

公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：110103e306

行政院農業委員會林務局九十五年度科技計畫研究報告

資訊庫編號：953329

計畫名稱：**台灣高山地區蜘蛛之絲基因多樣性研究 (II) (第2年/全程4年)**

(英文名稱) **Spiders in high mountainous areas of Taiwan: A study of silk gene diversity (II)**

計畫編號：**95農科-11.1.3-務-e3(6)**

全程計畫期間：**94年1月1日至97年12月31日**

本年計畫期間：**95年6月26日至95年12月31日**

計畫主持人：**卓逸民**

執行機關：**私立東海大學**

台灣高山地區蜘蛛之絲基因多樣性研究

卓逸民

東海大學生命科學系

摘要

本研究之主要目的目標為藉蜘蛛絲之物理及化學特性之分析比較來了解不同地區蜘蛛絲基因之組成與結構和生態環境間之關聯為何，以探討高山地區之特殊氣候因子及地理阻隔模式如何影響絲基因之演化。許多蜘蛛藉由生產絲與建構蜘蛛網來捕食獵物。尤其在圓網蜘蛛中，絲的性質及網的結構對於蜘蛛的獵物捕食與捕食者防禦扮演重要的角色。目前我們並不清楚當結圓網性蜘蛛長期居住在具高度物理性干擾的環境中，如經常有強風吹襲及大量紫外線照射之地區，其網結構及絲之特性是否會有所特化。我們選取了分佈於高 UV、強風環境下之二角塵蛛（*Cyclosa mulmeinensis*）及分佈於干擾較小之低海拔森林環境之長銀塵蛛（*Cyclosa ginnaga*）進行蜘蛛絲物性、胺基酸組成及基因序列之比較。本研究測量這些蜘蛛絲及蜘蛛網的物理、化學及幾何性質，包括絲直徑、單絲之應力應變關係、蜘蛛網之應力應變關係，以及大壺狀腺絲的絲胺基酸組成。藉著比較不同棲地及不同種類的絲與網性質，希望能了解在物理性干擾大的環境中，蜘蛛絲及蜘蛛網有哪些特化。初步結果顯示，棲息在高 UV 高強風地區的二角塵蛛的大壺狀腺絲之胺基酸組成中具有較高的比例的丙氨酸及甘氨酸；此外，在干擾較小之低海拔森林地區之長銀塵蛛則含較多的麩胺醯。由於丙氨酸及甘氨酸在蜘蛛絲中主要形成結晶構造，因此推測前者之絲有較佳之強度。由應力應變曲線之趨勢也顯示二角塵蛛的大壺狀腺絲如預期般的具有較大的應力及斷裂能量，比起長銀塵蛛之絲具有較佳之物理性質。此外，在考慮蜘蛛體重及絲直徑之情況下，二角塵蛛的網其縱絲數雖少，但其張力卻顯著高於長銀塵蛛。由於該二種蜘蛛的絲及網差異與本身棲地所對面的干擾程度具有相關性，推測不同環境下生存的蜘蛛，其絲的基因表現、蛋白質組成、結構、材料特性及網的性質可依環境作出適當的調整。目前正收集二角塵蛛及長銀塵蛛大壺狀腺絲基因之部分序列，以此為基礎探討大壺狀腺絲基因之重複片段組成及次級結構與蜘蛛所處環境之生態因子間之關聯為何。

**Spider in High Mountainous Areas of Taiwan:
A Study of Silk Gene Diversity**

Abstract

Spiders use several kinds of silk glands to produce silks for various purposes, and these silks exhibit different composition and properties. Composed of protein fibers, spider silk has higher strength and elasticity than most artificial fibers. Currently, it is not clear whether the harsh environmental conditions in high mountains may facilitate the evolution of adaptive properties in spider silks. The major goal of this study is to investigate the physical properties and amino acid compositions of silks produced by species inhabiting habitats receiving degree of physical disturbances. Preliminary results showed that the amino acid composition of the ampullate silk of *Cyclosa mulmeinensis* inhabiting areas characterized by strong wind and high UV contained higher percentages of alanine, glycine and lower glutamine than those of silk from the forest-dwelling *C. ginnaga*. Since alanine and glycine were major components of crystallized structure and were relevant with strength of silk, silks of *C. mulmeinensis* should be stronger than that of *C. ginnaga*. This prediction was supported by the results that the stress and breaking energy of silk produced by *C. mulmeinensis* was higher than that of *C. ginnaga*. Furthermore, while considering the body weight and silk diameter of spiders, the web strength of *C. mulmeinensis* is significantly higher than that of *C. ginnaga*. These results imply that orb-web spider inhabiting areas of different level of environmental disturbances exhibit variations in silk and web properties. In the near future we will work on the sequence of silk genes of these two species to realize how the unique alpine ecosystems may have shaped the composition and structure of spider silks.

