

伴矿景天 SpMTP10 介导锰积累的机制

陈思颖^{1,2†}, 王晶琳^{1†}, 李颖怡¹, 卢湘鑫¹, 张培红¹, 邱庆红¹, 高艳^{1,2}, 顾天宇^{1,2}, 彭佳师^{1,2*}

¹ 湖南科技大学生命科学与健康学院, 湘潭 411201;

² 经济作物遗传改良与综合利用湖南省重点实验室/重金属污染土壤生态修复与安全利用湖南省高校重点实验室, 湖南湘潭 411201

摘要 锰(Mn)是植物必需矿质元素, 其缺乏或过量都会影响植物的生长发育。鉴定植物中介导 Mn 积累的关键基因并揭示其作用机制, 对于相关作物遗传改良以及 Mn 污染生物修复都具有重要意义。本研究从超积累植物伴矿景天(*Sedum plumbizincicola*)中克隆了一个阳离子扩散促进子(CDF, cation diffusion facilitator)家族成员基因 SpMTP10 (metal tolerance protein 10)。其在酵母中表达后能够极大地增强转化子对过量 Mn 胁迫的耐受性, 同时转化子中 Mn 的积累增加, 但是对镉(Cd)、锌(Zn)、铜(Cu)、铁(Fe)等其他金属元素过量胁迫的耐受性以及积累的作用不明显。亚细胞定位分析表明其定位于内质网膜。在拟南芥中异源表达 SpMTP10 使植物根部 Mn 积累减少, 地上部 Mn 积累增多, 且对过量 Mn 胁迫更加敏感。综上所述, SpMTP10 可能通过促进 Mn 向内质网的区隔增加酵母对过量 Mn 毒害的耐受性; 而在植物中表达后, SpMTP10 介导的 Mn 向内质网的转运则可能增加了内质网腔中的 Mn 通过胞间连丝进行在细胞间的迁移, 从而在促进根部的 Mn 向维管组织的装载并往地上部转运的过程中发挥作用。

关键词 锰, 内质网, 金属耐受蛋白, 伴矿景天

陈思颖, 王晶琳, 李颖怡, 卢湘鑫, 张培红, 邱庆红, 高艳, 顾天宇, 彭佳师 (2026). 伴矿景天 SpMTP10 介导锰积累的机制. 植物学报 61, 1–1

锰(Mn)是多种脱羧酶、糖基转移酶、RNA 聚合酶等酶系的辅因子, 同时在光合作用、氧化还原平衡调节等过程中都发挥重要作用, 是植物生长必需的矿质元素(Peiter et al., 2007)。但是作为一种痕量金属元素, 土壤中过量的 Mn 会对植物造成毒害。特别是对于一些酸性(pH<5.0)或排水不充分且氧化还原电位低的土壤, 由于 Mn 的有效性增加, Mn 毒害已经成为限制植物生长的重要因素之一(Takemoto et al., 2017)。已有研究表明, 过量 Mn 会通过芬顿反应产生活性氧(如 OH·和 O₂·)来触发氧化胁迫, 导致代谢途径中断, 类囊体结构和大分子受损(Millaleo et al., 2010; 张玉秀等, 2010)。因此, Mn 毒害会抑制酶活性, 减弱叶绿素的生物合成和光合作用, 并影响其他矿质元素的吸收和转运(Li et al., 2019)。此外, 一些 Mn 矿区由于尾矿渣等的排放, 导致土壤 Mn 含量过高, 威胁植物的生长和人体健康。如湘潭锰矿矿渣废弃地土壤中 Mn 含量的平均值高达 7990.21 mg·kg⁻¹, 是湖南省背景值(459 mg·kg⁻¹)的近 18 倍(方晰等, 2006)。

为了应对 Mn 缺乏/过量的胁迫, 植物通过调控 Mn 的吸收、外排和运输, 精密调控体内 Mn 的稳态(Alejandro et al., 2020; 彭佳师等, 2024)。其中, 膜转运蛋白在维持植物体内 Mn 的稳态和介导 Mn 毒害的解毒中起着至关重要的作用, 包括 NRAMP (natural resistance associated macrophage protein)家族成员、ZIP (zrt/irt-like protein)家族成员、YSL (Yellow stripe-like)家族成员以及 CDF (cation diffusion facilitator)家族成员等。CDF 在植物中亦称为金属耐受蛋白(metal tolerance protein, MTP), 作为质子反向转运蛋白, 能将二价阳离子从胞质转移到质外体空间或细胞器中, 在金属离子转运和耐受中发挥重要作用。根据转运底物, 植物 CDF 家族成员可分为三个亚家族, 分别是 Zn-CDFs, Fe/Zn-CDFs 和 Mn-CDF (Montanini et al., 2007)。一般 MTP8/9/10/11 属于 Mn-CDF 亚家族成员, 在植物积累或耐受 Mn 的过程中发挥作用(Zhao et al., 2024)。在拟南芥中, 定位于液泡膜的 AtMTP8 蛋白参与对高 Mn 低 Fe 的应激响应; 此外 AtMTP8 还参与 Mn 在子叶和下胚轴的特异性积累以及

收稿日期: 2025-04-02; 接受日期: 2025-07-29

基金项目: 湖南省自然科学基金(No.2024JJ6213), 湖南省教育厅科学研究项目(No.23A0372, No.24A0352), 大学生创新创业训练计划项目(S202410534051)

† 共同第一作者

* 通讯作者。E-mail: jspeng@hnust.edu.cn

Mn/Fe 在种子中的重新分配, 以确保发芽(Chen et al., 2013; Eroglu et al., 2017; Takemoto et al., 2017); 定位于反式高尔基体或液泡前体的 AtMTP11 在能将 Mn 区隔到液泡或高尔基体中进行解毒 (Delhaize et al., 2007; Peiter et al., 2007)。在水稻中, OsMTP8.1 和 OsMTP8.2 均定位于液泡膜, 通过将 Mn 区隔到根和地上部液泡中共同调节 Mn 的耐受性, 双突变体 *mtp8.1mtp8.2* 出现生长迟缓和 Mn 敏感表型(Chen et al., 2013; Takemoto et al., 2017; Tsunemitsu et al., 2018); OsMTP9 极性定位于成熟根区外皮层和内皮层的近端, 与负责 Mn 吸收的 OsNramp5 定位相反, 充当 Mn 的外排转运蛋白, 负责将 Mn 转运到根的中柱(Ueno et al., 2015); OsMTP11 是定位于高尔基体反面网络结构的 Mn 转运蛋白, 胞外高 Mn 胁迫会显著触发 OsMTP11 在质膜上的重新定位, 过表达 OsMTP11 可增强水稻对 Mn 的耐受性(Zhang and Liu, 2017; Ma et al., 2018)。此外, 从茶树(*Camellia sinensis*)、油菜(*Brassica napus*)、莲(*Nelumbo nucifera*)、大豆(*Glycine max*)等植物中也鉴定到 Mn-CDF 亚家族成员基因参与 Mn 的转运过程(Pedas et al., 2014; Gu et al., 2022; Zhao et al., 2024; Hu et al., 2025)。

伴矿景天是在我国发现的景天科矿生 Cd/Zn 超积累植物, 其自然栖息地的土壤中 Mn 的含量超过 10000 mg·kg⁻¹, 且体内也含有较高浓度的 Mn (Peng et al., 2017a), 暗示伴矿景天可能具有高效的 Mn 吸收转运及解毒能力。因此, 本研究以伴矿景天为研究对象, 鉴定介导 Mn 积累/耐受的基因 *SpMTP10*, 并研究了其生物学功能。

1 材料与方法

1.1 生物材料及培养

伴矿景天(*Sedum plumbizincicola* X. H. Guo & S. B. Zhou ex L. H. Wu)采集自浙江省衢州市灰坪乡一处废弃的锌/铅矿(N29°14'29", E118°50'32"), 实验室条件下的土培扩繁和种植, 以及营养液培养的方法均参考(彭佳师等, 2014, 2020)。本研究选择拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.) Col-0 生态型作为对照。酵母菌株为 $\Delta yap1$ 突变体(MAT α *ura3 lys2 ade2 trp1 leu2 YAP1::LEU2*)及其野生型 Y252 (MAT α *ura3 lys2 ade2 trp1 leu2*)、 $\Delta zrc1$ 突变体(MAT α *can1-100(oc) his3 leu2 trp1 ura3-52 ZRC1::HIS3*)及其野生型 CM100 (MAT α *can1-100oc his3 leu2 trp1 ura3-52*)、 $\Delta ccc1$ 突变体(MAT α *ura3-52 leu2-3 112trp1-1 his3-11 15ade2-1 can1-100(oc) CCC1::HIS3*) 及其野生型 DT150 (MAT α *ura3-52 leu2-3 112trp1-1 his3-11 15ade2-1 can1-100(oc)*)、 $\Delta cup2$ 突变体(MAT α *his3 leu2 met15 ura YGL166w::kan MX4*)及其野生型菌株 BY4741(MAT α *his3 leu2 met15 ura3D0*) (胡衡亮等, 2024)。

