• 药材与资源 •

# 三七休眠调控因子 *DOG* 基因家族的全基因组鉴定及表达模式

黄　敏[1, 2, 3]，李朝林[1, 2, 3]，葛　娜[1, 2, 3]，贾金山[1, 2, 3]，王清艳[1, 2, 3]，张金燕[1, 2, 3]，陈军文[1, 2, 3*]

1. 云南农业大学 西南中药材种质创新与利用国家地方联合工程研究中心，云南 昆明　650201
2. 云南农业大学 云南省药用植物生物学重点实验室，云南 昆明　650201
3. 云南农业大学 农学与生物技术学院，云南 昆明　650201

**摘　要：目的**　研究三七 *Panax notoginseng DOG*（*PnDOG*）基因家族结构特征和表达模式及其在三七种子后熟休眠和萌发的作用机制。**方法**　基于三七的全基因组和转录组数据，利用生物信息手段分析 *PnDOG* 家族的理化性质、基因结构、系统发育关系、保守结构域、顺式作用元件和表达模式；探讨了外施赤霉素（gibberellins，GA）和脱落酸（abscisic acid，ABA）激素对三七种子的影响，以及 *PnDOG* 基因家族对这些外源激素的响应机制。**结果**　*PnDOG* 基因家族包含 16 个成员，不均匀地分布在 8 条染色体上。*PnDOG* 基因都含有外显子，编码 216～514 个氨基酸，均为亲水性蛋白，亚细胞定位预测显示均位于细胞核中。系统进化将 *PnDOG* 基因分为 3 个亚组，不同亚组成员的基因结构存在差异。共线性分析显示，串联重复是 *PnDOG* 基因扩增的主要驱动因素。启动子顺式作用元件分析显示，*PnDOG* 基因的启动子区含有大量激素响应、胁迫响应以及少量胚发育响应等元件。基因本体（gene ontology，GO）和京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）分析显示，*PnDOG* 基因可能在非生物应激和激素诱导中起作用。基因表达分析和 qRT-PCR 分析显示，*PnDOG* 基因在三七不同组织中均有表达，并具有明显的组织特异性。部分 *PnDOG* 基因在三七种子不同后熟阶段和激素处理下的表达量均存在显著差异。发现 *PnDOG1* 和 *PnDOG14* 在种子中高表达且受激素强烈诱导，其表达量随后熟时间的增加逐渐下降，推测 *PnDOG1* 和 *PnDOG14* 是调控三七种子后熟休眠的关键基因。**结论**　大多数 *PnDOG* 基因的高表达可能与三七种子的后熟休眠形成有关，在后熟过程中通过响应激素信号调控种子休眠解除。

**关键词：**三七；种子休眠；DOG 基因家族；表达模式；外源激素

**中图分类号：**R286.12　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2025)08 - 2898 - 16

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.024

# Genome-wide characterization and expression pattern of dormancy regulator *DOG* gene family of *Panax notoginseng*

HUANG Min[1, 2, 3], LI Chaolin[1, 2, 3], GE Na[1, 2, 3], JIA Jinshan[1, 2, 3], WANG Qingyan[1, 2, 3], ZHANG Jinyan[1, 2, 3], CHEN Junwen[1, 2, 3]

1. National and Local Joint Engineering Research Center on Germplasm Innovation and Utilization of Chinese Medicinal Materials in Southwestern China, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China
2. Yunnan Key Laboratory of Medicinal Plant Biology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China
3. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

**Abstract: Objective**　To explore the characteristics and expression patterns of the Sanqi (*Panax notoginseng*) *DOG* (*PnDOG*) gene family, along with their regulatory mechanisms during after-ripening dormancy and germination. **Methods**　Based on the whole-genome and transcriptome data, the physicochemical properties, gene structure, phylogenetic relationships, conserved structural (CS) domains, cis-acting elements and expression patterns of the PnDOG family were identified using bioinformatics tools. The gibberellins (GA) and abscisic acid (ABA) hormones were applied to *P. notoginseng* seeds to examine the response of *PnDOG* gene family to these exogenous hormones. **Results**　*PnDOG* gene family contained 16 members, distributed unevenly on eight chromosomes. All *PnDOG* genes contained exons that encoded proteins ranging from 216 to 514 amino acids. These proteins were

**收稿日期：**2024-12-01

**基金项目：**云南省科技重大专项项目（202102AA310048）；国家重点研发计划项目（2021YFD1601003）；国家自然科学基金项目（81860676）；国家自然科学基金项目（32160248）

**作者简介：**黄　敏（1998—），男，硕士研究生，研究方向为药用植物种质资源评价与利用。E-mail: 473639957@qq.com

***通信作者：**陈军文（1976—），男，教授，从事药用植物生理与分子生物学研究。E-mail: cjw31412@163.com

classified as hydrophilic proteins, and subcellular localization predictions indicated that they were all localized in the nucleus. Phylogenetic analysis classified *PnDOG* genes into three distinct subgroups, revealing structural differences among the members of each subgroup. Covariance analysis indicated that tandem repeats were the primary contributors to the amplification of *PnDOG* genes. Analysis of the promoter cis-acting elements revealed that the promoter region of *PnDOG* genes was enriched with hormone-responsive and stress-responsive elements, while containing a smaller number of elements responsive to embryo development. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) analyses showed that *PnDOG* genes might play a role in abiotic stress and hormone induction. Gene expression analysis and qRT-PCR analysis showed that *PnDOG* genes were expressed in different tissueswith obvious tissue specificity. The expression levels of *PnDOG* genes were significantly different at different after-ripening stages and under hormone (ABA, GA) treatments. *PnDOG1* and *PnDOG14* was highly expressed in seeds of *P. notoginseng*, and induced strongly by hormone treatment. Moreover, their expression gradually decreased with the increase of stratification time, suggesting that *PnDOG1* and *PnDOG14* were hypothesized to be the key genes regulating after-ripening dormancy in *P. notoginseng* seeds. **Conclusion** The results indicate that the elevated expression of most *PnDOG* genes may be associated with seed after-ripening dormancy formation in *P. notoginseng*. These genes likely play a role in regulating the release of seed dormancy during the after-ripening process by responding to hormonal signaling pathways.

**Key words:** *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; seed dormancy; DOG gene family; expression pattern; exogenous hormone

种子休眠是某些植物在长期的系统发育过程中，为抵抗外界不良环境条件在不断发展与进化中形成的[1]。根据种子的休眠机制将种子休眠划为生理休眠、形态休眠、形态生理休眠、物理休眠和综合休眠[2-3]。外界环境变化时，种子感知环境信号并做出应答，从而加深休眠或解除休眠。植物激素信号在种子休眠解除过程中发挥重要作用[4-5]，其中脱落酸（abscisic acid，ABA）诱导和维持休眠状态，而赤霉素（gibberellins，GA）可以解除休眠[6-7]。缺乏 *CYP707A1* 和 *CYP707A2* 等 ABA 降解基因时种子高度休眠[8]。前人研究多集中于激素及其信号通路基因协同调控种子休眠维持和解除。然而目前研究缺乏有关种子休眠直接调控因子的信息，及这些因子与激素之间的串扰。

*DOG1*（delay of germination-1）基因是 Bentsink 等[9]在高度休眠的拟南芥 *Arabidopsis thaliana* Cvi 群体中借助数量性状基因座（quantitative trait locus，QTL）定位发现并鉴定的。*DOG1* 基因的表达水平越高，种子休眠程度越深，是种子休眠的重要调控因子[5]。拟南芥中 *AtDOG1* 不仅诱导低温成熟期种子原生休眠的产生，还参与高温和长期冷藏层积种子次生休眠的形成[9-11]。油菜 *Brassica napus* L.中 *BrDOG1* 也参与诱导次生休眠[12]。小麦 *Triticum aestivum* L.中过表达 *TaDOG1L4*，种子休眠程度加深，RNAi 沉默 *TaDOG1L4* 后，种子休眠水平下降[13]。莴苣 *Lactuca sativa* L.中 *LsDOG1* 通过调节 microRNA（miR172、miR156）的水平参与种子休眠[14]。此外，*DOG1* 基因作为负调节因子通过 ABA 途径，改变内源激素平衡进而调节种子休眠[15]。外源施加 ABA 促进 *DOG1* 基因的表达，增加种子对 ABA 的敏感性，从而促进种子休眠[16-17]。*DOG1* 基因与种子休眠高度相关，然而目前关于 *DOG* 基因家族研究较少，*DOG* 基因家族的特征、表达模式及其响应外源激素和调控种子休眠的分子机制尚不完全清楚。

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为五加科（Araliaceae）人参属多年生草本植物，其干燥根茎属于名贵中药材，临床多用于活血化瘀、消肿止痛[18]。三七作为药用作物距今已有 400 多年的种植历史[19]。三七主要在我国西南和华南部分地区种植，其中云南作为三七的主产区，种植面积达到 3.4 万 $hm^2$[20]。生产上三七种子是唯一繁殖材料，三七种子属于形态生理休眠类型，具有明显后熟特性[21-22]。种子采收时种胚尚未发育完全，需要经过 60 d 沙层积，完成后熟才能正常萌发[23]。三七种子后熟过程中内源激素协同调控三七种子休眠解除[24]。外源激素处理影响三七种子内源激素平衡，从而调控休眠解除和种子萌发[25]。*PnPP2C*、*PnGA2OX* 等基因响应外源激素信号促进种子休眠的解除[26-27]。前期对种子休眠的研究主要集中在激素信号调控方面，*DOG1* 作为种子休眠调控的关键基因，在三七中的研究依然处于空白状态。本研究利用生物信息手段鉴定三七 *DOG*（*PnDOG*）基因家族成员，并分析其基因结构、保守结构域、系统发育关系、染色体定位，并通过分析 *PnDOG* 基因在不同组织中的表达模式及其对外源激素处理的响应，解析 *DOG* 基因家族在三七种子休眠中的作用机制，本研究结果为药

用作物三七种子休眠调控及对外界环境的适应性研究提供新的思路。

## 1 材料与仪器

### 1.1 植物材料

2023 年于云南省文山市追栗街镇三七种植基地（23°30′N，104°38′E）采收三年生植株（种子由果实搓去外果皮获得），经云南农业大学孟珍贵副教授鉴定为三七 *P. notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的花、根、茎、叶及成熟果实。

### 1.2 试剂及仪器

SteREO DiscoveryV.12 型电动体视显微镜（德国蔡司）；QuantStudio5 实时荧光定量 PCR 仪（美国 ThermoFisher Scientific 公司）；RNA 提取试剂盒（TAKARA MIniBEST Plant RNA Extraction kit）购自广州美基生物科技有限公司；反转录试剂盒（Vazyme HiScript III All-in-one RT SuperMix）和 SYBR 酶（SYBR-Green qPCR Mix）购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；$CuSO_4$ 购自上海易恩化学技术有限公司；ABA 和 GA 购自上海源叶公司。