前言

蜘蛛利用各種產絲的腺體產生具不同功能的蜘蛛絲，而這些蜘蛛絲具有不同的成分及性質，不像其他種類的昆蟲只能生產單一功能的絲 (Craig et al 1999)。這些絲可以提供一個適合的模型來探討蛋白質設計與功能結構的關係。絲的生產系統在蛛形綱的演化過程中曾發生數次改變，而造成分子結構及物理特性及蜘蛛絲功能的多樣性 (Gatesy et al 2001)。而這些多樣性則是不同種類蜘蛛在各式各樣的天擇壓力下所發展而來。蜘蛛絲是由胺基酸所組成，成分以丙胺酸 (Alanine) 及甘胺酸 (Glycine) 的含量最多 (超過 60%)，其他少量的胺基酸在含量上則較不固定 (Craig et al. 1999) (表二)。其胺基酸序列中有許多重複的片段並形成許多特定的二級結構，使得蜘蛛絲有極佳的強度和彈性。由累積至目前之證據顯示蜘蛛曳絲之特徵為結晶的區域散佈於其他鬆散的非結晶胺基酸序列中 (Hayashi et al 1999)。蜘蛛絲的強度一般認為歸因於結晶的部分 (antiparallel β -sheet)，可能是由多丙胺酸 (poly-Alanine) 的區域構成，其基本的重複單位為 poly-(Glycine-Alanine) 或 poly-Alanine。其彈性則可能歸因於絲蛋白的非結晶排列部分 (Hayashi et al. 1999) (圖四)。經進一步由大壺狀腺的胺基酸序列分析推測多甘胺酸區域可能形成 type II β -turn 結構 (β -turn 是指胺基酸鏈中氫鍵是由第一個和第三個胺基酸形成，因此會造成較大曲度的轉向，而 α -helix 則是由第一個和第四個胺基酸形成氫鍵)，進一步構成 β -spiral 的螺旋結構，成為其彈性的主要來源，而其基本重複單位為 Glycine-Proline-Glycine-Glycine-X 或 Glycine-Proline-Glycine-Glutamine-Glutamine。其他的二級結構有 3_{10} Helix (基本單位為 GGX) 和 Spacer (無特定重複單位)，它們可幫助單體 (monomer) 排列形成纖維。

以前學者大多認為曳絲是由一個基因所形成，而且絲之組成固定，不會受外界因素所影響。但是越來越多實驗證據顯示蜘蛛絲的排列及結構會受到外界因素及內在調控而改變，也就是說當環境變化，蜘蛛會調整所產的絲來適應環境。例如人面蜘蛛屬之個體可控制絲疣中的閥的放大或縮小來調整絲之粗細 (Vollrath 1999)，通常蜘蛛的重量和體型大小成正相關，所以蜘蛛體型越大重量越重時所產的絲也越粗 (Tso & Severinghaus 1998)，也許可以解釋成蜘蛛絲越粗能支持越重的個體 (Vollrath & Köhler 1996)。而營養不良會讓可獲得的胺基酸減少，因此會影響其絲的化學組成，進而影響物理性質，研

究證據即顯示飢餓會降低絲的延展性 (Madsen et al., 1999)。此外，由於蜘蛛絲是靠剪力抽出蜘蛛體外，所以利用馬達不同轉速來捲蜘蛛絲模擬不同的剪力抽絲，馬達轉速越高代表所受剪力越大。當抽絲速度越快所受剪力越大，在蜘蛛絲相轉變過程中增加分子的排列，減少無結晶非方向性的區域，使得 breaking stress、modulus 增加，而降低 elongation (Madsen et al., 1999)。(breaking strength 為破壞絲線所需的力量 (N)；breaking energy 為破壞絲線所需要作的功 (J)；breaking stress 為破壞絲線所需的壓力 (N/m²：pa)；strain 即延展性，等於伸長量/原長；modulus 則形容強壯的程度，等於 stress/strain (N/m²：pa))。除了藉絲腺中之閥來控制絲之粗細進而調整絲之物理特性外，更有證據顯示蜘蛛會因應環境中獵物種類之變化而改變絲之氨基酸組成。在野外，蜘蛛所能捕獲之獵物通常有極大之時空變化且不可預期 (Tso 1996, 1998, Tso & Severinghaus 2000, Tso et al. 2002)。早期之研究已顯示結圓網之蜘蛛會因其飢餓狀態而調整絲之輸出量及網之大小 (Sherman 1994, Tso 1999)。而最近之研究則指出在飢餓狀態下，除了所產絲之量外，絲之物理特性及組成皆會有所改變。如持續之食物不足會造成所產絲之 breaking elongation 降低 (Madsen et al. 1999)；而食物量之改變亦會造成由集合腺所產生之黏液中之低分子量有機物成份之改變 (Higgins et al. 2001)。此外，Craig 等人 (2000) 發現在加勒比海不同小島所採得之金蜘蛛 (*Argiope argentata*) 之曳絲具不同之氨基酸組成。而室內之餵食實驗顯示當金蜘蛛之食物由雙翅目之蠅類轉為直翅目之蟋蟀時，其曳絲中之 Serine 數量產生顯著之變化 (Craig et al. 2000)。以上這些研究證據顯示圓網蜘蛛曳絲之製造可能由數個基因，或者是一個基因座上之數個對偶基因所控制；要不然就是有一個非常複雜的後修飾作用 (Post-transcriptional modification) 使得金蜘蛛能因應環境中之食物變化而調整絲之組成。