1.2 序列信息

SpMTP10 的 CDS 序列已经投递到 GeneBank, 序列号(Accession Number)为 MZ781327。

本研究涉及的拟南芥和水稻的 MTPs 蛋白的序列从 uniprot 数据库下载 (<https://www.uniprot.org/>)。序列号如下: AtMTP1(Q9ZT63)、AtMTP2(Q9M271)、AtMTP3(Q9LXS1)、AtMTP4(Q6DBM8)、AtMTP5(Q6ICY4)、AtMTP6(Q8L725)、AtMTP7(Q8H1G3)、AtMTP8(Q9M2P2)、AtMTP9(Q9SAJ7)、AtMTP10(Q0WU02)、AtMTP11(O80632)、AtMTP12(Q9SI03)、OsMTP1(Q688R1)、OsMTP2(Q10LJ2)、OsMTP3(Q6Z7K5)、OsMTP4(Q10PP8)、OsMTP5(Q5NA18)、OsMTP6(Q0DHJ5)、OsMTP8(Q8H329)、OsMTP9(Q9LDU0)。

1.3 基因的克隆与酵母表型鉴定

SpMTP10 的 CDS 序列以及克隆引物设计参考前期转录组测序的拼接数据 (Peng et al., 2017b)。以伴矿景天根部和地上部 cDNA 混合后作为模板进行 PCR 扩增 *SpMTP10* 基因。引物序列为: 5'-cgggatccATGGAACCGACGCCAACCC-3' 和 5'-cggaattcTCAAGCCTTGTGCTCTGG-3'(限制性内切酶的酶切位点用下划线标出, 下同)。用 *Bam*HI 和 *Eco*RI 连入酵母表达载体 pYES2, 并转化酵母(Eible, 1992)。挑取阳性酵母单克隆用新鲜的液体培养基培养至对数生长期后, 离心收集菌体, 用无菌水重悬, 并将菌液依次稀释至 OD₆₀₀=1, 0.1, 0.01, 0.001。分别取 10 μ L 菌体悬液滴至含有不同浓度重金属的培养基平板上, 28 $^{\circ}$ C 倒置培养 5-7 天, 拍照记录(张培红等, 2022)。

1.4 qRT-PCR 检测基因表达

营养液培养 6 周的伴矿景天用 50 μ mol·L⁻¹ Cd 或 500 μ mol·L⁻¹ Mn 处理 3 天后, 分别提取根、茎和叶组织的总 RNA, 反转录成 cDNA, 利用实时荧光定量 PCR 检测 *SpMTP10* 基因

在伴矿景天的相对表达量。引物序列如下：5'-TAGACACCGTGCGAGCTTAC-3'和 5'-CACCGATGTTGTGTGCTTGG-3'。以 *SpActin2* 基因作为内参对照，引物为 5'-ATGTTCCCTGGTATTGCTGACCGT-3'和 5'-TCCACATCTGCTGGAAGGTGCTTA-3'(王垚等, 2022)。

1.5 亚细胞定位观察

利用同源重组的方法，以 5'-ttcctgcagccccgggggatccATGGAACCGACGCCAACCGG-3'和 5'-gcccttgctcaccataactagtAGCCTTGTGCTCTGGCCTAT-3'为引物扩增 *SpMTP10* 的 CDS 片段，将其连入 pA7-eYFP 载体。将 *SpMTP10*-eYFP 与 *AtWAK2*-mCherry-HDEL(Nelson et al., 2007)瞬时表达载体共转化拟南芥原生质体中(Chen et al., 2021)，用共聚焦显微镜(Leica-SP8)观察亚细胞定位情况，设置黄色激发光波长=514nm，发射波长=525-575nm；红色激发光波长=543nm，发射波长=583-697nm；紫色激发光波长=488nm，发射波长=650-750nm。

1.6 金属含量测定

对数生长期酵母用 4 mmol·L⁻¹ Mn 处理 6 小时后，离心收集细胞材料；营养液培养 3 周的拟南芥，用 250 μmol·L⁻¹ Mn 处理 3 天后，收集植物材料。将所收集的材料依次用超纯水、5 mmol·L⁻¹ 的 EDTA、超纯水各洗 2 次，每次 5 分钟。清洗好后烘干，称干重，用 65%浓硝酸溶解，稀释，用电感耦合等离子质谱(ICP-MS)测定 Mn 离子含量(顾天宇等, 2020)。

1.7 拟南芥转基因株系的构建及表型鉴定

利用同源重组的方法，以 5'-acgggggactctagaggatccATGGAACCGACGCCAACC-3'和 5'-gcccttgctcaccataactagtTCAAGCCTTGTGCTCTGG-3' 为引物，构建 35S::*SpMTP10*-pCambia1300 过表达二元载体。将生长状态良好的土培拟南芥花序浸泡在成功转化 35S::*SpMTP10*-pCambia1300 的农杆菌 GV3101 溶液中，伴随轻晃进行侵染 60-90 秒，收集植物种子后在含有潮霉素的培养基上筛选转基因阳性苗(张雪洁等, 2023)，随后经传代得到纯合株系 *SpMTP10-1*，*SpMTP10-2*。将垂直培养长势一致的 4 日龄幼苗移至 Mn 处理培养基上，垂直培养 5 天后统计根延伸情况(Peng et al., 2007a)。

2 结果与分析

2.1 *SpMTP10* 的序列分析与表达模式

我们前期对伴矿景天的转录组进行了测序和注释(Peng et al., 2017b)。鉴于 MTP 家族成员在调控植物 Mn 积累或耐受过程中的关键作用，我们在转录组结果中注释为 MTP 家族成员的基因中鉴定到一个能够介导酵母对过量 Mn 耐受性的基因。该基因编码区长 1191bp，编码 396 个氨基酸。与水稻和拟南芥中的 MTP 家族成员的进化树分析表明，其属于 Mn-CDF 亚家族，与拟南芥的 *AtMTP10*、*AtMTP9* 和 水稻的 *OsMTP9* 进化距离最近(图 1A)，其中与 *AtMTP10* 的序列一致性最高，达到 72%，因此，将其命名为 *SpMTP10*。由于 MTP 家族成员都是典型的跨膜转运蛋白，因此我们利用 TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)在线分析其跨膜结构域。*SpMTP10* 的 N 端位于膜内侧，而 C 端位于膜外侧，具有 5 个跨膜结构域，分别位于第 111-133 位、137-159 位、180-199 位、219-241 位、254-276 位氨基酸(图 1B)。

通过荧光实时定量 qRT-PCR 对 *SpMTP10* 基因在伴矿景天中的表达模式进行了分析。结果显示 *SpMTP10* 主要在根中表达，其次分别是茎和叶(图 2)，且其表达并不受 Mn 处理的影响(图 2)。鉴于伴矿景天长期生长于富含 Cd 的自然生境，且体内超积累 Cd，因此我们同时检测了 Cd 处理条件下 *SpMTP10* 的表达。结果表明，*SpMTP10* 表达亦不受 Cd 处理影响(图 2)。

2.2 *SpMTP10* 的表达特异提高酵母对 Mn 的耐受性

我们将 *SpMTP10* 表达于酵母镉(Cd)敏感突变体 $\Delta yap1$ ，转化子酵母对 Mn 胁迫的抗性得到极大地提高。在 30 mmol·L⁻¹ Mn 胁迫下， $\Delta yap1$ 及其野生型酵母菌株 Y252 的生长几乎停滞，而 *SpMTP10* 转化子酵母的生长与正常条件下培养的酵母一致，几乎不受该浓度 Mn 胁迫的影响(图 3A)。由于 Mn-CDF 家族蛋白可能也存在转运除 Mn 以外其他二价阳离子的功能，我们继而探索了 *SpMTP10* 是否转运 Cd、Cu、Zn 和 Fe 等其他元素。结果表明，*SpMTP10* 在 Cd 敏感突变体 $\Delta yap1$ (图 3B)、Zn 敏感突变体 $\Delta zrc1$ (图 3C)、Fe 敏感突变体 $\Delta ccc1$ (图 3D)、Cu 敏感突变体 $\Delta cup2$ (图 3E)中表达后，酵母转化子对相应金属离子的耐受性的变化并不明显，暗示 *SpMTP10* 可能是 Mn 特异的转运蛋白。

