参赛学生姓名：卢天

中学：北京市陈经纶中学

省份：北京市

国家/地区：中国 北部赛区

指导老师姓名：岑宇

指导老师单位：北京市陈经纶中学

论文题目：京津地区摇蚊系统发育与种群遗传结构、毒性响应机制及纳米传感检测的整合研究

论文题目：
京津地区摇蚊系统发育与种群遗传结构、毒性响应机制及纳米传感检测的整合研究
作者：卢天

Abstract :

Insects of the *Chironomidae* family, as important indicator organisms of freshwater ecosystems, their species composition and genetic structure can effectively reflect the quality of water environment. However, traditional morphological identification has limitations, and the existing monitoring methods are difficult to meet the application requirements of on-site, rapid and low-cost. This study took the Aedes albopictus in the Beijing-Tianjin region as the research object, integrating morphological observation and DNA barcoding technology (COI gene) to conduct species identification, phylogenetic analysis, genetic diversity assessment and population genetic structure research. The composition of the regional Aedes albopictus community was clarified, and potential new species and allogeneic phenomena were discovered. It reveals the significant genetic differentiation between the populations in Tianjin and Southeast Asia and the recent population mixing events. Based on this, a three-dimensional response model of time-concentration-survival rate for mosquito larvae under cadmium stress was constructed. The comparison results between the double-exponential model and the GUTS-SD model supported the "detoxification induction" hypothesis, and the "concentration-dependent mechanism conversion" hypothesis was originally proposed. Furthermore, the behavioral response experiments of mosquito larvae and the light response experiments of adult mosquitoes were designed, and a quantitative framework for behaviory-environmental response was established. Finally, this study first proposed and preliminarily verified a field rapid detection method for eDNA in *Chironomidae* based on gold-DNA probes and lateral flow technology. Gold nanoparticles were successfully prepared and DNA functionalized characterization was completed, providing a new technical prototype for real-time and visual monitoring of the ecological environment. Despite the small sample size and the fact that toxicological experiments did not repeatedly collect data multiple times, this study still constructed an integrated research path of "species identification - mechanism analysis - technology transformation", providing theoretical and technical support for the in-depth application of aedes albopictus in environmental assessment.

【中文摘要】：

摇蚊科（*Chironomidae*）昆虫作为淡水生态系统的重要指示生物，其物种组成与遗传结构可有效反映水体环境质量。然而，传统形态学鉴定存在局限性，且现有监测手段难以满足现场、快速、低成本的应用需求。本研究以京津地区摇蚊为对象，整合形态学观察与 DNA 条形码技术（COI 基因），开展物种鉴定、系统发育分析、遗传多样性评估及种群遗传结构研究，明确了区域摇蚊群落组成，发现潜在新种与同种异名现象，揭示了天津与东南亚种群间的显著遗传分化及近期种群混合事件。在此基础上，构建了镉胁迫下摇蚊幼虫的时间-浓度-生存率三维响应模型，双指数模型与 GUTS-SD 模型比较结果支持“解毒诱导”假说，并原创性提出“浓度依赖性机制转换”假说。进一步，设计了摇蚊幼虫行为响应实验与成虫光响应实验，建立了行为-环境响应量化框架。最后，本研究首次提出并初步验证了一种基于纳米金-DNA 探针与横向流动技术的摇蚊 eDNA 现场快速检测方法，成功制备纳米金颗粒并完成 DNA 功能化表征，为生态环境的实时、可视化监测提供了新型技术原型。尽管存在着样本数较小、毒理学实验未多次重复收集数据，本研究仍构建了“物种鉴定—机制解析—技术转化”的整合研究路径，为摇蚊在环境评估中的深度应用提供了理论与技术支撑。

【关键词】：

摇蚊科（*Chironomidae*）；DNA 条形码；细胞色素 c 氧化酶亚基 I（COI）；形态学鉴定；隐存种；遗传距离；单倍型网络；Hill 方程；多项式响应面模型；半致死浓度（LC_{50}）；双指数衰减模型；毒性动力学-毒效动力学（TK-TD）；通用统一生存阈值-随机死亡模型（GUTS-SD）；时间依赖性风险评估；纳米金颗粒；横向流动检测技术；环境 DNA（eDNA）

目录

1 研究背景 7
  1.1 摇蚊科昆虫的生态学地位及其作为环境指示生物的研究瓶颈 7
  1.2 DNA 条形码技术于摇蚊分类与生态评估中的进展与空白 7
  1.3 毒理学模型与机制解析在环境评估中的前沿进展 7
  1.4 环境监测技术的演进趋势：从环境 DNA 到纳米生物传感 7
  1.5 本研究定位与整合路径 8
2 研究目的 8
3 研究思路 9
4 形态学观察实验 11
  4.1 实验设备、材料及方法 11
  4.2 样本采集及保存 11
  4.3 形态学分析方法简介 12
    4.3.1 形态学分析方法 12
    4.3.2 细节分析角度示例 12
    4.3.3 整体描述分析示例 14
  4.4 常见摇蚊属昆虫形态学分析 16
  4.5 形态学观察分析 20
    4.5.1 形态学观察描述 20
    4.5.2 形态学初步物种鉴定 21
5 分子生物学实验 21
  5.1 实验设备及材料 21
  5.2 DNA 条形码技术原理 22
  5.3 DNA 提取实验 23
    5.3.1 实验原理 23
    5.3.2 实验操作记录 23
    5.3.3 容易产生实验误差的地方分析24
  5.4 PCR 扩增实验 24
    5.4.1 实验原理 24
    5.4.2 实验操作 25
  5.5 琼脂糖凝胶电泳实验 25
    5.5.1 实验原理 25
    5.5.2 实验操作 26
    5.5.3 实验结果 26
  5.6 综合结果（分子生物学湿实验部分）讨论 26
6 生物信息学分析 27
  6.1 序列比对及数据预处理 27
    6.1.1 目的 27
    6.1.2 原理 27
    6.1.3 软件工具 27
    6.1.4 结论与讨论 27
  6.2 遗传距离计算分析 33
    6.2.1 目的 33
    6.2.2 原理 33
    6.2.3 软件工具 34
    6.2.4 结论与讨论 34
  6.3 系统发育树的构建 35
    6.3.1 目的 35
    6.3.2 原理 35
    6.3.3 软件工具 35
    6.3.4 结论与讨论 35
  6.4 单倍型多样性与核苷酸多样性分析38
    6.4.1 目的 39
    6.4.2 原理 39
    6.4.3 软件工具 39
    6.4.4 结论与讨论 39
  6.5 遗传分化与基因流分析及绘制单倍型网络图 44
    6.5.1 目的 44
    6.5.2 原理 44
    6.5.3 软件工具 45
    6.5.4 结论与讨论 45
7 理论应用——生态环境调查 49
  7.1 调查方法 49
  7.2 北京市日坛公园生态环境实地调查49
  7.3 摇蚊属中各物种与环境适应性关系50
    7.3.1 各物种的生态环境分布环境关联 50
    7.3.2 各物种生理结构与环境关联性分析（结构-功能-适应-演化）.52
  7.4 问卷调查——群众对于当下生态环境的认识 54
8 动物行为学实验 55
  8.1 动物行为学研究思路 55
  8.2 重金属镉胁迫摇蚊幼虫行为反应的毒理学研究 55
    8.2.1 实验原理 55
    8.2.2 实验材料及用具 56
    8.2.3 实验方案设计思路 57

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

8.2.1 实验材料.................................57
8.2.2 实验设计.................................57
8.2.3 数据收集与生存率计算......57
8.2.4 检测指标.................................58
8.2.5 数据分析.................................59
8.3 摇蚊成虫光响应实验......................61
8.3.1 实验原理.................................61
8.3.2 实验材料.................................62
8.3.3 实验方案设计思路..............62
9 双指数模型与 GUTS 假说检验揭示的摇蚊幼虫镉胁迫下浓度依赖性机制转换与动态风险评估..64
9.1 研究背景...64
9.1.1 研究背景意义.......................64
9.1.2 研究现状与科学问题..........64
9.1.3 研究目的与主要内容..........64
9.1.4 研究思路.................................65
9.2 数据预分析.......................................65
9.3.急性毒性效应建模与经验性分析..66
9.3.1 模型构建总体思路..............66
9.3.2 固定时间下的浓度-生存率关系（Hill 方程）..............................66
9.3.3 固定浓度下时间-生存率关系（单指数与线性模型比较）..........68
9.3.4 浓度-时间-生存率三维响应（多项式响应面模型）..................69
9.4 毒性时间动力学分析（半致死浓度 LC_{50}随时间的变化规律）......................72
9.4.1 毒性时间动力学模型选择..72
9.4.2 LC50 随时间变化的数据选取72
9.4.3 时间趋势模型拟合比较......73
9.4.4 双指数衰减模型（最优）的详细分析......................................77
9.5 基于 GUTS 模型的毒性机制假说检验..80
9.5.1 从现象到机制：双指数模型揭示的科学问题..............................80
9.5.2 GUTS-SD 模型框架：统一描述与参数化......................................81
9.5.3 模型比较与假说检验..........84
9.5.5 讨论：从模型比较到机制发现..86
9.5.6 新假说的提出：浓度依赖性机制转换......................................86
9.5.7 小结...88
9.6 时间依赖性风险评估与水质基准..88
9.6.1 基于双指数模型的安全阈值估算..88
9.6.2 安全区域识别与风险评估..90
9.6.4 管理应用建议.......................92
9.6.5 对环境风险评价的启示......92
9.7. 结论与展望.....................................93
9.7.1 主要结论.................................93
9.7.2 研究创新点.............................93
9.7.3 不足与展望.............................93
10 创新转化应用探索——基于横向流动技术的摇蚊 eDNA 生物指示剂现场检测卡.........94
10.1 设计原理及设计思路.................94
10.2 初步实验验证过程.....................96
10.2.1 纳米金（溶胶）制备实验 96
10.2.2 动态光散射（DLS）分析纳米金粒径分布.......................................98
10.2.3 紫外-可见光谱（UV-Vis）分析纳米金表面等离子共振（SPR）特性..98
10.2.4 纳米金 DNA 表征实验.......99
10.3 该技术优势与面临挑战............100
10.4 可优化方向展望......................101
11 研究客观局限性及未来展望..............101
12 研究感悟..102
13 致谢..102
14 参考文献..103

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

1 研究背景

1.1 摇蚊科昆虫的生态学地位及其作为环境指示生物的研究瓶颈

摇蚊科（*Chironomidae*）昆虫是淡水生态系统中极为重要且分布广泛的类群。其幼虫是水体底栖食物网的关键一环，成虫则为陆生生态系统的资源补充。由于不同种类对水体理化因子的耐受性存在显著差异，例如 *Chironomus riparius* 可耐受有机污染与低氧环境，而 *Tanytarsus spp.*则偏好清洁水体，所以摇蚊群落结构能够稳定反映水体的综合环境状况。由此，摇蚊被公认为理想的淡水生态系统生物指示剂。

然而，目前基于摇蚊进行环境评估的研究，多依赖于传统形态学鉴定或实验室分子检测。形态学方法对操作者专业经验要求高，且难以区分大量存在的隐存种；分子鉴定虽准确，但依赖专业设备与实验室环境，成本高、周期长，难以满足大规模、实时性、现场化的环境监测需求。如何将摇蚊的环境指示价值转化为可现场、快速、低成本应用的监测工具，成为当前环境生物学领域亟待突破的技术瓶颈。

1.2 DNA 条形码技术于摇蚊分类与生态评估中的进展与空白

近年来，以线粒体 COI 基因为核心的 DNA 条形码技术为昆虫分类学与多样性研究带来了革命性变革。该技术通过标准化、可数字化的基因序列，实现了物种的快速识别与筛选，尤其适用于幼虫与成虫形态关联困难、隐存种普遍存在的类群。同时，分子系统发育分析（如最大似然法、贝叶斯推断）可将条形码数据置于进化框架中，检验形态分类体系的单系性，揭示物种间的真实进化关系。

对于摇蚊这一形态高度趋同的类群而言，DNA 条形码技术的优势尤为突出。它不仅能够有效鉴定物种、发现隐存多样性，还可为种群遗传结构、历史动态与适应性进化提供关键数据支撑。然而，目前针对京津地区摇蚊的系统性分子生态学研究仍属空白。该区域摇蚊由哪些物种构成？其群落构建受何种生态与进化过程主导？种群是否具备足够的遗传健康与适应性潜力？这些问题尚缺乏系统性的数据支撑，也直接制约了摇蚊作为区域环境指示生物的应用深度。

1.3 毒理学模型与机制解析在环境评估中的前沿进展

在环境污染物毒性评估领域，传统的单一时间点剂量-效应分析已难以满足精准风险评价的需求。近年来，以毒性动力学-毒效动力学（Toxicokinetic-Toxicodynamic, TK-TD）框架为代表的数学模型，为揭示污染物对水生生物的毒性动态机制提供了强有力的工具。其中，通用统一生存阈值-随机死亡模型（GUTS-SD）能够整合时间与浓度双变量，量化毒物在生物体内的累积过程与致死效应之间的内在联系。

然而，现有研究多假设毒性机制在不同浓度区间保持恒定，忽略了浓度可能导致的机制转换。对于重金属镉这类具有复杂毒理效应的污染物，其在低浓度与高浓度下的作用通路可能存在根本差异——低浓度下以氧化应激与解毒诱导为主，高浓度下则可能触发膜完整性丧失、线粒体崩溃等不可逆损伤。这种“浓度依赖性机制转换”若未被识别，将导致风险评估模型的系统偏差。因此，将数学建模与机制假说检验引入生态毒理学研究，不仅是方法论的创新，更是提升环境评估科学性的必然要求。

1.4 环境监测技术的演进趋势：从环境 DNA 到纳米生物传感

随着全球水生态系统面临的富营养化与污染压力持续加剧，高效、精准、现场化的生物监测技术需求日益迫切。环境 DNA 技术因其非侵入性采样、高灵敏度等优势，已成为生物多样性监测的重要工具。然而，当前 eDNA 应用仍主要依赖实验室宏条形码测序，存在周期长、成

本高、现场适应性差等局限，难以真正实现“采样—检测—结果”的现场闭环。

与此同时，纳米生物传感技术，尤其是基于纳米金颗粒的横向流动检测技术，因其灵敏度高、结果可视化、操作简便等优势，在病原体检测、食品安全等领域已实现成熟应用。理论上，将特定指示生物（如摇蚊）的特异性 eDNA 检测与纳米金显色技术相结合，有望构建出一种直观、灵敏、低成本的生态环境指示剂，实现对生态系统健康状况的实时、可视化表征。

然而，目前将空气或水体中的摇蚊 eDNA 与纳米金横向流动技术整合为一套完整现场检测体系的研究，尚属空白。如何筛选具有明确环境指示意义的摇蚊靶标物种？如何设计其特异性 DNA 探针？如何实现 eDNA 现场采样、扩增与纳米金显色的无缝衔接？这些问题构成了从基础研究向应用技术转化的关键科学挑战。

1.5 本研究定位与整合路径

综上所述，当前摇蚊在环境评估中的应用面临三重挑战：分类学基础薄弱（形态鉴定局限）、种群机制不清（遗传结构与适应性未知）、监测技术滞后（无法现场化），而毒理学模型的引入则为机制解析与风险量化提供了新的可能。为此，本研究拟构建一条“物种鉴定—机制解析—技术转化”的整合研究路径，将分子系统发育分析、种群遗传学、毒性动力学建模与纳米传感技术有机融合，实现从基础研究向应用转化的跨越。

2 研究目的

本研究旨在构建一条“物种鉴定—机制解析—技术转化”的整合研究路径，系统解决摇蚊在环境评估中的应用基础问题，并探索前沿技术在生态监测中的创新应用。在分类学层面，本研究拟将传统形态学观察与现代分子生物学方法相结合，通过对京津地区摇蚊样本的 DNA 条形码（COI 基因）测序与系统发育分析，明确区域物种组成，揭示潜在隐存种，建立物种进化框架，为精准评估生物多样性提供基础数据。在种群遗传层面，通过计算单倍型多样性（Hd）、核苷酸多样性（π）等参数，结合中性检验（Tajima's D、Fu's Fs）、HKA 检验与单倍型网络分析，评估种群的遗传健康状况与历史动态，揭示天津与东南亚种群间的遗传分化与基因流水平，为理解摇蚊的区域适应机制提供进化视角。

在生态适应与毒性机制层面，本研究拟采用“假说驱动、模型比较、机制推理”的科学范式，系统解析摇蚊对环境胁迫的响应规律。基于摇蚊幼虫在镉胁迫下的时间-浓度-生存率高密度数据，构建多层次数学模型体系：通过 Hill 方程拟合固定时间下的浓度-效应关系，获取半致死浓度（LC_{50}）时间序列；通过比较指数衰减与线性模型，揭示毒性时间效应的动力学本质；通过多项式响应面模型量化浓度与时间的协同交互作用；通过比较 9 种候选模型筛选 LC_{50} 时间动态的最优数学形式，揭示毒性衰减的双相特征。在此基础上，在毒性动力学-毒效动力学（TK-TD）框架下构建三个相互排斥的竞争性假说模型（常数清除模型、时变清除模型、两室隔离模型），通过最大似然估计与赤池信息准则（AIC）进行模型比较与似然比检验，检验“解毒诱导”与“毒物隔离”假说，并基于高浓度区的系统性模型偏差，原创性提出“浓度依赖性机制转换”假说，揭示毒性机制的浓度依赖性本质。这一从模型比较到假说检验再到新理论提出的研究路径，旨在实现从经验描述向机制发现的研究范式跃迁。

在技术转化层面，本研究拟将基础研究成果应用于环境监测技术的创新探索。通过设计摇蚊幼虫重金属胁迫行为响应实验与成虫光响应实验，建立涵盖运动活性、迁移效率、惊跳反应、趋光性等多维度的标准化行为观测与量化指标体系，探索将内在遗传适应性转化为可实时监测的宏观表型指标。同时，本研究首次提出并初步验证一种基于纳米金-DNA 探针的摇蚊 eDNA 横向流动快速检测技术，通过纳米金颗粒制备与表征、DNA 探针功能化偶联，整合空气 eDNA 采样、环介导等温扩增（LAMP）与横向流动显色检测，旨在构建低成本、高灵敏、适用于现场快速检测的新型生物传感器，实现生态系统健康状况的实时、可视化表征。

3 研究思路

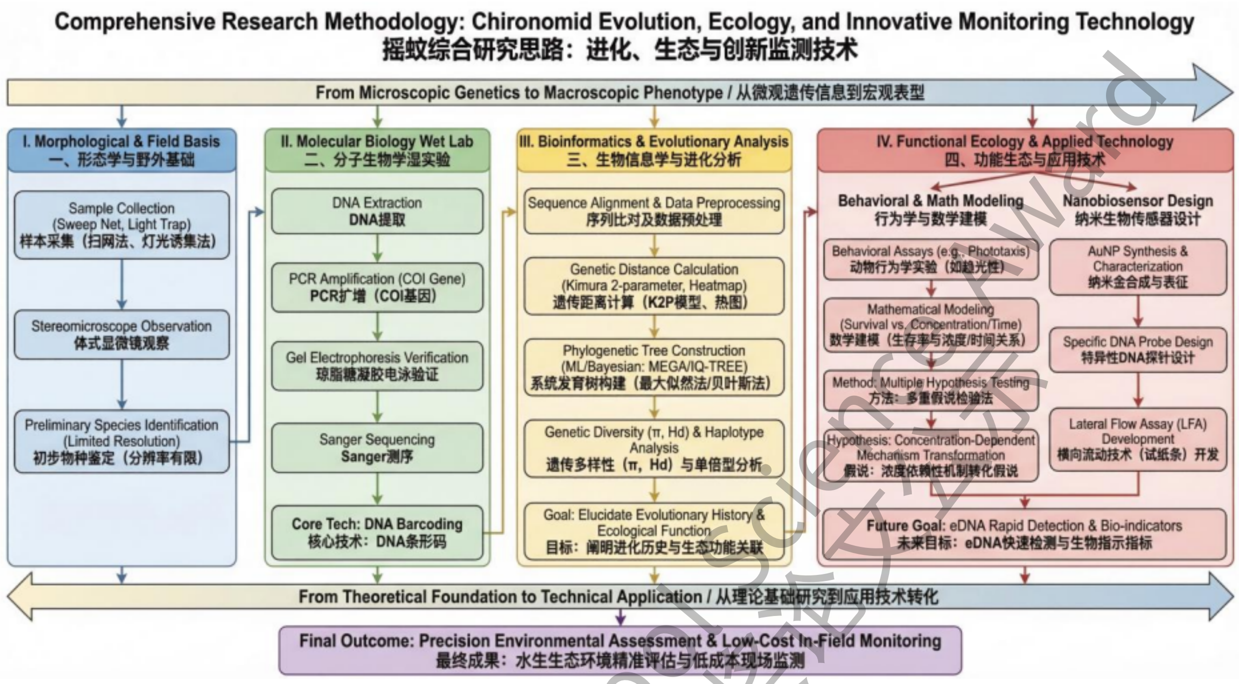

Comprehensive Research Methodology: Chironomid Evolution, Ecology, and Innovative Monitoring Technology
摇蚊综合研究思路：进化、生态与创新监测技术
From Microscopic Genetics to Macroscopic Phenotype / 从微观遗传信息到宏观表型
I. Morphological & Field Basis
一、形态学与野外基础
Sample Collection (Sweep Net, Light Trap) 样本采集（扫网法、灯光诱集法）
Stereomicroscope Observation 体式显微镜观察
Preliminary Species Identification (Limited Resolution) 初步物种鉴定（分辨率有限）
II. Molecular Biology Wet Lab
二、分子生物学湿实验
DNA Extraction DNA提取
PCR Amplification (COI Gene) PCR扩增（COI基因）
Gel Electrophoresis Verification 琼脂糖凝胶电泳验证
Sanger Sequencing Sanger测序
Core Tech: DNA Barcoding 核心技术：DNA条形码
III. Bioinformatics & Evolutionary Analysis
三、生物信息学与进化分析
Sequence Alignment & Data Preprocessing 序列比对及数据预处理
Genetic Distance Calculation (Kimura 2-parameter, Heatmap) 遗传距离计算（K2P模型、热图）
Phylogenetic Tree Construction (ML/Bayesian: MEGA/IQ-TREE) 系统发育树构建（最大似然法/贝叶斯法）
Genetic Diversity (π, Hd) & Haplotype Analysis 遗传多样性（π，Hd）与单倍型分析
Goal: Elucidate Evolutionary History & Ecological Function 目标：阐明进化历史与生态功能关联
IV. Functional Ecology & Applied Technology
四、功能生态与应用技术
Behavioral & Math Modeling 行为学与数学建模
Behavioral Assays (e.g., Phototaxis) 动物行为学实验（如趋光性）
Mathematical Modeling (Survival vs. Concentration/Time) 数学建模（生存率与浓度/时间关系）
Method: Multiple Hypothesis Testing 方法：多重假说检验法
Hypothesis: Concentration-Dependent Mechanism Transformation 假说：浓度依赖性机制转化假说
Nanobiosensor Design 纳米生物传感器设计
AuNP Synthesis & Characterization 纳米金合成与表征
Specific DNA Probe Design 特异性DNA探针设计
Lateral Flow Assay (LFA) Development 横向流动技术（试纸条）开发
Future Goal: eDNA Rapid Detection & Bio-indicators 未来目标：eDNA快速检测与生物指示指标
From Theoretical Foundation to Technical Application / 从理论基础研究到应用技术转化
Final Outcome: Precision Environmental Assessment & Low-Cost In-Field Monitoring
最终成果：水生生态环境精准评估与低成本现场监测

图 1 研究思路

如图 1，本研究秉持“问题导向、证据链衔接、技术驱动”的核心逻辑，设计了一条从基础分类学逐步延伸至前沿技术应用的完整研究路径，整体分为三个递进阶段，形成“物种鉴定—机制解析—技术转化”的闭环逻辑。

第一阶段：物种鉴定与进化框架构建。 本阶段以分类学基础与遗传数据收集为起点。在京津地区开展系统性摇蚊样本采集，通过体式显微镜进行形态学观察与初步鉴定。对所有样本进行 DNA 条形码（COI 基因）扩增与测序，利用 MEGA、IQ-TREE 等软件进行多序列比对、遗传距离计算与系统发育树构建（最大似然法、邻接法），检验形态分类的单系性，明确物种间的进化关系。在此基础上，利用 DnaSP 计算单倍型多样性（Hd）、核苷酸多样性（π），通过 Tajima's D、Fu's Fs 等中性检验评估种群历史动态，采用 PopART 绘制多种单倍型网络图（TCS 网络、Median-Joining 网络、Integer NJ 网络、Minimum Spanning 网络），结合 AMOVA 与 Fst 分析量化地理种群间的遗传分化与基因流水平，揭示天津与东南亚种群间的分化历史与近期混合事件。这一阶段不仅解决了“物种是谁”的分类学问题，更建立了后续机制解析的进化框架。

第二阶段：生态适应机制解析与毒性动力学建模。 本阶段体现了“假说驱动、模型比较、机制推理”的科学思想，将系统发育框架与生态性状、毒性响应数据深度融合。

在生态适应层面，将第一阶段获得的系统发育树与文献资料中提取的各物种生态性状（耐污等级、栖息地偏好、盐度/pH 耐受性等）进行关联分析，采用系统发育比较方法追踪关键环境适应性状的进化路径，判断其属于保守进化还是趋同进化，从进化生物学角度阐释不同摇蚊类群应对环境压力的适应策略。

在毒性动力学建模层面，基于摇蚊幼虫在 12 个镉浓度梯度、17 个时间点下的生存率数据，构建多层次递进式数学模型体系。首先，采用 Hill 方程拟合各固定时间点的浓度-效应关系，获取半致死浓度（LC_{50}）与 Hill 系数的时间序列。其次，在固定浓度下比较单指数衰减模

型与线性模型，揭示高浓度区向指数衰减模式转变的动力学本质——低浓度区以背景线性损耗为主，高浓度区毒性主导下呈现具有恒定瞬时风险的指数衰减过程。进而，构建二阶多项式响应面模型，量化浓度主效应、时间主效应及其交互作用，证实浓度与时间存在显著协同毒性（$\beta_5=-0.2586$，$p<0.001$）。最后，通过比较 9 种候选模型（线性、指数、幂函数、双指数、Weibull、Gompertz、饱和指数、对数线性、二次多项式），筛选出双指数衰减模型（$R^2=0.999$，AIC 权重 100%）作为描述 LC_{50} 时间动态的最优模型，揭示毒性衰减的双相特征——快速过程（半衰期 7.7 小时）对应急性应激防御，缓慢过程（半衰期 123.8 小时）对应适应性响应。

在机制假说检验层面，本研究体现了“竞争性假说检验”的经典科学范式。基于毒性动力学-毒效动力学（TK-TD）框架，在通用统一生存阈值-随机死亡模型（GUTS-SD）下构建三个相互排斥的竞争性假说模型：模型 M_0 （常数清除）假设清除速率恒定，无适应性响应；模型 M_1 （时变清除）假设解毒系统随暴露时间渐进性诱导；模型 M_2 （两室隔离）假设毒物向惰性储存库转移并缓慢回流。通过最大似然估计与赤池信息准则（AIC）进行模型比较，M_1 获得接近 100%的 AIC 权重，显著优于 M_0 （$\Delta AIC=15008$）和 M_2 （$\Delta AIC=1751$）。似然比检验（$p<0.001$）进一步证实“解毒诱导”假说是描述摇蚊幼虫镉胁迫响应的最优毒代动力学结构，而 M_2 参数呈现生物学荒谬性（周边室半衰期仅 0.03 小时），明确排除了“毒物隔离”假说。更为重要的是，M_1 在高浓度区（≥5000 μg/L）呈现系统性拟合偏差——预测生存概率与实际观测值相差 5-7 个数量级。这一偏差模式结合高浓度组生存曲线的“陡直”下降特征（24-48 小时内从>90%降至<2%），引导我们原创性提出“浓度依赖性机制转换”假说：低浓度区（≤1000 μg/L）遵循经典 TK-TD 动力学，高浓度区（≥5000 μg/L）触发阈值突破机制（膜完整性丧失、线粒体功能障碍、能量代谢崩溃、氧化爆发）。这一从“模型比较”到“偏差识别”再到“新假说提出”的推理链条，充分体现了从经验描述走向机制发现的研究范式跃迁。

第三阶段：监测技术创新与应用验证。 本阶段将前两阶段的理论成果转化为可应用的监测技术。

在动物行为学层面，基于已鉴定的物种特性与进化背景，设计标准化行为响应实验。针对摇蚊幼虫，建立重金属镉胁迫下的行为观测体系，量化运动活性（总移动距离、活动时间占比、平均移动速度）、迁移效率（比移动速率、路径曲折度）、运动模式复杂性（蠕动频率、角度变化率、运动轨迹分形维数）、静止与爆发模式（静止期次数与平均时长、速度分布直方图）以及应激反应指标（反应潜伏期、反应强度、恢复时间）等多维度行为参数。针对摇蚊成虫，构建 Y 型迷宫光响应实验装置，测定不同波长（紫外-可见光谱）与强度下的趋光性行为参数（首次选择、光源区停留时间、抵达光源时间、运动轨迹复杂度），旨在将内在的遗传适应性转化为可实时、动态监测的宏观表型指标，为环境变化提供一种实时、动态的生物预警新途径。

在纳米传感技术层面，本研究首次提出并初步验证了一种基于纳米金-DNA 探针的摇蚊 eDNA 横向流动快速检测技术。利用第一阶段鉴定出的关键指示物种（如耐污种 Chironomus riparius、清洁种 Tanytarsus spp.）的特异性 COI 基因序列，设计互补 DNA 探针。通过柠檬酸钠还原法制备纳米金颗粒，利用动态光散射（DLS）与紫外-可见光谱（UV-Vis）进行粒径分布与光学性质表征（$\lambda max=523$ nm，Z-Average=45.48 nm），证实成功制备了分散性良好的球形纳米金颗粒。通过 Au-S 共价键将巯基化 DNA 探针偶联至纳米金表面，构建稳定的 DNA-纳米金偶联物，紫外光谱红移与 Zeta 电位负值增大共同证实了 DNA 分子的成功固定。在此基础上，设计横向流动检测卡架构，整合空气 eDNA 采样与环介导等温扩增（LAMP）技术，通过“三明治式”分子识别原理实现目标序列的特异性捕获与纳米金显色，旨在将复杂的分子生物学结果转化为非专业人员可判读的视觉信号，构建低成本、高灵敏、适用于现场快速检测的新型生态环境指示剂。

研究逻辑的闭环与科学思想的贯穿。 纵观全文，本研究形成了一条清晰的研究逻辑链：

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

分类学基础→种群遗传结构→生态适应机制→毒性动态响应与机制检验→行为表型转化→纳米传感技术创新。这一链条不仅实现了从基础研究到技术转化的完整跨越，更贯穿了“假说驱动、模型比较、机制推理”的科学思想。在数学建模部分，我们采用了多模型递进式分析（Hill方程→响应面模型→双指数模型→GUTS 竞争性检验），体现了从经验描述到机制检验的研究范式；在假说检验部分，我们构建了相互排斥的竞争性模型（M_0 /M_1 /M_2 ），通过 AIC 权重与似然比检验进行严格筛选，体现了“强推理”（strong inference）的科学思想；在机制发现部分，我们基于模型偏差提出“浓度依赖性机制转换”新假说，体现了从异常现象到理论创新的研究路径。这一系列科学方法的系统运用，使本研究不仅完成了对京津地区摇蚊多样性的系统调查，更在生态毒理学机制解析与现场监测技术创新方面实现了原创性突破，为摇蚊在水生环境评估中的深度应用提供了完整的科学依据与技术原型。综上所述，本文研究思路层层递进，形成了研究思路的闭环。

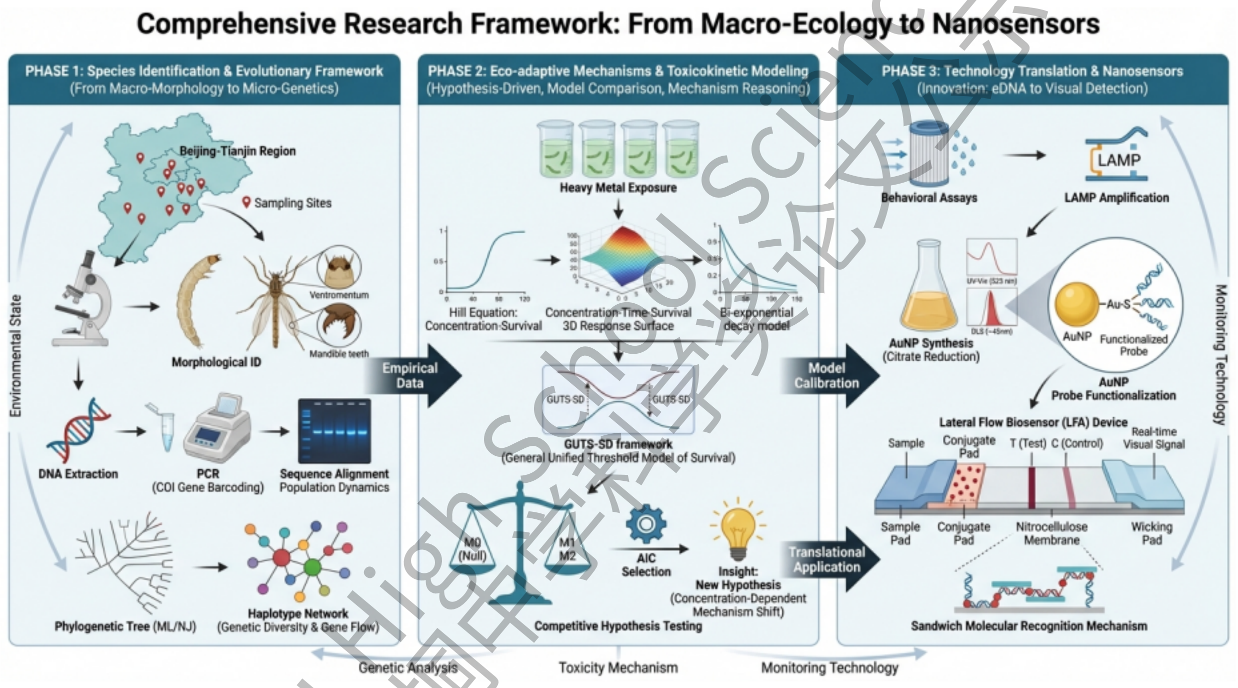


图 2 研究过程图

4 形态学观察实验

4.1 实验设备、材料及方法

采集样本方法：扫网法、灯光诱集法

采集样本工具：捕虫网、漏斗式诱虫灯

样本保存：75%酒精

样本观察：体式显微镜（S2N71 宁波）

4.2 样本采集及保存

样本采集过程：扫网法：在摇蚊大量出现的草丛、水边、林地边缘等生境，以“8”字形或左右扫动的方式挥动捕虫网。挥动有力且迅速。扫网结束后，快速翻转网袋，防止昆虫逃出。最后将捕获物转移，为了最大程度防止 DNA 变性，通过 75%酒精保存。

灯光诱集法：因为大多数趋光性昆虫（包括许多摇蚊）会被特定波长的光吸引，特别是紫外光

2026 S.T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学论文奖

（黑光灯）。所以，在灯下放置一个漏斗，漏斗下方连接一个收集瓶（内放酒精或洗涤剂水），昆虫绕灯飞行后坠入漏斗，最终掉入收集瓶。

样本采集地点：天津师范大学
样本采集时间：2025.8.2
最终选用样本数量：15 只

4.3 形态学分析方法简介

4.3.1 形态学分析方法

昆虫形态学分析是昆虫分类与鉴定的重要基石，我们用到体视显微镜和生物显微镜两种工具，仔细对标本的宏观结构与微观结构做观察和描述。对于体型较大的昆虫，做分析的流程包括标本制备——像针插、展翅、KOH 透明处理还有玻片封片这些步骤，还要做精细的解剖工作，尤其是雄性外生殖器的部分，另外得和权威检索表、分类学专著做比对。在这一点上，这种分析方法主要留意那些稳定、有鉴别能力的形态特征，像翅脉序、体表刚毛、触角节数还有外生殖器的精细构造，以此做到对物种比较精准的鉴定，给生态学、进化生物学还有害虫防治的研究提供有一定帮助的基础资料。

4.3.2 细节分析角度示例

一．背侧尖端之间的距离和 MTR

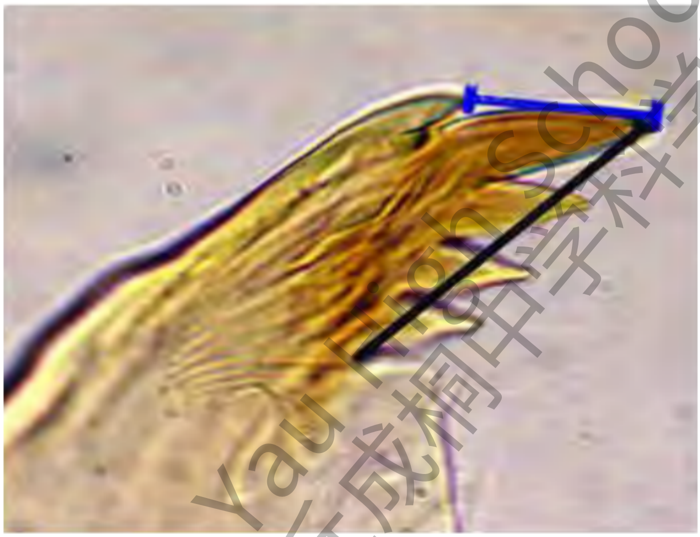
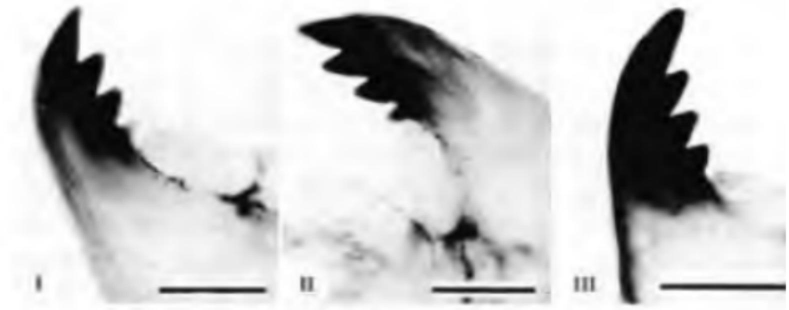


图 3 背侧尖端之间的距离及下颚齿相关测量(Mandible length and Mdt-Mat)[1] 引自 Jon Martin（2020）

Hirvenoja 和 Michailova（1998）表明，背侧尖端之间的距离相关物种的下颚齿可能有所不同（Mdt-Mat）（图中蓝线以下）。Jon Martin（2020）提出对于不同大小的物种，最好将该值除以长度内齿排（上图中黑线）即可获得 MTR（Mdt-Mat）。[1]

二．下颌骨类型



From Webb and Scholl 1985.

I – type IA; II, type IIB; III – type IIIC

图 4 下颌骨类型(The mandible type)[1] 引自 Jon Martin（2020）

下颌骨类型是根据第三内颌骨的变黑和分离程度来定义的。

类型：如图 3

I 型——下缘几乎完全融合；

II 型——下缘部分无齿；

III 型——第三颗牙齿完全分离。

颜色：

A 型——苍白

B 型——稍微变暗

C 型——与其他牙齿一样黑

三．生殖器官

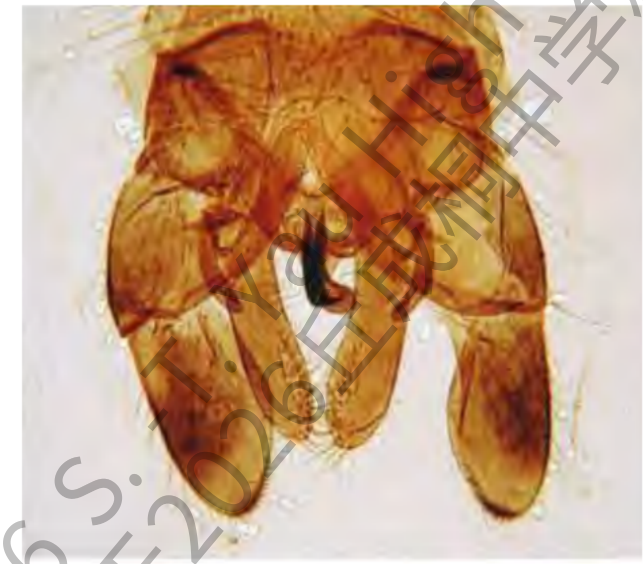


图 5 生殖器官局部形态学观察 [1] 引自 Jon Martin（2020）

对于摇蚊生殖器官需辨识以下几个关键组成部分：

1. 生殖背板：位于背侧最上方的板状结构，其形状（如方形、梯形）、后缘形态（平直、凹陷或具深“V”形缺刻）以及是否延伸出特殊突起，是分属的重要依据。

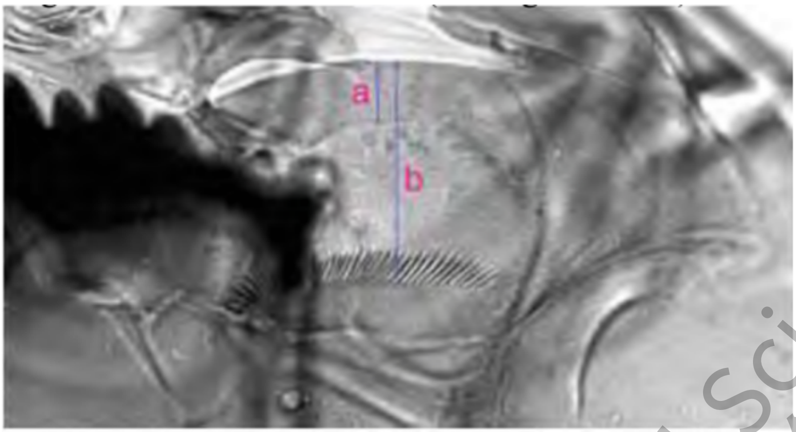
2. 肛尖：通常位于生殖背板下方中央，形态多变，可呈指状、锥状或宽大的铲状，其大小和形状具有重要的分类学价值。

3. 上附器与下附器：成对出现的附肢状结构。它们的形态（如片状、镰刀状、钩状）、长度

以及其上着生的刚毛 patterns，是稳定的鉴别特征。

4. 抱器：这是所有结构中最为关键的鉴别部位，由基节和端节构成。基节粗壮，其内侧的基内突形态多样；而抱器端节的形态（如直、弯、粗细）、末端构造（尖、钝、膨大或成钩），尤其是其内侧缘是否具有齿、瘤突或脊，是区分许多形态相似物种（隐存种）的决定性特征。

四．腹部内膜处的腹板比（VMR）



VMR = a/b

图 6 腹部内膜（Ventromentum）引自 Jon Martin（2020）

腹部内膜（Ventromentum）：可以从腹板进行多种测量，包括 VPA 以及皮纹的数量。腹板比（VMR）- 腹板边缘区域宽度的比率（通常在光学显微镜下看到颗粒状带）（图 5 中的 a）到距离从前缘到皮纹基部（图 5 中的 b）

在比较长度和深度时，“b”也用作 VM 深度的度量。用于表示长度与深度之比。见图 6

五．VM 长度（VML）

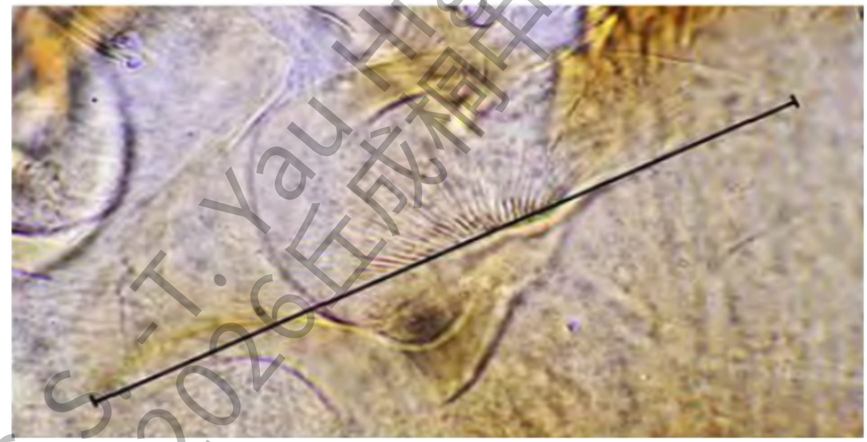
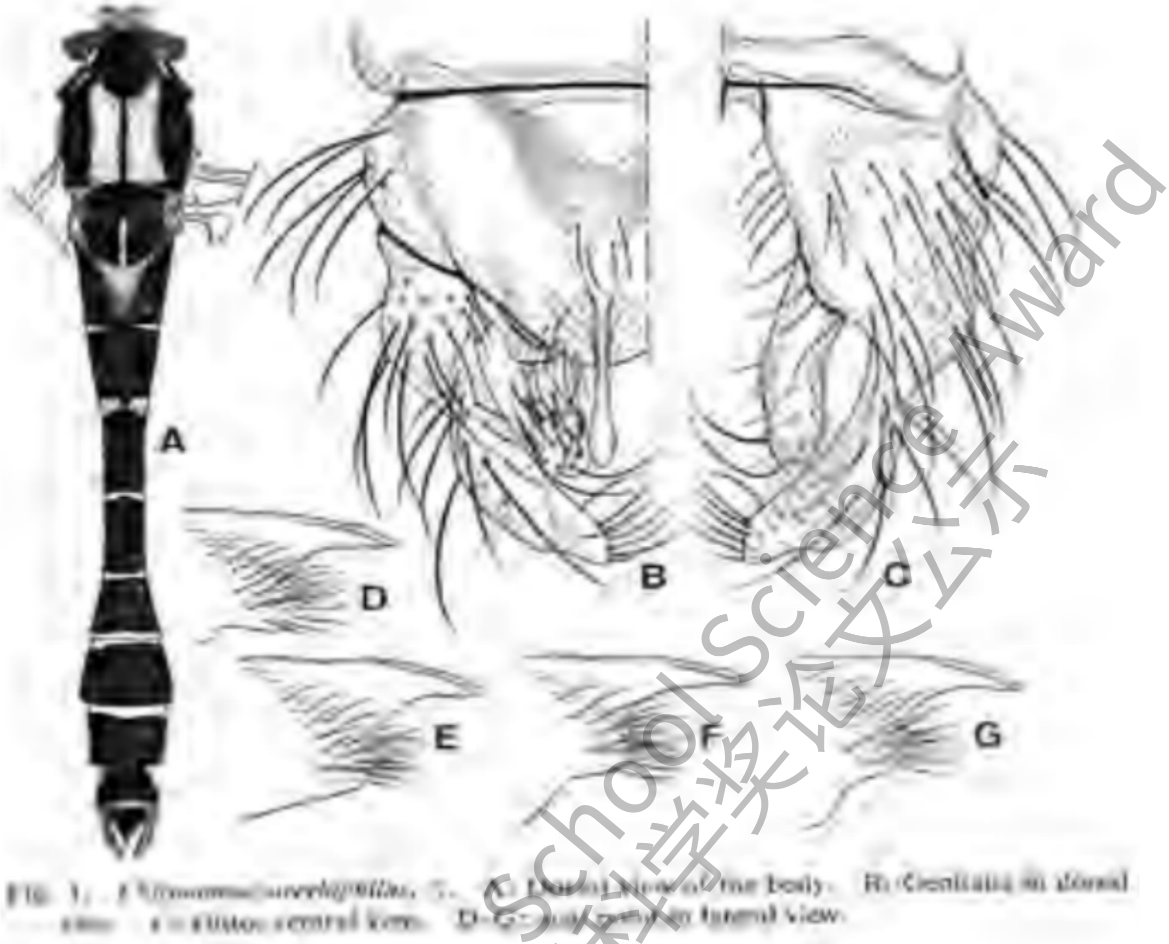


图 7 VM 长度（VML）引自 Jon Martin（2020）

VM 长度（VML）直接从内缘到外缘测量：Jon Martin（2020）提出这似乎比有时使用的“水平长度”更可取，后者可能受到视差误差以及测量操作影响。

4.3.3 整体描述分析示例



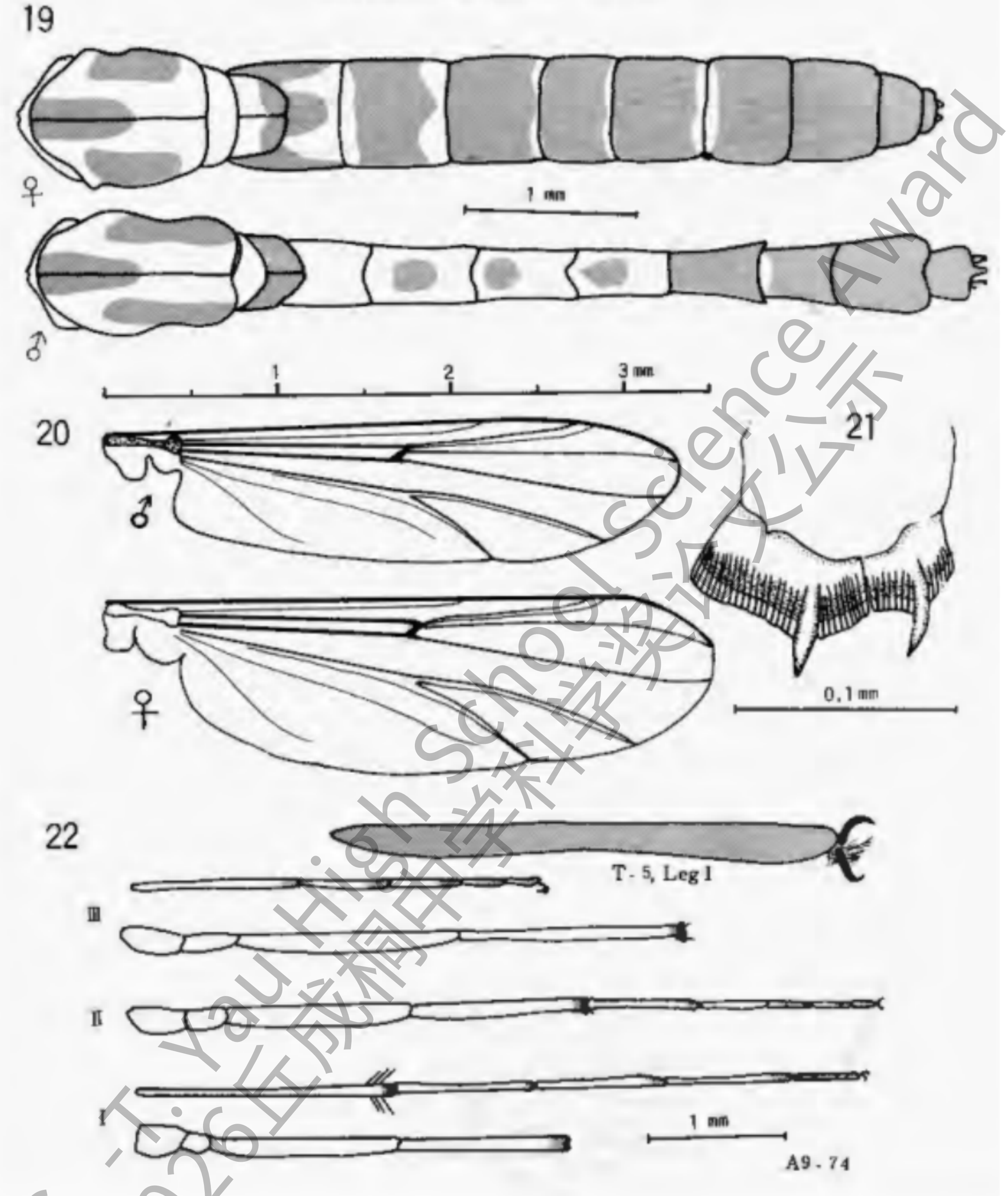
From Yamamoto 1986

图 8 成虫形态学绘图 Yamamoto (1986).引自 Jon Martin（2020）

具体形态学测量数据示例：头部：额叶结节，长 22.5 - 35 µm，宽 10 - 17.5 µm。触肢节段比例 (µm) 59 : 64 : 203 : 199 : 254。唇瓣上有 36 - 48 个刚毛。胸刚毛:短毛：8 - 10；背中央 13 - 23；前级 6 - 11；翼 1;盾片 22 -36。1

具体形态学描述示例：（Kieffer description - Annales Musei Nationalis Hungaricis 14: 111-112 (1916) 10.T. *crassiforceps n. sp*）雄性，整体黄褐色，额叶有两个白色的小裂片。触须深棕色。触角 12 节，褐色，有黄褐色杂色，横节 3-11 宽是长的两倍，第 12 节长度是前 10 个长度的两倍。中胸背板磨砂白色，有 3 条淡红色带，短，暗淡、发白；小盾片、后背板和胸膜带红色或黄褐色。翅近透明，横脉黑色。最后一条腿发黄两个跗节和第三节的末端颜色较深，前跗节无胡须，第 2-4 节逐渐稍微缩短，第 4 节并不明显短于第 3 节，比第 5 节大两倍多。腹部呈直线状，棕白色，侧缘黑色。非常大的末端节段，比基节段更长更大，笔直，边缘稍薄且圆，但远端四分之一除外由于四肢的毛短、直立且相当密集，而侧面的刚毛相对较短比平常短，比段的宽度短；附肢呈短点；下附肢非常长，几乎到达末端段的末端，是末端段的两倍多上肢，但没有末端节的一半大，在末端节之前稍微肿胀四肢较细，被短柔毛，背面远端三分之一处有长毛，刚性且强烈弯曲，长 4.5 毫米。1

Chironomus flaviplumus Tokunaga



Sasa's (1978) illustrations of morphology of *C. flaviplumus*.