蜘蛛目種類可分為三大亞目，分別是最原始，行穴居生活，身體仍有分節現象之古疣亞目 (Mesothele)；較為進化，但亦大多行穴居生活之原疣亞目 (Mygalomorpha)；以及最為進化，棲息環境具高度多樣性之新疣亞目 (Araneomorpha) (Coddington & Levi 1991)，其中新疣亞目之種類又可分為結圓網之蜘蛛；演化自結圓網蜘蛛，較進化之結立體網種類；以及更進化已不再依賴網來捕食之徘徊性種類 (Foelix 1996)。這些種類之曳絲基因序列及 motif 為何，由古疣亞目種類乃至於徘徊性種類其曳絲基因呈現何種演化模式，這些有趣的問題目前證據並不

多。蜘蛛之多樣性極高，全球共 3 萬 6 千多種 (Platnick 2000)，又可根據其捕食行為分為許多功能群 (Foelix 1996)。這些不同功能群之種類在各自之生態環境中其曳絲是否演化出不同之組成及結構，而這些組成與結構和蜘蛛之行為及生態環境間之關聯為何，是非常值得探討的問題。高山為台灣十分特殊的生態系，此生態系的生存環境相對而言也較為嚴酷；劇烈的溫度變化，稀薄的空氣，經常性的強風和強烈的紫外線照射等形成較短暫的生物可活動期，考驗著生物生存適應的能力，這樣的環境是探討生物演化的良好場所。蜘蛛利用各種產絲的腺體產生具不同功能的蜘蛛絲，而這些蜘蛛絲具有不同的成分及性質。絲的生產系統在蛛形綱的演化過程中曾發生數次改變，而造成分子結構及物理特性及蜘蛛絲功能的多樣性。而這些多樣性則是不同種類蜘蛛在各式各樣的天擇壓力下所發展而來。蜘蛛在各自之生態環境中其曳絲是否演化出不同之組成及結構，而這些組成與結構和高山生態環境間之關聯為何，是非常值得探討的問題。本研究之目的為藉比較台灣高山及低海拔地區之蜘蛛絲基因，探討高山地區之特殊氣候因子及地理阻隔模式如何影響絲基因之演化，並藉蜘蛛絲特性之分析比較嘗試了解不同高山地區蜘蛛絲基因之組成與結構和高山生態環境間之關聯為何。我們選取了分佈於高 UV、強風環境下之二角塵蛛 (*Cyclosa mulmeinensis*) (圖一 A) 及分佈於干擾較小之低海拔森林環境之長銀塵蛛 (*Cyclosa ginnasa*) (圖一 B) 進行蜘蛛絲物性、胺基酸組成及基因序列之比較。藉著比較不同棲地及不同種類的絲與網性質，希望能了解在物理性干擾大的環境中，蜘蛛絲及蜘蛛網有哪些特化。

材料與方法：

(1) 蜘蛛之採集：

我們在 2006 年的六月至八月分別採集森林性之長銀塵蛛及棲息高干擾地區之二角塵蛛的蜘蛛個體及其蜘蛛網。採集到的個體於當天測量蜘蛛重量並於室內收集蜘蛛之大壺狀腺單絲。最後以 Student t-test 比較二物種之蜘蛛體重。

(2) 網型質測量：

在野外針對二角塵蛛及長銀塵蛛之蜘蛛網，分別計算網半徑、hub 半徑、縱絲數及橫絲數。再利用 Herberstein 及 Tso (2000) 之公式計算捕捉面積及網目大小。各網形質之計算公式如下：最後以 Student t-test 比較二物種蜘蛛網之縱絲數、捕捉面積及網目大小。捕捉面積計算公式如下：

$$\left[\frac{1}{2} \pi r_{au}^2 - \frac{1}{2} \pi (Hr_u)^2 \right] + \left[\frac{1}{2} \pi r_{al}^2 - \frac{1}{2} \pi (Hr_l)^2 \right]$$

其中，

$$r_{al} = \frac{r_l + \frac{d_h}{2}}{2}, \quad r_{au} = \frac{r_u + \frac{d_h}{2}}{2};$$

而網目大小計算公式如下：

$$\frac{1}{2} \left[\left(\frac{r_u - Hr_u}{S_u - 1} \right) + \left(\frac{r_l - Hr_l}{S_l - 1} \right) \right]$$

其中， r_u 為網上半部縱絲長， r_l 為下半部縱絲長， d_h 為網左右之寬度， H 為 hub 的上下長度， S_u 為網上半部橫絲數， S_l 為網下半部橫絲數。

(3) 網張力測量：

在野外針對二角塵蛛及長銀塵蛛將蜘蛛網夾在二張直徑 20 公分的木框，並以強力膠固定蜘蛛絲。在實驗室中將包含蜘蛛絲之木框固定在可上下平滑移動之支架上，網下方放置解析度為 0.1 毫克之電子秤。在電子秤盤上放置一柱狀重物，並將柱狀重物頂端稍微接觸蜘蛛網心，並將電子秤歸零。之後將支架往下移動 30 mm 並記錄電子秤之讀數作為網張力值（圖二 A）。張力值除蜘蛛個體重量作為標準化之網張力值，以縱絲數為共變方，進行共變數比較二物種之網張力大小。