## 2 方法

### 2.1 试验设计

选取成熟、饱满和大小均一的三年生三七果实，人工搓去红果皮，经 5% $CuSO_4$ 溶液消毒 30 min 后用蒸馏水清洗 2 次，室内阴干得到洁净种子[25]。以蒸馏水处理为对照，500 mg/L GA、10 mg/L ABA 溶液浸种处理 24 h（种子-浸种液 1∶3）。激素浸泡后种子用蒸馏水冲洗 2 次并于室内晾干，取样置于−80 ℃保存。洁净种子按照种子与无菌河砂体积比为 1∶5 人工搅拌混合均匀，置于透气良好的全网状筐内进行室内避光层积。层积湿度约为 25%，温度为（15±5）℃，未层积种子作为后熟 0 d 的样品，层积后间隔 10 d 取样（获取后熟 10～50 d 的种子），置于−80 ℃保存。将 20 粒三七种子沿胚纵切，置于电动体视显微镜下观察不同后熟时期的胚、胚乳发育情况，拍照并测量其长度，计算胚率（胚率＝胚长/胚乳长）。分别选取经沙层积处理的种子，置于含湿沙的培养皿中，每皿 100 粒，每 10 天记录萌发种子数并计算萌发率（萌发率＝萌发种子数/种子数）。

### 2.2 *PnDOG* 家族成员全基因组鉴定与系统发育树构建

Pfam 网站（http://pfam.xfam.org/）下载 DOG1 结构域的 HMM 文件（PF14144）。以 HMM 文件作为参考，利用 HMMER3.0 检索三七蛋白序列库中 DOG 家族成员，参数设置 $E<1\times10^{-5}$。获取的蛋白序列提交在线软件（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi）检测其结构域并保存结构域完整的序列。共获取 16 个家族成员，根据其在染色体的位置，由小到大重新命名。利用在线网站 ProtParam（http://www. expasy.org/tools/protparam.html/）进行理化性质分析，提交在线软件（https://wolfpsort.hgc.jp/）进行亚细胞定位预测。利用 SOPMA 在线工具（https://npsa-prabi.ibcp.fr/）分析 PnDOG 蛋白的二级结构（包括 α-螺旋、β-折叠、延伸链及无规则卷曲）。通过 MEGAX 软件，采用 neighbor-joining 方法构建 PnDOG 家族成员与拟南芥 DOG 家族成员的系统进化树，参数设置 Bootstrap＝1 000。进化树结果利用 evolview 线上程序（https://evolgenius.info//evolview-v2/# login）进行美化。

### 2.3 *PnDOG* 家族成员进化分析

从三七基因组 FASTA 文件与 GFF 文件获取染色体长度信息与基因起始终止信息。MCScanX 程序获取三七与拟南芥、水稻的共线性基因，提取具有共线性关系的 *PnDOG* 家族成员，TBtools 进行结果可视化[28]。

### 2.4 *PnDOG* 家族成员蛋白序列保守基序与结构域分析

MEGA11.0 软件对 *PnDOG* 基因进行多重序列比对。基于三七基因组注释文件，利用 TBtools 软件分析 *PnDOG* 家族基因的结构信息。PnDOG 家族成员蛋白序列提交在线软件（https://memesuite. org/meme/）进行保守基序（motif）预测，参数设置 motif＝10。蛋白序列提交在线软件（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi）获取结构域信息，参数默认，TBtools 进行数据可视化。

### 2.5 *PnDOG* 家族成员上游顺式元件预测

截取 *PnDOG* 家族成员上游 2 000 bp 序列提交顺式元件线上预测平台（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/），利用 Excel 统计结果，TBtools 可视化数据。

### 2.6 预测和富集分析

利用 Plant TFDB 4.0（http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/）用 TF 预测值来识别转录因子。进一步

通过 EggNOG 数据库 [基因进化谱系：非直系同源群（http://eggnogdb.embl.de/#/app/emapper2）] 进行 *DOG* 家族转录因子预测和家族分析，预测家族中转录因子的基因数目。利用 KEGG 数据库（https://www.genome.jp/kegg/），对 *DOG* 家族通路进行预测。利用 TBtools 软件进行 GO 富集分析，精确检验设定显著性水平 *P* 值≤0.05。

### 2.7 实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）分析 *PnDOG* 基因表达模式

使用植物总 RNA 提取试剂盒提取三七不同组织（根、茎、叶、花、果实、种子）、种子不同后熟阶段（0、30、50 d）及外源激素处理后三七种子的总 RNA，测定 RNA 浓度，通过 1%琼脂糖凝胶电泳进行质量检测，利用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA。使用 Premier 3.0 设计目标基因的引物，产物大小设定在 70～300 bp[29]，引物序列见表 1。qRT-PCR 试剂盒使用 SYBR-Green qPCR Mix，以 G6PDH（Gucose-6-Phosphate-Dehydrogenase）和 *Actin* 基因为内参基因，每个样品 3 次重复，通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析 qRT-PCR 的结果。

**表 1 qRT-PCR 引物序列**

**Table 1 Primer sequences for qRT-PCR**

| 基因名称 | 上游引物（5’→3’） | 下游引物（5’→3’） |
|---|---|---|
| *PnDOG1* | ACGACGTTCTGTCCCTCTTC | CACTCAGACAACTCGTCGGT |
| *PnDOG2* | CCCTCGCTTACAGCCTATGG | GGAGTGATCTCCAGTGCTCG |
| *PnDOG3* | CAGATGCGGCAGTGTTTGAG | TTCATGAGGTCTGATGGGCG |
| *PnDOG4* | GTGTCGCCTCCTAACTACCC | CGTGGACGAGTAGCCCATAG |
| *PnDOG5* | ATTAGCCTGCATCCAGTCGG | GCCGCATCAGTTTGACTCAC |
| *PnDOG6* | TCTTTGGATCACGGGCTGG | CACAACCGTTCTTGACTCGG |
| *PnDOG7* | CAAGCGAAAAGTCCTGGCTC | GATGGTCTACACCCGGCAAT |
| *PnDOG8* | GGATTGGCGCAATTCCGTAG | TGTCGTCAAGATACGAGCGG |
| *PnDOG9* | AGCTGGAACCTCTTGTGAGC | CAATCCTTGAGCTGCTTGGC |
| *PnDOG10* | CAGCTGAACGTTGCTTCCTG | CCAATTGCTGCTCCGTTAGC |
| *PnDOG11* | CGCAAGGATTCAAGAGAGCG | CGTGAATCTCGCCGTCAATC |
| *PnDOG12* | ATGTGGGAGGACATGTTCGG | GTTAACCAGCCTTGCATCCG |
| *PnDOG13* | GGACCAGAAGACACTTCGCA | AGGCGACTGTTCTCCAACTG |
| *PnDOG14* | TGGCCAACTACATGGGTCAG | TGAGAGCGCGAAGACGATAG |
| *PnDOG15* | GGGAATGTGGAAAACGCCTG | TGCTGCAAGTTGGAAATGCC |
| *PnDOG16* | AGGCGAGTCAATGAGCTGAG | TAGTGTGCCAAGACTCCGTC |
| *$G_6$PDH* | GTGCTTCTGGTGATCTTGCC | TTCCTTATCCAGCAGCCGAT |
| *Actin* | GATTGATCTTGGCACCGGGA | TGACCAACCCACGACCTTTC |

### 2.8 数据统计与分析

采用 GraphPad Prism 8.0.1 软件作图，所有数据使用 SPSS 26.0 单因素方差分析和 Duncan 多重比较方法进行显著性差异分析，*P*＜0.05 为差异显著。

## 3 结果与分析

### 3.1 *PnDOG* 基因的鉴定与理化性质分析

采取 HMM 和 BLAST 2 种方法初步鉴定三七基因组中的 *DOG* 基因家族基因，按照基因在染色体上位置的先后顺序依次命名为 *PnDOG1*～*PnDOG16*。16 个 *PnDOG* 家族成员的氨基酸序列和理化性质如表 2 所示，这些基因编码的蛋白氨基酸数目在 216～514 个，其中 *PnDOG14* 和 *PnDOG2* 的氨基酸数目最多，*PnDOG1* 和 *PnDOG8* 的氨基酸数目最少；PnDOG 蛋白的相对分子质量为 24 925.24～56 998.55；理论等电点为 5.13～9.44，13 个基因编码的蛋白理论等电点≥6.88，为酸性蛋白，3 个基因编码的蛋白＞8，为碱性蛋白；PnDOG 蛋白的脂肪系数值介于 68.93～106.99，亲水系数均小于 0，所有蛋白均为亲水性且结构不稳定（不稳定系数均值为 51.34）。此外，亚细胞定位预测发现 16 个 *PnDOG* 基因均定位于细胞核内。

*PnDOG* 家族蛋白的二级结构预测分析结果显示（表 3），*PnDOG* 家族编码的蛋白质二级结构均含有 α-螺旋、β-转角、延伸链和不规则卷曲 4 种二级结构。所占比例大小依次为 α-螺旋（平

表 2 *PnDOG* 基因的理化性质

**Table 2 Physicochemical characteristics of *PnDOG* genes in *P. notoginseng***

| 登录号 | 基因名称 | 氨基酸数目 | 相对分子质量 | 等电点 | 脂肪指数 | 亲水系数 | 不稳定系数 | 亚细胞定位预测 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Pno01G004771.t1 | *PnDOG1* | 216 | 24 925.24 | 5.98 | 93.47 | −0.300 | 37.36 | 细胞核 |
| Pno01G007489.t1 | *PnDOG2* | 507 | 55 872.61 | 8.98 | 68.93 | −0.509 | 59.35 | 细胞核 |
| Pno01G008000.t1 | *PnDOG3* | 496 | 55 381.84 | 6.88 | 74.62 | −0.519 | 58.48 | 细胞核 |
| Pno02G007914.t4 | *PnDOG4* | 363 | 41 091.56 | 6.17 | 83.66 | −0.440 | 44.03 | 细胞核 |
| Pno02G013726.t1 | *PnDOG5* | 249 | 27 676.27 | 9.44 | 106.99 | −0.074 | 52.06 | 细胞核 |
| Pno03G004716.t1 | *PnDOG6* | 252 | 29 171.83 | 6.13 | 88.93 | −0.298 | 30.50 | 细胞核 |
| Pno03G004717.t1 | *PnDOG7* | 262 | 30 253.13 | 5.30 | 86.37 | −0.559 | 52.15 | 细胞核 |
| Pno03G005110.t1 | *PnDOG8* | 216 | 24 443.78 | 6.08 | 92.13 | −0.363 | 43.71 | 细胞核 |
| Pno04G003467.t2 | *PnDOG9* | 363 | 41 025.71 | 8.29 | 83.06 | −0.440 | 53.99 | 细胞核 |
| Pno05G003744.t1 | *PnDOG10* | 502 | 55 569.14 | 6.88 | 74.72 | −0.569 | 60.85 | 细胞核 |
| Pno05G010846.t1 | *PnDOG11* | 242 | 28 063.71 | 5.13 | 79.46 | −0.455 | 53.54 | 细胞核 |
| Pno05G015381.t2 | *PnDOG12* | 364 | 41 273.98 | 6.13 | 81.57 | −0.434 | 51.52 | 细胞核 |
| Pno08G014019.t1 | *PnDOG13* | 472 | 51 955.28 | 6.28 | 76.50 | −0.468 | 47.68 | 细胞核 |
| Pno09G000525.t1 | *PnDOG14* | 514 | 56 998.55 | 6.84 | 73.68 | −0.511 | 58.75 | 细胞核 |
| Pno09G000831.t7 | *PnDOG15* | 447 | 49 581.27 | 7.81 | 64.49 | −0.615 | 56.99 | 细胞核 |
| Pno11G000430.t1 | *PnDOG16* | 357 | 39 487.61 | 9.24 | 86.50 | −0.427 | 60.49 | 细胞核 |