图 9 黄羽摇蚊 A 型 Sasa (1978) 引自 Jon Martin（2020）

Sasa (1978) 描述了这种黄羽摇蚊 A 型变体。Sasa 列出的重要特征是 LR 约为 1.6-1.8 以及相对较长的前 Ta5，这约为前 Ti 长度的 0.35-0.4。在后来的论文中，Sasa 和 Hasekawa (1983)给出了更广泛的值范围（包括 Ta5/Ti 值仅为 0.25），这可能表明它们拥有不止一种物种的材料。[1]

4.4 常见摇蚊属昆虫形态学分析

1. 羽摇蚊 *Chironomus riparius* （Meigen, 1804）

这种昆虫的雄成虫属于中型个体，从头到尾的长度大概在 8 到 10 毫米之间。整体来看，

它有典型的摇蚊形态，在这一点上和我们常见的同类没什么差别。至于头部，它相对较小，复眼是肾形的，表面光滑无毛。它的触角一共有 11 个鞭节，长成了浓密的羽状结构，触角比（AR）还算高，数值大概在 2.5 到 3.0 之间。胸部鼓得比较高，颜色是深墨绿色或者棕绿色，表面有比较明显的光泽，中胸背板中央的淡色纵纹通常不明显。翅透明，翅脉系统清晰，呈淡黄色至褐色。前缘脉强壮。翅痣明显，呈长椭圆形，颜色为浅棕色。所有翅脉均不具刚毛，翅膜本身也光滑无毛，这是摇蚊属的一个重要属征。足细长，前足显著长于中和后足。前胫节顶端具一个细长而尖锐的黑色胫距，长度约为前胫节端部直径的 2 倍。各足附节比例稳定。

最为重要的鉴定特征在于其雄性生殖器。在玻片标本下，其尾器结构展现如下：生殖背板宽阔，中央后缘有一个宽浅的凹陷，使得背板两侧形成两个钝圆的侧叶。肛尖细长，呈指状，略微向下弯曲。上附器为长片状，末端钝圆，内侧缘密布细长的刚毛。下附器相对短小，呈钩状。抱器是鉴定到种的核心，其基节粗壮，内侧具一明显的、呈靴状的基内突，抱器端节相对细长，略微向内弯曲，末端尖锐，其最关键的鉴别特征是内侧缘光滑，无任何齿状突起或隆脊。这一特征是与其主要近缘种 *C. pallidivittatus* 区分的决定性依据。

2. 苍白摇蚊 *Chironomus pallidivittatus*（Malloch, 1915）

此物种是 *C. riparius* 的经典近缘种，外部形态与羽摇蚊几乎无法区分。雄成虫体长约 7-9 毫米，体色通常较羽摇蚊更浅，呈黄绿色至橄榄绿色，但该特征不稳定。触角也为 11 节羽状，触角比（AR）略低，约为 2.0 至 2.5，但重叠度很高。胸部背板颜色较浅。翅透明，翅痣浅色。足的构造，包括前胫节胫距的长度和形态，与羽摇蚊无显著差异。

因此，两者的可靠区分完全依赖于雄性生殖器的细微结构。其生殖背板与 *C. riparius* 相似，也宽阔且中央后缘有浅凹，但凹陷有时更浅，侧叶形态可能略有不同。肛尖、上附器和下附器的形态也高度相似。最关键的、也是唯一的稳定鉴别特征在于抱器端节。与 *C. riparius* 光滑的端节不同，*C. pallidivittatus* 的抱器端节相对更粗壮一些，并且在其内侧缘的中部或近端部，有一个微小但清晰可见的内齿或尖锐的隆脊。这个齿的大小可能有个体变异，但其存在是区别于 *C. riparius* 的黄金标准。

3. 普达摇蚊 *Chironomus plumosus*（Linnaeus, 1758）

雄成虫为大型种类，体长可达 10-13 毫米，体型粗壮。体色多变，可从深绿色、墨绿色到黄褐色。头部复眼光滑。触角 11 节，羽状毛极其浓密，触角比（AR）约为 2.0-2.5。胸部背板强烈隆起，颜色深邃，表面常被有灰色粉被。

翅宽大，透明或略带烟灰色调。翅脉粗壮，颜色较深。翅痣大而明显，呈深红棕色或暗褐色，形状为卵圆形。足粗壮，各胫节常呈深色至黑色。前胫节的胫距长而强壮，颜色漆黑。

其雄性生殖器结构非常独特，易于辨认。生殖背板后缘的中央有一个非常深且尖锐的“V”形或“U”形凹陷，将背板分割成两个显著突出的圆形或角状侧叶。肛尖是该物种最醒目的特征之一，它特别宽大、强壮，呈明显的铲状或斧刃状，向腹面伸出。上附器为长片状，边缘具刚毛。下附器短小。抱器基节极其粗壮，基内突大而复杂。抱器端节较长，略微弯曲，内侧缘通常光滑，或仅有不明显的皱褶，但绝无尖锐的内齿。

4. 异齿摇蚊 *Chironomus heterodentatus*（Konstantinov, 1958）

雄成虫体型中等，体长约 7-9 毫米。体色通常为深绿色。头部和胸部形态具摇蚊属典型特征。触角 11 节羽状，触角比（AR）约为 2.2-2.6。翅透明，翅痣深色。足具典型的摇蚊属特征，前胫节具胫距。

这个物种的名字就直接体现了它最关键、最特别的形态特点，这一点主要表现在雄性的生殖器上。它的生殖背板后缘要么比较平直，要么只有一点点微弱的弧形，没长出任何长的中央

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

突起。肛尖长得细细长长的。上附器是长片形状的。下附器则又短又小。最特别的鉴别特征就在抱器上。大多数摇蚊物种左右两边的抱器端节都是对称的。然而，在 *C. heterodentatus* 中，两个抱器的端节在外形上表现出比较明显的不对称，也就是异形。一般来说，其中一个端节（多为左侧）比较直，内侧缘可能长有一个或是几个齿状结构或是隆突；另一个端节（多为右侧）则弯得比较明显，甚至有点扭曲，而且它内侧齿的位置、大小还有形状，和对侧的完全不同。在这一点上，这种比较明显的不对称情况在摇蚊属里是相当少见的，这也是区分它和其他种类的关键依据，能把几乎所有别的近缘种都排除在外。

5. 吉氏摇蚊 *Chironomus kiiensis*（Tokunaga, 1936）

雄成虫体长约 7-9 毫米，体色多变，可从浅绿至深绿色。触角 11 节，羽状毛发达，触角比（AR）约为 2.2-2.7。胸部背板颜色多为深绿色，表面常覆盖有较密的灰色粉被，使得光泽感减弱，外观略显灰暗。

翅透明，翅痣呈中等深度的棕色，形状为长卵圆形。足部特征典型。

其雄性生殖器结构具有复合型的鉴别特征。生殖背板呈梯形，后缘平直或具有一个非常宽浅的凹陷，无任何长的突起。肛尖发达，呈长锥状，直挺地向下伸出。上附器为独特的镰刀状，即基部较宽，然后均匀地弯曲变细，末端形成一个尖钩，整个结构优雅而有力，内侧密布细刚毛。下附器为短小的锥状。抱器结构强壮：基节粗大，基内突大而呈方形或盾形。抱器端节长度适中，但显著地向内侧弯曲，形成一个近乎半圆的弧度，并且在其弯曲的顶点附近（内侧缘中部），有一个清晰可辨的、三角形的小内齿。这种组合——镰刀状的上附器、盾形的基内突以及带内齿的弧形抱器端节——共同构成了吉氏摇蚊稳定而可靠的鉴定特征体系。

6. 黄羽摇蚊 *Chironomus flaviplumus*（Tokunaga, 1940）

雄成虫体型中等，体长约 7-9 毫米。该物种最显著的宏观特征是其体色。头部呈淡黄色，胸部背板为鲜明的黄绿色或金黄色，这与许多深绿色的近缘种形成鲜明对比。腹部各节也为淡黄色或黄绿色，半透明，使得内部器官隐约可见。触角共 11 鞭节，形成浓密的羽状结构，触角柄节和梗节呈淡黄色，羽状鞭节为灰白色，整体感觉颜色较浅。触角比约为 2.0 至 2.5，属于中等范围。

翅完全透明，翅脉纤细，呈淡黄色，这使得整个翅在肉眼观察下几乎不易察觉。翅痣存在，但颜色极浅，为不明显的淡黄色椭圆形斑块。足的所有部分，包括基节、转节、腿节、胫节和附节，均呈均匀的淡黄色，无任何深色斑块或环纹。前胫节顶端具一个细长的、颜色稍深的黄色胫距。

其雄性生殖器结构是确认的关键。生殖背板相对宽阔，后缘中央有一个宽而浅的“U”形凹陷，两侧叶圆钝。肛尖细长，呈指状，略微向腹面弯曲。上附器为长片状，内外缘近乎平行，末端钝圆，其上着生密集的刚毛。下附器短小，呈圆锥状。抱器基节粗壮，其基内突发达，呈一个向下弯曲的钩状。抱器端节是重要的鉴别点：它长度中等，略微向内弯曲，最显著的特征是其内侧缘从基部到端部有一条由小齿或密集的颗粒状突起形成的纵向脊，这条脊在高倍显微镜下清晰可见。这种独特的颗粒状内脊，结合其浅黄的体色，构成了该物种可靠的鉴定特征。

7. 东京摇蚊 *Chironomus tokioensis*（Tokunaga, 1940）

这种昆虫的雄成虫体长大概在 8 到 10 毫米之间，体型较为粗壮厚实。它们的体色大多是深绿到墨绿的色调，还带有一定的金属光泽感。从头部来看，复眼呈肾形，表面光滑，没什么多余纹路。触角总共有 11 节，上面长的羽状毛十分浓密，就这方面的长度比例来说，大概在 2.2 到 2.8 之间。胸部的背板隆起得很明显，颜色偏深，表面覆盖着一层稀疏的灰色粉被。在这一点上，中胸背板中央的淡色纵纹通常不明显。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

翅透明，但翅脉颜色较深，特别是径脉干和径分脉呈深褐色，使得翅脉框架非常清晰。翅痣显著，呈深棕色或近乎黑色的长卵圆形，与透明的翅膜对比强烈。足的色泽较深，腿节和胫节呈深绿色或褐色。前胫节的胫距发达，长而尖锐，颜色漆黑。

该物种的雄性生殖器结构极具特色，生殖背板不是简单的板状结构，其后缘强烈延伸出一对细长、尖锐且平行伸出的中央突起，这对突起的长度通常超过生殖背板主体部分的长度，像一对“獠牙”。肛尖相对短小，夹在这对突起之间。上附器宽大，呈独特的勺状或扇形，边缘密布长刚毛。下附器为细长的杆状，末端弯曲。抱器基节非常强壮，基内突大而呈复杂的片状结构。抱器端节相对短粗，但强烈地向内侧弯曲呈弓形，其末端尖锐，并且在内侧缘的近端部三分之一处，常有一个明显尖锐的内齿。这种组合——极长的生殖背板中央突起、扇形的上附器以及带内齿的弓形抱器端节——使 *C. tokioensis* 在镜下易于识别。

8. 硫球摇蚊 *Chironomus rikuzenicus* （Tokunaga, 1939）

雄成虫体型相对较小，体长仅 6-8 毫米，体态显得纤细。体色为均匀的淡黄绿色，缺乏深色个体，与 *C. flaviplumus* 类似但通常更小、更纤细。触角 11 节，羽状分支适中，触角比较低，约为 1.7-2.0。

翅完全透明，翅痣极不发达，仅为浅色痕迹。足细长，颜色浅，各足胫节和附节颜色一致，无环纹。前胫节的胫距短小。

其雄性生殖器结构展现出一种“简化”而特化的趋势。生殖背板狭窄，横向延伸，后缘平直或微弧，完全不具有任何中央突起或深的凹陷。肛尖完全缺失，这是该物种一个非常独特的特征。上附器高度退化，呈非常小的、瘤状或芽状的结构，上面着生寥寥数根刚毛。下附器同样不明显。与这些退化结构形成对比的是其抱器。抱器基节较长，基内突为简单的三角形薄片。抱器端节非常独特：它们极其细长、笔直且平行，像两根针一样从尾器基部伸出，其长度远超尾器的其他部分，末端尖锐。这种生殖器构型——无肛尖、退化的上附器和极长且直的抱器端节——在摇蚊属中非常特殊，是其鉴定的决定性依据。

9. 四月摇蚊 *Chironomus aprilinus*（Meigen, 1818）

雄成虫为大型种类，体长可达 11-14 毫米。体色深邃，通常为带金属光泽的墨绿色或深橄榄绿色。触角粗壮，11 节，羽状毛浓密，触角比约为 2.5-3.0。

翅宽大，透明或略带烟灰色。翅脉粗壮，颜色深。翅痣大而明显，呈深红棕色。足粗壮，颜色深，前胫节的胫距长而强壮。

这类生物的雄性生殖器结构强壮，还有不少复杂细节。生殖背板宽大，后缘形态多变，不过大多带有一个中等深度的“U”形凹陷，侧叶则是圆润的状态。肛尖发达，宽大得像舌头或者斧刃的样子，还会向下伸出去，成为该物种很醒目的一个特点。至于上附器，是又长又弯的镰刀样子，内侧缘密密麻麻长着刚毛。下附器则是短粗的锥形。抱器基节粗壮得很，基内突个头很大，是盾形或是方形的。抱器端节长度处在中等水平，但会明显往内弯，形态看着很强壮，它的内侧缘一般是光滑的，不过靠近基部的地方，可能会长些微小的感觉器，或是有轻微的隆起。就这方面来说，它那巨大的体型、长得很发达的斧状肛尖，还有强壮的抱器，共同构成了该物种的鉴定特征。

10. 尖囊摇蚊 *Chironomus acutiventis* (Wülker & Ryser, 1983)

雄成虫体型中等，体长约 8-10 毫米。体色通常为深绿色。一个重要的宏观特征是活体或酒精浸泡标本中，其腹部末端常显得尖锐。

触角 11 节，羽状，触角比约 2.2-2.6。翅透明，翅痣深色。足具典型的摇蚊属特征。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

该物种的鉴定完全依赖于雄性生殖器的精细结构。生殖背板后缘平直或微凸，无特殊突起。肛尖细长。上附器为长片状。下附器短小。最具鉴别力的结构在于抱器。抱器基节的基内突形态特殊。而抱器端节是其最关键的特征：它相对短粗，最显著的特点是其末端不是简单的尖形，而是形成一个独特的、向内侧弯曲的尖钩，犹如鹰嘴。同时，在端节内侧缘的中部或稍偏基部的位置，有一个明显尖锐的三角形内齿。这个“末端呈钩”且“中部带齿”的抱器端节形态，在镜下非常有辨识度，是该物种命名的来源（acuti 尖的、ventis 腹部）。

4.5 形态学观察分析

4.5.1 形态学观察描述

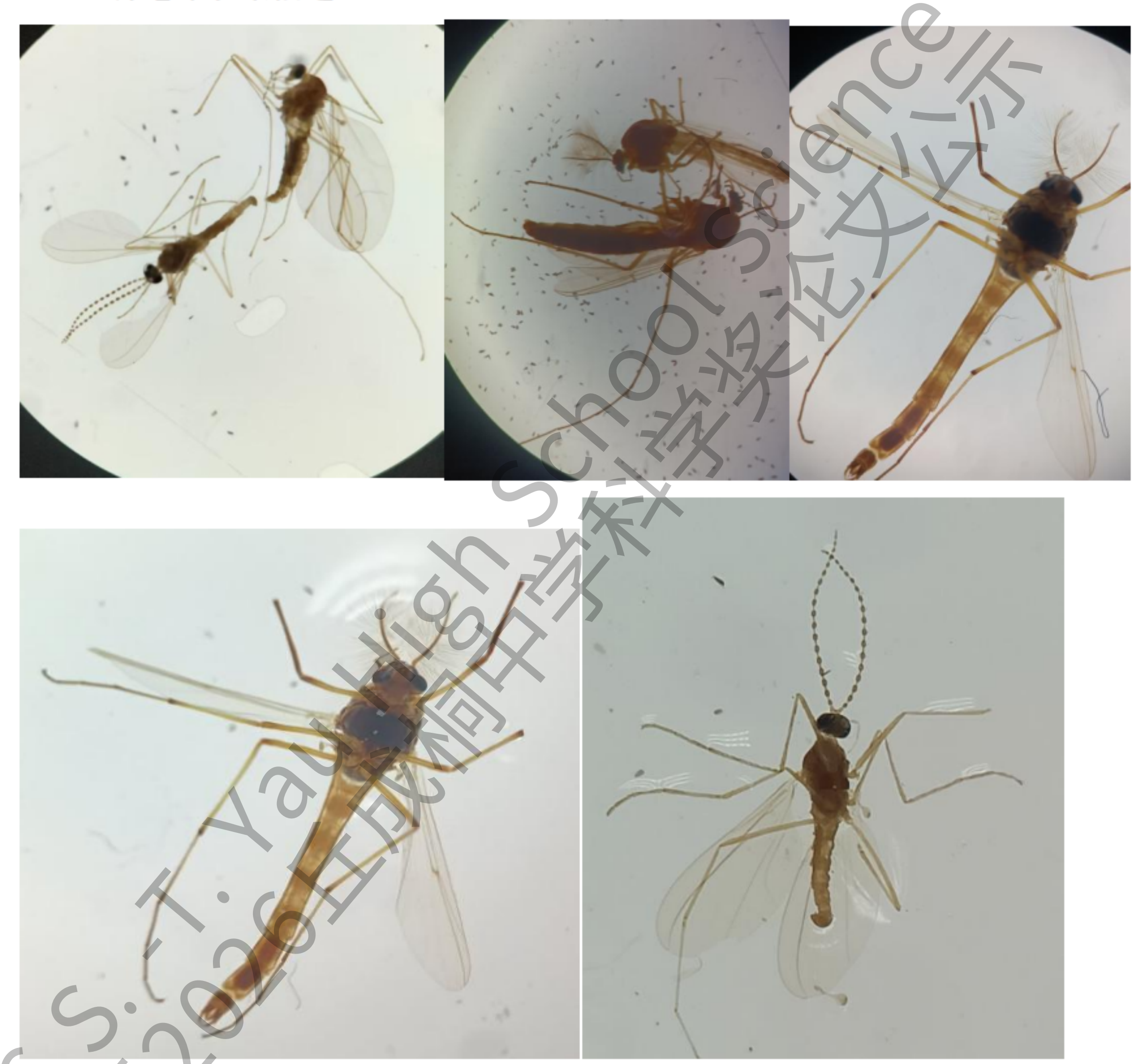


图 10 样本形态学观察（体式显微镜下）

对采集得到的样本进行分析（如图 9），可以初步鉴定物种含有黄羽摇蚊。

其中，对于 E2、E1 号（后面进行利用 DNA 条形码技术进行的分子实验核系统发育分析所用的摇蚊个体编号）个体分析如下：

共有特征：头部较小，复眼发达，口器退化，上下唇成简单肉质叶，腹部狭长，第 9 腹节背板端部中央伸出肛尖。足细长。

E2 号特有特征：体长约 6mm，黄黑色，已有图象观察触角鞭节数>10，可观察到各节明显轮状排列的长毛。翅狭长透明，第 10 腹节具一对分为 2 节的尾器。

E1 号特有特征：体长约 3mm，黄棕体色，触角鞭节数为 18，未观察到长毛，翅宽大(长于腹端)

其余编号个体和 E1 号近似，在此不再冗余介绍。

4.5.2 形态学初步物种鉴定

通过对样本的形态学观察，可以得到 E2 号样品的明显不同（明显的特点是其翅狭长，其次是生殖器仔细观察后略显不同），其余个体肉眼观测几乎无法辨别（使用更高倍数显微镜可观察到生殖器部位稍显不同）。做出初步的判断，E2 号个体可能为背摇蚊，其余种疑似为黄羽摇蚊（*Chironomus flaviplumus*）。

显然，仅通过形态学观察我们不可以非常确定性地鉴定物种，所以本文将传统的形态学分析与分子生物学方法（DNA 条形码技术）相结合。对于形态极其相似的“隐存种”，DNA 序列数据可以提供决定性的鉴定证据，二者相辅相成可以弥补仅形态学观察的局限性。

5 分子生物学实验

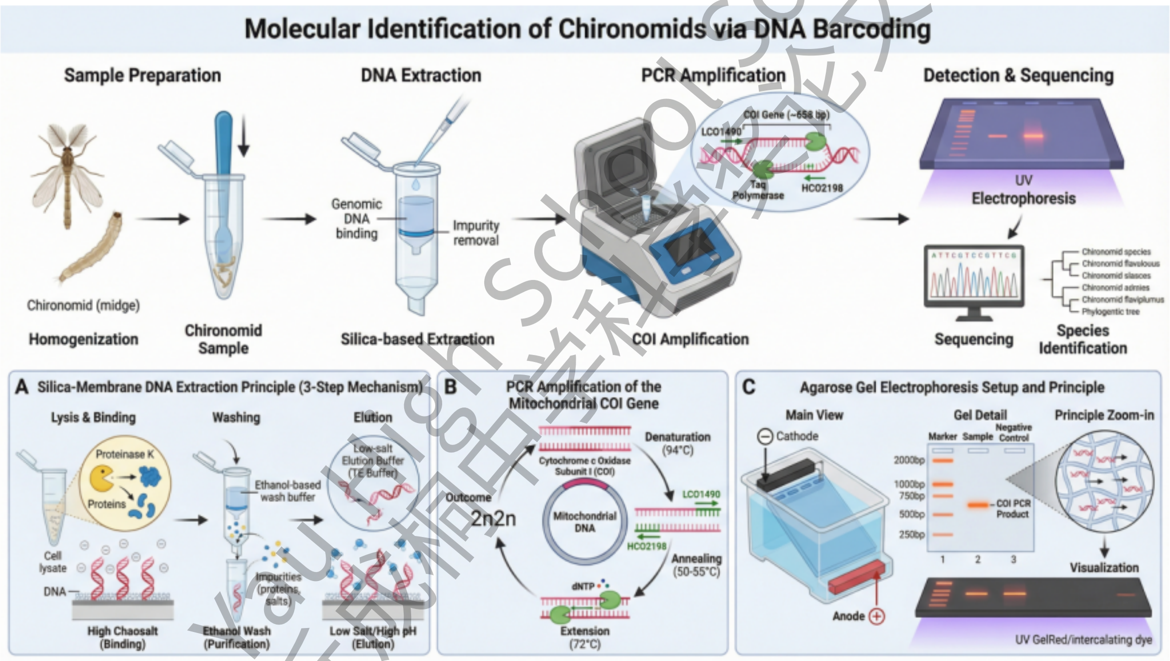


图 11 分子生物学实验部分研究思路

5.1 实验设备及材料

DNA 提取实验：标准高压蒸气灭菌锅；L、M、S 枪头；1.5ml 离心管；0.5ml 离心管；研磨棒；镊子；超净工作台 SW-CJ-2FD 上海；微量移液枪 DragonLab；涡旋仪(SIN：377760 VELPSCIENTIFICAITALY; 数显恒温水浴锅 DK-8D 常州；小容量冷冻离心机 eppendorf 5425R; S1010E 掌上离心机；离心管；缓冲液 GA；ProteinaseK 溶液；缓冲液 GB；乙醇；吸附柱 CB3；收集管；缓冲液 GD；漂洗液 PW；洗脱缓冲液 TE

PCR 扩增实验：PCR 仪(基因扩增仪)TC-96/G/HCb)C 浙江；Taq^{TM}.HSPrfectMix.；ddH_2O；LCO1490 ；HCO2198

2026S.T.Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

琼脂糖凝胶电泳实验：电子天平；DYY-6C 型电泳仪 北京；琼脂糖粉末；电泳缓冲液 AE；GelRed

5.2 DNA 条形码技术原理

DNA 条形码技术的原理，是借助基因组里的一段标准短序列来做物种鉴定的工作。就动物界来说，该技术选的是线粒体DNA 里的细胞色素 c 氧化酶亚基 I 基因（COI – Cytochrome oxidase subunit Ⅰ ）大概 658 碱基对的标准片段来当通用条形码。这个长度既能通过单次 PCR 扩增拿到，又带有足够区分不同物种的遗传信息。就这方面来说，选 COI 基因的原因，是它的序列结构同时有保守区和变异区：保守区可以用来设计通用引物，做到跨类群扩增，而变异区则靠着“种间差异大于种内差异”的特点，形成用来鉴别物种的“条形码间隙”。像图 10，线粒体基因组当这个技术的载体有独特优势，它大概 16.5kb 的环状 DNA 包含 37 个基因，其中全长多于 1500bp 的 COI 基因，因为它有母系遗传、无重组的特性还有细胞里的高拷贝数，特别适合用来分析降解样本。线粒体 DNA 是母系遗传，而且不会发生基因重组，在这一点上，它的谱系关系很清晰，能简化对进化历史的解析。每个细胞里头有好百上千个线粒体，COI 基因的拷贝数远高于细胞核基因。就这方面来说，从陈旧、微量或部分降解的样本（像毛发、羽毛、化石）里顺利提取并且扩增增 DNA 相对容易。从理论上来说，658bp 的序列能产生 4^{658} 种不同组合，对于有效氨基酸突变也有 4^{219} 个不同的突变位点。这么近乎无限的信息空间能保证每个物种都有获得独特标识的可能。在实际操作中，靠对于样本 DNA 来做提取、PCR 扩增、测序建库，最后把未知序列和 BOLD 这类参考数据库做比对，根据大概 2%的种内遗传距离阈值做到比较准确的鉴定。尽管这个技术会受到数据库完整性、核线粒体伪基因等因素的限制，但已经成为连接传统形态分类和现代基因组学的重要连接点，帮助生物多样性研究往标准化、高通量的方向走发展。

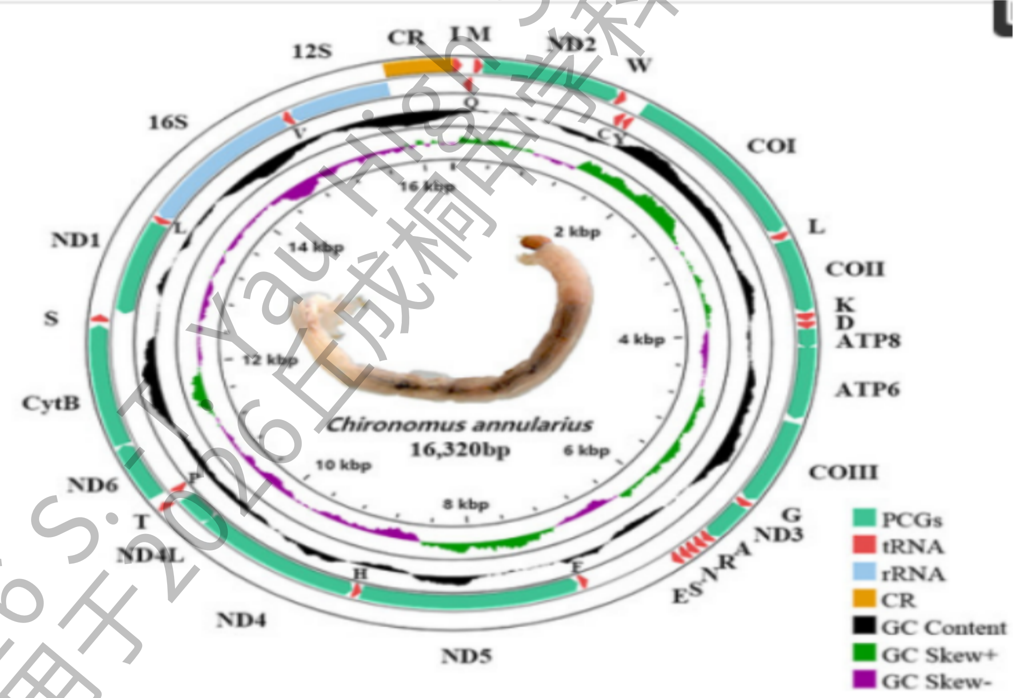


图 12 摇蚊线粒体环状 DNA 上基因分布示意图，引自李淑仪等 2022

优势：①可鉴定任何生命阶段（卵、幼虫、成虫）。②可鉴定残缺标本或加工制品。③能发现和揭示形态上无法区分的“隐存种”。④标准化流程，易于实现自动化和高通量操作，对做相关研究的稳定性和可重复性有一定帮助。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公开

局限性：①数据库不完整，许多物种尚未被录入数据库，导致无法比对。②对于某些特殊类群，通用引物可能无法有效扩增。③核线粒体伪基因：细胞核中可能存在线粒体基因的拷贝，干扰测序结果。④杂交和近期分化：对于存在杂交或近期快速成种的类群，区分效果有不太理想的地方。

5.3 DNA 提取实验

5.3.1 实验原理

本实验所采用的 DNA 提取方法的核心原理为：借助硅基质吸附材料在高离液盐环境下对 DNA 的特异性结合能力，通过一系列缓冲液体系达成细胞裂解、杂质去除以及 DNA 纯化。整个流程可细分为四个阶段：

1.细胞裂解与蛋白消化（对应下文 5.3.2 步骤 1 - 3）

最开始的步骤是要从各方面破坏细胞结构，把基因组 DNA 释放出来。缓冲液 GA 一般是含有 Tris-HCl、EDTA 的等渗溶液，它的主要作用是维持合适的 pH 环境，还会通过螯合 Mg^{2+}、Ca^{2+} 等二价离子来稳定 DNA，同时抑制核酸酶活性，防止 DNA 被提前破坏。接下来加的蛋白酶 K，是一种在高温和 SDS 环境下还保有比较高活性的广谱蛋白酶。在 56℃的水浴环境里，它能比较好地分解掉组织细胞里的组蛋白、核蛋白还有各类酶类，这样就能让 DNA 从染色质复合体里彻底分开。再往后加的缓冲液 GB（一般带有高浓度盐酸胍或异硫氰酸胍等离液盐），是个很重要的变性剂。它靠破坏氢键和疏水作用让蛋白质彻底变性，还能溶解细胞膜，在这一点上，它和蛋白酶 K 起到互相配合的作用，尽量得到澄清的裂解液。

2.DNA 的选择性吸附（对应下文 5.3.2 步骤 4 - 5）

此阶段达成了 DNA 从液相向固相的转移。加入无水乙醇的主要功能为：沉淀多糖等大分子杂质；与缓冲液 GB 中的离液盐协同作用，构建 DNA 吸附的最优条件。高浓度离液盐离子能够强烈破坏水合层，中和 DNA 磷酸骨架的负电荷，促使 DNA 分子通过疏水作用和盐桥与硅基质膜特异性结合。在离心力的驱动下，DNA 被选择性地捕获于吸附柱 CB3 的硅基质膜上，而变性的蛋白质、细胞代谢物等杂质因缺乏这种特异性结合能力而穿透滤膜被去除。

3.杂质的高效洗涤（对应下文 5.3.2 步骤 6 - 8）

洗涤这一步主要目的是把残留的盐分、溶剂还有少量有机杂质给去掉，同时得让 DNA 还能稳稳和吸附柱结合着，不能随便掉下来。像缓冲液 GD 这种溶液，一般是含有中低浓度离液盐的洗涤液，能比较明显地去掉膜上残留的蛋白质碎片和疏水性杂质，不至于让 DNA 从柱上掉下来。到了后面要用的漂洗液 PW，主要成分是乙醇和 Tris-EDTA 缓冲液，它靠乙醇的脱水作用，再把残留的盐分清掉一些，还能把残留的离液盐离子给换掉，就这方面来说，能给之后的 DNA 洗脱弄出个干净的环境。多来几次漂洗操作，能让洗涤做得更彻底，提取出来的 DNA 纯度也会有所上升。

4.DNA 的洗脱与回收（对应下文 5.3.2 步骤 9-10）：

最终 DNA 从固相吸附膜上释放。开盖离心与室温静置的目的是彻底挥发残留乙醇，避免乙醇干扰之后 PCR 等操作中的酶学反应。洗脱使用低离子强度的 TE 缓冲液（10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0）或去离子水，这种低盐环境重建了 DNA 分子的水合层，通过竞争性结合破坏了 DNA 与硅基质间的相互作用，使得完整的 DNA 分子被释放到溶液中。二次洗脱操作是基于吸附-解吸平衡原理，能显著提高 DNA 的总得率，通常可增加 15-25%的回收量。

综上所述，该实验本质上是通过调控溶液体系的离子强度、pH 值和介电常数，引导 DNA 分子在固-液两相间进行特异性分配，最终实现从样品中高效分离高纯度基因组 DNA 的目的。

5.3.2 实验操作记录

准备工作：标准高压蒸气灭菌（121℃，20min）

灭菌材料：L、M、S 枪头；1.5ml 离心管；0.5ml 离心管；研磨棒；镊子

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公开

DNA 提取操作流程：

1、取摇蚊样本（酒精浸泡、洗涤）的三条腿的组织作为样品，样品中加 200μL 缓冲液 GA，碾碎样品，振荡至彻底悬浮。

2、加入 20μLProteinaseK 溶液，涡旋约 15sec 充分振荡混匀。在 56℃水浴 6-10 小时，直至组织溶解，简短离心。

3、加入 200μL 缓冲液 GB，充分振荡混匀，70℃水浴 10min，溶液变清亮，简短离心。

4、加入 200μL 无水乙醇，充分振荡混匀 15sec，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心。

5、将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱 CB3 中(吸附柱放入收集管中)，12000mpm (~13,400xg)离心 30sec，倒掉废液。

6、向吸附柱 CB3 中加入 500μL 缓冲液 GD(使用前先检查是否已加入无水乙醇)，静置 3min，12000rpm (~13,400xg)离心 30sec，倒掉废液

7、向吸附柱 CB3 中加入 600μL 漂洗液 PW(使用前检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm (~13,400xg)离心 30sec，倒掉废液。

8、重复操作步骤 7。

9、将吸附柱 CB3 放入新的离心管中，12000rpm(~13,400xg)离心 2min，倒掉废液。将吸附柱 CB3 置于室温放置 15min。

10、向吸附膜的中间部位悬空滴加 70μL 洗脱缓冲液 TE，室温放置 5min，12000 rpm(~13,400xg) 离心 2min，将溶液收集到离心管中。使用离心管中的 DNA 溶液再洗脱一次。

5.3.3 容易产生实验误差的地方分析

①做酶解反应的时候，有时候会出现反应不彻底的情况。蛋白酶 K 对核基质蛋白的水解效率，会受空间位阻效应限制。像端粒、着丝粒这类异染色质区域的核蛋白复合物，往往得花 6 小时以上的时间去做持续消化才能处理好。且水浴温度哪怕只是±0.5℃的微小波动，也会让酶解速率出现 15%左右的变异。

②DNA 分子在乙醇-水双相系统中的分配系数受链长影响，>50kb 的长片段 DNA 在固相吸附过程中存在构象限制，导致其回收率较<10kb 片段降低 12-18%。吸附柱 CB3 的硅基质表面与 DNA 的结合位点存在饱和效应，当初始 DNA 量>5μg 时非线性结合特征显著。

③当用漂洗液 PW 去做洗脱操作的时候，硅基质膜表面那些细小的微孔结构，会产生一种毛细管效应，这就会让约 2-3μL 的残留液膜，没法单靠离心力完全清理干净。就这部分残留液来说，它里面带有些微量的盐离子，会让之后洗出来的产品，电导率在不同批次之间出现比较明显的差别。

④在 TE 缓冲液洗脱阶段，基因组 DNA 从硅基质表面解离后的再水合过程存在动力学限制。超螺旋 DNA 与线性 DNA 分子的扩散系数不同，导致其在洗脱液中的最终浓度比与初始状态产生 7-12%的偏差。

⑤既往扩增实验产生的高浓度 DNA 片段（通常>100 bp）在空气中可以形成稳定气溶胶体系。这些气溶胶粒子（直径 1-5 μm）可在通风环境中悬浮数小时，并能随气流运动沉降于实验台面、仪器表面或直接落入开放操作的样本与试剂中。由于其具有完整的核酸序列，可直接作为 PCR 反应的模板，与待测样本 DNA 竞争引物及酶结合位点，导致扩增结果出现特异性条带或抬高基线背景，对下游基于核酸扩增等构成干扰。

5.4 PCR 扩增实验

5.4.1 实验原理

聚合酶链式反应，也就是常说的 PCR 扩增技术，它的核心原理，简单来说是根据 DNA 聚

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

合酶介导的体外酶促反应来运作的，靠控制温度循环的反复变化，来做到特定 DNA 序列的指数级复制。这个过程本质上就是对细胞内 DNA 复制关键步骤的一种模拟。

当操作到变性环节——温度控制在 94 到 98 摄氏度之间的时候，双链 DNA 模板的氢键会慢慢断裂开，拆成单链分子，这些单链会成为后续反应的模板。说到退火环节，温度一般定在 50 到 65 摄氏度，这时候反应体系的温度会降到特异性引物的熔解温度，也就是常说的 Tm 值，附近，按照碱基配对的原则，能让引物和互补的模板序列做到选择性结合。到了延伸的步骤，温度维持在 68 到 72 摄氏度，像 Taq 酶这类热稳定的 DNA 聚合酶，会从引物的 3'-端开始，顺着模板链合成新的互补链，做这个反应的原料是脱氧核糖核苷三磷酸（dNTPs），全程按照 5'→3'的方向去做聚合反应。

每做完一次温度循环，目标 DNA 片段的数量在理论上就能翻一倍，等做完 n 次这样的循环后，就能得到原来 2^n 倍的扩增产物。这种指数级的增长特性，能让哪怕是极微量的模板 DNA——像单个分子那样的极端情况——在短短几个小时里，扩增到可以被检测出来的水平。到最后，我们可以借助琼脂糖凝胶电泳或者荧光检测系统，对扩增出来的产物做定性和定量的分析工作。

5.4.2 实验操作

PCR 扩增体系：

组分	体积
Taq$^{\text{TM}}$.HSPrfectMix.	12.5 μL
ddH$_2$O	8.5 μL
LCO1490	1.0 μL
HCO2198	1.0 μL
DNA 模板	2.0 μL

表 1 PCR 扩增体系

PCR 扩增程序：

流程	温度	时间
预变性	95℃	5min
35 个循环：　变性	94℃	45s
退火	55℃	45s
延伸	72℃	1min
彻底延伸	72℃	5min
保存	4℃	/

表 2 PCR 扩增程序

将配置好的 PCR 反应体系放入 PCR 仪中进行反应

5.5 琼脂糖凝胶电泳实验

5.5.1 实验原理

当下在分子生物学的各类实验操作中，琼脂糖凝胶电泳是一种已经沿用很久的经典技术，常被用来做 DNA 片段的分离、鉴定，还有纯化的工作。就这方面的原理来说，当把实验体系放在电场环境中时，DNA 分子的迁移会受两方面因素影响——一个是分子筛效应，另一个是 DNA 分子自身的性质。

琼脂糖是从海藻里提取出来的线性多糖聚合物，给它加热就会溶解，等它冷却下来之后，

就会形成有三维网状结构的凝胶。这类凝胶的孔径大小是根据琼脂糖的浓度来定的，像常见的浓度范围就在 0.8%到 2%之间。浓度越高，孔径就越小，这样就做成了分子筛。

DNA 分子的磷酸骨架使其在生理 pH 条件下携带均匀的负电荷。当处于电场中时，DNA 分子会从负极（阴极）向正极（阳极）迁移。不同大小的 DNA 片段在穿越凝胶网状结构时，所受阻力存在差异。较小的 DNA 片段更易通过孔径，迁移速率较快；而较大的 DNA 片段则较难通过，迁移速率较慢。经过一定时间的电泳，DNA 片段会依据其长度（以碱基对数目，bp 表示）在凝胶上实现分离。

像 GelRed 这类核酸染料，能嵌进 DNA 双链碱基对之间，用紫外光或者蓝光去照它的话，就会发出荧光，使原本看不见的 DNA 条带跟着显现出来了。就上样缓冲液来说，它里面有甘油或者蔗糖，能增加样品的密度，让 DNA 样品能稳稳沉到加样孔的底部。除此之外，样品里还带有像溴酚蓝这样的指示剂，用来监控电泳的进程。

DNA Marker 是一种由已知长度的 DNA 片段混合而成的物质，它主要用来做分子量的标定工作。把未知的 DNA 片段和 Marker 里不同大小片段的迁移距离做比较，我们就能画出标准曲线，进而算出未知片段的分子量大小——这个结果还算准确，对后续的研究也有一定帮助。就理想状态来说，Marker 的条带应清晰、锐利，不然会干扰到我们的研究判断。要是条带出现了拖尾或者扩散的情况，那可能是凝胶制备或者电泳条件出了问题。

5.5.2 实验操作

1、制备凝胶：

①熔化:向电泳缓冲液中加入琼脂糖粉末，配制成质量体积比为 0.8%~1.2%的琼脂糖溶液。在微波炉内加热至琼脂糖熔化。稍冷却后，加入适量的核酸染料(DNA 染色剂，如 GelRed)混匀。

②倒模:将温热的琼脂糖溶液迅速倒入模具，并插入合适大小的梳子，以形成加样孔。

③凝固:待凝胶溶液完全凝固，小心拔出梳子，取出凝胶放入电泳槽内。

2、进行电泳。

①加液:将电泳缓冲液加入电泳槽中，电泳缓冲液没过凝胶 1mm 为宜。

②加样:扩增得到的 PCR 产物与凝胶载样缓冲液，即 6xLoadingbuffer(内含指示剂)混合，再用微量移液器将混合液缓慢注入凝胶的加样孔内，留一个加样孔加入指示分子大小的标准参照物(marker)。

③电泳

3、观察分析。取出凝胶置于凝胶电泳仪下观察和拍照留存结果，分析。

5.5.3 实验结果

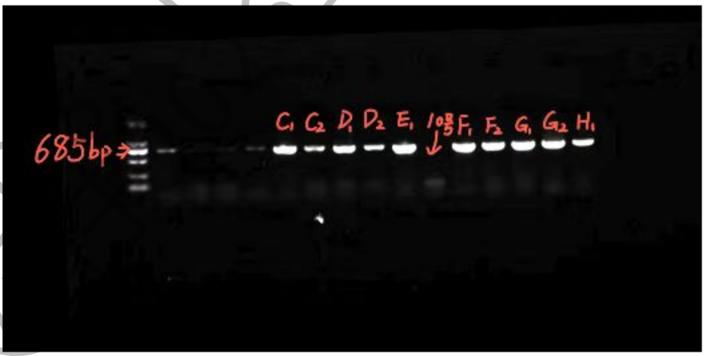

685bp
C_1 C_2 D_1 D_2 E_1 10号 F_1 F_2 G_1 G_2 H_1

图 13 琼脂糖凝胶电泳实验结果

5.6 综合结果（分子生物学湿实验部分）讨论

2020 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于丘成桐中学科学奖论文公示

根据电泳结果显示，DNA 提取实验大部分样品提取成功，存在有小片段的 DNA 污染，可能是由于空气或材料离心管等中的 DNA 短片段或其他杂质造成。此外，存在有部分组别未成功提取 Co1 基因的目标片段，比如前 4 个样品可能由于操作错误而引起。第 10 个样品可能由于操 DNA 提取过程中吸附住意外掉出与外界短时间轻微接触而造成了大量污染，从而导致目标基因片段扩增失败。

基于上述实验结果，将扩增后的 DNA 送公司测序。（样品编号规则为 A1、A2、B1、B2、……G1、G2、H，此编号为后续生物信息学分析全过程中使用编号）

6 生物信息学分析

6.1 序列比对及数据预处理

6.1.1 目的

①确立同源位点，确保后续所有分析基于相同的进化位置。

②识别保守区、可变区及插入/缺失。

②为遗传距离计算和系统发育建树提供基础。

6.1.2 原理

①序列比对：利用样本数据与 NCBI 数据库、BOLD 数据库中已知物种的 Co1 基因序列进行比对，可初步较准确的确定样本的物种分类。

②数据预处理（对齐序列）：基于渐进比对原理（以 MUSCLE、ClustalW 为代表），先进行两两序列的快速比对，确定亲缘关系最近的序列对，然后逐步将更远的序列添加进来，构建一个全局的比对结果。算法通过动态规划方法（如 Needleman-Wunsch 算法）优化一个目标函数（如最大化匹配得分，最小化缺口罚分），以找到使所有序列对齐的最优方案，寻找序列间最大同源性。

6.1.3 软件工具

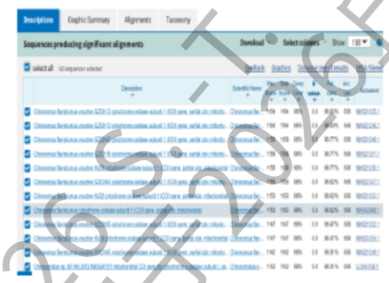
MEGA

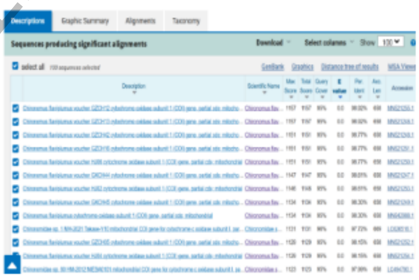
NCBI 数据库

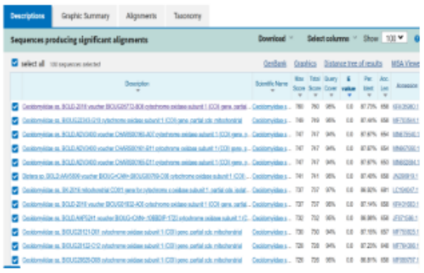
BOLD 数据库

6.1.4 结论与讨论

6.1.4.1 利用公共数据库进行序列比对的物种判断结果







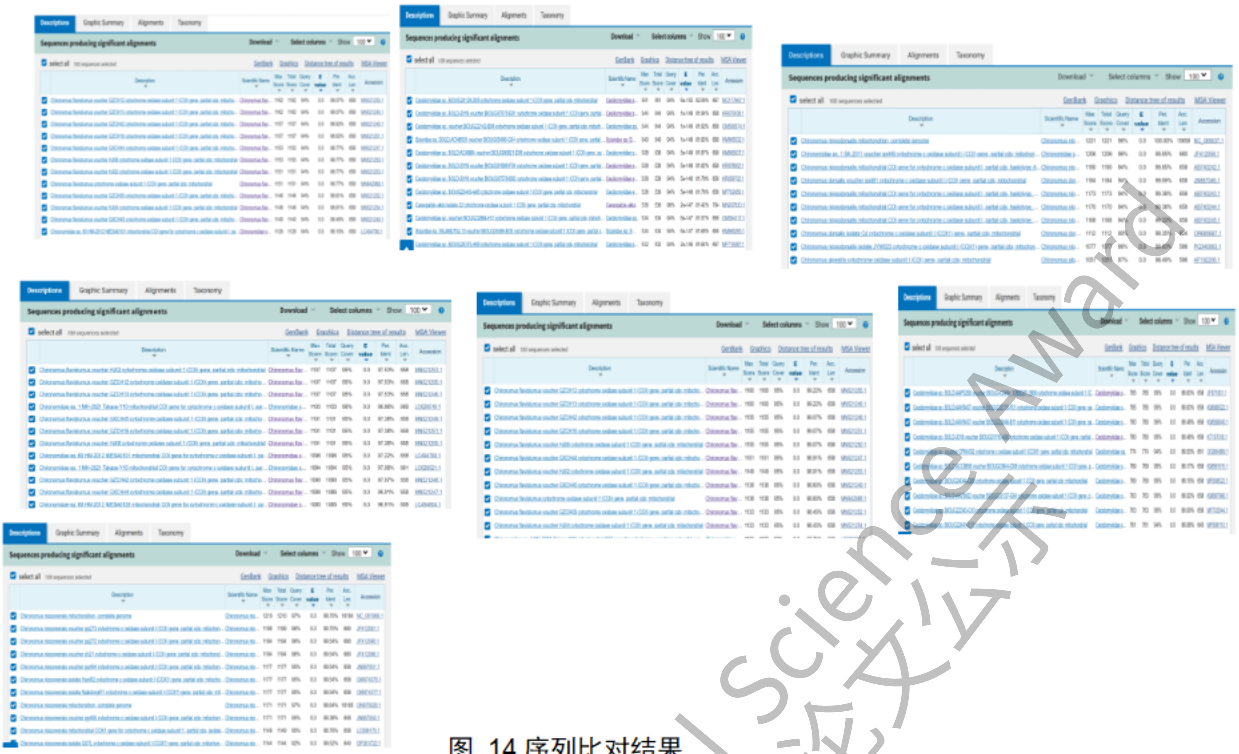


图 14 序列比对结果

通过样品线粒体色素酶 1（CO1）基因测序结果与 BOLD 数据库和 NCBI 数据库的比对结果相似度可判断样品的所属物种。

样品编号	初步物种鉴定
A1	*Chironomus flaviplumus*
C1	*Chironomus flaviplumus*
C2	*Cecidomyiidae sp.*
D1	*Chironomus flaviplumus*
D2	*Chironomus nipponensis*
E2	*Chironomus nippodorsalis* 或 *Chironomus dorsalis*
F1	*Cecidomyiidae sp.*
F2	*Chironomus flaviplumus*
G1	*Cecidomyiidae sp.*
G2	*Chironomus flaviplumus*
H	*Campylomyza furva* 或 *Cecidomyiidae sp.*或 *Sciaridae sp.*

表 3 序列比对物种鉴定结果

由序列比对结果可知，天津地区 *Chironomus flaviplumus* 占整个摇蚊种群比例较大，其中 C2，F1，G1 被判断为缨蚊属 *Cecidomyiidae sp.*，且目前对于该物种研究较少，与其相近序列不多，可能为新的物种。回溯这几个个体的形态学观察分析如图 15，可得确实并不具备摇蚊属的特征，证明了仅形态学观察不足以准确判断个体物种，说明进行 DNA 条形码技术分析是必要的物种鉴别方式。

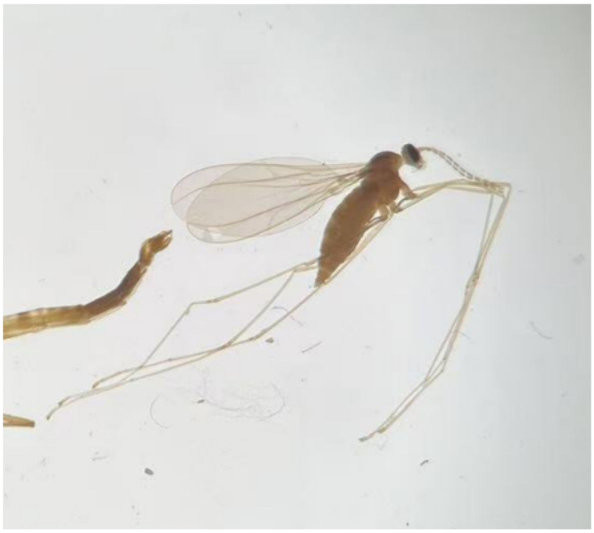
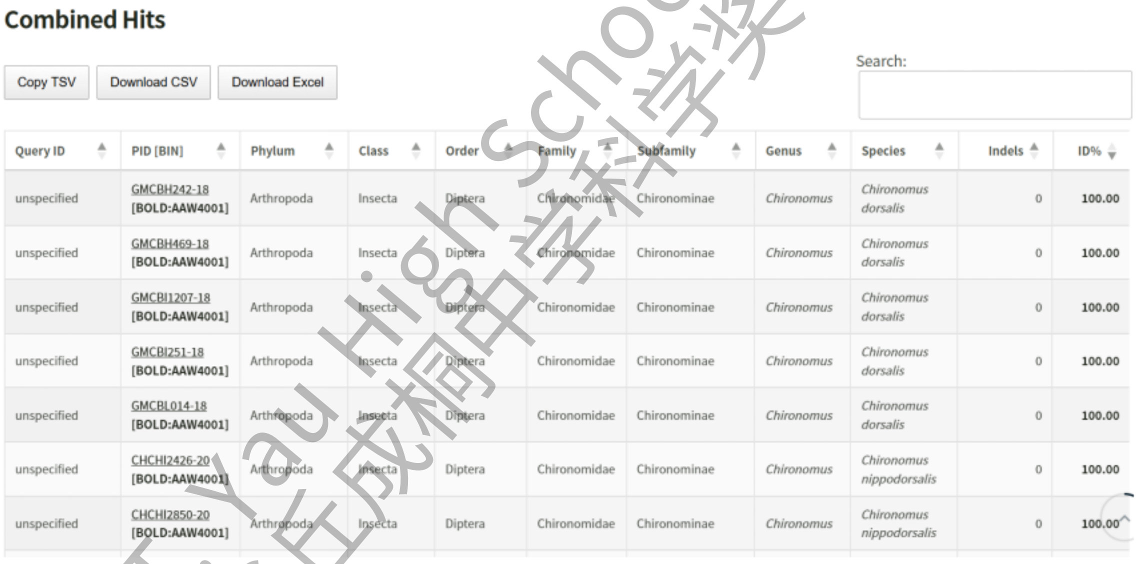


图 15 G1 个体形态学观察

上述物种鉴定依旧为初步的鉴定结果，后续还需要分析遗传距离，构建系统发育树等方式去判断物种鉴定结果是否正确、其种内的遗传关系怎样。

6.1.4.2 特殊情况讨论（同种异名）



Combined Hits

Query ID	PID [BIN]	Phylum	Class	Order	Family	Subfamily	Genus	Species	Indels	ID%
unspecified	GMCBH242-18 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus dorsalis*	0	100.00
unspecified	GMCBH469-18 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus dorsalis*	0	100.00
unspecified	GMCBI1207-18 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus dorsalis*	0	100.00
unspecified	GMCBI251-18 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus dorsalis*	0	100.00
unspecified	GMCBL014-18 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus dorsalis*	0	100.00
unspecified	CHCHI2426-20 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus nippodorsalis*	0	100.00
unspecified	CHCHI2850-20 [BOLD:AAW4001]	Arthropoda	Insecta	Diptera	Chironomidae	Chironominae	*Chironomus*	*Chironomus nippodorsalis*	0	100.00