(4) 絲張力測量：

在野外採集成體與亞成體之二角塵蛛及長銀塵蛛。在室內環境以二氧化碳麻醉蜘蛛，再將蜘蛛輕輕以保鮮膜固定於平台，待蜘蛛甦醒後利用攝子取出大壺狀腺單絲。每隻個體取出七段單絲，固定在中空留邊框的紙卡上。其中三根單絲以掃描式電子顯微鏡，15 千瓦特電進行顯微攝影以計算絲直徑。另外四根單絲則將紙卡固定於可上下移動的支架與電子秤上，再將紙片框剪斷，使單絲懸空於支架與電子秤之間。之後將支架往下移動，每移動 1 mm 記錄一次電子秤降低之數值作為絲張力值，直到單絲斷裂為止（圖二 B）。取得各應變之絲張後，將張力值除以絲截面積即為絲應力值，並製作應力應變曲線。該曲線之簡單迴歸直線之斜率即楊式係數值，而應力應變曲線之積分面積即絲之斷裂能。最後以 Student t-test 比較二物種單絲之直徑、各應變之應力、楊式係數及斷裂能。

（5）絲胺基酸組成分析：

取單絲時，將單絲大量纏繞在紙片上，並在實驗室中以溶濟溶解單絲，再送至清華大學貴重儀器中心測量胺基酸組成比例。最後將胺基酸百分比例以 MANOVA 比較二物種之絲胺基酸組成。

結果

（1）蜘蛛體重：

蜘蛛體重可以視為蜘蛛生產絲及網的可利用資源之指標，因此比較二物種之蜘蛛可做為之後絲與網性質分析之標準化參數。我們發現，樣本中的二角塵蛛與長銀塵蛛的蜘蛛重量並沒有顯著差異（ $t_{30} = 0.294$ ， $P = 0.805$ ，圖三 A）。

（2）網型質測量：

網型質分析中，二角塵蛛圓網具有有較大之網目大小（ $t_{20} = 3.405$ ， $P < 0.01$ ）（圖三 B），但具較低的網面積（ $t_{20} = 2.177$ ， $P < 0.05$ ）（圖三 C）與縱絲數（ $t_{20} = 5.475$ ， $P < 0.001$ ）（圖三 D）。可以明顯地看出，與長銀塵蛛比起來，二角塵蛛具有非常不同的圓網結構。

(3) 網張力測量：

我們以縱絲數為共變數，以網張力除以蜘蛛個體重量作為觀測值的情況下，比較不同物種於垂直 30 mm 拉伸之標準化網張力。結果顯示縱絲數並不能顯著地影響標準化網張力 ($F_{1,14} = 2.329$, $P = 0.149$)，但二角塵蛛之標準化網張力顯著大於長銀塵蛛 ($F_{1,14} = 6.646$, $P < 0.05$) (圖四)。

(4) 絲張力測量：

根據 SEM 攝影結果，二物種之單絲直徑並沒有顯著差異 ($t_4 = 0.111$, $P = 0.917$) (圖五)。在應力應變曲線分析中，雖然二角塵蛛在相同應變下之平均應力 (圖六) 及之楊氏係數 ($t_4 = 1.734$, $P = 0.158$) (圖七 A) 高於長銀塵蛛，但受限於少量的樣本數 (二物種各三隻個體)，雖然其 P 值接近 0.05，但未達統計之顯著性。然而，二角塵蛛顯著地具有較高的斷裂能 ($t_4 = 2.997$, $P < 0.05$) (圖七 B)。

(5) 絲胺基酸組成分析：

由 MANOVA 比較二物種之胺基酸比例得知，二角塵蛛與長銀塵蛛的大壺狀腺絲之比例具有顯著的不同 ($F_{6,10} = 10.646$, $P < 0.01$) (圖八)，而且二角塵蛛大壺狀腺絲具有較高的 Glycine ($F_{1,15} = 49.476$, $P < 0.001$) 與 Alaline ($F_{1,15} = 8.661$, $P < 0.001$) 比例；二者皆為組成蛋白質結晶次級結構的胺基酸，與絲之強度有關。此外，長銀塵蛛具有較高的 Glutamine ($F_{1,15} = 20.056$, $P < 0.001$) 與 Serine ($F_{1,15} = 4.393$, $P = 0.053$)，其中 Glutamine 為產生結晶度低之次級蛋白結構的胺基酸，與絲之彈性有關。另外，Proline 在二物種的大壺狀腺並沒有顯著差異 ($F_{1,15} = 0.932$, $P = 0.35$)。

討論

圓網是圓網蜘蛛的生存工具。假使失去圓網，圓網蜘蛛便失去了食物來源。圓網除了要具有能夠捕捉上網之獵物，也必須能夠抵抗棲地中其它的物理性干擾，例如強風及雨水。因此，圓網蜘蛛對於所棲習環境之干擾強度可能有一定的適應或馴化，以製成足夠應付破壞圓網的強度。在本研究中，我們探討不同環境干擾中的二種塵蛛是

否具有不同的絲及網性質，並深入探討不同性質的可能機制。在網型質方面，二角塵蛛具有較大的網目及較小的捕捉面積。這可能是因為二角塵蛛棲習於物理性高干擾的濱海地區，降低網面積及網目大小有可減少風對網的干擾。至於森林性的長銀塵蛛，可能因為不需要應付太強之物理性干擾，因此增加其網面積及降低網目大小，以增加其圓網之捕食能力。此外，圓網的縱絲數目一直被認為與網張力強度有直接的正相關。但我們卻發現，二角塵蛛之圓網並不如預期中比長銀塵蛛圓網具有更多的縱絲數量。這可能因為過多的縱絲數仍可能造成太大的風阻而使二角塵蛛之圓網被強風破壞。