表 3 PnDOG 家族成员的蛋白二级结构预测

**Table 3 Secondary structure analysis of PnDOG family members in *P. notoginseng***

| 蛋白名称 | α-螺旋/% | β-转角/% | 延伸链/% | 无规则卷曲/% |
|---|---|---|---|---|
| PnDOG1 | 80.09 | 1.85 | 3.24 | 14.81 |
| PnDOG2 | 53.65 | 0.79 | 6.51 | 39.05 |
| PnDOG3 | 59.48 | 1.81 | 3.02 | 35.69 |
| PnDOG4 | 66.12 | 1.65 | 4.13 | 28.10 |
| PnDOG5 | 73.49 | 1.20 | 3.61 | 21.69 |
| PnDOG6 | 75.00 | 1.59 | 3.17 | 20.24 |
| PnDOG7 | 74.81 | 1.53 | 3.05 | 20.61 |
| PnDOG8 | 70.83 | 0.93 | 3.70 | 24.54 |
| PnDOG9 | 66.67 | 0.55 | 1.65 | 31.13 |
| PnDOG10 | 56.18 | 0.40 | 3.59 | 39.84 |
| PnDOG11 | 77.27 | 1.65 | 3.72 | 17.36 |
| PnDOG12 | 65.66 | 0.82 | 2.20 | 31.32 |
| PnDOG13 | 51.69 | 0.85 | 5.08 | 42.37 |
| PnDOG14 | 52.72 | 1.36 | 5.25 | 40.66 |
| PnDOG15 | 57.27 | 0.67 | 3.80 | 38.26 |
| PnDOG16 | 66.11 | 0.56 | 3.08 | 30.25 |

均 65.44%）、无规则卷曲（平均 29.74%）、延伸链（平均 3.67%）和 β-折叠（平均 1.13%），蛋白二级结构主要由 α-螺旋和不规则卷曲构成，可能有助于形成蛋白质的特殊结构构象。PnDOG1 的 α-螺旋占比（80.09%）和 β-转角占比（1.85%）均高于其他成员，所有成员中无规则卷曲占比最高的是 PnDOG13（32.13%），PnDOG2 的延伸链占比（6.51%）明显高于其他成员。

### 3.2 *PnDOG* 基因的染色体定位、共线性分析

同源基因通常具有相似的基因结构和生物学功能[30]，因此基因复制在决定基因功能中起着不可或缺的作用。16 个 *PnDOG* 基因不均匀地分布在 8 条染色体上（图 1-A），其中 1、3 和 5 号染色体上均含 3 个 *PnDOG* 基因，2 和 9 号染色体上包含 2 个 *PnDOG* 基因，其余 3 条染色体上仅含 1 个 *PnDOG* 基因。*PnDOG* 家族共有 4 对片段重复事件，涉及 8 个已鉴定的同源基因（图 1-B），表明 *PnDOG* 基因家族的扩增可能是由基因复制事件造成的。为了明确 *PnDOG* 基因的进化关系，对拟南芥、水稻 *Oryza sativa* L.进行种间共线性分析。结果表明（图 2），三七与拟南芥共 16 415 条同源基因对，三七与水稻共 6 218 条同源基因对。其中三七与拟南芥的 *DOG* 家族成员的同源基因对数为 12，与水稻的同源基因对数为 8，三七与拟南芥 *DOG* 同源基因高于三七与水稻 *DOG* 同源基因。这表明 *DOG* 家族在双子叶植物的进化过程中，可能具有较高的保守性。$K_a/K_s$ 为一对蛋白质编码基因的非同义取代率（$K_a$）相对于同义取代率（$K_s$）的百分比，$K_a/K_s$ 对物种选择进化具有重要参考意义。8 个同源的 *PnDOG* 基因 $K_a/K_s$ 为 0.190 7～0.306 9 [其中第 1 对的 $K_a/K_s$ 无数值（not a number，NaN）] 平均值为 0.257 0（表 4），所有复制事件的 $K_a/K_s$ 小于 1，表明这些 *PnDOG* 基因在进化过程中经历了纯化选择。

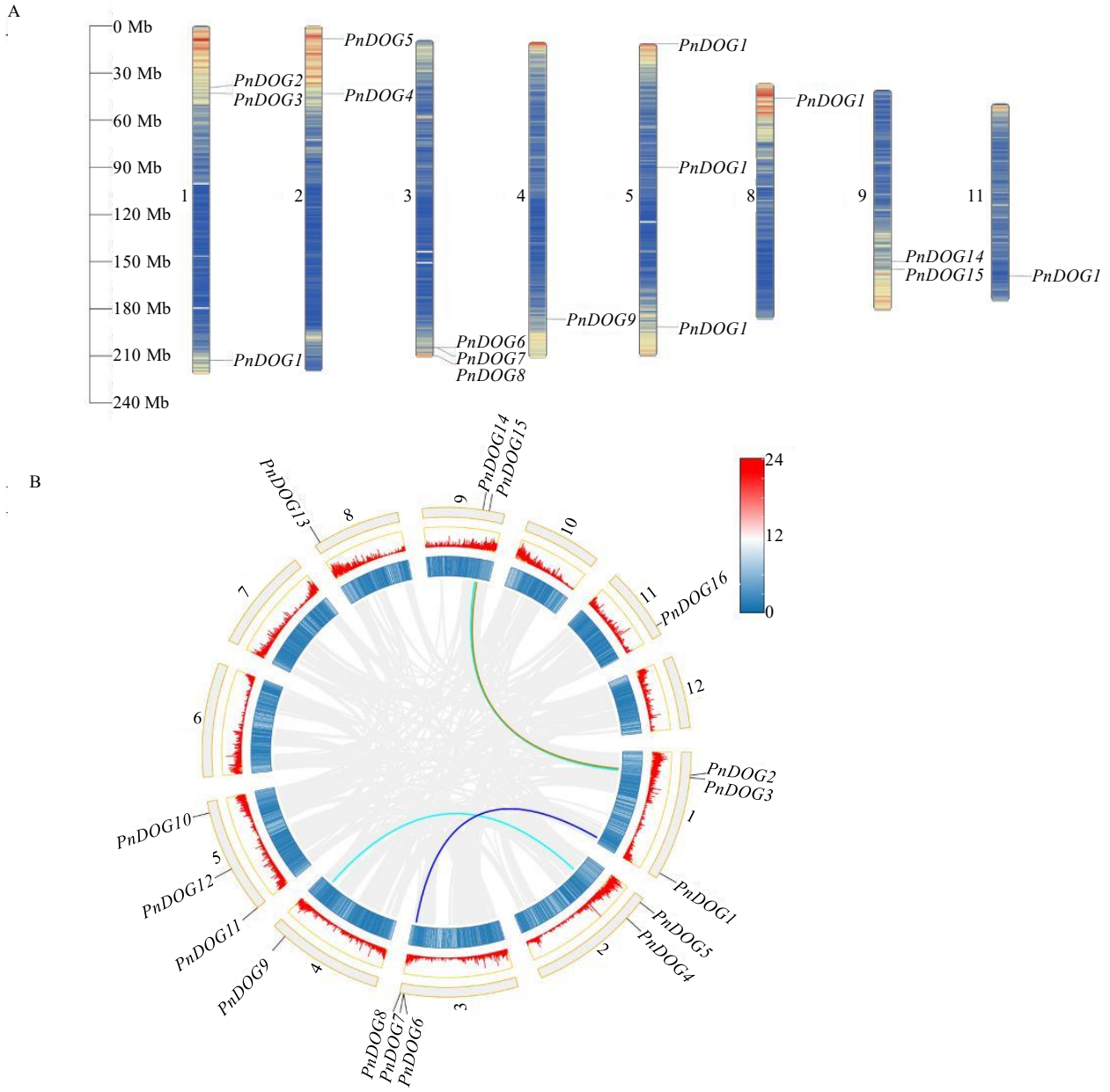



图 1 ***PnDOG*** 基因家族染色体分布 (A) 及组内共线性分析 (B)

**Fig. 1 Chromosome distribution (A) and collinearity relationship (B) of *PnDOG* gene family**

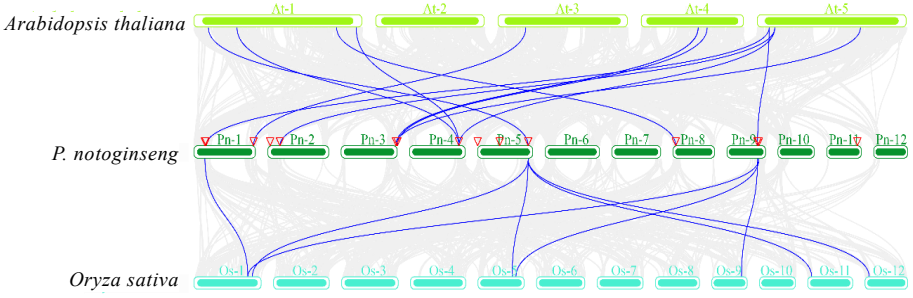



图 2 ***PnDOG*** 基因家族种间共线性分析

**Fig. 2 Interspecific collinearity analysis of *PnDOG* gene family**

表 4 三七 4 对重复事件 *DOG* 基因及其 $K_a/K_s$ 值

**Table 4 Four pairs of repetitive event *DOG* genes and their $K_a/K_s$ ratio in *P. notoginseng***

| 基因 1 | 基因 2 | $K_a$ | $K_s$ | $K_a/K_s$ |
|---|---|---|---|---|
| Pno03G004771.t1 | Pno03G004717.t1 | 0.716 532 27 | NaN | NaN |
| Pno01G007489.t1 | Pno09G000831.t7 | 0.111 086 31 | 0.361 924 85 | 0.306 931 99 |
| Pno01G008000.t1 | Pno09G000525.t1 | 0.088 642 06 | 0.464 584 64 | 0.190 798 53 |
| Pno02G007914.t4 | Pno04G003467.t2 | 0.076 689 44 | 0.280 361 51 | 0.273 537 69 |