图 16 E2 于 BOLD 数据库中比对结果

在 E2 号样本于 BOLD 数据库中比对时，我们发现该序列与两个不同物种的序列相似度都达到了 100%，最后综合多方文献调查，我们仅在一篇文献中看到了有关于 *Chironomus nippodorsalis* 的描述，其余无论是从形态学观察角度，还是 DNA 条形码技术应用等角度进行的物种鉴定分析，都指向了 *Chironomus dorsalis*。所以我们认为应该是这一物种被不同作者于不同时间命名为两个不同物种名，也就是同种异名情况出现。并且我们发现 *Chironomus dorsalis* 的种名确定时间要远早于 *Chironomus nippodorsalis*，且直接观察两个物种名的不同，可以发现后面有日本学者命名的 *Chironomus nippodorsalis* 比之前命名的学名 *Chironomus dorsalis* 多了一个 nippo 的前缀，通过查找资料，该前缀含有“日本的”意思。疑似该学者认为 *Chironomus dorsalis* 中含有隐存种，故新命名了一个物种为 *Chironomus nippodorsalis*，可能由于该分类学划分本身错误，或者是数据库中上传的数据对于物种判断不到位，从而错误的登记了物种名称，

造成了两个序列比对结果均为100%的情况出现。

最后，结合形态学方面的文献研究，和对于两个物种名称所含个体特点及 Co1 基因序列的具体报道，我们认为样本 E2 应属于 *Chironomus dorsalis*，其中文名为背摇蚊。

6. 1. 4. 3 测序结果数据预处理（对齐）

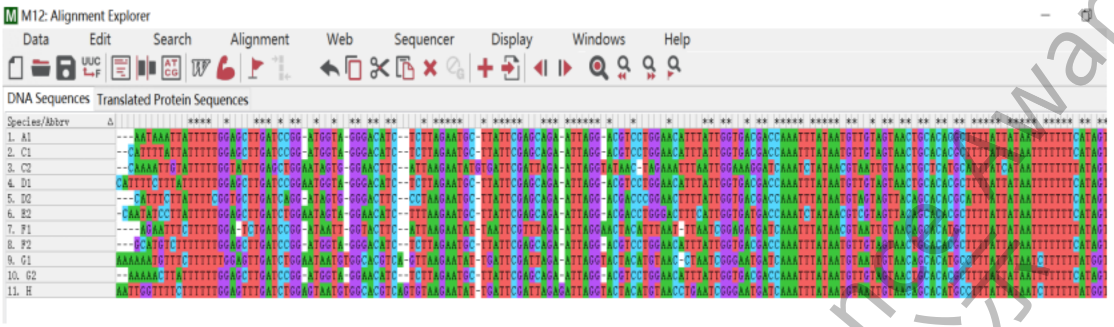


图 17 实验测序结果数据预处理

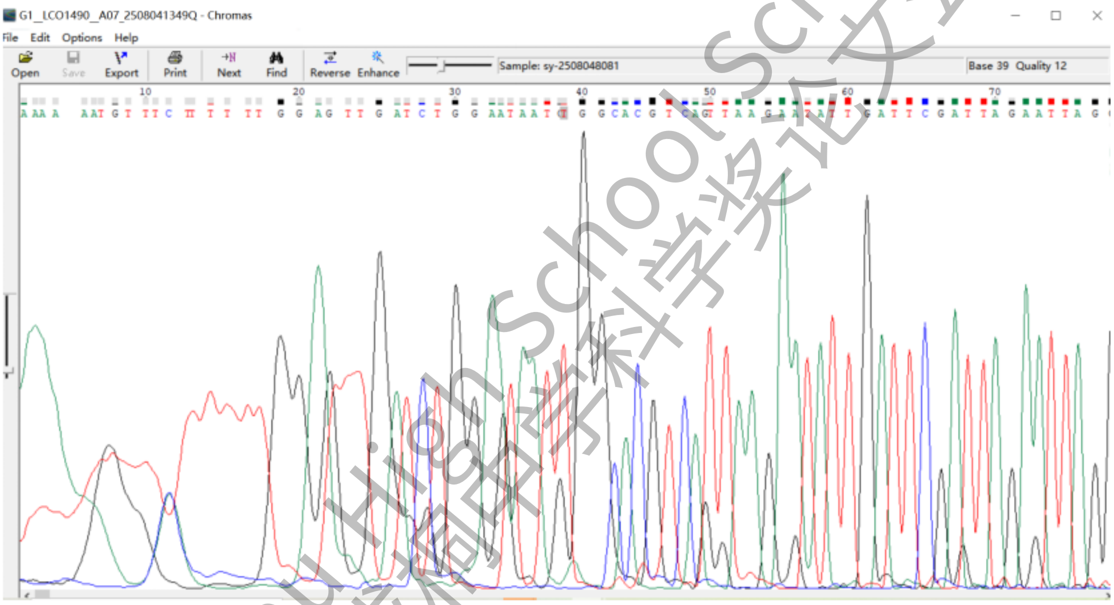
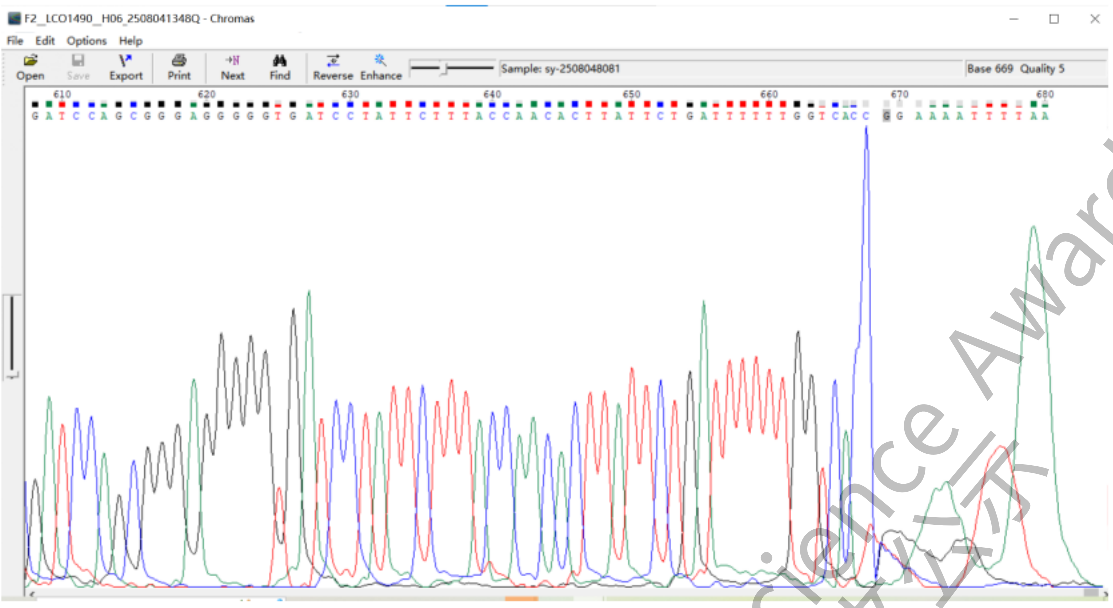


图 18 G1 测序色谱图

数据对齐后可发现，存在有部分序列检测出的结果有缺失增添现象，对于非常明显差异位点，我们对比了色谱图中测序结果的质量相对值。现以 G1 序列为例，如图 26，其第 48 号位点的测序相对质量为 28，第 49 号位点的测序相对质量仅为 10，第 50 号位点相对质量仅为 15，并且这三个位点的碱基与其他样本序列表现出了明显差异性，由于质量非常低，我们不认为其具备支持突变的能力，所以在对齐数据时我们将这三个位点删除，以免影响后续遗传距离的计算。而对于出现测序质量低的情况的解释可能为样品不纯，存在大量杂质污染干扰，导致测序结果不准，存在许多小杂峰使整体的质量均偏低。

序列对齐时我们把质量低于 35 的数据均视为测序质量存在问题，我们通过色谱图的峰形判断该位置碱基正确的可能或直接标记为 N 计为未知碱基。

由于所有测序结果的前几个位点的质量均较低，测序结束时的信噪比也较低，后面进行分析时我们也将其删除。


F2_LCO1490_H06_2508041348Q - Chromas

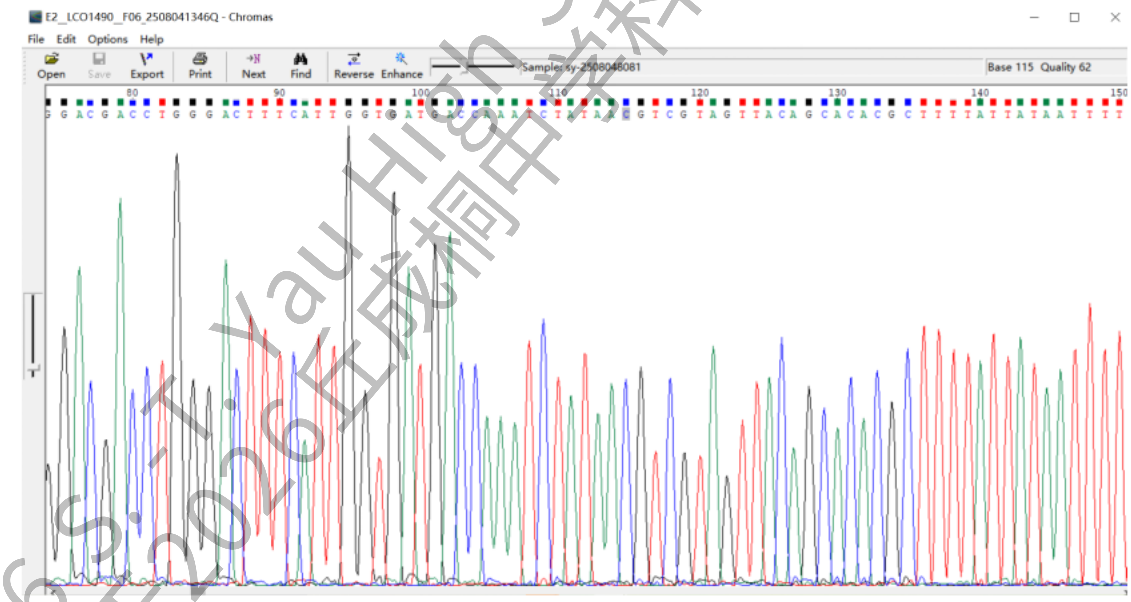
Sample: sy-2508048081

Base 669 Quality 5

G A T C C A G C G G G A G G G G T G A T C C T A T T C T T T A C C A A C A C T T A T T C T G A T T T T T T G G T C A C C G G A A A A T T T T A A

图 19 F2 测序色谱图

同时，我们发现了整条序列质量非常高的样品数据，E2 样品的测序结果几乎没有任何杂峰，基线平整干净，峰形单一尖锐且对称，峰间距均匀，如图 28。说明这个样品的 DNA 提取实验和 PCR 扩增实验的全过程操作都非常严谨，几乎不存在受污染情况，DNA 纯度较高。所以当这个样品的第 115 号位点出现了与其他序列明显的不同时，且这个位点的质量相对值为 62 且周围没有出现任何杂峰，判断应该为一个有效的突变位点。


E2_LCO1490_F06_2508041346Q - Chromas

Sample: sy-2508048081

Base 115 Quality 62

G G A C G A C C T G G G A C T T T C A T T G G T G A T G A C C A A A C T A T A A C G T C G T A G T T A C A G C A C A C G C T T T T A T T A T A A T T T T

图 20 E2 测序色谱图

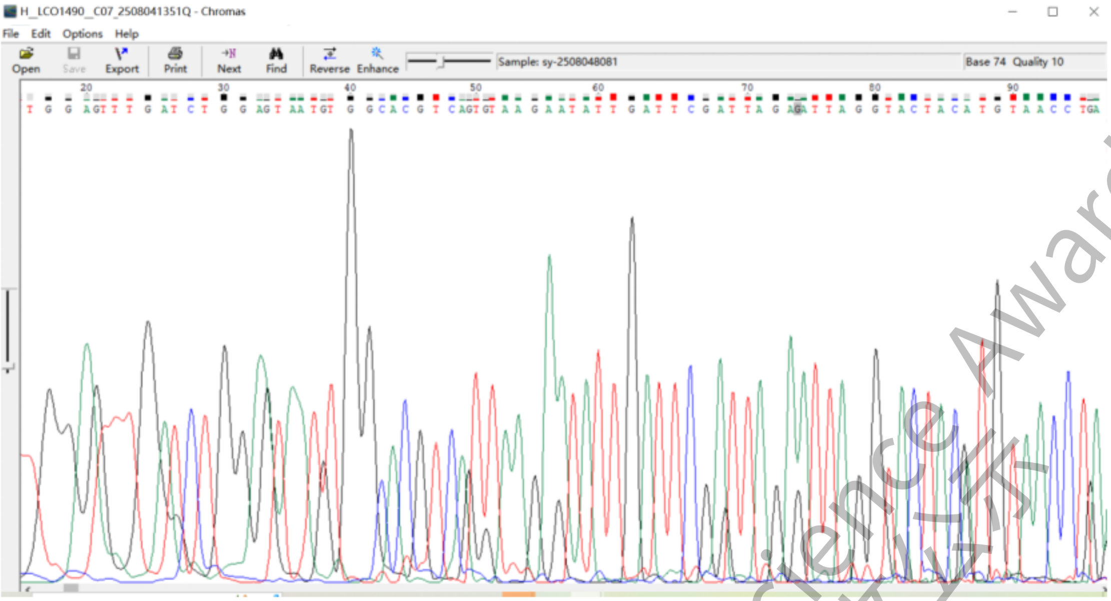


图 21 H 测序色谱图

同时，对于 H 样本个体的 49 到 51 号位点和 73 到 75 位点，质量均非常低，如图 29，而在其第 74 号位点时，出现了一个与其他序列明显多余的碱基 G，通过观测色谱图的峰形情况，我们判断为在 74 号位点多检测出了一个碱基，其对应的较低的峰应为杂质，不应该计入真实序列中，于是将其删除，避免其影响后续遗传距离计算和系统发育树构建。

6.1.4.4 结合公共数据库数据分析

为了探索全球化的摇蚊属物种分布情况及适应性进化情况，我们从公共数据库中下载了一些不同种的摇蚊 CO1 序列。重复之前数据处理操作。

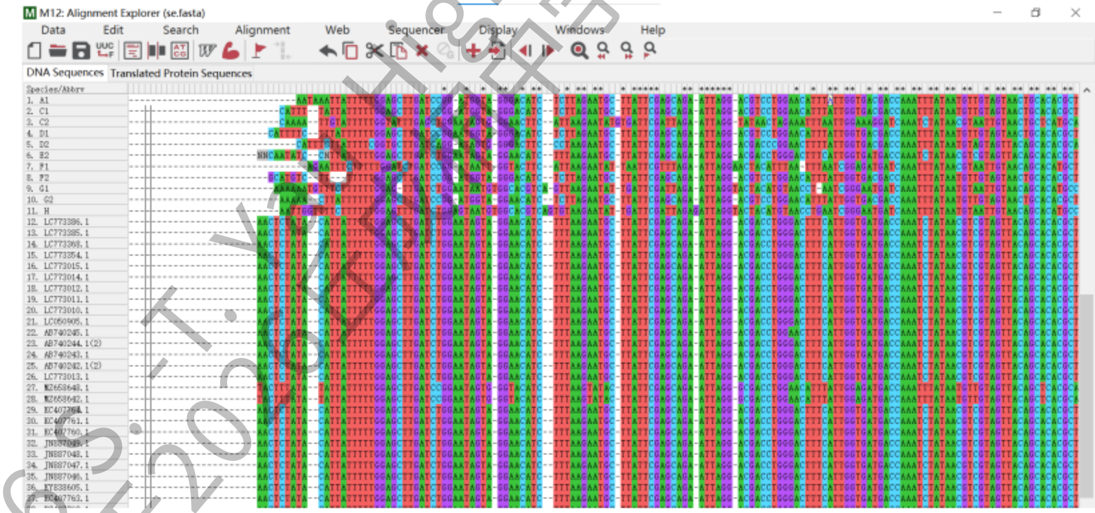


图 22 结合公共数据库数据比对

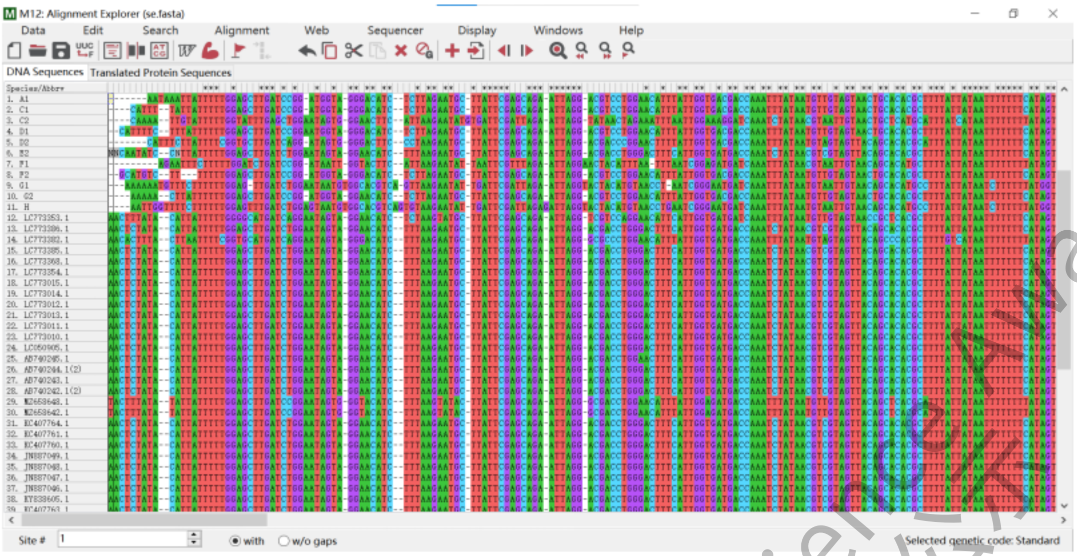


图 23 结合公共数据库数据比对

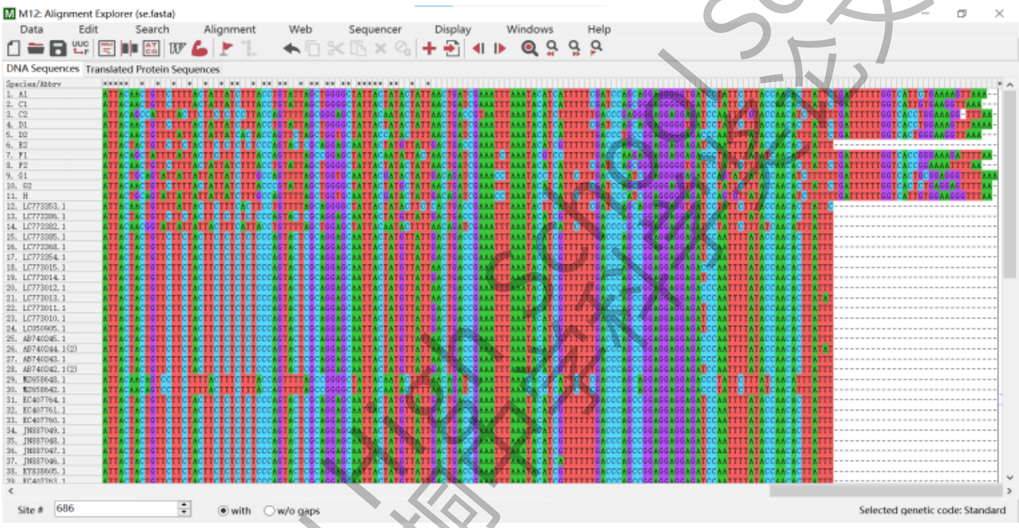


图 24 结合公共数据库数据比对

最终，我们获得了655个有效碱基位点的对齐后数据。该数据量足够进行后续分析。

6.2 遗传距离计算分析

6.2.1 目的

①量化两两序列之间的遗传差异程度。

②为物种界定、群体遗传分析提供数值依据。

③构建距离矩阵，用于构建邻接树或热图可视化。

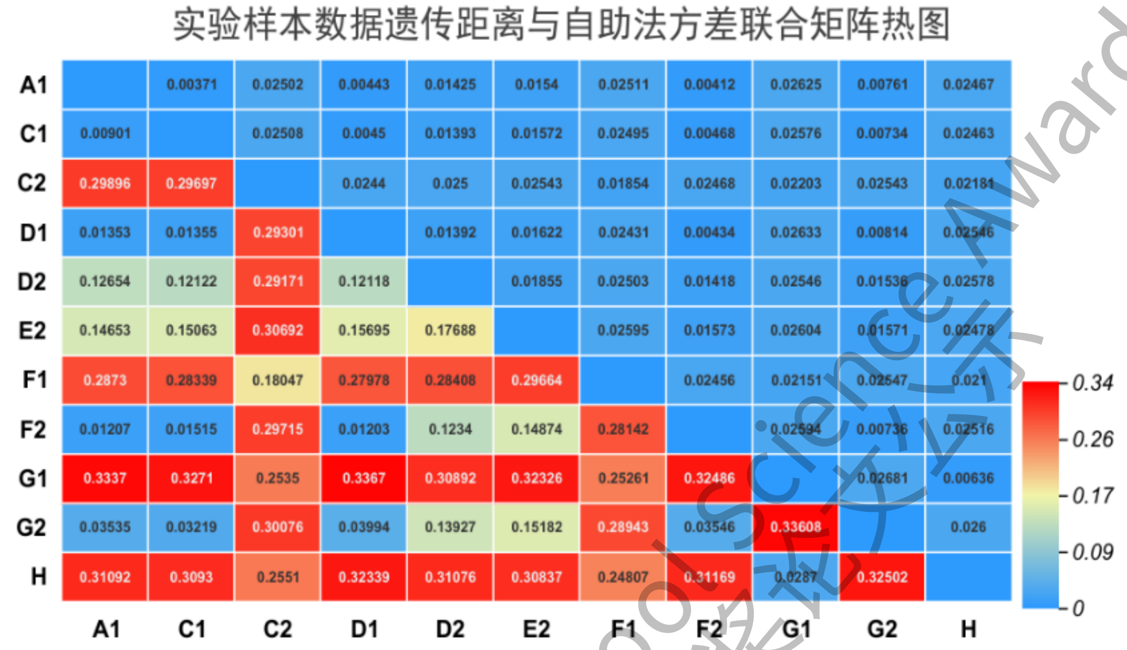
6.2.2 原理

最为简便的方法是计算 p-距离，此距离为差异位点数与总比对位点数的比值。然而，该方法未考量同一位点的多次突变情况，会致使对真实距离的估计偏低。鉴于此，需采用核苷酸替代模型予以校正。例如，Kimura 2-parameter 模型将突变划分为转换和颠换，并假定转换速率为颠换速率的两倍，进而能够给出更为精准的进化距离估计。其公式为：$d=-1/2\ \ln(1-2P-Q)\ -1/4\ \ln(1-2Q)$，其中 P 和 Q 分别代表转换和颠换的比例。

6.2.3 软件工具

MEGA

6.2.4 结论与讨论



	A1	C1	C2	D1	D2	E2	F1	F2	G1	G2	H
A1		0.00371	0.02502	0.00443	0.01425	0.0154	0.02511	0.00412	0.02625	0.00761	0.02467
C1	0.00901		0.02508	0.0045	0.01393	0.01572	0.02495	0.00468	0.02576	0.00734	0.02463
C2	0.29896	0.29697		0.0244	0.025	0.02543	0.01854	0.02468	0.02203	0.02543	0.02181
D1	0.01353	0.01355	0.29301		0.01392	0.01622	0.02431	0.00434	0.02633	0.00814	0.02546
D2	0.12654	0.12122	0.29171	0.12118		0.01855	0.02503	0.01418	0.02546	0.01536	0.02578
E2	0.14653	0.15063	0.30692	0.15695	0.17688		0.02595	0.01573	0.02604	0.01571	0.02478
F1	0.2873	0.28339	0.18047	0.27978	0.28408	0.29664		0.02456	0.02151	0.02547	0.021
F2	0.01207	0.01515	0.29715	0.01203	0.1234	0.14874	0.28142		0.02594	0.00736	0.02516
G1	0.3337	0.3271	0.2535	0.3367	0.30892	0.32326	0.25261	0.32486		0.02681	0.00636
G2	0.03535	0.03219	0.30076	0.03994	0.13927	0.15182	0.28943	0.03546	0.33608		0.026
H	0.31092	0.3093	0.2551	0.32339	0.31076	0.30837	0.24807	0.31169	0.0287	0.32502	

图 25 实验样本数据遗传距离矩阵热图

图注：该矩阵图的下三角部分（左下） 显示了基于 Kimura 2-parameter 模型计算的成对遗传距离，通过颜色梯度表示（蓝色表示距离小，红色表示距离大）。该矩阵图的上三角部分（右上） 显示了通过 1000 次自助法（Bootstrap method）重抽样得到的相应遗传距离值的方差，通过独立颜色梯度表示（例如，浅色表示方差小，深色表示方差大）。对角线（从左上到右下）为样本与自身的比较，距离恒为零。

通过计算遗传距离，和绘制热图使其可视化，颜色越红其遗传距离越大，根据热图显示，其对角线右上侧方差均为蓝色，可知所有遗传距离的计算都是可靠的。通过对于对角线左下侧进行分析可知，C2，F1，G1，H 样本可能为一个单独的种群分类，其遗传距离与其他样本个体差距过大。我们认为遗传距离大于 0.2 可以判断两个个体间不属于同一物种。通过遗传距离判断的个体间关系与数据库中序列比对结果大体一致。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

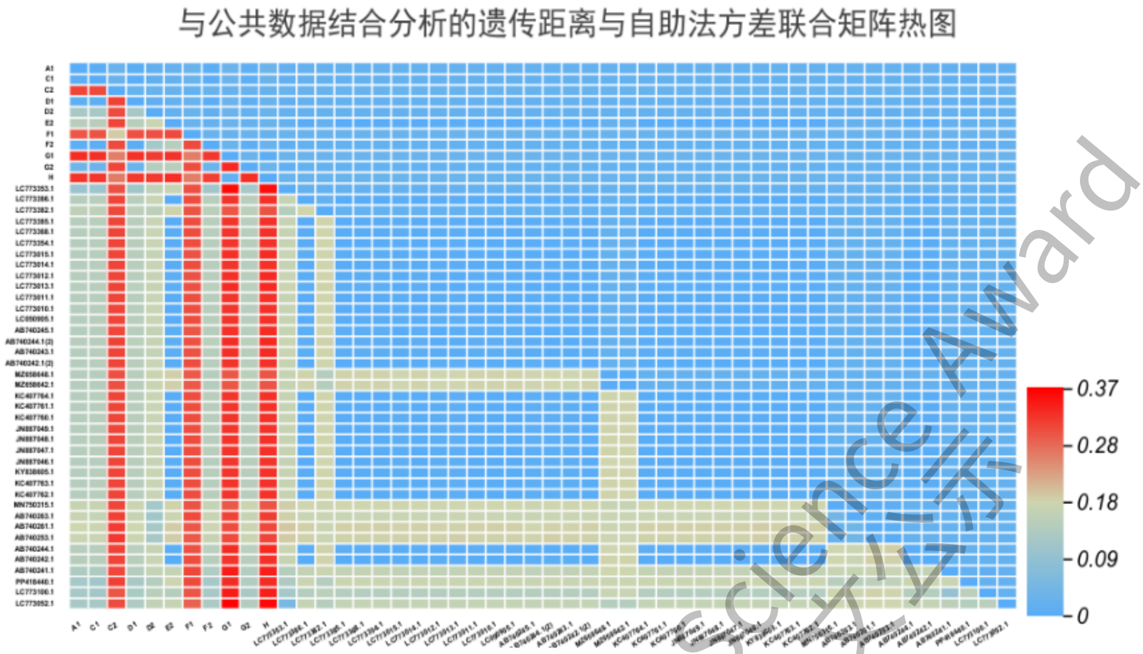


图 26 与公共数据结合分析的遗传距离矩阵热图

图注：该矩阵图的下三角部分（左下） 显示了基于 Kimura 2-parameter 模型计算的成对遗传距离，通过颜色梯度表示（蓝色表示距离小，红色表示距离大）。该矩阵图的上三角部分（右上） 显示了通过 1000 次自助法（Bootstrap method）重抽样得到的相应遗传距离值的方差，通过独立颜色梯度表示（例如，浅色表示方差小，深色表示方差大）。对角线（从左上到右下）为样本与自身的比较，距离恒为零。

与公共数据结合后各个体之间的遗传距离距离如图，对于实验样品的分析与之前分析结果一致。可以说明新引入的公共数据库中的个体种类较为丰富。

6.3 系统发育树的构建

6.3.1 目的

①推断物种或基因间的进化关系与历史。
②可视化并检验分类单元的单系性。
③为物种界定和适应性进化分析提供进化框架。

6.3.2 原理

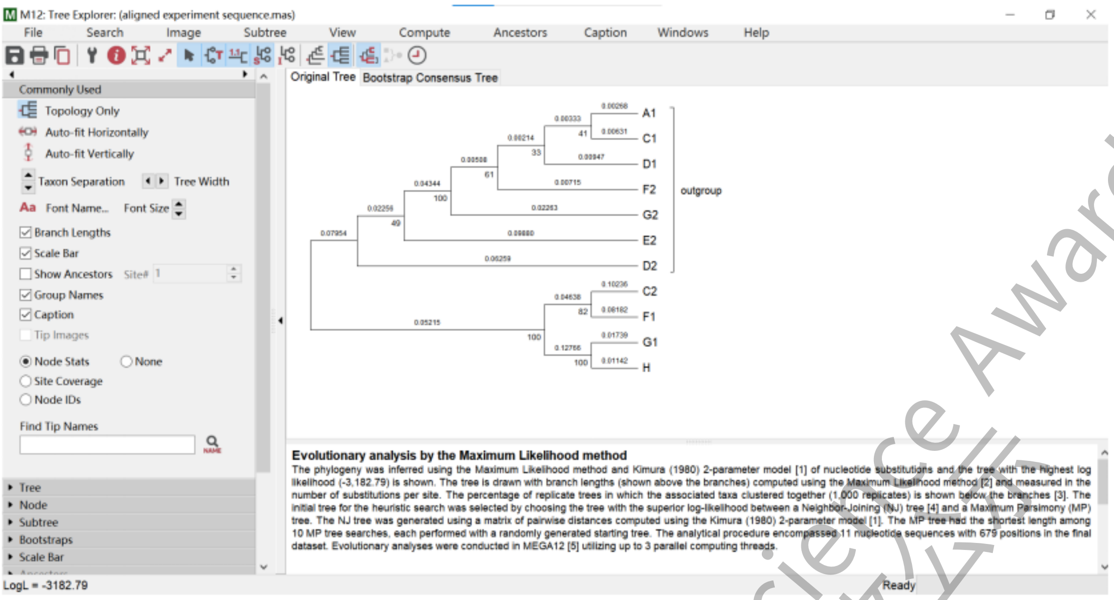
最大似然法：在给定的核苷酸替代模型下，寻找一棵能够以最高概率（似然值） 产生观测到的序列数据的系统发育树。该方法全面考量了所有位点的信息，是当下最为稳健且应用最为广泛的基于序列特征的方法。

贝叶斯推断法：借助马尔可夫链蒙特卡洛模拟，对系统发育树的后验概率予以估算。此方法融合了先验知识（例如模型、树先验）与序列数据，其结果直接呈现出某棵树为真的概率以及分支时间的估算值。

6.3.3 软件工具

MEGA；IQ-TREE；BEAST2

6.3.4 结论与讨论



Evolutionary analysis by the Maximum Likelihood method

The phylogeny was inferred using the Maximum Likelihood method and Kimura (1980) 2-parameter model [1] of nucleotide substitutions and the tree with the highest log likelihood (-3,182.79) is shown. The tree is drawn with branch lengths (shown above the branches) computed using the Maximum Likelihood method [2] and measured in the number of substitutions per site. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together (1,000 replicates) is shown below the branches [3]. The initial tree for the heuristic search was selected by choosing the tree with the superior log-likelihood between a Neighbor-Joining (NJ) tree [4] and a Maximum Parsimony (MP) tree. The NJ tree was generated using a matrix of pairwise distances computed using the Kimura (1980) 2-parameter model [1]. The MP tree had the shortest length among 10 MP tree searches, each performed with a randomly generated starting tree. The analytical procedure encompassed 11 nucleotide sequences with 679 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA12 [5] utilizing up to 3 parallel computing threads.

图 27 实验样本系统发育树

通过建立系统发育树，可以发现实验样品种类间的进化关系，并且整棵树的支持率较高，分支较可靠。

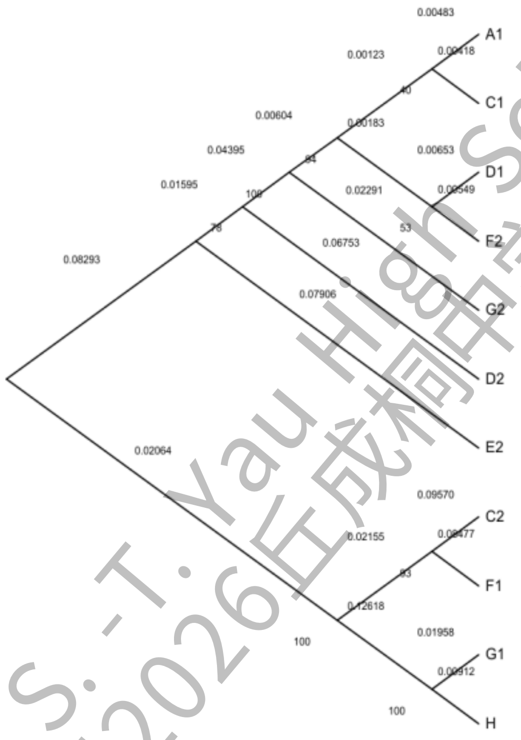


图 28 实验样本系统发育树

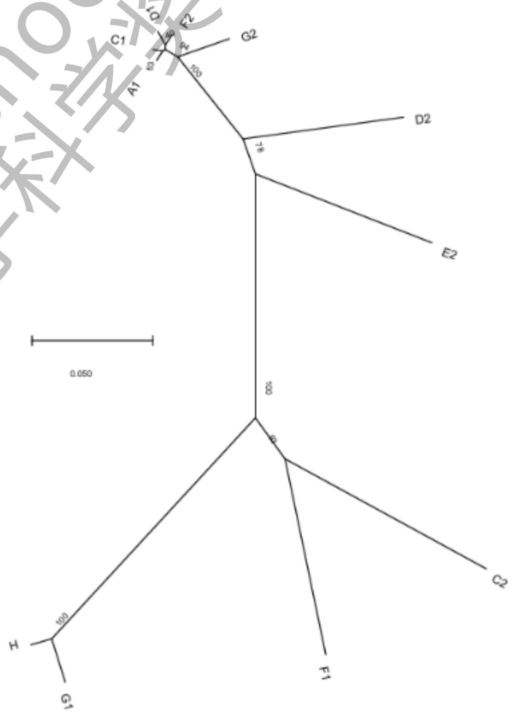
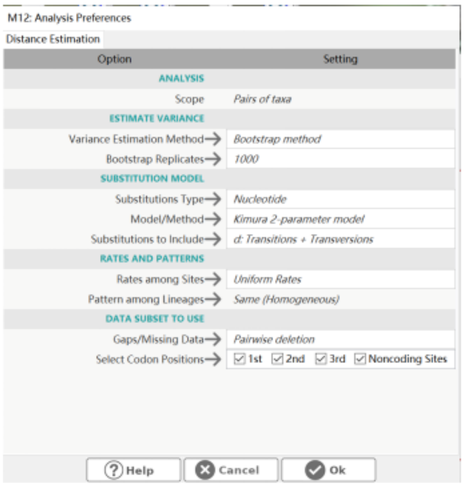


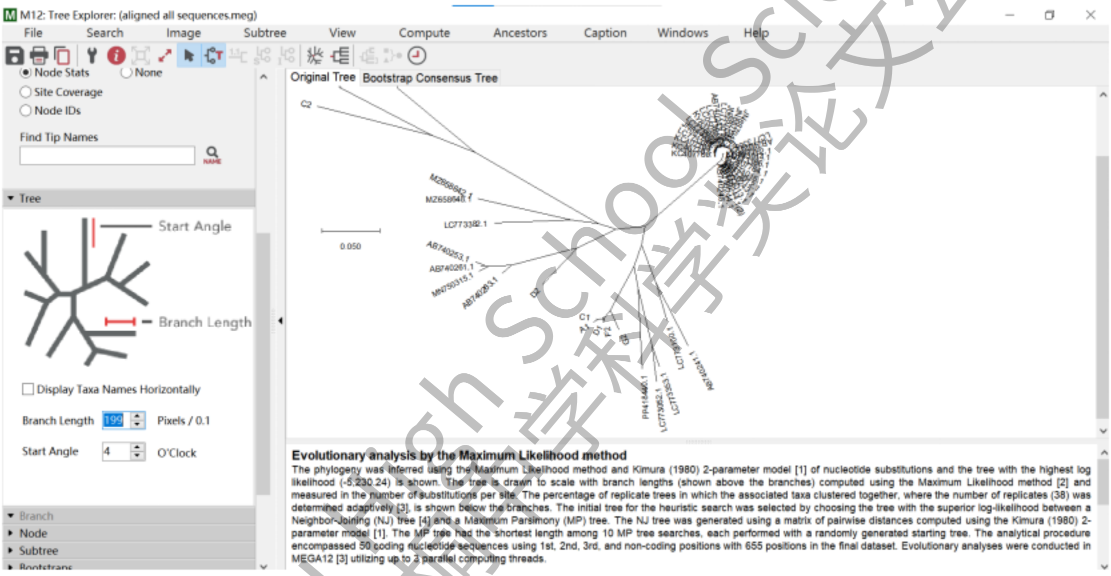
图 29 实验样本系统发育树

引入公共数据库数据：



Option	Setting
ANALYSIS	
Scope	Pairs of taxa
ESTIMATE VARIANCE	
Variance Estimation Method	Bootstrap method
Bootstrap Replicates	1000
SUBSTITUTION MODEL	
Substitutions Type	Nucleotide
Model/Method	Kimura 2-parameter model
Substitutions to Include	d: Transitions + Transversions
RATES AND PATTERNS	
Rates among Sites	Uniform Rates
Pattern among Lineages	Same (Homogeneous)
DATA SUBSET TO USE	
Gaps/Missing Data	Pairwise deletion
Select Codon Positions	☑ 1st ☑ 2nd ☑ 3rd ☑ Noncoding Sites

图 30 系统发育树构建模型



● Node Stats ○ None

☐ Display Taxa Names Horizontally

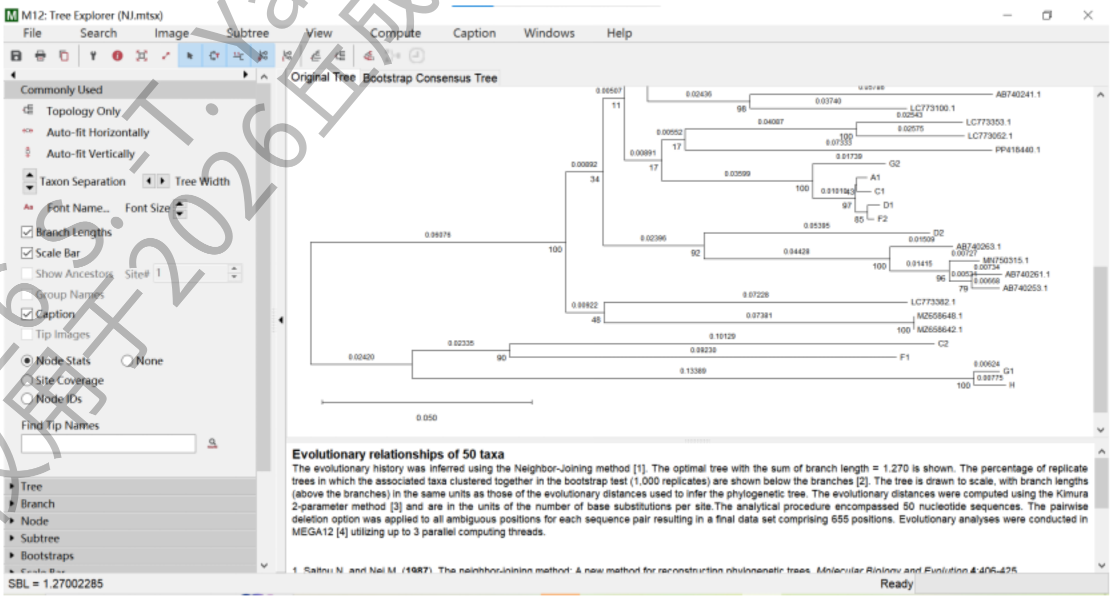
Branch Length 199 Pixels / 0.1

Start Angle 4 O'Clock

Evolutionary analysis by the Maximum Likelihood method

The phylogeny was inferred using the Maximum Likelihood method and Kimura (1980) 2-parameter model [1] of nucleotide substitutions and the tree with the highest log likelihood (-5,230.24) is shown. The tree is drawn to scale with branch lengths (shown above the branches) computed using the Maximum Likelihood method [2] and measured in the number of substitutions per site. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together, where the number of replicates (38) was determined adaptively [3], is shown below the branches. The initial tree for the heuristic search was selected by choosing the tree with the superior log-likelihood between a Neighbor-Joining (NJ) tree [4] and a Maximum Parsimony (MP) tree. The NJ tree was generated using a matrix of pairwise distances computed using the Kimura (1980) 2-parameter model [1]. The MP tree had the shortest length among 10 MP tree searches, each performed with a randomly generated starting tree. The analytical procedure encompassed 50 coding nucleotide sequences using 1st, 2nd, 3rd, and non-coding positions with 655 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA12 [3] utilizing up to 3 parallel computing threads.

图 31 与公共数据结合的系统发育树（ML 法）



☑ Branch Lengths
☑ Scale Bar
☑ Caption
● Node Stats ○ None

Evolutionary relationships of 50 taxa

The evolutionary history was inferred using the Neighbor-Joining method [1]. The optimal tree with the sum of branch length = 1.270 is shown. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1,000 replicates) are shown below the branches [2]. The tree is drawn to scale, with branch lengths (above the branches) in the same units as those of the evolutionary distances used to infer the phylogenetic tree. The evolutionary distances were computed using the Kimura 2-parameter method [3] and are in the units of the number of base substitutions per site.The analytical procedure encompassed 50 nucleotide sequences. The pairwise deletion option was applied to all ambiguous positions for each sequence pair resulting in a final data set comprising 655 positions. Evolutionary analyses were conducted in MEGA12 [4] utilizing up to 3 parallel computing threads.

1. Saitou N. and Nei M. (**1987**). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**:406-425.

SBL = 1.27002285

2026.T. Yali High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖论文公示

图 32 与公共数据结合的系统发育树（NJ 法）

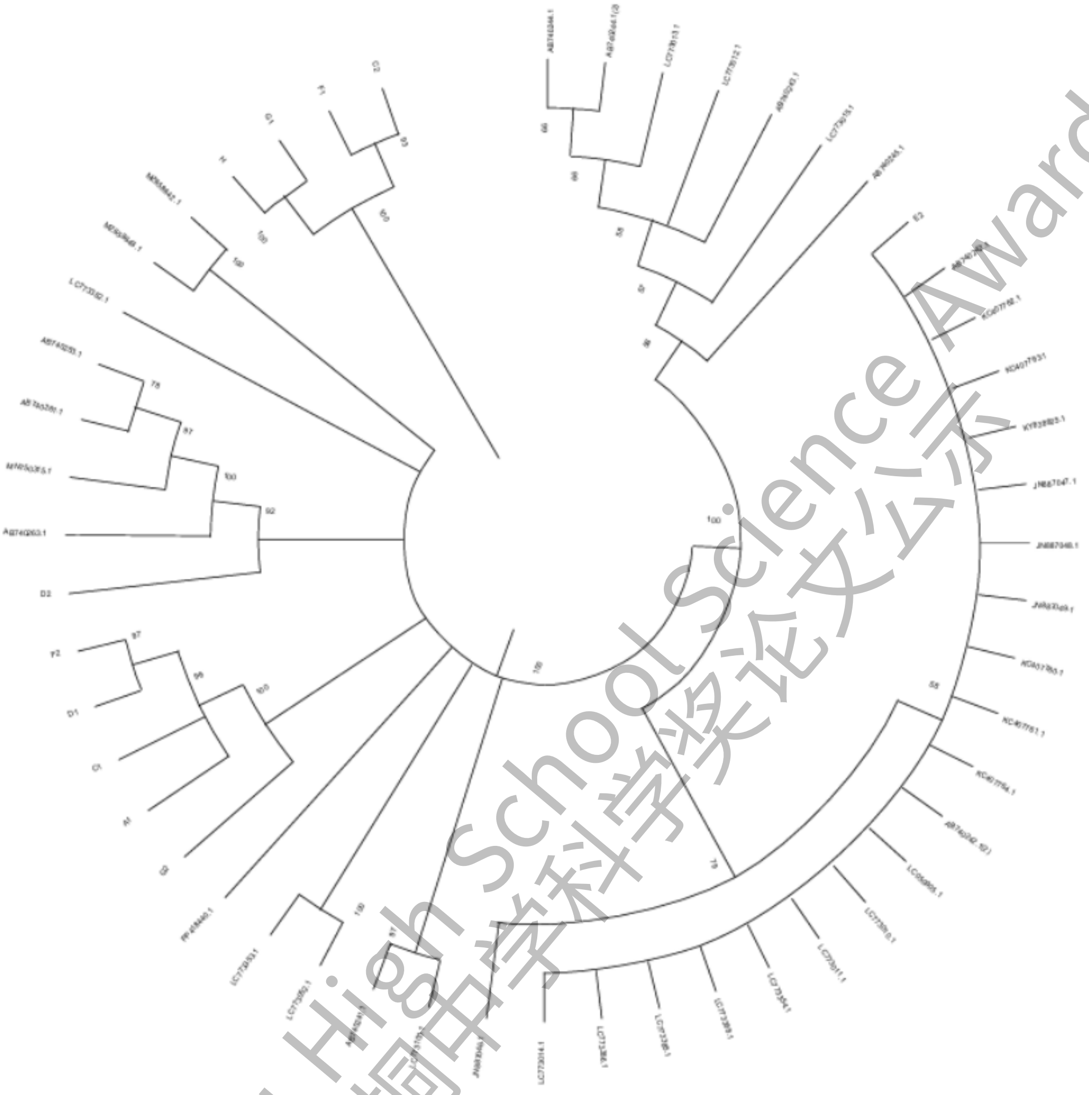


图 33 与公共数据结合的系统发育树

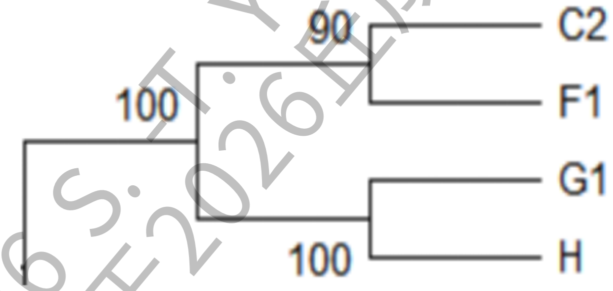


图 34 系统发育树部分分支

通过建立系统发育树将已知物种的序列加入后，可以更好的去判断实验样本的物种分类和进化关系，在这里 A1、C1、D1、F2 可能为一个单系群，后续将以这几个个体作为数据去进行单倍型多样性与核苷酸多样性分析。

6.4 单倍型多样性与核苷酸多样性分析

6.4.1 目的

①评估群体内部的遗传变异丰富度。

②推断群体的历史动态（如扩张、瓶颈）。

③反映群体的进化潜力和健康状态。

6.4.2 原理

单倍型多样性（Hd）：用于度量群体中随机选取的两个个体具有不同单倍型的概率。其计算公式以单倍型频率为基础，取值区间为 0 至 1。该数值越高，表明群体的单倍型多样性越丰富。计算公式：

$$H = 1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2$$

其中，p_i^2 表示第 i 个单倍型的频率，k 为单倍型总数。

核苷酸多样性（π）：用于衡量群体中随机抽取的两条序列在每个位点上的平均核苷酸差异数量。此指标同时考量了变异位点的数量与频率。其计算公式为：

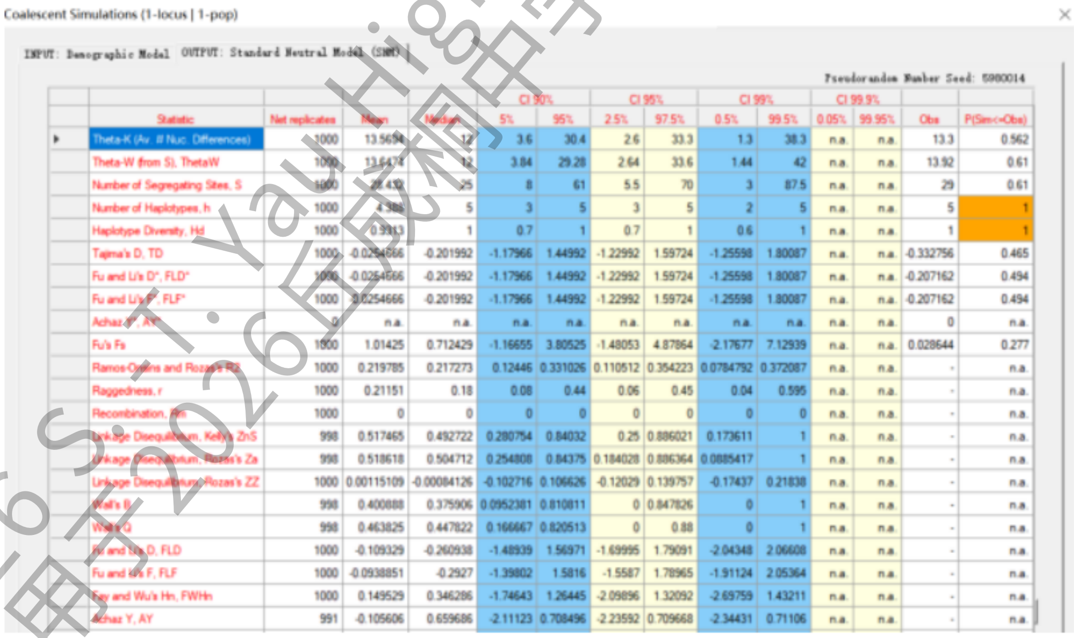
$$\pi = \frac{1}{C_n^2 \times L} \sum_{1 \le i < j \le n} x_{ij}$$

其中，设群体中有 n 条同源 DNA 序列，每条序列长度为 L，x_{ij} 表示第 i 条序列与第 j 条序列之间不同核苷酸（位点）的数量。成对序列的总数为组合数 C_n^2

6.4.3 软件工具

DnaSP

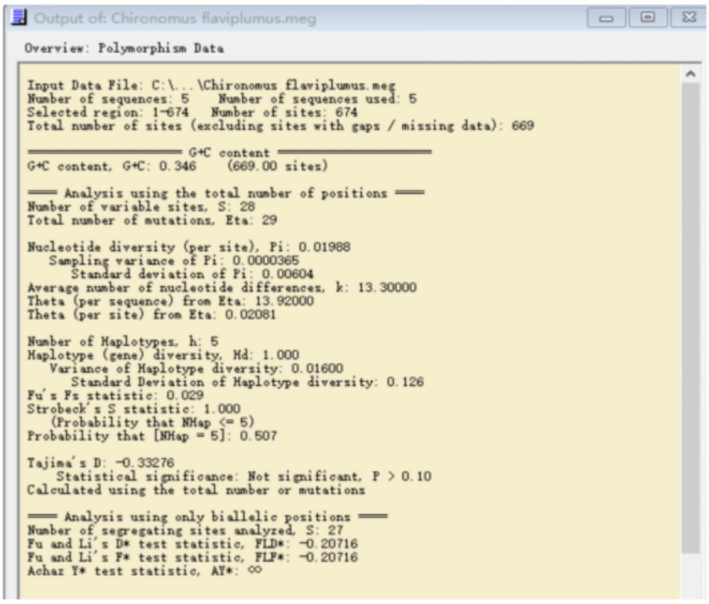
6.4.4 结论与讨论


Coalescent Simulations (1-locus | 1-pop)
INPUT: Demographic Model
OUTPUT: Standard Neutral Model (SNM)

Pseudorandom Number Seed: 5900014

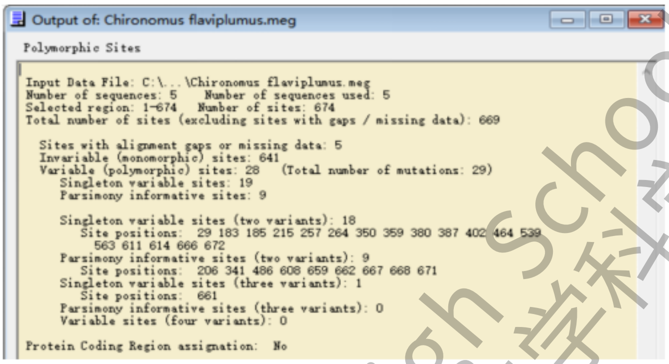
					CI 90%		CI 95%		CI 99%		CI 99.9%			
	Statistic	Net replicates	Mean	Median	5%	95%	2.5%	97.5%	0.5%	99.5%	0.05%	99.95%	Obs	P(Sim<=Obs)
▸	Theta-K (Av. # Nuc. Differences)	1000	13.5694	12	3.6	30.4	2.6	33.3	1.3	38.3	n.a.	n.a.	13.3	0.562
	Theta-W (from S), ThetaW	1000	13.6474	12	3.84	29.28	2.64	33.6	1.44	42	n.a.	n.a.	13.92	0.61
	Number of Segregating Sites, S	1000	28.432	25	8	61	5.5	70	3	87.5	n.a.	n.a.	29	0.61
	Number of Haplotypes, h	1000	4.388	5	3	5	3	5	2	5	n.a.	n.a.	5	1
	Haplotype Diversity, Hd	1000	0.9313	1	0.7	1	0.7	1	0.6	1	n.a.	n.a.	1	1
	Tajima's D, TD	1000	-0.0254666	-0.201992	-1.17966	1.44992	-1.22992	1.59724	-1.25598	1.80087	n.a.	n.a.	-0.332756	0.465
	Fu and Li's D*, FLD*	1000	-0.0254666	-0.201992	-1.17966	1.44992	-1.22992	1.59724	-1.25598	1.80087	n.a.	n.a.	-0.207162	0.494
	Fu and Li's F*, FLF*	1000	-0.0254666	-0.201992	-1.17966	1.44992	-1.22992	1.59724	-1.25598	1.80087	n.a.	n.a.	-0.207162	0.494
	Achaz Y*, AY*	0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0	n.a.
	Fu's Fs	1000	1.01425	0.712429	-1.16655	3.80525	-1.48053	4.87864	-2.17677	7.12939	n.a.	n.a.	0.028644	0.277
	Ramos-Onsins and Rozas's R2	1000	0.219785	0.217273	0.12446	0.331026	0.110512	0.354223	0.0784792	0.372087	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Raggedness, r	1000	0.21151	0.18	0.08	0.44	0.06	0.45	0.04	0.595	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Recombination, Rm	1000	0	0	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Linkage Disequilibrium, Kelly's ZnS	998	0.517465	0.492722	0.280754	0.84032	0.25	0.886021	0.173611	1	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Linkage Disequilibrium, Rozas's Za	998	0.518618	0.504712	0.254808	0.84375	0.184028	0.886364	0.0885417	1	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Linkage Disequilibrium, Rozas's ZZ	1000	0.00115109	-0.00084126	-0.102716	0.106626	-0.12029	0.139757	-0.17437	0.21838	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Wall's B	998	0.400888	0.375906	0.0952381	0.810811	0	0.847826	0	1	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Wall's Q	998	0.463825	0.447822	0.166667	0.820513	0	0.88	0	1	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Fu and Li's D, FLD	1000	-0.109329	-0.260938	-1.48939	1.56971	-1.69995	1.79091	-2.04348	2.06608	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Fu and Li's F, FLF	1000	-0.0938851	-0.2927	-1.39802	1.5816	-1.5587	1.78965	-1.91124	2.05364	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Fay and Wu's Hn, FWHn	1000	0.149529	0.346286	-1.74643	1.26445	-2.09896	1.32092	-2.69759	1.43211	n.a.	n.a.	-	n.a.
	Achaz Y, AY	991	-0.105606	0.659686	-2.11123	0.708496	-2.23592	0.709668	-2.34431	0.71106	n.a.	n.a.	-	n.a.

