiento de las plántulas, en primer lugar, puede verse claramente el efecto del estrés salino en la reducción de diferentes variables biométricas medidas (Tablas 1 y 2, Fig. 7). Al mismo tiempo, la melatonina permite revertir parcialmente estos efectos, observándose la mejor respuesta con una concentración $50 \mu\text{M}$ en los dos genotipos y en ambas formas de aplicación (semillas y riego). Esta reversión, se considera parcial dado que, para la concentración indicada de melatonina ($50 \mu\text{M}$), tanto en su aplicación mediante riego como en semillas, se registró un valor medio

para las diferentes variables biométricas medidas de 83% (Tablas 1 y 2). Sin embargo, esta respuesta obtenida mediante la utilización de melatonina con 50 μ M es muy importante. Esto se fundamenta en que si se compara la disminución en los valores de las diferentes variables biométricas entre el tratamiento control (S0) y el tratamiento sin melatonina y en condiciones de estrés salino (MS y MR) se puede deducir, por ejemplo, que para la variable área foliar (AF), la misma resultó en un valor medio apenas superior al 20% con respecto al tratamiento control (Tablas 1 y 2). Estas mismas diferencias cuantitativas, pueden apreciarse visualmente en las plantas (Fig. 7).

Claramente puede observarse la diferencia en el crecimiento entre plantas no estresadas (Fig. 7 A) y el resto de los tratamientos (Fig. 7 B-J). Asimismo, resulta evidente la mejor respuesta, en cuanto al vigor y desarrollo foliar, en plantas de los tratamientos 50 μ M, tanto en la aplicación en semillas como riego (Fig. 7 E e I).

Tabla 1: Efecto de la melatonina exógena en los parámetros de crecimiento de melón variedad Rocío de Miel

Tratamiento	Número de hojas	Longitud del tallo principal (cm)	Área foliar (cm ²)	Peso seco total (g)
Control S0	13,25 ± 1,03 ^a	45,44 ± 2,99 ^a	323,16 ± 14,19 ^a	1,07 ± 0,15 ^a
MS 0	8,00 ± 0,26 ^c	25,77 ± 0,90 ^c	65,11 ± 3,43 ^e	0,48 ± 0,05 ^e
MS 10	8,25 ± 0,46 ^c	19,32 ± 1,26 ^d	132,17 ± 2,18 ^c	0,50 ± 0,16 ^e
MS 50	11,75 ± 1,41 ^{ab}	37,24 ± 2,52 ^b	290,52 ± 5,40 ^b	0,88 ± 0,10 ^{ab}
MS 100	9,24 ± 0,60 ^c	29,16 ± 1,39 ^c	123,28 ± 3,21 ^c	0,62 ± 0,08 ^{cde}
MR 0	8,18 ± 0,55 ^c	28,15 ± 0,83 ^b	71,50 ± 1,55 ^e	0,46 ± 0,06 ^e
MR 10	8,00 ± 0,30 ^c	18,22 ± 0,56 ^d	125,60 ± 4,44 ^c	0,73 ± 0,09 ^{bcd}
MR 50	10,98 ± 0,57 ^b	33,88 ± 1,08 ^c	275,20 ± 5,33 ^b	0,78 ± 0,03 ^{bc}
MR 100	8,11 ± 0,65 ^c	27,8 ± 1,26 ^c	103,11 ± 2,60 ^d	0,65 ± 0,04 ^{cd}

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; MS 0, 10, 50, 100: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 μM respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; MR 0, 10, 50, 100: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 μM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Media ± desvío estándar. Letras diferentes en una misma columna indican una diferencia significativa (p ≤ 0,05) según la prueba de Tukey.

Tabla 2: Efecto de la melatonina exógena en los parámetros de crecimiento de melón variedad Reticulado

Tratamiento	Número de hojas	Longitud del tallo principal (cm)	Área foliar (cm ²)	Peso seco total (g)
Control S0	10,00 ± 0,71 ^a	42,88 ± 1,54 ^a	253,12 ± 12,64 ^a	1,03 ± 0,04 ^a
MS 0	7,80 ± 0,84 ^c	18,12 ± 1,18 ^c	60,04 ± 2,19 ^e	0,82 ± 0,03 ^{cd}
MS 10	8,20 ± 0,45 ^{bc}	21,00 ± 2,26 ^c	153,47 ± 17,51 ^d	0,78 ± 0,02 ^d
MS 50	9,60 ± 0,55 ^{ab}	32,14 ± 1,63 ^b	198,42 ± 11,63 ^{bc}	0,89 ± 0,05 ^{bc}
MS 100	8,80 ± 0,84 ^{abc}	22,42 ± 1,80 ^c	179,76 ± 15,52 ^{cd}	0,68 ± 0,03 ^e
MR 0	8,00 ± 0,71 ^c	18,42 ± 0,85 ^c	61,00 ± 1,91 ^e	0,85 ± 0,01 ^{bcd}
MR 10	7,50 ± 0,72 ^c	21,86 ± 3,02 ^c	154,78 ± 15,86 ^d	0,82 ± 0,04 ^{cd}
MR 50	9,50 ± 0,45 ^{ab}	38,84 ± 1,10 ^a	221,08 ± 17,09 ^b	0,91 ± 0,06 ^b
MR 100	7,60 ± 0,45 ^c	31,70 ± 3,79 ^b	187,80 ± 11,39 ^c	0,79 ± 0,07 ^b

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; MS 0, 10, 50, 100: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; MR 0, 10, 50, 100: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Media ± desvío estándar. Letras diferentes en una misma columna indican una diferencia significativa (p ≤ 0,05) según la prueba de Tukey.

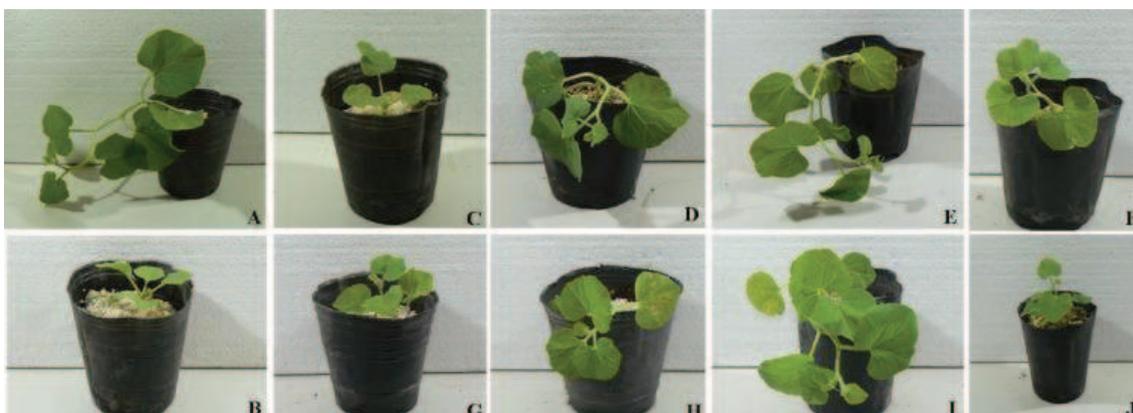


Figura 7. Plantas de melón de 20 días. A: Plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; B: Plantas estresadas regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; C, D, E y F: plantas provenientes de semillas pre tratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y regadas con

solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; G, H, I, y J: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹

La figura 8 expresa el desempeño global de cada tratamiento en el tiempo total del ensayo, mediante un índice. El índice de parámetros biométricos engloba todos los parámetros de crecimiento (resumidos en la Tablas 1 y 2) en un único valor, lo cual simplifica la visualización de los resultados (Larraburu y Llorente, 2015). El desempeño de las plantas será mejor cuanto más elevados (positivos) sean los valores del índice. En contraste, cuanto más negativos sean los valores, mayor será el efecto del estrés en las variables biométricas consideradas. Resulta evidente que la mejor respuesta, en las condiciones de estrés salino, se logra con la solución de melatonina 50 µM.

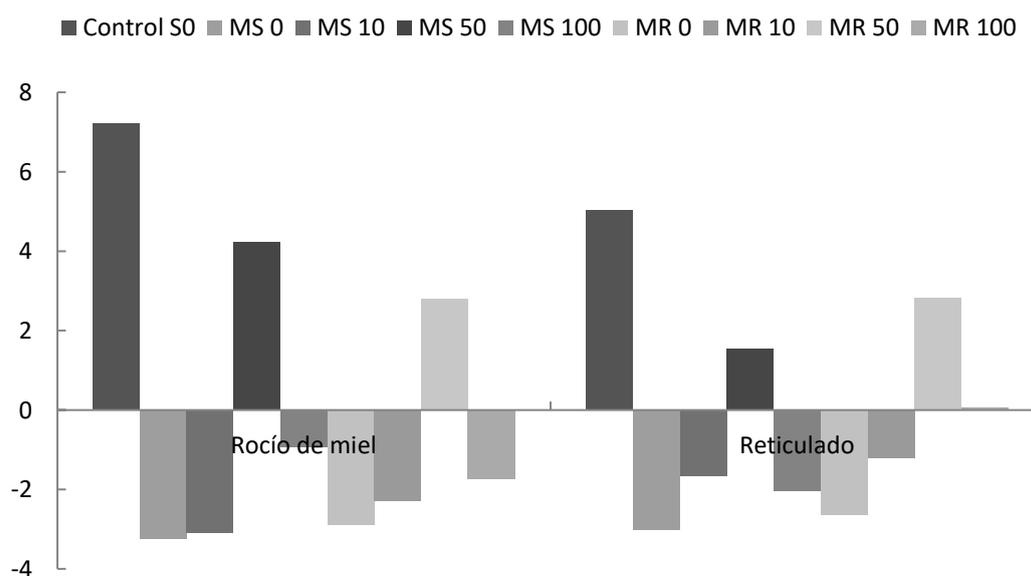


Figura 8: Índice de parámetros biométricos para ambas variedades de melón

El estrés salino condujo a una reducción del potencial hídrico del xilema (Ψ_x) (Tabla 2). La magnitud de este efecto se puede visualizar mediante la comparación entre el control (Control S0) y los tratamientos de salinidad y sin melatonina (MS 0 y MR 0). Esta disminución para ambos genotipos representó una caída superior a tres veces con respecto al control. La melatonina permitió atenuar esta reducción, en diferente grado según la concentración. La mejor respuesta fue observada con la concentración 50 µM tanto para la aplicación en semillas como en riego (Tabla 3).

Tabla 3: Efecto de la melatonina exógena en el potencial hídrico del xilema (Ψ_x)

Tratamiento	Variedad	Ψ_x (atm)
Control S0	Rocío de miel	$-2,70 \pm 0,26^C$
	Reticulado	$-2,83 \pm 0,29^c$
MS 0	Rocío de miel	$-9,00 \pm 0,50^A$
	Reticulado	$-8,50 \pm 1,50^{ab}$
MS 10	Rocío de miel	$-7,50 \pm 0,87^A$
	Reticulado	$-7,17 \pm 0,29^b$
MS 50	Rocío de miel	$-4,10 \pm 0,96^B$
	Reticulado	$-3,97 \pm 0,84^c$
MS 100	Rocío de miel	$-8,17 \pm 0,29^A$
	Reticulado	$-6,83 \pm 0,29^b$
MR 0	Rocío de miel	$-8,50 \pm 0,50^A$
	Reticulado	$-9,17 \pm 0,76^a$
MR 10	Rocío de miel	$-7,93 \pm 0,12^A$
	Reticulado	$-7,73 \pm 0,25^{ab}$
MR 50	Rocío de miel	$-4,10 \pm 0,96^B$
	Reticulado	$-4,37 \pm 0,40^c$
MR 100	Rocío de miel	$-8,17 \pm 0,29^A$
	Reticulado	$-6,53 \pm 0,50^b$

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$; MS 0, 10, 50, 100: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y $100 \mu\text{M}$ respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$; MR 0, 10, 50, 100: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y $100 \mu\text{M}$ respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$]. Media \pm desvío estándar. Letras diferentes (mayúsculas para Rocío de miel y minúsculas para Reticulado) en una misma columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

Todos los parámetros bioquímicos evaluados, como la concentración de clorofila, lixiviación de electrolitos, malondialdehído, peroxidasa y catalasa, resultaron afectados

por el estrés salino (Fig. 8). La aplicación de melatonina permitió mejorar la respuesta bioquímica de las plantas en tales condiciones adversas. La concentración de 50 μM resultó ser la más ventajosa en tales condiciones (Fig. 9 y 10).

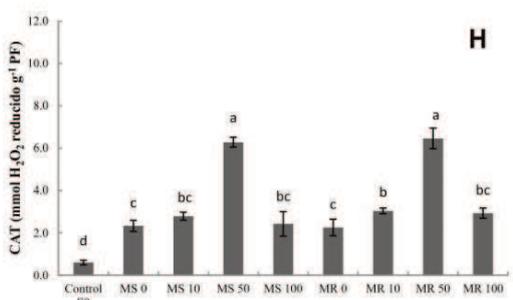
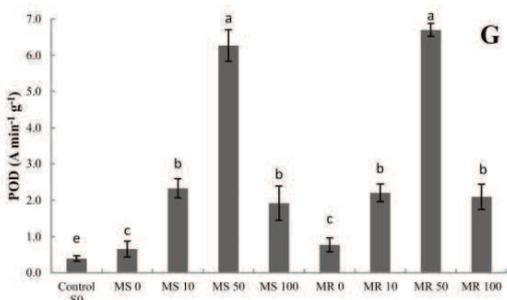
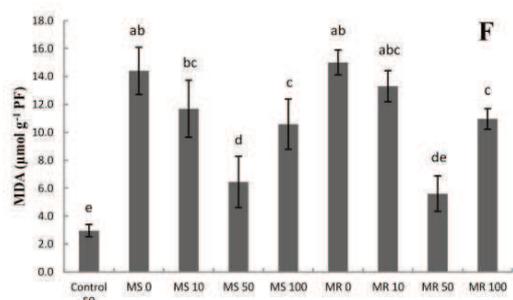
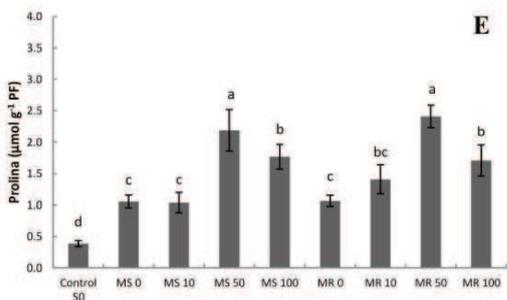
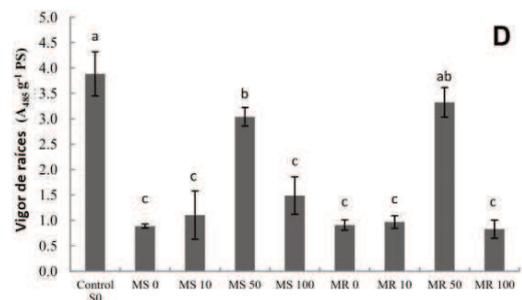
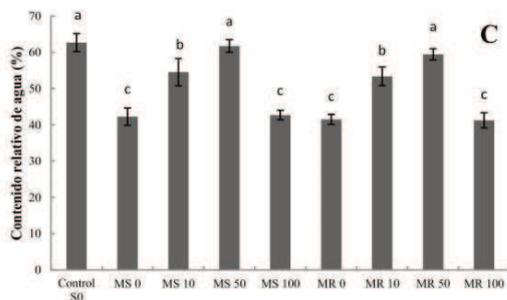
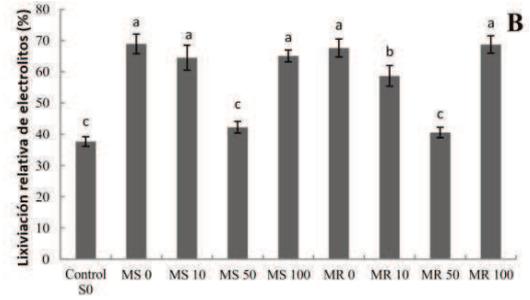
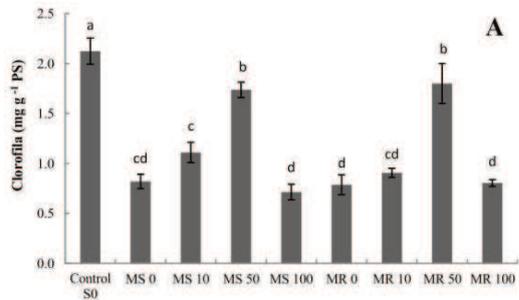


Figura 9 página anterior. Efecto de la melatonina exógena en la concentración de clorofila (A), lixiviación relativa de electrolitos (B), contenido relativo de agua, CRA (C), vigor de raíces (D), contenido de prolina (E), malondialdehído, MDA (F), actividad peroxidasa, POD (G) y actividad catalasa, CAT (H) en plantas de melón variedad Rocío de Miel. [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; MS 0, 10, 50, 100: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; MR 0, 10, 50, 100: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