### 3.3 *PnDOG* 基因家族的系统进化分析

下载 5 个已知的拟南芥 DOG 蛋白序列，与 PnDOG 蛋白序列进行合并。采用邻接（neighbor-joining，NJ）法构建系统发育树（图 3），*PnDOG* 基因家族被分为 3 个亚组。I 组仅有 2 个 *PnDOG* 基因，II、III组包含大多数 *PnDOG* 基因，II组 *PnDOG* 基因与拟南芥 *DOG* 家族成员亲缘关系较近。*PnDOG* 基因可能经历了来自同一祖先基因的多次基因复制事件，在基因分组后，家族成员之间发生了不同的分化模式。

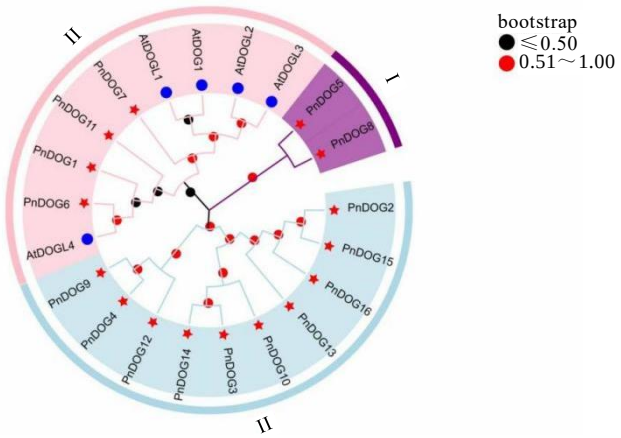



图 3 三七、拟南芥 *DOG* 基因家族系统进化树

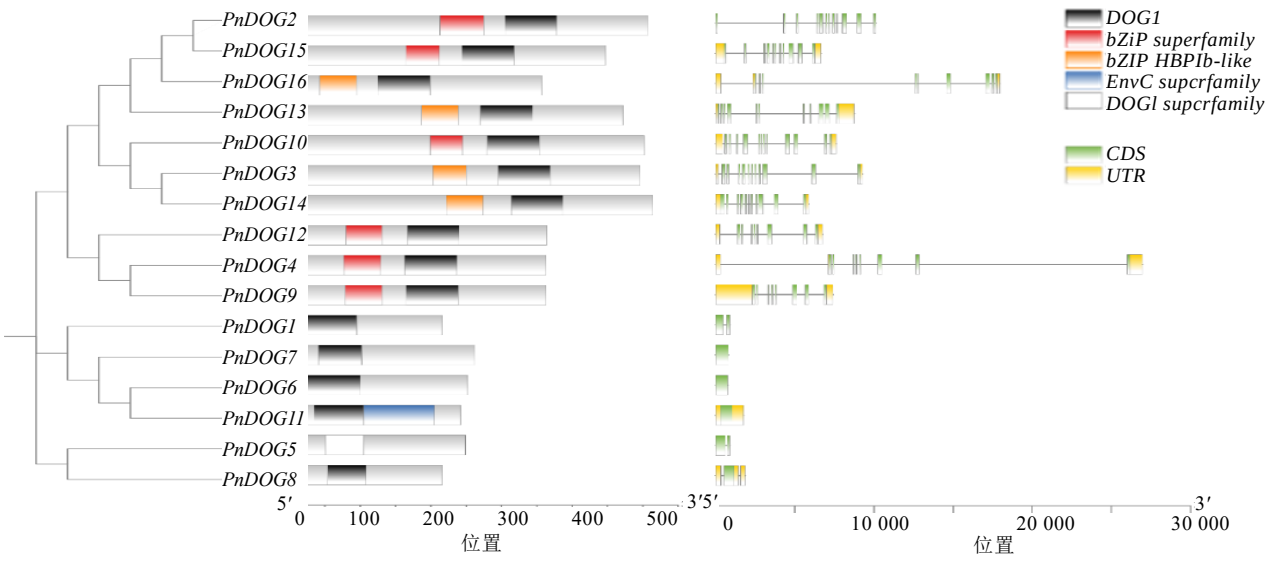
**Fig. 3 Phylogenetic tree of *DOG* gene family in *P. notoginseng* and *Arabidopsis thaliana***

### 3.4 *PnDOG* 家族成员 Motif 序列、结构域以及基因结构分析

分析 *PnDOG* 基因（图 4）的保守结构域和外显子-内含子结构，发现所有家族成员均含有 *DOG* 结构域，表明其具有相对保守的进化模式。在 11 个基因中还发现了额外的结构域，其中 6 个基因含有 bZIP superfamily 结构域、4 个基因含有 bZIP_HBP1b-like 结构域，1 个基因含有 EnvCsuperfamily 结构域。亚组 I 的所有成员仅含有 *DOG* 结构域，亚组III的所有成员都含有 bZIP superfamily 或 bZIP_HBP1b-like 结构域，推测 bZIP 结构域可能赋予 *DOG* 家族新的功能特性。*PnDOG* 基因的外显子-内含子结构显示（图 4），所有的 *PnDOG* 基因都含有外显子，数量 1～13 个；63.5%的 *PnDOG* 基因内含子数目超过 7 个，36.5%的 *PnDOG* 基因内含子数目小于 2，其中 *PnDOG6*、*PnDOG7* 和 *PnDOG11* 不含有内含子。*PnDOG* 基因中非翻译区的存在较为普遍，仅 31.25%的 *PnDOG* 基因不含有非翻译区。同一亚组内，*PnDOG* 基因的外显子、内含子、非翻译区的数量与长度具有较高的相似性。蛋白序列的保守基序分析发现 16 个 PnDOG 蛋白共预测到 10 个保守基序（图 5、6），且 PnDOG 蛋白保守基序的数目在不同亚组之间差异较大。*PnDOG* 家族亚组I、II的成员保守基序数目均小于 4 个，亚组III的成员保守基序数目都在 8 个或 8 个以上。Motif 6 存在于 16 个蛋白中，Motif 1 存在于 15 个蛋白中（PnDOG5 除外），Motif 2 分布与 Motif 1 相似，PnDOG5 和 PnDOG8 均不含有 Motif 2。Motif 3、Motif 5、Motif 7～10 仅存在于亚组III的蛋白中，Motif 4 存在于亚组II和III的部分蛋白中。结果表明 Motif 1 和 Motif 6 是 DOG1 结构域。而 Motif 3、Motif 7 是 bZIP 结构域（图 5、6）。同一亚组的成员在基序的类型和数量上相似，但不同亚组之间的差异较大。

### 3.5 *PnDOG* 家族成员顺式元件分析

提取上游 2 000 bp 的启动子序列进行顺式元件预测。预测结果显示，*PnDOG* 家族成员上游顺




黄色方框表示未翻译区域，绿色方框表示编码区域，线条表示内含子。

Yellow boxes indicate untranslated regions, green boxes indicate coded regions, lines indicate introns.

**图 4　*PnDOG* 基因家族成员基因结构**

**Fig. 4　Gene structures of *PnDOG* gene family members**

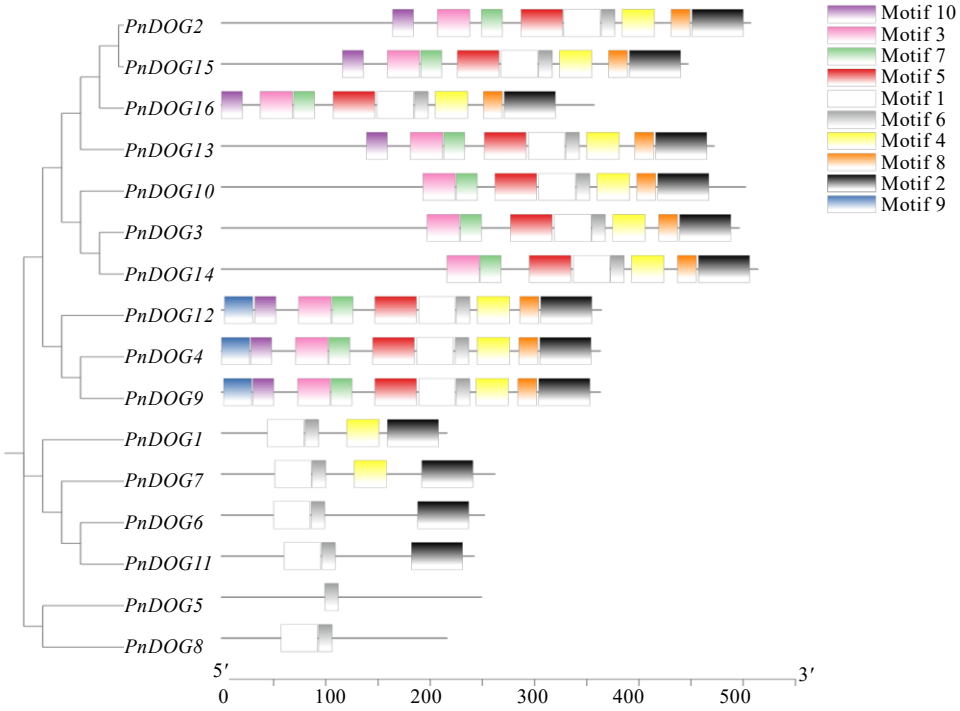



**图 5　*PnDOG* 基因家族成员保守功能结构域**

**Fig. 5　Conserved functional domains of *PnDOG* gene family members**

式元件以激素响应、防御或胁迫响应元件为主（图 7）：胁迫响应元件包含厌氧诱导（ARE）、干旱（MBS）、低温（LTR）、防御与应激（TC-rich repeats）、光响应元件（GT1-motif、G-box、Sp1），激素响应元件包含脱落酸（ABRE）、茉莉酸（TGACG-motif、CGTCA-motif）、水杨酸（TCA-element）、赤霉素（P-box、TATC-box、GARE-motif）、生长素（TGA-element）。统计发现，除 *PnDOG4* 外，其余 *PnDOG* 基因的上游区域都至少含有 1 种植物激素响应元件，多个防御和胁迫响应元件，与胚发育相关的响应元件仅出现在 *PnDOG3* 和 *PnDOG5* 中。这些结果表明，*PnDOG* 家族成员可能通过响应激素或刺激条件，在植物的生长发育和胁迫适应中发挥重要作用。