图 35 单倍型多样性与核苷酸多样性分析



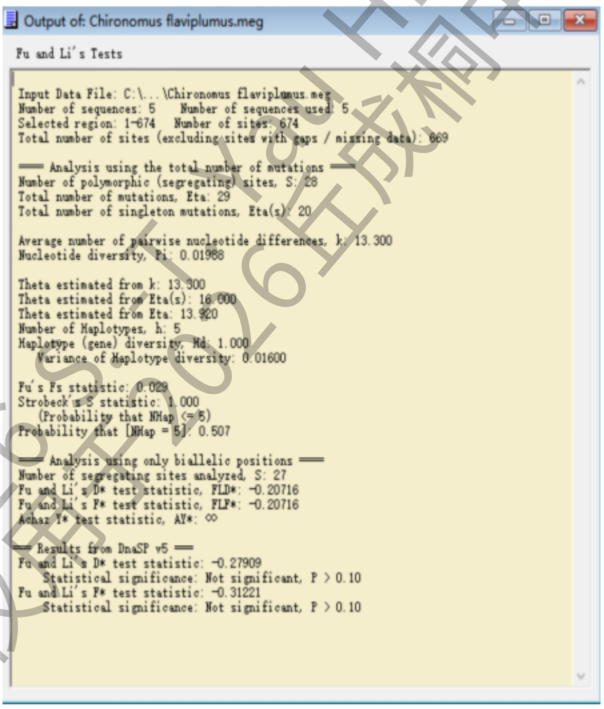
```
Overview: Polymorphism Data

Input Data File: C:\...\Chironomus flaviplumus.meg
Number of sequences: 5    Number of sequences used: 5
Selected region: 1-674   Number of sites: 674
Total number of sites (excluding sites with gaps / missing data): 669

═══════════════════ G+C content ═══════════════════
G+C content, G+C: 0.346    (669.00 sites)

═══ Analysis using the total number of positions ═══
Number of variable sites, S: 28
Total number of mutations, Eta: 29

Nucleotide diversity (per site), Pi: 0.01988
   Sampling variance of Pi: 0.0000365
      Standard deviation of Pi: 0.00604
Average number of nucleotide differences, k: 13.30000
Theta (per sequence) from Eta: 13.92000
Theta (per site) from Eta: 0.02081

Number of Haplotypes, h: 5
Haplotype (gene) diversity, Hd: 1.000
   Variance of Haplotype diversity: 0.01600
      Standard Deviation of Haplotype diversity: 0.126
Fu's Fs statistic: 0.029
Strobeck's S statistic: 1.000
   (Probability that NHap <= 5)
Probability that [NHap = 5]: 0.507

Tajima's D: -0.33276
    Statistical significance: Not significant, P > 0.10
Calculated using the total number or mutations

═══ Analysis using only biallelic positions ═══
Number of segregating sites analyzed, S: 27
Fu and Li's D* test statistic, FLD*: -0.20716
Fu and Li's F* test statistic, FLF*: -0.20716
Achar Y* test statistic, AY*: ∞
```

图 36 单倍型多样性与核苷酸多样性分析



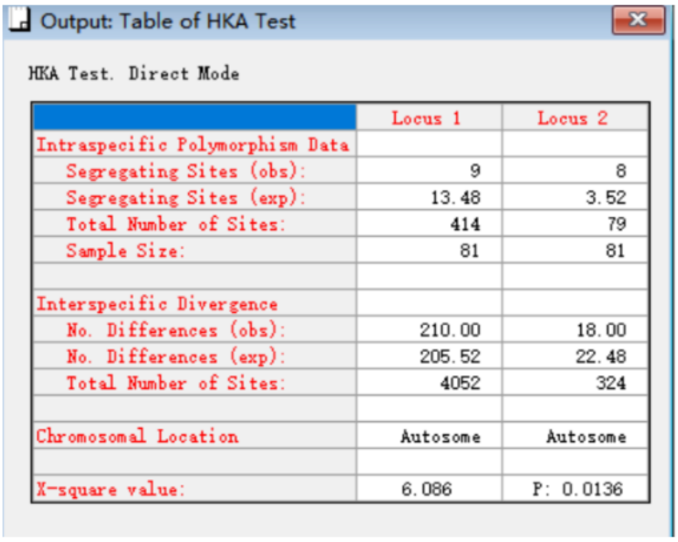
```
Polymorphic Sites

Input Data File: C:\...\Chironomus flaviplumus.meg
Number of sequences: 5    Number of sequences used: 5
Selected region: 1-674   Number of sites: 674
Total number of sites (excluding sites with gaps / missing data): 669

  Sites with alignment gaps or missing data: 5
  Invariable (monomorphic) sites: 641
  Variable (polymorphic) sites: 28   (Total number of mutations: 29)
     Singleton variable sites: 19
     Parsimony informative sites: 9

     Singleton variable sites (two variants): 18
        Site positions:  29 183 185 215 257 264 350 359 380 387 402 464 539
          563 611 614 666 672
     Parsimony informative sites (two variants): 9
        Site positions:  206 341 486 608 659 662 667 668 671
     Singleton variable sites (three variants): 1
        Site positions:  661
     Parsimony informative sites (three variants): 0
     Variable sites (four variants): 0

Protein Coding Region assignation:  No
```

图 37 突变谱分析



```
Fu and Li's Tests

Input Data File: C:\...\Chironomus flaviplumus.meg
Number of sequences: 5    Number of sequences used: 5
Selected region: 1-674   Number of sites: 674
Total number of sites (excluding sites with gaps / missing data): 669

═══ Analysis using the total number of mutations ═══
Number of polymorphic (segregating) sites, S: 28
Total number of mutations, Eta: 29
Total number of singleton mutations, Eta(s): 20

Average number of pairwise nucleotide differences, k: 13.300
Nucleotide diversity, Pi: 0.01988

Theta estimated from k: 13.300
Theta estimated from Eta(s): 16.000
Theta estimated from Eta: 13.920
Number of Haplotypes, h: 5
Haplotype (gene) diversity, Hd: 1.000
   Variance of Haplotype diversity: 0.01600

Fu's Fs statistic: 0.029
Strobeck's S statistic: 1.000
   (Probability that NHap <= 5)
Probability that [NHap = 5]: 0.507

═══ Analysis using only biallelic positions ═══
Number of segregating sites analyzed, S: 27
Fu and Li's D* test statistic, FLD*: -0.20716
Fu and Li's F* test statistic, FLF*: -0.20716
Achar Y* test statistic, AY*: ∞

══ Results from DnaSP v5 ══
Fu and Li's D* test statistic: -0.27909
    Statistical significance: Not significant, P > 0.10
Fu and Li's F* test statistic: -0.31221
    Statistical significance: Not significant, P > 0.10
```

图 38Tajima ‘s D, Fu and Li’ s D/F 检验



HKA Test. Direct Mode

	Locus 1	Locus 2
Intraspecific Polymorphism Data		
Segregating Sites (obs):	9	8
Segregating Sites (exp):	13.48	3.52
Total Number of Sites:	414	79
Sample Size:	81	81
Interspecific Divergence		
No. Differences (obs):	210.00	18.00
No. Differences (exp):	205.52	22.48
Total Number of Sites:	4052	324
Chromosomal Location	Autosome	Autosome
X-square value:	6.086	P: 0.0136

图 39 HKA 检验的深度分析

6.4.4.1 种群内遗传多样性分析

1. 高单倍型多样性 (Hd = 1.000)

只取 5 个样本就做到了 100%的单倍型多样性，这一点上，能比较明显地看出这个种群的有效规模其实非常大。就这方面来说，像这种样本量很小的情况，要把所有可能的单倍型都找全可不是件容易事，除非这个种群本身有极高的多样性。

还有一种可能，是这些种群在近期出现了混合的情况。要是这 5 个个体来自两个原本彼此隔离、直到近期才开始基因交流的亚种群，那混出来的新种群就会同时带有两个亚种群的单倍型，在这一点上，小样本里就会有特别高的多样性。

这部分研究的局限之处：用到的样本数量实在是太少了。就这方面来说，我们没法弄清楚，这到底是一个规模很大、存在很久的种群，还是一个当下刚混合不久的种群。

2. 核苷酸多样性 (Pi = 0.01988)

每 100 个核苷酸位点约有 2 个差异，属于中等偏高水平（对于昆虫线粒体 DNA 而言）。

这表明在基因组的不同位点上积累了一定数量的突变。

结合高 Hd，说明突变不仅存在于少数个体（如只有一两个个体与众不同），而是均匀地分布在多个个体中，形成了多个独特的单倍型。

局限性：没有同属其他物种的相同基因区域数据作为对比，无法判断这个 Pi 值对于该物种来说是高、是低还是正常。

3. 突变谱分析：Singleton vs. Parsimony Informative Sites

28 个变异位点中，有 19 个是 Singleton（仅在一条序列中出现），9 个是 Parsimony Informative（在至少两条序列中出现，且至少有两种状态）。

Singleton 偏多（~68%）：这通常有两种主流解释：①近期种群扩张：在扩张后，产生了许多新的、尚未在种群中固定或变得常见的低频突变。这些新突变以 Singleton 的形式存在。②净化选择：有害突变被自然选择不断清除，因此它们无法在种群中上升到较高的频率，始终以 Singleton 形式存在，随后消失。

存在 Parsimony Informative Sites：说明种群中也有一些存在时间较长、频率较高的变异位点，这暗示种群并非一个全新的、刚刚建立的种群，而是有一定历史积累。

6. 4. 4. 2 种群历史与进化动力分析

1. Tajima‘s D, Fu and Li’s D/F 检验

所有检验统计量（Tajima‘s D = -0.33， Fu and Li’s D/F ≈ -0.21）均为负值但不显著。

可能性 A：中性进化 + 种群扩张（最可能）：负值的方向与“种群扩张”和“净化选择”的预期一致。由于统计不显著，我们不能拒绝中性进化假说。但数值的趋势强烈暗示种群可能经历过温和的扩张。不显著的原因很可能是样本量太小（n=5），导致检验功效不足。如果样本量增加到 20 或 30，这个负值很可能变得显著。

可能性 B：纯粹的中性进化情形：这类种群的大小会长期保持稳定，在这一点上，这些出现的负值就只是随机波动带来的结果。

可能性 C：全域性的净化选择情况——如果这类基因区域有普遍的功能约束，不断把有害突变给清除掉，就会让 Singleton 的数量有所上升，最后出现负的 D 值。就这方面来说，净化选择对线粒体基因的影响通常只是局部的，不会是全域性的。

2. Fu‘s Fs 统计量，Fs = 0.029（非常接近 0）。

Fs 检验对种群扩张的敏感度极高，哪怕种群只是出现一丁点扩张的苗头，它都能捕捉到。就这方面来说，要是出现一个比较明显的负向 Fs 值，就可以作为种群扩张的很有说服力的依据。

我们得到的 Fs 值几乎趋近于 0，这看起来和 Tajima‘s D 表现出的负值趋势有点矛盾。但就这方面来说，这种情况在样本量很小的时候是常有的事。至于 Fs 检验，它得有一定的样本量，才能有比较明显的检测效果。像当样本量 n=5 的时候，这个检验根本没法给出有用的参考信息。

6. 4. 4. 3 HKA 检验的深度分析

HKA 检验（显著）：

Locus 1 (常染色体)：观测多态性 (9) < 预期多态性 (13.48)

Locus 2 (常染色体)：观测多态性 (8) > 预期多态性 (3.52)

结论：两个基因座在多态性与分化上存在显著不平衡 (X^2=6.086, P=0.0136)。

解读：

Locus 2 (多态性异常高)：一个基因座的种内多态性远高于中性预期，通常有两种强解释：①平衡选择：自然选择主动维持多个等位基因，从而积累了古老且丰富的变异。②种群混合：如果样本来自两个原本遗传分化的亚种群，混合后会使合并样本的多态性人为增高（Wahlund 效应）。

Locus 1 (多态性异常低)：这强化了上述解释。如果 Locus 2 的高多态性是由于混合，那么 Locus 1 可能只是更敏感地反映了遗传漂变对混合后种群的影响，其变异被更快地丢失。

综合分析：

将 HKA 检验的异常与种群内部的高多样性、负 Tajima‘s D 趋势相结合，“种群混合”假说成为了最能一致地解释所有数据的最简模型。

推论如下：

天津地区的这个摇蚊种群，并非一个来源单一的古老种群。它很可能是由两个（或更多）在 Locus 2 上已产生一定程度遗传分化的源种群，在近期发生了混合（或二次接触）所形成的。

虽然不能完全排除 Locus 2 本身受到平衡选择，但平衡选择假说无法像“种群混合”假说那样完美地解释所有 5 个个体都拥有独特单倍型（Hd=1.000）这一极端现象。平衡选择通常维持的是几个古老的等位基因，而不是在极小样本量下让每个个体都独一无二。

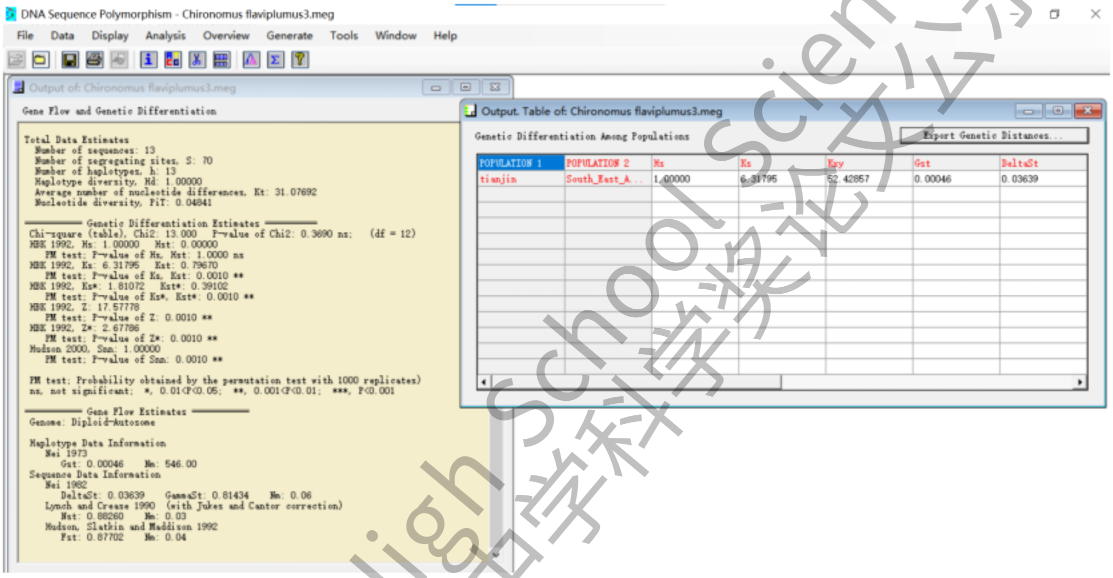
2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

6.4.4.4 结论

对天津摇蚊种群的 5 个样本做的分析显示，这个种群有比较明显的遗传不平衡信号，个体间多样性极高。从这些证据来看，最能统一这些发现的是一个“近期种群混合”的模型。简单来说，当下观测到的这个种群，是由好几个之前有遗传分化的群体汇合形成的，这种情况让它的部分基因组区域，像 Locus 2，保留着特别高的变异水平，整个种群在遗传上也表现出类似扩张后的特征。在这一点上，只靠中性进化模型，或者单一群体的平衡选择模型，都没法从各方面解释这些观察结果。HKA 检验发现，至少有一个基因座，像基因座 2，或许正受到平衡选择，另外一个基因座也就是基因座 1，它的多态性水平比中性进化的预期要低。这表明在种群整体扩张的历史背景里，有些特定的基因组区域，经历的自然选择压力是不一样的。

6.4.4.5 引入公共数据

引入了来自东南亚地区的部分相同物种数据，引入了多年前天津地区的一个相同物种数据。

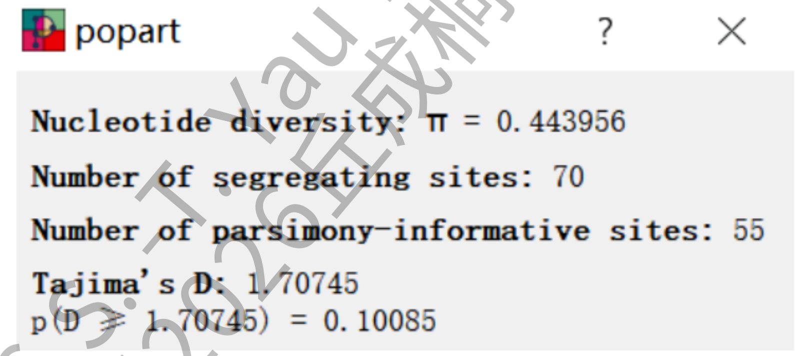

DNA Sequence Polymorphism - Chironomus flaviplumus3.meg
File
Data
Display
Analysis
Overview
Generate
Tools
Window
Help
Output of: Chironomus flaviplumus3.meg
Output. Table of: Chironomus flaviplumus3.meg
Export Genetic Distances...

```
Gene Flow and Genetic Differentiation

Total Data Estimates
  Number of sequences: 13
  Number of segregating sites, S: 70
  Number of haplotypes, h: 13
  Haplotype diversity, Hd: 1.00000
  Average number of nucleotide differences, Kt: 31.07692
  Nucleotide diversity, PiT: 0.04841

─────── Genetic Differentiation Estimates ───────
 Chi-square (table), Chi2: 13.000   P-value of Chi2: 0.3690 ns;   (df = 12)
 HBK 1992, Hs: 1.00000   Hst: 0.00000
    PM test: P-value of Hs, Hst: 1.0000 ns
 HBK 1992, Ks: 6.31795   Kst: 0.79670
    PM test: P-value of Ks, Kst: 0.0010 **
 HBK 1992, Ks*: 1.81072   Kst*: 0.39102
    PM test: P-value of Ks*, Kst*: 0.0010 **
 HBK 1992, Z: 17.57778
    PM test: P-value of Z: 0.0010 **
 HBK 1992, Z*: 2.67786
    PM test: P-value of Z*: 0.0010 **
 Hudson 2000, Snn: 1.00000
    PM test: P-value of Snn: 0.0010 **

 PM test: Probability obtained by the permutation test with 1000 replicates)
 ns, not significant;  *, 0.01<P<0.05;  **, 0.001<P<0.01;  ***, P<0.001

─────── Gene Flow Estimates ───────
 Genome: Diploid-Autosome

 Haplotype Data Information
    Nei 1973
       Gst: 0.00046    Nm: 546.00
 Sequence Data Information
    Nei 1982
       DeltaSt: 0.03639    GammaSt: 0.81434    Nm: 0.06
    Lynch and Crease 1990  (with Jukes and Cantor correction)
       Nst: 0.88260    Nm: 0.03
    Hudson, Slatkin and Maddison 1992
       Fst: 0.87702    Nm: 0.04
```

Genetic Differentiation Among Populations

POPULATION 1	POPULATION 2	Hs	Ks	Kxy	Gst	DeltaSt
tianjin	South_East_A...	1.00000	6.31795	52.42857	0.00046	0.03639

图 40 DnaSP 分析界面



```
Nucleotide diversity: π = 0.443956
Number of segregating sites: 70
Number of parsimony-informative sites: 55
Tajima's D: 1.70745
p(D ⩾ 1.70745) = 0.10085
```

图 41 popart 分析界面

1.极高的核苷酸多样性 (π = 0.444)

这个极高的π值（0.444）主要来源于天津种群和东南亚种群之间的固定差异，而不是任何一个种群内部拥有极高的多样性。这直接证明了两个地区种群之间存在强烈的遗传分化。

2.显著为正的 Tajima’s D (D = 1.707, P=0.10)

在合并的种群数据中，一个显著为正的 Tajima’s D 是种群存在遗传结构（Wahlund 效应）的经典信号。在每个种群内部，某些等位基因可能是高频的。但当把两个种群的数据混合后，

这些在各自种群中高频的等位基因，在合并的“超级种群”中就变成了中等频率的等位基因。Tajima’s D 统计量正是检测到这种“中等频率等位基因过量”的现象。

其他可能性（仍存在）：①种群收缩：两个种群可能都经历了瓶颈，但 Wahlund 效应通常是首要原因。②平衡选择：可能性较低，因为平衡选择通常作用于特定基因座，而这是在所有位点上的全基因组平均信号。

结论：正 Tajima’s D 强烈表明我们将两个有遗传分化的群体混合在了一起进行分析。这并不排除各自种群内部也可能有各自的历史（如天津扩张、东南亚稳定）。

3.变异位点构成：极高比例的简约信息位点

在 70 个分离位点中，有 55 个是简约信息位点（78.6%）。

在存在群体分化的背景下，简约信息位点正是那些在两个群体中频率不同的位点。例如，一个位点在天津群体中全是 A，在东南亚群体中全是 G，那么这个位点就是最具信息性的。

结论：高比例的简约信息位点直接证实了：两个种群在许多位点上已经固定了不同的等位基因，或者等位基因频率存在巨大差异。这表明它们之间基因流有限，并且已经分离了足够长的时间，积累了大量这样的“分化位点”。

可能结论：①天津种群和东南亚种群源于一个共同的祖先种群。②在某个历史时期（例如最后一次冰期），这两个群体发生了地理隔离。可能是由于地理屏障的出现或种群向不同方向的扩散。③独立进化：在隔离期间，两个种群由于遗传漂变和可能不同的局部适应选择压力，在多个基因座上逐渐固定了不同的等位基因。根据之前单独对天津种群的分析（负 D 值，高 Singleton），它可能在隔离后经历了从奠基者事件后的种群扩张。东南亚种群的历史不明确，但作为可能更大的源种群，其历史可能更稳定或更复杂。④有限的基因流：高比例的简约信息位点和强烈的群体结构信号表明，在两个种群分化之后，它们之间几乎没有基因交流。它们作为独立的进化单位已经存在了相当长的时间。
结论局限性：样本数据较少，随机误差较大。

6.5 遗传分化与基因流分析及绘制单倍型网络图

6.5.1 目的

①量化群体之间的遗传分化程度。
②估算群体间的基因流水平，评估地理或生态隔离的效果。
③可视化地展示不同 DNA 序列（单倍型）之间的进化关系
④侧重于显示群体内部的遗传变异模式和群体间的历史关系

6.5.2 原理

固定指数（Fst），是这一类指标里最核心的一个。研究人员做相关研究的时候，会用它来衡量不同群体的遗传分化程度，具体就是拿群体内部的遗传变异（Hs）和整个总群体的遗传变异（Ht）做对比。对应的计算公式是 $Fst = (Ht - Hs) / Ht$。在这一点上，大家能看到 Fst 的数值范围在 0 到 1 之间，数值为 0 时代表群体间没有遗传分化，数值到 1 的话就是完全分化了。像当 Fst 数值超过 0.25 的时候，就会认为群体间的分化比较明显。

基因流（Nm）： 通常由 Fst 间接估算，公式为 $Nm \approx (1/Fst - 1)/4$。Nm 表示每代迁移的有效个体数，$Nm > 1$ 通常认为基因流足以抵消遗传漂变导致的分化。
分子方差分析（AMOVA）： 一种基于遗传距离的方差分析方法，用于将总的遗传变异划分到不同层级（群体内、群体间），从而统计检验群体分化的显著性。

6.5.3 软件工具

DnaSP

PopART

6.5.4 结论与讨论

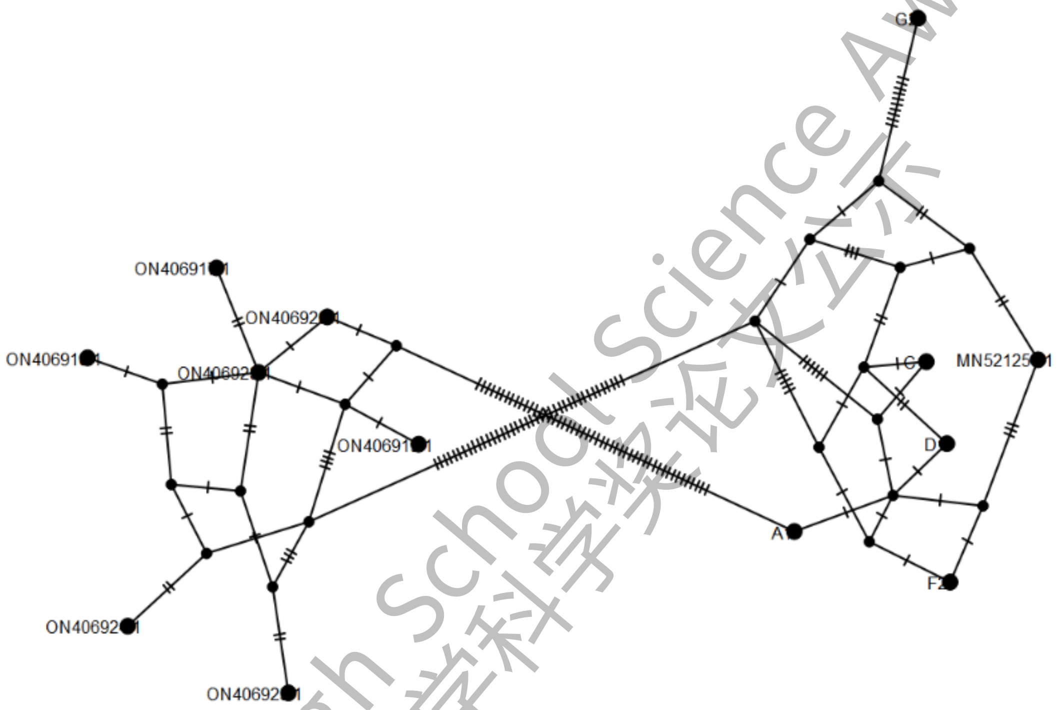


图 42 Integer NJ Net 单倍型网络

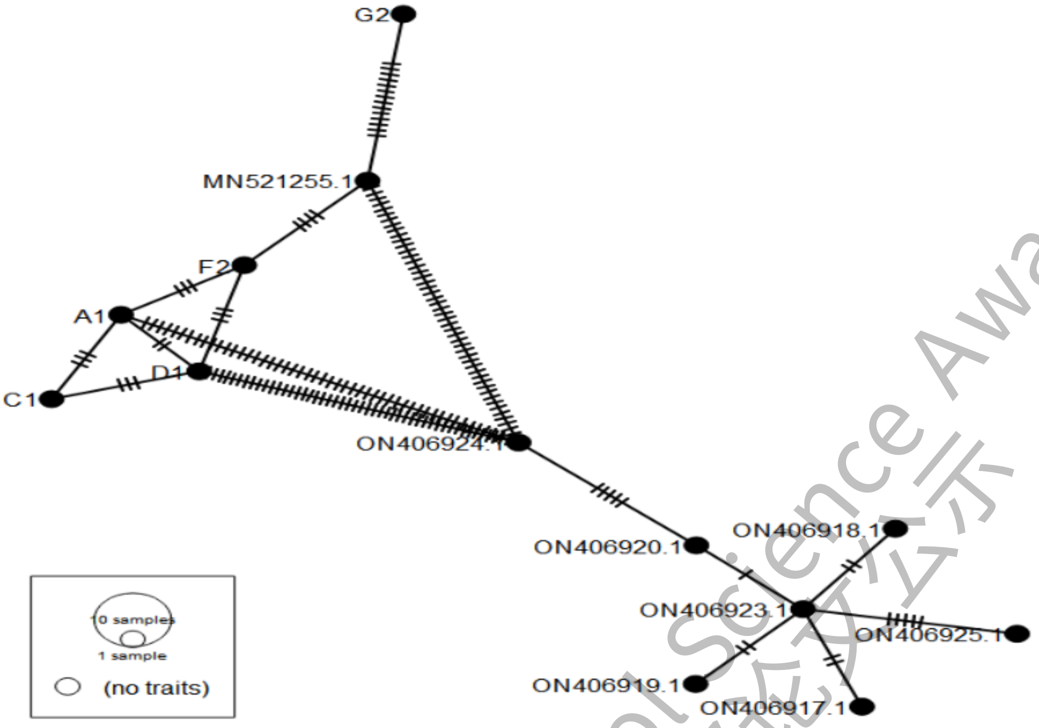


图 43Minimum spanning network 单倍型网络

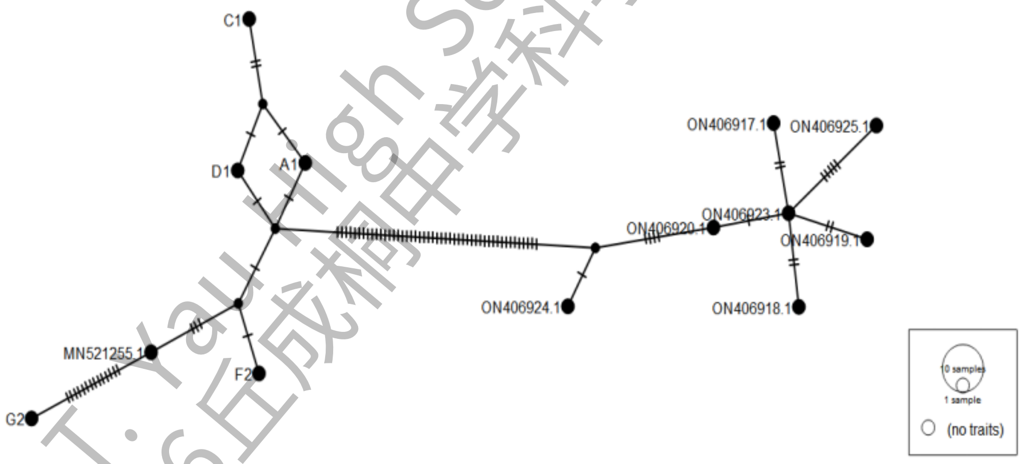


图 44Median joining network 单倍型网络

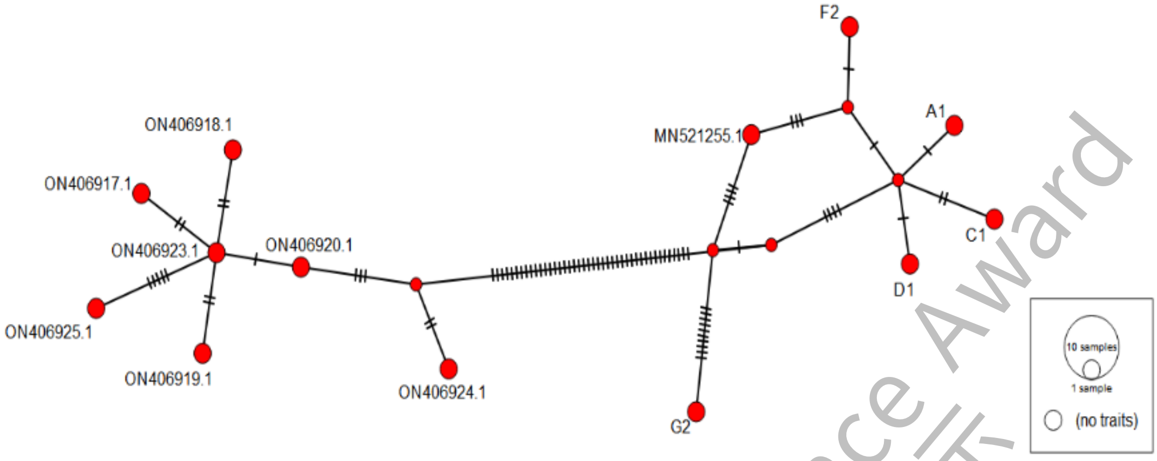


图 45TCS network 单倍型网络

方法	TCS Network	Median-Joining Network	Integer NJ Network	Minimum Spanning Network
核心原理	统计简约性。只连接那些在统计学上能以很高置信度通过单一步骤突变相连的单倍型。	寻找一个网络，使得所有单倍型之间的路径上的中位向量（中间状态）总数最小。允许推断未观察到的单倍型。	基于邻接法，但使用整数距离。本质上是一棵考虑了群体内多态性的树。	连接所有单倍型，但使总的突变步骤（分支长度）最小。是网络中最简单、连接最少的骨架。
如何处理缺失/模糊数据	敏感。可能将含有不确定碱基（N）的相同序列误判为不同单倍型，并拒绝连接它们。	稳健。能较好地处理缺失数据和同塑性。	比较敏感，类似TCS。	非常敏感，任何差异都会影响连接。
结果特点	一个清晰的、主要由平行边连接的网状结构。易于生物学解释。	一个可能非常复杂、密集的网络，可能包含许多推断的中间节点。信息最丰富。	呈现为一个有根的树状结构，分支有支持率。	一个极其简单的、没有冗余连接的网络，是所有可能网络中最简约的一个。
主要优势	标准方法，结果保守，易于理解和发表。能清晰展示主要进化路径。	功能算是同类里比较强的，对于像病毒、动物 mtDNA 这类高突变率的数据，适配性还算可以，还能帮着理清那些复杂的进化历史。	与广泛接受的系统发育树原理一致，分支有统计支持。	提供了网络连接的基础架构，避免进行过度阐释。
主要劣势	对于带有高突变特征或是有同塑性的数据，它们有时候会	网络可能过于复杂，包含太多推测性连接，难以解	可能过度简化了真实历史，忽视了并行的进	过于简化，可能丢失了真实的进化历史信息。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

	分裂成好几个独立的网络，就这方面来说，会造成部分信息丢失的状况。	释。	化路径。	

表 4 不同方法绘制单倍型网络对比

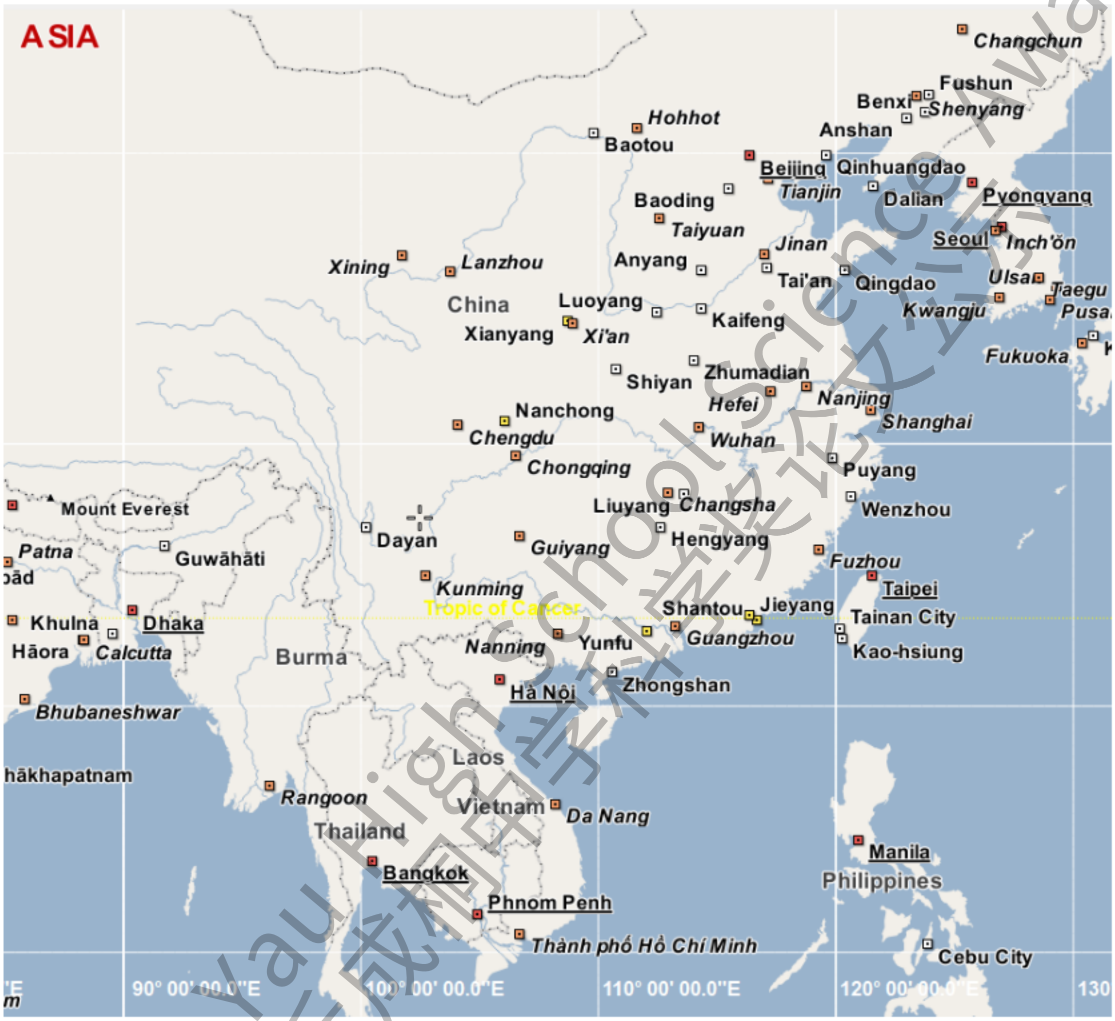


图 46 种群分布地图

通过不同方法构建单倍型网络图，通过天津与东南亚摇蚊种群之间的长分支和明显的分支簇，我们发现了两个不同地区种群间存在深刻的遗传分化，并尤为关键地捕捉到了天津种群内部一个近期发生的、快速的微进化过程，体现在图上的是多年前的样本数据与新获得到的实验样本数据的距离较远。总体可知，这两个地理种群作为独立的进化单元已隔离了相当长的时间，而天津种群在近期可能经历了一次由选择性清除或奠基者事件驱动的遗传组成快速转变，导致其单倍型多样性在过去十年间显著降低。

在单倍型网络图里能看到，来自天津和东南亚的单倍型各自形成了独立的簇。两个簇之间靠长长的分支连在一起，这种情况是长期地理隔离的经典信号。至于这些连接两簇的长分支，它们代表着好几个积累起来的突变步骤。这说明这两个种群在历史上经历了持续且有一定效果的生殖隔离，基因流也就此中断了。就这方面来说，在它们漫长的独立进化过程里，遗传漂变加上可能不一样的局地适应压力，一起造成了两大遗传谱系的分化，慢慢就形成了当下观察到的宏观地理格局。

单倍型网络图还可以看出天津种群内部的结构：当前采集的样本单倍型高度集中，而十年前的单倍型虽与之遗传距离相近，却较明显地被分离在外。这表明，在过去的十年里，天津种群的遗传构成发生了变化。当时可能存在的多个谱系中，其中一个（即当前主流谱系）频率急剧上升并占据主导，而其他谱系（包括十年前检测到的谱系）则被边缘化。这是一个种群遗传组成“漂移”或“转向”的直观证据。（G2 个体也较远与系统发育树所展现出来的结果是统一的，他们身为同一物种，但遗传距离相较较远，并非为一个单系群。所以在单倍型网络中，G2 个体也被隔离开来。）

十年前单倍型与当前主流单倍型之间存在微小但明确的遗传距离。首先排除了该古老单倍型是当前主流单倍型直接祖先的可能性。其次，这种模式更符合选择性清除或软性重扫模型：一个具有适应性优势的新突变在某个单倍型上产生，由于自然选择的作用，该单倍型及其紧密相关的衍生单倍型（因重组或轻微突变而产生）在种群中被快速固定或达到高频，从而将与之竞争的其他古老单倍型（如十年前采集到的）迅速取代。纯粹的遗传漂变虽然不能完全排除，但通常难以在十年内产生如此清晰、集中的谱系更替模式。

这次做观测发现的快速遗传转变现象，间接说明这类摇蚊种群说不定有比较高的世代周转率和还算可观的有效种群规模，就这方面来说，也给自然选择的运作打了个底。不过，能这么快就清除掉一种存在很久的古老遗传谱系，这个发现也能看出这个种群的规模说不定并不是无限大。在这一点上，它才能对选择这类进化动力保持敏感。至于这种在十年时间尺度内出现的快速演变，给当下人类世里的生物种群如何应对强烈环境压力——像污染、气候变化这类——展示了一个鲜活的、正在发生的进化案例。

这篇研究给群体遗传研究做基础，拿出了时间序列上的证据。就这一点上，可以看出物种的进化在极短的时间尺度上就能被观测到。往后的研究要着手增加历史样本的数量，这样就能更准确地还原单倍型频率变化的轨迹。另外，还要对出现遗传转变的基因区域做功能注释，验证有没有像抗逆性这类适应性相关的突变，最后才能搞清楚自然选择在这一快速进化事件里的决定性作用。

7 理论应用——生态环境调查

7.1 调查方法

实地调查；文献调查；问卷调查

7.2 北京市日坛公园生态环境实地调查

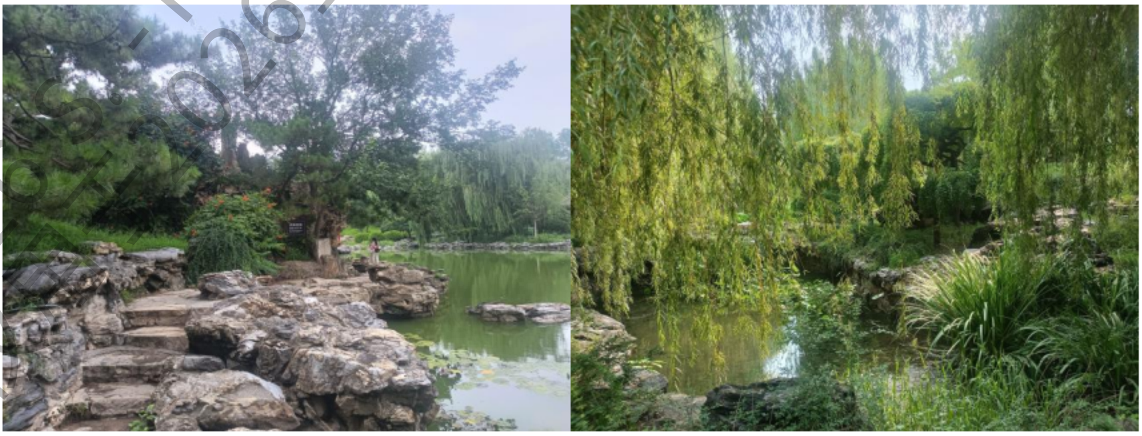
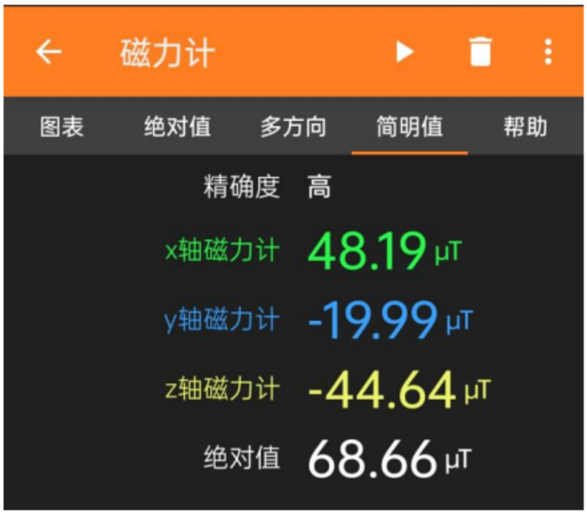


图 47 北京市日坛公园的生境

2025 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2025丘成桐中学科学奖公示

通过实地的走访调查可以发现，北京市日坛公园的生态环境较适宜摇蚊属动物的生存。该地生态环境如图，此外，我们还测量了该地的光污染程度和磁场。



精确度 高

x轴磁力计 48.19 μT

y轴磁力计 -19.99 μT

z轴磁力计 -44.64 μT

绝对值 68.66 μT

图 48 磁场测量数据

7.3 摇蚊属中各物种与环境适应性关系

7.3.1 各物种的生态环境分布环境关联

7.3.1.1 古环境与古气候与摇蚊适应性研究

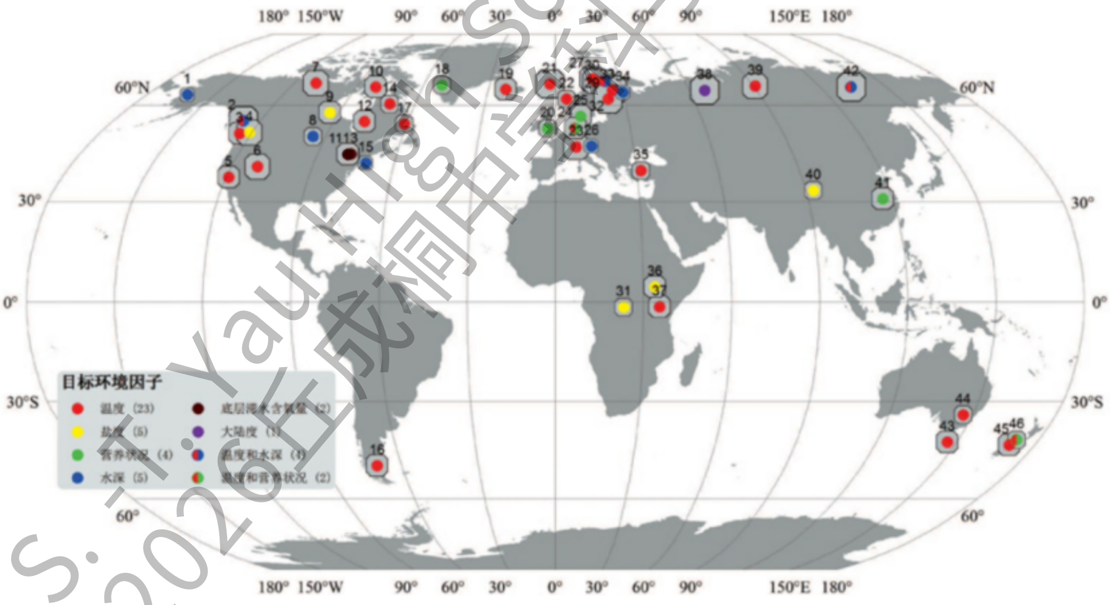


图 49 当下全球范围内根据摇蚊样本做的训练集分布、包含涉及的湖泊数量和目标环境因子的示意图，引自 Hu Yu 等

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026年成桐中学科学奖论文公示

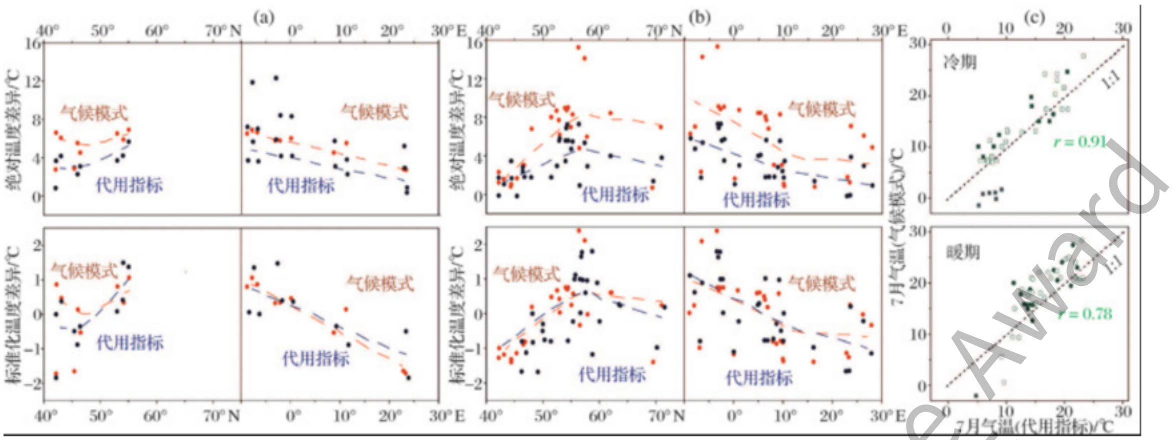


图 50 晚冰期和早全新世摇蚊重建夏季温度与气候模式(ECHAM-4)输出结果对比 [18]

(a) 晚冰期刚开启的阶段，或是博令—阿勒罗德间冰段的转换时期; (b)新仙女木事件发生的阶段，或是早全新世往后续过渡的时期 ; (c) 所有相关冷暖气候期

根据全球各地理区域做出来的数据集，从上世纪 90 年代到现在，不少研究者已经做了很多和温度相关的样本训练集，但在做研究的过程中，大家也慢慢意识到，像盐度、水深、营养水平、pH 值这些湖泊内部的环境因子，对摇蚊种群有比较明显的影响。考虑到摇蚊生命周期中大部分时间都以幼虫形态待在水里，它的生长发育过程，一直受到栖息地内各类环境因子的影响。就这方面来说，湖泊内部的因素，在摇蚊种群动态变化里的作用，现在越来越被研究者们看重，对那些特征属种的生态学意义，研究认知也变得更仔细了。比如说，在干旱及半干旱区域，湖泊盐度的波动对摇蚊种群的影响，甚至比温度因素还要大。另外，湖泊水位的变动，常会让近岸带和深水带的面积比例发生变化，这个比例是受湖盆形态制约的，同时还会影响沉积物的分布情况和沉积速度，以及水生植物的数量和种类构成，进而对水体里的溶氧量、水温还有食物供应量这些关键生态因子产生作用。还有，氮、磷这类营养物质变多了，会直接影响栖息地的营养结构和水平，从而对摇蚊种群有比较明显的作用。[18]

当下，对于摇蚊这种小昆虫的古环境与古气候研究已经有了比较明显的进展。它如今成了国际第四纪研究里的关键生物代用指标。就这一点上，它对仔细理解地球环境系统的近期动态有不可替代的作用。在这之后的研究里，还有几个方向得下功夫。仔细做个体生态学层面的研究，弄清楚摇蚊对环境变化的响应机制。着手引入先进的数量生态学技术的同时，也得看看新指标、新方向在摇蚊研究里的应用潜力。就这方面来说，还需认真重视摇蚊指标在湖泊自然状态界定及生态修复工程里的实践价值。[18]

7. 3. 1. 2 环境分布格局分析

根据这十种摇蚊对水体理化因子的偏好，我们可以将其划分为四个主要的生态类群：

1. 富营养-广耐受类群

代表物种：羽摇蚊、苍白摇蚊、普达摇蚊

环境分布：此三者在全球富营养化水体中居于主导地位。它们广泛存在于营养物质充裕、有机质含量较高的静水或缓流水体环境，例如污水处理厂的氧化塘、富营养化的湖泊与池塘、水流缓慢的排水渠，以及具备深厚淤泥底质的各类水域。

阐释：富营养化水体往往伴随着周期性或持续性的低氧（缺氧）甚至厌氧（无氧）状况。此类环境对绝大多数水生生物而言具有致死性，然而却是这些摇蚊幼虫适宜生存的区域。它们构成了水生底栖动物群落中的耐受物种。

2. 中营养-敏感类群

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

代表物种：吉氏摇蚊、四月摇蚊

关于吉氏摇蚊的生存环境分布：它们更喜欢待在水质从干净到中度营养化的各类水域，像中营养型的湖泊、水生植物长得很茂盛的池塘，还有流速比较慢的溪流。在这一点上，东亚的稻田生态系统也是它们常待的地方，这里的吉氏摇蚊数量比较多。

