

DOI: 10.5846/stxb202104140966

方治国, 杨青, 谢俊婷, 都韶婷. 重金属污染土壤植物修复中细胞分裂素的作用与机制. 生态学报, 2022, 42(8): 3056-3065.

Fang Z G, Yang Q, Xie J T, Du S T. The role and mechanism of cytokinin in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(8): 3056-3065.

重金属污染土壤植物修复中细胞分裂素的作用与机制

方治国^{1,*}, 杨青¹, 谢俊婷¹, 都韶婷²

¹ 浙江工商大学环境科学与工程学院, 杭州 310016

² 浙江树人大学交叉科学研究院, 杭州 310015

摘要: 植物修复因投资成本低、环境扰动少、二次污染易控制、美化环境等优点成为重金属污染土壤修复重要的治理技术。植物内源细胞分裂素调控植物生理活动, 外源细胞分裂素对植物生理生态特征产生显著影响, 且在植物修复中逐渐受到研究人员的关注。细胞分裂素能够调控植物根茎发育、叶片衰老、激素传递等过程, 同时在重金属胁迫下也参与蒸腾、光合、抗性、解毒等系统的运转。以细胞分裂素对植物生理活动的调控作用研究为基础, 阐述了细胞分裂素在植物修复中的作用机制。主要包括: 增强光合作用, 延缓叶片衰老, 提升植物抗性能力; 调控根茎叶发育, 增加植物生物量, 强化植物富集效果; 增强转运蛋白表达, 提高叶片蒸腾作用, 促进重金属吸收转运; 参与解毒过程, 降低重金属毒性, 调控重金属体内转化。最后提出了细胞分裂素在重金属污染土壤植物修复中的研究方向, 这对促进细胞分裂素在植物修复中的实际应用具有重要意义。

关键词: 内源激素; 植物修复; 重金属污染; 细胞分裂素; 生化调控

The role and mechanism of cytokinin in phytoremediation of heavy metal contaminated soil

FANG Zhiguo^{1,*}, YANG Qing¹, XIE Juntong¹, DU Shaoting²

¹ School of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310016, China

² Interdisciplinary Research Academy (IRA), Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China

Abstract: Phytoremediation has become an important treatment technology for the remediation of heavy metal contaminated soil due to its advantages such as low investment cost, less environmental disturbance, easy control of secondary pollution, and beautification of the environment. Endogenous cytokinins regulate plant physiological activities and have a significant impact on the physiological and ecological characteristics of plants. And it has gradually attracted the attention of researchers in phytoremediation. Cytokinins regulate plant rhizome development, leaf senescence, hormone transmission and other processes. At the same time, it also participates in the operation of transpiration, photosynthesis, resistance, detoxification and other systems under heavy metal stress. Based on the research about the regulation of cytokinins on plant physiological activities, the paper expounds the mechanism of cytokinins in phytoremediation. We mainly include that: First, to enhance photosynthesis, delay leaf senescence, and enhance plant resistance. Second, to regulate the development of roots, stems and leaves, increase plant biomass, and strengthen plant enrichment effects. Third, to enhance the expression of transporters, improve leaf transpiration, and promote the absorption of heavy metals in plants. Fourth, to participate in the detoxification process, reduce the toxicity of heavy metals, and regulate the transformation of heavy metals in the body. Finally, the paper puts forward the research direction of cytokinins in the phytoremediation, which is of great significance to promote the practical application of cytokinins in phytoremediation.

基金项目: 国家自然科学基金(41977145); 浙江省自然科学基金(LY21D010005)

收稿日期: 2021-04-14; **网络出版日期:** 2021-12-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhgfang77@zjgsu.edu.cn

Key Words: endogenous hormones; phytoremediation; heavy metals; cytokinin; biochemical regulation

土壤是生态系统中物质与能量交换的重要场所,是人类赖以生存和发展的根本基础,土壤环境中重金属污染已受到各国科研人员的高度关注。重金属具有高毒性、持久性、隐蔽性和难降解性,进入环境后不断迁移,通过生物链富集作用直接或间接地危害人体健康^[1]。目前,重金属污染土壤的修复技术主要有物理修复、化学修复和生物修复等,在实践过程中也逐渐开展了多种修复方式的联合应用。植物修复因投资成本低、二次污染易控制、环境扰动少等优点受到研究学者的青睐^[2]。强化植物修复效果的技术手段主要有水肥调控、菌剂接入、基因工程、螯合钝化剂和土壤动物添加等,这些技术措施改变了植物的生长状态、生化特征和抗性等能力等,进而会影响植物修复的整体效果^[3]。

植物内源激素是植物体内存在调节生长发育的低浓度小分子有机物,共分为七大类:细胞分裂素(cytokinin, CTK)、生长素(auxin, IAA)、乙烯(ethylene)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、赤霉素(gibberellin, GA)、油菜素甾醇(brassinosteroids, BR)及其它植物激素(水杨酸、茉莉酸等)^[4]。随着科研人员对植物内源激素系统性研究的不断深入,发现其在重金属污染土壤植物修复中具有较强的应用潜力。近年来,IAA、ABA、GA 等内源激素在植物修复中的应用及作用机理已开展了大量研究,但与 CTK 相关的研究内容与作用机制报道较少^[5-7]。论文以 CTK 在调控植物生长发育及强化重金属污染土壤植物修复中所取得的研究成果为基础,重点整合了 CTK 对植物机体生理生化过程中的调控机理,系统论述了 CTK 对强化重金属污染土壤植物修复中的作用与机制,并展望了 CTK 在植物修复中的研究方向。

1 细胞分裂素的种类与作用机制

1.1 细胞分裂素的概念和种类

1957 年 Skoog 等^[8]通过对鲱鱼精子 DNA 样本进行高压灭菌纯化出一种名为激动素(kinetin, KT)的物质,用该物质对烟草(*Tobacco*)愈伤组织进行体外培育发现可促进愈伤组织细胞分裂;1963 年, Letham 等^[9]从玉米种子中提取出类似 KT 的物质,并发现该物质是一种天然存在高活性的细胞分裂刺激剂,最终命名为玉米素(zeatin, ZT)。随着科学研究不断深入, Skoog 等提出将所有与 KT 有相同作用的可促进植物细胞分裂、诱导叶芽形成、调控生长发育的化合物,统称为细胞分裂素(cytokinin, CTK)^[10]。

