

中国荷斯坦公牛 CN 和 DUMPS 遗传缺陷检测及系谱分析

谢 岩¹, 范学华¹, 吴晓平¹, 张 毅¹, 刘 林³, 公维嘉², 陈绍祜², 孙东晓^{1*},
张胜利¹, 张 沅¹

(1. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193; 2. 中国奶牛数据处理中心, 北京 100085;
3. 北京奶牛中心, 北京 100085)

摘 要: 旨在研究中国荷斯坦牛中瓜氨酸血症 (Citrullinemia, CN) 和尿苷酸核酶缺乏症 (Deficiency of uridine monophosphate synthase, DUMPS) 2 种遗传缺陷的携带者比率及系谱来源, 并构建更简便的检测方法。本研究通过 PCR-RFLP 方法对参加我国联合青年公牛后裔测定和良种补贴项目的 591 头荷斯坦公牛进行了大规模 CN 和 DUMPS 的遗传缺陷检测, 并构建了奶牛 CN 隐性有害基因的 AS-PCR 检测技术。结果, 共发现 2 头 CN 和 1 头 DUMPS 隐性有害基因携带者公牛, 携带者比例分别为 0.34% 和 0.17%。经过系谱追溯, 2 头 CN 携带者公牛均为澳大利亚公牛 Linmack Kriss King-CN 后代, DUMPS 携带者公牛为美国公牛 Skokie sensation Ned 后代。基于此, 我国有必要尽快建立荷斯坦牛隐性遗传缺陷监控体系并进行系谱标注, 通过青年公牛预选和选种选配, 避免携带者公牛进入后裔测定和良种补贴项目, 以逐步降低我国奶牛群体中隐性有害等位基因频率。

关键词: 中国荷斯坦牛; CN; DUMPS; 遗传缺陷

中图分类号: S823; S813.1

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)03-0376-06

Detection of CN and DUMPS Carriers in Holstein Bulls and Pedigree Analysis

XIE Yan¹, FAN Xue-hua¹, WU Xiao-ping¹, ZHANG Yi¹, LIU Lin³, GONG Wei-jia²,
CHEN Shao-hu², SUN Dong-xiao^{1*}, ZHANG Sheng-li¹, ZHANG Yuan¹

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. Dairy Data Processing Center, Dairy Association of China, Beijing 100085, China; 3. Beijing Dairy Cattle Center, Beijing 100085, China)

Abstract: The aim of the present study was to detect the proportion of Holstein bull carrying two recessive genetic defects including citrullinemia (CN) and deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) and carry out the pedigree analysis, a more easier diagnostic method was developed as well. The genetic defects of CN and DUMPS was detected by PCR-RFLP in 591 Holstein bulls, and the AS-PCR technology was constructed for detecting the CN recessive deleterious gene. 2 CN carrier bulls and 1 DUMPS carrier bull were found, and the proportion of carrier bulls was 0.34% and 0.17%, respectively. Through pedigree analysis, the two CN carrier bulls were the descendants of Linmack Kriss King, and the DUMPS carrier bull was Skokie sensation Ned's offsprings. The results indicate that it is necessary to establish early monitor system on genetic defects in all Holstein young, proven bulls and suspect cows, and put such information in their pedigree records. Through young bull pre-selection and selection and assortative mating

收稿日期: 2010-03-18

基金项目: 国家自然科学基金(31072016); 农业部“948”项目(2006-G48; 2011-G2A); 高等学校博士学科点专项科研基金(20070019044); 教育部新世纪优秀人才支持计划; 转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-156B); “十二五”国家科技支撑项目(2011BAD28B02)

作者简介: 谢 岩 (1985-), 女, 河北兴隆人, 硕士, 主要从事动物分子数量遗传学研究, Tel: 010-62732768, E-mail: xiey.300822@yahoo.com.cn

* 通讯作者: 孙东晓, E-mail: sundx@cau.edu.cn

system, carrier bulls could be avoided to enter into the national genetic improvement program, frequencies of the undesired recessive alleles could be greatly decreased as well.