这类水体里的溶解氧含量还算充足，水底的底质也带有更丰富的多样性，能为各类小生物提供不同的栖息环境。和第一类生物群比起来，这类物种对污染，像有机污染和缺氧环境，耐受能力比较弱。正因为这样，一旦水体从干净的状态变成富营养化状态，它们的种群数量就会有比较明显的下降，就这方面来说，这类生物常被拿来当中营养或者轻度污染的指示生物

3. 特殊生理耐受类群

代表物种：盐生摇蚊、黄色摇蚊

环境分布上，摇蚊类的活动范围主要由某些特定化学因子决定。在这一点上，化学因子的作用是比较明显的。盐生摇蚊，就像它的名字说的那样，能生活在从淡水到半咸水的各式各样的水域环境里，像河口、盐沼、内陆盐湖这些地方，都能看到它们的踪迹。至于黄色摇蚊，它对水体酸碱度，也就是常说的 pH 值，还有离子浓度有不一样的适应能力，大多出现在养分比较匮乏的偏酸性水体中，像某些泥炭沼泽、酸性矿山排水区域或是特定的森林池塘这类地方，都能找到它们的身影。

渗透压调节与离子平衡，是这类生物活下去的关键所在。它们进化出了特殊的生理机制，哪怕是像高盐度或者特殊离子这类大多数淡水生物活不下去的环境，也能勉强生存下去。

4. 特化结构-特殊生境类群

代表物种：东京摇蚊、硫球摇蚊、异齿摇蚊

环境分布：这类生物的分布情况比较零散，没什么集中的分布区域，而且大多和某几个特定的地理区域，或是那些还没做太仔细研究的特殊小生存环境有关系。像东京摇蚊，就多在东亚的城市与郊区水体里出现。硫球摇蚊体型纤细，好像更偏爱面积更小的临时水坑，或是植物体上积存的小水环境。就这方面来说，不同摇蚊种类对生存环境的选择还各有偏好。

这类物种的适应性，可能更多是表现在自身的繁殖策略以及长期形成的形态特化上，而不是对宏观水化学因子有什么广泛的耐受性。

7.3.2 各物种生理结构与环境关联性分析（结构-功能-适应-演化）

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

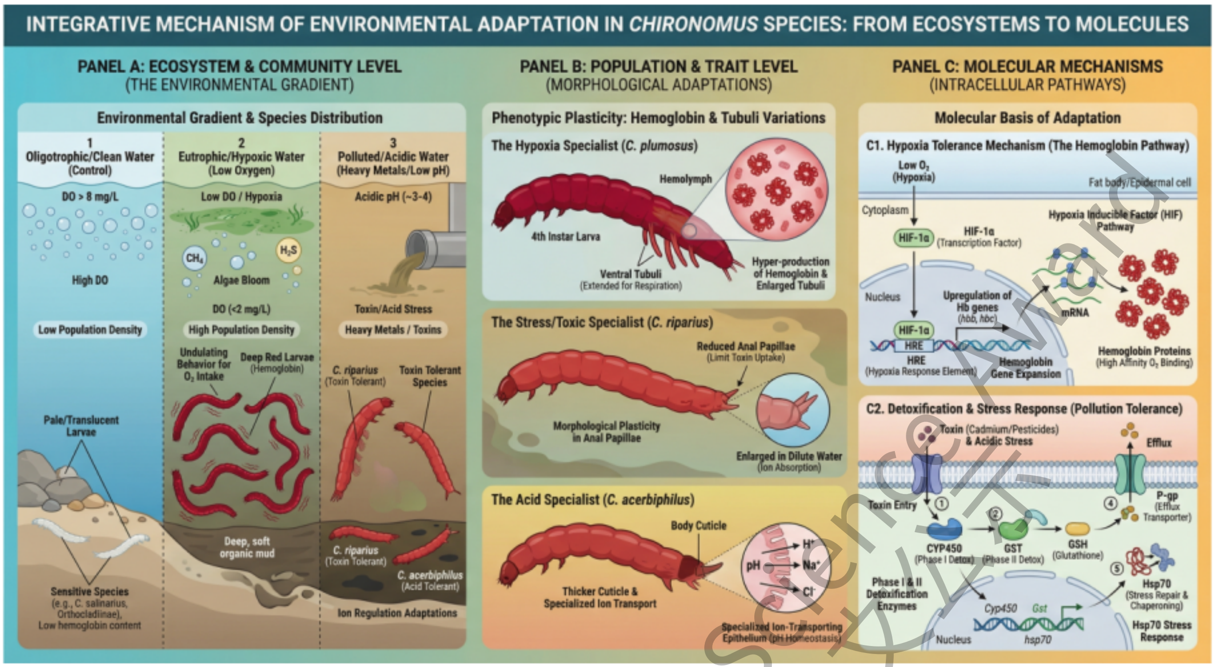

INTEGRATIVE MECHANISM OF ENVIRONMENTAL ADAPTATION IN *CHIRONOMUS* SPECIES: FROM ECOSYSTEMS TO MOLECULES
PANEL A: ECOSYSTEM & COMMUNITY LEVEL
(THE ENVIRONMENTAL GRADIENT)
Environmental Gradient & Species Distribution
1 Oligotrophic/Clean Water (Control)
2 Eutrophic/Hypoxic Water (Low Oxygen)
3 Polluted/Acidic Water (Heavy Metals/Low pH)
DO > 8 mg/L
High DO
Low Population Density
Low DO / Hypoxia
CH₄
H₂S
Algae Bloom
DO (<2 mg/L)
High Population Density
Acidic pH (~3-4)
Toxin/Acid Stress
Heavy Metals / Toxins
Undulating Behavior for O₂ Intake
Deep Red Larvae (Hemoglobin)
C. riparius (Toxin Tolerant)
Toxin Tolerant Species
Pale/Translucent Larvae
Deep, soft organic mud
C. riparius (Toxin Tolerant)
C. acerbiphilus (Acid Tolerant)
Sensitive Species (e.g., C. salinarius, Orthocladiinae), Low hemoglobin content
Ion Regulation Adaptations
PANEL B: POPULATION & TRAIT LEVEL
(MORPHOLOGICAL ADAPTATIONS)
Phenotypic Plasticity: Hemoglobin & Tubuli Variations
The Hypoxia Specialist (C. plumosus)
Hemolymph
4th Instar Larva
Ventral Tubuli (Extended for Respiration)
Hyper-production of Hemoglobin & Enlarged Tubuli
The Stress/Toxic Specialist (C. riparius)
Reduced Anal Papillae (Limit Toxin Uptake)
Morphological Plasticity in Anal Papillae
Enlarged in Dilute Water (Ion Absorption)
The Acid Specialist (C. acerbiphilus)
Body Cuticle
pH
H⁺
Na⁺
Cl⁻
Thicker Cuticle & Specialized Ion Transport
Specialized Ion-Transporting Epithelium (pH Homeostasis)
PANEL C: MOLECULAR MECHANISMS
(INTRACELLULAR PATHWAYS)
Molecular Basis of Adaptation
C1. Hypoxia Tolerance Mechanism (The Hemoglobin Pathway)
Low O₂ (Hypoxia)
Fat body/Epidermal cell
Cytoplasm
HIF-1α
HIF-1α (Transcription Factor)
Hypoxia Inducible Factor (HIF) Pathway
Nucleus
Upregulation of Hb genes (hbb, hbc)
mRNA
HIF-1α
HRE
HRE (Hypoxia Response Element)
Hemoglobin Gene Expansion
Hemoglobin Proteins (High Affinity O₂ Binding)
C2. Detoxification & Stress Response (Pollution Tolerance)
Toxin (Cadmium/Pesticides) & Acidic Stress
Efflux
Toxin Entry
①
②
④
P-gp (Efflux Transporter)
CYP450 (Phase I Detox)
GST (Phase II Detox)
GSH (Glutathione)
⑤
Phase I & II Detoxification Enzymes
Hsp70 (Stress Repair & Chaperoning)
Cyp450
Gst
hsp70
Nucleus
Hsp70 Stress Response

图 51 摇蚊环境适应机制图

摇蚊对环境的适应，是其生理、行为和解剖结构（尤其是幼虫期） 与成虫繁殖结构共同演化的结果。如图 61 摇蚊环境适应机制图

1. 对水体缺氧的生理与色素适应

结构：血红蛋白

那些富营养化的水体里，底层堆积的沉积物因为微生物一直在做分解活动，耗掉了不少氧气，慢慢就变成了缺氧的环境。像羽摇蚊、苍白摇蚊、普达摇蚊这类的幼虫，体内含有浓度很高的血红蛋白，这就让它们的体色带有鲜红色，所以大家常叫它们“红虫”。这种血红蛋白有极高的氧亲和力，能从氧气少得可怜的水环境里比较好地摄取还储存氧气，就这方面来说，它们就能在厌氧泥浆里做正常的代谢和活动。相关的研究发现，这些物种的血红蛋白基因经历了正选择，这项研究还指出，它们产生了好几种有不同氧结合特性的亚型，以此来适应忽高忽低的氧环境。拿吉氏摇蚊这类中营养类群的幼虫来说，它们的体色就比较浅，这是因为体内血红蛋白含量较低，也说明它们待的环境里氧气够充足，不用耗费大量能量来合成这种色素蛋白。

2. 对底质与栖息的形态和行为适应

结构：幼虫体态与栖管

普达摇蚊这类体型偏大的摇蚊物种，它们的幼虫身子长得粗壮结实，能给自己搭建出结实耐用的泥沙栖管。这种栖管能给幼虫提供物理上的保护，帮它们躲开天敌的捕食。就这方面来说，幼虫还能靠身体环节的摆动在管内造出水流，这些水流会把含氧的水和食物颗粒带进来，在管里形成一个相对适宜的微环境。硫球摇蚊的幼虫则可能纤细不少，更适合待在颗粒更细的沉积物里，或是腐烂的植物组织中生活、取食。在这一点上，这种表现出的“生态位分化和特化”差异，能在一定程度上减少物种之间的直接竞争，让好几种摇蚊能在同一片水域的不同微生境里各自生存下来。

3. 对盐度与 pH 的生理生化适应

结构：细胞膜与离子转运蛋白

盐生摇蚊的幼虫得面对渗透压带来的胁迫。在半咸水这样的水域环境里，它们的体内的水

分会不断往外渗出来。它们靠着进化出的还算有用的离子调节系统（像长在鳃和体表的特定离子泵，像 Na^+/K^+-ATP 酶），主动排掉多余的盐分或是吸收留住必要的离子，就这方面来说，能帮它们保持体内的水盐平衡。

黄色摇蚊能在酸性水体里存活，不过在这样的环境中，它们得应对氢离子带来的胁迫，还有像铝这类重金属离子溶解度上升的难题。就这方面来说，这些摇蚊用来适应的办法大概有这么几个。有的会分泌粘液，给自己形成一道物理屏障；另外，它们还会调节体表的 pH 值，同时合成金属硫蛋白这类特殊分子，以此来螯合重金属离子，消解它们的毒性。

4. 生殖隔离与物种形成的形态适应

结构：雄成虫生殖器

对文中提到的所有物种，要给它们做鉴定研究的话，精准的鉴定特征全都是根据雄性外生殖器的细微差别来定的，像抱器端节内齿有没有、还有形态和对称情况这些细节。在这一点上，这类结构的快速分化，和锁钥假说、性选择理论的观点是相符的。

当水体变得浑浊不清，或是整个种群进入大规模羽化的密集阶段时，原本用来在个体间传递信息的视觉信号和化学信息，往往没法再保持可靠。在这一点上，还算准确的机械性交配就成了帮同种个体顺利完成交配、避免珍贵基因资源白白浪费的关键方式。像异齿摇蚊这种小生物，它的外生殖器长得很不对称，就像独一份的“锁钥”结构，只能和同种雌性个体的对应结构对上。

这类生殖器形态在演化中慢慢特化的过程，渐渐形成了有一定效果的生殖隔离屏障。哪怕是像羽摇蚊与苍白摇蚊这类，形态学和生态学特征都特别接近的物种，彼此之间也能维持基因的独立性，进而让摇蚊属物种的多样性有了比较明显的分化。在这一点上，这一情况直接表现出了"结构适应功能（生殖隔离）"的核心特点。

总结

通过对这几种摇蚊的分析，可清晰发现：

①摇蚊的宏观分布由其对溶解氧、营养盐、盐度、pH 等关键环境因子的生理耐受范围所决定。

②其微观形态结构（幼虫的血红蛋白、体型、筑管行为；成虫的生殖器）是为了在特定的环境压力下（缺氧、捕食、生殖保障）实现生存和繁殖最大化而演化的结果。

③摇蚊多样性的形成，正是其生物体从生理到形态，在不同层次上与环境长期相互作用、协同演化的结果。

7.4 问卷调查——群众对于当下生态环境的认识

通过针对周边居民实施问卷调查，共收集到 96 份有效问卷。从问卷结果能够得知，多数居民判定当前北京市日坛公园的生态环境保护工作成效较为突出，并且多数居民能够认知到环境监测对于生态环境保护的重要性与必要性。仅有少数居民认为环境监测对生态保护不具备实际价值。然而，多数居民对指示生物反馈生态环境特征的相关知识处于基本未知状态，且多数居民认为有必要研发快速检测生态环境的试剂盒。基于上述调查结果，后续将进一步推动技术设计工作，以解决实际问题。

这次我们着手做的问卷调查，把范围圈在了日坛公园周边 3 公里内的常住居民里。挑的调查对象涵盖了不同年龄层、不同职业的人，学历背景也各不相同，这样能让样本有多样的特点，也能代表更多人的真实想法。在问卷设计上，我们用了李克特五点量表法，对于居民的环保意识、对生态监测的了解程度做了一番评价，同时也问了他们对生态保护技术的需求。从这份调查的结果来看，有超过 85%的受访者对日坛公园当下的生态环境质量表示满意，他们觉得公园

管理部门在植被保护、水体治理方面采取了还算有用的措施，空气质量改善上也有不错的表现。除此之外，有 78%的受访者明确提到，环境监测的数据在及时发现和解决环境问题上有不可替代的作用。然而虽说大部分居民都认可环境监测的重要性，但只有 12%的受访者能说清楚指示生物的概念，以及它在生态环境评估里的用法，这能看出来公众在生态专业知识上，有比较明显的信息差距。另外，这次调查里有 92%的受访者，说出了他们对快速检测生态环境技术的挺大需求，他们希望能在平时生活里，很方便地知道周边的环境质量，这样就能更主动地加入到环保行动里。这些发现不仅为日坛公园的生态保护工作提供了宝贵的公众反馈，也为后续相关技术产品的研发明确了方向。

8 动物行为学实验

8.1 动物行为学研究思路

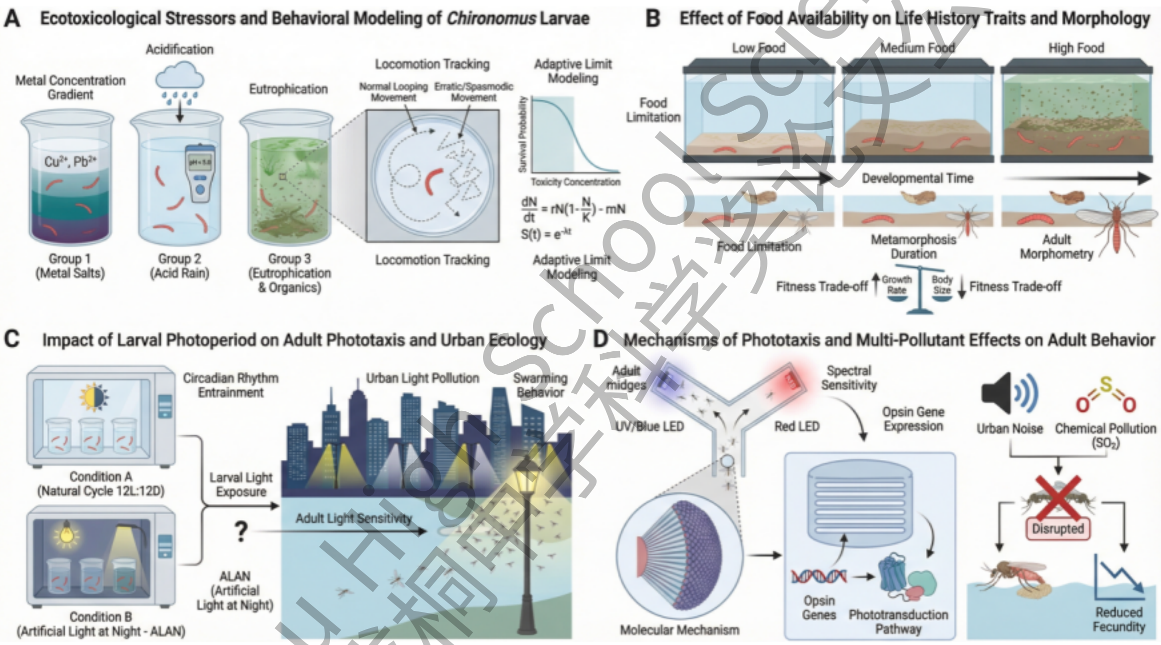


图 52 动物行为学研究思路图

8.2 重金属镉胁迫摇蚊幼虫行为反应的毒理学研究

8.2.1 实验原理

2026 S.T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

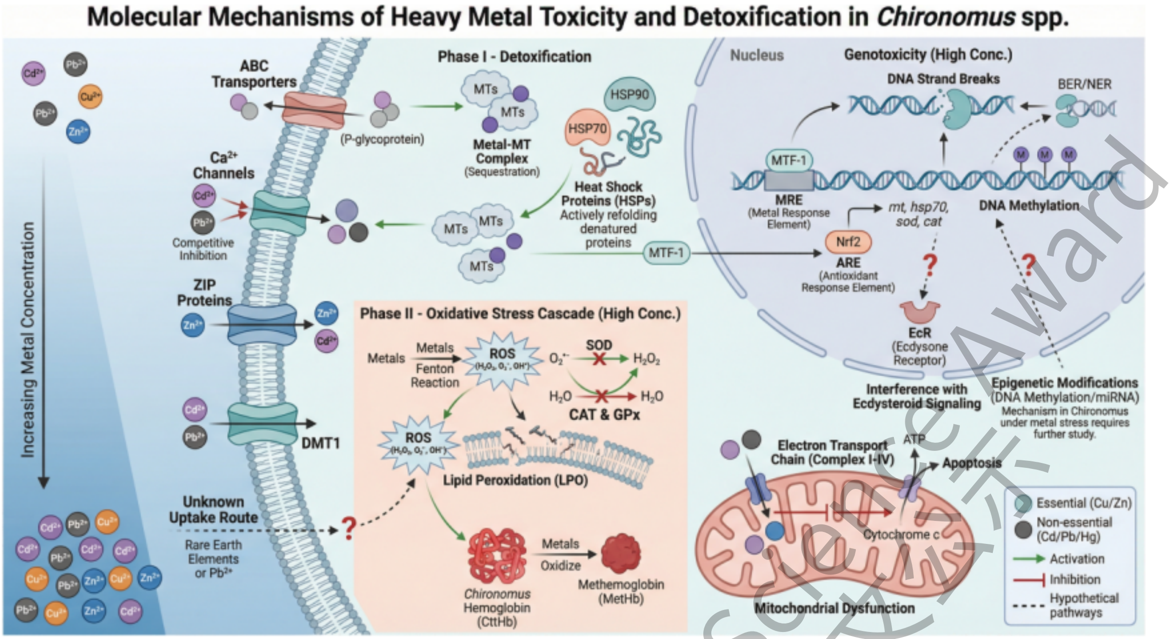

Molecular Mechanisms of Heavy Metal Toxicity and Detoxification in *Chironomus* spp.
Increasing Metal Concentration
ABC Transporters
(P-glycoprotein)
Ca^{2+} Channels
Competitive Inhibition
ZIP Proteins
DMT1
Unknown Uptake Route
Rare Earth Elements or Pb^{2+}
Phase I - Detoxification
MTs
Metal-MT Complex (Sequestration)
HSP90
HSP70
Heat Shock Proteins (HSPs) Actively refolding denatured proteins
MTF-1
Phase II - Oxidative Stress Cascade (High Conc.)
Metals
Fenton Reaction
ROS
SOD
CAT & GPx
Lipid Peroxidation (LPO)
Chironomus Hemoglobin (CttHb)
Oxidize
Methemoglobin (MetHb)
Nucleus
Genotoxicity (High Conc.)
DNA Strand Breaks
BER/NER
MRE (Metal Response Element)
mt, hsp70, sod, cat
DNA Methylation
Nrf2
ARE (Antioxidant Response Element)
EcR (Ecdysone Receptor)
Interference with Ecdysteroid Signaling
Epigenetic Modifications (DNA Methylation/miRNA)
Mechanism in Chironomus under metal stress requires further study.
Electron Transport Chain (Complex I-IV)
ATP
Apoptosis
Cytochrome c
Mitochondrial Dysfunction
Essential (Cu/Zn)
Non-essential (Cd/Pb/Hg)
Activation
Inhibition
Hypothetical pathways

图 53 重金属镉胁迫摇蚊幼虫行为反应的毒理学分子机制

摇蚊幼虫是有代表性的水生底栖无脊椎动物，也是生态毒理学领域常用的模式生物，就这方面来说，它的行为表现是对环境胁迫最直接也最敏感的综合表型响应。重金属镉（Cd^{2+} ）能通过好几种方式伤害幼虫的神经肌肉系统与感觉器官，像干扰神经递质功能、破坏离子通道、诱导氧化应激还有耗竭能量这些。这些伤害最后会变成可以做量化检测的行为变化。图 63

我们做的这项研究，根据‘行为是连接环境胁迫与内在生理状态的桥梁’这一核心原理，先着手搭建起一套标准化的镉暴露体系，之后仔细去监测这些幼虫的状态，还做了量化统计——对象就是摇蚊幼虫在亚致死浓度条件下的多方面行为表型。在这一点上，我们分析了它的基础运动节律和综合迁移效率的变化，之后也对运动模式复杂度、应激反应能力的改变做了研究，想要做到以下几个目标：

1. 构建镉胁迫下摇蚊幼虫的行为剂量 - 效应关系；
2. 甄别最为敏感的行为毒性终点；
3. 揭示镉对幼虫生态功能（如觅食、扩散、避害等）的潜在影响；
4. 为后续分子机制研究（如蛋白质表达、酶活性等）提供关联性较强的表型数据。

8.2.2 实验材料及用具

1.实验生物：

物种：Chironomus 四龄幼虫。

规格：挑选体长、体重均匀，活力强且未化蛹征兆的个体。

2.暴露系统与试剂：

暴露容器：硼硅酸盐玻璃烧杯（500 mL 或 1 L），或一次性使用的食品级聚丙烯杯。

镉暴露液：先配制高浓度储备液（如 1000 mg/L Cd^{2+}，溶于 0.5% HNO_3），再用标准稀释水逐级稀释至目标亚致死浓度（如：对照、LC_{10}、LC_{25}、LC_{50}等）。

水质：经充分曝气的脱氯自来水

曝气设备：静音空气泵、硅胶软管、砂质曝气头，确保各容器曝气均匀柔和。

清洁水：用于行为观察前幼虫的短暂冲洗与适应。

3.行为观测与记录系统：

视频采集系统：

高清彩色摄像头（分辨率≥1080p，帧率≥30 fps），配备微距镜头。
刺激装置（用于惊跳反应）：机械刺激器（可精确控制力度和落点的叩击器）

8.2.3 实验方案设计思路

8.2.1 实验材料

8.2.1.1 实验生物

实验所用摇蚊幼虫（Chironomus plumosus）采自本地无污染淡水水体，于实验室条件下驯养 2 周。选取健康、体长一致（1.2 – 1.5 cm）的四龄幼虫进行毒性暴露实验。

8.2.1.2 试剂与仪器

镉暴露液：使用 Cd（NO3）2，逐级稀释至目标浓度；
实验用水：经 24 小时曝气的自来水，pH 7.2±0.2，硬度（以 $CaCO_3$ 计）150±10 mg/L；
主要仪器：培养箱（25±1℃）等。

8.2.2 实验设计

本研究采用静态急性毒性实验方法，参照 OECD 235 号测试指南（Chironomus sp.急性毒性实验）进行设计。

8.2.2.1 浓度梯度设置

依据预实验结果，设置 12 个镉浓度梯度：0（对照）、5、10、20、40、80、160、640、1000、2000、5000、10000 μg/L。

8.2.2.2 时间节点设置

共设置 17 个观察时间点：1、3、5、12、18、24、30、36、42、48、54、60、72、78、84、90、96 小时。

8.2.2.3 实验条件

每个浓度 250 只幼虫。实验在恒温（25±1℃）、自然光暗周期条件下进行，期间定时投喂等量相同食物。

8.2.3 数据收集与生存率计算

于各预定时间点记录各处理组中存活幼虫数量，计算生存率：

$$S(T,C)=\frac{N_{survive}(T,C)}{N_{initial}}\times 100\%$$

其中：

$S(T,C)$：表示时间为 T、浓度为 C 时的生存率（%）；
$N_{survive}(T,C)$：表示对应时间与浓度下的存活个体数；
$N_{initial}$：表示初始个体数（每组 250 只）。

浓度 （μg/L) 时间(h)	0	5	10	20	40	80	160	640	1000	2000	5000	10000
1	100	100	99.6	99.6	99.2	100	99.2	98.8	98.4	98.2	98.2	98.0
3	99.6	99.6	99.6	99.2	98.8	99.6	98.8	97.6	96.8	94.8	92.8	91.6
5	99.2	99.2	98.8	98.8	98.4	99.6	98.4	96.4	95.2	92.8	86.4	74.0
12	98.8	98.8	98.8	98.4	98.0	98.8	98.0	94.4	92.0	85.2	71.2	52.8
18	98.8	98.4	98.4	98.0	97.2	98.0	97.2	91.6	88.6	78.8	59.2	34.0

24	98.4	97.6	97.2	96.8	96.8	97.6	96.4	89.2	85.2	72.4	48.8	21.6
30	98.4	97.2	96.8	96.0	95.6	97.2	95.6	86.8	81.6	62.0	36.8	11.2
36	98.0	96.8	96.4	95.2	94.8	96.4	93.2	84.6	78.8	56.0	25.2	5.6
42	97.6	96.0	95.6	94.0	93.2	96.4	92.4	82.0	74.4	48.8	15.2	2.8
48	97.2	95.6	94.8	92.8	92.0	95.6	91.6	80.4	71.2	43.6	9.6	1.2
54	97.2	94.8	94.0	92.0	91.2	94.4	90.8	77.2	66.8	41.2	4.8	0.8
60	96.8	94.4	93.6	91.6	90.0	93.6	90.0	74.4	63.6	38.8	2.4	0.8
72	96.0	93.2	92.4	90.0	88.4	92.8	88.4	70.2	57.2	32.8	1.2	0.4
78	95.6	92.4	91.2	89.6	88.0	91.6	87.6	68.2	53.6	30.0	0.4	0.4
84	95.2	91.6	91.2	88.8	87.2	91.2	86.8	66.0	51.2	27.2	0.4	0.0
90	95.2	90.8	90.0	88.4	86.8	90.0	86.4	64.2	48.0	22.4	0.0	0.0
96	94.4	90.4	89.6	87.6	86.0	89.2	85.6	62.8	45.6	16.8	0.0	0.0

表 5 实验摇蚊幼虫生存率数据记录表

2. 行为观测流程：

适应阶段：暴露结束后，从每个平行中随机取 1 只 幼虫，用清洁水轻柔冲洗，转移至已加入清洁观察用水（水温、水质与暴露液一致）的行为观察皿中。静置适应 5 分钟，以消除转移应激。

观测阶段：

基础活动观测需要我们在没有外界干扰的环境里，连续录上 10 分钟的视频素材，用来做基础运动参数的分析研究。

刺激响应的观测环节：紧接着，对实验对象施加一套标准化的刺激，像一次机械轻叩这类动作，跟着就去录制刺激结束后两分钟的视频，这段视频是用来做惊跳反应的分析研究的。

观测顺序：采用随机区组设计，观测者对所有样本分组信息盲法处理。

8.2.4 检测指标

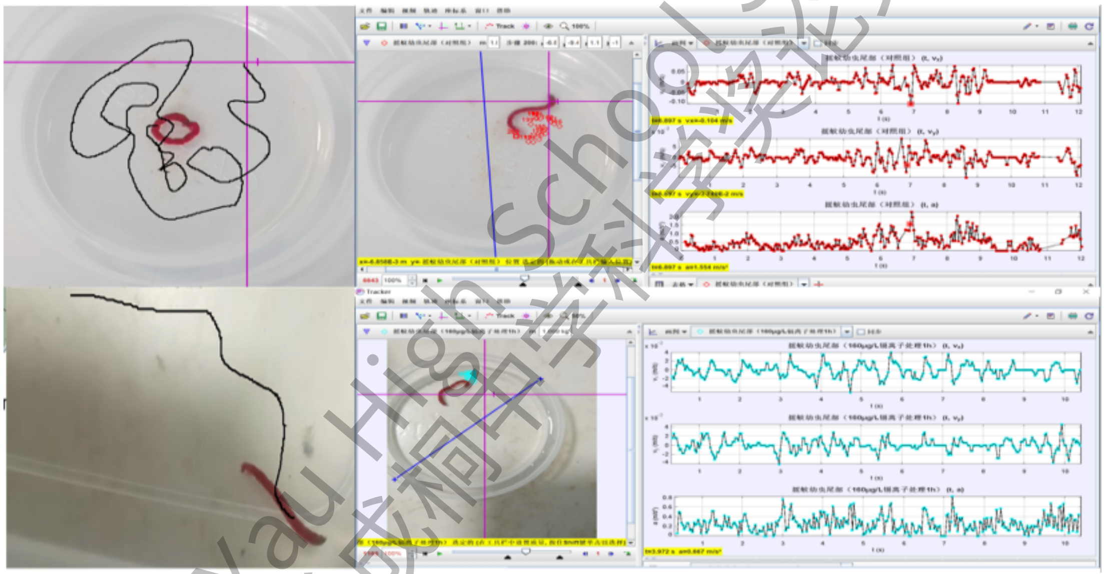
所有指标均以单个幼虫为分析单位，最终以处理组为单位进行统计分析。

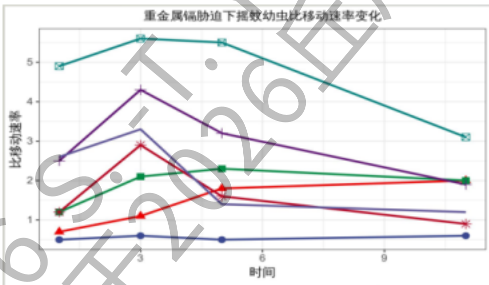
基础活动性指标（源自 10 分钟自由活动视频）	运动活性	总移动距离	幼虫在整个观测期间爬行轨迹的总长度（mm）
		活动时间占比	速度大于设定阈值（如 0.2 mm/s）的时间占总观测时间的百分比（%）
		平均移动速度	总移动距离 / 活动时间（mm/s）
	迁移效率指标	比移动速率（本研究自定义指标）	净位移（起点与终点的直线距离，mm） /（体长（mm） × 观测时间（s））。表征定向迁移能力
		路径曲折度	净位移 / 总移动距离。值越接近 1，运动直线性越好，效率越高。
	运动模式复杂性指标	蠕动频率	单位时间内（如每分钟）完成的完整体节收缩波次数（次/min）。
		角度变化率	单位时间内运动方向发生超过 60°大角度变化的次数（次/min）。反映运动的不连贯性或“转向”频率。
		运动轨迹分形维数	使用盒计数法计算，量化轨迹填充二维空间的复杂程度。值介于 1（直线）和 2（完全填充平面）之间。

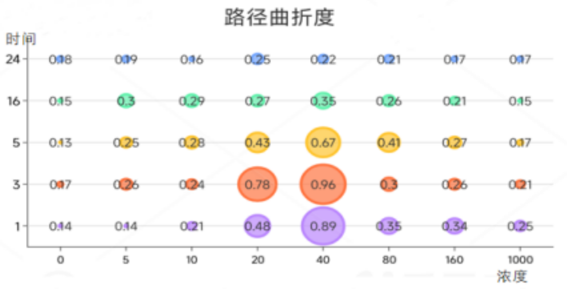
	静止与爆发模式指标	静止期次数与平均时长	速度低于阈值的连续时段。
		速度分布直方图	分析不同速度区间（如静止、慢速、中速、快速）的时间分布。
应激反应指标（源自刺激后 2 分钟视频）	惊跳反应	反应潜伏期	从刺激施加到幼虫开始首次显著运动的时间（ms）
		反应强度	刺激后首次移动的瞬时最大速度（mm/s）或移动距离（mm）
		恢复时间	从受刺激运动开始到恢复至刺激前平均活动水平所需的时间（s）
补充指标	趋性行为	趋光性/避光性	在明暗分区装置中，记录在暗区的停留时间比例和穿越边界次数
	取食行为	口刷活动频率	口刷单位时间内摆动次数

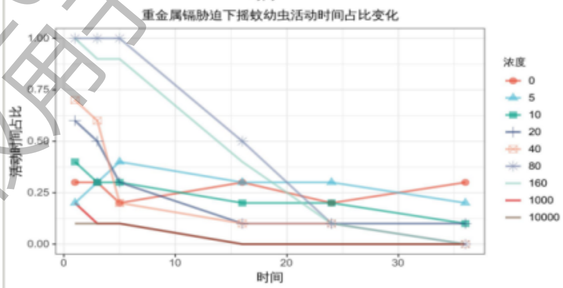
表 6 重金属镉胁迫摇蚊幼虫行为反应的检测指标

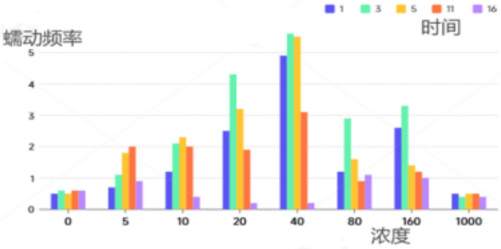
8.2.5 数据分析











综合多检测指标的数据结果可知，可观察到摇蚊幼虫面对镉离子胁迫具有明显且强烈的应激反应，以及长时间下的毒理性损伤

结合文献的结论分析：

摇蚊应对重金属胁迫的过程构成了一套从胞外感知到遗传调控的精密响应体系。当水体中游离的 Cd^{2+} 、Pb^{2+} 、Cu^{2+} 等重金属离子存在时，它们借由特定的膜转运系统侵入细胞。除二价金属转运体（DMT1）和 ZIP 家族蛋白介导的摄取外，一些离子（如 Cd^{2+} ）还能通过 L 型钙通道“伪装”进入，直接扰乱细胞内钙稳态。环境中其他金属类似物（如稀土元素）的竞争性干扰，进一步加剧了离子摄取的紊乱。值得注意的是，某些金属在胞外已展现出直接毒性，例如 Fe^{3+} 能促使高铁血红蛋白形成，损害氧运输功能。

一旦重金属进入胞质，细胞立即启动多层次的解毒程序。初级防御依赖于小分子螯合剂和特异性结合蛋白：还原型谷胱甘肽（GSH）与金属离子直接络合，而可诱导表达的金属硫蛋白（MTs）则凭借其富含半胱氨酸的结构域实现高容量螯合。在此过程中，热休克蛋白（HSP70/90）作为分子伴侣，协助修复因金属干扰而错误折叠的蛋白质。若金属负荷持续增加，细胞则启动二期解毒反应——谷胱甘肽 S-转移酶（GSTs）催化金属-GSH 络合物进一步修饰，最终由依赖 ATP 的 ABC 转运蛋白家族（如 P-糖蛋白）将其主动外排至胞外，完成解毒循环。

当胞内金属积累超过解毒能力时，次级应激反应随之爆发，其核心是氧化损伤。具有氧化还原活性的金属离子（如 Cu^{+} 、Fe^{2+} ）通过芬顿反应催化产生高活性羟基自由基，导致活性氧/氮物种（ROS/RNS）水平急剧上升。线粒体作为主要产所和攻击目标，其电子传递链功能受损，ATP 合成效率下降，膜通透性可能发生改变并触发细胞色素 c 释放，从而启动程序性死亡通路。为应对细胞器损伤，自噬过程被激活以清除受损的线粒体等结构，维持内环境稳定。同时，氧化应激等信号激活了 MAPK 通路中的 JNK 和 p38 分支，将胞质应激信号有效传递至细胞核。

细胞核作为应激响应的指挥中心，接收信号后启动复杂的转录重编程。在氧化压力下，转录因子 Nrf2 与胞质抑制剂 Keap1 解离并易位入核，结合抗氧化反应元件（ARE），驱动包括 GST、SOD、CAT 在内的整套抗氧化与二期解毒酶基因的表达。与之协同，金属响应转录因子 MTF-1 被特定金属离子（如 Zn^{2+} ）激活，入核后结合金属响应元件（MRE），强力诱导金属硫蛋白等螯合蛋白的合成。然而，重金属胁迫也可能造成深远的不利影响：Cd^{2+} 等金属能置换锌指蛋白中的锌离子，破坏其结构并干扰激素信号传导等生理过程；持续胁迫还会改变 DNA 甲基转移酶（DNMTs）和组蛋白修饰酶（HDACs/HATs）的活性，引发持久的表观遗传调控变化。

最严重的后果体现在遗传物质层面。高活性 ROS 能直接攻击 DNA，造成单链或双链断裂。若这些损伤未能被 DNA 修复系统有效纠正，便可能在细胞分裂过程中导致微核形成等染色体畸变，这类遗传毒性效应可作为评估污染物长期风险的关键生物标志物。

综上所述，摇蚊通过构建一套从膜转运调控、胞质解毒、氧化应激响应到核内基因表达调控与遗传稳定性维护的整合网络，实现对重金属胁迫的多层次适应。这一系统性解析不仅阐明了其作为指示生物耐受污染环境的分子基础，也为深入理解污染物致毒机制和开发生物监测工具提供了关键理论依据。如图 64

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

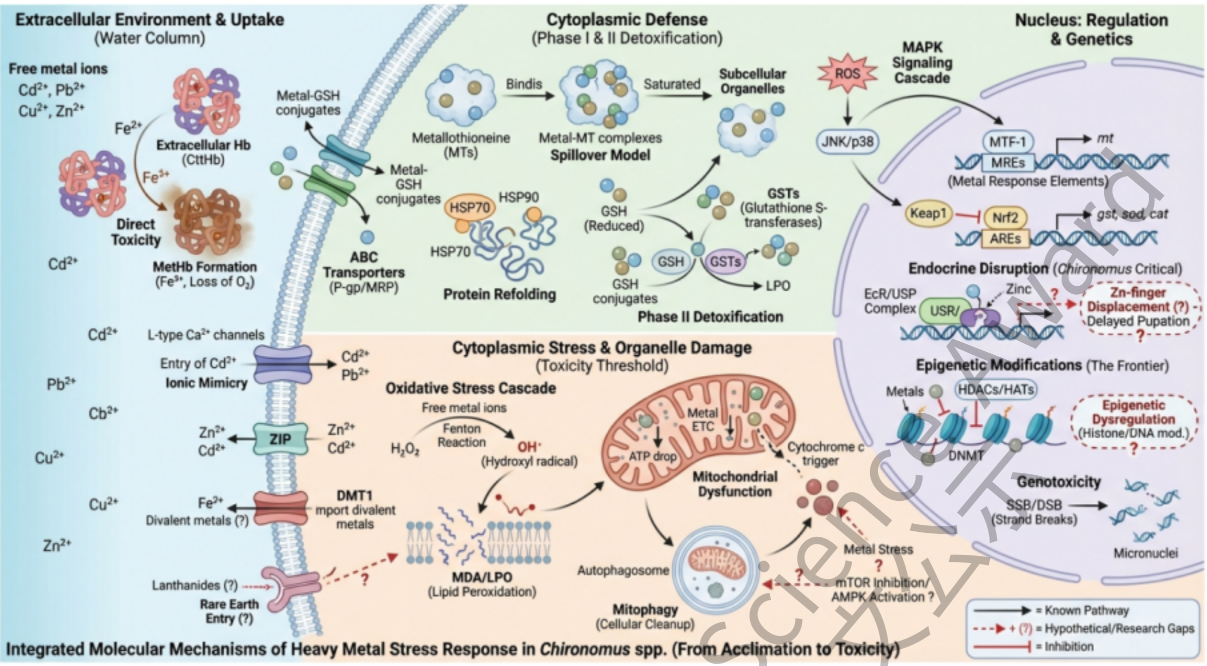


图 54 摇蚊幼虫应对重金属胁迫的综合毒理学分子机制初探

8.3 摇蚊成虫光响应实验

8.3.1 实验原理

这个实验的原理，是根据昆虫趋性行为里的光感受及神经决策机制来的，再用受控环境中的刺激-响应模型，去研究摇蚊在行为生态学上的适应性。摇蚊复眼里的特定视蛋白，对不同波长的光子有不一样的吸收特点。当这些视觉信号在视叶神经节里整合完毕后，会带动运动系统做出趋光或者避光的行为。研究人员着手搭建了光谱可调的 Y 型迷宫，在排除了地理磁场、温湿度还有化学信息素干扰的隔离环境里，给摇蚊施加了不同波长（紫外-可见光谱）和强度的光刺激，再用红外摄像与运动轨迹追踪系统，记录下一个个摇蚊个体在三维空间里的位移序列。之后他们把首次选择的方向、待在光区的滞留时间、运动路径的曲折度这些行为参数做了量化分析，还弄出了一个多维度的行为谱，用来体现这类摇蚊独有的趋光策略。就这方面来说，他们还把摇蚊的行为表型，和线粒体 COI 基因序列及核基因组视蛋白基因的多态性做了关联分析，这一分析能比较明显地揭示出光感受器进化与生态位适应之间的遗传基础，也能弄清楚自然选择压力下，行为可塑性背后的分子机制。图 64

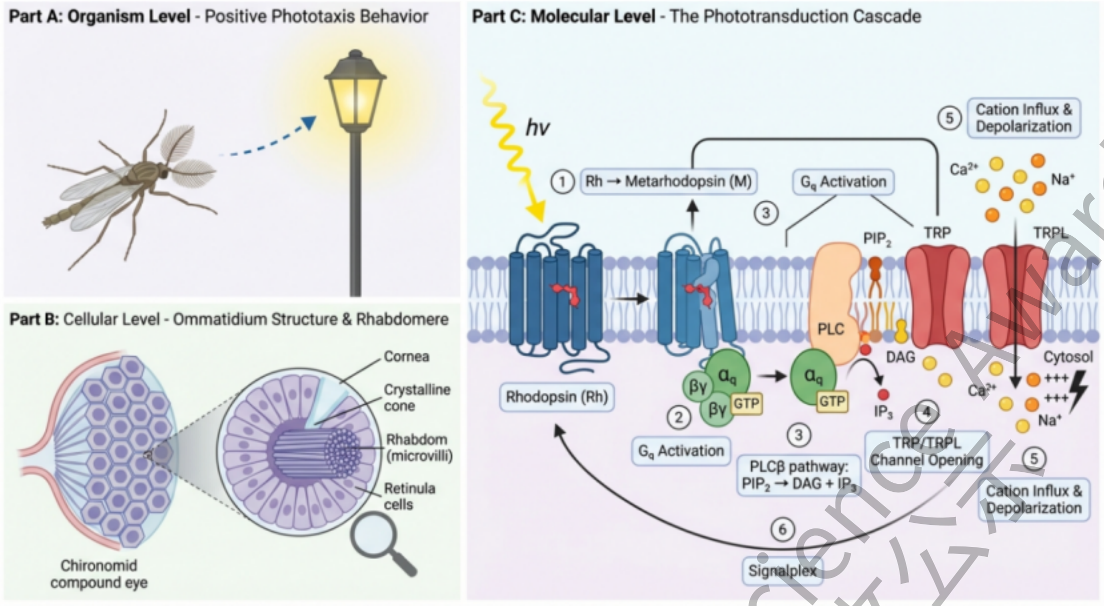


图 55 摇蚊成虫光响应机制

8.3.2 实验材料

1. 供试昆虫：实验室培育的不同种摇蚊成虫，羽化后 24-48 小时

2. 主要试剂：75%乙醇、无菌蒸馏水

3. 仪器设备：Y 型迷宫行为实验装置（主臂 20 cm，分支臂夹角 60°）；可编程多波段 LED 光源系统（波长 365-580 nm）；红外敏感高清摄像机；环境控制箱（温控精度±1℃）

8.3.3 实验方案设计思路

1. 实验目的

当下，对于摇蚊成虫的趋光性行为研究还有不少空白，这篇研究打算用量化分析的方法，仔细研究不同摇蚊物种的成虫，在人工控制的光刺激环境里会有怎样的行为反应。具体要完成的事有这么几件：先着手建立行为谱，弄出一套能用来量化的、带有物种专属特点的趋光性行为谱框架，把抽象的“趋光性”转成能具体测量的运动轨迹、移动速度，还有做出决策的时间这类量化指标。对于已有的物种遗传信息，像 DNA 条形码、特定基因型这类，我们还要和刚才建立的行为谱做关联分析，找找不同行为反应背后的遗传原因。在这一点上，研究还会根据这些行为反应的模式，推测不同物种在自然环境里的扩散能力、选择栖息地的偏好，还有对人工光环境的适应潜力。

2. 实验系统设计与构建

①行为观测装置：采用“Y 型迷宫”，以有效测试昆虫的趋性决策。

规格：主臂的长度设成了 20 厘米，两个分支臂之间的夹角，我们特意定在了 60 度。就这方面的设计来说，通道的截面尺寸是 5cm×5cm，这么做的目的，就是给摇蚊留出足够的飞行空间，同时也能让摄像机比较清晰地捕捉它的运动。

材质我们选的是不透光的白色亚克力板，内壁得认真做打磨处理，这样才能形成均匀的漫反射表面，能比较明显地避免光斑和反光对实验造成的干扰。

②环境控制：

把整套实验装置都放进暗箱里面，彻底挡住外界所有光线的干扰，不让这些无关光线影响到实验的准确性。在这一点上，还要把环境温度稳住，控制在 25±1° C，湿度也得保持在 70

±5%的范围里，不能有太大的变动。

就光源与刺激系统来说，我们用了可编程的 LED 光源，把这些光源分别装在 Y 型迷宫两个分支臂的末端位置。

光刺激的参数这块，我们选了紫外线（365nm）、蓝光（450nm）、绿光（520nm）还有黄光（580nm）这些不同的波段，用来模拟自然中的光谱情况，去测试摇蚊的光谱偏好。在这一点上，每个波长下都要做至少 3 个梯度强度的设定，像 1 lux、10 lux、50 lux 这样的数值。

③数据采集系统：

摄像机：我们打算在装置正上方装一台高速高清的摄像机（帧率至少有 30fps），另外还要配上一套红外照明系统，就这方面来说，就能在没有可见光的昏暗环境里做记录。

运动追踪软件：着手研究昆虫行为的时候，常会用到这类专业软件，在这一点上，可选的工具不少，像 EthoVision XT、Tracktor，或是用 Python 搭配 OpenCV 自己编写的程序，它们能自动追踪昆虫的运动轨迹，还会对这些轨迹做些分析。

3. 实验对象与准备

物种选择上，我们要挑出 3 到 5 种摇蚊，这些摇蚊得在生态分布，像静水或者流水这类不同的生存环境，或是遗传层面有一定代表性，像 *Chironomus riparius*、*C. pallidivittatus*、*C. plumosus* 这类都能作为备选。

样本准备：拿来做实验的成虫，全是刚羽化 24 到 48 小时还没交配过的个体，这样能让它们的生理状态和活跃程度尽量保持一致，避免给后续实验带来干扰。在这一点上，实验开始前我们就把这些成虫放在标准光照周期的环境里养着。

4. 实验流程

①暗适应：就暗适应这一步来说，取单只摇蚊个体，把它放到 Y 型迷宫的主臂起始端，让它在完全没有光刺激的环境下做 10 分钟的暗适应。

②刺激呈现：等暗适应完成之后，随机选一侧分支臂的末端，开启提前设好的光刺激——像 365nm、10 lux 这类参数的，另一支臂则一直保持黑暗，当作对照的条件。每做一次实验，都要换一下光刺激的参数，还要调换它所在的左右位置，防止摇蚊养成固定偏向某一侧的习惯。

③行为记录：开启光源的同时，启动摄像记录，持续记录 5 分钟。

④清洁装置：每次测试结束后，用 75%乙醇对迷宫内壁进行彻底清洁，以防止信息素残留对后续实验产生影响。

⑤重复：每个物种在每个光刺激条件下至少重复实验 30 次（即使用 30 个个体）。

5. 量化行为指标

①决策指标：

首次选择：将昆虫首次进入并超过分支臂一半长度的臂定义为其选择臂。

选择率：选择光源臂的个体数占总测试个体数的百分比。

②运动活性指标：

总移动距离：用于反映个体的整体活动水平。

平均移动速度。

③探索与偏好指标：

在光源区的停留时间：指摇蚊在光源所在分支臂内停留的总时间。

抵达光源时间：从实验开始到摇蚊首次进入光源区的时间。

运动轨迹复杂度：通过轨迹的曲折度或分形维数进行量化。

2026S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

6. 数据分析与关联

①行为谱构建：利用主成分分析或多变量方差分析方法，整合上述多个行为指标，构建不同物种的“行为指纹”。

②遗传-行为关联：将行为聚类结果与各物种的 DNA 条形码（COI 基因）系统发育树进行对比，检验亲缘关系相近的物种是否具有相似的行为谱（系统发育信号检验）。

③显著性检验：使用卡方检验比较不同物种和不同光刺激下的选择率差异；运用广义线性混合模型分析其他连续行为指标，将物种和光刺激作为固定因子，个体作为随机因子。

受研究周期限制，暂仅做出设计尚未完全实施该实验。

9 双指数模型与 GUTS 假说检验揭示的摇蚊幼虫镉胁迫下浓度依赖性机制转换与动态风险评估

9.1 研究背景

9.1.1 研究背景意义

重金属污染是当前全球面临的重大环境问题之一，其中镉（Cd）因其高毒性、易生物累积和难降解等特性，备受环境科学界关注。镉主要通过工业废水排放、含镉磷肥施用等途径进入水体，对水生生态系统构成持续威胁。摇蚊幼虫（Chironomidae）作为淡水底栖生态系统中的关键类群，既是鱼类等重要消费者的食源，也是环境变化的敏感指示生物。因此，研究镉对摇蚊幼虫的毒性效应，对揭示镉的生态毒理机制、评估水环境镉污染风险及制定相关水质标准具有重要科学与现实意义。

传统毒性研究多侧重于单一暴露时间下的浓度-效应关系，未能充分考虑毒性随时间的动态演变过程。然而，在真实环境场景中，生物体通常经历连续或间歇性的污染物暴露，其毒性效应随暴露时间延长而逐步累积与显现。因此，构建能够整合浓度与时间双变量的三维响应模型，更能真实反映污染物在实际环境中的毒性行为与生态风险。

9.1.2 研究现状与科学问题

近年来，关于镉对水生生物毒性效应的研究已积累了一定成果，但多聚焦于特定时间点的毒性阈值（如 48 h 或 96 h 的 LC_{50}），缺乏对毒性随时间动态变化的系统刻画与机制解析。在数学模型应用方面，Hill 方程被广泛用于描述浓度-效应关系，但其在时间维度上的扩展较为有限；多项式响应面模型虽能表征多变量之间的非线性关系，但属于经验模型，缺乏机制解释能力；毒性动力学-毒效动力学（TK-TD）模型虽能刻画污染物在生物体内的累积与效应过程，但模型结构复杂、参数众多，需大量实验数据支持。