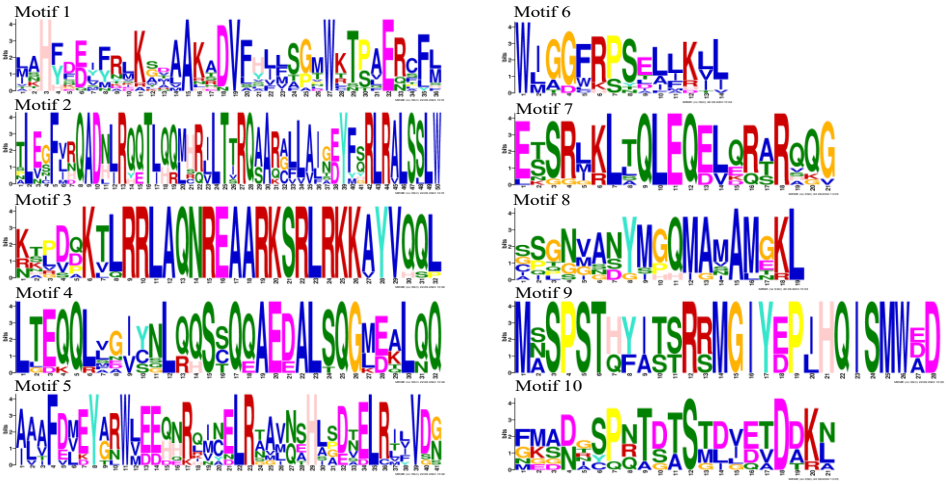



图 6　*PnDOG* 基因家族成员基序

**Fig. 6　*PnDOG* gene family member motifs**

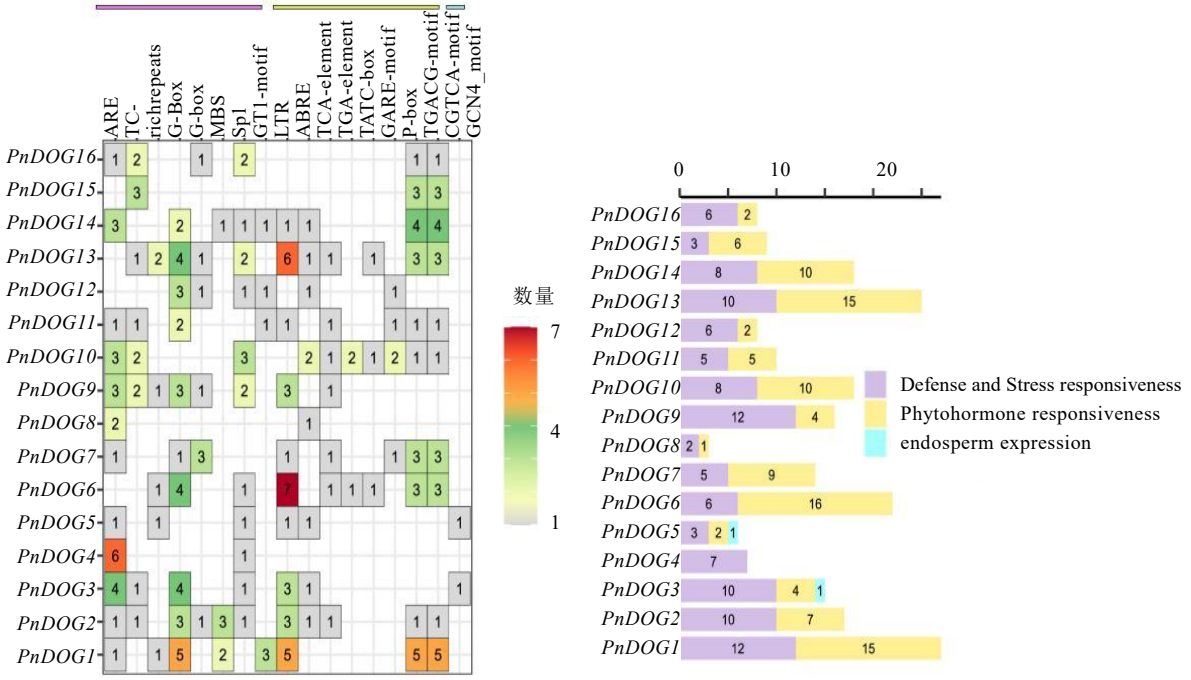



图 7　*PnDOG* 基因家族成员预测启动子中顺式作用元件分析

**Fig. 7　Cis-acting elements in predicted promoter of *PnDOG* gene family members**

### 3.6　*PnDOG* 基因功能富集分析

GO 分析显示 *PnDOG* 基因被富集到生物学过程、细胞组成和分子功能（图 8）。对显著性水平最高的前 20 个条目进一步分析发现，细胞组成类别中，仅富集到与细胞核（GO：0005634）相关。而在分子功能类别中，主要与分子结合、转录活性调控相关：DNA 结合（GO：0003677）、蛋白结合（GO：0005515）、小分子结合（GO：0036094）、含氮化合物结合（GO：1901363）、有机环状化合物结合（GO：0097159）、DNA 结合转录因子活性（GO：0003700）、转录调节剂活性（GO：0140110）。在生物过程中，主要与生物应答或应激相关：对细菌的反应（GO：0009617）对其他生物的反应（GO：0051707）、对外界生物刺激的反应（GO：0043207）、对生物刺激的反应（GO：0009607）、生物过程涉及生物之间的种间相互作用代谢过程有关（GO：0044419），其他功能包括核酸调控转录（GO：0006355），核糖核酸生物合成过程的调控机制（GO：2001141）、RNA 代谢过程的调控（GO：0051252）、DNA 模板转

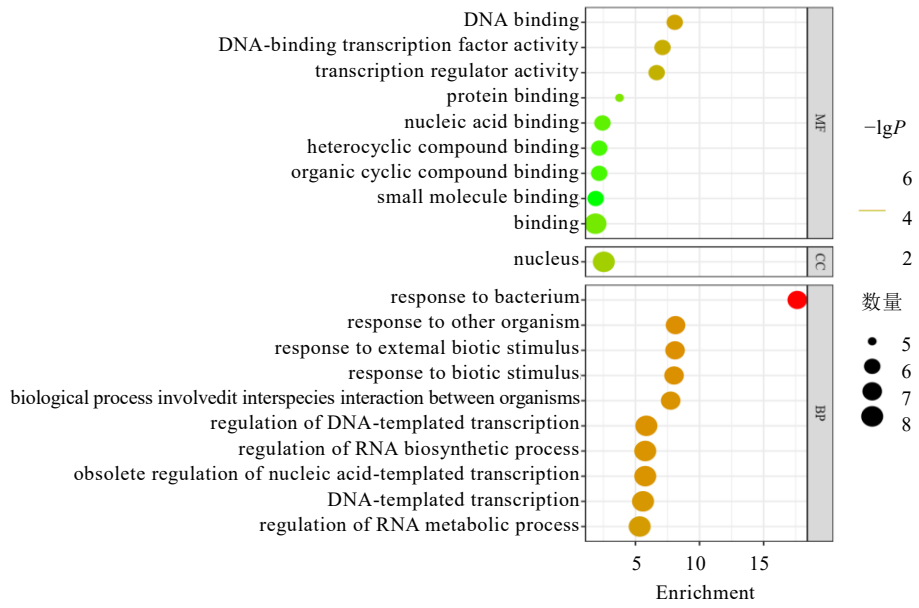



**图 8　*PnDOG* 基因的 GO 富集分析**

**Fig. 8　GO enrichment analysis of *PnDOG* genes**

录（GO：0006351）。KEGG 分析表明 *PnDOG* 基因的功能主要富集在植物信号转导，说明 *PnDOG* 基因参与信号处理或转导，其中包括植物激素信号转导、环境信息处理、遗传信息处理等（图 9）。此外，保守结构域分析发现，*PnDOG* 基因家族中第III亚组的成员包含 bZIP 结构域。bZIP TF 被认为是植物发育的明确调控因子，通常对植物激素或环境胁迫有反应。通过 PlantTFDB 4.0 转录因子预测，*PnDOG* 基因家族第III亚组的成员均为 TGACG-Binding（TGA）转录因子。

### 3.7　*PnDOG* 家族成员表达模式

为了研究 *PnDOG* 家族基因在不同组织上的潜在功能，以 *Actin* 为内参基因利用 qRT-PCR 技术分析 *PnDOG* 家族成员在各组织中的表达模式（图 10）。结果显示，16 个 *PnDOG* 基因在根、茎、叶、花、果实、种子中均有表达，*PnDOG* 基因具有组织表达特异性且各成员间的表达水平存在

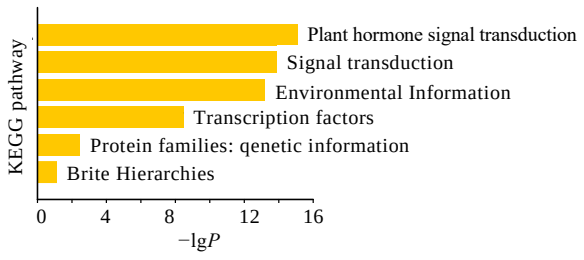



**图 9　*PnDOG* 基因的 KEGG 分析**

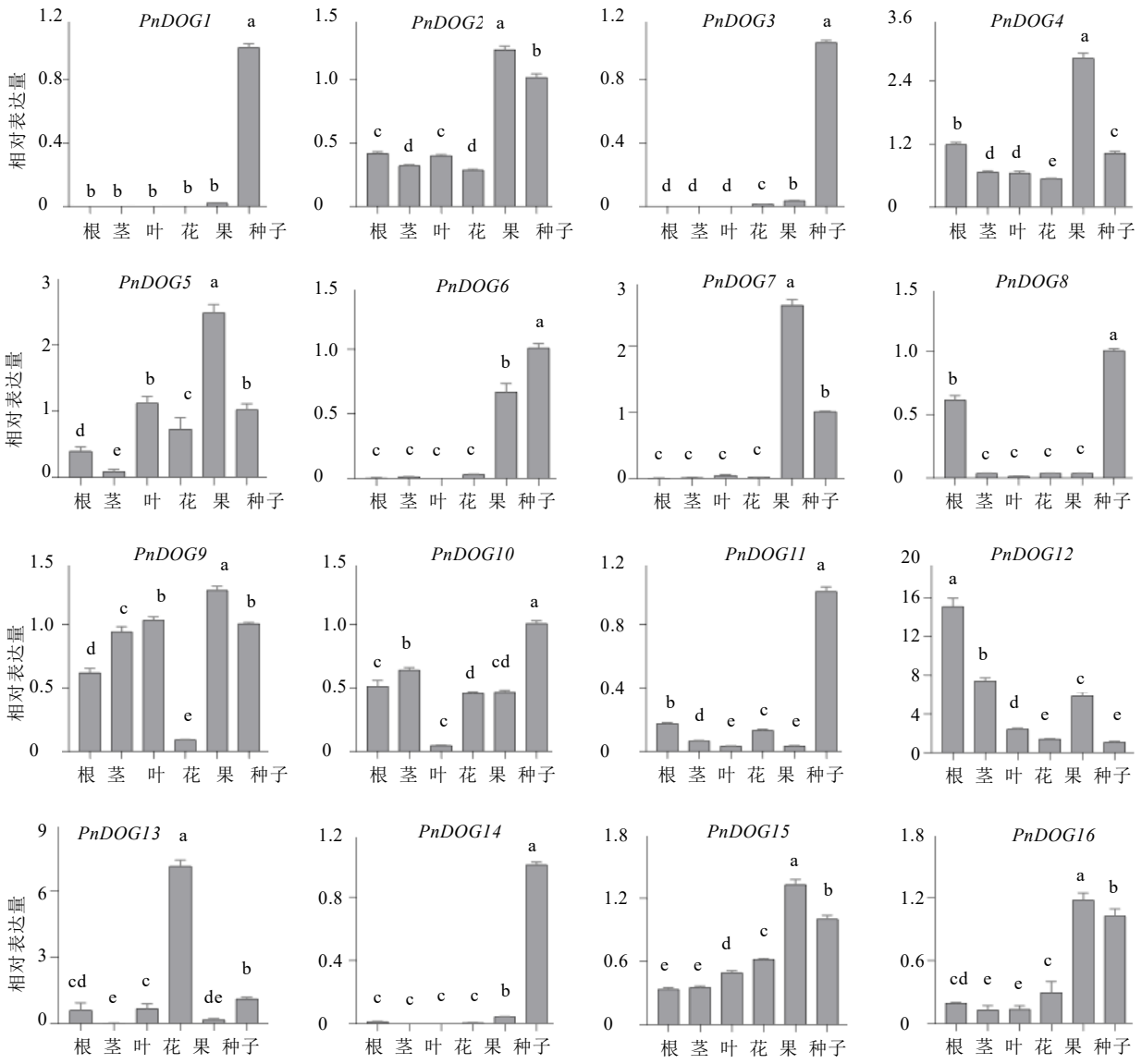
**Fig. 9　KEGG analysis of *PnDOG* genes**