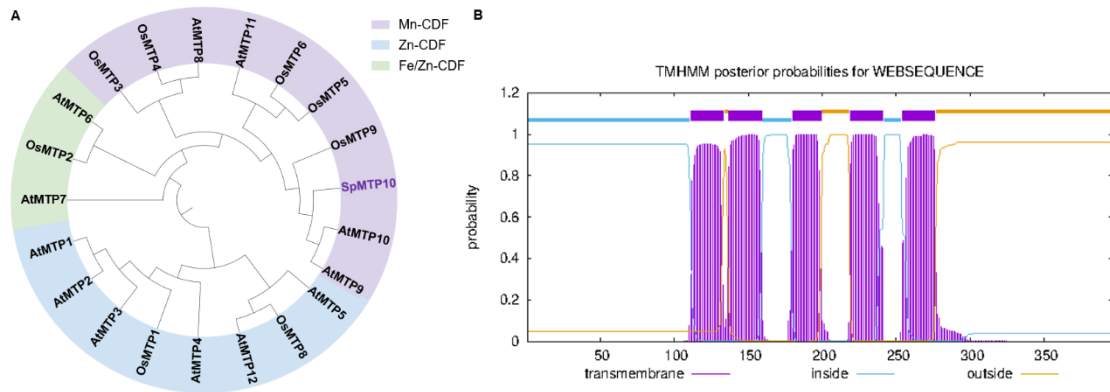


图 1 MTPs 家族蛋白的序列分析

(A) MTPs 家族蛋白的进化树分析。基于最大似然法使用 MEGA 软件进行分析。At: 拟南芥; Os: 水稻; Sp: 伴矿景天。各 MTPs 序列详见材料方法的描述。(B) 利用 TMHMM 在线预分析 SpMTP10 的跨膜结构域。

Figure 1 Sequence analysis of MTPs family protein.

(A) The phylogenetic tree of MTPs family protein. Basing on maximum likelihood method, the phylogenetic tree was analyzed using MEGA software. At, *Arabidopsis thaliana*; Os, *Oryza sativa*; Sp, *Sedum plumbizincicola*. The MTPs sequences are described in the method. (B) The transmembrane domain of SpMTP10 was analyzed online at TMHMM.

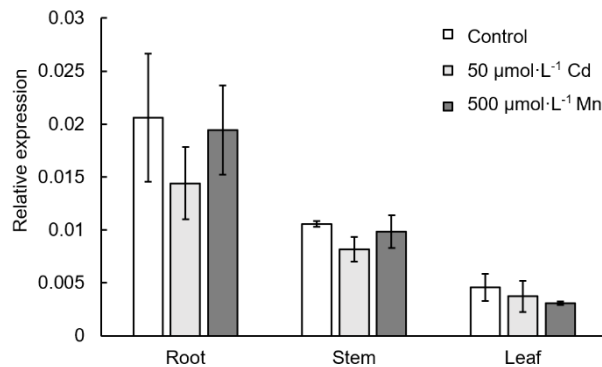


图 2 SpMTP10 在伴矿景天中的表达模式

伴矿景天用 50 μmol·L⁻¹ Cd 或 500 μmol·L⁻¹ Mn 处理 3 天后检测基因的表达, 以 *SpActin2* 为内参基因。数据表示方式为均值±标准差, n=3。

Figure 2 The expression of SpMTP10 in *S. plumbizincicola*

Plants were treated with 50 μmol·L⁻¹ Cd or 500 μmol·L⁻¹ Mn for 3 days to detect gene expression, with *SpActin2* as the internal reference. Values are the mean ± SD, n = 3.

鉴于 SpMTP10 能特异提高酵母的 Mn 耐受性, 我们利用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)进一步检测了酵母转化子中 Mn 的积累情况。在 4 mmol·L⁻¹ Mn 处理条件下, SpMTP10 转化酵母与空载体转化酵母相比, Mn 积累显著增加(图 3F)。我们推测 SpMTP10 可能将过量的 Mn 区隔于胞内的细胞器中, 从而缓解细胞质中过量 Mn 造成的毒害。

2.3 SpMTP10 定位于内质网参与胞内 Mn 转运

为了验证上述猜想, 构建了 *SpMTP10-eYFP* 载体并瞬时表达于拟南芥叶肉细胞的原生质体以确定其亚细胞定位情况。经观察发现黄色荧光在细胞中呈网状分布, 且与叶绿体荧光错开, 初步推测定位于内质网膜上。因此我们将内质网定位标记基因融合红色荧光蛋白的瞬时表达载体与 *SpMTP10-eYFP* 构建共转化拟南芥原生质体。观察发现, 二者荧光在空间分布(图 4A)与荧光强度曲线分析(图 4B)上都呈现相互重叠, 表明 SpMTP10 定位于内质网。值得注意的是, *SpMTP10-eYFP* 在高浓度 Mn 处理下呈现耐受性(图 4C), 表明 SpMTP10 融合荧光蛋白不影响其功能的正常发挥。

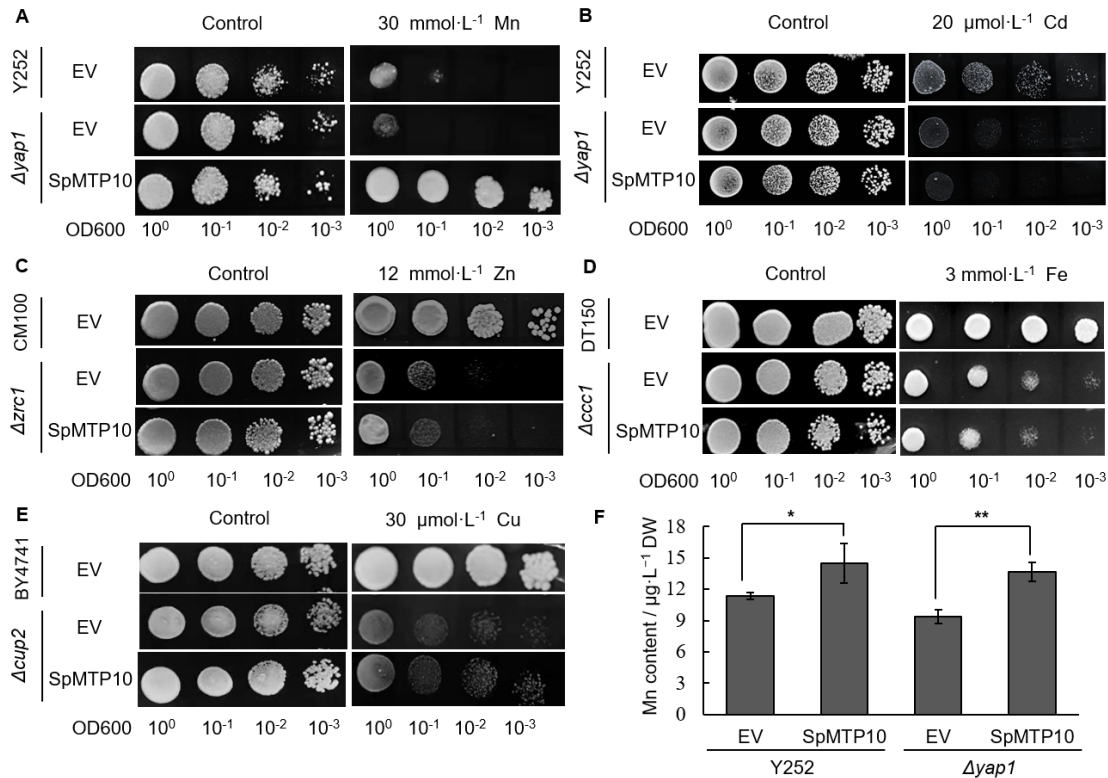


图 3 表达 *SpMTP10* 的酵母转化子对不同金属离子胁迫的耐受性 (A-E) 将空载体(EV)或含 *SpMTP10* 的载体分别转化 Cd ($\Delta yap1$), Zn ($\Delta zrc1$), Cu ($\Delta cup1$), Fe ($\Delta ccc1$) 敏感酵母菌株, 并分别在含有 $30 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn (A), $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd (B), $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Zn (C), $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Fe (D), $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu (E)的 SD 板上培养。
(F) 酵母转化子 Mn 的含量。数据为均值 \pm 标准差, $n=3$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (t 检验)。

Figure 3 Tolerance analysis of yeast transformants expressing *SpMTP10*. (A-E) Yeast strains sensitive to Cd ($\Delta yap1$), Zn ($\Delta zrc1$), Cu ($\Delta cup1$), Fe ($\Delta ccc1$) were transformed with EV (empty vector) or *SpMTP10*, then grown on SD plates containing $30 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn (A), $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd (B), $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Zn (C), $3 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Fe (D), $30 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu (E). (F) Mn accumulation in yeast. Values are the mean \pm SD, $n = 3$. Asterisks indicate difference at * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ by t -test.