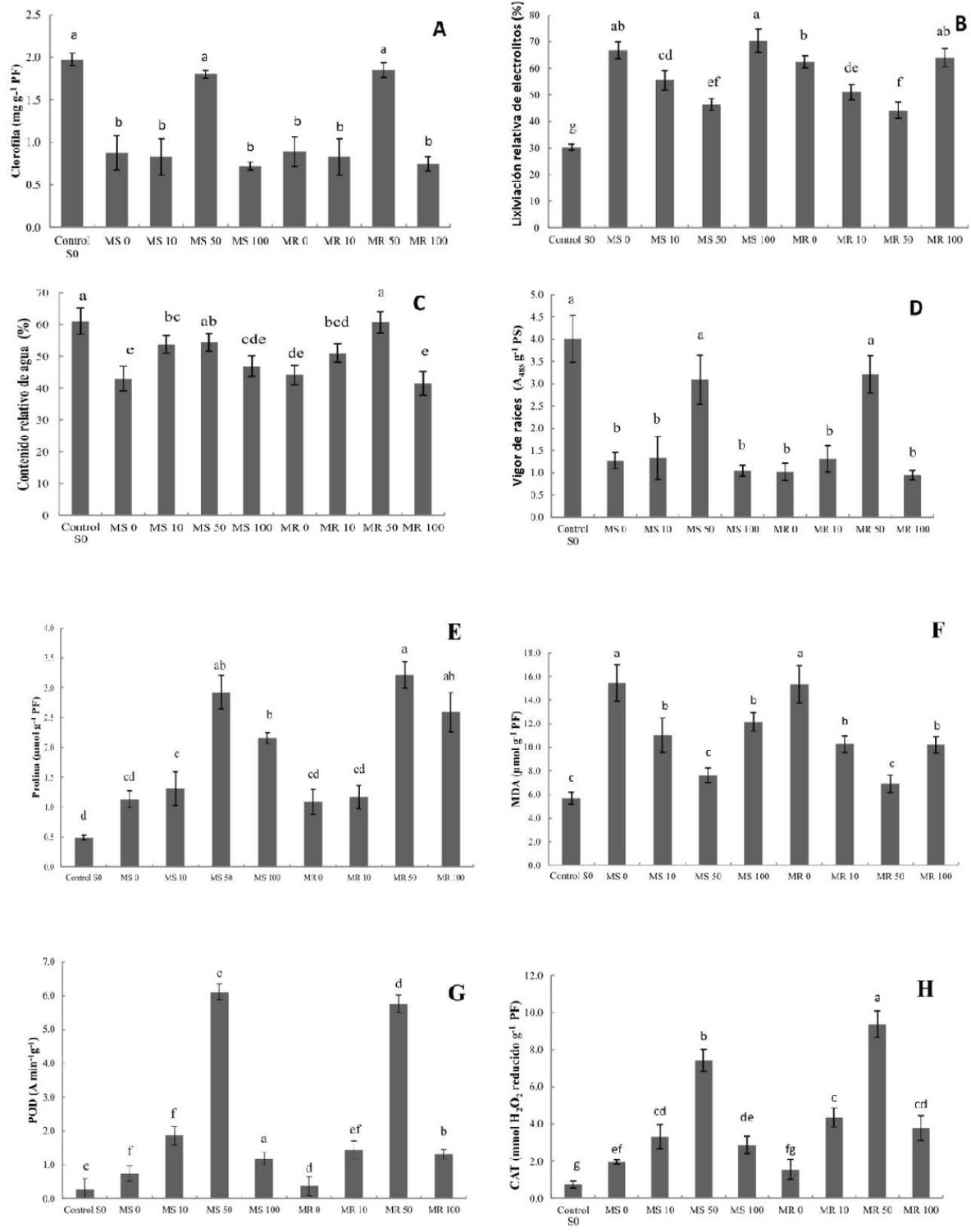


Figura 10 página anterior. Efecto de la melatonina exógena en el contenido de clorofila (A), lixiviación relativa de electrolitos (B), contenido relativo de agua, CRA (C), vigor de raíces (D), contenido de prolina (E), malondialdehído, MDA (F), actividad peroxidasa, POD (G) y actividad catalasa, CAT (H) en plantas de melón variedad Reticulado. [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$; MS 0, 10, 50, 100: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y $100 \text{ }\mu\text{M}$ respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$; MR 0, 10, 50, 100: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y $100 \text{ }\mu\text{M}$ respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

El contenido total de clorofila resultó afectado por el estrés salino, ya que representó una disminución superior al 60% en ambos genotipos (Fig. 9 A y 10 A). Sin embargo, la melatonina exógena en una concentración $50 \text{ }\mu\text{M}$, tanto aplicada en las semillas como en el riego, permitió revertir este efecto negativo.

El estrés salino (MS0 y MR0) duplicó la lixiviación de electrolitos en comparación al tratamiento control sin estrés (S0) (Fig. 9 B y 10 B). Pero en aquellas plantas que fueron tratadas con melatonina con una concentración de $50 \text{ }\mu\text{M}$, se observó una atenuación en este parámetro. Además, y en correspondencia con la menor lixiviación de electrolitos, en este mismo tratamiento con melatonina de $50 \text{ }\mu\text{M}$ se midió un valor de MDA comparable a la situación de las plantas que crecieron sin estrés salino (S0) (Fig. 9 F y 10 F).

La evaluación de estado hídrico de las plantas, a través del contenido relativo de agua (CRA) reveló una reducción en las condiciones de estrés del experimento. Al igual que lo observado en las anteriores variables, también aquí este efecto pudo revertirse parcialmente con el tratamiento de melatonina $50 \text{ }\mu\text{M}$ (Fig. 9 C y 10 C).

El vigor de raíces, estimado mediante la tinción con TTC, experimentó una reducción como consecuencia del estrés (Fig. 9 D y 10 D). La mejor respuesta fue obtenida con la concentración $50 \text{ }\mu\text{M}$. En melón Reticulado no se observaron diferencias significativas con el tratamiento sin estrés (Control S0) (Fig. 10 D).

El nivel de prolina aumentó en respuesta al estrés salino en melón Rocío de miel (Fig. 9 E), pero en melón reticulado no se registró un aumento significativo (Fig. 10 E). En condiciones de salinidad, se observó que el suministro de melatonina incrementó la concentración de prolina, siendo el tratamiento con 50 μM con el que se obtuvo el mayor nivel de prolina. En ambos genotipos, aunque los niveles en S0 fueron algo diferentes (un poco superior en Reticulado), los valores en MS0 y MR0 resultaron muy similares. Las concentraciones obtenidas en los tratamientos MS50 y MR50 resultaron mayores en Reticulado en comparación con Rocío de Miel. Es decir que, en Reticulado, el efecto de la melatonina (con 50 μM) fue mayor.

Se registró un aumento en la actividad peroxidasa (POD) (Fig. 9 G y 10 G) y catalasa (CAT) (Fig. 9 H y 10 H) en plantas tratadas. Al igual que en los demás parámetros, la mayor actividad fue medida con una concentración de melatonina de 50 μM , en particular para POD donde las diferencias fueron muy marcadas.

La salinidad causó un significativo aumento en la concentración de Na^+ respecto de concentración de K^+ (relación Na^+/K^+). Este aumento fue, en promedio, de 183 y 304% en Rocío de Miel y Reticulado respectivamente (Tabla 4). Al mismo tiempo, las plantas estresadas tuvieron una mayor liberación de K^+ por las raíces (aumento en promedio de 535 y 1092% en Rocío de Miel y Reticulado respectivamente). Las plantas tratadas con melatonina 50 μM fueron las que registraron la más baja relación Na^+/K^+ y la menor liberación de K^+ , aunque no alcanzaron valores tan bajos como el tratamiento sin estrés (Control S0).

Tabla 4. Efecto de la melatonina exógena en la relación Na⁺/K⁺ en partes verdes y liberación de K⁺ por las raíces

Tratamiento	Variedad	Relación Na ⁺ /K ⁺	Liberación de K ⁺ (mmol g ⁻¹ PS)
Control S0	Rocío de miel	0,036 ± 0,008 ^F	6,06 ± 1,65 ^D
	Reticulado	0,022 ± 0,006 ^e	3,06 ± 0,13 ^e
MS 0	Rocío de miel	0,093±0,004 ^{AB}	38,50 ± 0,71 ^B
	Reticulado	0,082 ± 0,008 ^{ab}	37,58 ± 0,60 ^{bc}
MS 10	Rocío de miel	0,066 ± 0,006 ^{CDE}	41,15 ± 1,20 ^{AB}
	Reticulado	0,048 ± 0,004 ^{cd}	36,50 ± 0,71 ^{bc}
MS 50	Rocío de miel	0,055 ± 0,006 ^{DEF}	22,65 ± 1,91 ^C
	Reticulado	0,040 ± 0,002 ^{de}	17,67 ± 2,52 ^d
MS 100	Rocío de miel	0,074 ± 0,002 ^{BCD}	47,10 ± 1,56 ^A
	Reticulado	0,079 ± 0,008 ^{ab}	47,00 ± 4,24 ^{ab}
MR 0	Rocío de miel	0,105 ± 0,007 ^A	38,90 ± 1,56 ^B
	Reticulado	0,096 ± 0,006 ^a	35,40 ± 1,84 ^{bc}
MR 10	Rocío de miel	0,075 ± 0,007 ^{BCD}	42,90 ± 2,97 ^{AB}
	Reticulado	0,044 ± 0,001 ^d	32,56 ± 0,62 ^c
MR 50	Rocío de miel	0,042 ± 0,004 ^{EF}	19,80 ± 1,70 ^C
	Reticulado	0,033 ± 0,006 ^{de}	12,33 ± 2,52 ^d
MR 100	Rocío de miel	0,086 ± 0,008 ^{ABC}	44,00 ± 1,41 ^{AB}
	Reticulado	0,067 ± 0,007 ^{bc}	43,10 ± 1,27 ^{ab}

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; MS 0, 10, 50, 100: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; MR 0, 10, 50, 100: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0, 10, 50 y 100 µM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Media ± desvío estándar. Letras diferentes (mayúsculas para Rocío de miel y minúsculas para Reticulado) en una misma columna indican una diferencia significativa (p ≤ 0,05) según la prueba de Tukey.

Mediante el estudio anatómico de las hojas (Tabla 5, Fig. 11 A y B) y los tallos (Tabla 6, Fig. 11 C y D) no se observaron diferencias entre los tratamientos al comparar las dimensiones de la epidermis y del mesófilo de las hojas. Estos resultados incluso no difirieron entre las plantas con salinidad (MS0 y MR0) y las que crecieron sin estrés salino (Control S0), como así tampoco en aquellas plantas a las que se suministró melatonina.

Tabla 5: Análisis estructural de secciones de hojas de plántulas de melón de 20 días tratadas con melatonina

Tratamiento	Variedad	Ancho del mesófilo (μm)	Espesor de epidermis abaxial (μm)	Espesor de epidermis adaxial (μm)
Control S0	Rocío de miel	213,42 \pm 10,13 ^A	30,87 \pm 4,55 ^A	52,12 \pm 10,14 ^A
	Reticulado	206,51 \pm 7,61 ^a	44,38 \pm 3,60 ^a	48,11 \pm 9,27 ^a
MS 0	Rocío de miel	225,57 \pm 18,20 ^A	31,11 \pm 7,13 ^A	48,80 \pm 6,74 ^A
	Reticulado	216,03 \pm 15,03 ^a	42,12 \pm 1,55 ^a	52,84 \pm 4,91 ^a
MS 50	Rocío de miel	230,11 \pm 21,21 ^A	50,17 \pm 7,80 ^A	49,00 \pm 10,10 ^A
	Reticulado	234,62 \pm 26,55 ^a	45,79 \pm 6,78 ^a	42,17 \pm 3,40 ^{ab}
MR 0	Rocío de miel	227,14 \pm 18,33 ^A	31,18 \pm 5,01 ^A	49,6 \pm 6,41 ^A
	Reticulado	209,21 \pm 15,35 ^a	40,10 \pm 12,13 ^a	48,32 \pm 5,25 ^a
MR 50	Rocío de miel	284, 11 \pm 20,17 ^A	47,76 \pm 10,37 ^A	52,77 \pm 8,80 ^A
	Reticulado	244,95 \pm 21,80 ^a	45,08 \pm 8,74 ^a	49,64 \pm 7,95 ^a

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; MS 0, y 50: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0 y 50 μM respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; MR 0, y 50: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0 y 50 μM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Media \pm desvío estándar. Letras diferentes (mayúsculas para Rocío de miel y minúsculas para Reticulado) en una misma columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

Tabla 6: Análisis estructural de secciones de tallos de plántulas de melón de 20 días tratadas con melatonina

Tratamiento	Variedad	Ancho del corteza (μm)	Diámetro de vasos (μm)
Control S0	Rocío de miel	96,71 \pm 20,33 ^A	52,12 \pm 10,14 ^A
	Reticulado	103,11 \pm 24,21 ^a	52,61 \pm 5,89 ^a
MS 0	Rocío de miel	115,50 \pm 17,33 ^A	48,80 \pm 6,74 ^A
	Reticulado	91,10 \pm 13,73 ^a	47,03 \pm 5,76 ^a
MS 50	Rocío de miel	98,75 \pm 9,16 ^A	49,00 \pm 10,10 ^A
	Reticulado	95,57 \pm 13,22 ^a	51,62 \pm 9,88 ^a
MR 0	Rocío de miel	96,54 \pm 11,31 ^A	50,6 \pm 6,41 ^A
	Reticulado	99,25 \pm 17,23 ^a	51,13 \pm 10,12 ^a
MR 50	Rocío de miel	104,42 \pm 10,16 ^A	52,77 \pm 8,80 ^A
	Reticulado	105,77 \pm 21,74 ^a	50,55 \pm 2,99 ^a

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; MS 0, y 50: plantas provenientes de semillas pretratadas con melatonina en concentraciones de 0 y 50 μM respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; MR 0, y 50: plantas regadas con melatonina en concentraciones de 0 y 50 μM respectivamente y luego regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Media \pm desvío estándar. Letras diferentes (mayúsculas para Rocío de miel y minúsculas para Reticulado) en una misma columna indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

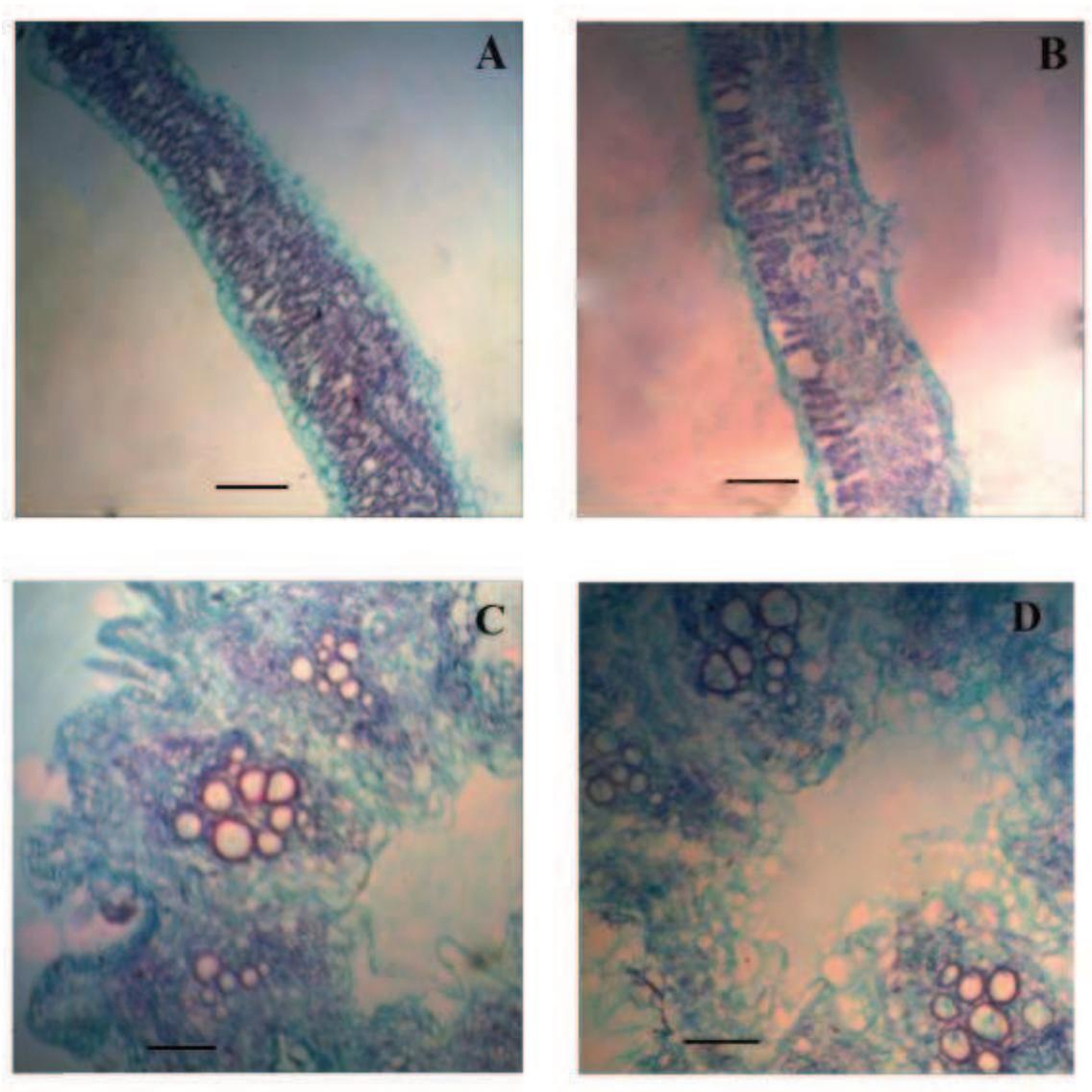


Figura 11: Sección transversal de hojas de melón del tratamiento Control S0 variedad Rocío de Miel (A) y Reticulado (B) y tallos variedad Rocío de Miel (C) y Reticulado (D). Barras: 100 μm .

La acción inhibitoria de la salinidad sobre la germinación fue parcialmente superada mediante la imbibición durante 6 h con soluciones de melatonina de 10 y 50 μM . Una concentración más elevada (100 μM) no permitió revertir este efecto, e incluso tuvo un efecto negativo, ya que resultó en un porcentual de germinación menor que el tratamiento sin melatonina (Fig. 6). Esto último puede explicarse por un efecto de toxicidad para las semillas (Posmyk *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014). Posmyk *et al.* (2008) también observaron una respuesta dependiente de la concentración, en semillas de col (*Brassica oleracea* L.) sometidas a niveles tóxicos de cobre.