由單絲的物性研究得知，在二物種間的絲直徑沒有差異的情況下，二角塵蛛具有較強的應力，以致於其具有顯著較高的斷裂能。單絲的斷裂能可視為忍受物理性干擾的指標，而在網張力研究當中，我們確實發現二角塵蛛具有較大的網張力，因此二角塵蛛單絲及圓網比長銀塵蛛應可承受更強的物理性干擾。在不具有較大絲直徑的情況下，二角塵蛛仍具有較強的單絲，可能是因為其大壺狀腺絲具有較多的 Glycine 與 Alanine。目前已知，大壺狀腺絲至少是由二種蛋白質所組合而成，MaSp1 及 MaSp2 蛋白。MaSp1 蛋白具有大量的 Glycine 及 Alanine 重複片段，以組成結晶狀的次級蛋白結構並增加絲的硬度。MaSp2 蛋白與 MaSp1 不同之處在於，MaSp2 具有許多 Glutamine 及 Proline，形成非結晶的次級蛋白結構並使絲更具有延展性。我們的研究指出二角塵蛛大壺狀絲具有較多的 Glycine 及 Alanine，因此可能存在更多的結晶次級結構而造成絲應力增加。相對地，長銀塵蛛的大壺狀腺絲具有較多的 Glutamine，推測其中具有較多的 MaSp2 蛋白並使絲的延展性增加，以增加圓網捕食獵物的能力。

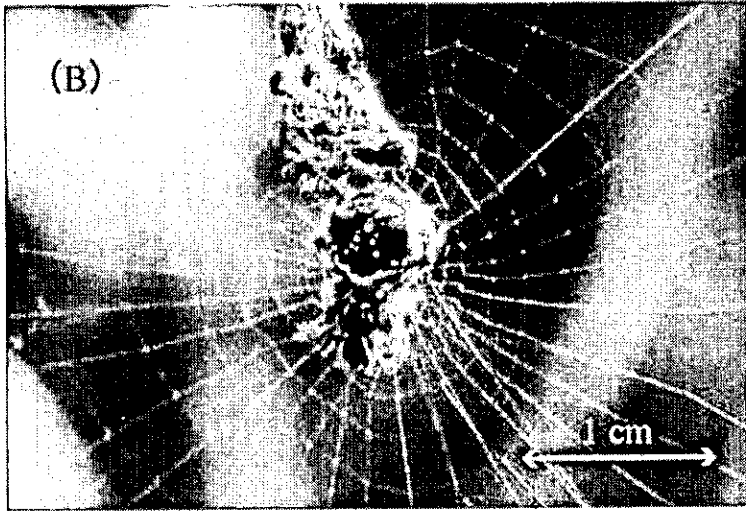
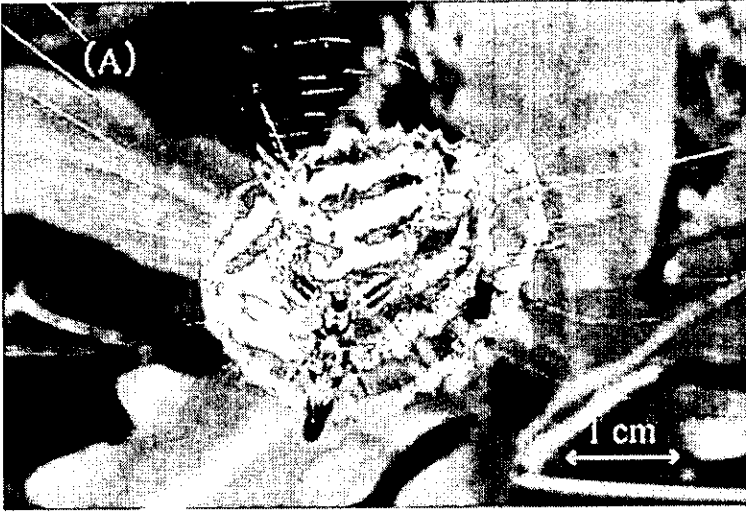
綜合我們的研究，二角塵蛛比較長銀塵蛛具有應力較強的大壺狀腺絲及張力較強的圓網，而這可能是對於不同棲習環境具有不同程度的物理性干擾之適應。初步結果顯示，棲習在高 UV 高強風地區的二角塵蛛的大壺狀腺絲之胺基酸組成中具有較高的比例的丙氨酸及甘氨酸；此外，在干擾較小之低海拔森林地區之長銀塵蛛則含較多的麩胺醯。由於丙氨酸及甘氨酸為蜘蛛絲中主要形成結晶構造，因此推測前者之絲有較佳之強度。由應力應變曲線之趨勢也顯示二角塵蛛的大壺狀腺絲如預期般的具有較大

的應力及斷裂能量，比起長銀塵蛛之絲具有較佳之物理性質。此外，在考慮蜘蛛體重及絲直徑之情況下，二角塵蛛的網其縱絲數雖少，但其張力卻顯著高於長銀塵蛛。由於該二種蜘蛛的絲及網差異與本身棲地所對面的干擾程度具有相關性，推測不同環境下生存的蜘蛛，其絲的材料特性及網的性質可依環境作出適當的調整。目前正收集二角塵蛛及長銀塵蛛大壺狀腺絲基因之部分序列，以此為基礎探討大壺狀腺絲基因之重複片段組成及次級結構與蜘蛛所處環境之生態因子間之關聯為何。