Key words: Chinese Holstein; CN; DUMPS; genetic defect

随着人工授精和胚胎移植技术在奶牛育种中的应用,种质产品(个体、冻精、胚胎等)在世界范围内广泛流通,使得优秀公牛种质资源得到充分利用。但在获得优秀生产性能的同时,会将遗传缺陷基因也进行扩散,尤其是常染色体隐性遗传缺陷,其杂合基因型携带个体表型正常的特点,使得有害基因几率非常大,对世界各国奶牛业造成了严重的经济损失。很多国家已报道奶牛群体中发现了隐性遗传缺陷有害基因并相继建立了检测和监控体系,使其频率逐年降低^[1]。

瓜氨酸血症(Citrullinemia, CN)最早由 Harper 等^[2]在澳大利亚荷斯坦牛群中发现,为常染色体单基因控制的隐性遗传缺陷^[1]。其分子遗传学基础为奶牛 11 号染色体上精氨酸合成酶(Argininosuccinate synthetase, ASS)基因编码的第 86 个氨基酸密码子发生无义突变(CGA→TGA),导致合成肽链缺失,使得隐性纯合个体 ASS 功能缺失^[3]。在机体内 ASS 参与肝脏的尿素循环,酶功能缺失引起的尿素循环受阻导致氨代谢障碍,发生高氨血症。隐性纯合子犊牛出生时健康,一般在 24 h 内发病,表现为逐渐加重的神经症状,病理学研究发现患病个体大脑皮层受到不同程度的损伤,犊牛从出生到发病再到死亡的全过程不超过 1 周^[4-10]。系谱分析发现几乎世界各国的 CN 患病犊牛都可追溯到 1 个共同祖先-澳大利亚优秀种公牛 Linmack Criss King^[11]。该公牛由于其女儿具有较高乳脂率,因此其冻精在澳大利亚、新西兰等英联邦国家被广泛使用,对澳大利亚荷斯坦牛群影响很大^[10-11],也相继被传播到世界各国。

尿苷酸合酶缺乏症(Deficiency of uridine momophosphate synthase, DUMPS)也是一种荷斯坦牛特有的常染色体单基因隐性遗传缺陷^[12-14]。Schwenger 等人在 1993 年发现杂合子的 UMPS 基因编码的 C-末端 405 密码子处存在着一个 C/T 点突变,导致精氨酸密码子 CGA 突变为终止子 TGA,使尿苷酸合酶缺失 76 个氨基酸^[15]。隐性纯合子胚胎,由于体内尿苷酸合酶活性几乎完全丧失不能生成嘧啶核苷酸,在母畜妊娠 40~50 d 左右死亡^[7-8,13-18]。1987 年检测出的大多数北美($n =$

438)和欧洲($n = 314$)有害基因携带者均为 Happy-Herd Beautician 的后代,这头公牛在 1987 年美国荷斯坦牛协会颁布的公牛体型生产指数 TPI 排名第 5,随着 Happy-Herd Beautician 冻精的大规模商业应用,将隐性有害基因广泛传播到世界各国^[7]。

近几十年来,由于我国不断从北美、欧洲和澳大利亚进口荷斯坦牛、冻精和胚胎,因此推测我国奶牛群中存在遗传缺陷隐患,近年来国内研究也证明了这一推测^[19-22]。奶业发达国家均已建立了完善的遗传缺陷检测和监控体系,使隐性有害基因频率逐年降低,显著降低了经济损失。本研究旨在对我国参加全国青年公牛联合后裔测定的青年公牛和良种补贴种公牛的 CN 和 DUMPS 两种遗传缺陷进行全面和系统的扫描检测,为建立我国奶牛遗传缺陷检测和监控体系以及提高奶牛牛群质量提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

来自全国 14 个省市共计 519 头荷斯坦公牛冻精样品及其系谱由中国奶业协会数据处理中心提供。包括:北京、天津、上海、河北、黑龙江、山东、山西、内蒙古、辽宁、南京、云南、青海、宁夏和新疆。

1.2 基因组 DNA 提取

管制冻精用 500 μL 生理盐水清洗,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 2 min,保留沉淀,重复 2 次,加入 400 μL 裂解缓冲液、100 μL 20% SDS 和 10 μL 蛋白酶 K,56 $^{\circ}\text{C}$ 消化 6~10 h,然后加入 300 μL 饱和食盐水,颠倒 2~3 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 静置片刻,12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,保留上清,加入 1 000 μL 冰乙醇沉淀 DNA,500 μL 75% 乙醇清洗 2~3 次,干燥 2~3 min,TE 缓冲液溶解,1% 琼脂糖凝胶检测 DNA 提取结果。