目前, CTK 主要分为自然存在和人工合成两大类,天然细胞分裂素是在 N⁶位具有类异戊二烯或芳香族侧链的腺嘌呤衍生物^[11],高等植物体内最丰富的类异戊二烯类 CTK 主要包括:异戊烯腺嘌呤(isopentenyl adenine, iP)、顺式玉米素(cis-zeatin, cZ)、反式玉米素(trans-zeatin, tZ)和二氢玉米素(dihydrozeatin, DHZ)^[10],而天然芳香族类 CTK 在植物体内含量较低,其中活性最高的 CTK 主要是 6-苄基腺嘌呤(6-Benzylaminopurine, 6-BA)以及它的相关衍生物^[12]。常见的人工合成 CTK 主要有 KT、6-BA、ZT、四氢吡喃苄基腺嘌呤(tetrahydropyranyl benzyladenine, PBA)等^[13],针对 CTK 对植物生长发育的作用机制与效果,人工合成的 CTK 外源物质在农业以及园艺方面有着广泛的应用。

1.2 细胞分裂素在植物生长过程中的作用

CTK 对于植物生长发育的调控作用主要包括:促进植物细胞分裂与分化、调节叶芽和根部生长、减轻顶端优势、延缓叶片衰老、促进叶绿体发育等。研究表明,植物七大类内源激素的主要作用机制与影响效果虽各不相同,但对于植物生理过程的调控往往涉及多种激素的共同参与^[14],其中 CTK 便与其他内源激素存在信号串扰与相互作用。例如:乙烯在植物体内调控衰老过程,诱导果实成熟,而 Zdarska 等^[15]研究发现植物根部的乙烯通过信号传递调节 CTK 多步磷酸化正调节剂 *arabidopsis response regulator10* (ARR10) 表达,激活了植物根部合成 CTK,进而促进根尖分生组织(root apical meristem, RAM)细胞分裂与发育,这表明乙烯与 CTK 彼此间的相互作用,调节着根部萌发与生长;ABA 主要是一种引起植物幼芽休眠、叶片脱落、生长延缓等生理作用的内源激素,而在干旱条件下, CTK 会与 ABA 产生拮抗作用,通过诱导叶片气孔闭合,提高植物对干旱

胁迫的耐受性^[16];GA 在高羊茅 (*Tall fescue*) 体内通过刺激蘖芽负调节基因 *teosinte branched1* (FaTB1) 表达,抑制分蘖芽生长发育^[17],而 Zhuang 等^[18]通过外源施加 10 $\mu\text{mol/L}$ 的 CTK,发现蘖芽抑制作用得到缓解,分蘖芽长度显著提升。以上结果皆表明 CTK 与内源激素间会通过信号传导、协同与拮抗等作用共同调控植物生理活动^[19]。

2 重金属污染土壤植物修复中细胞分裂素的作用与机制

2.1 增强光合作用,延缓叶片衰老,提升植物抗性能力

植物体内叶绿体是 CTK 作用的主要靶标之一,内源 CTK 激活叶绿体基因转录,外源 CTK 可提高叶绿体合成蛋白质水平,促进叶绿素合成酶的形成,增强植物光合作用^[20]。Lu 等^[21]发现在拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 内源 CTK 应答基因 *cytokinin-responsive gata1* (CGA1) 信号传导的下游,硝酸盐诱导的碳代谢基因 GATA, *nitrate-inducible carbon-metabolism-involved* (GNC) 受到刺激并转录,CGA1 和 GNC 作为叶绿体发生的两个主要转录调节因子,彼此相互作用促进了叶绿体分裂与生长;同时 Criado 等^[22]发现外源 6-BA 刺激小麦 (*Triticum aestivum* L.) 叶绿体基质膨胀,促进叶绿素含量增加,抑制蛋白质在体内降解,显著提高了叶片蛋白质和淀粉含量。内源 CTK 调节植物光合作用,而外源根部施加、叶面喷施 CTK 皆会促进体内叶绿素含量显著上升,降低叶绿体损伤,增强植物光合作用能力^[23]。

在叶片衰老初期,衰老启动子 *senescence-associated gene 12* (SAG12) 会被激活,促进异戊烯基转移酶基因 *isopentenyl transferase gene* (IPT) 合成 CTK^[24],生成的 CTK 会促进体内与脂肪酸代谢相关的蛋白质,如:脂氧合酶、酰基载体等蛋白表达,清除叶面细胞的活性氧自由基,同时 CTK 还会促进氮转运基因 *N transport-regulated gene1.1* (TaNRTs1.1, TaNRT1.3, TaNRT1.4) 表达,提高硝酸还原酶活性,减轻细胞膜氧化损伤^[25–26]。同时,Liu 等^[27]采用 0.01、0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 的 6-BA 进行水稻 (*Oryza sativa* L.) 叶片培育,发现叶片衰老速度与浓度呈负相关,且 6-BA 下调了氨基酸代谢基因 Osl20 和 Osh36、应激反应基因 Osl43 等 SAGs 代表性基因的转录水平,抑制了衰老基因表达,同时植物体内 6-BA 与茉莉酸调节叶绿素降解基因 *chlorophyll-degradation-related genes* (CDRGs) 表达,彼此间通过拮抗作用,调控叶片衰老过程^[28]。

因重金属胁迫致使植物体内产生大量活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS),引起植物代谢产物紊乱、脂质过氧化、酶活性降低、细胞膜损伤、细胞失活甚至死亡^[29],此时植物激活抗氧化系统,通过释放抗氧化物质抵御 ROS 损害。其中,Zhou 等^[30]在镉和锌复合污染条件下,对海滨锦葵 (*Kosteletzkya pentacarpos*) 施加 10 μM 的 t-ZR,显著降低了丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量;Wang 等^[31]在砷 (As) 污染土中种植 0、0.1、0.5、1.5 mg/L 的 KT 浸泡后的玉米 (*Maize*) 种子,收获后测定发现超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性在 0.5 mg/L 的处理组下提高 50%,其后逐渐下降;在 1.5 mg/L 处理时,体内过氧化物酶 (peroxidase, POD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性提高约 50%,体内 As 含量提高 3 倍。以上结果表明外源 CTK 能提高 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性,增加抗坏血酸、脯氨酸、可溶性蛋白等非酶抗氧化剂含量,同时降低 MDA、 H_2O_2 、超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 等膜脂质过氧化指标,减轻 ROS 积累与损伤,提高重金属胁迫抗性,这一作用保障了植物在重金属胁迫下良好生长状态,为重金属污染土壤植物修复奠定了坚实基础^[32–33]。