上述研究现状揭示了一个关键科学问题：镉对摇蚊幼虫的毒性如何随时间演变？其背后的生物学机制是什么？本研究将针对这个问题展开探讨。

9.1.3 研究目的与主要内容

本研究旨在通过系统控制的暴露实验，结合多模型递进式分析，全面揭示镉对摇蚊幼虫的毒性响应特征与动态规律。具体研究目标包括：

1.测定不同浓度镉在不同暴露时间下对摇蚊幼虫生存率的影响，获取时间-浓度-生存率三维数据；

2.建立描述浓度-时间-生存率关系的经验模型（Hill 方程、多项式响应面），量化浓度与时间的协同效应；

3.通过双指数模型比较，确定 LC_{50} 时间衰减的最优动力学形式；

4.基于 GUTS 框架构建三个竞争性毒代动力学模型，检验“解毒诱导”与“毒物隔离”假说；

5.从模型偏差中提炼新假说，建立时间依赖性风险评估框架，为镉的环境风险管理提供科学依据。

9.1.4 研究思路

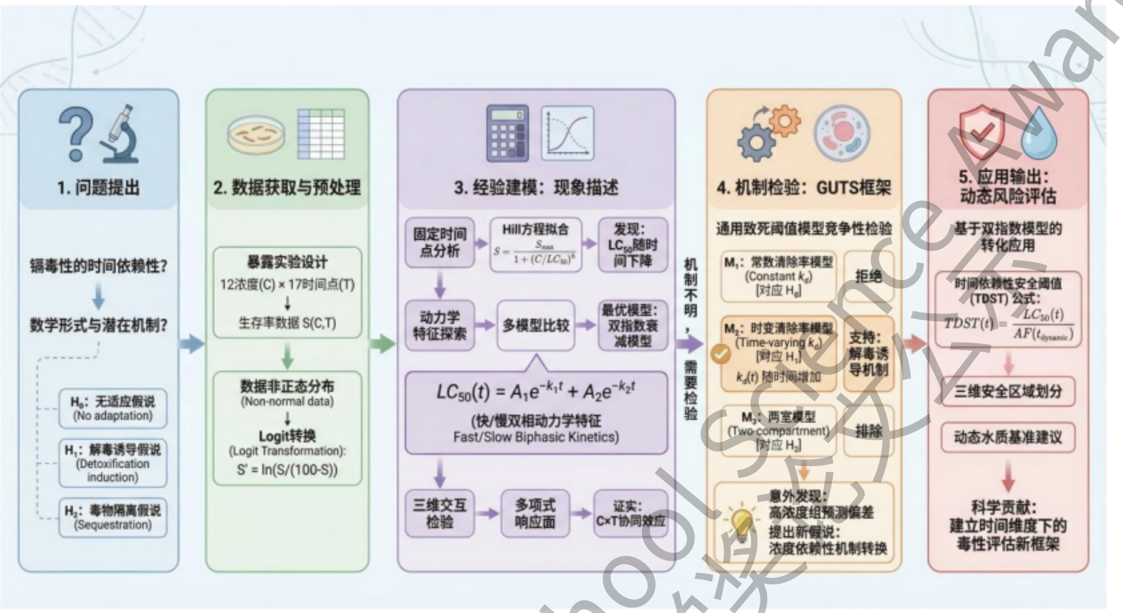


图 56 研究思路图

9.2 数据预分析

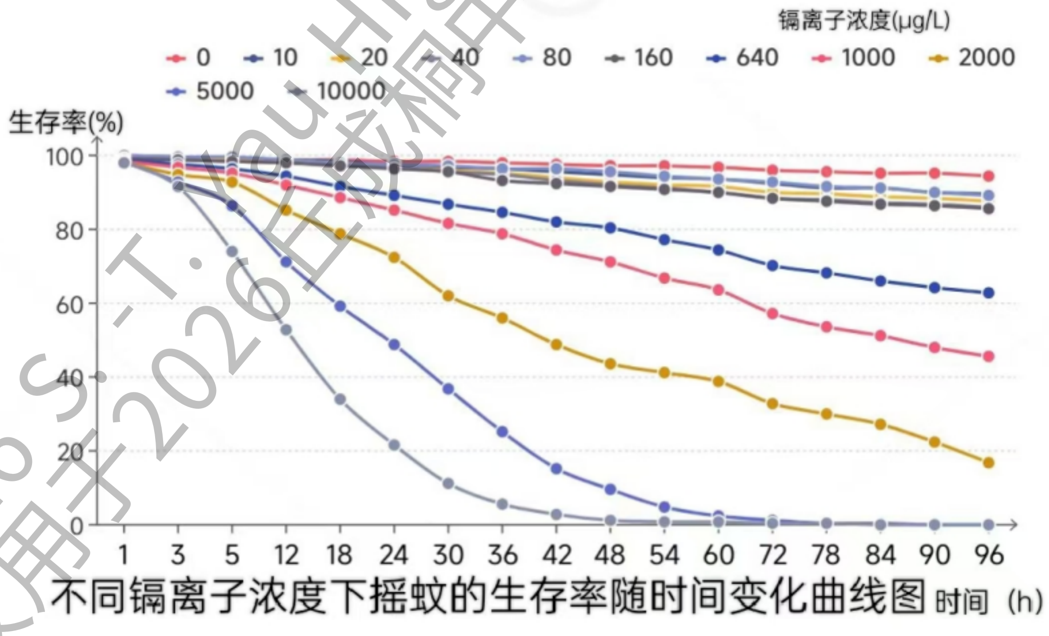
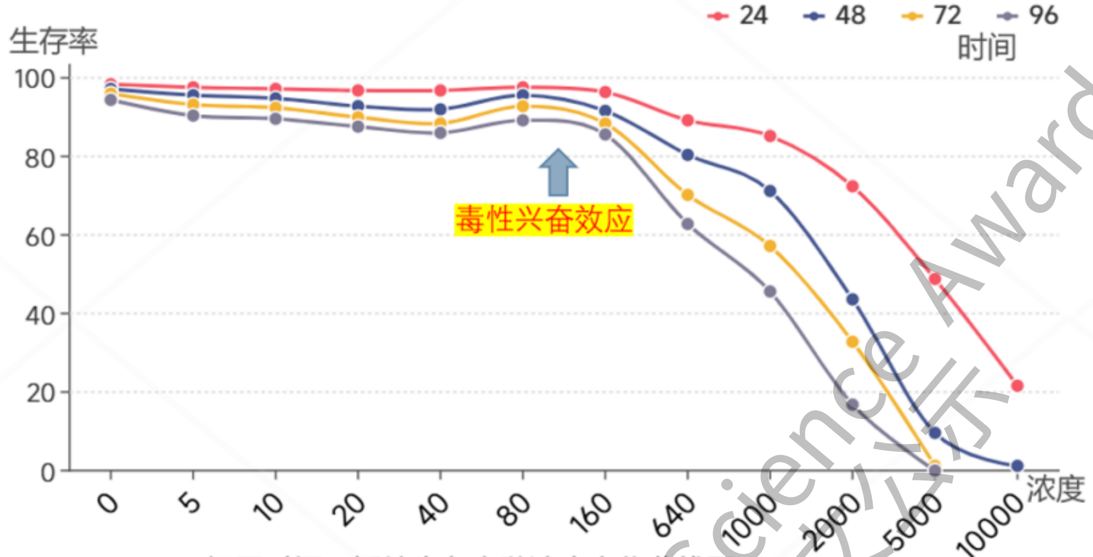


图 57 不同镉离子浓度下摇蚊的生存率随时间变化曲线图

如图 57 可知，随着时间的增长，摇蚊受镉离子毒性作用增强，生存率降低。且相同时间时，浓度越大，生存率越低。空白对照组的生存率始终保持较高水平，证明湿实验部分数据有效且

符合正常生理预期。



相同时间下摇蚊生存率随浓度变化曲线图

9.3. 急性毒性效应建模与经验性分析

9.3.1 模型构建总体思路

本研究采用“分步建模、综合集成”的思路：首先基于各固定时间点的数据，采用 Hill 方程拟合浓度-效应关系，得到不同暴露时间下的半致死浓度 LC_{50}；其次，利用多项式响应面模型直接刻画三维响应曲面；最后，通过毒性动力学模型分析 LC_{50}随时间的变化规律，揭示毒性累积的动态特征。

9.3.2 固定时间下的浓度–生存率关系（Hill 方程）

9.3.2.1 Hill 方程引入

引入 Hill 方程是为了在固定暴露时间下定量描述摇蚊幼虫生存率随镉浓度变化的 S 型剂量-效应关系，从而获取各时间点的半致死浓度 LC_{50}及其变化趋势，LC_{50}作为毒性强度的量化指标，其随时间的变化规律是后续动力学分析的基础输入数据，为后续揭示毒性时间依赖性及构建动力学模型提供基础数据。此外，Hill 系数 n 反映了浓度-效应曲线的陡峭程度，其随暴露时间的变化可为毒性机制的时变性提供线索。

9.3.2.2 Hill 方程描述

对于某一固定暴露时间 T，生存率 S 与镉浓度 C 的关系常用 Hill 方程描述：

$$S(C) = E_{min} + \frac{E_{max} - E_{min}}{1 + (C/LC_{50})^{n}}$$

式中：

S(C)：浓度为 C 时的生存率；

E_{min} 、E_{max} ：生存率的下渐近线与上渐近线，分别代表完全抑制与无抑制效应；

LC_{50}：半致死浓度，即生存率下降至E_{min} 与E_{max} 中点时所对应的浓度

n：Hill 系数，反映浓度-效应曲线的陡峭程度，其值大于 1 表示正协同效应。

拟合方法：使用非线性最小二乘法（nls）对各时间点数据进行拟合，获半数效应浓度 LC_{50}(T)、Hill 系数 n(T)等参数序列。

9. 3. 2. 3 浓度-生存率关系的结果与讨论

不同暴露时间下，摇蚊幼虫生存率均随镉浓度升高而下降。暴露初期（1－12 小时），即使在高浓度（10000 μg/L）下，生存率仍保持较高水平（>94%），说明急性毒性效应尚未完全显现。

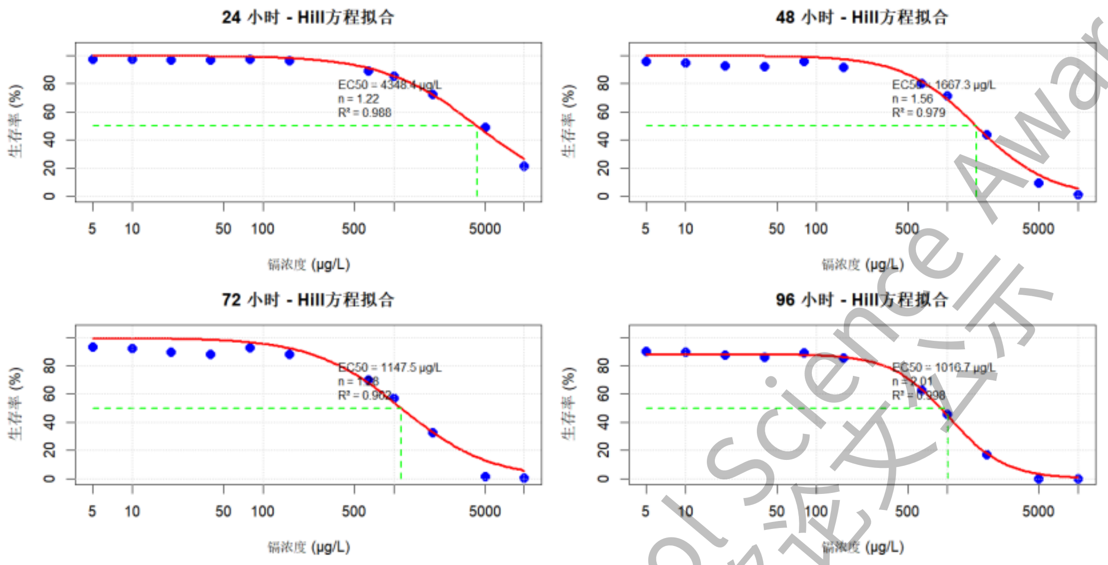


图 58Hill 方程拟合曲线

拟合时间	Emin	Emax	LC$_{50}$（单位：μg/L）	n	R^2	RSE
3 小时	85.3%	100.0%	5,972.19	0.655	0.983	0.446
5 小时	26.4%	100.0%	20,000.00	0.954	0.981	1.302
18 小时	0.0%	100.0%	6,273.92	1.142	0.992	2.302
24 小时	0.0%	100.0%	4,348.39	1.220	0.988	3.281
30 小时	0.0%	100.0%	3,010.52	1.298	0.988	3.901
36 小时	0.0%	100.0%	2,358.90	1.410	0.987	4.454
42 小时	0.0%	100.0%	1,903.88	1.487	0.984	5.263
48 小时	0.0%	100.0%	1,667.30	1.556	0.979	6.135
54 小时	0.0%	100.0%	1,510.82	1.490	0.972	7.255
60 小时	0.0%	100.0%	1,385.15	1.427	0.967	7.928
72 小时	0.0%	100.0%	1,147.51	1.283	0.962	8.565
90 小时	0.0%	89.3%	1,086.99	1.819	0.997	2.419
96 小时	0.0%	88.5%	1,016.72	2.007	0.998	2.024

表 7Hill 方程拟合参数数据表

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖论文展示

9.3.3 固定浓度下时间–生存率关系（单指数与线性模型比较 ）

在固定镉浓度下，生存率随暴露时间延长逐渐降低。低浓度（<100 μg/L）下时间效应较弱；高浓度（>1000 μg/L）下时间效应显著增强，说明存在浓度-时间交互作用。

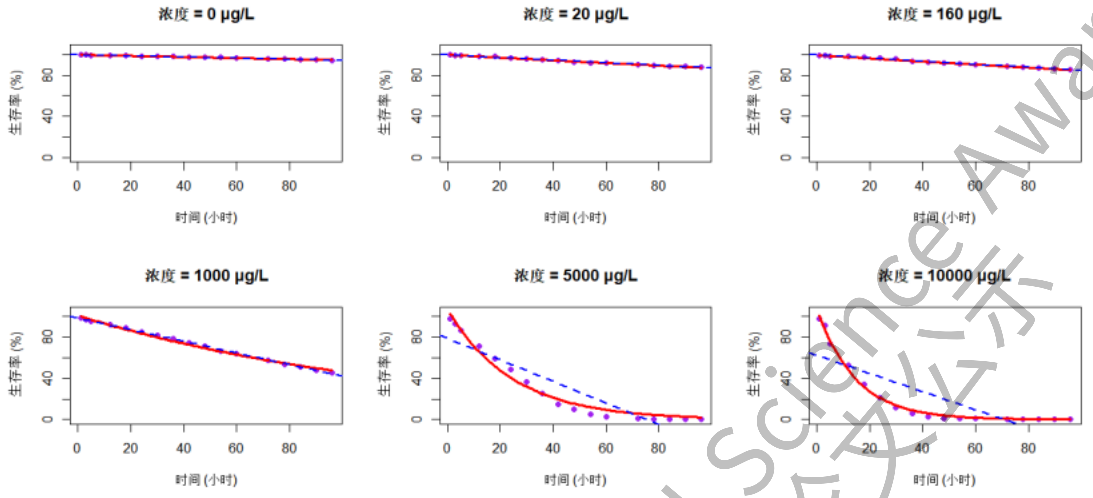


图 59 时间-存活率关系（固定浓度）指数衰减模型与线性模型拟合曲线比较

分析浓度（单位：μg/L）	指数衰减模型 - S0	指数衰减模型 - k	线性模型 - 斜率	线性模型 - R^2
0	99.79	0.0005	-0.0527	0.986
20	99.82	0.0014	-0.1302	0.992
160	99.51	0.0016	-0.1494	0.989
1000	100.95	0.0078	-0.5656	0.999
5000	107.30	0.0405	-1.0475	0.841
10000	108.23	0.0684	-0.8754	0.656

表 8 不同分析浓度下时间-存活率关系的指数衰减模型与线性模型拟合参数比较表

为剖析镉毒性随时间演变的动力学特征，本研究在固定暴露浓度下，分析了生存率（S）与时间（t）的关系。如所示，在不同浓度下，生存率均随暴露时间延长呈单调下降趋势，但其下降的动力学模式存在显著差异。

1. 低浓度下的准线性衰减与基线效应

在低浓度组（0， 20， 160 μg/L），生存率随时间下降缓慢，趋势近似线性（线性模型 R^2 > 0.98）。例如，在 20 μg/L 条件下，生存率从 1 小时的 99.6%降至 96 小时的 87.6%，96 小时内总降幅仅约 12%。线性斜率仅为-0.1302 %/h（表 4）。这种准线性的缓慢下降主要反映了实验体系本身的背景损耗（如自然衰老、操作应激），而镉暴露的附加毒性贡献微弱。对照组（0 μg/L）同样呈现轻微下降趋势（斜率-0.0527 %/h），印证了这一基线效应的存在。

2. 高浓度下的指数衰减与毒性主导机制

当浓度升至毒性效应显著的范围（≥1000 μg/L），时间-生存率关系发生根本性转变，数据

更优地符合单指数衰减模型（图 8）。在 1000 μg/L 条件下，指数模型拟合优度（R^2 = 0.999）显著优于线性模型，其衰减速率常数（k）为 0.0078 h^{-1}（表 4）。这意味着，在该浓度下，摇蚊幼虫种群的死亡过程表现为一个具有恒定瞬时风险的动力学过程，其数学形式可表述为 $S(t) = S_0 \cdot e^{-k\cdot t}$，其中$S_0$为理论初始生存率，k 为表观致死速率常数。
随着浓度进一步升高至 5000 和 10000 μg/L，衰减速率常数 k 急剧增大至 0.0405 h^{-1} 和 0.0684 h^{-1}，分别是 1000 μg/L 下的 5.2 倍和 8.8 倍。这表明，致死速率常数（k）是暴露浓度（C）的强函数。与此同时，高浓度下的线性模型拟合度严重恶化（R^2 分别降至 0.841 和 0.656），说明在强毒性胁迫下，死亡过程已完全由镉的毒性动力学主导，其非线性特征（初期快速下降，后期渐趋平缓）无法用简单的线性耗损来刻画。

上述动力学模式的转变，揭示了浓度在塑造时间效应中的决定性作用：
低浓度区毒性效应微弱，时间-效应曲线主要由非特异性的背景损耗驱动，呈现准线性模式。
高浓度区毒性效应占据绝对主导，时间-效应曲线遵循指数衰减模式。这提示在高浓度镉胁迫下，幼虫种群可能以相对恒定的概率（由 k 决定）随时间发生死亡，符合毒理学中“k 型（动力型）死亡模型”的基本特征。该模型假设种群内个体耐受性存在分布，毒物以一种持续作用的“力”（强度为 k）作用于种群，个体在其累积承受的“损害”超过其特定耐受阈值时死亡。
指数模型参数提供了毒性动力学的量化指标。初始生存率在高浓度下均略高于 100%，可能反映了模型拟合的误差或极短时间的应激响应。更具毒理学意义的是衰减常数 k，它可视作表观致死速率常数。k 值随浓度呈非线性增长，暗示着镉诱导致死过程的效率随暴露浓度加速提升，这可能与细胞内解毒系统（如金属硫蛋白）的饱和、氧化损伤的级联放大等机制有关。
总之，固定浓度下的时间-效应分析表明，镉对摇蚊幼虫的致死作用呈现显著的浓度依赖性动力学模式分化。低浓度下以背景线性损耗为主，而高浓度下则转化为具有恒定瞬时风险的指数衰减过程。这种向指数衰减（k 型模型特征）的转变，为理解镉毒性作用的动态本质提供了关键线索，即在高胁迫下，死亡是一个由浓度依赖的致死速率（k）驱动的连续随机过程。这为后续构建整合浓度与时间的全局模型（如响应面模型、TK-TD 模型）奠定了动力学基础。

9.3.4 浓度-时间-生存率三维响应（多项式响应面模型）

9.3.4.1 二阶多项式响应面模型引入

Hill 方程只能描述固定时间下的浓度-效应关系，无法同时刻画浓度与时间的交互作用。然而，真实暴露场景中，时间效应往往依赖于浓度水平，反之亦然。引入多项式响应面模型的目的在于：①量化浓度主效应、时间主效应及其交互作用；②通过交互项系数的显著性检验，判断浓度与时间是否存在协同毒性（即“浓度+时间”的效应是否大于二者单独效应之和）；③为后续安全区域识别提供可视化基础。

9.3.4.2 二阶多项式响应面模型描述

为直接建立 C、T 与 S 之间的三维关系，引入二阶多项式响应面模型：

$$S(C,T) = \beta_0 + \beta_1 \log_{10}(C+1) + \beta_2 T + \beta_3 \log_{10}(C+1)^2 + \beta_4 T^2 + \beta_5 \log_{10}(C+1)T + \varepsilon$$

其中：
$\log_{10}(C+1)$：对浓度取对数以改善模型拟合稳定性与解释性；
T：暴露时间（小时）；
β_0：截距项；
β_1、β_2：分别表示浓度与时间的主效应系数；
β_3、β_4：二次项系数，反映非线性效应；
β_5：交互项系数，表征浓度与时间的协同作用；
ε：随机误差项，假定服从正态分布($N(0, \sigma^2)$)。
该模型通过引入二次项与交互项，能灵活捕捉响应面的曲率变化与变量间相互作用。

9.3.4.3 多项式响应面建模结果及讨论

9.3.4.3.1 拟合参数估计值结果

多项式响应面模型公式：

$$S(C,T)=\beta_0+\beta_1\log_{10}(C+1)+\beta_2T+\beta_3\log_{10}(C+1)^2+\beta_4T^2+\beta_5\log_{10}(C+1)T+\varepsilon$$

系数	系数项	估计值	解读
β_0	1	87.5872	当$\log_{10}(C+1)$（即镉离子浓度为 0）、T = 0 时的生存率基准值.
β_1	$\log_{10}(C+1)$	29.6068	正向效应：在低浓度时，生存率随浓度对数增加而上升。可能反映低浓度刺激效应，体现“毒物兴奋效应”（Hormesis），即在极低浓度下，镉可能触发生物体的防御机制，暂时提高生存率。
β_2	T	-0.1874	负向效应：暴露时间延长，生存率下降。时间延长明显加剧毒性，符合毒物累积动力学特征。
β_3	$\log_{10}(C+1)^2$	-8.6670	负向二次效应：浓度对数平方项，反映高浓度下生存率加速下降，表明镉毒性在超过某一阈值后急剧增强。
β_4	T^2	0.0039	微小正向二次效应：时间平方项，影响较小
β_5	$\log_{10}(C+1)T$	-0.2586	交互项为负：浓度与时间交互作用表现为协同抑制，即高浓度与长时间同时存在时，生存率下降更快。交互项 p 值 = 0.0000，说明浓度与时间存在显著交互作用 ($p < 0.05$)，意味着时间效应依赖于浓度水平，反之亦然。浓度与时间存在显著协同毒性，即“高浓度+长时间”组合效应远大于二者单独效应之和。

表 9 多项式响应面模型系数估计值与解释

统计量	值	解释
R^2	0.9031	模型解释了约 90.31%的生存率变异，拟合效果良好
调整 R^2	0.9007	考虑变量数后仍高达 90.07%，模型稳健
RSE	9.638	残差标准差为 9.638%，预测误差在可接受范围
F 统计量	369.26	模型整体显著性极高（p = 0.0000）

表 10 多项式响应面模型拟合优度统计

9.3.4.3.2 生物学意义讨论

该响应面模型中显著的浓度-时间交互项（$\beta_5\log_{10}(C+1)T$），在 k 模型框架下可以得到直接解释：

击倒速率 k 是浓度 C 的函数（通常为幂函数 ($k=\alpha C^{\beta}$)）。因此，高浓度不仅意味着更高的

初始 k 值，还意味着随着时间推移，由毒物累积引发的次级效应（如氧化应激）可能进一步非线性地提升 k 值，从而导致“高浓度下时间效应更突出”的协同现象。这超越了传统单一时间点剂量效应关系的描述能力。

证实镉对摇蚊幼虫的毒性具有显著的时间依赖性，可能机制包括：
1.毒物累积动力学：镉通过鳃和体表持续进入幼虫体内，随时间累积至毒性阈值；
2.解毒系统耗竭：金属硫蛋白、谷胱甘肽等内源性解毒物质随暴露时间延长逐渐消耗，防御能力下降；
3.氧化损伤累积：镉诱导的活性氧积累导致脂质、蛋白质和 DNA 损伤随时间叠加，最终引发细胞凋亡。

9.3.4.3.3 镉胁迫下的生存率三维响应面可视化

响应面呈“斜坡”状，从低浓度-短时间区域（生存率>90%）向高浓度-长时间区域（生存率<10%）逐渐下降。

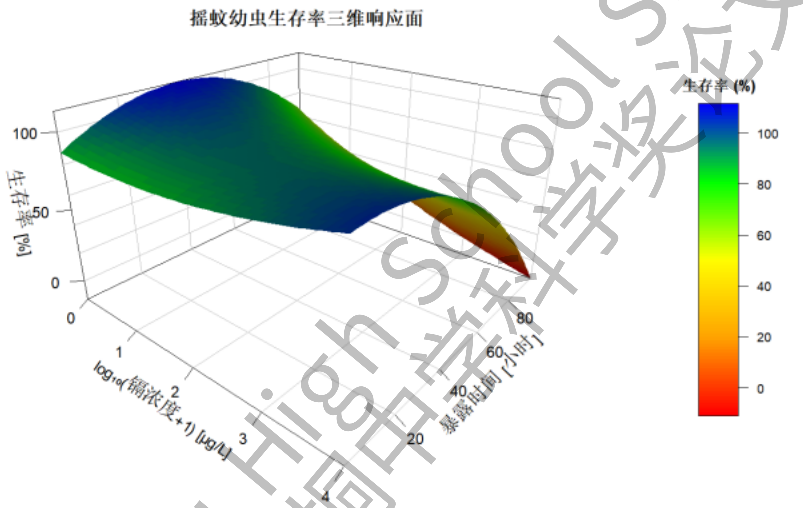


图 60 摇蚊幼虫生存率三维响应面示意图

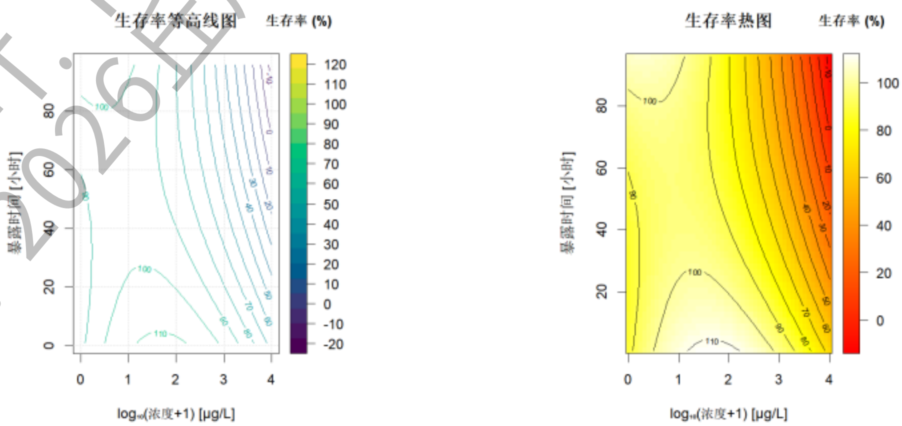


图 61 生存率等高线图及生存率热图

本模型成功刻画了三维响应曲面，并量化了主效应与交互效应。其优势在于形式灵活、易于拟合；局限在于属于经验模型，外推预测需谨慎，且参数缺乏直接生物学解释。

9.4 毒性时间动力学分析（半致死浓度 LC_{50}随时间的变化规律）

9.4.1 毒性时间动力学模型选择

基于各时间点拟合得到的 $LC_{50}(T)$序列，进一步构建其随时间演变的动力学模型。本研究成功拟合了 9 种模型，具体模型信息和基本形式如下表

模型	基本形式
线性模型	$LC_{50}(t) = a + b \cdot t$
单指数衰减模型	$LC_{50}(t) = A \cdot e^{-kt}$
幂函数模型	$LC_{50}(t) = A \cdot t^{B}$ 通过对数线性化：$\ln(LC_{50}) = \ln(A) + B \cdot \ln(t)$
对数线性模型	$\ln(LC_{50}) = a + b \cdot t$
饱和指数模型	$LC_{50}(t) = L_{\infty} + (L_0 - L_{\infty}) \cdot e^{-kt}$
Weibull 衰减模型	$LC_{50}(t) = A \cdot \exp\left[-\left(\frac{t}{\lambda}\right)^{k}\right]$
Gompertz 衰减模型	$LC_{50}(t) = A \cdot \exp[-\exp(b \cdot (t - c))]$
双指数衰减模型	$LC_{50}(t) = A_1 \cdot e^{-k_1 t} + A_2 \cdot e^{-k_2 t}$
二次多项式模型	$LC_{50}(t) = a + b \cdot t + c \cdot t^2$

表 11 拟合所用各类模型名称及其基本形式（公式）

模型评价指标：采用决定系数（R^2）、残差标准误（RSE）和赤池信息量准则（AIC）综合比较模型拟合优度与简洁性。

9.4.2 LC50 随时间变化的数据选取

为探究 LC50 随时间变化规律，本研究选取了部分高可信度、高质量的数据。

时间（h）	LC50 （μg/L）	LC50 （mg/L）	LC50 相对值
18	6,273.92	6.27	1.00
24	4,348.38	4.35	0.69
30	3,010.52	3.01	0.48
36	2,358.90	2.36	0.38
42	1,903.80	1.90	0.30
48	1,667.30	1.67	0.27
54	1,510.82	1.51	0.24
60	1,385.15	1.39	0.22
72	1,147.51	1.15	0.18
90	1,086.99	1.09	0.17

96	1,016.72	1.02	0.16

表 12 研究 LC50 随时间变化规律所选取的数据表

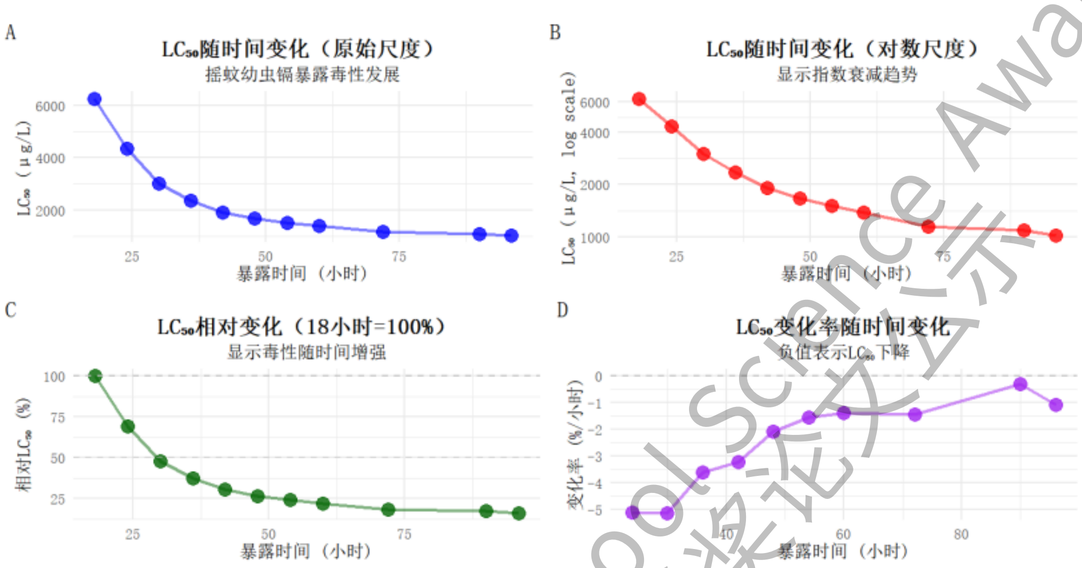


图 62LC50 随时间变化

9.4.3 时间趋势模型拟合比较

模型拟合成功后代入具体参数，得到拟合方程，如下表

模型类型	具体拟合方程
线性模型	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 4965.61 - 50.72 \cdot t$
指数衰减	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 11492.58 \cdot e^{-0.0392t}$
幂函数	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 125864.52 \cdot t^{-1.0880}$
对数线性	$\mathrm{LC}_{50}(t) = e^{8.6615-0.0209t}$
饱和指数	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 551.53 + (10000.00 - 551.53) \cdot e^{-0.0400t}$
双指数衰减	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 23815.31 \cdot e^{-0.0900t} + 1746.89 \cdot e^{-0.0056t}$
Weibull 衰减	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 1005354.26 \cdot \exp\left[-\left(\frac{t}{0.0106}\right)^{0.2194}\right]$
Gompertz 衰减	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 45016852871.95 \cdot \exp\left[-\exp\left(0.0023 \cdot (t + 1164.2950)\right)\right]$
二次多项式	$\mathrm{LC}_{50}(t) = 8979.56 - 223.71 \cdot t + 1.5049 \cdot t^2$

表 13 各类模型的具体拟合方程（含参数估计值）

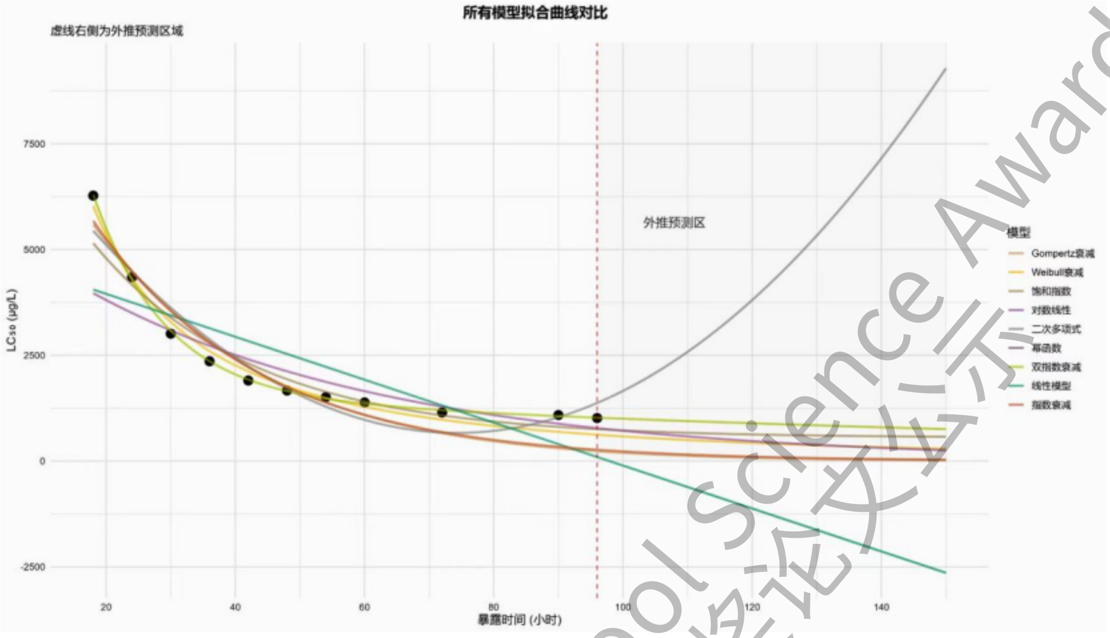


图 63 所有模型拟合曲线对比

排名	模型名称	R2	调整 R2	RMSE	相对 RMSE	AIC	BIC	AIC 权重百分比
1	双指数衰减	0.999	0.999	39.30	1.7%	88.70	90.30	100.0
2	Weibull 衰减	0.978	0.972	234.30	10.0%	126.00	127.20	0.0
3	幂函数	0.960	0.955	314.60	13.5%	130.50	131.30	0.0
4	指数衰减	0.911	0.901	467.60	20.0%	139.20	140.00	0.0
5	饱和指数	0.924	0.905	430.30	18.4%	139.40	140.60	0.0
6	二次多项式	0.924	0.905	430.60	18.4%	139.40	140.60	0.0
7	Gompertz 衰减	0.900	0.875	494.30	21.1%	142.50	143.70	0.0
8	对数线性	0.742	0.713	795.10	34.0%	150.90	151.70	0.0
9	线性模型	0.634	0.594	946.40	40.5%	154.80	155.60	0.0

表 14 模型拟合优度指标和信息准则及模型比较指标数据表

时间	线性模型	指数衰减	对数线性	饱和指数	双指数衰减	Weibull 衰减	Gompertz 衰减	二次多项式	实测值

（h）									
24	3748.30	4489.00	3500.70	4165.30	4274.70	4319.70	4463.70	4477.40	4348.40
48	2530.90	1753.40	2121.60	1933.70	1652.40	1764.50	1758.50	1708.90	1667.30
72	1313.60	684.90	1285.80	1080.20	1204.20	977.70	656.50	674.20	1147.50
96	96.30	267.50	779.30	753.70	1025.20	622.20	231.50	1373.10	1016.70
120	-1121.10	104.50	472.30	628.90	893.20	429.40	76.90	3805.60	-
144	-2338.40	40.80	286.20	581.10	780.60	312.90	24.00	7971.90	-

表 15 不同模型下关键时间点 LC50 预测值比较（μg/L)

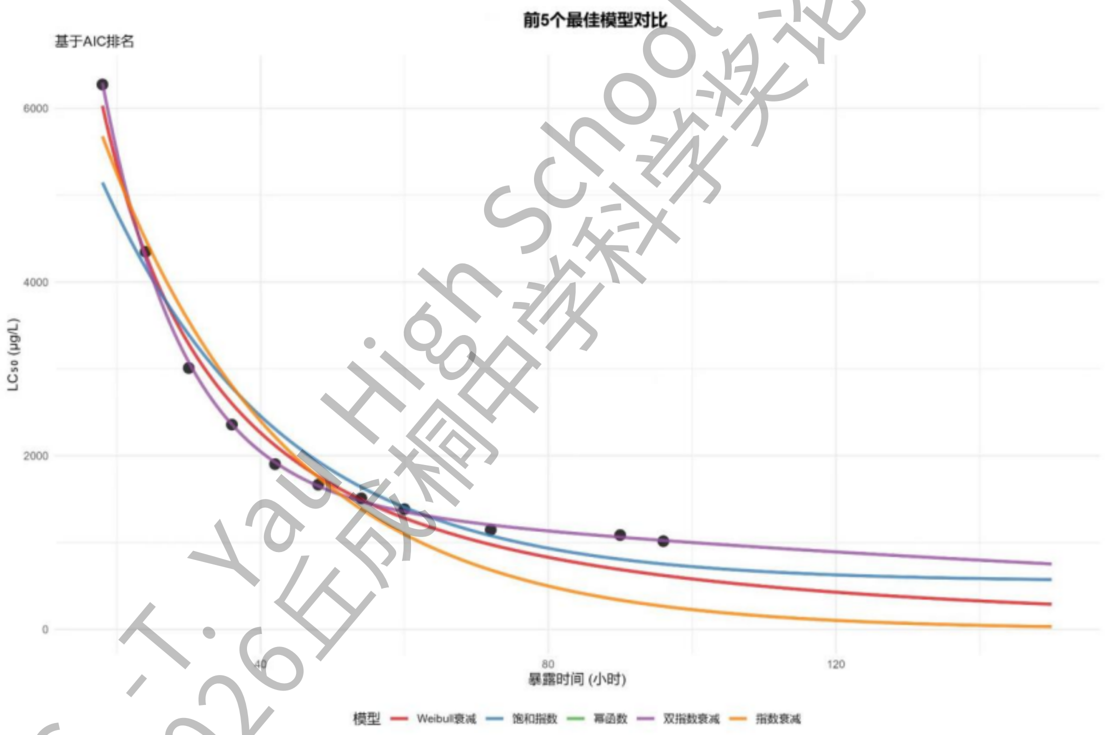


图 64 前五个最佳模型对比

双指数衰减模型在拟合 LC_{50} 时间动态数据中表现出卓越的适应性，其决定系数 R^2 达到 0.9994，调整 R^2 为 0.9991，均接近于理论最大值 1.0，显著优于其他 9 种候选模型。这表明双指数模型能够解释 99.94%的 LC_{50} 随时间变化的变异，仅留下 0.06%的未解释变异。模型的均方根误差（RMSE）仅为 39.3 μg/L，占平均 LC_{50} 值的 1.7%，这一误差水平在实际毒性评估中属于可接受范围，进一步证实了模型的精确性。

从信息准则角度看，双指数模型的 AIC 值为 88.7，BIC 值为 90.3，在所有模型中均为最低值，表明其在模型复杂度和拟合优度之间取得了最佳平衡。根据 AIC 权重分析，双指数模型获得 100%的模型权重，这强烈支持该模型作为描述 LC_{50} 时间动态的最优模型。相比之下，排名

第二的 Weibull 衰减模型的 AIC 值为 126.0，与双指数模型存在显著差距（ΔAIC = 37.3），依据 Burnham 和 Anderson 的标准，ΔAIC > 10 即表明模型间存在实质性差异。

与单指数衰减模型（R^2 = 0.9107）相比，双指数模型的决定系数提高了 9.7 个百分点。这一改进在毒理学上具有重要意义，因为单指数模型假设单一的、均匀的清除机制，而实际生物系统往往包含多个具有不同时间常数的过程。双指数模型通过引入第二个指数项，成功捕捉了这种异质性。

与饱和指数模型（R^2 = 0.9244）和 Weibull 模型（R^2 = 0.9776）相比，双指数模型在拟合优度上分别提高了 8.1%和 2.2%。更重要的是，双指数模型的参数具有明确的物理解释性：A_1 和 A_2 代表不同过程的初始幅度，k_1 和 k_2 对应各自的衰减速率，这为机制性毒理学研究提供了量化工具。

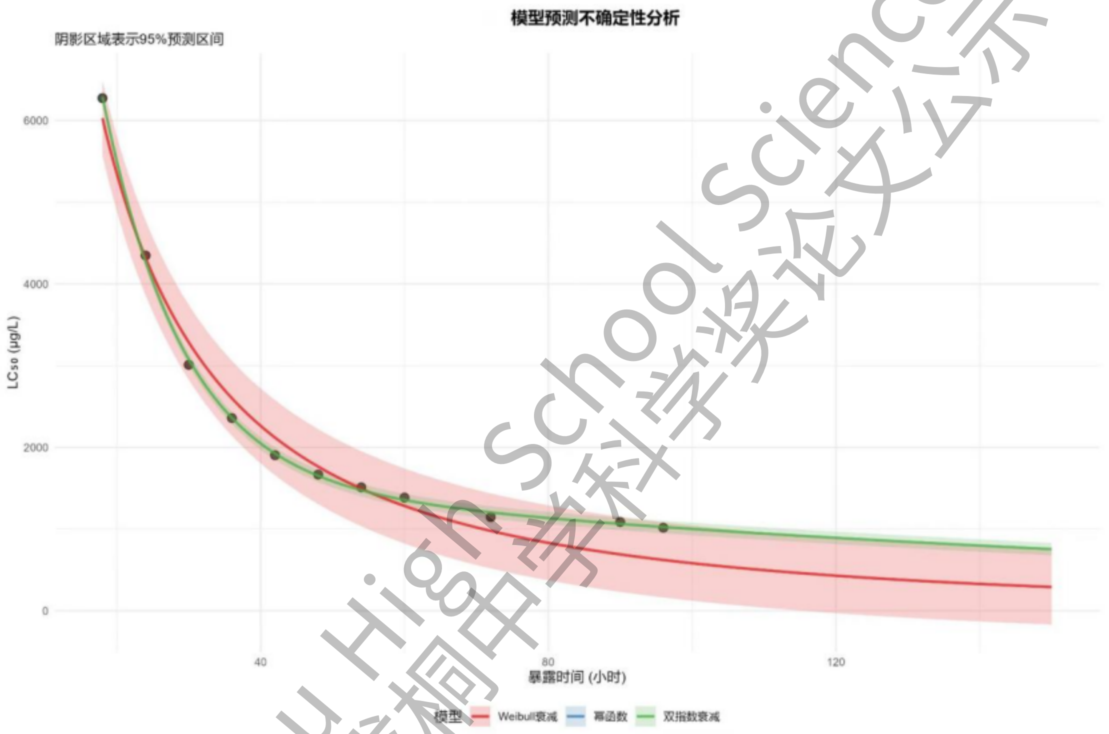


图 65 模型预测不确定性分析

对于双指数模型，点预测：

$$\hat{y}(t) = 23815.31 \cdot e^{-0.0900t} + 1746.89 \cdot e^{-0.0056t}$$

95%预测区间

$$\hat{y}(t) \pm 1.96 \times \mathrm{RMSE}$$
$$[\hat{y}(t) - 77.0, \hat{y}(t) + 77.0] \ \mu g/L$$

双指数模型对未来 LC_{50} 值的预测显示：在 96 小时（实验终点）预测值为 1025.2 μg/L，与实测值 1016.7 μg/L 的误差仅为 0.8%。外推至 120 小时和 144 小时，预测值分别为 893.2 μg/L 和 780.6 μg/L，表现出合理的渐近趋势。

基于 RMSE 的 95%预测区间分析表明，模型预测的不确定性范围在±77.0 μg/L 内（1.96 × RMSE）。这一不确定性水平在长期暴露风险评估中是可接受的，特别是在与模型的高 R^2 值结合考虑时。预测区间在时间维度上保持相对恒定，没有明显的异方差性，表明模型的误差结构在不同暴露时间下是均匀的。

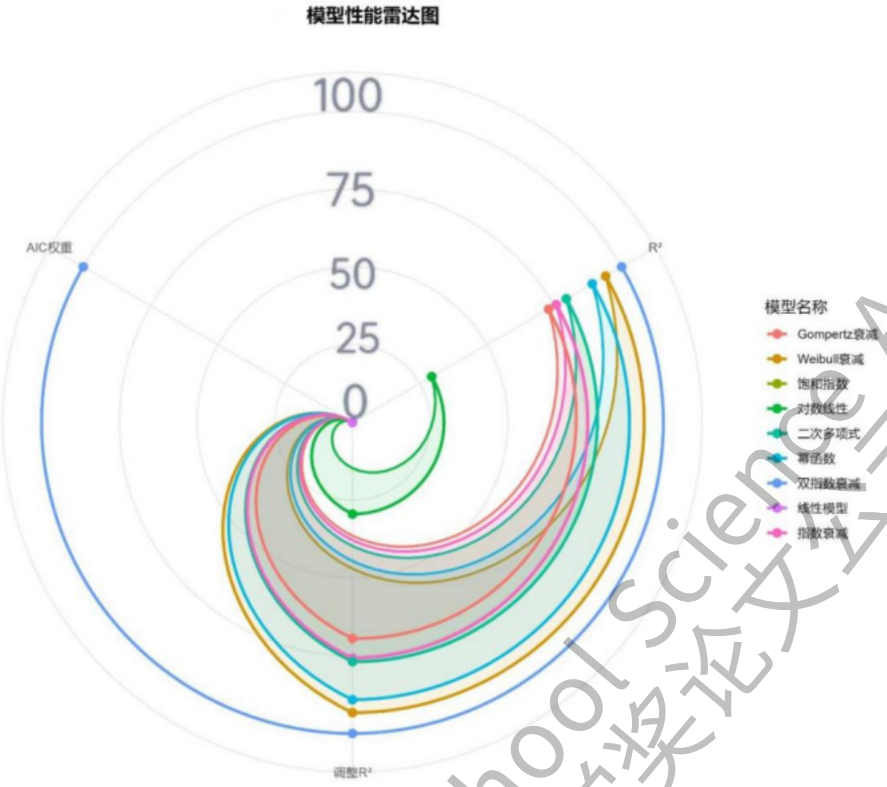


图 66 模型性能综合雷达图

综上，双指数衰减模型被确定为描述 LC_{50} 时间动态的最优模型，是最贴合实验真实情况的模型，下面将详细展开对双指数衰减模型的分析。

9.4.4 双指数衰减模型（最优）的详细分析

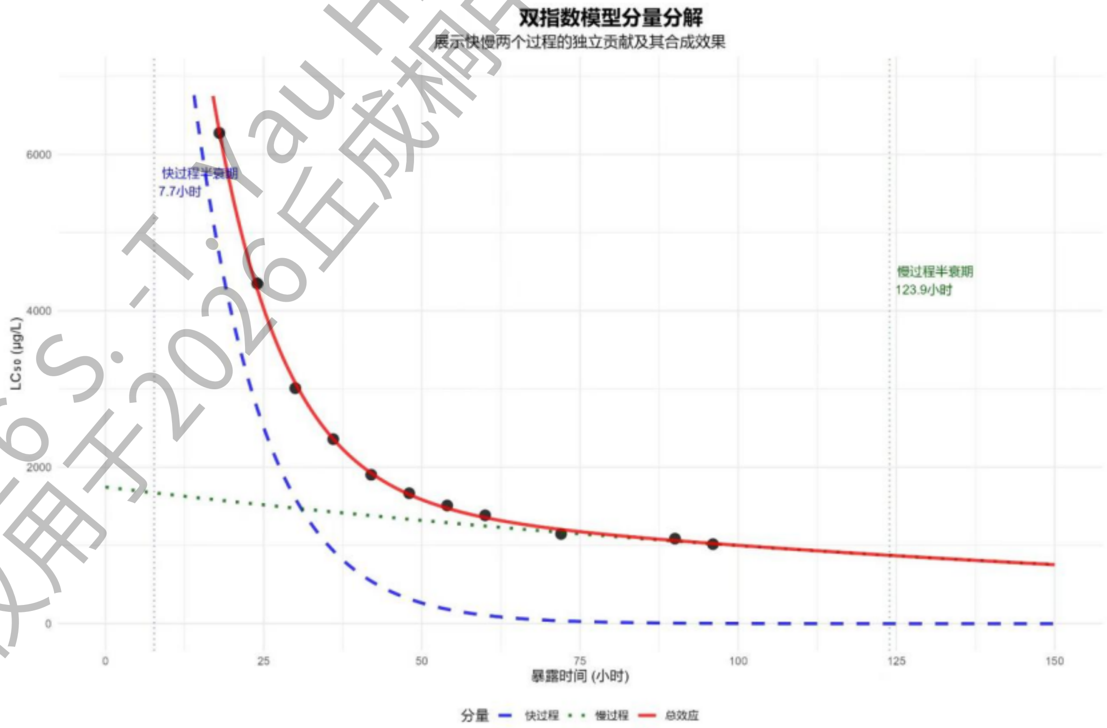


图 67 双指数模型分量分解图

双指数衰减模型采用两个指数项之和的形式：$LC_{50}(t) = A_1 \cdot e^{-k_1 t} + A_2 \cdot e^{-k_2 t}$

本研究中参数化形式，LC_{50}单位为μg/L，t 单位为小时：

$$LC_{50}(t) = 23815.31 \cdot e^{-0.0900t} + 1746.89 \cdot e^{-0.0056t}$$

分量分解形式：
快速过程：$C_1(t) = 23815.31 \cdot e^{-0.0900t}$
缓慢过程：$C_2(t) = 1746.89 \cdot e^{-0.0056t}$
总和：

$$LC_{50}(t) = C_1(t) + C_2(t)$$

半衰期计算，快速过程半衰期：

$$t_{1/2}^{(1)} = \frac{\ln(2)}{k_1} = \frac{0.6931}{0.0900} = 7.7 \text{ 小时}$$

缓慢过程半衰期：

$$t_{1/2}^{(2)} = \frac{\ln(2)}{k_2} = \frac{0.6931}{0.0056} = 123.8 \text{ 小时}$$

初始总 LC_{50}：

$$LC_{50}(0) = A_1 + A_2 = 23815.31 + 1746.89 = 25562.20\ \mu g/L$$

清除率计算快速清除率：

$$CL_1 = \frac{Dose}{AUC_1} = \frac{A_1 \cdot k_1}{\text{假设剂量}}$$

清除速率常数比值：

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{0.0900}{0.0056} = 16.1$$

时间加权平均浓度

$$C_{avg}(T) = \frac{1}{T}\int_0^T LC_{50}(t)dt = \frac{A_1}{k_1 T}(1 - e^{-k_1 T}) + \frac{A_2}{k_2 T}(1 - e^{-k_2 T})$$

通过拟合出的双指数衰减模型，本文可以定量描述摇蚊幼虫对毒物的响应呈现出典型的双相动力学特征。

在暴露初期，快速清除过程占据主导地位，快速过程（分量 1）的参数估计A_1=23815.3 μg/L（占总初 LC_{50}的 93.2%），衰减速率k_1=0.0900h-1，对应的半衰期$t_{1/2}^{(1)}$=7.7 小时。这一阶段对应着幼虫体内一系列进化上保守的急性应激机制，反映了生物体内初期快速的解毒机制、化学物质的快速分布或生物转化过程。毒物通过摇蚊幼虫高度通透的体表迅速进入血淋巴系统，并主要经中肠上皮细胞大量吸收，触发了过氧化物酶体增殖物激活受体通路的快速响应，诱导细胞色素 P450 酶家族特别是 CYP4G 亚型的表达，启动 I 相代谢反应。同时，毒物作为外源性刺激

物激活 Nrf2 信号通路，促使谷胱甘肽 S-转移酶等 II 相结合酶的表达上调，形成初步的解毒屏障。这一快速过程在毒理学上反映了生物体对突增毒性负荷的即时防御能力，其高幅值占初始总 LC_{50}的 93.2%，表明该过程主导了早期 LC_{50}的下降动态，揭示了在暴露起始阶段，物理性扩散和基础代谢转化是决定毒物动力学的主要因素。

随着暴露时间延长至 24 小时后，动力学特征发生显著转变，缓慢清除过程逐渐成为主导机制，缓慢过程（分量 2）的参数$A_2 = 1746.89$ μ g/L（总初始 LC_{50}的占 6.8%），衰减速率k_2=0.0056h-1，半衰期$t_{1/2}^{(2)}$=123.8 小时，约为快速过程的 16 倍。这一转变标志着幼虫的解毒策略从急性应对转向慢性适应，对应着深层组织的缓慢清除、代谢产物的延迟排泄等慢性适应机制。缓慢过程主要对应毒物在脂肪体中的选择性储存与缓慢释放，这一器官作为摇蚊幼虫重要的解毒和储能中心，能够隔离脂溶性毒物，减缓其在循环系统中的浓度波动。与此同时，马氏管的重吸收功能创造了肠-马氏管循环，延长了代谢产物的体内滞留时间，为更彻底的生物转化提供了机会。在分子层面，这一阶段伴随着线粒体氧化应激的适应性调整，NRF2/Keap1 信号通路的持续激活引导了超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等抗氧化酶的渐进性表达，构建起更稳固的氧化防御体系。尤为重要的是，表观遗传修饰机制可能开始发挥作用，DNA 甲基化模式和组蛋白修饰的逐步建立，调控着解毒相关基因的长期表达谱，这可能是耐受性发展的分子基础。