1.3 PCR-RFLP

1.3.1 引物序列和 PCR 扩增 ASS 和 UMPS 基因的 PCR 扩增引物由上海生工生物技术服务有限公司合成,参考 Dennis 和 Schwenger 等^[3,15]的设计,引物序列为:ASS-F:5'-GTGTTTCATTGAGGACATC-3', ASS-R:5'-CCGTGAGACACATACTTG-3'; UMPS-F:5'-GCAATTGGCTGAAGAACATTCTG-3', UMPS-

R:5'-GCTTCTAACTGAACTCCTCGAGT-3'。

PCR 扩增体系 25 μL : 10 \times buffer 2.5 μL 、 MgCl_2 1.5 μL 、dNTPs 2 μL 、上下游引物各 0.5 μL (200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、DNA 聚合酶 0.15 μL 、DNA 模板 2 μL 。循环参数:94 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^\circ\text{C}$ 变性 30 s,57/60 $^\circ\text{C}$ (ASS/UMPS) 退火 30 s,72 $^\circ\text{C}$ 延伸 30 s,35 个循环;最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 7 min。用 3% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3.2 PCR 产物的酶切和测序 酶切反应体系:取 8 μL PCR 产物、10 \times buffer 1 μL 、ddH₂O 0.6 μL 和限制性内切酶 *Ava* II/*Ava* I (ASS/UMPS) 0.4 μL (4 U) 混匀后,37 $^\circ\text{C}$ 酶切过夜,酶切后产物全部用于 4% 的琼脂糖 130 V 电泳 40 min 分型检测。对携带者和随机挑选的 2 个正常个体的 PCR 扩增产物进行正反双向测序。同时对携带者公牛进行系谱追溯,验证 PCR-RFLP 检测方法的准确性。

1.4 AS-PCR 检测方法的建立

通过 PCR-RFLP 的方法检测出 2 头 CN 和 1 头 DUMPS 致病基因的携带者,用这 3 头和另外 23 头正常纯合子个体的样本建立有害基因等位基因特异性 PCR (Allele specific-PCR, AS-PCR) 检测体系。根据突变位点 C/T,设计 2 条 3' 端分别为 C 和 T 的上游引物 AS-CF: 5'-CGCACTGTACGATGACC-3', AS-TF: 5'-AGCGCACTGTACGATGACT-3' 和 1 条共用下游引物 AS-R: 5'-GCGGGAACATGGGAGAC-3', 对同等位基因序列进行特异性扩增。同时在 PCR 体系中加入 1 对内标引物来扩增出 1 条内标条带,内标上游引物 F: 5'-TGCTTATGGGAGAAGGG-3', 下游引物 R: 5'-AGTTAACCACACCAAACG-3'。内标条带指示 DNA 和 PCR 体系质量,排除假阴性(由于 DNA 模板或者 PCR 体系问题导致目的条带未出现而产生的错误判型结果)存在的可能性。

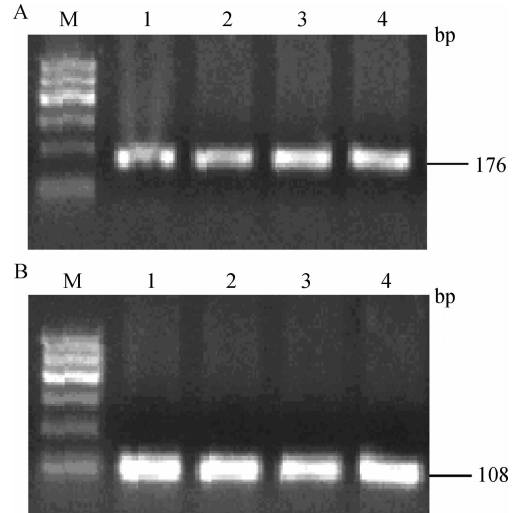
1 个 PCR 体系加入上游特异性引物 (AS-CF/AS-TF) 和共用下游引物 (AS-R) 各 0.4 μL (200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),内标条带上下游引物各为 0.8 μL (200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),dNTPs 1.6 μL ,*Taq* DNA 聚合酶 1.5 U,10 \times PCR 缓冲液(含 Mg^{2+}) 2 μL 。扩增条件为:94 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min;然后 94 $^\circ\text{C}$ 30 s,55 $^\circ\text{C}$ 30 s,72 $^\circ\text{C}$ 30 min,共 35 个循环;最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 7 min。每个个体经过 2 个分别用特异性引物 AS-CF 或 AS-TF 的 PCR 扩增,产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳

检测后进行个体分型。

2 结果

2.1 PCR-RFLP 结果

519 头荷斯坦公牛的冻精基因组 DNA 经 PCR 扩增,分别得到 176 (ASS) 和 108 bp (UMPS) 的特异性扩增产物(图 1)。



A: M. DNA 相对分子质量标准;1~4. ASS 基因扩增结果。B: M. DNA 相对分子质量标准;1~4. UMPS 基因扩增结果

A: M. Marker I; 1-4. ASS gene amplification products. B: M. Marker I; 1-4. UMPS gene amplification products

图 1 ASS 和 UMPS 基因的 PCR 扩增结果(1% 琼脂糖凝胶电泳)

Fig. 1 PCR results of ASS and UMPS (1% agarose electrophoresis)

按照 ASS 和 UMPS 基因突变位点的酶切图谱,其基因型判定见表 1,其中 CC 基因型为正常个体,TT 基因型为隐性有害基因纯合致死个体,CT 基因型为携带者个体。

对 591 头荷斯坦公牛进行 PCR-RFLP 检测,共发现 2 头 CN 携带者和 1 头 DUMPS 携带者,频率分别为 0.34% 和 0.17%。由于这 2 种遗传病为隐性纯合致死,因此无法检测到 TT 基因型,酶切结果见图 2。对检测出的有害基因携带者和正常个体的测序结果与酶切分型的结果一致,说明 PCR-RFLP 检测结果准确性为 100%。

2.2 系谱分析

在中国奶业协会奶牛数据处理中心 (<http://www.holstein.org.cn>)、美国荷斯坦牛协会 (<http://holsteinusa.com>)、澳大利亚荷斯坦牛协会

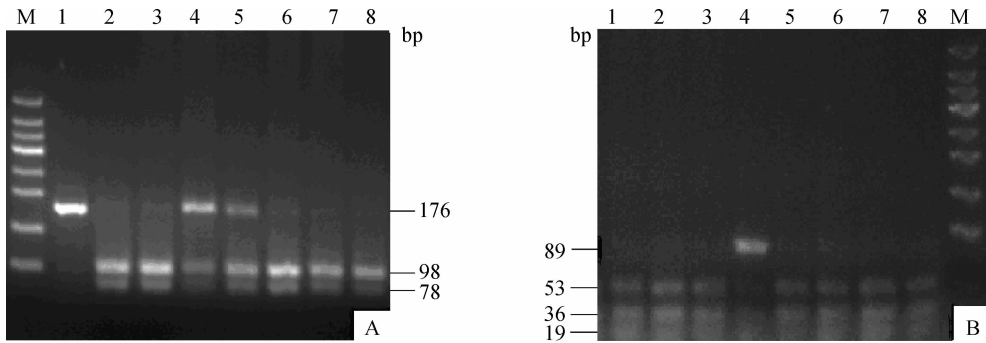
(<http://www.holstein.com.au/links.htm>)、英国和爱尔兰荷斯坦牛协会 (Holstein UK, <http://www.holstein-uki.org>) 和加拿大荷斯坦牛协会

(<http://www.holstein.ca>) 等网站进行携带公牛的系谱查询,以构建完整系谱,进行遗传缺陷来源的系谱追溯。

表 1 PCR-RFLP 结果及基因型

Table 1 Information and results of PCR-RFLP

基因 Gene	限制性内切酶 Restricted enzyme	识别序列位点 Recognized sequence	基因型 Genotype	酶切产物长度/bp Fragment length
ASS	Ava II	5'-GGACC-3' 3'-CCTGG-5'	CC	98,78
			TT	176
			CT	176,98,78
UMPS	Ava I	5'-CCCGAG-3' 3'-GGGCTC-5'	CC	53,36,19
			TT	89,19
			CT	89,53,36,19



A: M. DNA 相对分子质量标准;1. PCR 产物;2~3,6~8. 正常个体;4~5. 携带者个体。B: M. DNA 相对分子质量标准;1~3,5~8. 正常个体;4. 携带者个体

A: M. 50 bp ladder; 1. PCR product; 2-3, 6-8. The normal individuals; 4-5. Carrier. B: M. 50 bp ladder; 1-3, 5-8. The normal individuals; 4. Carrier

图 2 CN 和 DUMPS 致病基因的 PCR-RFLP 的检测结果(4%琼脂糖凝胶电泳)