2.2 调控根茎叶发育,增加植物生物量,强化植物富集效果

植物内源 CTK 主要在根部产生,其会抑制根部生长因子表达,并与 IAA 产生拮抗作用,负调控根部生长。一方面,当 CTK 与 IAA 比值在根部低时才会促进细胞增殖,根部器官主要是由 RAM 分化而来^[34],在 RAM 发育初期,首先 CTK 信号表达增强^[35],在 IAA 接收信号后,会直接抑制 A 类 CTK 响应调节因子 ARR7 和 ARR15 表达,促进 CTK 负调节因子 *arabidopsis histidine phosphotransfer protein 6* (AHP6) 转录上升,其后 CTK 含量逐渐下降,与此同时 IAA 负调节蛋白 *short hypocotyl 2* (SHY2) 活性被抑制,IAA 外输载体蛋白 PIN-formed (PIN) 表达上升,IAA 合成逐渐上升^[36]。其后,CTK 又会通过 B 型 ARR 刺激 SHY2 信号表达,抑制 PIN 活性,阻碍 IAA 合成,因此,CTK 与 IAA 二者主要通过信号传递以及拮抗作用,协调根部发育^[37]。另一方面,内

源 CTK 还会下调根部促生长因子 *stunted plant 1* (STP1) 表达, Werner 等^[38] 发现在拟南芥细胞分裂素氧化酶/脱氢酶 *cytokinin oxidases dehydrogenase* (CKX) 过表达的突变体中, CTK 含量的降低导致 STP1 蛋白合成上升, 根部生长显著优于野生型, 因此 CTK 对于植物根部生长发育往往起到负调控作用。

植物内源 CTK 通过与茎尖分生组织 (shoot apical meristem, SAM) 相关基因的相互作用, 调控植物 SAM 区域活性与大小。首先, 在 SAM 中心与分生组织稳态和叶片发育有关的 I 类家族基因 *knotted1-like homeobox* (KNOX) 转录因子会直接激活 IPT 基因^[39], 促进区域内 CTK 合成, 促进 SAM 细胞分裂, Kurakawa 等^[40] 发现在水稻 SAM 中当 CTK 激活酶基因 *LONELY GUY* (LOG) 表达后, 会促进无活性的 CTK 转化为具有生物活性的游离碱形式, 致使 CTK 在特定发育域中被激活, 进而直接提高 SAM 活性。其次, 同源结构域转录因子 *WUSCHEL* (WUS) 是定义干细胞生态位的关键调节剂, 并且 WUS 是诱导 SAM 增殖分化的直接媒介^[41], CTK 通过 B 型 ARR 激活 SAM 中 WUS 的转录, 刺激分生组织启动与发育^[42]。同时, Chatfield 等^[43] 发现在拟南芥 ARR7 和 ARR15 过表达突变体内 CTK 含量显著下降, 与野生型相比 SAM 细胞活性、茎部发育都受到显著抑制, 由此表明 CTK 在茎尖分生组织局部激活、分裂分化、活性提高等方面发挥着关键作用。

植物富集是利用植物根系从土壤中吸收重金属并将其转移到可收获的地上部分, 并且可从植物的可收获部分中回收金属, 但如今许多超级累植物如印度芥菜 (*Brassica juncea*)、拟南芥、东南景天 (*Sedum alfredii* hance)、天蓝遏兰菜 (*Thlaspi caerulescens* L.) 等自身生物量较小^[44], 且多数植物在生长过程中存在一定程度的顶端优势, 抑制了侧枝发育^[45], 这更加减小了重金属蓄积空间, 导致植物修复效果难以达到预期要求。外源 CTK 的应用可减轻植物顶端优势, 促进叶片和侧芽细胞的分裂, 增加植物生物量, 扩大重金属蓄积体, 增强重金属富集效果。Luo 等^[46] 通过对桉树 (*Eucalyptus globulus*) 进行叶片喷施 20 mg/kg 的商业产品 CTK, 发现实验组整株生物量与对照相比增长了 39.1%, 同时 Thomas^[47] 等在铜 (Cu) 胁迫下, 发现在 CTK 过表达烟草中生物量显著增加, 成熟叶片中 Cu 富集量提高 8 倍。其实在植物茎叶部位, 当 CTK 与 IAA 比值高时, 会促进顶端以下腋芽枝条发育^[48], 此时外源 CTK 会转化为内源 t-ZR、IP, 而内源 CTK 的 B 型 ARR 信号因子会直接激活 CTK 受体蛋白组氨酸蛋白激酶 *arabidopsis histidine kinase 4* (AHK4)、CKX4/5、WUS 等基因表达, 进而促进叶片幼芽细胞分裂增殖^[49]。植物体内 CTK 对于根茎叶发育起到的基础调控作用, 为外源 CTK 应用增加植物生物量提供理论支持, 因此 CTK 能够通过扩大重金属植物蓄积体进而提高重金属富集量^[49]。