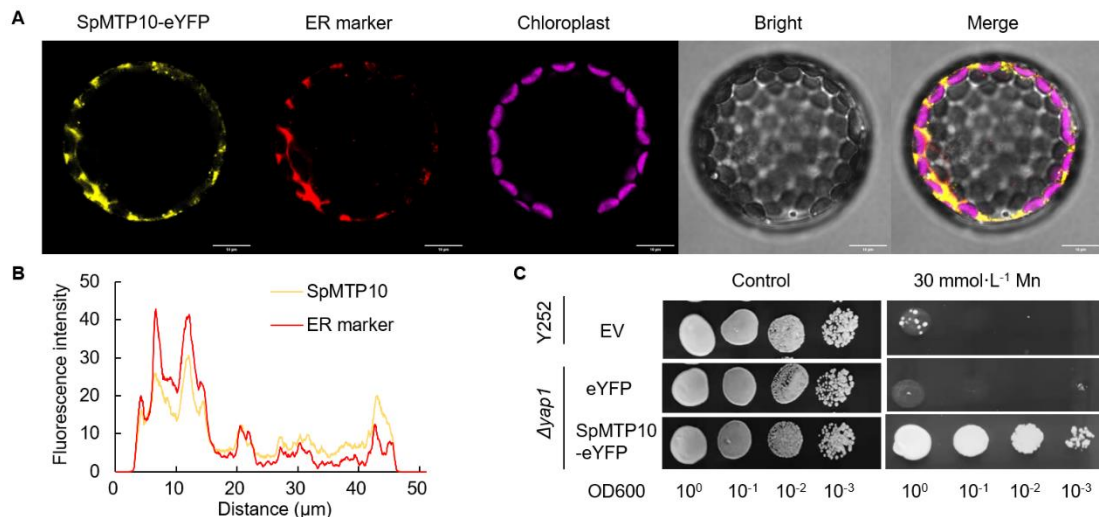


图 4 *SpMTP10* 在拟南芥原生质体中的亚细胞定位 (A) *SpMTP10*-eYFP 与内质网定位标记在拟南芥原生质体中共表达后的荧光分布。黄色荧光表示 *SpMTP10* 的 eYFP 通道, 红色荧光表示内质网定位的 mCherry 通道, 紫色荧光表示叶绿体通道。标尺=10 μm 。
(B) *SpMTP10* 和 ER 标记的荧光强度轨迹。
(C) eYFP 的融合不影响 *SpMTP10* 介导酵母耐受过量 Mn 胁迫的功能。

Figure 4 Subcellular location of SpMTP10 in Arabidopsis protoplasts.

(A) Fluorescence distribution after co-expression of SpMTP10-eYFP and ER marker in Arabidopsis protoplasts. The yellow fluorescence represents the eYFP channel of SpMTP10, the red fluorescence represents the endoplasmic reticulum localization mCherry channel, and the purple fluorescence represents the chloroplast channel. Bar = 10 μ m.

(B) Fluorescence intensity trace of SpMTP10 and ER marker.

(C) Mn tolerance of SpMTP10-eYFP yeast transformants.

2.4 SpMTP10 在拟南芥中异源表达降低对过量 Mn 胁迫的耐受性

为了在植物体内进一步验证 SpMTP10 的生理功能，我们利用 CaMV35S 启动子驱动 SpMTP10 在模式植物拟南芥过表达，获得纯合株系后进行 Mn 处理以观察表型。结果表明，在正常培养条件下，纯合的转基因株系 SpMTP10-1、SpMTP10-2 与野生型的根延伸长度没有显著差异(图 5A)。而在高浓度 Mn 处理 3 天后，所有植物根部的生长明显受到抑制，且随着 Mn 浓度的升高，根部生长受抑制程度更甚，但 SpMTP10-1、SpMTP10-2 的根延伸长度显著低于野生型(图 5B-D)。这些实验结果表明，SpMTP10 的表达使植物对 Mn 过量胁迫更加敏感。

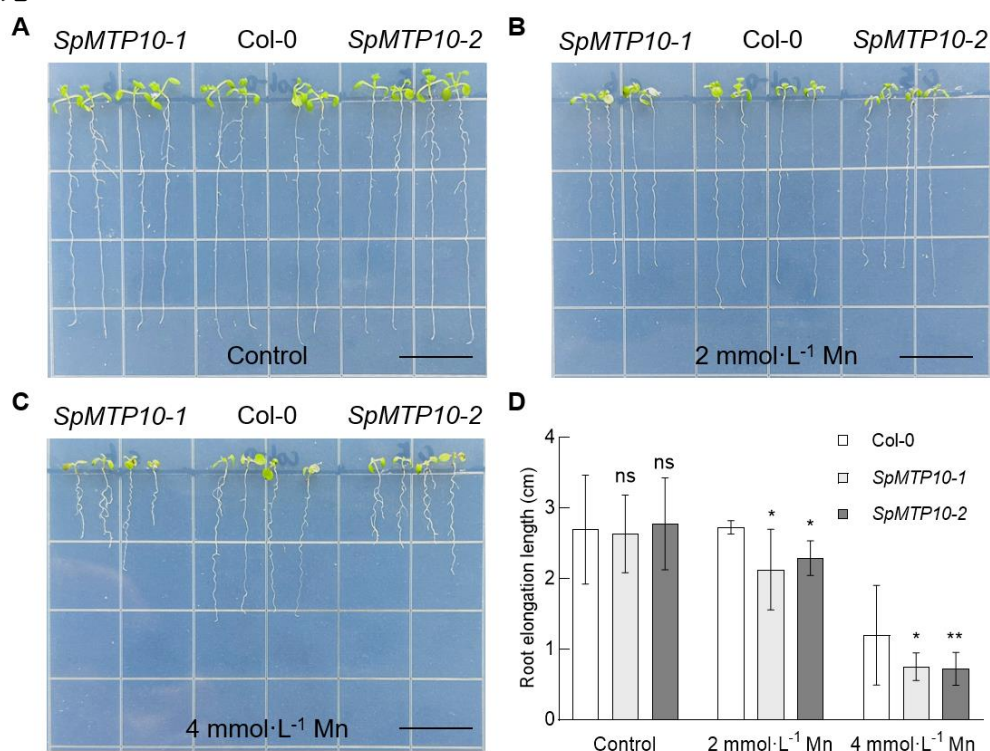


图 5 SpMTP10 在拟南芥中的异源表达

(A-C) 野生型(Col-0)和转基因拟南芥(SpMTP10-1、SpMTP10-2)在不同 Mn 处理下的生长表型。Bar=1 cm。

(D) 高 Mn 胁迫下拟南芥的根延伸长度统计。数值表示均值±标准差, n=3。*P<0.05, **P<0.01(t-test)。

Figure 5 Heterologous expression of SpMTP10 in Arabidopsis.

(A-C) Growth phenotypes of wild type (Col-0) and transgenic Arabidopsis (SpMTP10-1, SpMTP10-2) under different Mn treatments. Bar=1 cm.

(D) Statistics of root elongation length of Arabidopsis under high Mn stress. Values are the mean \pm SD, n = 3. Asterisks indicate difference at *P < 0.05, **P < 0.01 by t-test.