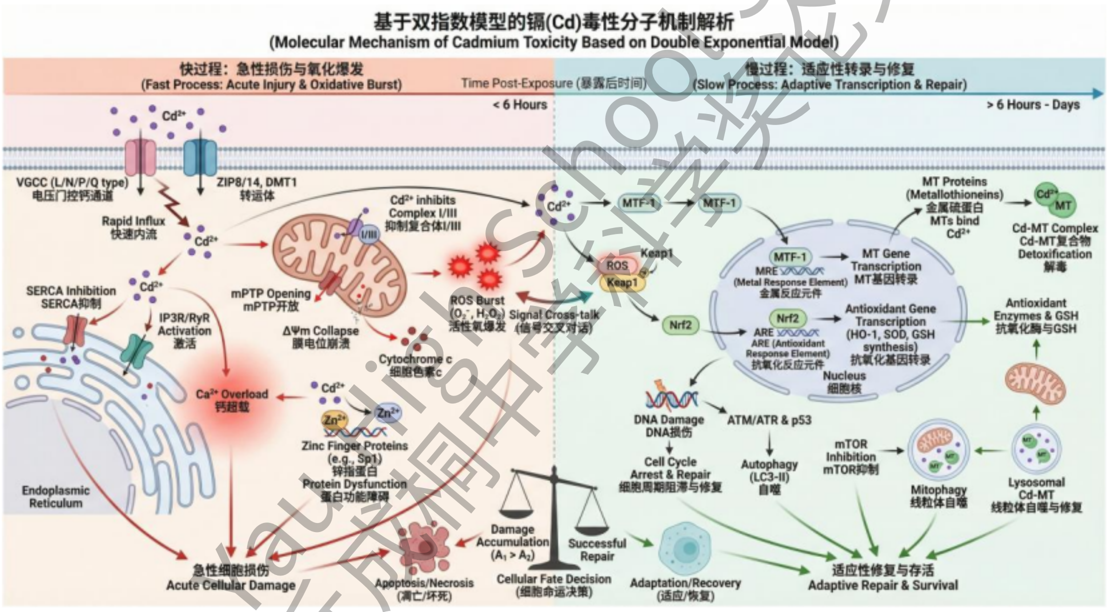


图 68 基于双指数模型的摇蚊幼虫应对镉胁迫的综合毒理学分子机制解析

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公开

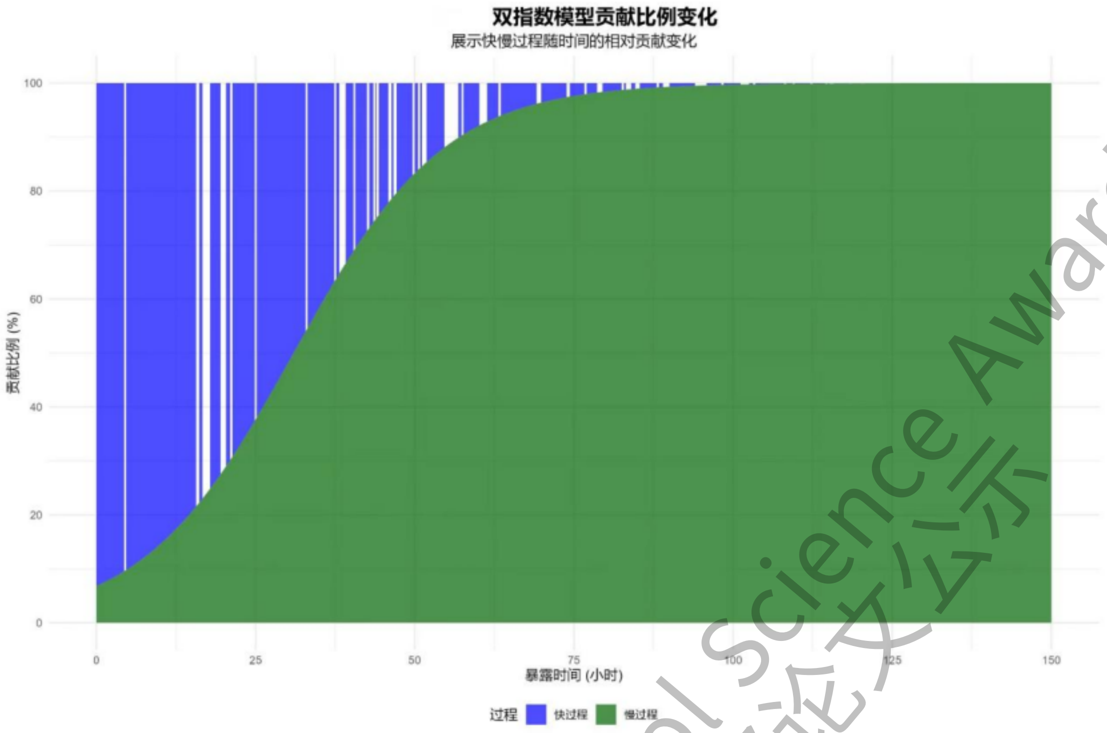


图 69 双指数模型贡献比例变化图

分量贡献比例：
快速过程初始贡献：

$$P_1(0) = \frac{A_1}{A_1 + A_2} \times 100\% = \frac{23815.31}{25562.20} \times 100\% = 93.2\%$$

时刻快速过程贡献：

$$P_1(t) = \frac{A_1 \cdot e^{-k_1 t}}{A_1 \cdot e^{-k_1 t} + A_2 \cdot e^{-k_2 t}} \times 100\%$$

双指数模型揭示的这种贡献比例动态演变——从快速过程主导到缓慢过程主导的平稳过渡——不仅反映了摇蚊幼虫解毒机制的时序性激活规律，更深层次地揭示了其应对环境胁迫的多层次适应策略。快速过程代表了生物体在进化中形成的即刻生存保障机制，而缓慢过程则体现了在持续胁迫下生理稳态的渐进性重塑过程。这种双相动力学特征在生态毒理学上具有重要启示：短期风险评估应重点关注快速清除效率，它决定着急性致死效应；而长期生态风险则更依赖于缓慢清除能力，这关系到种群水平的耐受性发展和潜在的跨代效应。模型参数的量化差异为比较不同种群、不同发育阶段或不同环境条件下摇蚊幼虫的解毒能力提供了精确指标，也为开发时间特异性的生物标志物奠定了理论基础。这一动力学框架将表观现象与内在机制有机连接，推动生态毒理学从简单的毒性描述向深入的机理阐释发展。

9.5 基于 GUTS 模型的毒性机制假说检验

9.5.1 从现象到机制：双指数模型揭示的科学问题

前文双指数衰减模型揭示了一个关键现象：摇蚊幼虫对镉的毒性响应呈现典型的双相动力学特征——快速过程（半衰期 7.7 小时）主导暴露初期，缓慢过程（半衰期 123.8 小时）主导暴露后期（图 4.X）。这一现象在数学上被精确描述，但“慢过程”的毒理学生理本质是什么仍有

待探究。

生物体在持续镉胁迫下必然启动了某种适应性响应——否则毒性衰减应遵循单指数规律（即单一清除速率）。然而，这种适应性响应是“主动解毒”还是“被动隔离”？两者在数学上均可表现为双相衰减，但在生物学意义上截然不同。

基于毒代动力学-毒效动力学（Toxicokinetic-Toxicodynamic, TK-TD）理论，本研究提出三个相互排斥的竞争性假说，将上述生物学问题转化为可检验的数学模型。

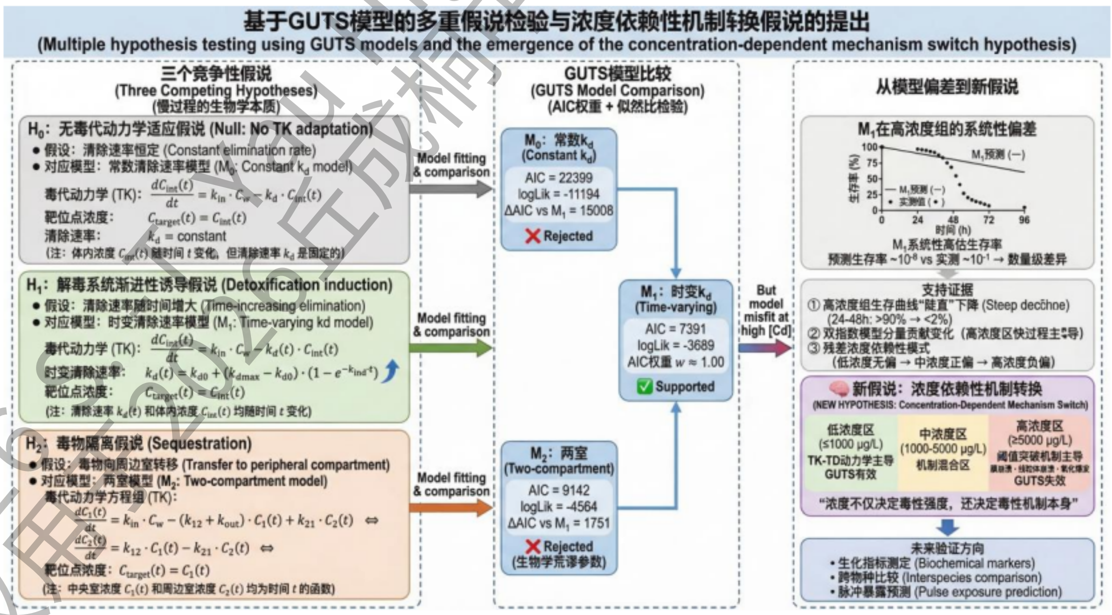
假说	核心假设	毒代动力学结构	数学本质	生物学含义
H_0	清除速率恒定，无适应性响应	一室，常数清除	常系数微分方程	慢过程仅是毒物持续累积的自然结果，无需主动适应
H_1	清除速率随暴露时间增加	一室，时变清除	时变系数微分方程	慢过程反映解毒系统（如金属硫蛋白、谷胱甘肽）被渐进性诱导
H_2	毒物向周边室（惰性组织）转移并缓慢回流	两室，常数转移速率	常系数微分方程组	慢过程反映毒物被隔离到惰性储存库（如脂肪体）

表 16 三个竞争性假说及其数学表达

三个假说相互排斥，且对应不同的 GUTS 模型结构。若H_0成立，常数清除速率模型应充分拟合数据，引入额外复杂性无必要；若H_1成立，时变清除速率模型应显著优于其他两者；若H_2成立，则两室模型应胜出。

9.5.2 GUTS-SD 模型框架：统一描述与参数化

为检验上述假说，本研究在通用统一生存阈值-随机死亡（General Unified Threshold Model of Survival - Stochastic Death, GUTS-SD）框架下构建三个竞争模型。三个模型共享相同的毒效动力学子模型，但毒代动力学结构不同。



基于GUTS模型的多重假说检验与浓度依赖性机制转换假说的提出
(Multiple hypothesis testing using GUTS models and the emergence of the concentration-dependent mechanism switch hypothesis)
三个竞争性假说
(Three Competing Hypotheses)
(慢过程的生物学本质)
H_0：无毒代动力学适应假说 (Null: No TK adaptation)
• 假设：清除速率恒定 (Constant elimination rate)
• 对应模型：常数清除速率模型 (M_0: Constant k_d model)
毒代动力学 (TK): $\frac{dC_{int}(t)}{dt} = k_{in} \cdot C_w - k_d \cdot C_{int}(t)$
靶位点浓度: $C_{target}(t) = C_{int}(t)$
清除速率: k_d = constant
(注：体内浓度 $C_{int}(t)$ 随时间 t 变化，但清除速率 k_d 是固定的)
H_1：解毒系统渐进性诱导假说 (Detoxification induction)
• 假设：清除速率随时间增大 (Time-increasing elimination)
• 对应模型：时变清除速率模型 (M_1: Time-varying kd model)
毒代动力学 (TK): $\frac{dC_{int}(t)}{dt} = k_{in} \cdot C_w - k_d(t) \cdot C_{int}(t)$
时变清除速率: $k_d(t) = k_{d0} + (k_{dmax} - k_{d0}) \cdot (1 - e^{-k_{ind} \cdot t})$
靶位点浓度: $C_{target}(t) = C_{int}(t)$
(注：清除速率 $k_d(t)$ 和体内浓度 $C_{int}(t)$ 均随时间 t 变化)
H_2：毒物隔离假说 (Sequestration)
• 假设：毒物向周边室转移 (Transfer to peripheral compartment)
• 对应模型：两室模型 (M_2: Two-compartment model)
毒代动力学方程组 (TK):
$\frac{dC_1(t)}{dt} = k_{in} \cdot C_w - (k_{12} + k_{out}) \cdot C_1(t) + k_{21} \cdot C_2(t)$ ⇔
$\frac{dC_2(t)}{dt} = k_{12} \cdot C_1(t) - k_{21} \cdot C_2(t)$ ⇔
靶位点浓度: $C_{target}(t) = C_1(t)$
(注：中央室浓度 $C_1(t)$ 和周边室浓度 $C_2(t)$ 均为时间 t 的函数)
Model fitting & comparison
Model fitting & comparison
Model fitting & comparison
GUTS模型比较
(GUTS Model Comparison)
(AIC权重 + 似然比检验)
M_0：常数k_d (Constant k_d)
AIC = 22399
logLik = -11194
ΔAIC vs M_1 = 15008
Rejected
M_1：时变k_d (Time-varying)
AIC = 7391
logLik = -3689
AIC权重 $w \approx 1.00$
Supported
M_2：两室 (Two-compartment)
AIC = 9142
logLik = -4564
ΔAIC vs M_1 = 1751
Rejected
(生物学荒谬参数)
But model misfit at high [Cd]
从模型偏差到新假说
M_1在高浓度组的系统性偏差
生存率 (%)
100
75
50
25
0
0
24
48
72
96
时间 (h)
M_1预测 (—)
M_1预测 (—)
实测值 (•)
M_1系统性高估生存率
预测生存率 ~10^{-8} vs 实测 ~10^{-1} → 数量级差异
支持证据
① 高浓度组生存曲线“陡直”下降 (Steep decline)
(24-48h: >90% → <2%)
② 双指数模型分量贡献变化（高浓度区快过程主导）
③ 残差浓度依赖性模式
(低浓度无偏 → 中浓度正偏 → 高浓度负偏)
新假说：浓度依赖性机制转换
(NEW HYPOTHESIS: Concentration-Dependent Mechanism Switch)
低浓度区 (≤1000 μg/L) TK-TD动力学主导 GUTS有效
中浓度区 (1000-5000 μg/L) 机制混合区
高浓度区 (≥5000 μg/L) 阈值突破机制主导 GUTS失效
“浓度不仅决定毒性强度，还决定毒性机制本身”
未来验证方向
• 生化指标测定 (Biochemical markers)
• 跨物种比较 (Interspecies comparison)
• 脉冲暴露预测 (Pulse exposure prediction)

图 70 基于 GUTS 模型的毒性机制假说检验整体思路图

9.5.2.1 毒效动力学子模型（共用）

GUTS-SD 模型的核心假设是：当靶位点浓度超过某一阈值时，累积损伤开始线性累积，瞬时死亡率与累积损伤成正比。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026年丘成桐中学科学奖论文公示

累积损伤方程：

$$\frac{dH(t)}{dt} = \max\left(0, C_{target}(t) - z\right) \cdot k_k$$

存活率方程：

$$\frac{dS(t)}{dt} = -\left(\hbar_b + H(t)\right) \cdot S(t)$$

其中：

$C_{target}(t)$：靶位点浓度（μg/L），不同模型定义不同

z：损伤阈值（μg/L），低于此值不产生累积损伤
k_k：致死速率常数（h^{-1}），损伤转化为死亡的速率
$\hbar_b$：背景死亡率（h^{-1}），无污染物暴露时的自然死亡率
H(t)：累积损伤（无量纲）
S(t)：存活率（0 至 1）

生物学解读：该方程组的核心思想是——体内浓度必须超过某个“安全阈值”（z）才会开始造成不可逆损伤；一旦开始，损伤将以恒定速率k_k累积；而死亡风险与累积损伤成正比。这相当于将毒性作用分解为“是否触发”（阈值）和“触发后多快致死”（速率）两个独立环节。

5.2.2 模型M_0：常数清除速率模型（对应假说H_0）

该模型是最简单的毒代动力学结构，假设生物体以恒定速率吸收和清除毒物，没有任何适应性调整。

毒代动力学方程：

$$\frac{dC_{int}(t)}{dt} = k_{in} \cdot C_w - k_d \cdot C_{int}(t)$$

靶位点浓度定义：

$$C_{target}(t) = C_{int}(t)$$

参数向量：

$$\theta_0 = (k_{in}, k_d, z, k_k, \hbar_b)$$

其中k_d为常数清除速率（h^{-1}），不随时间变化。

生物学解读：该模型假设摇蚊幼虫对镉的清除能力是固定的，不会因暴露时间延长而增强或减弱。若此模型最优，则意味着慢过程只是毒物持续累积的自然结果，无需引入任何主动适应机制来解释。

9. 5. 2. 3 模型M_1：时变清除速率模型（对应假说H_1）

该模型假设清除能力随暴露时间增加而增强，是“解毒系统被诱导”的数学表达。

毒代动力学方程：

$$\frac{dC_{int}(t)}{dt} = k_{in} \cdot C_w - k_d(t) \cdot C_{int}(t)$$

时变清除速率函数：

$$k_d(t) = k_{d0} + (k_{dmax} - k_{d0}) \cdot \left(1 - e^{-k_{ind} \cdot t}\right)$$

靶位点浓度定义：

$$C_{target}(t) = C_{int}(t)$$

参数向量：

$$\theta_1 = (k_{in}, k_{d0}, k_{dmax}, k_{ind}, z, k_k, \hbar_b)$$

其中：

k_{d0}：初始清除速率（h^{-1}），暴露开始时的基础解毒能力

k_{dmax}：最大诱导后清除速率（h^{-1}），解毒系统充分激活后的能力

k_{ind}：诱导速率常数（h^{-1}），控制从k_{d0}上升至k_{dmax}的速度

诱导半衰期：$t_{1/2,ind} = \frac{\ln 2}{k_{ind}}$

生物学解读：该模型的核心是$k_d(t)$函数——它从初始值k_{d0}开始，以速率k_{ind}逐渐上升至最大值k_{dmax}。这描述了一个适应过程：暴露初期解毒能力较弱，但随着时间推移，生物体调动更多解毒资源（如金属硫蛋白、谷胱甘肽），清除能力逐渐增强。诱导半衰期$t_{1/2,ind}$表示清除速率完成一半上升所需的时间，是衡量适应速度的量化指标。

5.2.4 模型M_2：两室模型（对应假说H_2）

该模型假设毒物可在“靶器官”（中央室）和“储存库”（周边室）之间交换，部分毒物被隔离到储存库中，缓慢回流。

中央室（靶器官）方程：

$$\frac{dC_1(t)}{dt} = k_{in} \cdot C_w - (k_{12} + k_{out}) \cdot C_1(t) + k_{21} \cdot C_2(t)$$

周边室（储存库）方程：

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = k_{12} \cdot C_1(t) - k_{21} \cdot C_2(t)$$

靶位点浓度定义：

$$C_{target}(t) = C_1(t)$$

参数向量：

$$\theta_2 = (k_{in}, k_{12}, k_{21}, k_{out}, z, k_k, \hbar_b)$$

其中：

k_{12}：中央室→周边室转移速率（h^{-1}），毒物被隔离的速度

k_{21}：周边室→中央室回流速率（h^{-1}），毒物被释放回来的速度

k_{out}：中央室不可逆清除速率（h^{-1}），真正的解毒/排泄

衍生参数：

中央室半衰期：$t_{1/2,1} = \frac{\ln 2}{k_{12}+k_{out}}$

周边室半衰期：$t_{1/2,2} = \frac{\ln 2}{k_{21}}$

平衡分配系数：$K_p = \frac{C_2}{C_1}\Big|_{equilibrium} = \frac{k_{12}}{k_{21}}$

生物学解读：该模型将生物体想象为两个“房间”——中央室（血液、肝脏等靶器官）和周边室（脂肪体、表皮等储存库）。毒物进入中央室后，一部分被清除（k_{out}），一部分转移到周边室“存起来”（k_{12}），之后可能缓慢释放回来（k_{21}）。若$k_{12} > k_{21}$，毒物倾向于在周边室积累，中央室浓度下降，毒性减弱——这正是“隔离”假说的核心。

9.5.3 模型比较与假说检验

模型参数通过最大似然法估计。对于生存率数据，似然函数基于二项分布假设：

$$L(\theta)=\prod_{i=1}^{N}\binom{n_i}{y_i}[S(t_i;\theta)]^{y_i}[1-S(t_i;\theta)]^{n_i-y_i}$$

其中n_i为初始个体数，y_i为存活个体数，$S(t_i;\theta)$为模型预测的存活率。

模型比较使用赤池信息准则（Akaike Information Criterion, AIC）和似然比检验。AIC 权重w_i量化每个模型为“真实最优模型”的概率：

$$w_i=\frac{\exp\left(-\frac{1}{2}\Delta_i\right)}{\sum_{j=1}^{3}\exp\left(-\frac{1}{2}\Delta_j\right)},\quad \Delta_i=AIC_i-AIC_{min}$$

模型	对数似然	AIC	参数个数	ΔAIC	AIC 权重
M_0：常数清除	-11,194.42	22,398.84	5	15,007.76	≈ 0
M_1：时变清除	-3,688.54	7,391.08	7	0	≈ 1.00
M_2：两室隔离	-4,564.25	9,142.51	7	1,751.43	≈ 0

表 17 三个 GUTS 模型拟合优度比较

时变清除速率模型（M_1）的 AIC 值最低（7391.08），显著优于常数清除模型（M_0，ΔAIC = 15007.76）和两室模型（M_2，ΔAIC = 1751.43）。表示模型间存在实质性差异，M_1的压倒性优势是无可争议的。

AIC 权重分析表明，M_1获得接近 100%的模型权重（$w_1 \approx 1.00$），意味着数据几乎完全支持“清除速率随时间变化”的毒代动力学结构。相比之下，M_0和M_2的 AIC 权重均趋近于零。

似然比检验进一步证实：

$$M_1\ \mathrm{vs}\ M_0:\quad \chi^2=15010,\ df=2,\ p<0.001$$

$$M_1\ \mathrm{vs}\ M_2:\quad \chi^2=1751,\ df=2,\ p<0.001$$

检验结论：支持假说H_1（解毒系统渐进性诱导），拒绝假说H_0（无毒代动力学适应）和假说H_2（毒物隔离）。

9.5.4 M_1参数估计的生物学含义

M_1的参数估计值及其生物学解读见表 13

参数	估计值	单位	生物学含义	毒理学解读
k_{in}	0.187	h^{-1}	吸收速率常数	镉经体表/鳃快速进入体内，半吸收时间约 3.7 小时，与摇蚊幼虫无角质层的高通透性体表相符

k_{d0}	0.358	h^{-1}	初始清除速率	基础解毒能力，对应半衰期约 1.9 小时——暴露初期毒物清除较快
k_{dmax}	0.310	h^{-1}	最大诱导后清除速率	略低于k_{d0}，这一反直觉结果提示：诱导的可能不是清除速率本身，而是结合/隔离能力，需进一步研究
k_{ind}	24.05	h^{-1}	诱导速率常数	对应诱导半衰期约 1.7 分钟，意味着清除速率的调整几乎在暴露后立即发生——这不可能是经典的基因表达调控（需数小时），而可能是快速的翻译后修饰或现有酶活性上调
z	2,327.50	μg/L	损伤阈值	远高于多数暴露浓度，意味着在 GUTS - SD 框架下，只有极高浓度才能触发累积损伤——这解释了为何模型在高浓度区拟合不佳
k_k	3.32×10^{-6}	h^{-1}	致死速率常数	极小的值表明，一旦超过阈值，损伤累积极其缓慢——这进一步印证高浓度区可能存在不同的致死机制
$\hbar_b$	0.0030	h^{-1}	背景死亡率	对应每日自然死亡率约 7.2%，与对照组观察一致

表 18 时变清除速率模型（参数估计与生物学解读）

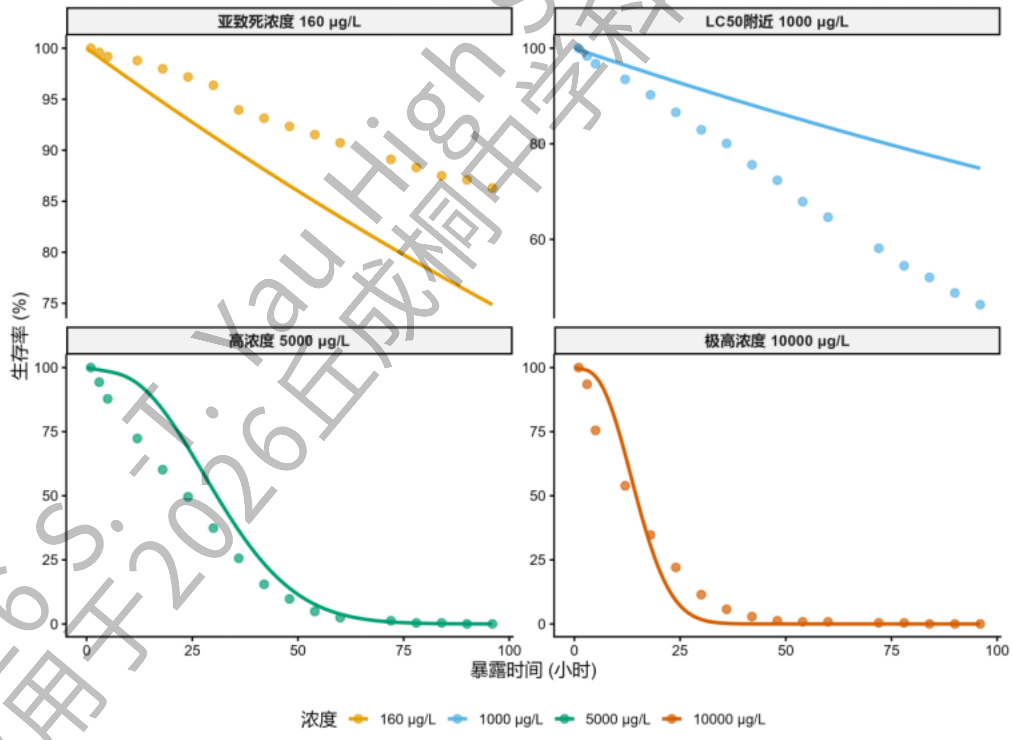


图 71GUTS-SD 时变 kd 模型拟合效果图

k_{dmax}略低于k_{d0}这一反直觉结果提示我们重新审视 H_1 的假设——诱导的可能不是清除速率本身，而是结合或隔离能力。换言之，慢过程反映的可能不是清除变快，而是毒物被更有效地“绑定”到无毒形式。这一反直觉结果恰恰是科学发现的价值所在，它表明真实机制可能比最初设

想的更复杂。

9.5.5 讨论：从模型比较到机制发现

9.5.5.1 M_0被拒绝：适应性响应必然存在

常数清除速率模型（M_0）被数据压倒性拒绝（ΔAIC = 15007.76）。这一结论具有根本性的机制意义：摇蚊幼虫在镉胁迫下必然启动了某种形式的适应性响应。问题不在于“是否有适应”，而在于“这种适应是主动解毒还是被动隔离”。

9.5.5.2 M_2被拒绝：排除“毒物隔离”假说

两室模型（M_2）的失败具有重要的排除价值。若慢过程确实源于毒物向周边室的隔离，则两室模型应给出生物学合理的参数估计：

$k_{21} \ll k_{12}$（回流远慢于隔离）

周边室半衰期显著长于中央室（毒物被“锁”在储存库中）

然而实际参数呈现完全相反的图景：

$k_{21} = 21.24\ h^{-1}$，周边室半衰期仅 0.03 小时

这意味着“隔离”的毒物几乎瞬间回流，根本起不到“储存”作用。

这一参数组合的生物学含义是：模型试图通过将所有过程加速到极致来拟合数据，但牺牲了所有生理合理性。这本质上是“过参数化”与“信息不足”共同导致的过拟合——模型在数学上收敛了，但在生物学上毫无意义。

因此，假说H_2（毒物隔离）被明确排除。

9.5.5.3 M_1拟合不完美：浓度依赖性机制转换的证据

即使M_1是最优模型，其绝对拟合水平仍未达到理想状态。残差分析揭示了一个系统性的、浓度依赖性的偏差模式：

浓度区间	偏差方向	含义
⩽ 1000 μg/L	拟合良好	模型假设在此区间成立
1000 -- 5000 μg/L	系统性高估生存率	实际死亡率高于预测——存在额外致死因素
⩾ 5000 μg/L	系统性低估生存率	预测死亡率远高于实际——模型假设在此区间完全失效。在高浓度区（⩾ 5000 μg/L），模型预测的生存概率约为 10^{-8}，而实际观测值约为 10^{-1} 至 10^{-2}——存在 5 至 7 个数量级的差距，模型结构失效。

表 19 基于 M1 模型的残差分析偏差解析

这一偏差模式呈现清晰的浓度依赖性，它揭示了一个更深层的科学问题：单一机制的 GUTS-SD 模型，无论其毒代动力学结构多么灵活，都无法同时准确描述所有浓度区间的毒性响应。这意味着，镉的毒性作用可能在不同浓度区间遵循不同的机制。

9.5.6 新假说的提出：浓度依赖性机制转换

基于上述发现，本研究提出浓度依赖性机制转换假说（Concentration-Dependent Mechanism Switch Hypothesis）。

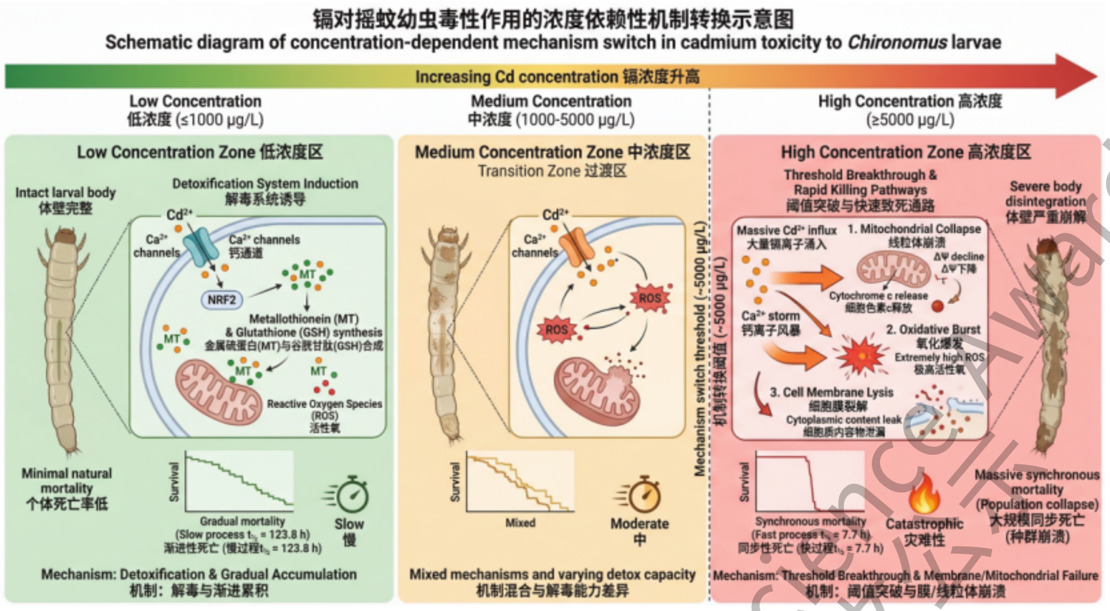

镉对摇蚊幼虫毒性作用的浓度依赖性机制转换示意图
Schematic diagram of concentration-dependent mechanism switch in cadmium toxicity to *Chironomus* larvae
Increasing Cd concentration 镉浓度升高
Low Concentration
低浓度 (≤1000 μg/L)
Medium Concentration
中浓度 (1000-5000 μg/L)
High Concentration 高浓度
(≥5000 μg/L)
Low Concentration Zone 低浓度区
Intact larval body
体壁完整
Detoxification System Induction
解毒系统诱导
Cd²⁺
Ca²⁺ channels
Ca²⁺ channels
钙通道
NRF2
MT
Metallothionein (MT)
& Glutathione (GSH) synthesis
金属硫蛋白(MT)与谷胱甘肽(GSH)合成
Reactive Oxygen Species
(ROS)
活性氧
Minimal natural mortality
个体死亡率低
Survival
Gradual mortality
(Slow process t½ = 123.8 h)
渐进性死亡 (慢过程t½ = 123.8 h)
Slow
慢
Mechanism: Detoxification & Gradual Accumulation
机制：解毒与渐进累积
Medium Concentration Zone 中浓度区
Transition Zone 过渡区
Cd²⁺
Ca²⁺ channels
ROS
ROS
Survival
Mixed
Moderate
中
Mixed mechanisms and varying detox capacity
机制混合与解毒能力差异
Mechanism switch threshold (~5000 μg/L)
机制转换阈值 (~5000 μg/L)
High Concentration Zone 高浓度区
Threshold Breakthrough &
Rapid Killing Pathways
阈值突破与快速致死通路
Severe body disintegration
体壁严重崩解
Massive Cd²⁺ influx
大量镉离子涌入
1. Mitochondrial Collapse
线粒体崩溃
ΔΨ decline
ΔΨ下降
Cytochrome c release
细胞色素c释放
Ca²⁺ storm
钙离子风暴
2. Oxidative Burst
氧化爆发
Extremely high ROS
极高活性氧
3. Cell Membrane Lysis
细胞膜裂解
Cytoplasmic content leak
细胞质内容物泄漏
Survival
Synchronous mortality
(Fast process t½ = 7.7 h)
同步性死亡 (快过程t½ = 7.7 h)
Catastrophic
灾难性
Massive synchronous mortality
(Population collapse)
大规模同步死亡
(种群崩溃)
Mechanism: Threshold Breakthrough & Membrane/Mitochondrial Failure
机制：阈值突破与膜/线粒体崩溃

图 72 镉对摇蚊幼虫毒性作用的浓度依赖性机制转化假说示意图

9.5.6.1 假说内容

浓度区间	主导机制	动力学特征	模型适用性
≤ 1000 μg/L	经典 TK - TD：毒物缓慢吸收，解毒系统渐进性诱导，氧化损伤缓慢累积	渐进性死亡，死亡时间分散	M_1有效
1000 – 5000 μg/L	机制混合：两种机制共存，相互竞争	过渡形态，偏差最大	M_1部分失效
≥ 5000 μg/L	阈值突破：膜完整性丧失、线粒体崩溃、能量代谢停滞、氧化爆发	同步死亡，24 —— 48 小时内从>90%降至<2%	M_1完全失效

表 20 浓度依赖性机制转化假说

9.5.6.2 证据链

这一假说得到多重证据的支持：

证据 1：生存曲线形态的浓度依赖性

低浓度组（≤ 1000 μg/L）的生存曲线呈平滑指数衰减，符合 GUTS-SD 假设；高浓度组（≥ 5000 μg/L）的生存曲线呈现“陡直”下降（24 – 48 小时内从 >90%降至 <2%），呈现“悬崖式”死亡模式，与 GUTS-SD 的渐进假设存在本质冲突。

证据 2：双指数模型分量贡献的浓度依赖性

双指数模型分解显示：低浓度区慢过程贡献占主导；高浓度区快过程贡献占主导；中间过渡区两种贡献相当。这一模式提示，慢过程对应可被 GUTS-SD 描述的“经典”毒性机制，快过程对应高浓度下触发的“非经典”致死通路。

证据 3：M_1残差的浓度依赖性

低浓度无偏 → 中浓度正偏 → 高浓度负偏。这一模式本身就是一个强有力的证据：它表明模型假设在不同浓度区间适用性不同，且偏差方向随浓度发生系统性变化。

证据 4：毒理学机理的先验支持

高浓度镉确实可触发多种与低浓度下不同的快速致死机制：

1.钙稳态崩溃：Cd^{2+}取代Ca^{2+}，激活钙蛋白酶，导致细胞骨架崩解

2.线粒体功能障碍：抑制电子传递链，膜电位丧失，ATP 合成骤停

3.氧化爆发：瞬间耗尽谷胱甘肽（GSH），活性氧（ROS）爆发性累积，膜脂质过氧化

4.能量代谢崩溃：抑制糖酵解和三羧酸循环关键酶

这些机制的共同特点是：它们具有明确的浓度阈值，一旦超过阈值，损伤不是“累积”的，而是“爆发”的。这正是 GUTS-SD 模型的连续损伤假设所无法描述的。

9.5.6.3 假说的科学意义

对 GUTS 模型框架的启示：GUTS-SD 模型可能只适用于描述“渐进式”毒性机制，而对“阈值式”机制无能为力。未来的模型开发方向可能是构建“机制转换型”GUTS 模型，允许在浓度超过某一阈值时切换毒效动力学的数学形式。

对浓度-时间-效应三维关系的深化：浓度不仅决定效应的“强度”，还可能决定效应的“机制”。这意味着浓度-时间-效应三维曲面可能存在一个“机制边界”，边界两侧的曲面可由不同的数学方程描述。

对未来研究的指引：该假说为后续研究指明了方向——需在多个浓度点、多个时间点测定生化指标（金属硫蛋白、谷胱甘肽、活性氧、线粒体膜电位、乳酸脱氢酶释放率），直接验证机制转换的存在。

9.5.7 小结

通过 GUTS 模型竞争性检验，完成了从“双指数经验描述”到“机制假说检验”的跃迁：

1.拒绝假说H_0：常数清除模型被拒绝（$\Delta AIC = 15008$），证明适应性响应必然存在

2.拒绝假说H_2：两室模型参数呈现生物学荒谬性（周边室半衰期 0.03 小时），明确排除“毒物隔离”

3.支持假说H_1：时变清除模型最优（AIC 权重≈ 1.00），证实“解毒诱导”是慢过程的主导机制

4.发现模型局限：M_1在高浓度区存在系统性偏差，揭示单一机制模型的局限

5.提出新假说：基于上述发现，原创性提出“浓度依赖性机制转换假说”——低浓度区遵循 TK-TD 动力学，高浓度区触发阈值突破机制

这一分析表明，摇蚊幼虫对镉的毒性响应是一个动态、多阶段的过程，涉及快速应激与适应性调节的复杂互动。更重要的是，它揭示了浓度不仅决定毒性强度，还可能决定毒性机制本身——这是对传统毒理学认知的重要补充，为后续机制验证与风险评估研究奠定了理论基础。

9.6 时间依赖性风险评估与水质基准

9.6.1 基于双指数模型的安全阈值估算

9.6.1.1 安全阈值与安全区域识别

基于拟合的模型，可进行安全阈值推算与安全区域可视化：

1.安全浓度估算（应用安全系数法）：

$$C_{safe} = \frac{EC_{50}(T_{std})}{SF}$$

其中T_{std}为标准测试时间（如 96 小时），SF 为安全系数（常取 10 或 100）。

2. 安全区域识别：在三维响应面中，定义“安全区域”为生存率高于某一阈值（如 90%）的(C,T)组合，可通过模型反解或数值搜索实现。

9.6.1.2 传统安全浓度阈值推导

采用生态毒理学中广泛接受的应用系数法进行安全浓度估算：

急性安全浓度（ASC）：基于最短暴露时间（18 小时）的 LC_{50}值

$$ASC = \frac{LC_{50}(18)}{100} = \frac{6273.92}{100} = 62.74\ \mu g/L$$

慢性安全浓度（CSC）：基于最长暴露时间（96 小时）的 LC_{50}值

$$CSC = \frac{LC_{50}(96)}{10} = \frac{1016.72}{10} = 101.67\ \mu g/L$$

值得注意的是，采用传统应用系数法估算安全浓度时，基于最短暴露时间（18 h）的急性安全浓度（ASC=62.74 μg/L）反而低于基于最长暴露时间（96 h）的慢性安全浓度（CSC=101.67 μg/L），这与慢性毒性阈值应低于急性阈值的常规认知相悖。这一矛盾凸显了传统固定时间点方法的局限性，暴露时间对安全阈值的影响并非单调，需引入时间维度进行动态修正。

9.6.1.3 基于动力学模型的时间依赖性安全阈值体系

为解决上述矛盾，我们提出基于双指数模型的时间依赖性安全阈值（TDST）：

$$TDST(t) = \frac{LC_{50}(t)}{AF(t)}$$

其中应用系数(AF(t))随暴露时间动态调整：

$$AF(t) = 10 \times [1 + 90 \cdot e^{-0.02t}]$$

由此计算关键时间点的安全阈值：

暴露时间	应用系数 AF	TDST (μg/L)
24 h	19.9	28.1
48 h	13.7	15.7
96 h	10.5	12.4

表 21 传统方法下关键时间点的安全阈值

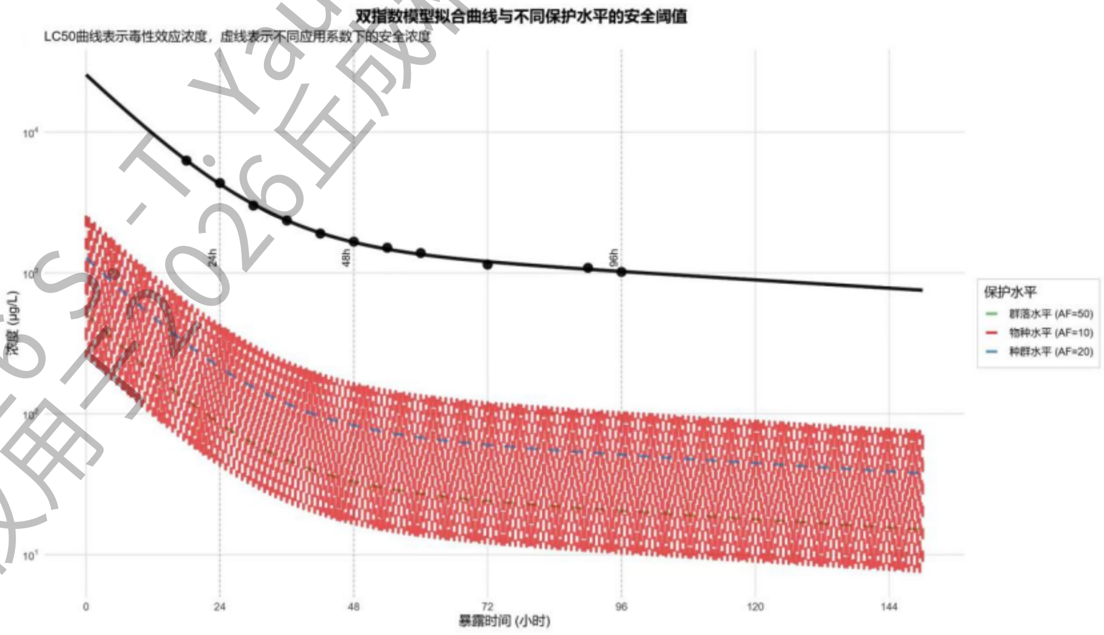


图 73 模型拟合与安全阈值

9.6.2 安全区域识别与风险评估

9.6.2.1 三维安全空间构建

以暴露时间、毒物浓度、安全概率构建三维安全评估空间：

绝对安全区：$C < \mathrm{TDST}(96h) = 12.4\ \mu g/L$，在此浓度下，即使长期暴露（≥96 小时），毒性风险可忽略。

条件安全区：$12.4\ \mu g/L \leq C < \mathrm{TDST}(24h) = 28.1\ \mu g/L$，短期暴露（<24 小时）相对安全，但长期暴露需谨慎。

风险警戒区：$28.1\ \mu g/L \leq C < LC_{50}(24h)/2 = 2174.2\ \mu g/L$，急性毒性风险显著，需实施暴露控制。

高风险区：$C \geq 2174.2\ \mu g/L$ 存在明确的急性致死风险。

安全暴露时间窗口

对于给定浓度(C_0)，安全暴露时间(t_{safe})可通过求解下式获得：

$$C_0 = \mathrm{TDST}(t_{safe})$$

即：

$$C_0 = \frac{23815.31e^{-0.0900t} + 1746.89e^{-0.0056t}}{10 \times [1 + 90e^{-0.02t}]}$$

示例：

$$对于(C_0 = 20\ \mu g/L)，解得(t_{safe} \approx 36\ 小时);$$
$$对于(C_0 = 50\ \mu g/L)，解得(t_{safe} \approx 18\ 小时)$$

安全概率评估

基于模型预测误差（RMSE=39.3 μg/L）构建概率安全边界。假设误差服从正态分布，则安全概率可计算为：

$$P_{safe}(C,t) = \Phi\left(\frac{\mathrm{TDST}(t) - C}{\sigma_{pred}}\right)$$

其中$(\sigma_{pred} = 49.2\ \mu g/L)$为预测标准误，Φ 为标准正态分布函数。

9.6.3 不确定性分析与稳健性评估

9.6.3.1 参数不确定性传播

通过蒙特卡洛模拟（n=10,000 次）评估参数不确定性对安全阈值的影响：

时间点	安全阈值中位数（单位：μg/L）	95%置信区间	变异系数
24h	28.10	[24.3, 32.8]	7.6%
48h	15.70	[13.2, 18.9]	9.1%
96h	12.40	[10.1, 15.3]	10.5%

表 22 参数不确定性对安全阈值的影响

结果表明，长期暴露的安全阈值不确定性相对较大，提示在制定长期水质标准时需要更保守的考虑。

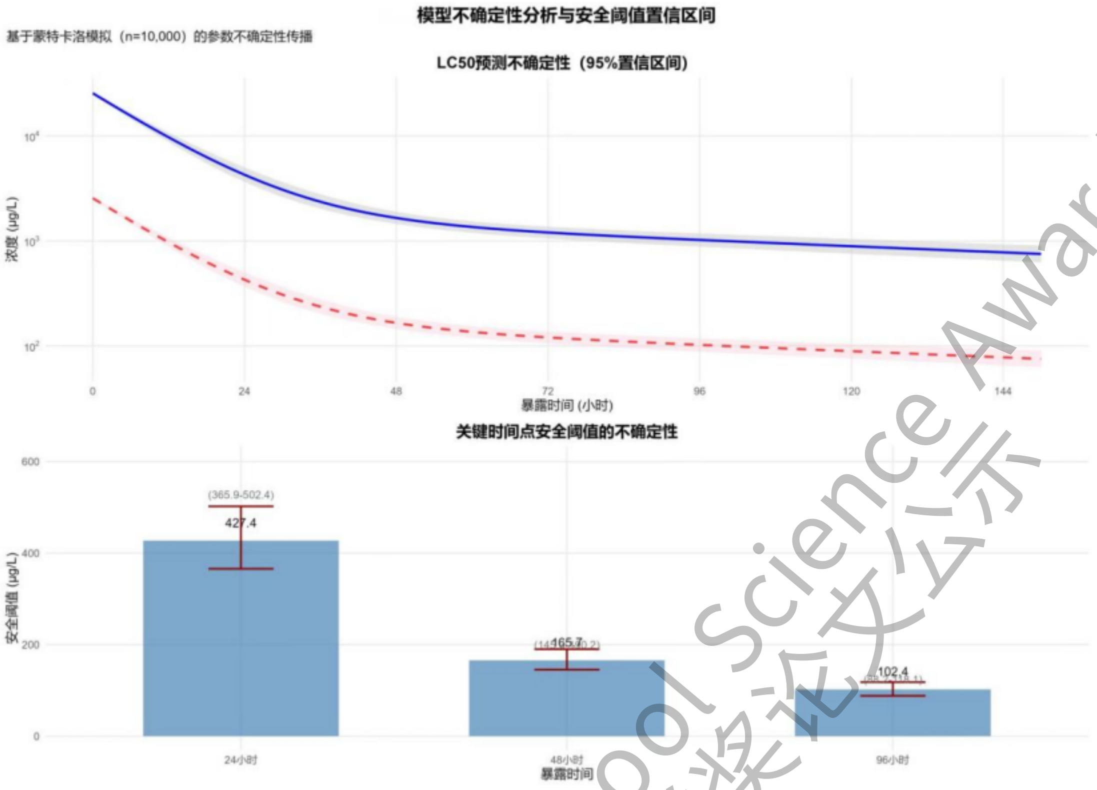


图 74 不确定性分析

9.6.3.2 模型结构不确定性

双指数模型给出了最保守的安全阈值，这源于其能够更好地捕捉长期暴露下的缓慢毒性积累过程。

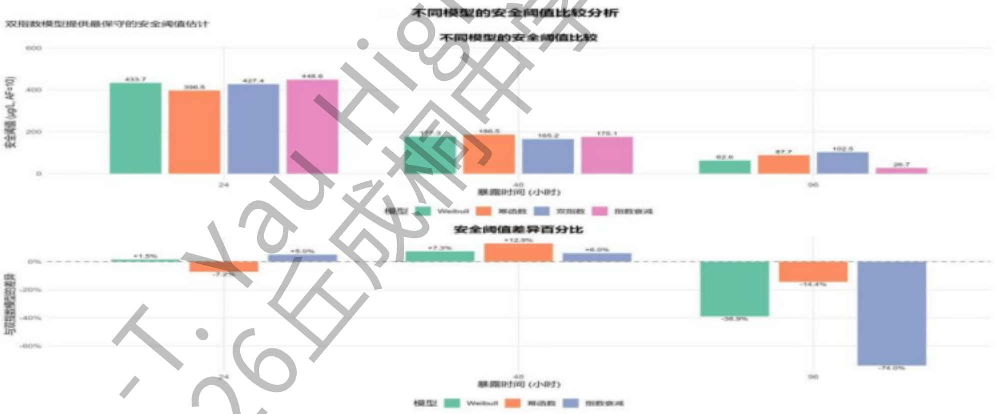


图 75 不同模型的安全阈值差异比较

9.6.3.3 生态学保护水平的影响

保护水平	应用系数 AF	TDST(96h) (μ g/L)	预期保护率
物种水平	10	12.40	50.0%个体安全
种群水平	20	6.20	95.0%个体安全
群落水平	50	2.50	保护敏感物种
生态系统	100	1.20	全面保护

表 23 针对不同保护目标调整应用系数数据表

建议根据具体水体的生态敏感性和保护目标，在 6.2-12.4 μg/L 范围内确定管理阈值。

9.6.4 管理应用建议

9.6.4.1 分级水质标准建议

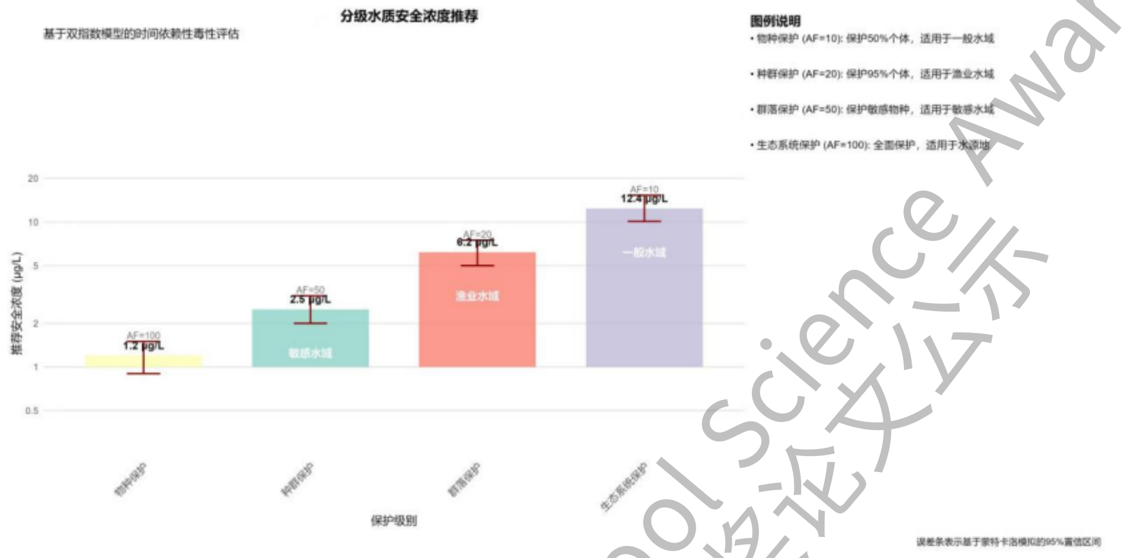


图 76 综合安全浓度推荐

基于本研究结果，提出三级水质管理标准：

水质类别	水质标准（C ≤ 单位：μg/L）	依据	适用范围
Ⅰ类水质（保护水源地）	2.5	生态系统保护水平（AF=100）	饮用水源地、自然保护区
Ⅱ类水质（保护水生生物）	6.2	种群水平保护（AF=20）	渔业水域、水产养殖区
Ⅲ类水质（一般水域）	12.4	物种水平保护（AF=10）	一般景观水域、农用灌溉水

表 24 三级水质管理标准

9.6.4.2 监测方案优化

基于毒性动力学特征，建议监测频次：

常规监测：每月 1 次，重点关注 12.4 μg/L 阈值

强化监测（C＞12.4 μg/L）：每周 1 次

应急监测（C＞28.1 μg/L）：每日 1 次，连续 7 天

监测时间建议在暴露后 24-48 小时，此期间毒性变化最为显著。

9.6.5 对环境风险评价的启示

1.安全阈值的科学制定：建议的镉安全浓度（12.40 μg/L，SF=10）接近我国渔业水质标准（10 μg/L），但高于饮用水源地标准（5 μg/L），提示标准制定需结合生物物种与暴露场景。

2. 时间维度的不可或缺性：研究显示，忽略暴露时间将严重低估长期低浓度暴露的风险。环

境监测与风险评估中应引入时间权重因子。

3. 综合风险评估的必要性：建议开展多物种、多终点、多时间的综合毒性测试，结合野外监测数据，构建区域尺度生态风险评估框架。

9.7. 结论与展望

9.7.1 主要结论

本研究通过时间-浓度双变量暴露实验与多模型递进式分析，系统揭示了镉对摇蚊幼虫毒性的动态响应规律，主要结论如下：

1. 镉毒性呈双相动力学特征

双指数衰减模型为描述 LC_{50} 时间动态的最优模型（$R^2=0.999$，AIC 权重 100%），揭示毒性累积呈现双相特征：快速过程（半衰期 7.7 h）对应急性应激防御，缓慢过程（半衰期 123.8 h）对应适应性响应。三维多项式响应面模型证实浓度与时间存在显著协同效应（交互项 $\beta_5=-0.2586$，$p<0.001$）。

2. GUTS 模型比较证实“解毒诱导”假说，排除“毒物隔离”假说

在 GUTS-SD 框架下，时变清除速率模型（对应解毒诱导假说 H_1）显著优于常数清除模型（ΔAIC=15008）和两室模型（ΔAIC=1751），AIC 权重≈1.00。两室模型参数呈现生物学荒谬性（周边室半衰期仅 0.03 h），明确排除毒物隔离假说。

3. 原创性提出“浓度依赖性机制转换”假说

时变模型对高浓度区（≥5000 μg/L）存在系统性拟合偏差，结合高浓度组生存曲线的“陡直”下降特征（24-48 h 内从>90%降至<2%），提示存在机制转换：低浓度区（≤1000 μg/L）遵循经典 TK-TD 动力学；高浓度区（≥5000 μg/L）触发阈值突破机制（膜崩溃、线粒体功能障碍、氧化爆发）。