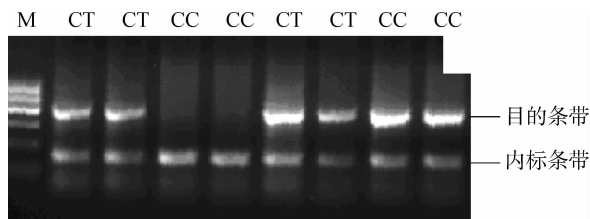
Fig. 2 PCR-RFLP results of ASS and UMPS (4% agarose electrophoresis)

系谱分析发现,2 头 CN 有害等位基因携带者公牛具有共同的澳大利亚公牛父亲,其父母均为已知 CN 携带者 Linmack Kriss King-CN (AUSM303731) 的后代。在被检测群体中 DUMPS 有害基因携带者公牛有 6 个父系半同胞(分布在 5 个不同地区)和 1 个母系半同胞,该 7 头公牛的测序结果表明其均不是携带者,推测致病基因是由携带者母亲传递而来,进一步系谱追溯发现其祖母和外祖母为同一头荷斯坦母牛,与已知 DUMPS 携带者美国公牛 Skokie sensation Ned(USAM1308101) 存在血缘关系。

2.3 AS-PCR 方法的建立

本研究成功构建了 CN 隐性有害等位基因携带者的 AS-PCR 检测体系,扩增结果与理论预期一致(图 3),根据 157 bp 内标条带出现与否判定 DNA 模板和 PCR 体系质量,在内标条带出现的前提下,如果突变位点碱基组成有 C,能够扩增出 386 bp 的目的条带,如果突变位点碱基组成有 T,则能扩增出 388 bp 的目的条带。以 CC 正常个体基因组 DNA 为模板能够扩增出 386 bp 的目的条带而没有 386 bp 目的条带,以 CT 杂合子个体基因组 DNA 为模板 2 条目的条带都能扩增出来。内标不出现的个体,更换模板或 PCR 体系。测序结果表明特异性引物特异

扩增效果良好。



M. DNA 相对分子质量标准;CT. 携带者公牛;CC. 正常个体

M. 50 bp ladder; CT. CN-carrier bulls; CC. The normal individuals

图3 CN 的 AS-PCR 扩增结果(2%琼脂糖凝胶电泳)

Fig. 3 AS-PCR results of CN (2% agarose electrophoresis)

3 讨论

本研究证实了我国荷斯坦牛群中确实存在 CN 和 DUMPS 两种遗传缺陷有害基因,虽然携带者比例不高,但是也应予以重视。由于现代奶牛育种采用人工授精技术,种公牛的影响范围非常大,隐性遗传缺陷有害基因为单碱基突变,遵循孟德尔遗传方式,其携带者 1/2 的女儿牛将为有害基因的获得者,将有害基因传播。尤其对产奶性能高的优秀种公牛而言,传播范围和速度更为显著。

本研究采用常规 PCR-RFLP 方法检测隐性有害基因,在 PCR 扩增效果较好情况下,检测准确性较高,但需要 PCR 扩增、酶切和电泳等试验步骤。在 PCR 扩增效率不能保证时,存在将携带者错判为正常个体的假阴性情况,且需要对 1 次酶切后判定为携带者的个体加大内切酶用量重复酶切 1 次,以消除假阳性。基于此,本研究建立了 CN 致病基因 AS-PCR 检测体系,只需 PCR 扩增和琼脂糖电泳检测即可进行个体基因型检测,且加入了内标引物,根据内标条带有无,可克服传统方法假阴性高的缺点,因此具有操作方便、结果准确和假阳性低等优点,适合大规模检测应用。

基于该研究检测结果,在奶牛育种中应制订合理的选种选配计划和淘汰计划,防止有害基因进一步扩散并逐步降低我国荷斯坦牛群中隐性有害基因频率。对于已发现的携带者来说,可分为以下 2 种情况:(1)对于种公牛而言,鉴于国际上已经建立了 CN 的检测体系,所以可以根据系谱分析,对它的同胞、后裔进行重点检测,避免杂合子之间发生近交;(2)对母牛群而言,在计划选配时,首先应对种子母

牛进行检测,然后根据公牛信息找到可疑携带者,再根据系谱资料,进行局部抽检,逐步把有害突变的频率降到最低。

4 结论

本研究对我国参加联合青年公牛后裔测定和良种补贴项目的 591 头荷斯坦公牛进行了大规模 CN 和 DUMPS 筛查,证实了该 2 种遗传缺陷存在于我国奶牛群体中。为了为与国际接轨并逐步降低我国奶牛群体中隐性有害等位基因的频率,有必要尽快建立荷斯坦牛隐性遗传缺陷监控体系并进行系谱标注。