El efecto del tratamiento de semillas previo a la siembra con melatonina fue estudiado en especies como maíz (*Zea mays* L.) (Jiang *et al.*, 2016), pepino (*Cucumis sativus* L.) (Zhang *et al.*, 2014) y soja (*Glycine max* L.) (Wei *et al.*, 2015) y esta respuesta positiva, en condiciones de estrés ambiental, fue también observada. Zhang *et al.* (2017), estudiando el efecto de melatonina en la germinación de pepino en estés salino, detectaron la activación de numerosas enzimas asociadas con la tolerancia a la salinidad, tales como enzimas antioxidantes.

La salinidad afectó el crecimiento, como puede observarse en la tablas 1 y 2. Además, estos resultados están acordes a lo reportado por Ibrarullah *et al.* (2019) y Hniličková *et al.* (2019), quienes evaluaron la reducción del crecimiento en diferentes cultivares de melón siendo regadas con soluciones de NaCl.

La melatonina exógena mejoró la aclimatación a la salinidad. Tal como se describió anteriormente, la mejor respuesta registrada correspondió a la concentración de 50 μM , tanto para el pretratamiento de semillas como para la aplicación con riego. Esto estaría indicando que el incremento de la concentración de 10 a 50 μM permite que los efectos benéficos se prolonguen por un período mayor (Liu *et al.*, 2015). En maíz (*Zea mays* L.), Erdal (2019) comprobó que la pulverización con soluciones de melatonina mejoraba el crecimiento de las plantas al mantener la coordinación entre la expresión génica y la actividad de enzimas claves involucradas en el metabolismo del carbono y nitrógeno.

Por otro lado, la reducción del crecimiento registrada en una concentración mayor (100 μM) puede ser explicada por el hecho que la melatonina tiene el mismo precursor y muchas funciones análogas al ácido indol acético (AIA) (Bose y Howlader, 2020). Esta fitohormona promueve el crecimiento en concentraciones relativamente bajas, y resulta inhibitoria a concentraciones mayores (Arnao y Hernández-Ruiz, 2014). Esto concuerda con lo reportado por Chen *et al.* (2009), quienes registraron una mayor emisión de raíces en plantas de mostaza de la India (*Brassica Juncea* L.) luego de la aplicación de 0,1 μM de melatonina y un efecto inhibitorio con 100 μM .

El potencial hídrico del xilema (Ψ_x) indica la tensión de agua en los vasos conductores de la planta y está estrechamente relacionado con el grado de estrés en que se encuentra (Selles y Ferreyra, 2005). El descenso del Ψ_x observado en plantas creciendo en elevada salinidad (Tabla 3) confirma el efecto de la salinidad sobre el estado hídrico de las plantas, produciendo una reducción de la disponibilidad del agua (Shabala y Munns, 2017). La menor reducción del Ψ_x en plantas tratadas con melatonina (Tabla 3), permite suponer la presencia de mecanismos de ajuste osmótico que posibilitaron cierta continuidad en la absorción de agua.

La reducción del contenido de clorofila en plantas sometidas a estrés salino (Fig. 9 A y 10 A) puede asociarse con la presencia de un nivel tóxico de iones, que causan la deshidratación de las células del mesófilo, inhiben muchas enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos y algunos pasos de la síntesis de clorofila (Shabala y Munns, 2017). Dado que la clorofila es el pigmento más importante para la captura de energía lumínica (Nobel, 2020), una reducción de este llevará al descenso de la fotosíntesis. Este efecto de la salinidad en el contenido de clorofila fue reportado en melón (Sarabi *et al.*, 2017; Yarsi *et al.*, 2017).

Los resultados obtenidos indicaron que la melatonina exógena, en una concentración de 50 μM permitió reducir la degradación de la clorofila. Similares resultados fueron obtenidos en arroz (*Oryza sativa* L.) (Han *et al.*, 2017; Jiang *et al.*, 2016). Este efecto ha sido asociado a las propiedades antioxidantes de la melatonina y su acción sobre los genes asociados a las enzimas que degradan la clorofila, tales como CLH (clorofilasa), PAO (pheophorbide *a* oxygenasa) y clorofila roja catabolito reductasa (Arnao y Hernández Ruiz, 2009; Wang *et al.*, 2016).

El daño de membrana es uno de los primeros eventos que ocurren en plantas estresadas y el mantenimiento de la integridad y estabilidad de ellas está estrechamente vinculado a la tolerancia al estrés (Bajji *et al.*, 2002; Hasanuzzaman *et al.*, 2014). Esta pérdida de integridad está asociada a la oxidación lipídica causada por las especies reactivas al oxígeno (ROS), actuando en los lípidos de membrana (Gill y

Tuteja, 2010). La estimación de la pérdida de electrolitos es considerada un buen indicador de la pérdida de estabilidad de membrana (Demidchik *et al.*, 2014). El incremento de la lixiviación relativa de electrolitos registrada en las plantas que crecieron en condiciones de salinidad (Fig. 9 B y 10 B) evidencia el daño de membrana producido en tales condiciones (Hniličková *et al.*, 2019). Este aumento de la lixiviación de electrolitos en plantas de melón en salinidad fue también observado por Ekincialp (2019).

El incremento del nivel de MDA en las condiciones del experimento confirma el daño de membrana estimado con la medición de la lixiviación de electrolitos (Fig. 9 F y 10 F). La melatonina exógena permitió reducir la producción de MDA y como consecuencia reducir el daño de membrana, lo que puede relacionarse con la inducción de la respuesta antioxidativa. Esto concuerda con lo observado en trigo (*Triticum aestivum* L.) (Cui *et al.*, 2017) y maíz (*Zea mays* L.) (Fleta-Soriano *et al.*, 2017; Ye *et al.*, 2016). Dado que la reducción en el nivel de MDA y lixiviación de electrolitos reflejan un menor daño oxidativo (Ding *et al.*, 2017), puede deducirse una reducción de las ROS.

El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) es el más destructivo de todos las ROS (Ashraf, 2009) y ha sido muy estudiado a causa de su relativa estabilidad (Mhamd *et al.*, 2010). Es considerado como el causante de más del 50% de reducción de la fotosíntesis en plantas (Hasanuzzaman *et al.*, 2013; Kaiser, 1979), lo que fue observado en los experimentos realizados (Fig. 8 A y 9 A). Las enzimas antioxidantes, particularmente las peroxidasas (POD) y catalasas (CAT), son muy eficientes degradando el H₂O₂ (Li *et al.*, 2014). La POD ha sido propuesta como indicadora del grado de estrés en que se encuentran las plantas, tales como estrés hídrico, salino y niveles tóxicos de Al, Cu, Cd y Zn (Salah *et al.*, 2015). A partir de los resultados de los experimentos es posible observar una relación entre la lixiviación de electrolitos (Fig. 9 B y 10 B), el nivel de MDA (Fig. 9 F y 10 F) y la actividad POD (Fig. 9 G y 10 G) y CAT (Fig. 9 H y 10 H), lo que confirma la importancia de las enzimas antioxidantes en la mantención de la estructura de las membranas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Wu *et al.* (2019), quienes aplicaron foliarmente melatonina y Ca²⁺ a plantas de melón creciendo en salinidad y midieron un aumento de la actividad de enzimas antioxidantes con el consecuente mejor crecimiento en situaciones de estrés salino. Sin embargo, para estos investigadores, la dosis de 100 µM fue la que reportó la mejor

respuesta de aclimatación, en comparación con las dosis de 10 y 50 μM . Zhang *et al.* (2017a, b) también observaron una mayor actividad de enzimas antioxidantes en plantas de melón tratadas con melatonina y cultivadas a temperaturas subóptimas. Lo anterior coincide además con reportes previos que sugieren que el efecto de la aplicación de melatonina en la reducción del daño oxidativo causado por ROS se debe fundamentalmente al incremento de la actividad de enzimas antioxidantes (Han *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2015) y la neutralización directa de H_2O_2 (Li *et al.*, 2014).

En las plantas, la reducción del contenido relativo de agua (CRA) representa una pérdida de turgencia con una limitada disponibilidad de agua para la expansión celular. La variación en el CRA entre plantas creciendo en condiciones de salinidad se relaciona a la diferente capacidad de absorber agua o la capacidad de los estomas de reducir la pérdida de agua (Keyvan, 2010). En los experimentos realizados se registró un descenso del CRA causado por la salinidad (Fig. 9 C y 10 C). Este fenómeno también fue reportado anteriormente (Kaya *et al.*, 2007). La mejora en el CRA como consecuencia de la aplicación de melatonina (Fig. 9 B y 10 B) está relacionado con la mejor capacidad de absorción de agua, tal como fue reportado por Jiang *et al.* (2016). Esto último puede relacionarse con los valores medidos de Ψ_x (Tabla 2).

El vigor de las raíces fue estimado de acuerdo con la reducción del trifenil tetrazolio cloruro (TTC), una molécula que detecta la actividad deshidrogenasa, que es una enzima presente en las células vivas (Chen, 2003). Las raíces son muy sensibles a los cambios de pH, salinidad, disponibilidad de oxígeno, elementos tóxicos y potencial hídrico en la rizósfera (Zhang *et al.*, 2015). Como se describió anteriormente, las plantas estresadas sufrieron una importante reducción en el vigor de raíces (Fig. 9 D y 10 D), mientras que la aplicación de melatonina en la concentración de 50 μM permitió incrementar la viabilidad. Esta mayor actividad radical detectada a través de la prueba de TTC, se tradujo favorablemente en el crecimiento de las plantas (Tablas 1 y 2). Además, esta condición permitió una mejora en la respuesta bioquímica, dado que las raíces también cumplen una importante función en el mantenimiento de la homeostasis rédox (Passaia *et al.*, 2014). Aunque el estudio de la melatonina en la fisiología vegetal es relativamente reciente, ya se establecieron relaciones entre su aplicación y el crecimiento de las raíces y la viabilidad en pepino (*Cucumis sativus* L.) (Zhang *et al.*, 2013), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) (Liu *et al.*, 2015) y arroz (*Oryza*

sativa L.) (Han *et al.*, 2017) en diferentes tipos de estrés abiótico.

En los experimentos, las plantas estresadas incrementaron el contenido de prolina (Fig. 9 E y 10 E), aunque dentro de ellas, las plantas que fueron tratadas con melatonina tuvieron un contenido aún mayor. Esto puede atribuirse a la reducción de la degradación de la prolina dado que la melatonina tiene capacidad antioxidante (Sarropoulou *et al.*, 2012), a lo que se le suma el aumento de la actividad de enzimas antioxidantes (Fig. 9 G y H, y 10 G y H) (Han *et al.*, 2017).

El mayor contenido de prolina, al tratarse de un osmolito con capacidad de regulación hídrica en las plantas (Khanna-Chopra *et al.*, 2019) y actividad antioxidante (Hayat *et al.*, 2012), representa, en condiciones de estrés salino, una mejor respuesta de aclimatación. Este incremento del contenido de prolina en plantas tratadas con melatonina fue reportado en plantas de *Vicia faba* creciendo en salinidad (Dawood y El-Awadi, 2015) y arroz (*Oryza sativa* L.) sometidas a estrés por frío (Han *et al.*, 2017).

Las investigaciones más recientes respecto de la salinidad y el Na⁺ en las plantas se han centrado en la relación Na⁺/K⁺ (Pavlović *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2017), dado que esta relación es más importante en el desempeño de las plantas en tales condiciones que el contenido absoluto de Na⁺ (Shabala y Cuin, 2008). El K⁺ es reconocido como un importante factor limitante del rendimiento y calidad de los cultivos, cuyas funciones incluyen mantenimiento de la turgencia celular, crecimiento, activación de numerosas enzimas, estabilización de la síntesis proteica, formación del potencial de membrana y mantenimiento del pH citosólico (Cakmak, 2005; Wu *et al.*, 2013).

Dada la similitud en el tamaño de las moléculas, existe una competencia entre el Na⁺ y el K⁺ (Deinlein *et al.*, 2014). Un elevado nivel de NaCl puede causar una reducción en el contenido interno de K⁺ (Shabala y Munns, 2017). La tolerancia a la salinidad en las plantas está estrechamente relacionada con la capacidad de mantener una adecuada relación Na⁺/K⁺ (Chen *et al.*, 2005). La salinidad causó un incremento en esta relación (Tabla 3). El aumento del nivel de Na⁺ en células de plantas de melón en salinidad fue medido por otros investigadores (Carvajal *et al.*, 1998; Kusvuran *et al.*, 2007a; Pinheiro *et al.*, 2019). Sin embargo, son escasos los estudios en los cuales se haga referencia a la relación Na⁺/K⁺. La aplicación de melatonina (50 µM) mantuvo esta relación relativamente baja, como en las plantas no estresadas (Control S0). Aunque no existen

reportes previos del efecto de la melatonina en la relación Na^+/K^+ , sí fue observada la relación entre los niveles de Na^+ y K^+ en respuesta a tratamientos para aliviar el estrés salino, tal como la y aplicación de prolina y sales potásicas (Kaya *et al.*, 2007).

Las plantas sometidas a un estrés salino experimentan una pérdida irreversible de K^+ , la que es particularmente importante en raíces. La misma puede relacionarse con la pérdida de la integridad de las membranas, reduciendo la capacidad de las plantas de retener el K^+ (Demidchik *et al.*, 2014). La determinación de la liberación de K^+ por las raíces ha sido propuesta como una rápida y confiable metodología para estudiar la tolerancia de las plantas a la salinidad (Chen *et al.*, 2005). La tabla 4 permite visualizar el incremento en la liberación de K^+ experimentado por plantas estresadas. Asimismo, resulta evidente que la melatonina redujo significativamente esta pérdida. Estos resultados son consistentes con la lixiviación relativa de electrolitos medida (Fig. 8 B y 9 B), lo cual puede explicarse con el efecto de la melatonina en el mantenimiento de las propiedades e integridad de las membranas (García *et al.*, 2014).

La ausencia de variaciones anatómicas en hojas y tallos de plantas tratadas (Tablas 5 y 6; Fig. 11) permite concluir que la mayor aclimatación a la salinidad en plantas debe ser debe fundamentalmente a procesos bioquímicos producidos en las plantas.

4.3 EFECTO DEL 'PRIMING' EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE MELÓN EN SALINIDAD

El 'priming' permitió revertir el efecto inhibitorio de la salinidad, comparado con las semillas sin tratamiento previo (Control S1). Se observó que si bien el 'priming' incrementó la germinación con ambas sales (NaCl y CaCl₂), el aumento de la duración del tratamiento de 2 a 4 días redujo el efecto favorable (Fig. 12).

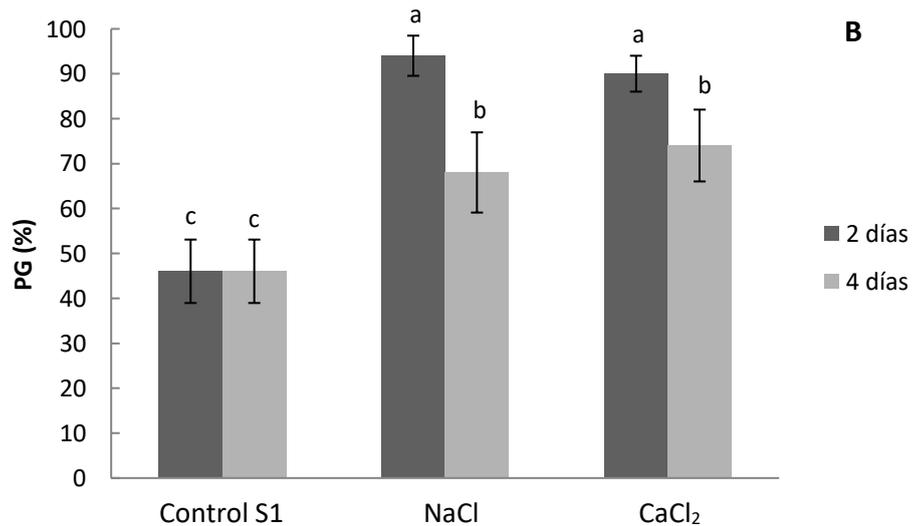
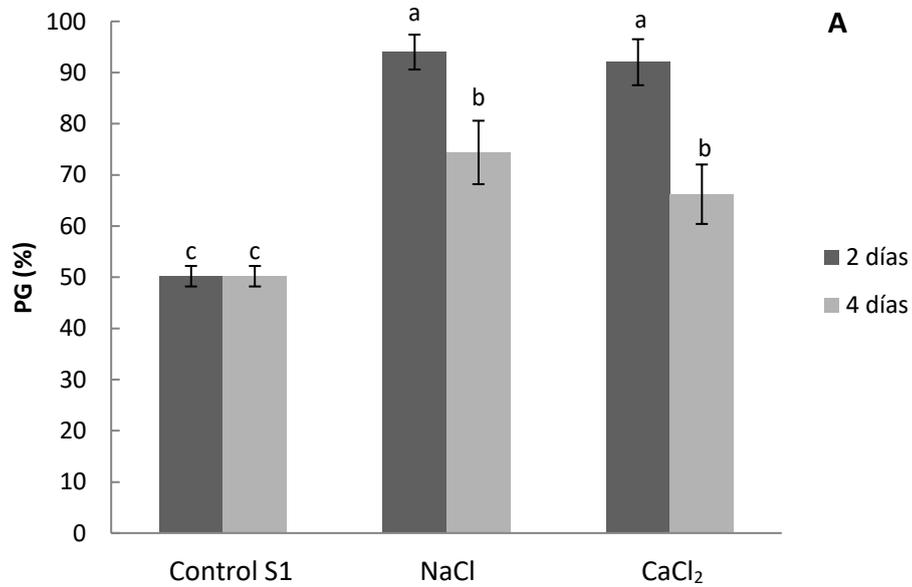


Figura 12 (página anterior): Efecto del 'priming' con NaCl y CaCl₂ durante 2 o 4 días sobre el porcentaje de germinación (PG) del melón variedad Rocío de miel (A) y Reticulado (B) a 14 dS m⁻¹. Las barras verticales representan ± D.E. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

Dado que la mejor germinación se obtuvo con NaCl y CaCl₂ con una duración de dos días, las siguientes determinaciones en plantas se realizaron con estos tratamientos. El efecto de estos tratamientos en los parámetros de crecimiento se halla representado en las Fig. 13 y 14. Para las variables analizadas, el 'priming' permitió mejorar el desempeño de las plantas en salinidad, con una diferenciación positiva respecto de las plantas sin tratamiento (Control S1).