我们进一步检测了植物中 Mn 的积累情况。结果表明，在正常培养条件下，野生型背景 Col-0 与转基因纯合株系 SpMTP10-1、SpMTP10-2 的 Mn 积累无明显差异。而在 250 μ mol·L⁻¹ Mn 胁迫下，SpMTP10-1、SpMTP10-2 根中 Mn 含量显著低于野生型，地上部 Mn 含量显著增高，且木质部伤流液中 Mn 的积累也显著增多(图 6)。因此，我们推测 SpMTP10 的表达促进了 Mn 的长途转运，导致 Mn 在地上部浓度过高，进而增强拟南芥对 Mn 过量的敏感性。

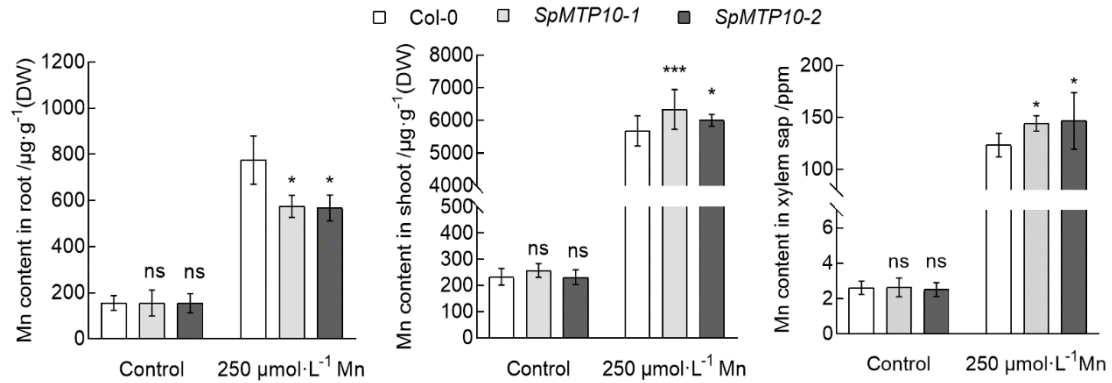


图 6 *SpMTP10* 过表达拟南芥中的 Mn 含量。

水培 3 周的拟南芥进行 $250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn 处理, 3 天后进行取材并用于 ICP-MS 检测。数值表示均值 \pm 标准差, $n=6$ 。* $P<0.05$, *** $P<0.001$ (t -test)。

Figure 6 Mn content in *Arabidopsis* transformants expressing *SpMTP10*.

Arabidopsis were grown hydroponically for 3 weeks and treated with $250 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn, then samples were collected 3 days later for ICP-MS detection. Values are the mean \pm SD, $n=6$. Asterisks indicate difference at * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ by t -test.

3 讨论

伴矿景天是一种矿生超积累植物, 其自然栖息地为 Zn/Pb 矿区, 土壤中 Mn 的浓度极高, 超过农用地土壤含量限值的 10 倍(Peng et al., 2007a)。伴矿景天虽然不超积累 Mn, 但是其长期生长于高浓度 Mn 土壤中, 其体内可能进化出高效的 Mn 稳态调控机制, 对其 Mn 相关基因资源的挖掘以及机理的解析具有重要的意义。本研究从伴矿景天中克隆了 *SpMTP10* 基因, 其主要在根部组成型表达, 不受高 Mn 和 Cd 诱导(图 2)。利用酵母互补验证实验发现, *SpMTP10* 可提高酵母对 Mn 的耐受性(图 3A), 并增加 Mn 的积累(图 3F)。在植物中异源表达后, 也促进了 Mn 从根部向地上部的转运(图 6), 并改变了植物对过量 Mn 胁迫的耐受性(图 5)。这些结果表明 *SpMTP10* 是 Mn 的转运蛋白, 参与了 Mn 的稳态调控过程。

本研究中, 亚细胞定位分析结果表明 *SpMTP10* 定位于内质网(图 4A), 暗示其可能负责将 Mn 从胞质转运至内质网。此前的研究报道, 大豆 *GmMTP8.1* 参与胞内 Mn 向内质网运输的过程, 协同高尔基体定位的转运蛋白, 如 *MTP11* 和 *ECA3*, 将过量 Mn 通过囊泡运输胞吐至质外体, 从而提高植物对高浓度 Mn 的耐受性(Li et al., 2021)。然而, *SpMTP10* 在酵母中表达后, 在提高酵母对过量 Mn 耐受性的同时增加了 Mn 的积累(图 3), 暗示 *SpMTP10* 介导的 Mn 向内质网的转运并没有增加 Mn 通过囊泡运输外排。在拟南芥中表达后, 转基因拟南芥在高浓度 Mn 处理下生长受到的抑制更为明显, 且 Mn 向地上部转运增强(图 5)。植物细胞的内质网管腔与其相邻细胞的内质网管腔是连续的, 并允许内质网内的小分子在细胞间运动, 且比细胞质间运输的效率(Barton et al., 2011)。拟南芥 *AtMTP2* 介导 Zn 运至内质网, 进而通过胞间连丝进入与相邻细胞连续的内质网腔, 这促进了 Zn 从根部外表层向木质部的转运, 从而长途运输至地上部积累(Sinclair et al., 2018)。因此, 我们推测 *SpMTP10* 可能发挥类似的功能。*SpMTP10* 首先将胞质中 Mn 转移至内质网中, 降低胞质 Mn 水平, 因此酵母转化子中 Mn 含量增加(图 3F), 且耐受性提高(图 3A)。而在植物中过表达 *SpMTP10*, 促使 Mn 在相邻细胞间连续的内质网管腔中高效运输, 并通过木质部向上运输(图 7), 导致根部 Mn 含量降低, 地上部 Mn 积累增高(图 6), 进而使植物对 Mn 更加敏感(图 5)。

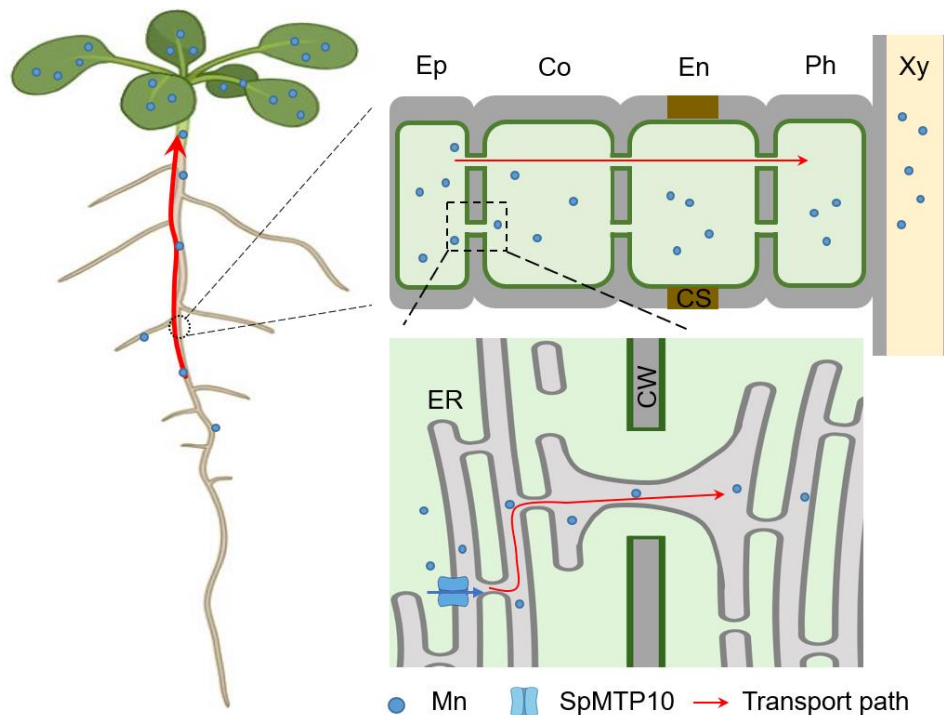


图 7 SpMTP10 在拟南芥中参与 Mn 转运的推测模型

内质网定位的 SpMTP10 参与胞内 Mn 向内质网的转运，异源过表达 SpMTP10 可能促进 Mn 从根细胞向木质部的装载，导致 Mn 在根部的积累减少，但促进了根到地上部的转运。Ep: 外皮层; Co: 皮层; En: 内皮层; Ph: 韧皮部; Xy: 木质部; CS: 凯氏带; CW: 细胞壁; ER: 内质网。红色箭头代表 Mn 的转运路径。

Figure 7 A working model of SpMTP10 involved in Mn transport in Arabidopsis transformants.