参考文献:

- [1] 孙东晓,初芹,李艳华,等.牛常见遗传病的遗传基础和检测方法[J].中国奶牛,2009,12(10):22-24.
- [2] HARPER P A W, HEALY P J, DENNIS J A, et al. Citrullinaemia as a cause of neurological disease in neonatal Friesian calves [J]. *Aust Vet J*, 1986, 63: 373-379.
- [3] DENNIS J A, HEALY P J, BEAUDET A L, et al. Molecular definition of bovine argininosuccinate synthetase deficiency [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 7947-7951.
- [4] HARPER P A W, HEALY P J, DENNIS J A. Animal model of human disease-citrullinemia (argininosuccinate synthetase deficiency) [J]. *Am J Pathol*, 1989, 135: 1213-1215.
- [5] HEALY P J, HARPER P A W, DENNIS J A. Bovine citrullinaemia-A clinical, pathological, biochemical and genetic study [J]. *Aust Vet J*, 1990, 67: 255-258.
- [6] HEALY P J. Testing for undersirable traits in cattle: an Australian perspective [J]. *J Anim Sci*, 1996, 74: 917-922.
- [7] KAMINSKI S, GRZYBOWSKI G, PRUSAK B, et al. No incidence of DUMPS carriers in Polish dairy cattle [J]. *J Appl Genet*, 2005, 46(4):395-397.
- [8] MEYDAN H, YILDIZ M A, AGERHOLM J S. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey[J]. *Acta Vet Scand*, 2010, 52(1): 56.
- [9] PATEL R K, SINGH K M, SONI K J, et al. Lack of carriers of citrullinaemia and DUMPS in Indian

- Holstein cattle [J]. *J Appl Genet*, 2006, 47: 239-242.
- [10] WINDSOR P, AGERHOLM J. Inherited diseases of Australian Holstein-Friesian cattle [J]. *Aust Vet J*, 2009, 87(5):193-199.
- [11] HEALY P J, DENNIS J A, CAMILLERI L M, et al. Bovine citrullinaemia traced to the sire of Linmack Kriss King [J]. *Aust Vet J*, 1991, 68: 155.
- [12] GHANEM M E, NAKAO T, NISHIBORI M. Deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle [J]. *Anim Reprod Sci*, 2006, 91:45-54.
- [13] ROBINSON J L, DRABIK M R, DOMBROWSKI D B, et al. Consequences of UMP synthase deficiency in cattle [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, 80: 321-323.
- [14] SHANKS R D, DOMOMBROWSKI D B, HARPES-TAD G W, et al. Inheritance of UMP synthase in dairy cattle [J]. *J Hered*, 1984, 75:337-340.
- [15] SCHWENGER B, SCHOBER S, SIMON D. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene [J]. *Genomics*, 1993, 16: 241-244.
- [16] SCHWENGER B I, TAMMERN, AURICH C. Detection of the homozygous recessive genotype for deficiency of uridine monophosphate synthase by DNA typing among bovine embryos produced *in vitro* [J]. *J Reprod Fertil*, 1994, 100:511-514.
- [17] SHANKS R D, POPP R G, MCCOY G C, et al. Identification of homozygous recessive genotype for the deficiency of uridine monophosphate synthase in 35-day bovine embryos [J]. *J Reprod Fertil*, 1992, 94:5-10.
- [18] SHANKS R D, ROBINSON J L. Embryonic mortality attributed to inherited deficiency of uridine monophosphate synthase [J]. *J Dairy Sci*, 1989, 72: 3035-3039.
- [19] 范兴华, 张 毅, 公维嘉, 等. 我国荷斯坦种公牛 CVM 遗传缺陷基因的分子检测[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(19):14-18.
- [20] 李建斌, 王洪梅, 高运东, 等. 利用 PCR-RFLP 检测中国荷斯坦牛遗传缺陷瓜氨酸血症[J]. 生物技术通报, 2006, (6):97-99.
- [21] 魏玉春, 刘丑生, 王新庄, 等. 利用 PCR-SSCP 检测荷斯坦奶牛瓜氨酸血症[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 8(37):31-35.
- [22] 周月君. 奶牛单基因遗传缺陷研究进展[J]. 中国牛业科学, 2010, 36(5):46-50.

(编辑 郭云雁)