2.3 增强转运蛋白表达, 提高叶面蒸腾作用, 促进重金属吸收转运

重金属在植物体内的转运过程直接影响着根部对重金属的吸收程度, 转运蛋白是植物体内一类膜蛋白, 可实现跨膜转运养分、代谢产物、有毒污染物等生物分子, 转运蛋白对植物营养吸收、生长发育、体内稳态和胁迫反应至关重要^[50]。CTK 通过影响部分转运蛋白的表达, 调控植物对于重金属的吸收与转运。研究表明, 拟南芥对砷 (As) 的吸收量与体内磷酸盐转运蛋白 *phosphate transporter 1;1* (PHT1;1) 的表达密切相关^[51], Castrillo 等^[51-52] 在 As 胁迫下通过对拟南芥进行 qRT-PCR 分析发现, 当体内 CKX1 基因过表达时, 体内 PHT1;1 表达被抑制了 2.7 倍, 且体内 As 含量与对照组相比显著下降; Jiang 等^[53] 发现拟南芥功能缺失突变体 *ipt 1 3 5 7* 体内硒 (Se) 含量降低 47.8%, 而受体缺失突变体 AHK2 和 AHK3 体内 Se 含量增加 35.4%、24.1%, 由于亚硒酸盐被植物中的磷酸盐 (Pi) 转运蛋白吸收^[54], 通过对比分析发现 *ipt 1 3 5 7* 体内 PHT1;1、PHT1;8 转录分别降低了 57.4%、62.7%, 而突变体 AHK2、AHK3 体内 PHT1;1 转录提高 1.22、1.11 倍, PHT1;8 转录增加 0.86、0.76 倍, PHT1;9 增加 0.69 和 0.50 倍, 这些结果表明内源性 CTK 可通过促进转运蛋白的表达, 促进植物对污染物的吸收和积累。其实, 在植物机体内也存在着与重金属排毒有关的转运蛋白, 这些转运家族主要包括: ATP 结合盒式蛋白 *ATP-binding cassette* (ABC)、金属耐受蛋白 *metal tolerance protein* (MTP)、多药及有毒化合物外排蛋白 *multidrug and toxin extrusion* (MATE)、锌铁调控转运蛋白 *ZRT and IRT-like protein* (ZIP) 等^[55-57], 能够调控根部对重金属的吸收, 协调机体内部重金属的转运, 维持着胞内胞外毒物的平衡。目前, CTK 与各类转运蛋白相关性研究报道较少, 其作用机制仍需进一步探索和研究。

植物叶面气孔影响着植物蒸腾作用, 外源 CTK 可通过调控叶表皮气孔细胞活动, 增强蒸腾作用^[58], 促进

重金属吸收。一方面,CTK 与气孔发育关键转录因子 *speechless* (SPCH) 相互作用,调节气孔发育的起始,同时 CTK 通过 A 型 ARR16、ARR17 信号调控气孔谱系细胞的分裂,增加气孔数量^[59];另一方面,植物自身通过促进 ZjPYR1、SmGRP1 等基因的表达,增强气孔细胞对 ABA 的敏感性,抑制叶片气孔开放^[60-62],而 CTK 通过 B 型 ARR1,11,12 等抑制 ABA 正调节因子蔗糖非发酵-1 相关蛋白激酶基因 *sucrose non-fermenting-1-related protein kinase2* (SnPK2) 活性,与 ABA 产生拮抗作用,进而促进气孔开放^[63],同时 Marchadier 等^[64]通过对拟南芥外源施加 6-BA,发现降低了气孔细胞对于 ABA 的敏感程度,延缓气孔闭合,提高蒸腾作用。研究表明,植物蒸腾作用产生的向上作用力,影响着根部对可溶性污染物的吸收程度,且蒸腾强度与植物吸收呈正相关^[65-66],这意味着 CTK 能够通过正调节植物蒸腾作用,促进植物对于重金属的吸收。然而,Arnaud 等^[67]对拟南芥野生型和突变体 AHK3 外源施加 0.01—10 μ mol/L 的 t-Z,发现野生型随着浓度的上升,孔径逐渐减小,而 AHK3 缺失突变体孔径没有显著变化,这表明外源 t-Z 通过与 AHK3 作用诱导气孔关闭,抑制了蒸腾作用。因此,内源 CTK 调控植物气孔细胞分裂,提高气孔密度,同时促进气孔开放,增强了蒸腾作用,促进了植物对于重金属的吸收。然而,外源 CTK 的应用所产生的作用,则与种类、浓度、植物特性等有较大关系^[68]。同时,目前针对 CTK 与蒸腾作用以及植物修复之间的相关性研究还较少,彼此间的相互影响与关联机制仍需进一步研究。

2.4 参与解毒过程,降低重金属毒性,调控重金属体内转化

金属离子进入植物体内,会改变植物细胞现有的动力学和氧化还原系统,并对植物细胞膜、叶绿体、细胞核等产生毒性和损伤^[69],而 CTK 信号会被激活并且参与植物体内自身解毒过程,植物自身会释放谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、植物螯合素 (phytochelatins, PCs)、半胱氨酸 (cysteine, Cys) 等非蛋白巯基,与重金属发生络合反应,将毒性更低的络合物储存在液泡中,降低重金属离子的迁移^[70]。Mohan 等^[52]发现,在 As 胁迫下,通过对比研究 CKX1 基因突变体和野生型拟南芥体内 PCs 合成基因表达情况,发现突变体内部 CTK 含量下降,同时 *phytochelatase synthase 1* (PCS1)、*glutathione synthetase 2* (GSH2)、 *γ -glutamylcysteine synthetase* (γ -ECS) 等 PCs 合成基因的表达下降。Singh 等^[71]在 Cd 胁迫下对茄子 (*Solanum melongena* L.) 幼苗喷施 10 μ M 的 KT,发现 KT 处理组与对照相比,体内非蛋白巯基含量提高了 26%,这说明外源施加 CTK 能促进体内非蛋白巯基的合成。Cassina 等^[72]在镍 (Ni) 胁迫下,通过对超富集植物庭荠 (*Alyssum murale*) 进行叶片和根部施加 CTK,测定发现 CTK 并未使体内 Ni 积累量及硫醇浓度发生显著增加。这意味着 CTK 调控植物体内非蛋白巯基基因表达,调控解毒物质合成,参与植物体内重金属的解毒机制,但作用效果的强弱与浓度有一定关系^[73]。

植物体内金属硫蛋白是富含半胱氨酸的金属结合蛋白,维持金属稳态和应激反应,也是清除植物体内活性氧自由基的重要物质,在植物遭受重金属胁迫时可减轻毒性^[74]。Yuan 等^[75]通过外源施加 6-BA、t-Z 和 KT 影响了水稻根部初期发育时金属硫蛋白 *metallothionein2b* (OsMT2b) 基因的表达;Thomas 等^[47]在 Cu 胁迫下以 IPT 转基因与非转基因烟草为实验对象,对比分析了两者的体内金属硫蛋白 *metallothionein-like gene 2* (MT-L2) 基因表达水平,发现对照组烟草体内 MT-L2 mRNAs 转录水平显著下降,而实验组中由于 IPT 的过表达促进了 CTK 生物合成,在转基因烟草体内检测到 MT-L2 转录水平上升,同时在成熟叶片中 Cu 积累量增长了 8 倍。由此可见,内源 CTK 调控体内硫蛋白基因表达,而外源 CTK 施用则会影响体内金属硫蛋白含量,参与重金属解毒过程,提高植物对于重金属的积累。目前,有关 CTK 与多种金属硫蛋白家族相关基因如:AsMT、PoMT、HcMT、SpMT2 等的作用机制研究还不够充分深入^[76],仍需要进一步加强。