Expression of SpMTP10 increases Mn transport into the ER and consequently facilitate the cell-to-cell movement of Mn in the ER-luminal continuum through plasmodesmata. This promotes the passage of Mn toward the xylem in the root, and thereby enhances the long-distance transport of Mn to the shoot in Arabidopsis transformants. Ep, Epidermis. Co, cortex. En, Endodermis. Ph, Phloem. Xy, Xylem. CS, Casparian strip. CW, Cell wall. ER, Endoplasmic reticulum. The red arrow represents the Mn transport path.

伴矿景天是 Cd/Zn 超积累植物 (Peng et al., 2017a), 但是 Cd/Zn 向地上部组织积累的具体分子生物学过程仍不完全清楚。关键基因的组成型高表达是超积累植物适应高浓度重金属生境的重要因素(Krämer 2010)。在根部, SpMTL (metallothionein-like) 高丰度表达, 且远高于其近亲非超积累植物东南景天(*S. alfredii*, NHE), 推测其通过螯合 Cd 以减少 Cd 向根部液泡的区隔从而增加 Cd 向地上部转运 (Peng et al., 2017a)。在地上部, SpHMA3 (heavy metal ATPase 3) 基因也高丰度表达, 介导将 Cd 区隔于液泡中(Liu et al., 2017); SpHMA1 定位于叶绿体膜, 通过外排叶绿体中的 Cd 而保护光合系统(Zhao et al., 2019), 这两个转运蛋白在伴矿景天积累和耐受 Cd 过程中发挥重要作用。伴矿景天地上部细胞壁组织是 Cd 储存和解毒的主要场所之一, 其细胞壁中羧基的比例增加从而增强细胞壁对 Cd 的螯合作用 (Peng et al., 2017b)。转录因子 SpbZIP60 可能也在调控木质素合成, 协调抗氧化酶活性等过程中发挥作用(Lu et al., 2022)。伴矿景天积累或耐受 Mn 的研究仍未见报道。本研究中, SpMTP10 主要在伴矿景天根部表达, 且表达丰度不受 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 或 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn 处理的诱导变化。但需要指出的是, 我们尚未检测更高浓度 Mn 处理条件下 SpMTP10 的表达情况, 不能排除伴矿景天通过调控 SpMTP10 的表达变化从而在极高浓度 Mn 条件下发挥更大的作用, 例如, 伴矿景天植物螯合肽合酶基因 SpPCS (phytochelatin synthase) 就有类似的调控方式 (彭佳师等, 2014)。我们推测, SpMTP10 可能通过介导 Mn 向内质网的区隔或通过胞间连丝向地上部长途转运的方式, 在伴矿景天根部适应外界高浓度 Mn 环境的过程中发挥作用, 但这仍需要进一步研究 SpMTP10 在伴矿景天中的详细组织定位及其突变体等遗传材料的相关表型来确认。

随着越来越多的植物中 MTP 家族成员被鉴定, 人们发现即使是同一亚家族成员其底物亦是多样化的。对于 Mn-CDF 亚家族, 其成员除了可能负责维持植物 Mn 稳态之外, 也可能

参与其他阳离子转运分配的过程。比如, 拟南芥中 AtMTP8 调节 Mn 与 Fe 在种子中的分布进而影响种子萌发(Eroglu et al., 2016; Ju et al., 2021); AtMTP10 也在调控植物 Ca²⁺和 Mg²⁺这对拮抗离子的稳态过程中发挥作用(Ge et al., 2022)。水稻中 OsMTP11 介导了 Cd 和 Mn 向液泡的区隔化过程(Liu et al., 2024), 同时还有可能在响应铝 (Al) 胁迫中发挥作用(Jaiswal et al., 2024)。莲中 NnMTP10 参与 Mn 和 Fe 的长途运输, 并可能协调植物对过量 Mn 和 Fe 胁迫的响应(Hu et al., 2025)。本研究从伴矿景天中分离的 SpMTP10 与拟南芥的 AtMTP10、AtMTP9 和水稻的 OsMTP9 进化距离较近, 属于 Mn-CDF 亚家族成员。有趣的是, 我们发现 SpMTP10 是 Mn 特异的, 其表达特异介导酵母对 Mn 胁迫的耐受性, 但对其他过渡态元素如 Cd、Zn、Cu、Fe 等没有明显作用。SpMTP10 的底物特异性有利于其在作物改良中的应用, 特别是应用于低 Cd 作物的设计。由于 Mn 转运系统是 Cd 进入植物体内并在体内迁移的重要途径, 在改变相关 Mn 转运蛋白来构建低 Cd 作物时难免影响 Mn 的正常积累(彭佳师等, 2024)。因此, 可以通过原位互补 SpMTP10 等 Mn 特异的蛋白来回复低 Cd 改良作物中相关 Mn 积累异常的表现。

作者贡献声明

陈思颖, 王晶琳: 完成实验并撰写论文; 李颖怡, 卢湘鑫, 张培红, 邱庆红: 植物材料常规培育及处理; 高艳, 顾天宇: 分析数据并提供技术支持; 彭佳师: 构思与设计实验, 撰写论文。

参考文献

- Alejandro S, Höller S, Meier B, Peiter E (2020). Manganese in Plants: From Acquisition to Subcellular Allocation. *Front Plant Sci* 11:300.
- Barton DA, Cole L, Collings DA, Liu DYT, Smith PMC, Day DA, Overall RL (2011). Cell-to-cell transport via the lumen of the endoplasmic reticulum. *Plant J* 66:806-817.
- Chen SY, Gu TY, Qi ZA, Yan J, Fang ZJ, Lu YT, Li H, Gong JM (2021). Two NPF transporters mediate iron long-distance transport and homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Com* 2:100244.
- Chen Z, Fujii Y, Yamaji N, Masuda S, Takemoto Y, Kamiya T, Yusuyin Y, Iwasaki K, Kato S-i, Maeshima M, Ma JF, Ueno D (2013). Mn tolerance in rice is mediated by MTP8.1, a member of the cation diffusion facilitator family. *J EXP BOT* 64:4375-4387.
- Delhaize E, Gruber BD, Pittman JK, White RG, Leung H, Miao Y, Jiang L, Ryan PR, Richardson AE (2007). A role for the *AtMTP11* gene of *Arabidopsis* in manganese transport and tolerance. *Plant J* 51:198-210.
- Elble R (1992) A simple and efficient procedure for transformation of yeasts. *Biotechniques* 13(1):18-20.
- Eroglu S, Meier B, Von WN, Peiter E (2016). The vacuolar manganese transporter MTP8 determines tolerance to Fe deficiency-induced chlorosis in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 170: 1030-1045.
- Fang X, Tian DX, Xie RX (2006). Soil physical and chemical properties of the wasteland in Xiangtan manganese mine. *Acta Ecol Sin* 26: 1494-1501 (in Chinese)
- 方晰, 田大伦, 谢荣秀 (2006). 湘潭锰矿矿渣废弃地植被修复前的土壤诊断. *生态学报* 26: 1494-1501
- Ge H, Shao Q, Chen J, Chen J, Li X, Tan Y, Lan W, Yang L, Wang Y (2022). A metal tolerance protein, MTP10, is required for the calcium and magnesium homeostasis in *Arabidopsis*. *Plant Signal Behav* 17(1):2025322.
- Gu D, Zhou X, Yin X, Wu M, Chen W, Xu E, Liu Y, Gong C, Zhang W, Chen X (2022). Metal tolerance protein family members are involved in Mn homeostasis through internal compartmentation and exocytosis in *Brassica napus*. *Environ. Exp. Bot* 195: 104785
- Gu TY, Gong YQ, Zhang GB, Peng JS (2020). Development and application of the meta-ionic assay to identify heavy metal pollution. *Plant Physiol J* 56(3): 584-590.
- 顾天宇, 龚韵秋, 张国斌, 彭佳师 (2020). 植被宏离子组分析方法的建立及重金属污染的监测应用. *植物生理学报* 56(3): 584-590.
- Gustin JL, Zanis MJ, Salt DE (2011). Structure and evolution of the plant cation diffusion