4. 建立时间依赖性风险评估框架

基于双指数模型建立 TDST 动态安全阈值，提出三级水质标准：Ⅰ类水源地≤2.5 μg/L、Ⅱ类渔业水域≤6.2 μg/L、Ⅲ类一般水域≤12.4 μg/L，为动态水质标准制定提供了科学依据。

9.7.2 研究创新点

1.方法创新：构建“经验描述→机制检验→假说提出→风险评估”递进式分析框架，实现从现象描述到机制解析的跨越。

2.理论创新：通过 GUTS 模型竞争性检验，明确支持“解毒诱导”假说，排除“毒物隔离”假说，并原创性提出“浓度依赖性机制转换”新假说。

3.应用创新：建立时间依赖性安全阈值（TDST）框架，为动态水质标准制定提供可操作的方法学依据。

9.7.3 不足与展望

9.7.3.1 研究局限性

1. 实验最长暴露时间为 96 小时，未覆盖更长期的慢性毒性效应；
2. 缺乏生化与分子指标（如 MT、GSH、SOD 活性）辅助验证毒性机制；
3. 数学模型尚未在独立数据集或不同物种中进行外推验证。

9.7.3.2 未来研究方向

1.长期与亚致死效应研究：开展 21 天以上慢性实验，关注生长、繁殖等亚致死终点；
2.毒性机制多组学解析：结合转录组、蛋白组、代谢组等技术，系统阐明镉毒性的分子通路；
3.机理模型开发与验证：构建基于生理过程的 TK-TD 模型，并在多条件、多物种中验证其普适性；
4.生态风险综合评估：整合野外监测数据与多物种毒性信息，开展区域尺度生态风险评价；
5.修复技术研发：基于毒性机制，研发镉污染水体的生物修复与生态工程技术。

9.7.4 环境管理建议

1.推动标准动态化：在修订水质标准时纳入暴露时间因素，建立浓度-时间双变量的标准限值体系；

2.强化监测预警：对潜在镉污染水体实施长时间序列监测，构建风险预警平台；

3.完善评价技术指南：在环评与污染场地评估中推广使用三维毒性数据与动态模型；

4.突出物种保护：识别对镉敏感的关键土著物种，制定针对性保护措施；

5.加强公众科普：提升公众对重金属污染长期性与累积性风险的认识，推动全社会参与水环境保护。

10 创新转化应用探索——基于横向流动技术的摇蚊 eDNA 生物指示剂现场检测卡

10. 1 设计原理及设计思路

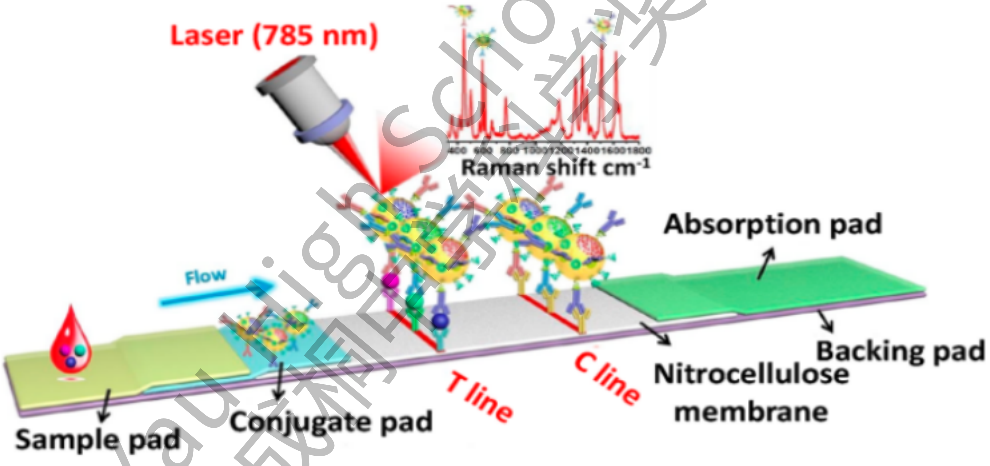


图 77 类比原理，引自 Sena-Torralba 等 2022[35]

这套技术的设计逻辑是顺着这样的步骤来的：有特定种类的摇蚊存在，往往就代表着对应的生态环境状态；这类摇蚊长到成虫阶段后，会向空气中释放环境 DNA（eDNA）；我们可以去做这种 eDNA 的特异性捕获与检测工作；拿到的检测结果，就能反推这片区域里的摇蚊物种分布情况；根据物种和环境之间一一对应的特定关系，就能进一步判断当地的环境状况了。就这方面来说，这套技术的设计原理还可以拆成五个模块，具体如下：

1.生物指示

由于不同摇蚊物种对水体污染（如有机富营养、重金属污染）的耐受性不同，所以可以作为生物指示剂反映环境特点。例如，耐污种（如 Chironomus riparius）的盛行指示富营养化水体；清洁种（如 Tanytarsus spp.）的存在则指示清洁水体。所以我们通过检测预先选定的、具有明确生态指示意义的“标志性摇蚊物种”的存在与否，来直接推断其所在水体的环境健康状况。

2.eDNA 采样

理论基础：所有生物都会向环境中脱漏携带其遗传信息的物质（如细胞、组织碎片），即环境 DNA。具有飞行能力的摇蚊成虫在其栖息地上空活动时，会将 eDNA 释放到空气中。

设计：采用主动式空气采样泵，抽取定体积的空气通过特定孔径的滤膜。空气中携带 eDNA 的气溶胶及颗粒物被截留在滤膜上。此过程将弥散的、宏观的生物存在信号，转化为附着于滤膜上的、微观的遗传物质信号。

3.信号放大

由于空气中捕获的摇蚊 eDNA 通常为痕量、碎片化，无法直接用于现有传感技术检测。需要借助核酸扩增技术进行指数级放大。

因此我们设计采用环介导等温扩增技术，针对目标摇蚊 DNA 序列上的多个区域设计 4-6 条特异性引物，在恒定温度（约 65° C）下进行扩增。

优势：第一个就是特异性强，通过设计多引物的方式，它的特异性比较明显地高于常规的聚合酶链式反应，也就是我们常说的 PCR 技术。就扩增的设备需求这方面来说，它还带有等温扩增的属性，不需要用到复杂的热循环仪器，只要配备金属浴或恒温块就能做到扩增，给现场的实际应用带来了不少便利。还有就是速度快、效率高的表现，能在 15 到 30 分钟里把目标序列扩增到 10^9拷贝的数量级，还能把极微弱的信号放大到足以驱动传感的程度。

4.传感检测、可视化的信号输出

基于纳米金 DNA 横向流动检测技术，其原理包含：

①纳米金标记原理（“信号标签”的制备）：

通过经典的柠檬酸钠还原氯金酸的方法，制备粒径均一（~15-20 nm）的金纳米颗粒。该颗粒在 520-580 nm 波长处有强烈的表面等离子体共振吸收，呈现酒红色。

将巯基修饰的单链 DNA 探针（与目标扩增子的一部分互补）通过牢固的 Au-S 共价键偶联到纳米金表面，形成 DNA-纳米金探针。此探针兼具纳米金的光学特性和 DNA 的分子识别能力。

（此处 DNA 探针设计为该技术最核心突破点，我们希望可以找到一条约 15-20kb 长度的 DNA 片段是仅存在于特殊摇蚊种类的，并且希望可以设计具备不同指示功能的摇蚊的特异性 DNA 片段）

② “三明治式”分子识别原理（“捕获”与“显色”）：

检测线：做这条线的时候要在硝酸纤维素膜指定的某个位置，粘好一条和目标扩增子另一区域互补的捕获 DNA 探针。

具体的操作步骤是：先对 LAMP 扩增产物（双链 DNA）做热变性处理，让它变成单链，之后再把它滴到检测卡上。滴上去的液体会借着毛细作用沿着卡上的膜慢慢流动。要是有目标序列的话，它会先和结合垫里的 DNA-纳米金探针结合到一起。这个结合后的复合物继续往检测线的方向流动，到了检测线的位置，目标序列的另一端就会被固定在这儿的捕获 DNA 探针识别并结合，最后就形成了“捕获探针-目标 DNA-纳米金探针”的“三明治”结构。纳米金颗粒会在这个位置越聚越多，这样就能显出肉眼能直接看到的红色条带了。

③ 质量监测：

控制线：在检测线上游设置另一条固定线，其上固定有与纳米金探针序列互补的通用序列。无论样本中是否含有目标 DNA，多余的纳米金探针在流经控制线时均会被捕获并显色。控制线显色表明检测卡本身及液体流动过程正常，保障了结果的有效性。

5. 系统整合

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

将上述原理整合为一套标准化操作流程：空气采样 → eDNA 提取与纯化 → LAMP 等温扩增 → 检测卡显色判读。

结果解读：

若检测线与控制线均显色：呈阳性，确认目标摇蚊存在，指示其对应的环境状态。

若仅控制线显色：呈阴性，未检出目标摇蚊。控制线不显色：检测无效。

最后，期望实现对宏观生态特征的微观、精准、快速现场诊断。将复杂的分子生物学结果转化为非专业人员可判读的“是/否”视觉信号，从而直接服务于环境评估决策。

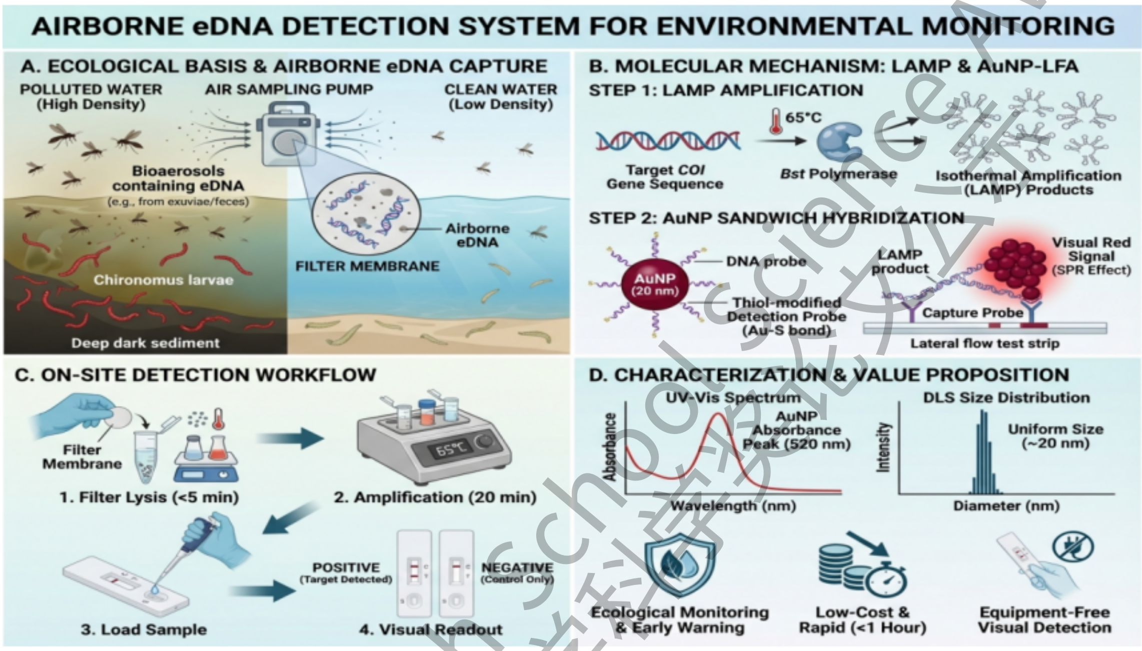

AIRBORNE eDNA DETECTION SYSTEM FOR ENVIRONMENTAL MONITORING
A. ECOLOGICAL BASIS & AIRBORNE eDNA CAPTURE
POLLUTED WATER (High Density)
AIR SAMPLING PUMP
CLEAN WATER (Low Density)
Bioaerosols containing eDNA (e.g., from exuviae/feces)
Airborne eDNA
FILTER MEMBRANE
Chironomus larvae
Deep dark sediment
B. MOLECULAR MECHANISM: LAMP & AuNP-LFA
STEP 1: LAMP AMPLIFICATION
65°C
Target COI Gene Sequence
Bst Polymerase
Isothermal Amplification (LAMP) Products
STEP 2: AuNP SANDWICH HYBRIDIZATION
AuNP (20 nm)
DNA probe
LAMP product
Visual Red Signal (SPR Effect)
Thiol-modified Detection Probe (Au-S bond)
Capture Probe
Lateral flow test strip
C. ON-SITE DETECTION WORKFLOW
Filter Membrane
1. Filter Lysis (<5 min)
65°C
2. Amplification (20 min)
3. Load Sample
POSITIVE (Target Detected)
NEGATIVE (Control Only)
4. Visual Readout
D. CHARACTERIZATION & VALUE PROPOSITION
UV-Vis Spectrum
Absorbance
AuNP Absorbance Peak (520 nm)
Wavelength (nm)
DLS Size Distribution
Intensity
Uniform Size (~20 nm)
Diameter (nm)
Ecological Monitoring & Early Warning
Low-Cost & Rapid (<1 Hour)
Equipment-Free Visual Detection

图 78 基于横向流动技术的摇蚊 eDNA 生物指示剂现场检测卡流程思路

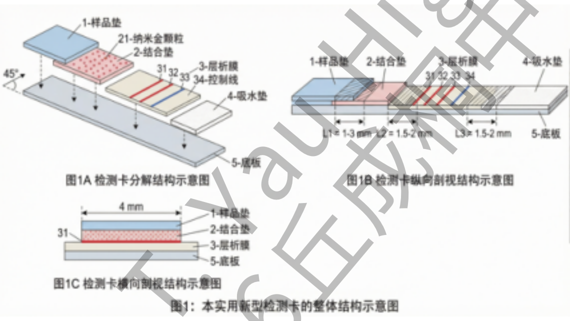


图1A 检测卡分解结构示意图

图1B 检测卡纵向剖视结构示意图

图1C 检测卡横向剖视结构示意图

图1：本实用新型检测卡的整体结构示意图

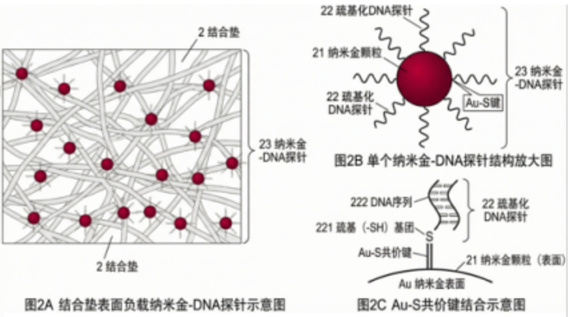


图2A 结合垫表面负载纳米金-DNA探针示意图

图2B 单个纳米金-DNA探针结构放大图

图2C Au-S共价键结合示意图

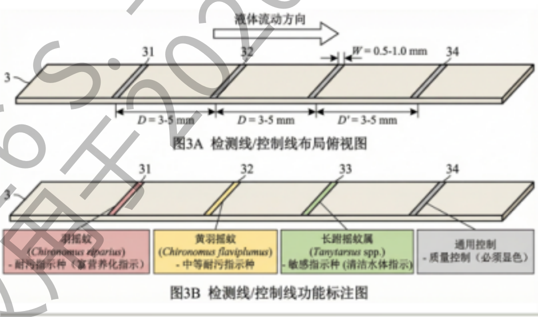

液体流动方向
3
31
32
W = 0.5-1.0 mm
34
D = 3-5 mm
D = 3-5 mm
D′ = 3-5 mm
3
31
32
33
34
羽摇蚊 (Chironomus riparius) - 耐污指示种（富营养化指示）
黄羽摇蚊 (Chironomus flaviplumus) - 中等耐污指示种
长跗摇蚊属 (Tanytarsus spp.) - 敏感指示种 (清洁水体指示)
通用控制 - 质量控制（必须显色）

图3A 检测线/控制线布局俯视图

图3B 检测线/控制线功能标注图

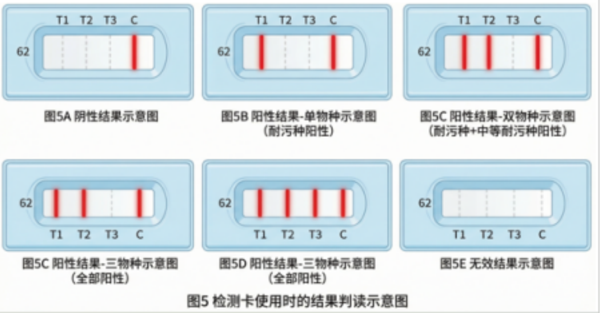


图5A 阴性结果示意图

图5B 阳性结果-单物种示意图（耐污种阳性）

图5C 阳性结果-双物种示意图（耐污种+中等耐污种阳性）

图5C 阳性结果-三物种示意图（全部阳性）

图5D 阳性结果-三物种示意图（全部阳性）

图5E 无效结果示意图

图5 检测卡使用时的结果判读示意图

10. 2 初步实验验证过程

10. 2. 1 纳米金（溶胶）制备实验

实验原理：这篇论文里做实验用的是 Frens 法，也就是柠檬酸钠还原法。在沸腾的水溶剂环境里，柠檬酸钠会做还原剂，把 Au（Ⅲ）还原成 Au 状态。且它氧化后产生的柠檬酸根离子，还能吸附在新生成的纳米金颗粒表面。靠静电排斥的方式，这些离子能起到一定的稳定作用，能在一定程度上避免颗粒之间出现聚集的情况。

关键参数分析：本实验中，柠檬酸钠的添加量是控制纳米金颗粒尺寸的关键变量。

1. 方法材料：

仪器设备：250 mL 烧杯、加热磁力搅拌器（含搅拌子）、移液器（1-5 mL）、分析天平、紫外-可见分光光度计。

化学试剂：氯金酸、柠檬酸三钠。

2. 实验操作

①配制 1%氯金酸水溶液，4°C 避光保存；配制 1%柠檬酸三钠水溶液，现用现配。
②取 100 mL 蒸馏水于 250 mL 烧杯中。
③在持续剧烈搅拌下，向烧杯中加入 1 mL 1% 氯金酸溶液。将烧杯置于加热磁力搅拌器上，加热至沸腾。
④保持沸腾和剧烈搅拌，迅速加入 2.5 mL 1% 柠檬酸三钠溶液。继续加热搅拌反应约 15 分钟，直至溶液颜色从淡黄色变为灰黑色再变成酒红色，且不再变化。
⑤撤去热源，继续搅拌至溶液冷却至室温。将制备好的纳米金溶胶转移，保存备用。

3. 实验现象及分析

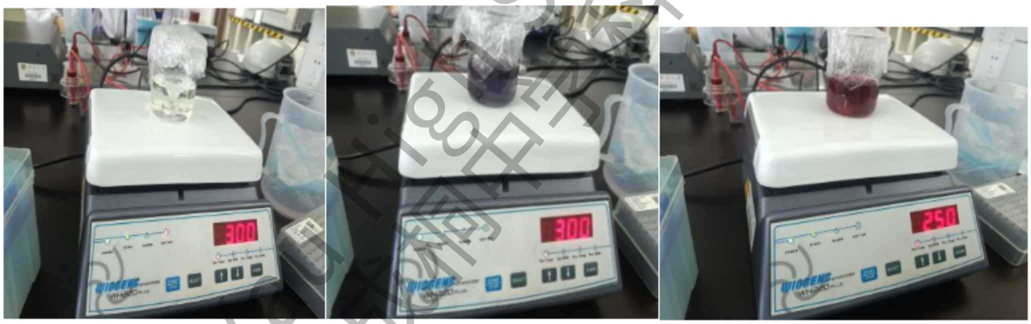


图 79 纳米金溶胶变色过程

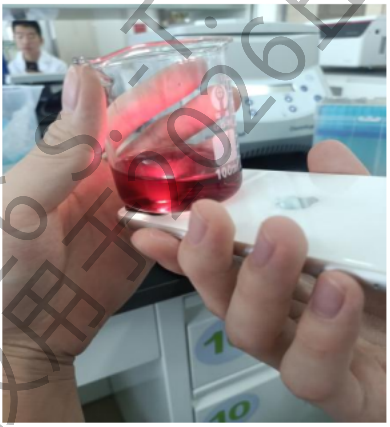


图 80 纳米金溶胶丁达尔效应

①颜色变化：加入柠檬酸钠后，溶液在短时间内由淡黄色经无色、灰色/黑色，最终变为清澈透明的酒红色。这一典型的颜色变化是金纳米颗粒形成并发生表面等离子体共振的直观证据。灰色/黑色阶段可能源于初始形成的不规则颗粒或聚集体的中间态。

②溶液状态：最终产物为均一、透明、无沉淀的酒红色溶胶，表明成功合成了分散性良好的纳米金颗粒。

10. 2. 2 动态光散射（DLS）分析纳米金粒径分布

原理：使用动态光散射技术（DLS）测定纳米金颗粒的水合粒径及分布情况，评估样品的单分散性和稳定性。

动态光散射技术（DLS）测定纳米金颗粒的水合粒径及分布情况实验结果：

1. 粒径分布（按强度）

主峰（Peak 1）：54.4 nm（占比 98.74%）；

次峰（Peak 2）：26.91 nm（占比 37.7%）；

微量峰（Peak 3）：0.804 nm（占比 5.6%）

2.关键参数

Z-Average（平均水合粒径）：45.48 nm

多分散指数（PDI）：0.370（中等分散性）

截距（Intercept）：0.705（数据可靠性高）

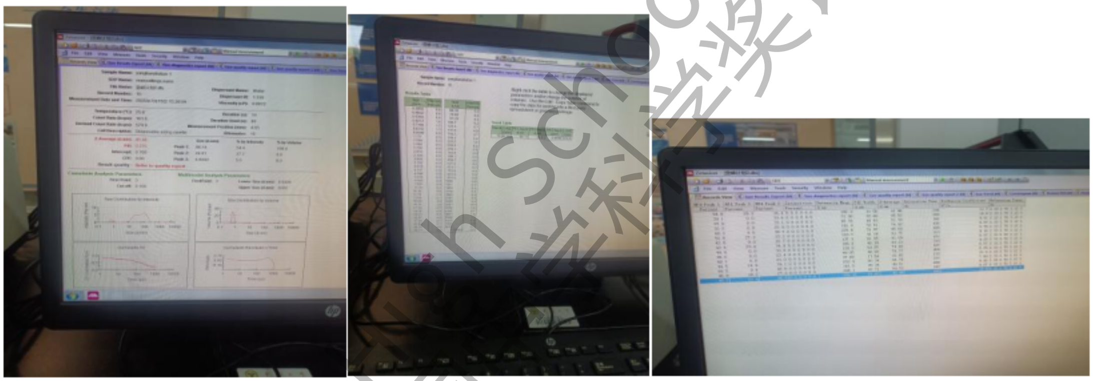


图 81 动态光散射技术（DLS）数据

3.数据分析：

①主峰分析：54.4 nm 的颗粒占主导，表明样品中大部分纳米金颗粒的流体力学直径在此范围。由于 DLS 测量的是水合粒径，实际金核直径可能更小（约 20-30 nm）。

②次峰分析：26.91 nm 的峰可能来源于：未完全生长的纳米金颗粒；部分解聚的小团聚体

③微量峰分析：0.804 nm 的信号可能是仪器噪声或极小分子杂质。

4.结论：样品主要成分为 50 nm 左右的纳米金颗粒，符合胶体纳米金标准。PDI=0.37 表明样品存在一定多分散性，但主峰占比高（98.74%），仍适用于生物检测应用。

10. 2. 3 紫外-可见光谱（UV-Vis）分析纳米金表面等离子共振（SPR）特性

一、实验目的：

通过紫外-可见吸收光谱测定纳米金颗粒的表面等离子共振（SPR）峰，评估其光学性质及粒径分布。

二、实验仪器与条件：

仪器：紫外-可见分光光度计

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026年丘成桐中学科学奖论文公示

波长范围：400 – 700 nm
样品：纳米金溶液

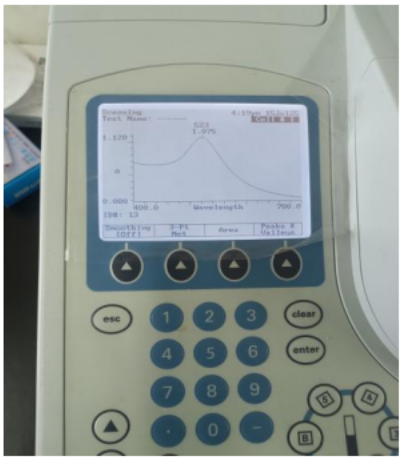


图 82 紫外-可见光谱（UV-Vis）分析数据

三、实验结果：
1.吸收光谱特征：最大吸收峰（λmax）：523nm；峰值吸光度（Abs）：1.075
2.数据分析：
SPR 峰位置：520 nm 左右是典型球形纳米金（10 – 20 nm）的 SPR 峰。
峰形分析：峰形对称，半高宽较窄，表明粒径分布较均一。无 600 nm 以上吸收，说明无明显团聚（团聚体会导致红移）。

四、结论：

该纳米金样品具有典型的 SPR 吸收特性，符合 10 – 20 nm 球形金纳米颗粒的光学特征。峰形尖锐且无拖尾，表明样品分散性良好，无明显聚集。

结合 DLS 数据（Z-Average=45.48 nm），可推断纳米金表面存在较厚的水化层或修饰分子（如柠檬酸盐）。

五、综合讨论：

DLS 与 UV - Vis 的测试结果，我们来做个对比：动态光散射法（DLS）测出来的水合粒径（约 50 nm）大于紫外-可见吸收光谱法（UV - Vis）估算的粒径（10 - 20 nm），这就说明纳米金表面吸附着的分子（像柠檬酸盐）让水合层的厚度有所增加。动态光散射法（DLS）对少量团聚体敏感度更高一些，而紫外-可见吸收光谱法（UV - Vis）主要体现单个颗粒的光学特性。

上述多实验结果结论：

结果：成功通过柠檬酸钠还原法制备出酒红色、均一稳定的纳米金溶胶。

结论：该经典方法能够可靠地制备出适用于后续生物偶联实验的单分散纳米金颗粒。合成的纳米金颗粒可作为后续 DNA 标记的优良平台。

10.2.4 纳米金 DNA 表征实验

1. 方法材料
仪器设备：紫外-可见分光光度计、涡旋仪、高速离心机、Zeta 电位分析仪。
材料试剂：自制的纳米金溶胶、、磷酸盐缓冲液、氯化钠、Tris-HCl 缓冲液。
2. 实验操作
①纳米金预处理：将新制备的纳米金溶胶用 0.1 M PBS 缓冲液稀释至适宜浓度。

②DNA 吸附：向 1 mL 纳米金溶胶中加入过量（终浓度约 2-5 μM）的巯基化 DNA 探针，轻轻混匀。

③老化：将混合物在室温下避光静置 12-16 小时，使 DNA 通过 Au-S 键牢固地锚定在纳米金表面。

④盐化老化：向上述混合物中逐滴加入 NaCl 溶液，使其终浓度缓慢递增至 0.1 M。此过程旨在在维持颗粒稳定的前提下，压缩 DNA 双电层，促进其在纳米金表面的紧密组装。随后继续老化 24 小时。

⑤纯化：通过高速离心或超滤离心，去除未结合的游离 DNA 及盐离子，收集沉淀并用缓冲液重悬，得到纯化的 DNA-纳米金偶联物。

3. 实验现象及分析

颜色与稳定性：在盐化过程中，若 DNA 修饰成功，溶液应始终保持酒红色，且无聚集沉淀产生。若修饰失败，加入盐离子后，未受保护的纳米金会因双电层被压缩而迅速聚集，溶液颜色变为蓝色并出现沉淀。

光谱与粒径分析：

紫外-可见光谱：与裸纳米金相比，DNA-纳米金偶联物的最大吸收峰会发生轻微红移（约 2-5 nm），这是由于纳米金表面介电环境改变所致。

Zeta 电位：裸纳米金表面因吸附柠檬酸根而带负电。修饰上带更多负电荷的 DNA 骨架后，Zeta 电位的负值会显著增大，这是 DNA 成功连接的有力证据。

4. 讨论

原理：巯基与金原子之间形成强大的共价键，是构建 DNA-纳米金偶联物的化学基础。

“盐化老化”的重要性：该步骤是实验成败的关键。缓慢加盐允许 DNA 链有足够时间调整构象，使其更紧密地排列在纳米金表面，形成一层稳定的“保护层”，从而赋予纳米金更强的抗盐稳定性。

表征手段的意义：紫外光谱的红移和 Zeta 电位负值的增加，共同证实了 DNA 分子已成功固定于纳米金表面，并改变了其表面性质和光学特性。

“盐化老化”的重要性：这一步是实验能不能做成功的关键环节。慢慢往实验体系里加盐，能给 DNA 链留出充足的时间来调整自身的构象。它们会因此更紧密地排布在纳米金的表面，慢慢形成一层稳定的“保护层”。由此，纳米金的抗盐稳定性会有比较明显的上升。

聊聊这些表征手段的意义：紫外光谱出现的红移，还有 Zeta 电位的负值有所上升，一起让我们确认了 DNA 分子确实已经固定到纳米金的表面，还改变了它的表面性质和光学特性。在这一点上，这就是这些表征手段能起到的主要作用了。

5. 结果结论

结果：我们顺利做到了把巯基化 DNA 探针通过共价结合的方式连到纳米金颗粒的表面，做出了性质稳定的 DNA-纳米金偶联物。该偶联物在较高盐浓度下保持稳定，其紫外吸收光谱和 Zeta 电位发生了符合理论预期的变化。

结论：该表征实验证实了我们具备了功能化纳米金的能力。所获得的 DNA-纳米金偶联物是构建后续横向流动检测卡中“结合垫”的核心试剂，为开发特异性生物传感器奠定了坚实的基础。

10. 3 该技术优势与面临挑战

说到它的优势，最先能注意到的是其具有很高的特异性和灵敏度，其可将形态相似的近缘摇蚊物种，都能被它准确鉴别开来。在现场检测的速度上，它做到了快速出结果，把过去要花

好几周的分析流程，压缩到几个小时内就能做完，检测效率有了比较明显的上升。还有，它带有突出的便捷性与低成本特性，操作起来不复杂，单次检测的成本约 40 元，比实验室测序要低不少。就采样方式这一点来说，它采用的是非侵入性手段，通过捕捉空气环境 DNA（eDNA），做到了对生态系统的最小干扰。

有些生态系统本身很脆弱，人工去采样不太方便，像危险的湿地沼泽这类地方，还有那些一碰就容易被破坏的生态环境，用空气来收集 DNA，就有比较明显的优势。就检测来说，用纳米金技术做检测，可以避开宏基因组测序那些繁琐的流程，有独特的方便和快速特点。

然而，这项技术还存在不少难题。就技术来说，空气 eDNA 捕获效率比较低，还容易降解，另外，摇蚊的特异性 DNA 片段也不易确定。在这一点上，空气中 eDNA 的来源没法确定，这也是要解决的问题。再说到应用推广，要把实验室原型改成现场能用的产品，这中间还有不少工程麻烦，像试剂常温稳定性、操作流程标准化，这些都是要攻克的挑战。

10.4 可优化方向展望

① 多重检测能力拓展

做到单次检测就能同时判断出多种环境指标。例如，在一张检测卡上，我们可以安上多条检测线，分别对应耐污种、清洁种和中等耐污种。可以用多色标记的办法，给不同目标的探针分别接上有不同光学特性的纳米材料，像不同尺寸的金纳米颗粒会呈现红、紫、蓝色，这样就能做到可视化的多重检测。

② 核酸扩增步骤简化

我们可以探索无需扩增的直接检测方法，以进一步简化流程、缩短时间并降低成本。利用 CRISPR - Cas 系统（如 Cas12a、Cas13a）的高灵敏度和反式切割活性。当 Cas 复合物识别到目标 eDNA 后，会被激活并切割报告分子（如标记了淬灭基团的单链 RNA/DNA），在检测卡上产生信号。该方法对痕量核酸具有极高的灵敏度因而在痕量样本的检测上有一定效果。

③ 全流程集成与自动化

开发一体化、盒式、密闭的检测设备。用户只需要把采集好 eDNA 的滤膜插进这个设备，就能让它自动完成所有检测步骤。参考当下的微流控芯片技术，将 DNA 提取、扩增、检测等多个功能单元集成在一张芯片上，通过程序控制液体流动，最大限度减少人为操作与污染。

④ 样本处理与稳定性优化

我们需要提升现场样本的长期稳定性，解决 eDNA 易降解和试剂冷藏需求的问题。例如，将环介导等温扩增（LAMP）试剂和检测试剂冻干在反应管或检测卡上。冻干试剂可在常温下长期储存和运输，使用时只需加入水或提取液即可复溶，极大增强现场应用的便利性。

⑤ 检测靶标数据库与模型拓展

我们可以建立更全面的摇蚊物种 DNA 条形码数据库，开发针对更多指示物种的检测卡。开发检测与污染物降解、抗胁迫等相关的微生物功能基因的检测卡，从生态系统功能层面进行评估。

⑥ 成本与普及性优化

寻找更廉价的膜材料（如用玻璃纤维棉替代部分硝酸纤维素膜），优化探针合成与标记工艺，通过大规模生产分摊研发和制造成本，使其能够应用于公民科学以及常态化、网格化监测。

11 研究客观局限性及未来展望

①整体实验的样本数据量均较少，由此进行了分析可能不能真实反馈该地区生态状况，不过，在某种程度上，也具备一些指导意义。未来可以在不破坏生态环境的基础上增加样本数量，增强研究结论的可信度。

②动物行为学实验仅有设计方案，并未实际操作，所以尚且得不到有效结论。希望可以在未来完成试验并给出结论，提供生态价值。

③基于横向流动技术的摇蚊 eDNA 生物指示剂现场检测卡目前还在探索中，距离实际应用仍较为遥远。未来有待进一步寻找具备指示性价值的摇蚊种类的特异性 DNA 片段。

12 研究感悟

做完这次研究活动，我们得到了不少实实在在的收获，这些收获不光来自技术上的长进，还有对生命本身的认知。我们把 DNA 条形码、系统发育分析这些关键技术练得越来越熟练。这份研究还让我们真切感受到生命背后藏着的精巧进化逻辑，以及生物多样性那种让人惊叹的美妙。当遗传数据一点点表现出种群的发展历史时，我们真切意识到，生命的延续跟自然的广袤是分不开的。每一个微小的物种，都是生态系统里缺不了的组成部分。就这方面来说，它们的生存状态，能直接反映出环境的健康情况。在这一点上，我们也下定决心，要做生态保护的坚定倡导者。开发纳米金新技术的初衷，正是期望借助科学的力量守护这份脆弱而珍贵的生物多样性，使研究成果切实成为保护生态环境的重要监测手段。

13 致谢

回顾这段满载挑战与发现的探索历程，无数温暖的帮扶与支持仍历历在目，感激之情，溢于言表。首先，我向天津师范大学分子生物学实验室致以最诚挚的谢忱。本研究的分子生物学实验环节，得益于该实验室提供的仪器设备与实验平台。同时，我由衷感谢天津师范大学的王成艳老师给予的指导与激励。同时，我要衷心感谢东南大学生物与医学工程学院组织的线下研学营。正是在这个汇聚了优秀学者与前沿思想的平台上，我有机会接触并亲手完成了 DNA-纳米金复合物的表征相关实验。东南大学严谨的治学风格和浓厚的学术氛围启发了我的灵感，为我打开了通往交叉学科研究的大门，让我对生物与医学工程的融合有了更直观和深刻的理解。

本研究的镉胁迫实验的实验设计接受了天津师范大学孙老师指导。并且她与我共同探讨了通过分子实验验证毒性响应机制的可能性，虽然受限于时间与精力，这一设想未能在此次研究中落实，但这一探索过程极大地拓宽了我的科研视野，也让我对机制性研究有了更深刻的理解。在论文的数学建模部分，北京师范大学黄海洋教授给予了极为深入、细致且严谨的指导。从 Hill 方程、双指数模型到 GUTS 模型的构建与参数解析，每一处细节黄老师都认真推敲、反复讨论。黄老师治学之严谨、态度之认真，令我由衷敬佩。这一段学习讨论经历，不仅为本文的数学分析奠定了坚实基础，更在我心中埋下了一颗向往科研的种子，成为我未来继续探索学术道路的重要起点。

最后，向我的指导老师岑宇老师致以最深切的敬意与感谢。您始终以一丝不苟的治学态度为我指引方向。让我深刻领悟到“板凳要坐十年冷，文章不写一句空”的科研真谛。您的言传身教，是我在此次研究中所获得的最为宝贵的财富，也将继续照亮我未来的学术道路。

谨以此文，献给致力于生态环境保护的广大工作者以及热衷于自然生命科学的众多学者。学海无涯，前路漫漫，科研之路道阻且长，幸得挚友比肩，共迎风雨，同见晴空。此后征途，我们亦当继续求索，携手前行。

14 参考文献

1. Jon Martin. Morphology and Cytology of Oriental Chironomus species.Oriental Chironomus v.March 2020
2. Li, S.-Y.; Zhao, Y.-M.; Guo, B.-X.; Li, C.-H.; Sun, B.-J.; Lin, X.-L. Comparative Analysis of Mitogenomes of *Chironomus* (Diptera: Chironomidae). *Insects* **2022**, *13*, 1164. https://doi.org/10.3390/insects13121164
3. Polukonova, N.V., Djomin, A.G., Mugue, N.S. *et al.* Comparison of *Chironomus usenicus* and *Chironomus curabilis* with species of the group *plumosus* (Diptera) inferred from the mitochondrial DNA Gene *COI* and by the polytene chromosomes banding pattern. *Russ J Genet* **45**, 899–905 (2009). https://doi.org/10.1134/S102279540908002X
4. Polukonova, N.V., Comparative Morphological Analysis of Mosquitoes *Chironomus curabilis* and *Ch. nuditarsis* (Chironomidae, Diptera): 1. Preimaginal Phases, *Zool. Zh.*, 2005, vol. 84, no. 3
5. Victor Guryev, Irina Makarevitch, Alexander Blinov, and Jon Martin. Phylogeny of the Genus Chironomus (Diptera) Inferred from DNA Sequences of Mitochondrial Cytochrome b and Cytochrome oxidase I.Molecular Phylogenetics and Evolution Vol. 19, No. 1, April, 2001 doi:10.1006/mpev.2001.0898.http://www.idealibrary.com
6. Jon Martin，Redescription of the type specimen of Chironomus oppositus Skuse 1856CHIRONOMUS Journal of Chironomidae Research, No. 38, 2024: 44-46. Short Communications.
7. Natsuko I. KONDO1, Ryuhei UENO1, Kako OHBAYASHI1,2, Veronika V. GOLYGINA3 and Kenzi TAKAMURA1.DNAbarcoding supports reclassification of Japanese Chironomus species (Diptera: Chironomidae)Entomological Science (2016) doi: 10.1111/ens.1221
8. Simon, C. *et al.* Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Ent. Soc. Am.* **87**, 651–701 (1994).
9. Guryev, V., Makarevich, I., Blinov, A., and Martin, J., Phylogeny of the Genus *Chironomus* (Diptera) Inferred from DNA Sequences of Mitochondrial Cytochrome b and Cytochrome Oxidase I, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2001, vol. 19
10. Polukonova, N.V., Djomin, A.G., Mugue, N.S. *et al.* Comparison of *Chironomus usenicus* and *Chironomus curabilis* with species of the group *plumosus* (Diptera) inferred from the mitochondrial DNA Gene *COI* and by the polytene chromosomes banding pattern. *Russ J Genet* **45**, 899–905 (2009). https://doi.org/10.1134/S102279540908002X
11. Sudhir Kumar, Koichiro Tamura, Masatoshi Nei, MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment, *Briefings in Bioinformatics*, Volume 5, Issue 2, June 2004, Pages 150–163, https://doi.org/10.1093/bib/5.2.150
12. Pfenninger，M.，Nowak，C.，Kley，C.，et al.，DNA Taxonomy and Barcoding in the Inference of Larval Community Structure in Morphologically Cryptic *Chironomus*（Diptera） Species，*Mol. Ecol.*，2007，vol. 16 https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03136.x
13. Guryev, V., Makarevich, I., Blinov, A., and Martin, J., Phylogeny of the Genus *Chironomus* (Diptera) Inferred from DNA Sequences of Mitochondrial Cytochrome b and Cytochrome Oxidase I, *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2001, vol.https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0898
14. Bhavisha P. Sheth and Vrinda S. Thaker. 2017. DNA barcoding and traditional taxonomy: an integrated approach for biodiversity conservation. *Genome*. **60**(7): 618-628. https://doi.org/10.1139/gen-2015-0167
15. Ruppert, Krista M. Development and Assessment of an Environmental DNA (eDNA) Assay for the Rio Grande Siren and Review of eDNA Metabarcoding Applications
16. G. Krantzberg and P. M. Stokes. 1989. Metal Regulation, Tolerance, and Body Burdens in the Larvae of the Genus *Chironomus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **46**(3):

389-398. https://doi.org/10.1139/f89-051

17. Quentin Foucault.Rapid adaptation to high temperatures in Chironomus riparius. https://doi.org/10.1002/ece3.4706

18. Hu Yu, Chen Jianhui, Wang Haipeng, Lü Feiya, Wei Guoying. Recent Progress and Perspectives in Paleoenvironmental and Paleoclimatic Research Based on Chironomidae (Diptera)[J]. Advances in Earth Science, 2016, 31(8): 870-884 https://doi.org/10.11867/j.issn.1001-8166.2016.08.0870.

19. Wright D A. The effect of external sodium concentration upon sodium fluxes in Chironomus dorsalis (Meig.) and Camptochironomus tentans (Fabr.), and the effect of other ions on sodium influx in C. tentans[J]. Journal of Experimental Biology, 1975, 62(1): 141-155.

20. Lorenzo Rigano, Markus Schmitz, Volker Linnemann, Martin Krauss, Henner Hollert, Markus Pfenninger, Exposure to complex mixtures of urban sediments containing Tyre and Road Wear Particles (TRWPs) increases the germ-line mutation rate in Chironomus riparius, Aquatic Toxicology, 10.1016/j.aquatox.2025.107292, **281**, (107292), (2025).

21. Linda Eberhardt, Halina Binde Doria, Burak Bulut, Barbara Feldmeyer, Markus Pfenninger, Transcriptomics predicts artificial light at night's (ALAN) negative fitness effects and altered gene expression patterns in the midge Chironomus riparius (Diptera:Chironomidae), Environmental Pollution, 10.1016/j.envpol.2025.125827, **369**, (125827), (2025)

22. Halina Binde Doria, Cosima Caliendo, Susanne Gerber, Markus Pfenninger, Photoperiod is an important seasonal selection factor in Chironomus riparius (Diptera: Chironomidae) , Biological Journal of the Linnean Society, 10.1093/biolinnean/blab147, **135**, 2, (277-290), (2021).

23. 李明．摇蚊幼虫人工培育试验[J]．中国水产，2008（2）：73-74.

24. Markus Pfenninger, Quentin Foucault, Genomic processes underlying rapid adaptation of a natural Chironomus riparius population to unintendedly applied experimental selection pressures, Molecular Ecology, 10.1111/mec.15347, **29**, 3, (536-548), (2020).

25. OECD (2011). Test No. 235: Chironomus sp., Acute Immobilisation Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris. https://doi.org/10.1787/9789264120420-en

26. Timmermans K R, Peeters W, Tonkes M. Cadmium, zinc, lead and copper in Chironomus riparius (Meigen) larvae (Diptera, Chironomidae): uptake and effects[J]. Hydrobiologia, 1992, 241(2): 119-134.

27. Williams K A, Green D W J, Pascoe D, et al. The acute toxicity of cadmium to different larval stages of Chironomus riparius (Diptera: Chironomidae) and its ecological significance for pollution regulation[J]. Oecologia, 1986, 70(3): 362-366.

28. Gillis P L, Wood C M. Investigating a potential mechanism of Cd resistance in Chironomus riparius larvae using kinetic analysis of calcium and cadmium uptake[J]. Aquatic toxicology, 2008, 89(3): 180-187.

29. Craig A, Hare L, Tessier A. Experimental evidence for cadmium uptake via calcium channels in the aquatic insect Chironomus staegeri[J]. Aquatic Toxicology, 1999, 44(4): 255-262.

30. Seidman L A, Bergtrom G, Gingrich D J, et al. Accumulation of cadmium by the fourth instar larva of the fly Chironomus thummi[J]. Tissue and cell, 1986, 18(3): 395-405.

31. Rao D S, Saxena A B. Acute toxicity of mercury, zinc, lead, cadmium, manganese to the Chironomus sp[J]. International Journal of Environmental Studies, 1981, 16(3-4): 225-226.

32. Postma J F, VanNugteren P, De Jong M B B. Increased cadmium excretion in metal-adapted populations of the midge Chironomus riparius (Diptera)[J]. Environmental toxicology and chemistry, 1996, 15(3): 332-339.

33. 李浩. 铜和镉对羽摇蚊幼虫 (Chironomus plumosus) 和红裸须摇蚊幼虫 (Propsilocerus akamusi) 的毒性效应[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012.

34. 邓鑫, 台培东, 夏娜, 等. Cu^(2+) 对伸展摇蚊及黄色羽摇蚊幼虫的急性毒性研究[J]. 喀什师范学院学报,

2015, 36(3): 32-35.

35. 付伟利, 杜移珍, 张敏. 镉胁迫对昆虫的毒性效应及昆虫防御机制的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 1001-1006.

36. Mehendale H M. Biochemical mechanisms of biphasic dose-response relationships: role of hormesis[M]//Biological Effects of Low Level Exposures to Chemical and Radiation. CRC Press, 2017: 59-94.

37. 曾晨, 郭少娟, 杨立新. 汞, 镉, 铅, 砷单一和混合暴露的毒性效应及机理研究进展[J]. 环境工程技术学报, 2018, 8(2): 221-230.

38. 戴宇飞, 郑玉新. 毒理学中心法则的重新审视——毒物兴奋性剂量-反应关系及其对毒理学发展的影响[J]. 国外医学: 卫生学分册, 2003, 30(4): 246-249.

39. Sheiner L B, Beal S L. Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters II. Biexponential model and experimental pharmacokinetic data[J]. Journal of pharmacokinetics and biopharmaceutics, 1981, 9(5): 635-651.

40. Bobrovnik S A. Determination the rate constants of some biexponential reactions[J]. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2000, 42(1-2): 49-63.

41. Gibaldi, Milo, and Donald Perrier, eds. Pharmacokinetics. crc Press, 1982.

42. Jager T, Albert C, Preuss T G, et al. General unified threshold model of survival-a toxicokinetic-toxicodynamic framework for ecotoxicology[J]. Environmental science & technology, 2011, 45(7): 2529-2540.

43. Bart S, Jager T, Robinson A, et al. Predicting mixture effects over time with toxicokinetic–toxicodynamic models (GUTS): Assumptions, experimental testing, and predictive power[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55(4): 2430-2439.

44. Baudrot V, Charles S. Recommendations to address uncertainties in environmental risk assessment using toxicokinetic-toxicodynamic models[J]. Scientific reports, 2019, 9(1): 11432.

45. Focks A, Belgers D, Boerwinkel M C, et al. Calibration and validation of toxicokinetic-toxicodynamic models for three neonicotinoids and some aquatic macroinvertebrates[J]. Ecotoxicology, 2018, 27(7): 992-1007.

46. Gao Y. Application of toxicokinetic–toxicodynamic models in the aquatic ecological risk assessment of metals: A review[J]. Environmental toxicology and pharmacology, 2024, 110: 104511.

47. 高天然, 周可新. 镉胁迫下水生动物的生物标志物研究进展[J]. 生态与农村环境学报, 2017, 33(4): 297-307.

48. Yan L, Sun C, Sun L, et al. Role of metallothionein gene in Cd and Pb detoxification in Chironomus kiiensis[J]. Ecotoxicology, 2025, 34(4): 666-676.

49. Lee S E, Yoo D, Son J, et al. Proteomic evaluation of cadmium toxicity on the midge Chironomus riparius Meigen larvae[J]. Proteomics, 2006, 6(3): 945-957.

50. Jeppe K J, Carew M E, Long S M, et al. Genes involved in cysteine metabolism of Chironomus tepperi are regulated differently by copper and by cadmium[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2014, 162: 1-6.

51. Park K, Kwak I S. Assessment of potential biomarkers, metallothionein and vitellogenin mRNA expressions in various chemically exposed benthic Chironomus riparius larvae[J]. Ocean Science Journal, 2012, 47(4): 435-444.

52. Park K, Kwak I S. Cadmium-induced developmental alteration and upregulation of serine-type endopeptidase transcripts in wild freshwater populations of Chironomus plumosus[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 192: 110240.

53. Zhang Y, Liu Z, Wang Z, et al. Health risk assessment of cadmium exposure by integration of an in silico physiologically based toxicokinetic model and in vitro tests[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 443: 130191.

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖公示

54. Wang N, Ingersoll C G, Ivey C D, et al. Sensitivity of early life stages of freshwater mussels (Unionidae) to acute and chronic toxicity of lead, cadmium, and zinc in water[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2010, 29(9): 2053-2063.
55. 谢锐莉，许宜平，张慧，等．种群生态风险评估方法研究进展[J]. Asian Journals of Ecotoxicology, 2020, 15(5).
56. 闵丽根，袁若，柴雅琴，等．基于纳米金与碳纳米管-纳米铂-壳聚糖纳米复合物固定癌胚抗原免疫传感器的研究[J]．化学学报，2008，66(14)：1676.
57. 吴维明，蔡强，陈裕泉．纳米金在生物检测中的应用[J]．国外医学：生物医学工程分册，2003，26(5)：193-197.
58. 曾琦斐．纳米金的制备及其应用研究[J]．嘉应学院学报，2011，29(5)：54-59.
59. 王楠，徐淑坤，王文星．纳米金生物探针及其应用[J]．化学进展，2007，19(0203)：408.
60. 杨婕，杨涛，马瑶，等．纳米金在 DNA 生物传感器和基因芯片研究中的应用[J]．化学研究与应用，2007，19(3)：233-237.
61. Mousavi-Sani S Z, Raoof J B, Ojani R, et al. Nano-Gold Modified Genosensor for Direct Detection of DNA Hybridization[J]. Journal of the Chinese Chemical Society, 2013, 60(6): 650-656.
62. Xu K, Huang J, Ye Z, et al. Recent development of nano-materials used in DNA biosensors[J]. Sensors, 2009, 9(7): 5534-5557.
63. Quesada-González D, Merkoçi A. Nanoparticle-based lateral flow biosensors[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2015, 73: 47-63.
64. Bahadır E B, Sezgintürk M K. Lateral flow assays: Principles, designs and labels[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2016, 82: 286-306.
65. Ngom B, Guo Y, Wang X, et al. Development and application of lateral flow test strip technology for detection of infectious agents and chemical contaminants: a review[J]. Analytical and bioanalytical chemistry, 2010, 397(3): 1113-1135.
66. Sena-Torralba A, Álvarez-Diduk R, Parolo C, et al. Toward next generation lateral flow assays: integration of nanomaterials[J]. Chemical Reviews, 2022, 122(18): 14881-14910.
67. Jauset-Rubio M, Svobodová M, Mairal T, et al. Ultrasensitive, rapid and inexpensive detection of DNA using paper based lateral flow assay[J]. Scientific reports, 2016, 6(1): 37732.

致谢页：

本研究选题源于对京津地区淡水生态系统健康监测需求的关注。摇蚊科昆虫作为重要的环境指示生物，其传统形态学鉴定存在局限，且现有监测手段难以满足现场、快速、低成本的应用需求。在岑宇老师的指导下，我们结合自身对分子生物学、生态毒理学及纳米传感技术的兴趣，确定了“物种鉴定—机制解析—技术转化”的整合研究路径。选题经过多次讨论与文献调研，最终聚焦于京津地区摇蚊的系统发育、种群遗传结构、镉胁迫毒性响应机制及纳米传感检测技术的初步探索。

指导教师岑宇老师为参赛学生的高二阶段生物教师师，在论文写作过程中，帮助学生查看语言描述以及科学表述是否有误。陈宇老师指导了镉离子胁迫实验中的浓度设置，指导学生进行了多次预实验工作。全过程指导为无偿指导。

本研究内容中，有关数学建模部分曾与北京师范大学黄海洋教授进行细致讨论，最终由学生独立完成建模以及生理学解释工作。同时，纳米金的制备和表征实验与东南大学营地活动中完成，也再次感谢上述老师的指导。其余工作为学生自主独立完成。

在研究过程中，也遇到了一些困难。在镉离子（Cd^{2+}）胁迫实验环节，我们遇到的最大困难是浓度梯度和时间点的确定。起初参照文献设置的浓度范围过窄，预实验中出现低浓度组（如0、5、10、20 μg/L）与对照组生存率几乎无差异，无法体现毒性效应；而高浓度组（如5000、10000 μg/L）又在24小时内全部死亡，导致时间-生存率曲线严重缺失。为此我们先后开展了多轮预实验，反复调整浓度范围，从0到10000 μg/L之间不断尝试，最终确定了12个浓度梯度（0、5、10、20、40、80、160、640、1000、2000、5000、10000 μg/L）和17个观察时间点（1、3、5、12、18、24、30、36、42、48、54、60、72、78、84、90、96 h）。此外，预实验还发现幼虫驯养死亡率高、投喂量不易控制、水质和温度波动影响结果，我们通过统一驯养2周、挑选健康四龄幼虫、控制25±1℃、定时定量投喂、适度曝气、每日观察并剔除死亡个体等措施逐步解决。最终，在多次预实验和浓度筛选的基础上，正式实验获得了完整、可靠的生存率数据，为后续Hill方程、双指数模型和GUTS模型分析奠定了基础。