3 总结与展望

论文综述了植物内源激素 CTK 在调控植物生长发育及强化重金属污染土壤植物修复中的作用,明确了在植物修复中外源 CTK 能够有效促进植物生长、调节光合作用、促进重金属转运、强化抗性系统等 (图 1)。总体而言,低浓度 CTK 的应用能促进植物生长发育并强化植物修复效果,而高浓度 CTK 会对植物生长产生不

利的影响。CTK 作为植物外源激素已在农作物生产中广泛应用,它可显著提高农作物抗盐、抗旱等抗胁迫能力,且人工合成 CTK 具有价格低廉、种类广泛、应用便捷等特点,因此在重金属污染土壤植物修复中具有良好的应用前景。目前,CTK 在植物修复中的应用还存在不足之处,将来可以从以下方面开展深入研究:

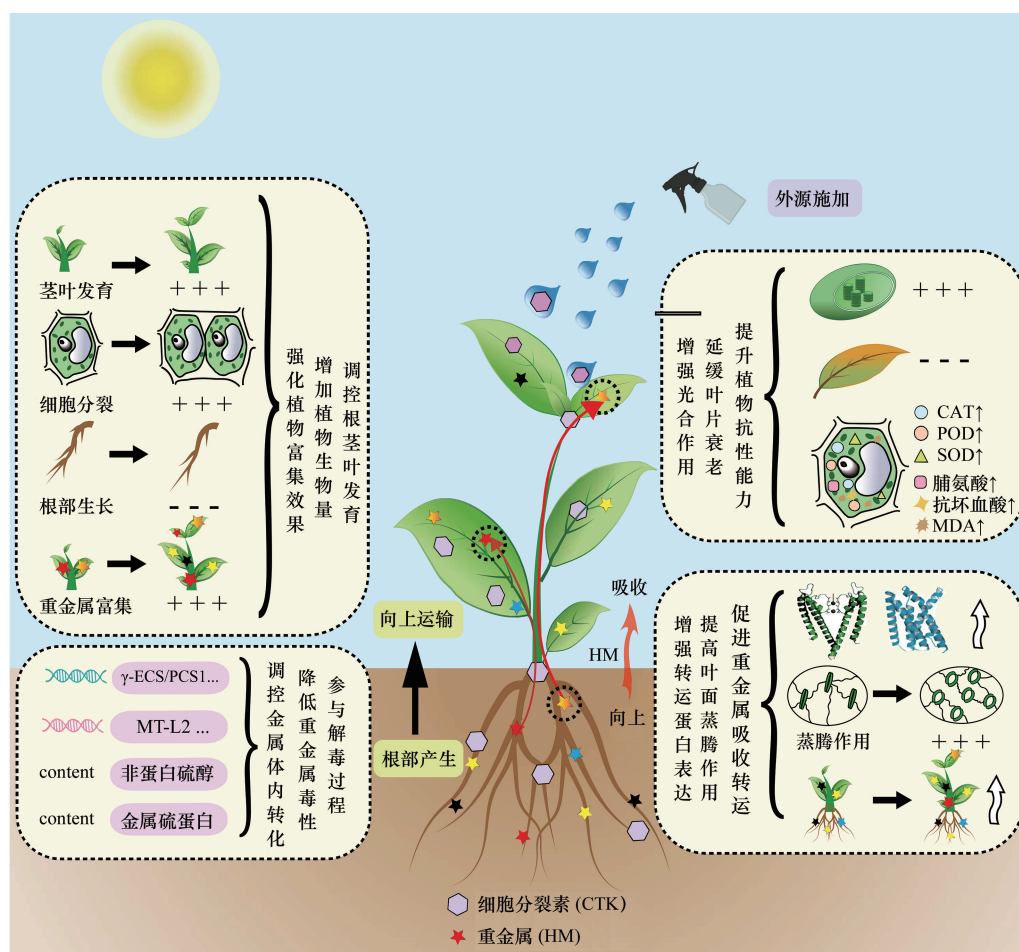


图1 细胞分裂素在重金属污染土壤植物修复过程中的作用机制

Fig.1 The mechanism of cytokinin in the process of heavy metal phyto remediation

(1) 完善 CTK 对重金属污染土壤植物修复的作用机制。目前多数研究侧重于 CTK 对植物生长过程的调控作用,忽略了 CTK 在植物修复过程中作用机理的研究。在植物修复中,植物挥发机理是通过将汞、砷、硒等重金属吸收至体内再经内部转化释放到大气中,内源 CTK 对体内金属离子转化的调控机制及外源 CTK 的应用是否会影响植物挥发的作用过程,目前都不得而知;在植物根际降解机制中,内源 CTK 对根系分泌物柠檬酸、苹果酸、草酸等产生是否具有调控作用,外源 CTK 的施加是否会影响植物根系对重金属的降解效果及相关的的作用机制,目前都还缺乏确切的解释。因此,应加强 CTK 对植物修复机理影响作用的研究,为 CTK 在重金属污染土壤植物修复中的应用提供更为完整的理论依据。

(2) 重点关注 CTK 对土壤结构、性质、酶活、微生物群落等的影响作用,总体把控 CTK 对污染土壤植物修复系统产生的效应。土壤中有有机质、氮磷钾含量、pH 等决定着植物营养元素的供给情况;土壤酶活性则是反映土壤质量和肥力的重要生物指标;而植物根系与土壤微生物构成的联合修复体系影响着植物对重金属的吸收积累。但目前的研究重点仍是 CTK 对植物地上部产生的影响作用,忽略了 CTK 对于土壤根系及微生物的研究。因此,应深入研究 CTK 对土壤生态系统的影响机制,探索 CTK 对于植物-土壤联合系统的作用。

(3) 拓展 CTK 联合超级累植物在实际修复工程中的应用,明确 CTK 对不同植物修复的强化效果。一方

面,工程项目中实施条件复杂,难以控制,这将导致 CTK 在实际应用时的降解速度、转化程度、强化效果的等均有改变。另一方面,采用超级累植物作为蓄积体进行修复应用较为广泛,但目前对超级累植物联合 CTK 进行修复的研究较少,且不同植物适用的 CTK 互不相同。因此,应将 CTK 联合植物修复技术应用于实际工程项目中,根据应用效果不断完善适应植物修复的外源 CTK 种类、施加浓度以及施加方式等因子。