參考文獻

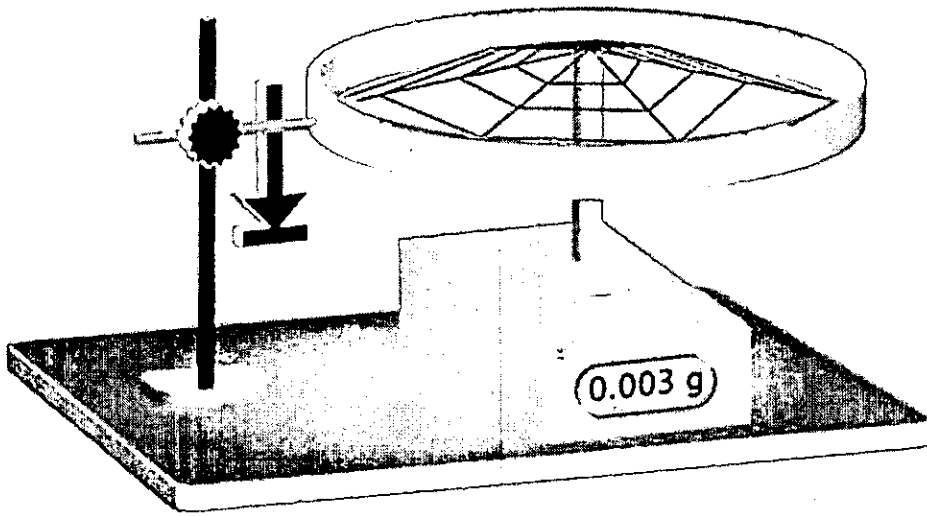
- Beckwitt, R., S. Arcidiacono and R. Stote. 1998 Evolution of repetitive proteins: spider silks from *Nephila clavipes* (Tetragnathidae) and *Aranrus bicentenarius* (Araneidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 28:121-130.
- Craig, C. L., M. Hsu, D. Kaplan and N. E. Pierce. 1999. A comparison of the composition of silk proteins produced by spiders and insects. *International Journal of Biological Macromolecules* 24:109-118.
- Craig, C. L., C. Riekel, M. E. Herberstein, R. S. Weber, D. Kaplan and N. E. Pierce. 2000. Evidence for diet effects on the composition of silk proteins produced by spiders. *Molecular Biology and Evolution*. 17:1904-1913.
- Foelix, R. F. 1996. *Biology of spiders*. 2nd edition. Oxford University Press. New York.
- Gatesy, J., C. Hayashi, D. Motriuk, J. Woods and R. Lewis. 2001. Extreme diversity, conservation, and convergence of spider silk fibroin sequences. *Science* 291: 2603-2605.
- Gosline, J. M., P. A. Guerette, C. S. Ortlepp and K. N. Savage. 1999 The mechanical design of spider silks: from fibroin sequence to mechanical function. *The Journal of Experimental Biology* 202: 3295-3303
- Hayashi, C. Y., N. H. Shipley and R. V. Lewis. 1999. Hypotheses that correlate the sequence, structure, and mechanical properties of spider silk proteins. *International Journal of Biological Macromolecules* 24:271-275.
- Hayashi, C. Y. and R. V. Lewis. 2000. Molecular architecture and evolution of a modular spider silk protein gene. *Science* 287: 1477-1479.

- Herberstein, M. E. & Tso, I. M. 2000. Evaluation of formulae to estimate the capture area and mesh height of orb webs. *Journal of Arachnology*, 28: 180-184.
- Higgins, L. E., M. A. Townley, E. K. Tillinghast and M. A. Rankin. 2001. Variation in the chemical composition of orb webs built by the spider *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnathidae). *The Journal of Arachnology* 29:82-94.
- Madsen, B., Z. Z. Shao and F. Vollrath. 1999. Variability in the mechanical properties of spider silks on three levels: interspecific, intraspecific and intraindividual. *International Journal of Biological Macromolecules* 24:301-306.
- Sheu, H. S., Phyu, K. W., Jean Y. C., Chiang, Y. P., Tso, I. M., Wu, S. C., Yang C. C. & Ferng S. L. 2004. Lattice deformation and thermal stability of crystalline in spider silk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34: 267-273.
- Tai, P. L., Hwang, G. Y. & Tso, I. M. 2004. Inter-specific sequence conservation and intraindividual sequence variation in a spider silk gene. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34: 237-243..
- Tso, I. M. 1996. Stabilimenta of the garden spider *Argiope trifasciata*: a possible prey attractant. *Animal Behaviour*, 52: 183-191.
- Tso, I. M. 1998. Isolated spider web stabilimentum attracts insects. *Behaviour*, 135: 311-319.
- Tso, I. M. 1999. Behavioral response of *Argiope trifasciata* to recent foraging gain: a manipulative study. *American Midland Naturalist* 141: 238-246.
- Tso, I. M. 2004. The effect of aciniform gland manipulation on stabilimentum-building of *Argiope aetheroides*. *Behaviour*, 603-616.
- Tso, I. M., Jiang, S. Y. & Blackledge, T. A. 2006. Does the giant wood spider *Nephila pilipes* respond to prey variation by altering web or silk properties? *Ethology*, in press.
- Tso, I. M. & Severinghaus, L. L. 1998. Silk stealing by *Argyrodes lanyuensis* (Araneae: Theridiidae): a unique form of kleptoparasitism. *Animal Behaviour*, 56: 219-225.
- Tso, I. M. & Severinghaus, L. L. 2000. *Argyrodes fissifrons* inhabiting webs of *Cyrtophora* hosts: prey size distribution and population characteristics. *Zoological Studies*, 39: 236-242.
- Tso, I. M., Wu, S. C. and Huang, I. R. Giant wood spider *Nephila pilipes* alters silk protein in response to prey variation. *Journal of Experimental Biology*, 208: 1053-1061.
- Winkler, S. and D. L. Kaplan. 2000. Molecular biology of spider silk. *Reviews in Molecular Biotechnology* 74: 85-93.