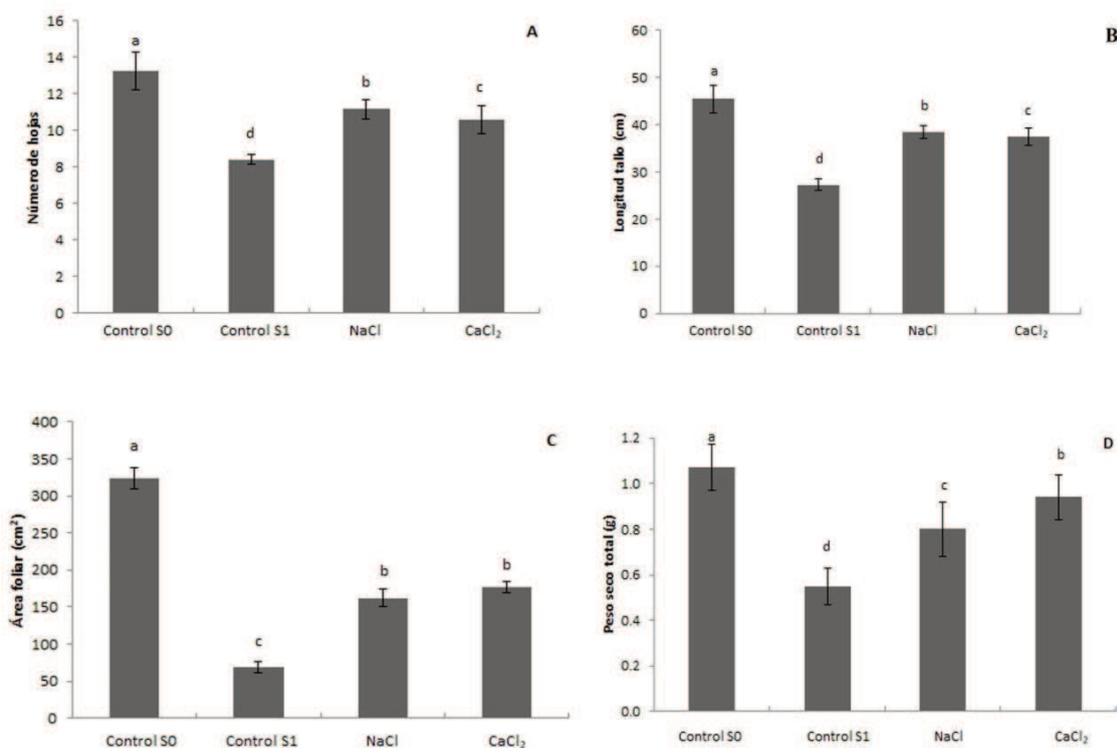


Figura 13. Efecto del 'priming' sobre diferentes parámetros de crecimiento de melón variedad Rocío de miel: número de hojas (A), longitud del tallo principal (B), área foliar (C) y peso seco total (D). [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; NaCl y CaCl₂: plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl₂ respectivamente y regadas con

solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

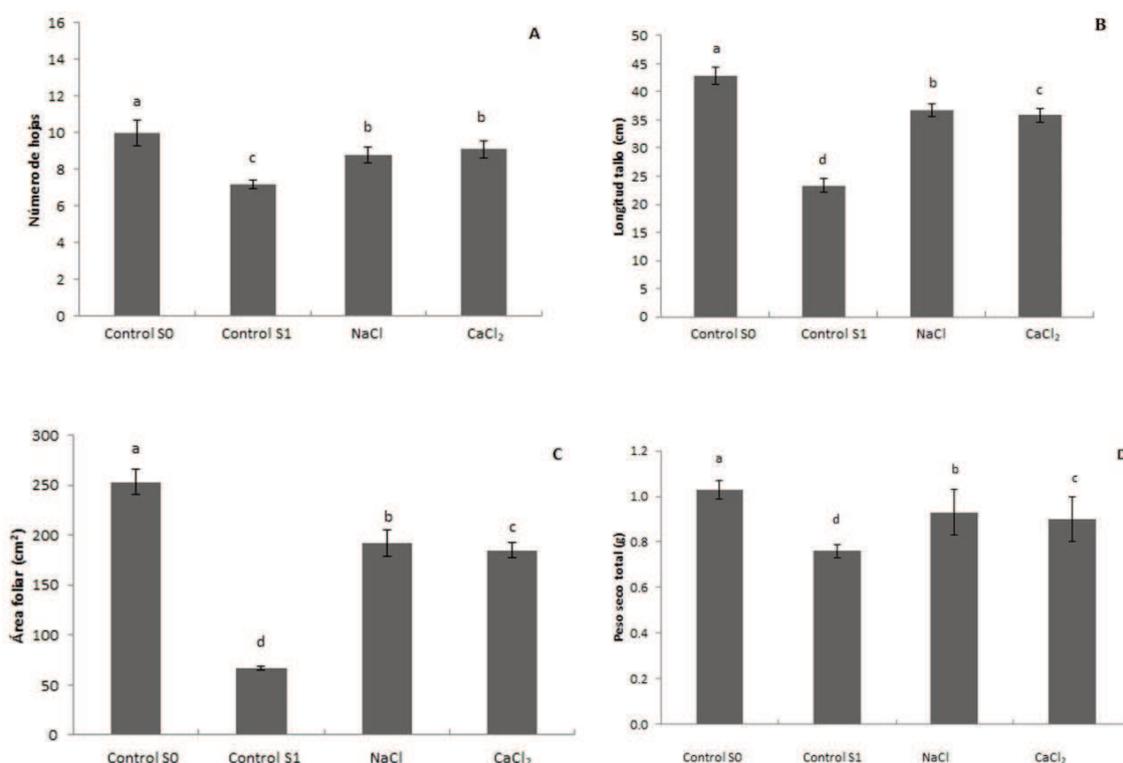


Figura 14. Efecto del 'priming' sobre diferentes parámetros de crecimiento de melón variedad Reticulado: número de hojas (A), longitud del tallo principal (B), área foliar (C) y peso seco total (D). [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; NaCl y CaCl₂: plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl₂ respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

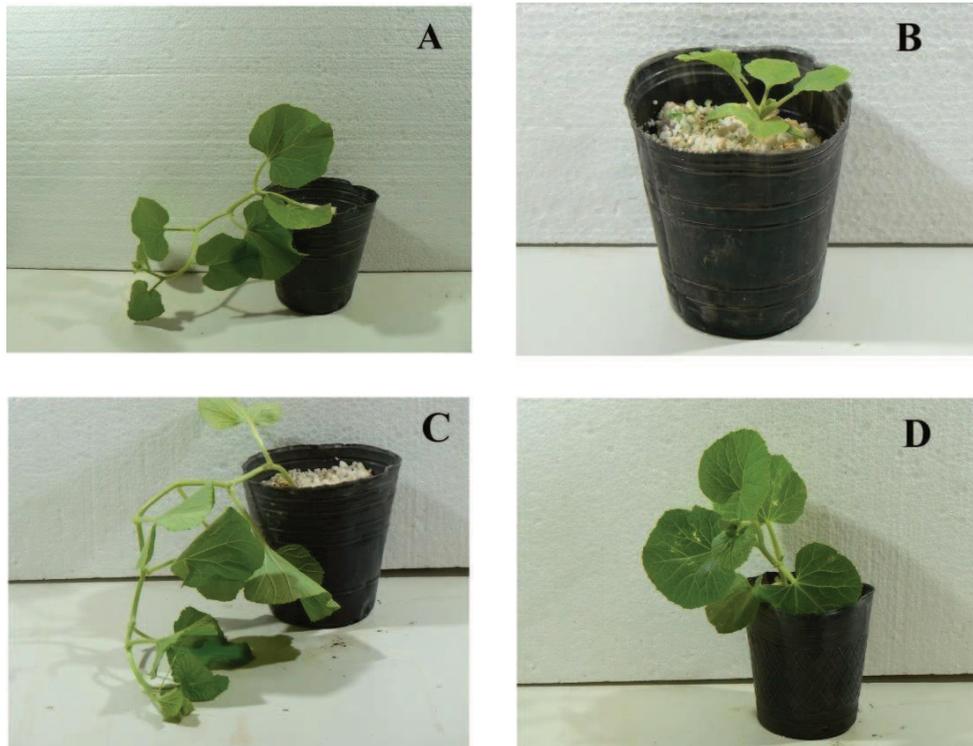


Figura 15. Plantas de melón de 20 días. A: Plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$; B: Plantas estresadas regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$; C y D: plantas provenientes de semillas sometidas a 'priming' con NaCl y CaCl_2 respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$.

El 'priming' permitió atenuar la reducción del potencial hídrico del xilema (Ψ_x). Al comparar ambas sales, el NaCl condujo a una menor reducción de este valor (Fig. 16).

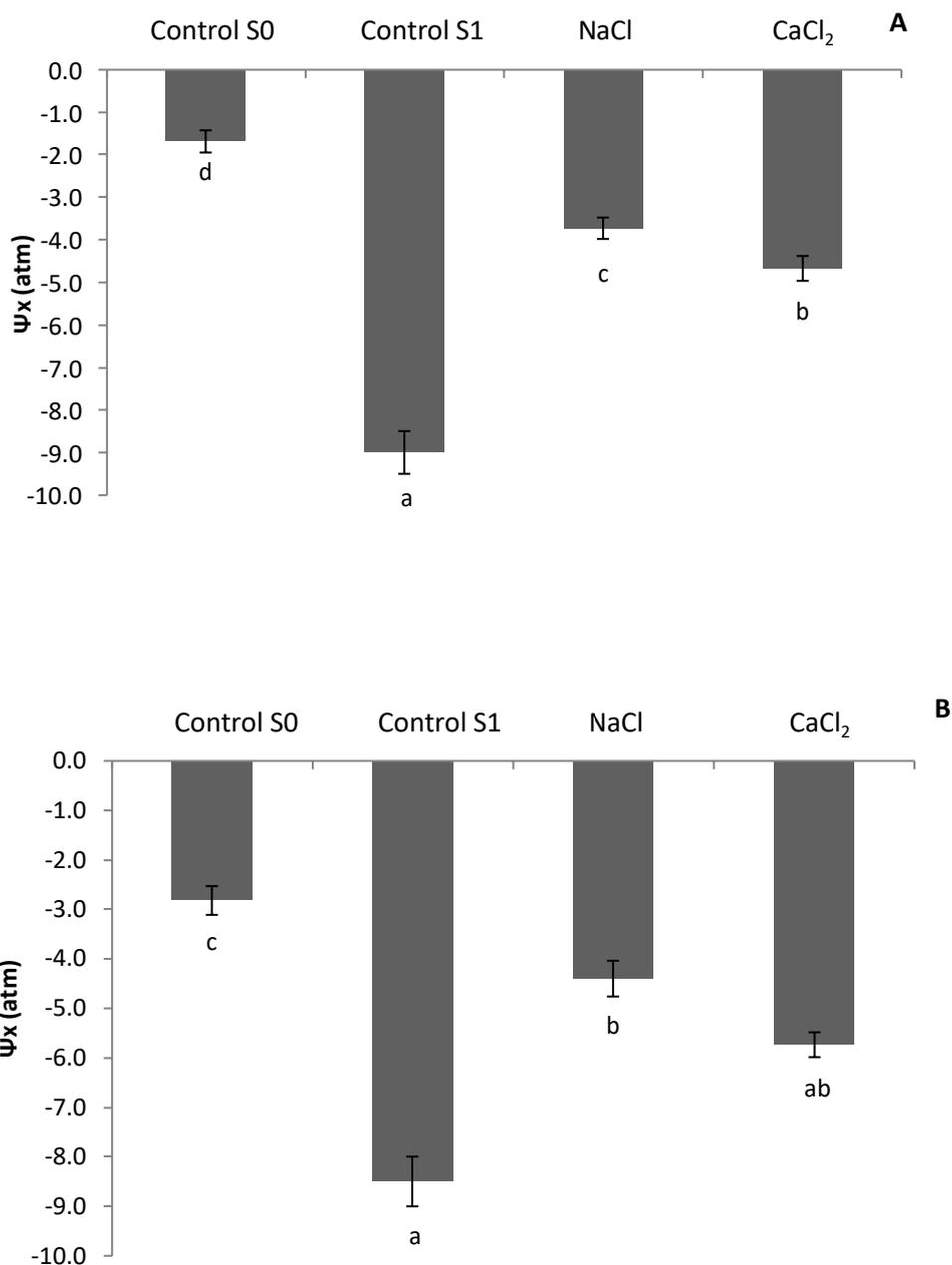


Figura 16. Efecto del 'priming' en el potencial hídrico del xilema (Ψ_x) de melón variedad Rocío de miel (A) y Reticulado (B). [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$; NaCl y CaCl_2 : plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl_2 respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

El análisis de los parámetros bioquímicos reportó una mejora en plantas provenientes de semillas sometidas al 'priming' (Fig.17 y 18).

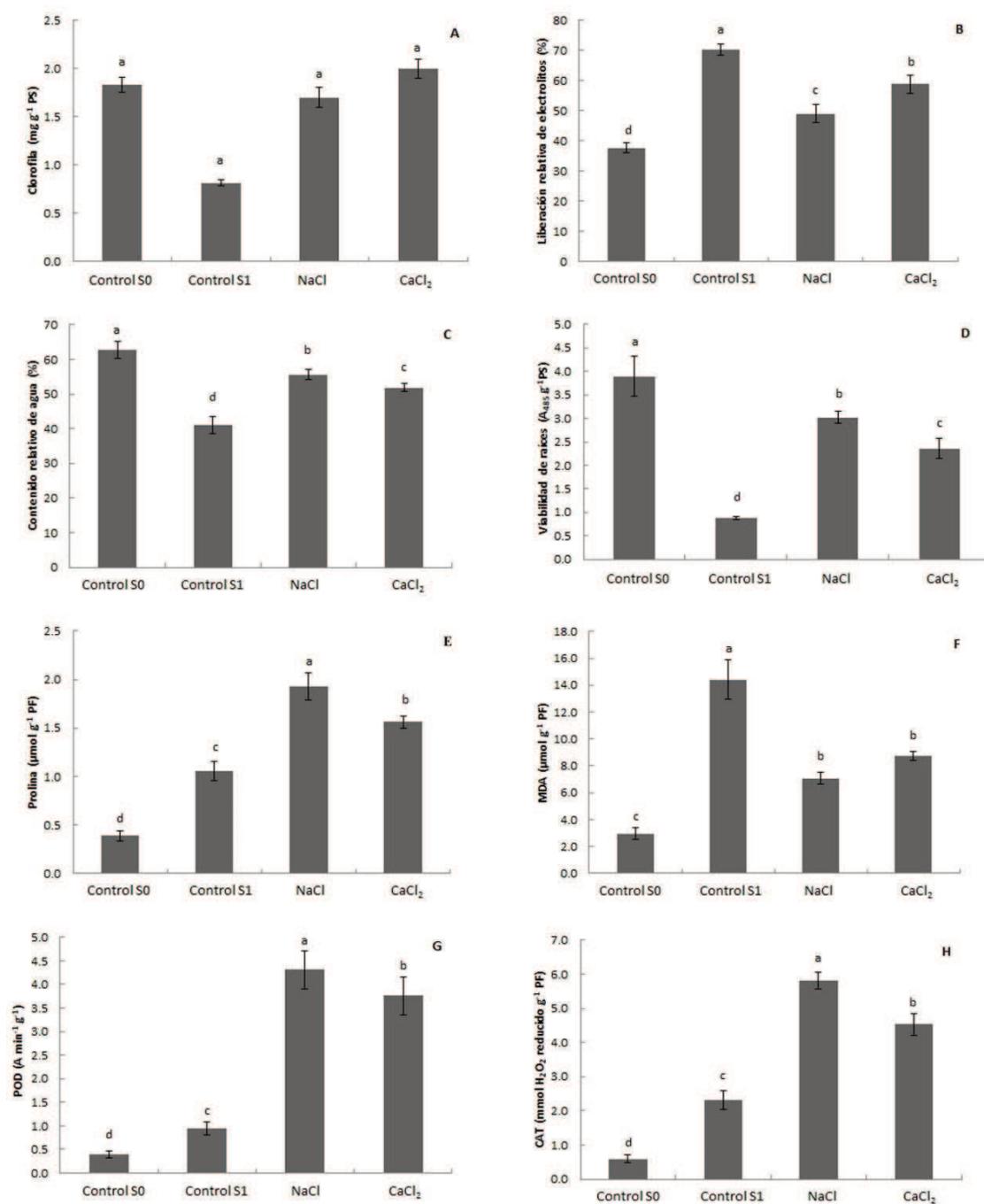


Figura 17 (página anterior): Efecto del 'priming' en el contenido de clorofila (A), Lixiviación relativa de electrolitos (B), contenido relativo de agua, CRA (C), vigor de raíces (D), contenido de prolina (E), malondialdehído, MDA (F), actividad peroxidasa, POD (G) y actividad catalasa, CAT (H) en plantas de melón variedad Rocío de miel. [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; NaCl y CaCl₂: plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl₂ respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