(4) 明确重金属胁迫下外源 CTK 的应用对内源激素信号系统的作用机制。内源激素对于植物生长发育具有不可替代的作用,彼此间可通过代谢转化、协同拮抗、彼此调控等作用调节激素合成及植物生理活动,在诱导植物对生物及非生物胁迫的耐受性中发挥着重要作用。因此,明确重金属胁迫下 CTK 与各激素间的因子响应、基因转录、信号传递等过程,对深层次掌握 CTK 在植物修复中的作用有着重要意义。

参考文献(References):

- [1] Li F L, Qiu Y H, Xu X Y, Yang F, Wang Z W, Feng J R, Wang J D. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metals from sludge soil by Italian ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 191: 110185.
- [2] Li T, Li R X, Zhou Q X. The application and progress of bioelectrochemical systems (BESs) in soil remediation: a review. *Green Energy & Environment*, 2021, 6(1): 50-65.
- [3] 宗丹丹, 黄智刚. 重金属污染土壤的生物修复技术研究. *南方农机*, 2019, 50(13): 48-48, 50-50.
- [4] Sytar O, Kumari P, Yadav S, Brestic M, Rastogi A. Phytohormone priming: regulator for heavy metal stress in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2019, 38(2): 739-752.
- [5] Bashri G, Prasad S M. Exogenous IAA differentially affects growth, oxidative stress and antioxidants system in Cd stressed *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings: toxicity alleviation by up-regulation of ascorbate-glutathione cycle. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 132: 329-338.
- [6] Pan W, You Y, Shentu J L, Weng Y N, Wang S T, Xu Q R, Liu H J, Du S T. Absciscic acid (ABA)-importing transporter 1 (AIT1) contributes to the inhibition of Cd accumulation via exogenous ABA application in *Arabidopsis*. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 391: 122189.
- [7] Zhu X F, Jiang T, Wang Z W, Lei G J, Shi Y Z, Li G X, Zheng S J. Gibberellic acid alleviates cadmium toxicity by reducing nitric oxide accumulation and expression of *IRT1* in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 239-240: 302-307.
- [8] Skoog F, Miller C O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 1957, 11: 118-130.
- [9] Letham D S. Zeatin, a factor inducing cell division isolated from *Zea mays*. *Life Sciences*, 1963, 2(8): 569-573.
- [10] Bidon B, Kabbara S, Courdavaud V, Glévarec G, Oudin A, Héricourt F, Carpin S, Spíchal L, Binder B M, Cock J M, Papon N. Cytokinin and ethylene cell signaling pathways from prokaryotes to eukaryotes. *Cells*, 2020, 9(11): 2526.
- [11] Mok D W, Mok M C. Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, 52: 89-118.
- [12] Jaworek P, Tarkowski P, Hluska T, Kouřil Š, Vrobel O, Nisler J, Kopečný D. Characterization of five CHASE-containing histidine kinase receptors from *Populus × canadensis* cv. *Robusta* sensing isoprenoid and aromatic cytokinins. *Planta*, 2020, 251(1): 1.
- [13] Smýkalová I, Vrbová M, Cvečková M, Plačková L, Žukauskaitė A, Zatloukal M, Hrdlička J, Plíhalová L, Doležal K, Griga M. The effects of novel synthetic cytokinin derivatives and endogenous cytokinins on the in vitro growth responses of hemp (*Cannabis sativa* L.) explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2019, 139(2): 381-394.
- [14] Ayangbenro A S, Babalola O O. A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2017, 14(1): 94.
- [15] Zdarska M, Cuyacot A R, Tarr P T, Yamoune A, Szmikowska A, Hrdinová V, Gelová Z, Meyerowitz E M, Hejácíto J. ETR1 integrates response to ethylene and cytokinins into a single multistep phosphorelay pathway to control root growth. *Molecular Plant*, 2019, 12(10): 1338-1352.
- [16] 黄小珍. 细胞分裂素与脱落酸信号通路拮抗调控拟南芥逆境应答的分子机制[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
- [17] Hubbard L, Mcsteven P, Doebley J, Hake S. Expression patterns and mutant phenotype of *teosinte branched1* correlate with growth suppression in maize and teosinte. *Genetics*, 2002, 162(4): 1927-1935.
- [18] Zhuang L L, Ge Y, Wang J, Yu J J, Yang Z M, Huang B R. Gibberellic acid inhibition of tillering in tall fescue involving crosstalks with cytokinins and transcriptional regulation of genes controlling axillary bud outgrowth. *Plant Science*, 2019, 287: 110168.
- [19] Woo H R, Kim H J, Lim P O, Nam H G. Leaf senescence: systems and dynamics aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 2019, 70: 347-376.
- [20] Danilova M N, Doroshenko A S, Kudryakova N V, Andreeva A A, Kusnetsov V V. Plastome transcription machinery and peculiarities of the expression of its genes during cytokinin-dependent deetiolation of *Arabidopsis thaliana*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2018, 65(6):

801-812.