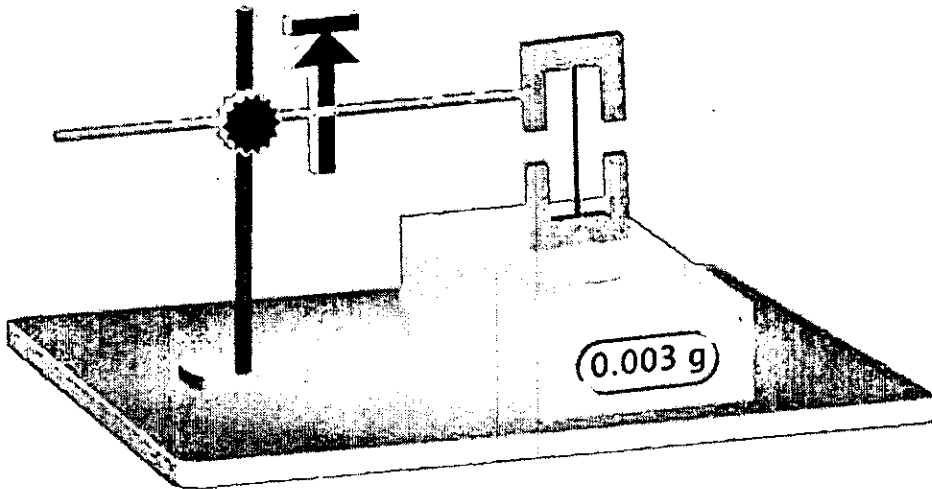


圖一：二角塵蛛 (*Cyclosa mulmeinensis*) (A) 與長銀塵蛛 (*Cyclosa ginnaga*) (B)。

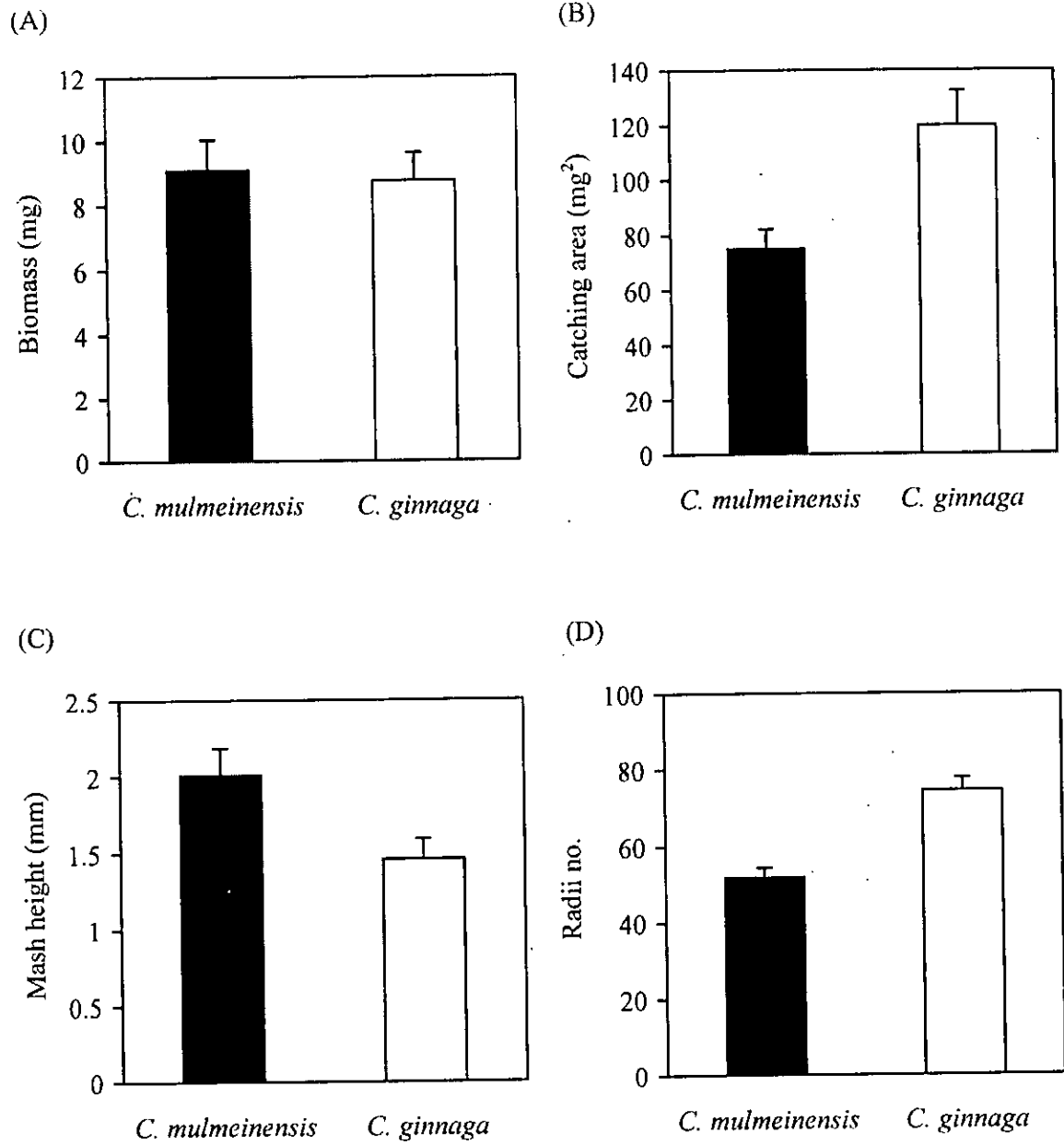
(A)