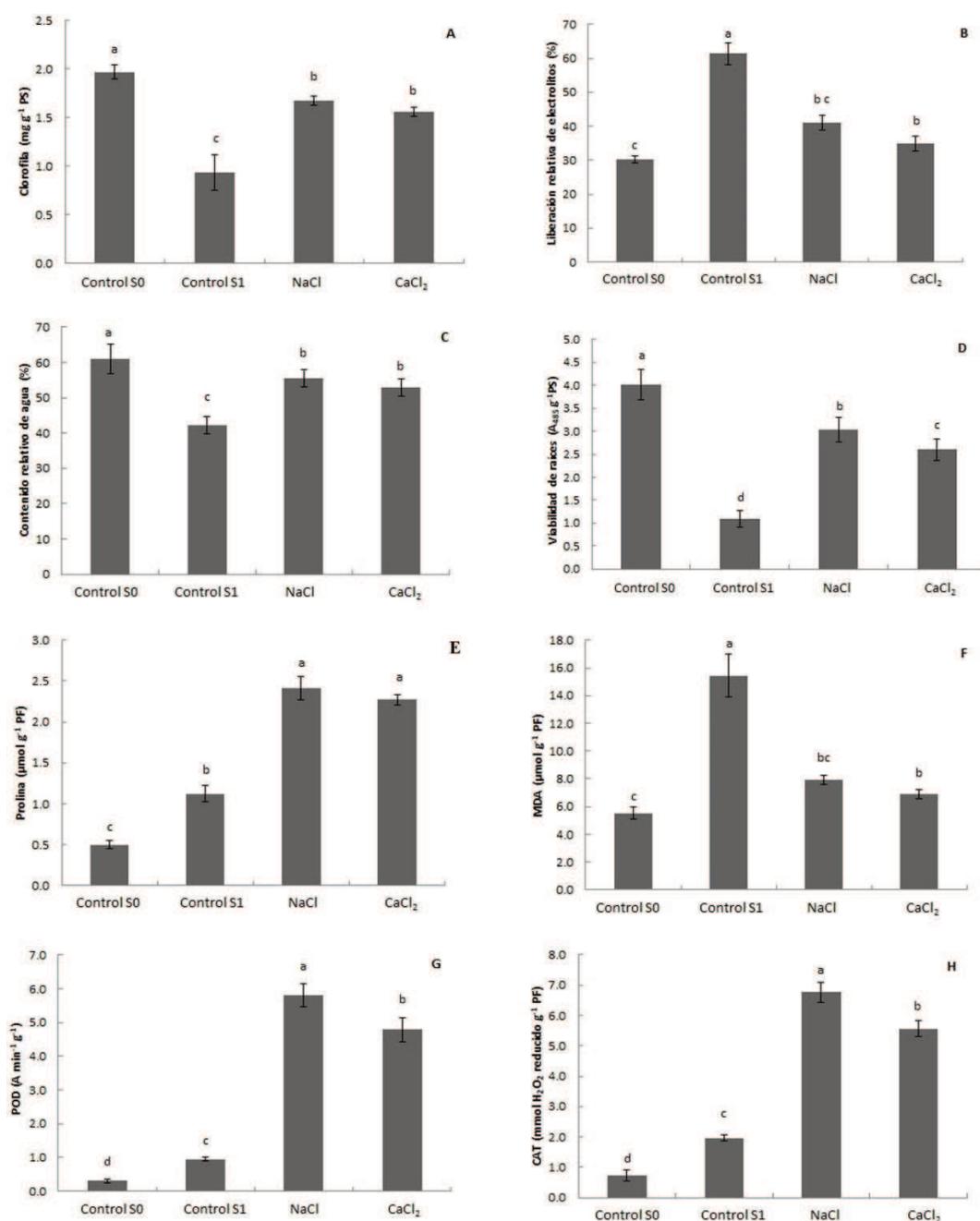


Figura 18 (página anterior): Efecto del 'priming' en el contenido de clorofila (A), Lixiviación relativa de electrolitos (B), contenido relativo de agua, CRA (C), vigor de raíces (D), contenido de prolina (E), malondialdehído, MDA (F), actividad peroxidasa, POD (G) y actividad catalasa, CAT (H) en plantas de melón variedad Reticulado. [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; NaCl y CaCl₂: plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl₂ respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

La relación Na⁺/K⁺ así como la liberación de K⁺ experimentaron una reducción en plantas derivadas del 'priming' (Fig. 19). No existieron diferencias significativas entre ambas sales.

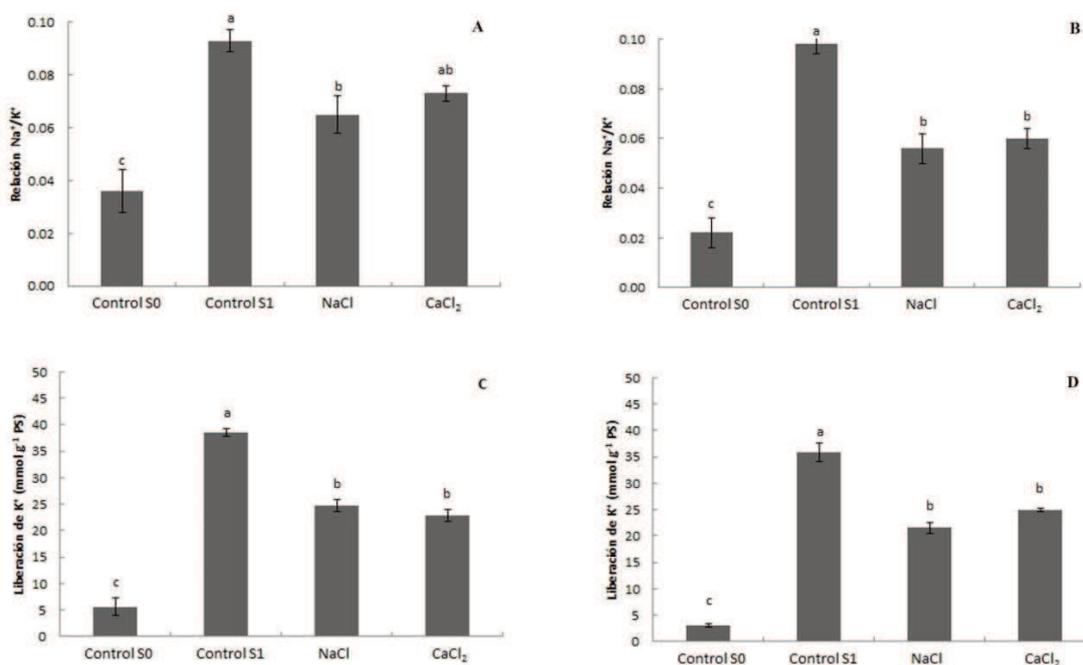


Figura 19 (página anterior). Efecto del 'priming' en la relación Na^+/K^+ en plantas de melón variedad Rocío de miel (A) y Reticulado (B), y la liberación de K^+ por las raíces en plantas de melón variedad Rocío de miel (C) y Reticulado (D). [Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$; NaCl y CaCl_2 : plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl_2 respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

No se observaron cambios anatómicos en hojas (Tabla 7) ni tallos (Tabla 8) en los tratamientos.

Tabla 7: Análisis estructural de secciones de hojas de plántulas de melón de 20 días derivadas de semillas sometidas al 'priming'.

Tratamiento	Variedad	Ancho	Espesor epidermis	
		mesófilo (μm)	abaxial (μm)	adaxial (μm)
Control S0	Rocío de miel	$219,07 \pm 8,12^A$	$31,59 \pm 1,53^A$	$52,38 \pm 1,32^A$
	Reticulado	$211,60 \pm 10,42^a$	$40,12 \pm 3,60^a$	$47,31 \pm 8,73^a$
Control S1	Rocío de miel	$216,80 \pm 8,76^A$	$28,51 \pm 8,51^A$	$49,63 \pm 1,28^A$
	Reticulado	$203,44 \pm 11,12^a$	$38,23 \pm 11,15^a$	$47,32 \pm 7,64^a$
NaCl	Rocío de miel	$208,24 \pm 9,74^A$	$31,73 \pm 1,93^A$	$50,14 \pm 10,93^A$
	Reticulado	$214,32 \pm 18,32^a$	$37,67 \pm 8,87^a$	$48,15 \pm 9,71^{ab}$
CaCl_2	Rocío de miel	$210,03 \pm 13,97^A$	$32,18 \pm 1,70^A$	$49,84 \pm 1,12^A$
	Reticulado	$209,67 \pm 18,78^a$	$35,18 \pm 10,14^a$	$49,88 \pm 9,11^a$

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $2,0 \text{ dS m}^{-1}$; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$; NaCl y CaCl_2 : plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl_2 respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de $8,0 \text{ dS m}^{-1}$]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

Tabla 8. Análisis estructural de secciones de tallos de plántulas de melón de 20 días tratadas con melatonina

Tratamiento	Variedad	Ancho del corteza (μm)	Diámetro de vasos (μm)
Control S0	Rocío de miel	97,22 \pm 12,87 ^A	55,20 \pm 8,76 ^A
	Reticulado	109,77 \pm 20,33 ^a	54,76 \pm 7,97 ^a
Control S1	Rocío de miel	100,87 \pm 11,21 ^A	49,65 \pm 7,77 ^A
	Reticulado	101,32 \pm 10,03 ^a	450,13 \pm 8,78 ^a
NaCl	Rocío de miel	97,73 \pm 7,65 ^A	49,14 \pm 10,16 ^A
	Reticulado	99,67 \pm 10,41 ^a	50,64 \pm 10,16 ^a
CaCl ₂	Rocío de miel	106,32 \pm 16,10 ^A	53,16 \pm 8,54 ^A
	Reticulado	108,75 \pm 11,33 ^a	51,13 \pm 7,86 ^a

[Control S0: plantas no estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 2,0 dS m⁻¹; Control S1: plantas estresadas, regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹; NaCl y CaCl₂: plantas provenientes de semillas sometidas a dos días de 'priming' con NaCl y CaCl₂ respectivamente y regadas con solución nutritiva con CE de 8,0 dS m⁻¹]. Letras diferentes indican una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) según la prueba de Tukey.

Las condiciones del 'priming' se basaron en las investigaciones realizadas por Nascimento (2003), quien estudió diferentes variantes en el tratamiento y su efecto en la germinación de melón a 17 y 25 °C. Al comparar distintas duraciones (3, 6, 9 y 12 días) y Ψ_0 (de -1,0 a -1,5 MPa), los mejores resultados fueron obtenidos con 3 días de duración y Ψ_0 de entre -1,3 y -1,5 MPa. Asimismo, no observó diferencias entre el empleo o no de aireación durante el 'priming'. Por otro lado, Bradford (1986) sugirió que Ψ_0 inferiores a -2,0 MPa pueden ocasionar un daño a las semillas. Valores próximos a 0 MPa podrían permitir la germinación durante el tratamiento.

El polietilenglicol (PEG) ha sido tradicionalmente uno de los agentes osmóticos más utilizados para el 'priming', dada su naturaleza no tóxica y su tamaño de molécula relativamente grande, que previene la absorción por las semillas durante la imbibición (Jisha *et al.*, 2013). No obstante, las soluciones de PEG son altamente viscosas, lo que

puede dificultar el intercambio gaseoso y la remoción de las semillas luego del 'priming' (Sumita y Simanta, 2018). Debido a esta desventaja del PEG, es que se han estudiado otros compuestos sin esta limitación (Paparella *et al.*, 2015). Las sales inorgánicas son fáciles de manipular y remover de las semillas, sumado a que permiten una buena oxigenación durante el 'priming' (Mauromicale y Cavallaro, 1997), además de ser menos costosas (Yoon *et al.*, 1997).

El efecto benéfico del 'priming' en estrés salino para las sales con las que se trabajó en los ensayos fue estudiado para otras especies. En frijol (*Cajanus cajan* L.) se registró un aumento en el contenido de proteínas, aminoácidos y azúcares solubles en plántulas provenientes de semillas sometidas a 'priming' con CaCl₂ (Verma y Srivastava, 1998). En pepino (*Cucumis sativus* L.), Joshi *et al.* (2013) observaron una mejora en la germinación y adaptación de plantas a las condiciones de estrés salino como consecuencia de imbibición de las semillas con una solución 2 mM de CaCl₂ durante 24 h. Afzal *et al.* (2012), trabajando con arroz (*Oryza sativa* L.), reportaron un incremento en la tolerancia a la salinidad, permitiendo un aumento de la germinación total, velocidad de esta y peso seco de las plantas

El 'priming' con NaCl permitió incrementar el porcentaje de germinación, la longitud de las radículas, el peso seco de las plántulas y el área foliar en girasol (*Helianthus annuus* L.) creciendo en un suelo salino (Bajehbaj, 2010). Farhoudi y Sharifzadeh (2006) y Sarwar *et al.* (2006), trabajando con canola (*Brassica napus* L.) y garbanzo (*Cicer arietinum* L.) respectivamente, reportaron que el 'priming' con NaCl condujo a un aumento en la germinación, la emergencia de las plántulas y el crecimiento en condiciones salinas. Nakaune *et al.* (2012) determinaron que la mejora en la germinación del 'priming' con NaCl en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se debe a un incremento del contenido de giberelina y un aumento en la expresión de genes vinculados al debilitamiento del endosperma.

La mejora en la germinación en semillas sometidas a 'priming' (Fig. 12) confirma el efecto benéfico del tratamiento. Esto puede atribuirse a la activación de procesos metabólicos que permiten una más rápida la emisión de la radícula, acelerándose la absorción de agua (Bewley y Black, 1994). Estos resultados se condicen con lo reportado por Sivritepe *et al.* (1997) quien estudió la germinación de melón en

salinidad, luego de ser sometidas las semillas a un 'priming' con NaCl, y registró una mejora en la germinación total y reducción del tiempo medio de germinación.

Al comparar ambas duraciones (2 y 4 días) se observó un descenso de la germinación al extender el tiempo de imbibición. Esto puede explicarse por el hecho de que una imbibición demasiado extensa, que no permita la emisión de la radícula, conducirá a un agotamiento de las reservas, con la consecuente reducción del vigor y viabilidad de las semillas (Bradford, 1986; Yari *et al.*, 2010), y a una irregular absorción de agua y pérdida de electrolitos vitales para las semillas (Jett *et al.*, 1996).

El análisis del crecimiento y respuesta bioquímica de las plantas de semillas sometidas a 'priming' permite evidenciar que existe una prolongación de este efecto benéfico más allá del estado de semilla. Esto es conocido como 'priming memory' (memoria de 'priming') (Chen y Arora, 2013). Se ha determinado también que este 'estado de priming' de las plantas podría prolongarse por más de una generación, si es que las condiciones adversas persisten (Pastor *et al.*, 2014; Tabassum *et al.*, 2017).

Del análisis de los parámetros de crecimiento (Fig. 13 y 14) se puede observar que, si bien con el 'priming', no fue posible revertir completamente el efecto de la salinidad se registró una mejor aclimatación. Esto puede verse al comparar la respuesta de las plántulas provenientes del 'priming' con el tratamiento Control S1. Sivritepe *et al.* (2003), trabajando con melón en diferentes conductividades eléctricas, estudiaron la respuesta del 'priming' con NaCl en el peso seco de las plántulas. Con valores de CE de hasta 9,0 dS m⁻¹ observaron una diferencia en el peso seco de plantas provenientes de semillas sometidas a 'priming' respecto de semillas sin tratar. A niveles superiores de salinidad no fue posible revertir el efecto negativo, no registrándose diferencias entre plántulas tratadas y sin tratar.

El descenso del Ψ_x fue menor en el tratamiento NaCl, seguido del CaCl₂ (Fig. 16). En melón rocío de miel (Fig. 16 A) ambos tratamientos difirieron significativamente de las plantas en estrés salino y sin tratamiento (Control S1). En melón reticulado (Fig. 16 B), el 'priming' con NaCl presenta diferencias significativas en comparación con las plantas en salinidad. Estas diferencias en los tratamientos de 'priming' respecto del Control S1 sugiere la activación de mecanismos de ajuste osmótico, como la

acumulación de osmolitos compatibles, fundamentalmente prolina, glicina betaína y sacarosa, los cuales además de reducir el Ψ_0 de las células, protegen contra los daños de membranas y estabilizan proteínas y enzimas (Singh *et al.*, 2015).

La reducción del contenido de clorofila en plantas sometidas al estrés salino (Fig. 17 A y 18 A) puede relacionarse con la reducción de biomasa de las plantas o a un incremento de la oxidación lipídica de la membrana de los cloroplastos a causa del estrés oxidativo y a la acumulación hasta niveles tóxicos de iones que afecten la síntesis (Salah *et al.*, 2015). El 'priming' permitió revertir esta reducción. Farooq *et al.* (2013), trabajando con trigo (*Triticum aestivum* L.), encontró una elevada correlación entre la reducción del contenido de clorofila en plantas en estrés salino, el grado de oxidación lipídica y el daño de membranas. Asimismo, el 'priming' permitió reducir esta oxidación con un aumento del contenido de clorofila.

Los resultados estarían indicando un mayor daño de las membranas en plantas como consecuencia del estrés salino. Esto puede inferirse a partir de los niveles de Lixiviación relativa de electrolitos por un lado (Fig. 17 B y 18 B) y del contenido de MDA (Fig. 17 F y 18 F), compuesto estrechamente vinculado la oxidación de lípidos de membranas (Hodges *et al.*, 1999). Al comparar la respuesta en estos parámetros entre el 'priming' con NaCl y CaCl₂, si bien en ambas sales se produjo un apartamiento respecto de las plántulas en estrés salino (Control S1), el NaCl permitió una mejor respuesta. Estas respuestas están en coincidencia con lo observado por Randhir y Shetty (2005) en maíz (*Zea mays* L.) y Amooaghaie (2011) en alfalfa (*Medicago sativa* L.).

Debe añadirse que el calcio cumple una función esencial en la estabilidad estructural de las membranas (Hepler, 2005). Esto podría explicar en parte la mejora en la estabilidad de las membranas, indicada a partir de la LE y MDA.