- [21] Lu G W, Casaretto J A, Ying S, Mahmood K, Liu F, Bi Y M, Rothstein S J. Overexpression of *OsGATA12* regulates chlorophyll content, delays plant senescence and improves rice yield under high density planting. *Plant Molecular Biology*, 2017, 94(1/2): 215-227.
- [22] Criado M V, Caputo C, Roberts I N, Castro M A, Barneix A J. Cytokinin-induced changes of nitrogen remobilization and chloroplast ultrastructure in wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(16): 1775-1785.
- [23] Dobránszki J, Mendlér-Drienyovszki N. Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of *in vitro* apple leaves. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171(16): 1472-1478.
- [24] Jan S, Abbas N, Ashraf M, Ahmad P. Roles of potential plant hormones and transcription factors in controlling leaf senescence and drought tolerance. *Protoplasma*, 2019, 256(2): 313-329.
- [25] Hu J, Ren B Z, Dong S T, Liu P, Zhao B, Zhang J W. Comparative proteomic analysis reveals that exogenous 6-benzyladenine (6-BA) improves the defense system activity of waterlogged summer maize. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 44.
- [26] Wang W Q, Hao Q Q, Wang W L, Li Q X, Chen F J, Ni F, Wang Y, Fu D L, Wu J J, Wang W. The involvement of cytokinin and nitrogen metabolism in delayed flag leaf senescence in a wheat stay-green mutant, *tasg1*. *Plant Science*, 2019, 278: 70-79.
- [27] Liu L, Li H X, Zeng H L, Cai Q S, Zhou X, Yin C X. Exogenous jasmonic acid and cytokinin antagonistically regulate rice flag leaf senescence by mediating chlorophyll degradation, membrane deterioration, and senescence-associated genes expression. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2016, 35(2): 366-376.
- [28] Garg R, Tyagi A K, Jain M. Microarray analysis reveals overlapping and specific transcriptional responses to different plant hormones in rice. *Plant Signaling & Behavior*, 2012, 7(8): 951-956.
- [29] Tavanti T R, De Melo A A R, Moreira L D K, Sanchez D E J, Dos Santos Silva R, Da Silva R M, Dos Reis A R. Micronutrient fertilization enhances ROS scavenging system for alleviation of abiotic stresses in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2021, 160: 386-396.
- [30] Zhou M X, Ghnaya T, Dailly H, Cui G L, Vanpee B, Han R M, Lutts S. The cytokinin *trans*-zeatine riboside increased resistance to heavy metals in the halophyte plant species *Kosteletzkya pentacarpos* in the absence but not in the presence of NaCl. *Chemosphere*, 2019, 233: 954-965.
- [31] Wang H J, Dai B Y, Shu X G, Wang H B, Ning P. Effect of kinetin on physiological and biochemical properties of maize seedlings under arsenic stress. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2015, 2015: 714646.
- [32] Piotrowska-Niczyporuk A, Bajguz A, Zambrzycka-Szelewa E, Bralska M. Exogenously applied auxins and cytokinins ameliorate lead toxicity by inducing antioxidant defence system in green alga *Acutodesmus obliquus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 132: 535-546.
- [33] Piotrowska-Niczyporuk A, Bajguz A, Zambrzycka E, Godlewska-Żyłkiewicz B. Phytohormones as regulators of heavy metal biosorption and toxicity in green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 52: 52-65.
- [34] Zhang W J, Swarup R, Bennett M, Schaller G E, Kieber J J. Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the *Arabidopsis* root apical meristem. *Current Biology*, 2013, 23(20): 1979-1989.
- [35] Müller B, Sheen J. Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. *Nature*, 2008, 453(7198): 1094-1097.
- [36] Liu J L, Moore S, Chen C L, Lindsey K. Crosstalk complexities between auxin, cytokinin, and ethylene in *Arabidopsis* root development: from experiments to systems modeling, and back again. *Molecular Plant*, 2017, 10(12): 1480-1496.
- [37] Moore S, Liu J L, Zhang X X, Lindsey K. A recovery principle provides insight into auxin pattern control in the *Arabidopsis* root. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 43004.
- [38] Werner T, Motyka V, Laucou V, Smets R, Van Onckelen H, Schmulling T. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *The Plant Cell*, 2003, 15(11): 2532-2550.
- [39] Veit B. Hormone mediated regulation of the shoot apical meristem. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(4): 397-408.
- [40] Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, Sakakibara H, Kyoizuka J. Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme. *Nature*, 2007, 445(7128): 652-655.
- [41] Wang J, Tian C H, Zhang C, Shi B H, Cao X W, Zhang T Q, Zhao Z, Wang J W, Jiao Y L. Cytokinin signaling activates *WUSCHEL* expression during axillary meristem initiation. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1373-1387.
- [42] Meng W J, Cheng Z J, Sang Y L, Zhang M M, Rong X F, Wang Z W, Tang Y Y, Zhang X S. Type-B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS specify the shoot stem cell niche by dual regulation of *WUSCHEL*. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1357-1372.
- [43] Chatfield S P, Capron R, Severino A, Penttilä P A, Alfred S, Nahal H, Provart N J. Incipient stem cell niche conversion in tissue culture: using a systems approach to probe early events in *WUSCHEL*-dependent conversion of lateral root primordia into shoot meristems. *The Plant Journal*, 2013, 73(5): 798-813.