- facilitator family of ion transporters. *BMC Evol Biol* **11**:76.
- Hu HL, He YT, Gao Y, Chen SY, Gu TY, Peng JS** (2025). NnMTP10 from *Nelumbo nucifera* acts as a transporter mediating manganese and iron efflux. *Plant Mol Biol* **115**(1):26
- Hu HL, Gu TY, Chen SY, Wang Y, Peng JS** (2024). Isolation and functional verification of genes mediating mineral element stress tolerance in Lotus. *Scientia Agricultura Sinica* **57**(5):980-988.
- 胡衡亮, 顾天宇, 陈思颖, 王垚, 彭佳师 (2024). 莲中介导矿质元素胁迫耐受性基因的筛选与功能验证. *中国农业科学* **57**(5):980-988.
- Jaiswal S, Kumari A, Kumar K, Laxmi V, Kaur S, Kumar A, Verma H, Shimray P, Touthang L, Talukdar M, Mishra VK, Singh BK** (2024). Deciphering genetic mechanisms of Al toxicity tolerance through meta-QTL analysis in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ Exp Bot* **228**: 106030.
- Ju CF, Zhang ZQ, Deng JP, Miao CC, Wang ZQ, Wallrad L, Javed L, Fu DL, Zhang T, Kudla J, Gong ZZ, Wang C** (2021). Ca²⁺-dependent successive phosphorylation of vacuolar transporter MTP8 by CBL2/3-CIPK3/9/26 and CPK5 contributes to manganese homeostasis in *Arabidopsis*. *Mol Plant* **15**(3):419-437.
- Krämer U** (2010). Metal hyperaccumulation in plants. *Annu Rev Plant Biol* **61**: 517-534.
- Li J, Dong R, Jia Y, Huang J, Zou X, An N, Song J, Chen Z** (2021). Characterization of Metal Tolerance Proteins and Functional Analysis of GmMTP8.1 Involved in Manganese Tolerance in Soybean. *Front Plant Sci* **12**:683813.
- Li J, Jia Y, Dong R, Huang R, Liu P, Li X, Wang Z, Liu G, Chen Z** (2019). Advances in the Mechanisms of Plant Tolerance to Manganese Toxicity. *Int J Mol Sci* **20** (20):5096.
- Li SC, Zhuo RY, Yu M, Lin XY, Xu J, Qiu WM, Li HY, Han XJ** (2023). A novel gene SpCTP3 from the hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola* redistributes cadmium. *Front Plant Sci* **14**:1111789.
- Liu H, Zhao HX, Wu LH, Liu AN, Zhao FJ, Xu WZ** (2017). Heavy metal ATPase 3 (HMA3) confers cadmium hypertolerance on the cadmium/zinc hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *New Phytol* **215**(2),687-698.
- Lu ZC, Qiu WM, Jin KM, Yu M, Han, XJ, He XY, Wu LH, Wu C, Zhuo, RY** (2022). Identification and analysis of bZIP family genes in *Sedum plumbizincicola* and their potential roles in response to cadmium stress. *Front Plant Sci*,**13**:859386.
- Ma G, Li JY, Li JJ, Li Y, Gu DF, Chen C, Cui J, Chen X, Zhang W** (2018). OsMTP11, a trans-Golgi network localized transporter, is involved in manganese tolerance in rice. *Plant Sci* **274**: 59-69.
- Millaleo R, Reyes-Díaz M, Ivanov AG, Mora ML, Alberdi M** (2010). Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanism. *J Soil Sci Plant Nutr* **10**: 470–481.
- Montanini B, Blaudez D, Jeandroz S, Sanders D, Chalot M** (2007). Phylogenetic and functional analysis of the cation diffusion facilitator (CDF) family: improved signature and prediction of substrate specificity. *BMC Genomics* **8** (1): 107.
- Nelson BK, Cai X, Nebenführ A** (2007). A multicolored set of in vivo organelle markers for co-localization studies in *Arabidopsis* and other plants. *Plant J* **51**:1126-1136.
- Pedas P, Schiller Stokholm M, Hegelund JN, Ladegård AH, Schjoerring JK, Husted S** (2014). Golgi localized Barley MTP8 proteins facilitate Mn transport. *PLoS ONE* **9** (12):e113759.
- Peiter E, Montanini B, Gobert A, Pedas P, Husted S, Maathuis FJM, Blaudez D, Chalot M, Sanders D** (2007). A secretory pathway-localized cation diffusion facilitator confers plant manganese tolerance. *Proc Natl Acad Sci* **104**:8532-8537.
- Peng JS, Ding G, Yi HY, Gong JM** (2014). Cloning and functional analysis of phytochelatin synthase gene from *Sedum plumbizincicola*. *Plant Physiol J* **50**: 625-633 (in Chinese)
- 彭佳师, 丁戈, 易红英, 龚继明 (2014). 伴矿景天植物螯合肽合酶基因的克隆及功能分析. *植物生理学报*, **50**: 625-633
- Peng JS, Ding G, Meng S, Yi HY, Gong JM** (2017a). Enhanced metal tolerance correlates with heterotypic variation in SpMTL, a metallothionein-like protein from the hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *Plant Cell Environ*, **40**: 1368-1378
- Peng JS, Wang YJ, Ding G, Ma HL, Zhang YJ, Gong JM** (2017b). A pivotal role of cell wall in cadmium accumulation in the Crassulaceae hyperaccumulator *Sedum*

- plumbizincicola*. *Mol Plant* **10**: 771-774
- Peng JS, Wang YT, Wang MQ, Liu LL, Wang P, Li Z, Li S, Chen SY, Meng S, Gu TY, Xu WZ, Chao ZF, Huang YQ, Jin CW, Chao DY, Chen CY, Wu LH, Teng Y, Zhao FJ, Gong JM** (2024). Research and regulation of cadmium uptake, transport and accumulation in plants. *Plant Physiol J* **60** (2):185-210
彭佳师, 王娅婷, 王梦琦, 卢玲丽, 汪鹏, 李柱, 李赛, 陈思颖, 孟栓, 顾天宇, 徐文忠, 晁振飞, 黄煜琪, 金崇伟, 晁代印, 陈彩艳, 吴龙华, 滕应, 赵方杰, 龚继明 (2024). 植物重金属镉积累调控机制及其应用研究进展. *植物生理学报* **60**(2):185-210.
- Peng JS, Yi HY, Gong JM** (2020). Isolation and characterization of cadmium tolerant gene *SpMT2* in the hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *Chin J Biotech* **36**: 541-548
彭佳师, 易红英, 龚继明 (2020). 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* **36**: 541-548
- Sinclair SA, Senger T, Talke IN, Cobbett CS, Haydon MJ, Krämer U** (2018). Systemic Upregulation of MTP2- and HMA2-Mediated Zn Partitioning to the Shoot Supplements Local Zn Deficiency Responses. *Plant Cell* **30**:2463-2479.
- Takemoto Y, Tsunemitsu Y, Fujii-Kashino M, Mitani-Ueno N, Yamaji N, Ma JF, Kato S-i, Iwasaki K, Ueno D** (2017). The tonoplast-localized transporter MTP8.2 contributes to manganese detoxification in the shoots and roots of *Oryza sativa* L. *Plant Cell Physiol* **58**:1573-1582.
- Tsunemitsu Y, Yamaji N, Ma JF, Kato S-i, Iwasaki K, Ueno D** (2018). Rice reduces Mn uptake in response to Mn stress. *Plant Signal Behav* **13** (1):e1422466.
- Ueno D, Sasaki A, Yamaji N, Miyaji T, Fujii Y, Takemoto Y, Moriyama S, Che J, Moriyama Y, Iwasaki K, Ma JF** (2015). A polarly localized transporter for efficient manganese uptake in rice. *Nature Plants* **1**:15170.
- Wang Y, Hu B, Deng XQ, Jiang JJ, Du LF, Peng JS** (2022). SpPCR3 gene from *Sedum plumbizincicola* confers cadmium tolerance in yeast. *Plant Physiol J*, **58** (7): 1353-1358.
王焱, 胡博, 邓小秋, 蒋佳佳, 杜兰芳, 彭佳师 (2022). 伴矿景天 SpPCR3 基因提高酵母对镉的抗性. *植物生理学报*, **58** (7): 1353-1358.
- Zhang M, Liu BX** (2017). Identification of a rice metal tolerance protein OsMTP11 as a manganese transporter. *PLoS ONE* **12**(4): e0174987.
- Zhang PH, Zhang SZ, Zhang ZY, Li MY, Liu YJ, Zhang XJ, Bai NN, Ma M, Peng JS**(2022)*SpHIPP45* gene from *Sedum plumbizincicola* specifically mediates cadmium tolerance. *Plant Physiol J* **58** (7): 1346-1352
张培红, 张仕泽, 张治远, 李明悦, 刘奕君, 张雪洁, 白宁宁, 马敏, 彭佳师 (2022). 伴矿景天 *SpHIPP45* 基因特异介导镉耐受性. *植物生理学报* **58** (7): 1346-1352.
- Zhang YX, Li LF, Chai TY, Lin D, Zhang HM** (2010). Mechanisms of manganese toxicity and manganese tolerance in plants. *Chin Bull Bot* **45**, 506-520. (in Chinese)
张玉秀, 李林峰, 柴团耀, 林单, 张红梅 (2010). 锰对植物毒害及植物耐锰机理研究进展. *植物学报* **45**, 506-520
- Zhang XJ, Zhang ZY, Zhang SZ, Bai NN, Liu M, Peng JS** (2023). Isolation and functional characterization of phytochelatin synthase gene *BnPCS1a* in *Brassica napus*. *Plant Physiol J* **59** (5): 861-868.
张雪洁, 张治远, 张仕泽, 白宁宁, 刘敏, 彭佳师 (2023). 甘蓝型油菜植物螯合肽合酶基因 *BnPCS1a* 的分离与功能验证. *植物生理学报* **59** (5): 861-868.
- Zhao HX, Wang LS, Zhao FJ, Wu LH, Liu AN, Xu WZ** (2019). SpHMA1 is a chloroplast cadmium exporter protecting photochemical reactions in the Cd hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *Plant Cell Environ* **42**(4),1112-1124.
- Zhao Y, Li L, Ma S, Han R, He Y, Zhu J, Li M, Zhuang J, Wang Y, Zhao Z, Chen X, Liu SJ, Li XH** (2024). Mn-CDF family genes enhance the manganese tolerance of the tea plants (*Camellia sinensis*) under acidic condition. *Plant Physiol Bioch* **216**:109179.