Los ROS generados durante la exposición a un estrés ambiental provocan la iniciación de un número importante de reacciones auto oxidativas en cadena, fundamentalmente peroxidación lipídica, daño de ADN y degradación de proteínas (Mittler, 2002). Resulta crucial para la tolerancia al estrés la captura de estos ROS y el mantenimiento de la integridad de las membranas (Kukreja *et al.*, 2005). El estrés

provocó un aumento de la actividad de enzimas POD (Fig. 17 G y 18 G) y CAT (Fig. 17 H y 18 H). El 'priming', por su parte, condujo a un aumento aún mayor, primeramente, para el NaCl y seguido del CaCl₂. Estos resultados están en línea con lo reportado por Islam *et al.* (2015), quienes estudiaron la respuesta al 'priming' con CaCl₂ y KCl en dos cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) cultivados en un suelo salino. Al mismo tiempo, registraron un descenso del nivel de MDA para estos tratamientos. Salah *et al.* (2015), cultivando plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) en niveles tóxicos de Zn, observaron una mayor actividad POD y CAT y menores niveles de MDA, en plantas cuyas semillas habían sido sometidas a un 'priming' con PEG.

La reducción del CRA en plantas estresadas (Fig. 17 C y 18 C) puede deberse a la menor absorción de agua debido a daños en el sistema radical o al bajo Ψ del sustrato (Kukreja *et al.*, 2005). De este modo el aumento del CRA respecto de las plantas estresadas (Control S1) en los tratamientos de 'priming' puede explicarse, por un lado, por el menor daño en raíces, evidenciado con los más altos valores de TTC (Fig. 17 D y 18 D), compuesto indicador del nivel de vitalidad de las raíces (Ruf y Brunner, 2003), y por la existencia de mecanismos de ajuste osmótico, tales como la acumulación de prolina.

Como se indicó anteriormente, la acumulación de prolina en plantas permite contrarrestar en parte los efectos negativos del estrés dada su capacidad de participar en procesos de ajuste osmótico y neutralización de ROS (Rejeb *et al.*, 2014). Tal como se observa en las figuras 17 E y 18 E en los tratamientos de 'priming' se midió un contenido aún mayor de este aminoácido que en plantas en estrés. Esta relación entre el aumento del contenido de prolina en estrés salino en plantas derivadas de semillas sometidas a 'priming' fue registrada en pimiento (*Capsicum annuum* L.) (Aloui *et al.*, 2014), arroz (*Oryza sativa* L.) (Li y Zhang, 2012) y maíz (*Zea mays* L.) (Bakht *et al.*, 2011).

Una de las principales características de las plantas tolerantes al estrés salino es la capacidad de mantener la relación Na⁺/K⁺ en valores bajos (Tester y Davenport, 2003). La reducción en la relación Na⁺/K⁺ como consecuencia del 'priming' contribuye a la mejor adaptación de las plantas a la situación de estrés del experimento. Por otro lado, en plantas sin tratar (Control S1) se observó una mayor relación (Fig. 19 A y B). Una

explicación a este fenómeno es que las plantas estresadas acumularon más Na^+ en tejidos al mismo tiempo que aumentó la liberación de K^+ por las células (Poustini y Siosemardeh, 2004). En trigo (*Triticum aestivum* L.), Abbasdokht y Edalatpisheh (2012) observaron que el 'priming' permitió que las plantas registrasen relaciones Na^+/K^+ bajas, mientras que las plantas sin tratar exhibieron relaciones más altas. Cayuela *et al.* (1996), trabajando con tomate (*Solanum lycopersicum* L.), reportó que el 'priming' con NaCl permitió reducir el contenido de Na^+ en tejidos de las plantas que mejor prosperaban en el ambiente salino. No obstante, en niveles de salinidad excesivamente altos (140 mM NaCl = 14 dS m^{-1}) se veía superada la capacidad de tolerancia de las plantas.

La menor liberación de K^+ medida en plantas derivadas de semillas con 'priming' (Fig. 19 C y D) confirma la mayor estabilidad de las membranas, estimada también a partir de los valores de LE (Fig. 17 B y 18 B) y MDA (Fig. 17 F y 18 F).

La existencia de diferentes respuestas en función del agente osmótico empleado estaría indicando que además del 'efecto priming' ocurrido durante la imbibición parcial de las semillas existe una participación de los iones (Na^+ y Ca^{2+}) en el metabolismo de las semillas y plantas.

No existen investigaciones previas que evalúen cambios anatómicos en tejidos de plantas de melón creciendo en condiciones de salinidad y provenientes de semillas sometidas a 'priming'. Los resultados de los ensayos revelan una ausencia de modificaciones anatómicas en plantas como consecuencia del tratamiento (Tablas 7 y 8). Esto estaría indicando que la mejora en la tolerancia a la salinidad se debe a procesos fisiológicos y bioquímicos, como los que han sido expuestos anteriormente.

5. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Los experimentos realizados confirman el efecto adverso de la salinidad en las etapas de la germinación (Fig. 5) y el crecimiento inicial de melón (Tabla 1), producto de alteraciones a nivel bioquímico y fisiológico (Tablas 2 y 3, Figs. 9 y 10). Esto es coincidente con lo reportado anteriormente por numerosos investigadores (Gola *et al.*, 2019; Pinheiro *et al.*, 2019; Sarabi *et al.*, 2017; Sivritepe *et al.*, 2003; Suárez-Hernández *et al.*, 2019).

Sin embargo, no se observaron modificaciones a nivel anatómico a causa de la elevada salinidad (Tablas 4 y 5). Shafiee *et al.* (2019) cultivaron diferentes variedades de melón en salinidad (8 dS m^{-1}) y, si bien registraron variaciones a nivel bioquímico (clorofila, prolina y enzimas antioxidantes), el único cambio anatómico detectado fue el aumento del espesor de la epidermis abaxial en algunas variedades.

Este trabajo de investigación es uno de los pocos en los cuales se estudió el efecto de la aplicación de melatonina en melón, cultivado en situación de estrés salino. Los estudios a nivel bioquímico y anatómico permiten esclarecer los principales mecanismos que favorecen la respuesta de aclimatación. Asimismo, este trabajo aporta información que, sumada al conocimiento existente en otros cultivos, acerca a la confirmación del beneficio potencial que representa la aplicación de melatonina para mejorar el desempeño de los cultivos frente a diferentes tipos de estrés.

Los resultados demuestran que la aplicación de melatonina indujo cambios bioquímicos y fisiológicos en las plantas de melón, permitiendo una mejor aclimatación al estrés salino (Tablas 2 y 3, Figs. 5, 9 y 10). Puede afirmarse que existe una respuesta dependiente de la dosis. En las condiciones experimentales, las concentraciones de 10 y 50 μM resultaron ser las óptimas para mejorar la germinación ante este estrés abiótico. Al considerar el crecimiento de las plántulas, la mejor respuesta se observó con la concentración de 50 μM , aplicada tanto por imbibición de las semillas como por riego (Tabla 1, Fig. 8). Por otro lado, cuando se utilizó una concentración de 100 μM de melatonina se registró una reducción de la germinación (Fig. 6) y del crecimiento a niveles aún más bajos que los tratamientos sin melatonina (Tabla 1, Fig. 8). Esta respuesta, positiva a concentraciones relativamente bajas e, inhibitoria, a mayores concentraciones, fue también observada por otros investigadores (Chen *et al.*, 2009;

Posmyk *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2014) y se ha sugerido como explicación un efecto de toxicidad. Dada la multiplicidad de funciones y aplicaciones reportadas, la melatonina, ha sido propuesta como una nueva hormona vegetal o regulador universal de crecimiento (Arnao y Hernández-Ruiz, 2019; Kołodziejczyk y Posmyk, 2016). Las hormonas vegetales y los reguladores de crecimiento cumplen sus funciones a muy bajas concentraciones (Kumudini y Patil, 2019).

Respecto del 'priming' en melón, si bien existen diversas investigaciones, hay pocas referidas al estrés salino. Los resultados obtenidos contribuyen a entender los mecanismos involucrados en la respuesta a largo plazo en semillas y plantas en situaciones de estrés salino. Queda claro que el empleo de NaCl y CaCl₂, resulta en una mejor aclimatación al estrés salino. Esto se evidencia en la mejor germinación (Fig. 12) y crecimiento de las plantas (Fig. 13 y 14) en las mencionadas condiciones. Además, se concluye que la prolongación del tratamiento revierte el efecto benéfico, lo que se explicaría por un efecto de toxicidad (Singh *et al.*, 2018) y agotamiento de las reservas seminales (Sher *et al.*, 2019).

Para todos los tratamientos, la mejora se debió a cambios fisiológicos y bioquímicos (Fig. 16, 17, 18 y 19), sin que se detectaran modificaciones a nivel anatómico (Tablas 6 y 7).

Dado el costo relativamente bajo de las sales estudiadas y la facilidad de manipulación, esta técnica de 'priming' resulta una alternativa interesante y de fácil adopción (Ashraf y Foolad, 2005; Jisha y Puthur, 2014).

El cultivo de melón se realiza habitualmente de forma intensiva y con riego complementario (Singh y Bharati, 2016), lo que promueve la acumulación de sales en el suelo (Ashraf *et al.*, 2008; Hossain, 2020). El presente estudio brinda información que puede resultar de interés productivo para aliviar los problemas de estrés salino en semillas y plántulas.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abbasdokht, H., Edalatpisheh, M.R., 2012. The effect of priming and salinity on physiological and chemical characteristics of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Desert* 17, 183–192.
- Aebi, H., 1984. Catalase in vitro, in: Packer, L. (Ed.), *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, pp. 121–126.
- Afzal, I., Butt, A., Ur Rehman, H., Ahmad Basra, A.B., Afzal, A., 2012. Alleviation of salt stress in fine aromatic rice by seed priming. *Aust. J. Crop Sci.* 6, 1401–1407.
- Aguilera, Y., Herrera, T., Benítez, V., Arribas, S.M., López De Pablo, A.L., Esteban, R.M., Martín-Cabrejas, M.A., 2015. Estimation of scavenging capacity of melatonin and other antioxidants: Contribution and evaluation in germinated seeds. *Food Chem.* 170, 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.071>
- Ahmad, P., Sharma, S., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Env.* 54, 89–99.
- Allegra, M., Reiter, R.J., Tan, D., Gentile, C., Tesoriere, L., Livrea, M.A., 2003. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J. Pineal Res.* 34, 1–10.
- Aloui, H., Souguir, M., Latique, S., Hannachi, C., 2014. Germination and growth in control and primed seeds of pepper as affected by salt stress. *Cercet. Agron. Mold.* 47, 83–95.
- Amooaghaie, R., 2011. The effect of hydro and osmopriming on alfalfa seed germination and antioxidant defenses under salt stress. *African J. Biotechnol.* 10, 6269–6275.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J., 2019. Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator? *Trends Plant Sci.* 24, 38–48.
- Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J., 2014. Melatonin: Plant growth regulator and/or biostimulator during stress? *Trends Plant Sci.* 19, 789–797. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.07.006>
- Arnao, M.B., Hernández Ruiz, J., 2015. Functions of melatonin in plants: a review. *J. Pineal Res.* 59, 133–150. <https://doi.org/10.1111/jpi.12253>
- Arnao, M.B., Hernández Ruiz, J., 2009. Protective effect of melatonin against chlorophyll degradation during the senescence of barley leaves. *J. Pineal Res.* 46, 58–63.
- Arnao, M.B., Hernández Ruiz, J., 2007. Melatonin promotes adventitious-and lateral root regeneration in etiolated hypocotyls of *Lupinus albus* L. *J. Pineal Res.* 42, 147–152.
- Arunkumar, K., Jegadeeswari, V., Ushamalini, C., 2019. Seed priming technology in spice crops: A review. *J. Phytol.* 21–24.

- Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnol. Adv.* 27, 84–93. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.003>
- Ashraf, M., Ali, Q., 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environ. Exp. Bot.* 63, 266–273.
- Ashraf, M., Athar, H.R., Harris, P.J.C., Kwon, T.R., 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Adv. Agron.* 97, 45–110.
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2005. Pre-sowing seed treatment—A shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Adv. Agron.* 88, 223–271.
- Azcón-Bieto, J., Talón, M., 2008. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana de España, Madrid.
- Bajehbaj, A.A., 2010. The effects of NaCl priming on salt tolerance in sunflower germination and seedling grown under salinity conditions. *African J. Biotechnol.* 9.
- Bajji, M., Kinet, J.-M., Lutts, S., 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regul.* 36, 61–70.
- Bakht, J., Shafi, M., Jamal, Y., Sher, H., 2011. Response of maize (*Zea mays* L.) to seedpriming with NaCl and salinity stress. *Spanish J. Agric. Res.* 9, 252–261.
- Balmer, A., Pastor, V., Gamir, J., Flors, V., Mauch-Mani, B., 2015. The ‘prime-ome’: towards a holistic approach to priming. *Trends Plant Sci.* 20, 443–452.
- Baskin, C.C., Baskin, J.M., 2014. *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*, Second. ed. Elsevier.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39, 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bazihizina, N., Colmer, T.D., Cuin, T.A., Mancuso, S., Shabala, S., 2019. Friend or foe? Chloride patterning in halophytes. *Trends Plant Sci.* 24, 142–151.
- Bennett, M.A., 2004. Agronomic factors associated with germination under temperature and water stress, in: Benech-Arnold, R., Sanchez, R. (Eds.), *Handbook of Seed Physiology. Applications to Agriculture*. The Haworth Reference Press New York, pp. 97–124.
- Bewley, J.D., 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9, 1055–1066.
- Bewley, J.D., Black, M., 1994. Seeds, in: *Seeds*. Springer, New York, pp. 1–33.
- Bordas, M., Montesinos, C., Dabauza, M., Salvador, A., Roig, L.A., Serrano, R., Moreno, V., 1997. Transfer of the yeast salt tolerance gene HAL1 to *Cucumis melo* L. cultivars and in vitro evaluation of salt tolerance. *Transgenic Res.* 6, 41–50.

- Borgohain, P., Saha, B., Chowardhara, B., Panda, S.K., 2019. Abiotic Stress Response and Its Mitigation, in: Kumar, S. (Ed.), *Advances in Biotechnology and Bioscience*. AkiNik Publication, New Delhi, pp. 107–131.
- Bose, S.K., Howlader, P., 2020. Melatonin plays multifunctional role in horticultural crops against environmental stresses: A review. *Environ. Exp. Bot.* 176, 104063.
- Botía, P., Carvajal, M., Cerdá, A., Martínez, V., 1998. Response of eight *Cucumis melo* cultivars to salinity during germination and early vegetative growth. *Agronomie* 18, 503–513. <https://doi.org/10.1051/agro:19980801>
- Bradford, K.J., 1995. Water relations in seed germination. *Seed Dev. germination* 1, 351–396.
- Bradford, K.J., 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience (USA)* 21, 1105–1113.
- Byeon, Y., Back, K., 2014. Melatonin synthesis in rice seedlings in vivo is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyltransferase activities. *J. Pineal Res.* 56, 189–195.
- Cakmak, I., 2005. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 168, 521–530.
- Camara, T., Willadino, L., 2003. Origen y naturaleza de los ambientes salinos, in: *La Ecofisiología Vegetal: Una Ciencia de Síntesis*. Thomson-Paraninfo, pp. 303–330.
- Campbell, C.R., Plank, C.O., 1998. Preparation of plant tissue for laboratory analysis, in: Kalra, Y.P. (Ed.), *Handbook of Methods for Plant Analysis*. Taylor & Francis Group, New York, pp. 51–63.
- Cantamutto, M., Ayastuy, M., Kroeger, I., Elisei, V., Marinangeli, P., 2001. Efecto del sistema de iniciación y del acolchado del suelo sobre la producción de melón en el sur de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev. la Fac. Agron. La Plata* 104, 157–162.
- Cao, Y.-Y., Yang, M.-T., Chen, S.-Y., Zhou, Z.-Q., Li, X., Wang, X.-J., Bai, J.-G., 2015. Exogenous sucrose influences antioxidant enzyme activities and reduces lipid peroxidation in water-stressed cucumber leaves. *Biol. Plant.* 59, 147–153.
- Carvajal, M., del Amor, F.M., Fernandez-Ballester, G., Martínez, V., Cerdá, A., 1998. Time course of solute accumulation and water relations in muskmelon plants exposed to salt during different growth stages. *Plant Sci.* 138, 103–112.
- Cayuela, E., Pérez-Alfocea, F., Caro, M., Bolarín, M.C., 1996. Priming of seeds with NaCl induces physiological changes in tomato plants grown under salt stress. *Physiol. Plant.* 96, 231–236. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1996.tb00207.x>
- Chakraborty, K., Bhaduri, D., Meena, H.N., Kalariya, K., 2016. External potassium (K⁺) application improves salinity tolerance by promoting Na⁺-exclusion, K⁺-

- accumulation and osmotic adjustment in contrasting peanut cultivars. *Plant Physiol. Biochem.* 103, 143–153.
- Chen, C.L., 2003. Measurement of plant root activity (TTC), Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments. Higher Education Press, Beijing.
- Chen, K., Arora, R., 2013. Priming memory invokes seed stress-tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 94, 33–45. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.03.005>
- Chen, Q., Qi, W. bo, Reiter, R.J., Wei, W., Wang, B. min, 2009. Exogenously applied melatonin stimulates root growth and raises endogenous indoleacetic acid in roots of etiolated seedlings of *Brassica juncea*. *J. Plant Physiol.* 166, 324–328. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2008.06.002>
- Chen, Z., Newman, I., Zhou, M., Mendham, N., Zhang, G., Shabala, S., 2005. Screening plants for salt tolerance by measuring K^+ flux: a case study for barley. *Plant. Cell Environ.* 28, 1230–1246.
- Cuartero, J., Fernández-Muñoz, R., 1998. Tomato and salinity. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 78, 83–125.
- 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 Physiol. Biochem.* 118, 138–149.
- Daszkowska-Golec, A., 2011. Arabidopsis seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. *Omi. a J. Integr. Biol.* 15, 763–774.
- Dawood, M.G., El-Awadi, M.E., 2015. Alleviation of salinity stress on *Vicia faba* L. plants via seed priming with melatonin. *Acta Biológica Colomb.* 20, 223–235.
- de Almeida Silva, J.L., Duarte, S.N., da Silva, D.D., de Oliveira Miranda, N., 2019. Recuperación de suelos salinizados por exceso de fertilizantes: evaluación de sistemas de lixiviación y ecuaciones/Reclamation of salinized soils due to excess of fertilizers: evaluation of leaching systems and equations. *Dyna* 86, 115–124.
- De Luca, M., Tauler, R., Ioele, G., Ragno, G., 2013. Study of photodegradation kinetics of melatonin by multivariate curve resolution (MCR) with estimation of feasible band boundaries. *Drug Test. Anal.* 5, 96–102.
- Deinlein, U., Stephan, A.B., Horie, T., Luo, W., Xu, G., Schroeder, J.I., 2014. Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends Plant Sci.* 19, 371–379.
- Del Amor, F.M., Martínez, V., Cerda, A., 1999. Salinity duration and concentration affect fruit yield and quality, and growth and mineral composition of melon plants grown in perlite. *HortScience* 34, 1234–1237.
- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S.S., Pozhvanov, G.A., Sokolik, A., Yurin, V., 2014. Stress-induced electrolyte leakage: the role of K^+ -permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *J. Exp. Bot.* 65, 1259–1270.