- [44] 王-宁, 王艳, 王浙锋. 重金属污染土壤植物修复技术发展现状分析. 节能与环保, 2020, (5): 26-27.
- [45] Dodsworth S. A diverse and intricate signalling network regulates stem cell fate in the shoot apical meristem. *Developmental Biology*, 2009, 336(1): 1-9.
- [46] Luo J, Cai L M, Qi S H, Wu J, Gu X W S. Improvement effects of cytokinin on EDTA assisted phytoremediation and the associated environmental risks. *Chemosphere*, 2017, 185: 386-393.
- [47] Thomas J C, Perron M, Larosa P C, Smigocki A C. Cytokinin and the regulation of a tobacco metallothionein - like gene during copper stress. *Physiologia Plantarum*, 2005, 123(3): 262-271.
- [48] Sosnowski J, Malinowska E, Jankowski K, Król J, Redzik P. An estimation of the effects of synthetic auxin and cytokinin and the time of their application on some morphological and physiological characteristics of *Medicago x varia* T. Martyn. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2019, 26(1): 66-73.
- [49] Zhang Z J, Tucker E, Hermann M, Laux T. A molecular framework for the embryonic initiation of shoot meristem stem cells. *Developmental Cell*, 2017, 40(3): 264-277.
- [50] Larsen B, Xu D Y, Halkier B A, Nour-Eldin H H. Advances in methods for identification and characterization of plant transporter function. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(15): 4045-4056.
- [51] Castrillo G, Sanchez-Bermejo E, De Lorenzo L, Crevillén P, Fraile-Escanciano A, Tc M, Mouriz A, Catarchea P, Sobrino-Plata J, Olsson S, Del Puerto Y L, Mateos I, Rojo E, Hernández L E, Jarillo J A, Piñeiro M, Paz-Ares J, Leyva A. WRKY6 transcription factor restricts arsenate uptake and transposon activation in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 2013, 25(8): 2944-2957.
- [52] Mohan T C, Castrillo G, Navarro C, Zarco-Fernández S, Ramireddy E, Mateo C, Zamarreño A M, Paz-Ares J, Muñoz R, García-Mina J M, Hernández L E, Schmölling T, Leyva A. Cytokinin determines thiol-mediated arsenic tolerance and accumulation. *Plant Physiology*, 2016, 171(2): 1418-1426.
- [53] Jiang L, Liu C X, Cao H M, Chen Z P, Yang J, Cao S Q, Wei Z J. The role of cytokinin in selenium stress response in *Arabidopsis*. *Plant Science*, 2019, 281: 122-132.
- [54] Schiavon M, Pilon-Smits E A H. The fascinating facets of plant selenium accumulation-biochemistry, physiology, evolution and ecology. *New Phytologist*, 2017, 213(4): 1582-1596.
- [55] Wang H Z, Liu S Q, Xun X G, Li M L, Lou J R, Zhang Y H, Shi J X, Hu J J, Bao Z M, Hu X L. Toxin- and species-dependent regulation of ATP-binding cassette (ABC) transporters in scallops after exposure to paralytic shellfish toxin-producing dinoflagellates. *Aquatic Toxicology*, 2021, 230: 105697.
- [56] Arrivault S, Senger T, Krämer U. The *Arabidopsis* metal tolerance protein AtMTP3 maintains metal homeostasis by mediating Zn exclusion from the shoot under Fe deficiency and Zn oversupply. *The Plant Journal*, 2006, 46(5): 861-879.
- [57] Coninx L, Smisdom N, Kohler A, Arnauts N, Ameloot M, Rineau F, Colpaert J V, Ruytinx J. *SLZRT2* encodes a ZIP family Zn transporter with dual localization in the ectomycorrhizal fungus *Suillus luteus*. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2251.
- [58] Xu K, Guo L, Ye H. A naturally optimized mass transfer process: the stomatal transpiration of plant leaves. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 234-235: 138-144.
- [59] Vatén A, Soyars C L, Tarr P T, Nimchuk Z L, Bergmann D C. Modulation of asymmetric division diversity through Cytokinin and SPEECHLESS regulatory interactions in the *Arabidopsis* stomatal lineage. *Developmental Cell*, 2018, 47(1): 53-66.e5.
- [60] Gomez-Cadenas A, Vives V, Zandalinas S I, Manzi M, Sanchez-Perez A M, Perez-Clemente R M, Arbona V. Absciscic Acid: a versatile phytohormone in plant signaling and beyond. *Current Protein & Peptide Science*, 2015, 16(5): 413-434.
- [61] Qi L T, Zheng Y G, Wang P Y, Song J N, Jing S S, Xu L J, Zhou X Y, Hao Z Q, Yan Y P, Liu Z. Overexpression of a sour jujube gene *ZjPYR1*, encoding a putative abscisic acid receptor, increases sensitivity of the stomata and roots to ABA in *Arabidopsis thaliana*. *Gene Expression Patterns*, 2020, 36: 119117.
- [62] Liu Y C, Ma W, Zhou W, Li L, Wang D H, Li B, Wang S Q, Pan Y Q, Yan Y P, Wang Z Z. The cytosolic protein GRP1 facilitates abscisic acid- and darkness-induced stomatal closure in *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Plant Physiology*, 2020, 245: 153112.
- [63] Huang X Z, Hou L Y, Meng J J, You H W, Li Z, Gong Z Z, Yang S H, Shi Y T. The antagonistic action of abscisic acid and cytokinin signaling mediates drought stress response in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 2018, 11(7): 970-982.
- [64] Marchadier E, Hetherington A M. Involvement of two-component signalling systems in the regulation of stomatal aperture by light in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 2014, 203(2): 462-468.
- [65] Schwalbert R, Stefanello L O, Schwalbert R A, Tarouco C P, Drescher G L, Trentin E, Tassinari A, Da Silva I B, Brunetto G, Nicoloso F T. Soil tillage affects soybean growth and promotes heavy metal accumulation in seeds. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 216: 112191.
- [66] Naeem A, Saifullah, Zia-Ur-Rehman M, Akhtar T, Zia M H, Aslam M. Silicon nutrition lowers cadmium content of wheat cultivars by regulating

- transpiration rate and activity of antioxidant enzymes. *Environmental Pollution*, 2018, 242: 126-135.
- [67] Arnaud D, Lee S, Takebayashi Y, Choi D, Choi J, Sakakibara H, Hwang I. Cytokinin-mediated regulation of reactive oxygen species homeostasis modulates stomatal immunity in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 2017, 29(3): 543-559.
- [68] Rostami S, Azhdarpoor A. The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils; a review. *Chemosphere*, 2019, 220: 818-827.
- [69] Mahar A, Wang P, Ali A, Awasthi M K, Lahori A H, Wang Q, Li R H, Zhang Z Q. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils; a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 126: 111-121.
- [70] 侯明, 霍岩, 张志专, 韦明奉. 土壤外源钒施加对玉米中钒积累、亚细胞分布和非蛋白巯基含量的影响. *农业环境科学学报*, 2020, 39(5): 964-972.
- [71] Singh S, Prasad S M. Growth, photosynthesis and oxidative responses of *Solanum melongena* L. seedlings to cadmium stress; mechanism of toxicity amelioration by kinetin. *Scientia Horticulturae*, 2014, 176: 1-10.
- [72] Cassina L, Tassi E, Morelli E, Giorgetti L, Remorini D, Chaney R L, Barbaferi M. Exogenous cytokinin treatments of an NI hyper-accumulator, *Alyssum murale*, grown in a serpentine soil: implications for phytoextraction. *International Journal of Phytoremediation*, 2011, 13(S1): 90-101.
- [73] Piotrowska-Niczyporuk A, Bajguz A, Kotowska U, Zambrzycka-Szelewa E, Sienkiewicz A. Auxins and cytokinins regulate phytohormone homeostasis and thiol-mediated detoxification in the green alga *Acutodesmus obliquus* exposed to lead stress. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 10193.
- [74] 彭佳师, 易红英, 龚继明. 超积累植物伴矿景天镉耐受基因 *SpMT2* 的分离及功能鉴定. *生物工程学报*, 2020, 36(3): 541-548.
- [75] Yuan J, Chen D, Ren Y J, Zhang X L, Zhao J. Characteristic and expression analysis of a metallothionein gene, *OsMT2b*, down-regulated by cytokinin suggests functions in root development and seed embryo germination of rice. *Plant Physiology*, 2008, 146(4): 1637-1650.
- [76] Saeed-Ur-Rahman, Khalid M, Hui N, Kayani S I, Tang K X. Diversity and versatile functions of metallothioneins produced by plants; a review. *Pedosphere*, 2020, 30(5): 577-588.