The Mechanism of Manganese Accumulation Mediated by SpMTP10 Isolated from *Sedum plumbizincicola*

Siying Chen^{1,2†}, Jinglin Wang^{1†}, Yingyi Li¹, Xiangxin Lu¹, Peihong Zhang¹, Qinghong Qiu¹, Yan Gao^{1,2}, Tianyu Gu^{1,2}, Jiashi Peng^{1,2,*}

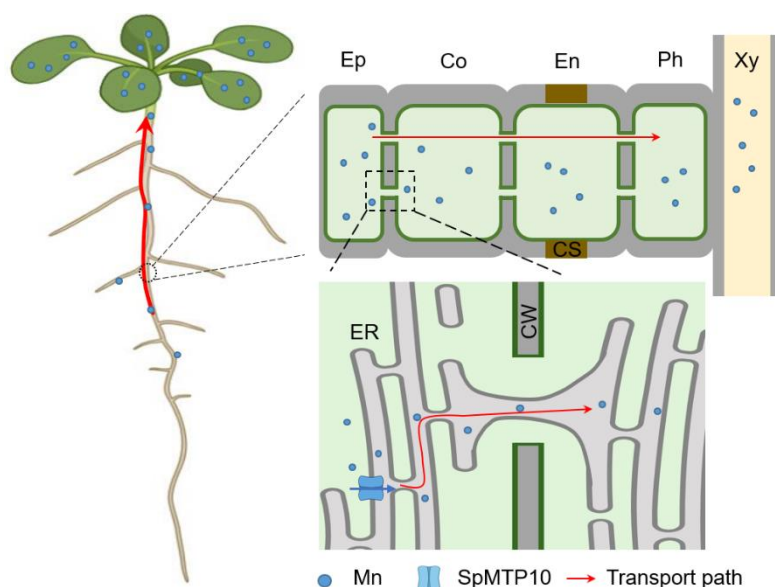
¹ School of Life and Health Sciences, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, Hunan, China; ² Hunan Key Laboratory of Economic Crops Genetic Improvement and Integrated Utilization/Key Laboratory of Ecological Remediation and Safe Utilization of Heavy Metal-Polluted Soils, Xiangtan 411201, Hunan, China

INTRODUCTION: Manganese (Mn) is an essential micronutrient for plant growth and primarily act as enzyme cofactors and participate in the redox processes. However, excessive absorption of Mn by plant can also induce toxicity damages. Therefore, plants need to tightly regulate the uptake, homeostasis, and distribution of Mn to cope with stresses caused by its deficiency or excess. In these processes, the cation diffusion facilitator (CDF) family transporters, which in plants are also known as metal tolerance proteins (MTP), had been shown to be crucial for Mn homeostasis. Therefore, identifying MTP family genes and elucidating their underlying mechanisms for Mn accumulation would not only provide the novel insights about basic scientific issues of plant Mn accumulation, but also gene resources for crops improvement and Mn pollution bioremediation.

RATIONALE: *Sedum plumbizincicola* is a recently discovered Cd/Zn hyperaccumulator that grows in mining areas. The soil in its natural habitat contains more than 10 000 mg·kg⁻¹ of Mn, suggesting that *S. plumbizincicola* may have efficient Mn transport and detoxification capabilities. Based on the transcriptome sequencing results of *S. plumbizincicola* obtained previously, a member of the MTP family gene named *SpMTP10* was cloned and its role in mediating Mn accumulation was investigated in this study.

RESULTS: Phylogenetic analysis with orthologs from Arabidopsis and rice revealed that SpMTP10 belongs to the Mn-CDF subfamily and is most closely related to AtMTP10, AtMTP9 and OsMTP9, with the highest sequence identity of 72% to AtMTP10. *SpMTP10* is mainly expressed in the roots of *S. plumbizincicola* and its expression level is not affected by Mn treatment. Expression of *SpMTP10* in yeast can greatly enhance the tolerance of transformants to excessive Mn stress, and increase the Mn accumulation in transformants. However, under conditions of excessive cadmium (Cd), zinc (Zn), copper (Cu), and iron (Fe) stress, the yeast transformants exhibited no significant changes in tolerance. Subsequent subcellular localization analysis revealed that SpMTP10 was localized to the endoplasmic reticulum (ER) membrane. Compared with wild-type plants, transgenic Arabidopsis overexpressing SpMTP10 demonstrated reduced Mn accumulation in roots but increased Mn accumulation in shoots, rendering the plants more sensitive to excessive Mn stress.

CONCLUSION: In conclusion, SpMTP10 likely enhances yeast tolerance to excessive Mn toxicity by promoting Mn sequestration in the ER. In plants, Mn transport mediated by SpMTP10 into the ER may facilitate intercellular migration of Mn in the ER lumen via plasmodesmata, thereby promoting Mn movement toward vascular tissues in roots and subsequent long-distance transport to shoots.



A working model of SpMTP10 involved in Mn transport in Arabidopsis transformants. Expression of SpMTP10 increases Mn transport into the ER and consequently facilitate the cell-to-cell movement of Mn in the ER-luminal continuum through plasmodesmata. This promotes the passage of Mn toward the xylem in the root, and thereby enhances the long-distance transport of Mn to the shoot in Arabidopsis transformants. Ep, Epidermis. Co, cortex. En, Endodermis. Ph, Phloem. Xy, Xylem. CS, Casparian strip. CW, Cell wall. ER, Endoplasmic reticulum. The red arrow represents the Mn transport path.

Key words manganese, endoplasmic reticulum, MTP, *Sedum plumbizincicola*

Chen SY, Wang JL, Li YY, Lu XX, Zhang PH, Qiu QH, Gao Y, Gu TY, Peng JS (2026). The mechanism of manganese accumulation mediated by SpMTP10 isolated from *Sedum plumbizincicola*. *Chin Bull Bot* **61**, 1–1.

† These authors contributed equally to this paper

* Author for correspondence. E-mail: jspeng@hnust.edu.cn

通讯作者简介

彭佳师，湖南科技大学生命科学与健康学院教师，博士，教授，博士生导师。入选湖南省“三尖”创新人才工程、湖南省优青、湖南省普通高校青年骨干教师、湘潭市高层次人才。担任中国植物生理与植物分子生物学学会植物修复专业委员会秘书长、湖南省植物生理与分子生物学学会常务理事、湖南省植物学会理事、湖南省生物化学与分子生物学青年委员会委员、植物学报青年编委。主要从事植物矿质营养的分子机理研究。主持国家自然科学基金、中国博士后科学基金、湖南省自然科学基金等项目十余项，相关成果在 *Molecular Plant*、*Nature Communications* 等期刊发表。