差异。其中 7 个成员（*PnDOG1*、*PnDOG3*、*PnDOG6*、*PnDOG8*、*PnDOG10*、*PnDOG11*、*PnDOG14*）在种子中高表达，7 个成员（*PnDOG2*、*PnDOG4*、*PnDOG5*、*PnDOG7*、*PnDOG9*、*PnDOG15*、*PnDOG16*）在果实中高表达，1 个成员（*PnDOG12*）在根中高表达，1 个成员（*PnDOG13*）在花中高表达。三七种子具有休眠特性，推测（*PnDOG1*、*PnDOG3*、*PnDOG6*、*PnDOG8*、*PnDOG10*、*PnDOG11* 和 *PnDOG14*）可能与种子的休眠调控有关。

### 3.8　*PnDOG* 基因家族在三七种子后熟过程中的响应模式

*PnDOG* 基因家族所有基因在种子中均有表达，为了探究 *PnDOG* 基因是否参与三七种子后熟休眠的调控，对成熟三七种子进行层积处理以及分析 *PnDOG* 基因在三七种子后熟过程中的表达模式。成熟三七种子的胚率仅为 26.68%，种子不具备萌发的能力。随着后熟时间的增加，胚逐渐发育，30 d 时种子胚率为 54.99%，部分种子出现萌发，50 d 时种子胚率为 74.50%，此时种子的萌发率达到 30%（图 11）。上述结果表明，三七种子的休眠类型属于形态生理休眠，种胚发育不完全，需要经过一段时间的后熟休眠种子才能萌发。

对三七种子不同后熟阶段（0、30、50 d）的转录组数据分析，*PnDOG* 基因可分为 2 个簇（图 12），簇 1 的基因包含 *PnDOG4*、*PnDOG5*、




不同字母表示不同组织在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Different letters indicate significant difference among different tissues at $P < 0.05$.

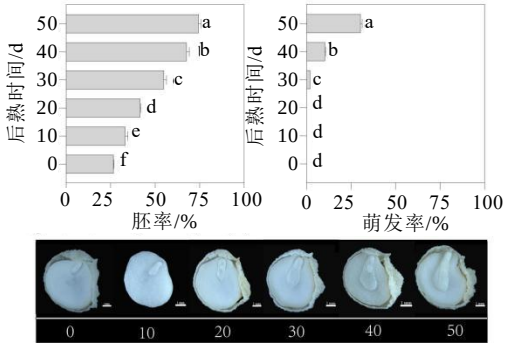
**图 10　*PnDOG* 家族基因的组织特异性表达分析**

**Fig. 10　Tissue specific expression analysis of *PnDOG* family genes**

*PnDOG7*、*PnDOG8*、*PnDOG12* 和 *PnDOG13*，这 6 个基因在三七种子整个后熟过程中表达量较低，转录本每百万映射读取数（transcripts per million，TPM）值低于 7。相对于簇 1，簇 2 的基因在种子后熟前期表达量较高。在三七种子后熟过程中，簇 2 的基因呈现出不同的表达趋势。随着后熟时间的增加，*PnDOG3*、*PnDOG6*、*PnDOG9*、*PnDOG11* 和 *PnDOG14* 等基因的表达量持续下降，*PnDOG2* 的表达量呈现持续增加，*PnDOG1* 和 *PnDOG15* 的表达量先下降后上升，*PnDOG10* 与 *PnDOG16* 的表达量则是先增加后下降。*PnDOG1*、*PnDOG9*、*PnDOG10*、*PnDOG14* 和 *PnDOG16* 在种子不同后熟阶段的表达存在显著差异（图 12），表明这些基因在三七种子后熟过程中发挥着重要作用，是参与调控三七后熟休眠的重要候选基因。为验证三七种子 RNA-seq 结果的准确性和可重复性，以 *G6PDH* 为内参基因对 *PnDOG* 基因进行 qRT-PCR 验证。qRT-PCR 结果（图 13）表明，大部分 *PnDOG* 基因的荧光定量测定与转录组测序结果一致，转录组测序结果准确性较高。

### 3.9　*PnDOG* 基因响应外源激素处理的表达模式

先前的研究发现 ABA 促进三七种子休眠，




不同字母表示不同时期在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Letters indicate significant difference during different stages at $P<0.05$.

**图 11　三七种子后熟过程中的胚率和萌发率**

**Fig. 11　Embryo rate and germination rate of *P. notoginseng* seeds during after-ripening process**

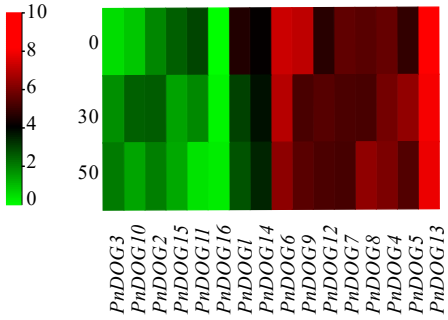
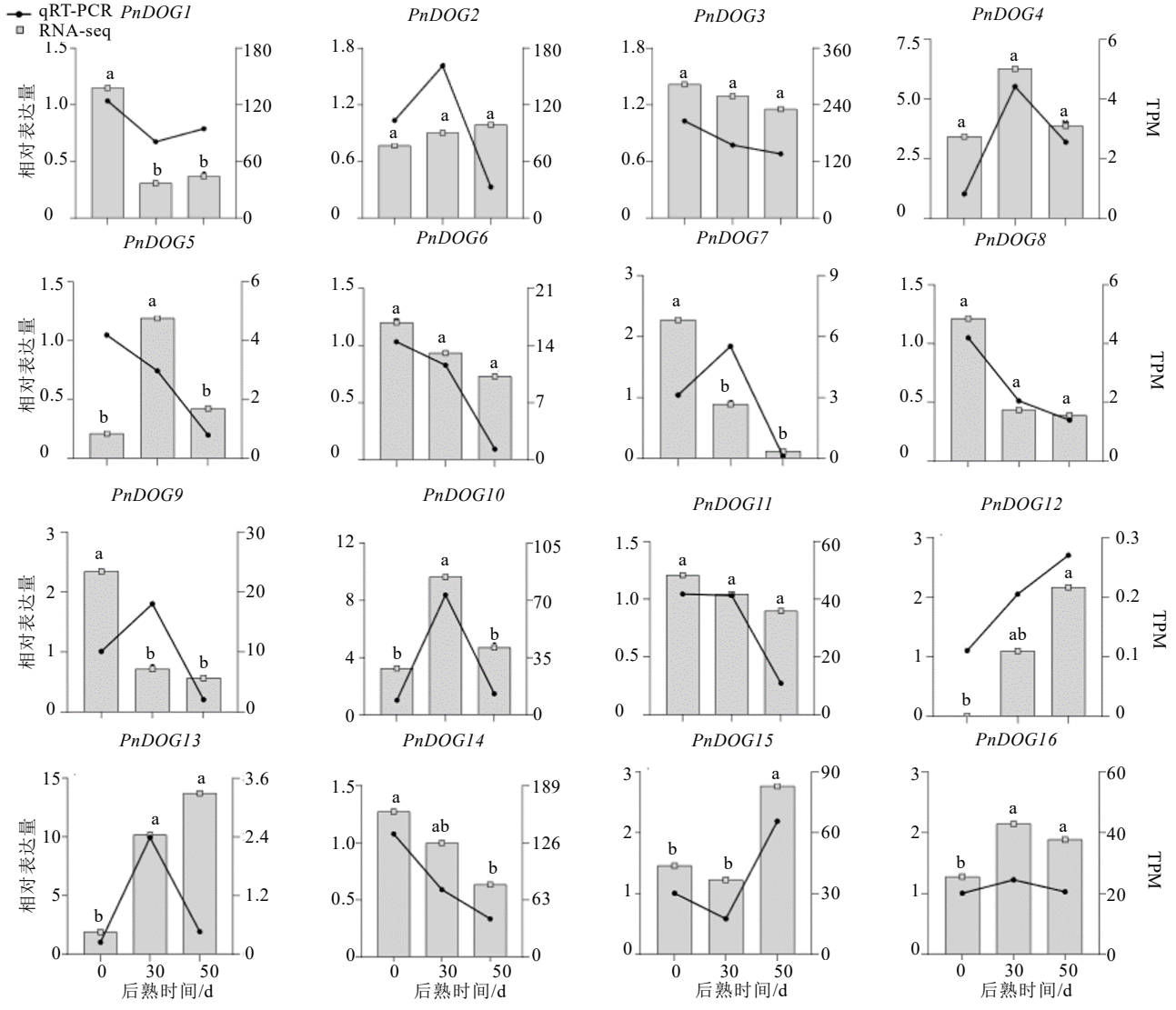