- Demir, I., Oztokat, C., 2003. Effect of salt priming on germination and seedling growth at low temperatures in watermelon seeds during development. *Seed Sci. Technol.* 31, 765–770.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M., Robledo, y C.W., 2011. InfoStat versión 2011. Grup. InfoStat, FCA, Univ. Nac. Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar> 8, 195–199.
- Ding, F., Liu, B., Zhang, S., 2017. Exogenous melatonin ameliorates cold-induced damage in tomato plants. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 219, 264–271.
- Dubbels, R., Reiter, R.J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., Schiwara, H.W., Schloot, W., 1995. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Pineal Res.* 18, 28–31.
- Dutta, P., 2018. Seed priming: new vistas and contemporary perspectives, in: *Advances in Seed Priming*. Springer, pp. 3–22.
- Ekincialp, A., 2019. The differences among melon genotypes and varieties under salt stress based on certain morphological and physiological properties – mixture modeling and principal component analysis (PCA). *Appl. Ecol. Environ. Res.* 17, 2965–2981.
- Erdal, S., 2019. Melatonin promotes plant growth by maintaining integration and coordination between carbon and nitrogen metabolisms. *Plant Cell Rep.* 38, 1001–1012.
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Ann. Bot.* 104, 1263–1280.
- FAO, I., 2015. Status of the World's Soil Resources (SWSR)—technical summary. Food Agric. Organ. United Nations Intergov. Tech. Panel Soils, Rome, Italy.
- FAOSTAT, 2022. Crops [WWW Document]. Crops. URL <http://www.faor.org.ar/faostat/en/#data/QC/visualize>
- Farhoudi, R., Sharifzadeh, F., 2006. The effects of NaCl priming on salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.) seedlings grown under saline conditions. *Indian J Crop Sci* 1, 74–78.
- Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I., Cheema, S.A., 2013. Seed priming with ascorbic acid improves drought resistance of wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 66, 12–22.
- Fernández Lozano, J., Budde, C.O., 2019. Boletín de frutas y hortalizas-Melón. Corporación del Mercado Central de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Fleta-Soriano, E., Díaz, L., Bonet, E., Munné-Bosch, S., 2017. Melatonin may exert a protective role against drought stress in maize. *J. Agron. Crop Sci.* 203, 286–294.
- Galmarini, C., Loyola, P., Occhiuto, P., Foschi, M.L., Burba, J., Flores Asin, J.E., Cavagnaro, P. 2010. Guía Teórico-Práctica de Horticultura y Floricultura. Facultad de Ciencias Agrarias, UNCuyo.

153 p.

- García, J.J., López-Pingarrón, L., Almeida-Souza, P., Tres, A., Escudero, P., García-Gil, F.A., Tan, D., Reiter, R.J., Ramírez, J.M., Bernal-Pérez, M., 2014. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. *J. Pineal Res.* 56, 225–237.
- Gatti, M.A., 2010. Efectos del volumen de celda, la edad de transplante y la poda sobre la productividad del cultivo de melón (*Cucumis melo* L.). Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Agrarias.
- Geilfus, C.-M., 2018. Chloride: from nutrient to toxicant. *Plant Cell Physiol.* 59, 877–886.
- George, P., 1953. The chemical nature of the second hydrogen peroxide compound formed by cytochrome c peroxidase and horseradish peroxidase. 1. Titration with reducing agents. *Biochem. J.* 54, 267–276.
- Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 909–930.
- Gola, A.Q., Baloch, M.N., Mahesar, M.A., Abro, J.A., Mastoi, M.S., Aziz, T., 2019a. Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Pure Appl. Biol.* 8, 572–579.
- Gomes-Filho, E., Lima, C.R.F.M., Costa, J.H., da Silva, A.C.M., Lima, M. da G.S., de Lacerda, C.F., Prisco, J.T., 2008. Cowpea ribonuclease: properties and effect of NaCl-salinity on its activation during seed germination and seedling establishment. *Plant Cell Rep.* 27, 147–157.
- Gupta, B., Huang, B., 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *Int. J. Genomics* 2014.
- Guzmán, M., Olave, J., 2006. Response of growth and biomass production of primed melon seed (*Cucumis melo* L. cv. Primal) to germination salinity level and N-forms in nursery. *J. Food Agric. Environ.* 4, 163.
- Hafsi, C., Falleh, H., Saada, M., Ksouri, R., Abdelly, C., 2017. Potassium deficiency alters growth, photosynthetic performance, secondary metabolites content, and related antioxidant capacity in *Sulla carnosa* grown under moderate salinity. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 609–617.
- Han, Q.-H., Huang, B., Ding, C.-B., Zhang, Z.-W., Chen, Y.-E., Hu, C., Zhou, L.-J., Huang, Y., Liao, J.-Q., Yuan, S., Yuan, M., 2017. Effects of Melatonin on Anti-oxidative Systems and Photosystem II in Cold-Stressed Rice Seedlings. *Front. Plant Sci.* 8, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00785>
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M., Bhowmik, P.C., Hossain, M., Rahman, M.M., Prasad, M.N.V., Ozturk, M., Fujita, M., 2014. Potential use of halophytes to remediate saline soils. *Biomed Res. Int.* 1–13.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S.S., Fujita, M., 2013. Drought stress responses in

- plants, oxidative stress, and antioxidant defense. *Clim. Chang. plant abiotic Stress Toler.* 209–250.
- Hattori, A., Migitaka, H., Iigo, M., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., Hara, M., Suzuki, T., Reiter, R.J., 1995. Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochem. Mol. Biol. Int.* 35, 627–634.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A., 2012. Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signal. Behav.* 7, 1456–1466.
- Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125, 189–198.
- Hepler, P.K., 2005. Calcium: a central regulator of plant growth and development. *Plant Cell* 17, 2142–2155.
- Hernández, I.G., Gomez, F.J.V., Cerutti, S., Arana, M.V., Silva, M.F., 2015. Melatonin in *Arabidopsis thaliana* acts as plant growth regulator at low concentrations and preserves seed viability at high concentrations. *Plant Physiol. Biochem.* 94, 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.06.011>
- Hniličková, H., Hnilička, F., Orsák, M., Hejtnák, V., 2019. Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na⁺ and K⁺ content in selected plant species. *Plant, Soil Environ.* 65, 90–96.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I., 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil. *Calif. Agric. Exp. Stn.* 51, 914–916.
- Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F., Prange, R.K., 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta* 207, 604–611.
- Hossain, S., 2020. Present scenario of global salt affected soils, its management and importance of salinity research. *Int. J. Biol. Sci.* 1, 1–3.
- Huang, C.H., Zong, L., Buonanno, M., Xue, X., Wang, T., Tedeschi, A., 2012. Impact of saline water irrigation on yield and quality of melon (*Cucumis melo* cv. *Huanghemi*) in northwest China. *Eur. J. Agron.* 43, 68–76.
- Ibrahim, E.A., 2016. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. *J. Plant Physiol.* 192, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.12.011>
- Ibrarullah, H.U.R., Jilani, M.S., Gurmani, A.R., Ullah, K., 2019. Tolerance Response of muskmelon genotypes against salinity. *Pak. J. Agri. Sci* 56, 63–70.
- Iqbal, M., Ashraf, M., 2013. Alleviation of salinity-induced perturbations in ionic and hormonal concentrations in spring wheat through seed preconditioning in synthetic auxins. *Acta Physiol. Plant.* 35, 1093–1112.

- Isayenkov, S. V, Maathuis, F.J.M., 2019. Plant salinity stress: Many unanswered questions remain. *Front. Plant Sci.* 10, 1–11.
- Islam, F., Yasmeen, T., Ali, S., Ali, B., Farooq, M.A., Gill, R.A., 2015. Priming-induced antioxidative responses in two wheat cultivars under saline stress. *Acta Physiol. Plant.* 37, 153–165.
- ISTA, 2013. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 27, 25–30.
- Jakeman, A., Barreteau, O., Hunt, R.J., Rinaudo, J.-D., Ross, A., 2016. Integrated groundwater management, in: *Integrated Groundwater Management*. Springer International Publishing Cham.
- Jan, S., Kubra, G., Naz, M., Shafqat, I., Shahzad, M.A., Afzal, F., Kazi, A.G., 2015. Biotechnological applications to improve salinity stress in wheat, in: Azooz, M.M., Ahmad, P. (Eds.), *Plant-Environment Interaction: Responses and Approaches to Mitigate Stress*. John Wiley & Sons, Egypt, pp. 1–19.
- Jett, L.W., Welbaum, G.E., Morse, R.D., 1996. Effects of matric and osmotic priming treatments on broccoli seed germination. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 121, 423–429.
- Jiang, X., Li, H., Song, X., 2016. Seed priming with melatonin effects on seed germination and seedling growth in maize under salinity stress. *Pakistan J. Bot.* 48, 1345–1353.
- Jin, X., Liu, T., Xu, J., Gao, Z., Hu, X., 2019. Exogenous GABA enhances muskmelon tolerance to salinity-alkalinity stress by regulating redox balance and chlorophyll biosynthesis. *BMC Plant Biol.* 19, 48.
- Jisha, K.C., Puthur, J.T., 2014. Halopriming of seeds imparts tolerance to NaCl and PEG induced stress in *Vigna radiata* (L.) Wilczek varieties. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 20. <https://doi.org/10.1007/s12298-014-0234-6>
- Jisha, K.C., Vijayakumari, K., Puthur, J.T., 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. *Acta Physiol. Plant.* 35, 1381–1396.
- Joshi, N., Jain, A., Arya, K., 2013. Alleviation of Salt stress in *Cucumis sativus* L. through seed priming with calcium chloride. *Indian J App Res.* 3, 22–25.
- Kaiser, W.M., 1979. Reversible inhibition of the Calvin cycle and activation of oxidative pentose phosphate cycle in isolated intact chloroplasts by hydrogen peroxide. *Planta* 145, 377–382.
- Karasek, M., Winczyk, K., 2006. Melatonin in humans. *J. Physiol. Pharmacol.* 57, 19–39.
- Kathpalia, R., Bhatla, S.C., 2018. Plant Water Relations, in: Bhatla, S.C., Lal, M.A. (Eds.), *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, pp. 3–36.
- Kaur, G., Asthir, B., 2015. Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. *Biol. Plant.* 59, 609–619.
- Kaya, C., Tuna, A.L., Ashraf, M., Altunlu, H., 2007. Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Environ. Exp.*

Bot. 60, 397–403.

- Keyvan, S., 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates, and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J. Anim. Plant Sci* 8, 1051–1060.
- Khanna-Chopra, R., Semwal, V.K., Lakra, N., Pareek, A., 2019. 5 Proline—A Key Regulator Conferring Plant Tolerance to Salinity and Drought, in: *Plant Tolerance to Environmental Stress: Role of Phyto Protectants*.
- 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. *J. Plant Physiol.* 190, 67–71. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.11.009>
- Kołodziejczyk, I., Posmyk, M.M., 2016. Melatonin—a new plant biostimulator? *J. Elem.* 21, 1187–1198.
- Krishnan, P., Joshi, D.K., Nagarajan, S., Moharir, A. V, 2004. Characterization of germinating and non-viable soybean seeds by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. *Seed Sci. Res.* 14, 355–362.
- Kukreja, S., Nandwal, A.S., Kumar, N., Sharma, S.K., Unvi, V., Sharma, P.K., 2005. Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biol. Plant.* 49, 305–308.
- Kumudini, B.S., Patil, S.V., 2019. Role of plant hormones in improving photosynthesis. *Photosynth. Product. Environ. Stress* 215–240.
- Kusvuran, S., Ellialtioglu, S., Yasar, F., Abak, K., 2007a. Effects of salt stress on ion accumulation and activity of some antioxidant enzymes in melon (*Cucumis melo* L.). *J. food Agric. Environ.* 5, 351.
- Kusvuran, S., Yasar, F., Ellialtioglu, S., Abak, K., 2007b. Utilizing some of screening methods in order to determine of tolerance of salt stress in the melon (*Cucumis melo* L.). *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3, 40–45.
- Larraburu, E.E., Llorente, B.E., 2015. *Azospirillum brasilense* enhances in vitro rhizogenesis of *Handroanthus impetiginosus* (pink lapacho) in different culture media. *Ann. For. Sci.* 72, 219–229.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W., 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 2587.
- Li, C., Tan, D.-X., Liang, D., Chang, C., Jia, D., Ma, F., 2014. Melatonin mediates the regulation of ABA metabolism, free-radical scavenging, and stomatal behavior in two *Malus* species under drought stress. *J. Exp. Bot.* 66, 669–680.
- Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M., Ma, F., 2012. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *J. Pineal Res.* 53, 298–306.
- Li, J., 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, 1826.
- Li, X., Yu, B., Cui, Y., Yin, Y., 2017. Melatonin application confers enhanced salt tolerance by regulating Na⁺ and Cl⁻ accumulation in rice. *Plant Growth Regul.* 83, 441–454.
- Li, X., Zhang, L., 2012. SA and PEG-induced priming for water stress tolerance in rice seedling, in: *Information Technology and Agricultural Engineering*. Springer, pp. 881–887.
- Lichtenthaler, H.K., 1996. Vegetation stress: an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant Physiol.* 148, 4–14.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592.
- Litalien, A., Zeeb, B., 2020. Curing the earth: A review of anthropogenic soil salinization and plant-based strategies for sustainable mitigation. *Sci. Total Environ.* 698, 1–15.
- Liu, J., Wang, W., Wang, L., Sun, Y., 2015. Exogenous melatonin improves seedling health index and drought tolerance in tomato. *Plant Growth Regul.* 77, 317–326. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0066-6>
- Machado, R.M.A., Serralheiro, R.P., 2017. Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae* 3, 30.
- Mahajan, S., Tuteja, N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 444, 139–158.
- Manchester, L.C., Tan, D.-X., Reiter, R.J., Park, W., Monis, K., Qi, W., 2000. High levels of melatonin in the seeds of edible plants. *Life Sci.* 67, 3023–3029. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(00\)00896-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(00)00896-1)
- Mauromicale, G., Cavallaro, V., 1997. A comparative study of the effects of different compounds on priming of tomato seed germination under suboptimal temperatures. *Seed Sci. Technol.* 25, 399–408.
- Mavi, K., Demir, I., Matthews, S., 2010. Mean germination time estimates the relative emergence of seed lots of three cucurbit crops under stress conditions. *Seed Sci. Technol.* 38, 14–25.
- Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., Noctor, G., 2010. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *J. Exp. Bot.* 61, 4197–4220.
- Milczarek, R., Hallmann, A., Sokołowska, E., Kaletha, K., Klimek, J., 2010. Melatonin enhances antioxidant action of α -tocopherol and ascorbate against NADPH- and iron-dependent lipid peroxidation in human placental mitochondria. *J. Pineal Res.*

49, 149–155.

- Miller, R.O., 1997. Determination of dry matter content of plant tissue: gravimetric moisture, in: Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, pp. 64–65.
- Mittler, R., 2017. ROS are good. Trends Plant Sci. 22, 11–19.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants, and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7, 405–410.
- Moghanibashi, M., Karimmojeni, H., Nikneshan, P., 2013. Seed treatment to overcome drought and salt stress during germination of sunflower (*Helianthus annuus* L.). J. Agrobiol 30, 89–96.
- Munns, R., Gilliham, M., 2015. Salinity tolerance of crops—what is the cost? New Phytol. 208, 668–673.
- Nakaune, M., Hanada, A., Yin, Y.-G., Matsukura, C., Yamaguchi, S., Ezura, H., 2012. Molecular and physiological dissection of enhanced seed germination using short-term low-concentration salt seed priming in tomato. Plant Physiol. Biochem. 52, 28–37.
- Nascimento, W.M., 2003. Muskmelon seed germination and seedling development in response to seed priming. Sci. Agric. 60, 71–75.
- Nascimento, W.M., 2002. Sementes de melão osmoticamente condicionadas: vale a pena utilizá-las. Horticult. Bras. 20, 133–135.
- Nascimento, W.M., West, S.H., 2000. Drying during muskmelon (*Cucumis melo* L.) seed priming and its effects on seed germination and deterioration. Seed Sci. Technol. 28, 211–215.
- Nascimento, W.M., West, S.H., 1998. Priming and seed orientation affect seedcoat adherence and seedling development of muskmelon transplants. HortScience 33, 847–848.
- Navarro, J.M., Botella, M.A., Martinez, V., 1999. Yield and fruit quality of melon plants grown under saline conditions in relation to phosphate and calcium nutrition. J. Horticult. Sci. Biotechnol. 74, 573–578.
- Nerson, H., Govers, A., 1986. Salt priming of muskmelon seeds for low-temperature germination. Sci. Horticult. (Amsterdam). 28, 85–91.
- Nobel, P.S., 2020. Physicochemical and Environmental Plant Physiology, Fifth. ed. Academic Press, London.
- Othman, Y., Al-Karaki, G., Al-Tawaha, A.R., Al-Horani, A., 2006. Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. World J. Agric. Sci. 2, 11–15.
- Pacheco, M.M., Garcia, P.P., 2017. Atlas de histología vegetal y animal. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Facultad de Biología, Universidad de

Vigo.