**图 12　三七种子后熟过程中 *DOG* 基因家族成员表达热图**

**Fig. 12　Heatmap of expression of *DOG* gene family members during after-ripening process of *P. notoginseng* seeds**



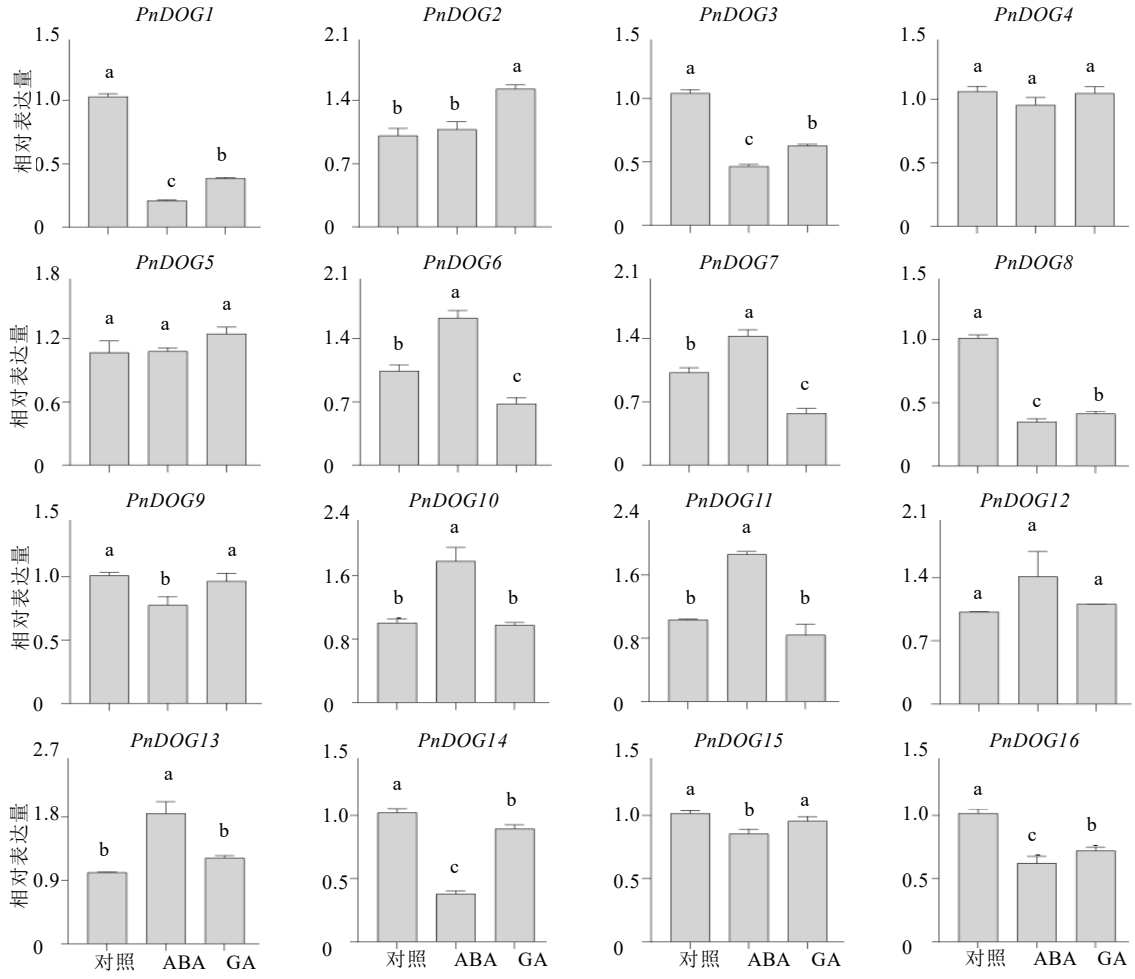

不同字母表示不同时期在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Different letters indicate significant difference during different time at $P<0.05$.

**图 13　*PnDOG* 家族基因在种子不同后熟阶段的表达分析**

**Fig. 13　Expression analysis of *PnDOG* family genes at seed after-ripening stages in *P. notoginseng***

GA 解除三七种子休眠[25]。为了分析 *PnDOG* 基因家族对激素处理的响应程度，对三七种子进行外源激素（GA、ABA）浸泡处理。以 *Actin* 为内参基因，采用 qRT-PCR 技术对不同处理下 *PnDOG* 基因的表达进行分析。结果显示（图 14），相比对照（CK），GA 处理组中 8 个 *PnDOG* 基因的表达出现显著差异，其中 7 个基因表达出现下调（*PnDOG1*、*PnDOG3*、*PnDOG6*、*PnDOG7*、*PnDOG8*、*PnDOG14*、*PnDOG16*），1 个基因（*PnDOG2*）表达出现上调。ABA 处理组 13 个 *PnDOG* 基因表达出现显著差异与对照相比，其中 7 个基因（*PnDOG1*、*PnDOG3*、*PnDOG8*、*PnDOG9*、*PnDOG14*、*PnDOG15* 和 *PnDOG16*）表达出现下调，6 个基因（*PnDOG6*、*PnDOG7*、*PnDOG10*、*PnDOG11*、*PnDOG12* 和 *PnDOG13*）表达出现上调。总体而言，*PnDOG* 基因的表达明显受到激素诱导。表明 *PnDOG* 基因家族积极响应激素信号，可能通过激素信号参与调控三七种子后熟休眠。




不同字母表示不同处理在 $P<0.05$ 水平差异显著。

Different letters indicated that there were significant differences in different treatments at $P < 0.05$.

**图 14　外源 GA 和 ABA 处理三七种子 *PnDOG* 基因家族成员表达模式**

**Fig. 14　Expression patterns of *PnDOG* gene family members in *P. notoginseng* seeds after exogenous GA/ABA treatment**

## 4　讨论

### 4.1　*PnDOG* 基因启动子区域激素响应元件丰富，暗示其参与激素信号转导

*DOG* 基因家族对于调控种子休眠具有重要意义[11]。DOG 家族的成员也在不同的植物中得到鉴定，其中拟南芥 5 个[31]、水稻 12 个[32]、毛竹 24 个[32]。本研究中使用 HMM 模型和 BLAST 在三七的基因组数据库中搜索 *DOG* 基因家族，从而鉴定出 16 个成员。三七中 *PnDOG* 基因的数量高于拟南芥，但低于水稻和毛竹。*DOG* 基因家族成

员数在不同物种间存在显著差异，可能与物种的倍性和基因家族的扩展有关。低内含子数量的基因加速了其转录表达过程，有利于降低转录成本，使细胞对非生物胁迫做出快速反应[33]。拟南芥 *DOG1* 基因含有 2 个内含子[34]，莴笋、油菜 *DOG1* 基因均含 1 个内含子[35]。本研究中仅 36.5%的 *PnDOG* 基因内含子数目小于 2，其余 *PnDOG* 基因内含子数目大于 7，暗示 *PnDOG* 基因可能通过可变剪切响应应激条件对 *PnDOG* 基因的转录调节。顺式作用元件在基因表达中起重要的调控作用[36]。*PnDOG* 基因的启动子区域含有胁迫和激素响应等多种元件，激素响应元件中脱落酸响应元件（ABRE）数量最多，与 *PeDOG* 基因相同[32]，暗示 *PnDOG* 基因可能参与激素信号转导。逆境响应元件中光响应元件（G-box）数量最多，光照对种子的休眠萌发起着重要影响作用[37]，说明 *PnDOG* 基因可能响应光信号转导从而调节种子萌发。*DOG1* 基因通过调节胚乳帽弱化促进种子休眠[5]。本研究中，三七种子休眠类型属于形态生理休眠，成熟三七种子种胚发育不全导致种子不具备萌发能力。*PnDOG3* 和 *PnDOG5* 中均发现与胚发育相关的顺式作用元件，表明 *PnDOG3* 和 *PnDOG5* 可能与三七种子的胚发育相关。bZIP TF 通常对植物激素或环境胁迫有反应，被认为是植物发育的明确调控因子[38]。本研究发现 *PnDOG* 家族第 III 亚组基因均富含 bZIP 结构域，通过转录因子鉴定和 GO、KEGG 注释进一步分析，这些基因均可作为 bZIP 转录因子，表明这些基因可能通过参与激素信号通路，调控植物生长发育及响应生物胁迫。类似地，毛竹富含 bZIP 结构域的 *PeDOG* 基因作为 bZIP 家族的转录因子，参与激素信号通路，调控植物芽和茎的生长，以及植物抗病等生物胁迫响应[32]。

### 4.2 部分 *PnDOG* 基因在种子中高表达，表明其可能参与种子休眠的调控

*DOG1* 基因主要在种子中表达，与种子休眠存在专一性相关[31]。拟南芥 *AtDOG1* 基因在叶、茎、根茎中表达量较低，主要在种子中表达[9]。刺萼龙葵 *Solanum rostratum SrDOG1* 基因在根、茎、叶中的表达显著低于种子[39]。钻果大蒜芥 *Sisymbrium officinale SoDOG1* 基因在根、茎、叶、花、种子等组织中均有表达，其中种子的表达量最高[40]。毛竹 *PeDOG* 基因在根、茎、叶、穗中均有表达，叶的表达量最高，根、茎次之[32]。随着拟南芥和刺萼龙葵种子的萌发，*AtDOG1* 和 *SrDOG1* 的表达量均出现显著下降[35,41]。天女木兰 *Magnolia sieboldii* 种子在后熟过程中，*MsDOG1* 基因表达量先下降后上升，整体呈下降趋势[42]。本研究中，*PnDOG* 基因家族成员在根、茎、叶、花、果和种子等组织中均有表达，且具有明显的组织表达特异性。其中 7 个 *PnDOG* 基因在三七不同组织中的表达模式与拟南芥、刺萼龙葵和钻果大蒜芥一致。三七种子后熟过程中，5 个 *PnDOG* 基因表达情况与 *AtDOG1*、*SrDOG1* 相同，其中 *PnDOG1*、*PnDOG14* 基因表达趋势与天女木兰 *MsDOG1* 类似，表明这 2 个基因可能在三七种子后熟休眠解除中发挥重要作用。此外，*DOG1* 基因还具有控制早花、耐旱性等多种作用[14,43]。*PnDOG13* 和 *PnDOG12* 分别在三七花和根中高表达，7 个 *PnDOG* 基因在果实中高表达，表明 *PnDOG* 基因家族可能还参与三七其他生理过程的调节。

### 4.3 *PnDOG* 基因积极响应外源激素处理，其可能协同激素调控种子休眠

种子萌发过程中 ABA 对 *DOG1* 基因的表达具有正调控作用[44]。*DOG1* 基因通过影响 ABA/GA 平衡中 GA 端来调控种子休眠[10]。拟南芥中外源 ABA 处理种子后，*AtDOG1* 基因表达上调，种子休眠程度加深[45]。钻果大蒜芥中，ABA 处理种子后，促进 *SoDOG1* 的表达[40]。外源激素处理大豆 *Glycine max* 种子，ABA 处理后，3 个 *GmDOG1L* 基因表达上调，4 个 *GmDOG1L* 基因表达下调，GA 处理后，7 个 *GmDOG1L* 基因表达均下调[46]。与 *GmDOGL* 基因响应 GA 处理，表达均出现下调不同，三七种子外源 GA 处理后，仅 8 个 *PnDOG* 基因响应 GA 处理，其中 7 个 *PnDOG* 基因表达出现下调，1 个 *PnDOG* 基因表达出现上调。可能是激素处理的浓度不同或 *GmDOGL* 基因家族对激素响应特征未完整阐述。经 ABA 处理后，三七 6 个 *PnDOG* 基因表达出现上调，7 个 *PnDOG* 基因表达出现下调。响应 ABA 上调的 *PnDOG* 基因可能与拟南芥和钻果大蒜芥 *DOG1* 基因具有相同的功能，下调的 *PnDOG* 基因可能受到 ABA 的负向调控。先前研究发现 *DOG1* 基因与 ABA 在种子休眠调控中协同发挥功能[10]。这些结果表明 *PnDOG* 基因家族积极响

应外源激素处理，其可能通过调节种子对 ABA 的敏感性改变激素间的平衡，进而参与调控种子的休眠与萌发。

本研究从三七基因组中鉴定到 16 个 *PnDOG* 基因，这些基因不均匀地分布在 8 条染色体上。*PnDOG* 基因都含有外显子，编码 216～514 个氨基酸，均为亲水性蛋白，亚细胞定位预测显示均位于细胞核中。系统进化将 *PnDOG* 基因分为 3 个亚组，不同亚组成员的基因结构存在差异。大多数的 *PnDOG* 基因家族成员启动子上游含有丰富的激素响应元件，可能与其快速响应激素诱导相关。*PnDOG* 基因家族成员具有组织表达特异性，大多数 *PnDOG* 基因在种子中的高表达可能与种子的后熟休眠形成有关，他们在种子后熟过程中可能通过响应激素信号参与调控休眠解除，其中 *PnDOG1* 和 *PnDOG14* 可能是三七种子后熟休眠调控的关键 *PnDOG* 基因。本研究对 *PnDOG* 基因家族特征和表达模式进行了初步探究，然而 *PnDOG* 基因响应激素调控种子休眠的分子作用机制有待未来的进一步验证，从而阐明 *PnDOG* 基因家族在三七种子中的具体功能。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**参考文献**

[1] 付婷婷, 程红焱, 宋松泉. 种子休眠的研究进展 [J]. 植物学报, 2009, 44(5): 629-641.

[2] Nikolaeva M G. Ecological and physiological aspects of seed dormancy and germination (review of investigations for the last century) [J]. *Bot J*, 2001, 86: 13-36.

[3] Baskin J M, Baskin C C. A classification system for seed dormancy [J]. *Seed Sci Res*, 2004, 14(1): 1-16.

[4] Footitt S, Huang Z Y, Clay H A, *et al*. Temperature, light and nitrate sensing coordinate *Arabidopsis* seed dormancy cycling, resulting in winter and summer annual phenotypes [J]. *Plant J*, 2013, 74(6): 1003-1015.

[5] Graeber K, Linkies A, Steinbrecher T, *et al*. DELAY OF GERMINATION 1 mediates a conserved coat-dormancy mechanism for the temperature- and gibberellin-dependent control of seed germination [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(34): E3571-E3580.

[6] Guan S X, Li Y S, Zeng W Q, *et al*. A gibberellin, abscisic acid, and delay of germination 1 interaction network regulates critical developmental transitions in model plant *Arabidopsis thaliana*–a review [J]. *Appl Ecol Env Res*, 2021, 19(6): 4699-4720.

[7] Nelson S K, Kanno Y, Seo M, *et al*. Seed dormancy loss from dry after-ripening is associated with increasing gibberellin hormone levels in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1145414.

[8] Okamoto M, Kuwahara A, Seo M, *et al*. CYP707A1 and CYP707A2, which encode abscisic acid 8′-hydroxylases, are indispensable for proper control of seed dormancy and germination in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2006, 141(1): 97-107.

[9] Bentsink L, Jowett J, Hanhart C J, *et al*. Cloning of DOG1, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(45): 17042-17047.

[10] Nakabayashi K, Bartsch M, Xiang Y, *et al*. The time required for dormancy release in *Arabidopsis* is determined by DELAY OF GERMINATION1 protein levels in freshly harvested seeds [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(7): 2826-2838.

[11] Murphey M, Kovach K, Elnacash T, *et al*. DOG1-imposed dormancy mediates germination responses to temperature cues [J]. *Environ Exp Bot*, 2015, 112: 33-43.

[12] Née G, Obeng-Hinneh E, Sarvari P, *et al*. Secondary dormancy in *Brassica napus*is correlated with enhanced *BnaDOG1* transcript levels [J]. *Seed Sci Res*, 2015, 25(2): 221-229.

[13] Ashikawa I, Mori M, Nakamura S, *et al*. A transgenic approach to controlling wheat seed dormancy level by using Triticeae *DOG1*-like genes [J]. *Transgenic Res*, 2014, 23(4): 621-629.

[14] Huo H Q, Wei S H, Bradford K J. *DELAY OF GERMINATION1* (*DOG1*) regulates both seed dormancy and flowering time through microRNA pathways [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(15): E2199-206.

[15] Carrillo-Barral N, Rodríguez-Gacio M D C, Matilla A J. Delay of germination-1 (DOG1): A key to understanding seed dormancy [J]. *Plants*, 2020, 9(4): 480.

[16] Finch-Savage W E, Footitt S. Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments [J]. *J Exp Bot*, 2017, 68(4): 843-856.

[17] Finkelstein R, Reeves W, Ariizumi T, *et al*. Molecular aspects of seed dormancy [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 387-415.

[18] Zhao W, Han L, Li T, Lee J, Zhao Y. Effects of steaming process on rare saponins and efficacy of *Panax ginseng*, *Panax notoginseng* and *Panax quinquefolium* [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 521-528.

[19] 杨崇仁. 三七的历史与起源 [J]. 现代中药研究与实践, 2015, 29(6): 83-86.

[20] 佚名. 云南省中药材产业发展报告 [J]. 云南农业,

2018(9): 30-34.

[21] 李磊, 孙雪婷, 张广辉, 等. 脱水速率对顽拗性三七种子脱水敏感性和抗氧化酶活性的影响 [J]. 种子, 2014, 33(12): 1-5.

[22] 杨凯, 李磊, 龙光强, 等. 顽拗性三七种子后熟过程超微结构和抗氧化酶变化 [J]. 广西植物, 2016, 36(12): 1519-1525.

[23] 段承俐, 杨莉, 萧凤回. 三七种胚形态发育的解剖观察 [J]. 种子, 2010, 29(1): 1-3.

[24] 杨凯, 杨景煌, 刘绍伟, 等. 三七种子后熟过程种胚发育和 6 种内源激素的动态变化 [J]. 中药材, 2018, 41(3): 519-523.

[25] 葛娜, 杨玲, 陈军文. 不同浓度赤霉素和脱落酸对顽拗性三七种子后熟种胚发育和内源激素的影响 [J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(3): 574-581.

[26] Yang K, Yang L, Fan W, *et al*. Illumina-based transcriptomic analysis on recalcitrant seeds of *Panax notoginseng* for the dormancy release during the after-ripening process [J]. *Physiol Plant*, 2019, 167(4): 597-612.

[27] Ge N, Jia J S, Yang L, *et al*. Exogenous gibberellic acid shortening after-ripening process and promoting seed germination in a medicinal plant *Panax notoginseng* [J]. *BMC Plant Biol*, 2023, 23(1): 67.

[28] Chen C J, Chen H, Zhang Y, *et al*. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.

[29] Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, *et al*. Primer3: New capabilities and interfaces [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(15): e115.

[30] Uno Y, Furihata T, Abe H, *et al*. *Arabidopsis* basic leucine zipper transcription factors involved in an abscisic acid-dependent signal transduction pathway under drought and high-salinity conditions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(21): 11632-11637.

[31] Sall K, Dekkers B J W, Nonogaki M, *et al*. DELAY OF GERMINATION 1-LIKE 4 acts as an inducer of seed reserve accumulation [J]. *Plant J*, 2019, 100(1): 7-19.

[32] Zhang Z J, Yu P Y, Huang B, *et al*. Genome-wide identification and expression characterization of the *DoG* gene family of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) [J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1): 357.

[33] Jeffares D C, Penkett C J, Bähler J. Rapidly regulated genes are intron poor [J]. *Trends Genet*, 2008, 24(8): 375-378.

[34] Nakabayashi K, Bartsch M, Ding J, *et al*. Seed dormancy in *Arabidopsis* requires self-binding ability of DOG1 protein and the presence of multiple isoforms generated by alternative splicing [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(12): e1005737.

[35] Graeber K, Linkies A, Müller K, *et al*. Cross-species approaches to seed dormancy and germination: Conservation and biodiversity of ABA-regulated mechanisms and the Brassicaceae *DOG1* genes [J]. *Plant Mol Biol*, 2010, 73(1/2): 67-87.

[36] Kong F L, Wang J, Cheng L, *et al*. Genome-wide analysis of the mitogen-activated protein kinase gene family in *Solanum lycopersicum* [J]. *Gene*, 2012, 499(1): 108-120.

[37] Finch-Savage W E, Leubner-Metzger G. Seed dormancy and the control of germination [J]. *New Phytol*, 2006, 171(3): 501-523.

[38] Hwang I, Jung H J, Park J I, *et al*. Transcriptome analysis of newly classified bZIP transcription factors of *Brassica rapa* in cold stress response [J]. *Genomics*, 2014, 104(3): 194-202.

[39] Chen Z X, Wang X G, Huang H J, *et al*. Cloning and expression analysis of delay of *Germination 1* gene in buffalobur (*Solanum rostratum* Dunal) [J]. *Pak J Bot*, 2023, 55(4): 1383-1388.

[40] Carrillo-Barral N, Matilla A J, García-Ramas C, *et al*. ABA-stimulated SoDOG1 expression is after-ripening inhibited during early imbibition of germinating *Sisymbrium officinale* seeds [J]. *Physiol Plant*, 2015, 155(4): 457-471.

[41] 王新果. 刺萼龙葵延迟萌发基因 *DOG1* 的克隆及表达特性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.

[42] 关士鑫. 天女木兰 *MsDOG1* 基因在种子休眠中的功能及其作用机制 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.

[43] Yatusevich R, Fedak H, Ciesielski A, *et al*. Antisense transcription represses *Arabidopsis* seed dormancy QTL *DOG1* to regulate drought tolerance [J]. *EMBO Rep*, 2017, 18(12): 2186-2196.

[44] Teng S, Rognoni S, Bentsink L, *et al*. The *Arabidopsis* GSQ5/DOG1 Cvi allele is induced by the ABA-mediated sugar signalling pathway, and enhances sugar sensitivity by stimulating ABI4 expression [J]. *Plant J*, 2008, 55(3): 372-381.

[45] Dekkers B J W, Bentsink L. Regulation of seed dormancy by abscisic acid and *DELAY OF GERMINATION 1* [J]. *Seed Sci Res*, 2015, 25(2): 82-98.

[46] Yang Y Z, Zheng C, Chandrasekaran U, *et al*. Identification and bioinformatic analysis of the *GmDOG1-like* family in soybean and investigation of their expression in response to gibberellic acid and abscisic acid [J]. *Plants*, 2020, 9(8): 937.

[责任编辑 时圣明]