- Paparella, S., Araújo, S.S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., Balestrazzi, A., 2015. Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Rep.* 34, 1281–1293. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1784-y>
- Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J., 2009. Phytomelatonin: A review. *J. Exp. Bot.* 60, 57–69. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern284>
- Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 4056–4075.
- Passaia, G., Queval, G., Bai, J., Margis-Pinheiro, M., Foyer, C.H., 2014. The effects of redox controls mediated by glutathione peroxidases on root architecture in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 65, 1403–1413.
- Pastor, V., Balmer, A., Gamir, J., Flors, V., Mauch-Mani, B., 2014. Preparing to fight back: generation and storage of priming compounds. *Front. Plant Sci.* 5, 1–12.
- Pavlović, I., Pěňčík, A., Novák, O., Vujčić, V., Brkanac, S.R., Lepeduš, H., Strnad, M., Salopek-Sondi, B., 2018. Short-term salt stress in *Brassica rapa* seedlings causes alterations in auxin metabolism. *Plant Physiol. Biochem.* 125, 74–84.
- Pinheiro, D.T., Delazari, F., Nick, C., Mattiello, E.M., Cunha, D., dos Santos Dias, F., 2019. Emergence and vegetative development of melon in function of the soil salinity. *Aust J Crop Sci* 13, 458–464.
- Posmyk, M.M., Bałabusta, M., Wieczorek, M., Sliwinska, E., Janas, K.M., 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *J. Pineal Res.* 46, 214–223. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00652.x>
- Posmyk, M.M., Kuran, H., Marciniak, K., Janas, K.M., 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. *J. Pineal Res.* 45, 24–31. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2007.00552.x>
- Poustini, K., Siosemardeh, A., 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *F. rops Res* 85, 125–133.
- Pritchard, J., 1994. The control of cell expansion in roots. *New Phytol.* 127, 3–26.
- Rafiq, A., Rizwana, J., 2005. Foliar spray of mineral elements antagonistic to sodium—a technique to induce salt tolerance in plants growing under saline conditions. *Pakistan J. Bot.* 37, 913–920.
- Rajjou, L., Duval, M., Gallardo, K., Catusse, J., Bally, J., Job, C., Job, D., 2012. Seed germination and vigor. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 507–533.
- Randhir, R., Shetty, K., 2005. Developmental stimulation of total phenolics and related antioxidant activity in light-and dark-germinated corn by natural elicitors. *Process*

- Biochem. 40, 1721–1732.
- Reche Mármol, J., 2008. Cultivo del melón en invernadero, Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura i Pesca. Valencia, España. Secretaría General Técnica. Servicio de Publicaciones y Divulgación, Andalucía.
- Rejeb, K. Ben, Abdelly, C., Savouré, A., 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiol. Biochem.* 80, 278–284.
- Restrepo, H., Gómez, M.I., Garzón, A., Manrique, Lady, Alzate, F., López, J., Rodríguez, A., 2013. Respuesta bioquímica de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes condiciones de temperaturas nocturnas. *Rev. Colomb. Ciencias Hortícolas* 7, 252–262.
- Rodríguez Torresi, A., 2011. El trasplante. *Mirada Frutihortícola* 1, 3–4.
- Ruf, M., Brunner, I., 2003. Vitality of tree fine roots: reevaluation of the tetrazolium test. *Tree Physiol.* 23, 257–263.
- Ruiz, C.J.A., Medina, G.G., González, A.I.J., Ortiz, T.C., Flores, L.H.E., Martínez, P.R., Byerly, M.K.F., 2013. Requerimientos agroecológicos de cultivos, 2nd ed, Libro técnico. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México. 535 pp.
- Salah, S.M., Yajing, G., Dongdong, C., Jie, L., Aamir, N., Qijuan, H., Weimin, H., Mingyu, N., Jin, H., 2015. Seed priming with polyethylene glycol regulating the physiological and molecular mechanism in rice (*Oryza sativa* L.) under nano-ZnO stress. *Sci. Rep.* 5, 1–14.
- San Bautista, A., Calatayud, A., Nebauer, S.G., Pascual, B., Maroto, J.V., López-Galarza, S., 2011. Effects of simple and double grafting melon plants on mineral absorption, photosynthesis, biomass and yield. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 130, 575–580.
- Sánchez, J.A., Orta, R., Muñoz, B.C., 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agron. Costarric.* 25, 67–91.
- Sánchez, R.M., Dunel Guerra, L., Scherger, M., 2016. Evaluación de las áreas bajo riego afectadas por salinidad y/o sodicidad en Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires.
- Sarabi, B., Bolandnazar, S., Ghaderi, N., Ghashghaie, J., 2017. Genotypic differences in physiological and biochemical responses to salinity stress in melon (*Cucumis melo* L.) plants: prospects for selection of salt tolerant landraces. *Plant Physiol. Biochem.* 119, 294–311.
- Sarropoulou, V., Dimassi-Therious, K., Therios, I., Koukourikou-Petridou, M., 2012. Melatonin enhances root regeneration, photosynthetic pigments, biomass, total carbohydrates and proline content in the cherry rootstock PHL-C (*Prunus avium* × *Prunus cerasus*). *Plant Physiol. Biochem.* 61, 162–168.

- Sarwar, N., Yousaf, S., Jamil, F.F., 2006. Induction of salt tolerance in chickpea by using simple and safe chemicals. *Pakistan J. Bot.* 38, 325.
- Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M., Ezzine, M., 2010. Effects of salt and drought stresses on germination, emergence and seedling growth of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *J. Agric. Res.* 5, 2008–2016.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods* 9, 671–675.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Hemmingsen, E.A., Bradstreet, E.D., 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 52, 119–125.
- Selles, G., Ferreyra, R., 2005. Criterios para controlar el riego en uva de mesa. INIA (ed). *Manejo Riego y Suelo en Vides para Vino y Mesa*. INIA, Santiago, Chile 15–53.
- Shabala, S., Cuin, T.A., 2008. Potassium transport and plant salt tolerance. *Physiol. Plant.* 133, 651–669.
- Shabala, S., Munns, R., 2017. Salinity stress: physiological constraints and adaptive mechanism, in: Shabala, S. (Ed.), *Plant Stress Physiology*. CAB International, London, pp. 24–63.
- Shafiee, H., Haghghi, M., Farhadi, A., Ehteman, M., 2019. The effect of salinity on physiological, biochemical and anatomical characteristics of different varieties of melon. *J. plant Process Funct.* 8, 325–338.
- Sharma, A., Rana, C., Singh, S., Katoch, V., 2016. Soil Salinity: Causes, Effects and Management y Cucurbits, in: Pessaraki, M. (Ed.), *Handbook of Cucurbits: Growth, Cultural Practices and Physiology*. Taylor & Francis Group, New York, pp. 419–440.
- Sher, A., Sarwar, T., Nawaz, A., Ijaz, M., Sattar, A., Ahmad, S., 2019. Methods of Seed Priming, in: *Priming and Pretreatment of Seeds and Seedlings*. Springer, pp. 1–10.
- Shitole, S.M., Dhumal, K.N., 2012. Effect of water stress by polyethylene glycol 6000 and sodium chloride on seed germination and seedling growth of *Cassia angustifolia*. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 3, 528–531.
- Shrivastava, P., Kumar, R., 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001>
- Sikha, S., Sunil, P., Arti, J., Sujata, B., 2013. Impact of Water deficit and Salinity stress on Seed Germination and Seedling Growth of *Capsicum annuum* 'SolanBharpur'. *Int. Res. J. Biol. Sci* 2, 9–15.
- Silva, F.H.A. da, Morais, P.L.D. de, Bessa, A.T.M., Costa, M.V. da, Cavalcante, A.L.A., Torres, S.B., Oliveira, M.D.F. de, 2019. Effect of salt stress on muskmelon (*Cucumis melo* L.) seeds.
- Simsek, M., Comlekcioglu, N., 2011. Effects of different irrigation regimes and nitrogen

- levels on yield and quality of melon (*Cucumis melo* L.). *African J. Biotechnol.* 10, 10009–10018.
- Singh, A., Kumar, A., Yadav, S., Singh, I.K., 2019. Reactive oxygen species-mediated signaling during abiotic stress. *Plant gene* 18, 100173.
- Singh, K., Gupta, N., Dhingra, M., 2018. Effect of temperature regimes, seed priming and priming duration on germination and seedling growth on American cotton. *J. Environ. Biol.* 39, 83–91.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M., 2015. Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* 14, 407–426.
- Singh, S., Bharati, L.K., 2016. Cultivation and bioprospecting of perennial cucurbits, in: Pessarakli, M. (Ed.), *Handbook of Cucurbits. Growth, Cultural Practices and Physiology*. CRC, Arizona, pp. 95–108.
- Singh, S., Singh, P., Sanders, D.C., Wehner, T.C., 2001. Germination of watermelon seeds at low temperature. *Report-cucurbit Genet. Coop.* 24, 59–64.
- Sivritepe, H.Ö., Sivritepe, N., Eriş, A., Turhan, E., 2005. The effects of NaCl pre-treatments on salt tolerance of melons grown under long-term salinity. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 106, 568–581.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H.O., Eris, A., 2003. The effects of NaCl priming on salt tolerance in melon seedlings grown under saline conditions. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 97, 229–237.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H.Ö., Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F., 2008. NaCl pre-treatments mediate salt adaptation in melon plants through antioxidative system. *Seed Sci. Technol.* 36, 360–370.
- Sivritepe, Ö.H., Eris, A., Sivritepe, N., 1997. The effects of priming treatments on salt tolerance in melon seeds, in: I International Symposium on Cucurbits 492. pp. 287–296.
- Suárez-Hernández, Á.M., Vázquez-Angulo, J.C., Grimaldo-Juárez, O., Duran, C.C., González-Mendoza, D., Bazante-González, I., Mendoza-Gómez, A., 2019. Production and quality of grafted watermelon in saline soil. *Hortic. Bras.* 37, 215–220.
- Sumita, D., Simanta, M., 2018. Seed priming-a technique for seed treatment. *Odisha Rev.* 83–85.
- Szabados, L., Savoure, A., 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci.* 15, 89–97.
- Szafrańska, K., Reiter, R.J., Posmyk, M.M., 2016. Melatonin Application to *Pisum sativum* L. Seeds Positively Influences the Function of the Photosynthetic Apparatus in Growing Seedlings during Paraquat-Induced Oxidative Stress. *Front. Plant Sci.* 7, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01663>

- Tabassum, T., Farooq, M., Ahmad, R., Zohaib, A., Wahid, A., 2017. Seed priming and transgenerational drought memory improves tolerance against salt stress in bread wheat. *Plant Physiol. Biochem.* 118, 362–369.
- Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L.A., Ennajah, A., Belkhodja, M., Mulet, J.M., 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African J. Bot.* 105, 306–312.
- Taleisnik, E., 2019. La salinidad. *An. la ANAV* 70.
- Tanji, K.K., Kielen, N.C., 2002. Agricultural drainage water management in arid and semi-arid areas. FAO.
- Tanveer, A., Salman Arshad, M., Ayub, M., Mansoor Javaid, M., Yaseen, M., 2012. Effect of temperature, light, salinity, drought stress and seeding depth on germination of *Cucumis melo* var. *agrestis*. *Pakistan J. Weed Sci. Res.* 18, 445–459.
- Tedeschi, A., Lavini, A., Riccardi, M., Pulvento, C., d’Andria, R., 2011. Melon crops (*Cucumis melo* L., cv. Tendral) grown in a mediterranean environment under saline-sodic conditions: Part I. Yield and quality. *Agric. water Manag.* 98, 1329–1338.
- Tester, M., Davenport, R., 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Ann. Bot.* 91, 503–527.
- Trejo-Téllez, L.I., Gómez-Merino, F.C., 2012. Nutrient solutions for hydroponic systems, in: *Hydroponics-A Standard Methodology for Plant Biological Researches*. InTech, pp. 1–24.
- Turk, H., Genisel, M., 2019. Melatonin-related mitochondrial respiration responses are associated with growth promotion and cold tolerance in plants. *Cryobiology* 1–10.
- Verma, J., Srivastava, A.K., 1998. Physiological basis of salt stress resistance in pigeon pea (*Cajanus cajan* L.)-II. Pre-sowing seed soaking treatment in regulating early seedling metabolism during seed germination. *PLANT Physiol. Biochem. DELHI*-25, 89–94.
- Villagra, P.E., Passera, C.B., Greco, S., Sartor, C.E., Meglioli, P.A., Alvarez, J.A., Dágata, S., Riveros, C.V., Allegretti, L.I., Fernández, M.E., 2021. Ecological Restoration and Productive Recovery of Saline Environments from the Argentine Monte Desert Using Native Plants, in: *Saline and Alkaline Soils in Latin America*. Springer, pp. 313–338.
- Wang, L.Y., Liu, J.L., Wang, W.X., Sun, Y., 2016. Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica* 54, 19–27.

- Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F., Yue, Z., 2012. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment: toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. *J. Pineal Res.* 53, 11–20.
- Wang, Y., Wu, W.-H., 2017. Regulation of potassium transport and signaling in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 39, 123–128.
- 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. *J. Exp. Bot.* 66, 695–707. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru392>
- Weitbrecht, K., Müller, K., Leubner-Metzger, G., 2011. First off the mark: Early seed germination. *J. Exp. Bot.* 62, 3289–3309. <https://doi.org/10.1093/jxb/err030>
- Wien, H.C., 1997. The Cucurbits: cucumber, melon, squash and pumpkin, in: Wien, H.C. (Ed.), *The Physiology of Vegetable Crops*. CAB International, New York, pp. 345–386.
- Wojtyła, Ł., Lechowska, K., Kubala, S., Garnczarska, M., 2016. Molecular processes induced in primed seeds—increasing the potential to stabilize crop yields under drought conditions. *J. Plant Physiol.* 203, 116–126.
- Wu, H., Shabala, L., Barry, K., Zhou, M., Shabala, S., 2013. Ability of leaf mesophyll to retain potassium correlates with salinity tolerance in wheat and barley. *Physiol. Plant.* 149, 515–527.
- Wu, Y., Gao, Q., Huang, S., Jia, S., 2019. Enhancing salt tolerance in melon by exogenous application of melatonin and Ca²⁺. *Pak. J. Bot.* 51, 781–787.
- Yadav, S., Irfan, M.D., Ahmad, A., Hayat, S., 2011. Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: A review. *J. Environ. Biol.* 32, 667–685.
- Yari, L., Aghaalikani, M., Khazaei, F., 2010. Effect of seed priming duration and temperature on seed germination behavior of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *ARPN J. Agric. Biol. Sci.* 5, 1–6.
- Yarsi, G., Sivaci, A., Dasgan, H.Y., Altuntas, O., Binzet, R., Akhoundnejad, Y., 2017. Effects of salinity stress on chlorophyll and carotenoid contents and stomata size of grafted and ungrafted Galia C8 melon cultivar. *Pak. J. Bot.* 49, 421–426.
- Ye, J., Wang, S., Deng, X., Yin, L., Xiong, B., Wang, X., 2016. Melatonin increased maize (*Zea mays* L.) seedling drought tolerance by alleviating drought-induced photosynthetic inhibition and oxidative damage. *Acta Physiol. Plant.* 38, 48.
- Yoon, B.-H., Lang, H.J., Cobb, B.G., 1997. Priming with salt solutions improves germination of pansy seed at high temperatures. *HortScience* 32, 248–250.
- Zhan, H., Nie, X., Zhang, T., Li, S., Wang, X., Du, X., Tong, W., Song, W., 2019. Melatonin: A small molecule but important for salt stress tolerance in plants. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 709.

- Zhang, H., Irving, L.J., McGill, C., Matthew, C., Zhou, D., Kemp, P., 2010. The effects of salinity and osmotic stress on barley germination rate: sodium as an osmotic regulator. *Ann. Bot.* 106, 1027–1035.
- Zhang, H., Zhang, Y., 2014. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions. *J. Pineal Res.* 57, 131–146.
- 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.). *J. Pineal Res.* 57, 269–279. <https://doi.org/10.1111/jpi.12167>
- Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., Guo, Y.D., 2015. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. *J. Exp. Bot.* 66, 647–656. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru336>
- 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. *Sci. Rep.* 7, 503.
- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H.J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z.C., Ren, S., Guo, Y.D., 2013. Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *J. Pineal Res.* 54, 15–23. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2012.01015.x>
- Zhang, R., Sun, Yunkuo, Liu, Z., Jin, W., Sun, Yan, 2017. Effects of melatonin on seedling growth, mineral nutrition, and nitrogen metabolism in cucumber under nitrate stress. *J. Pineal Res.* 62, e12403.
- Zhang, Y.P., Xu, S., Yang, S.J., Chen, Y.Y., 2017a. Melatonin alleviates cold-induced oxidative damage by regulation of ascorbate–glutathione and proline metabolism in melon seedlings (*Cucumis melo* L.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 92, 313–324.
- Zhang, Y.P., Yang, S.J., Chen, Y.Y., 2017b. Effects of melatonin on photosynthetic performance and antioxidants in melon during cold and recovery. *Biol. Plant.* 61, 571–578.
- Zhu, B., Xu, Q., Zou, Y., Ma, S., Zhang, X., Xie, X., Wang, L., 2019. Effect of potassium deficiency on growth, antioxidants, ionome and metabolism in rapeseed under drought stress. *Plant Growth Regul.* 1–12.
- Zhu, M., Zhou, M., Shabala, L., Shabala, S., 2017. Physiological and molecular mechanisms mediating xylem Na⁺ loading in barley in the context of salinity stress tolerance. *Plant. Cell Environ.* 40, 1009–1020.
- Zolezzi, M., Crawford, H., Abarca, P., Esquivel, C., 2017. Manual de manejo agronómico para cultivo de melón 92.