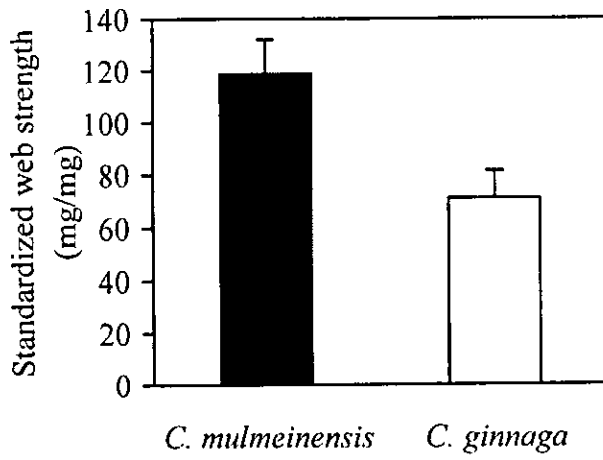
(B)



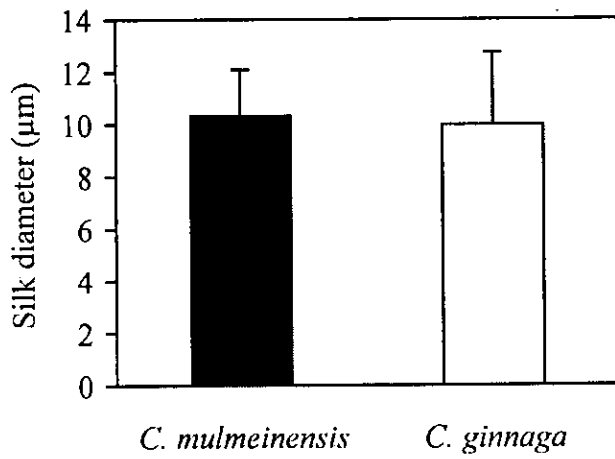
圖二：網張力 (A) 與單絲張力 (B) 測量示意圖。



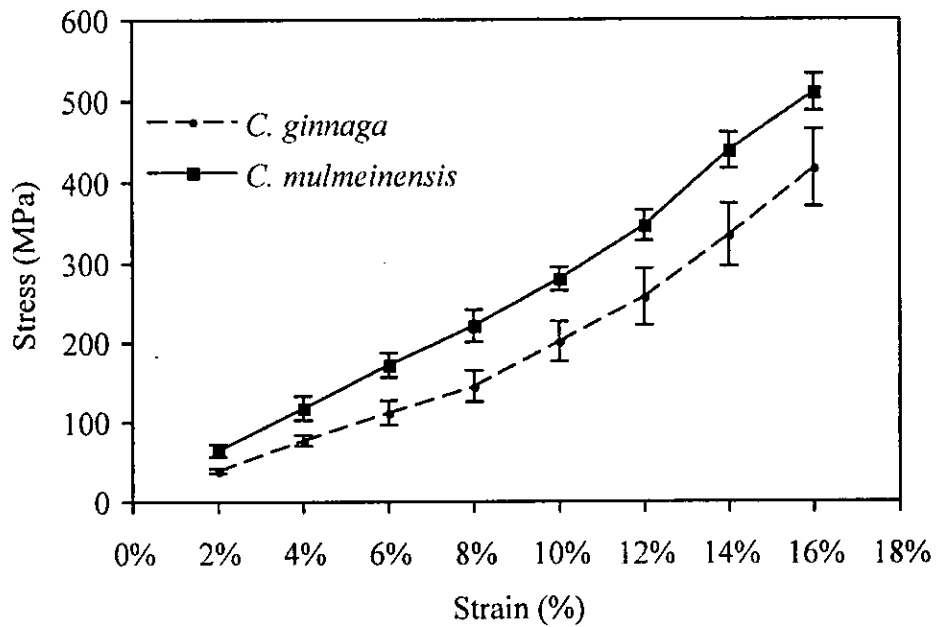
圖三：比較二角塵蛛 (*C. mulmeinensis*) 與長銀塵蛛 (*C. ginnaga*) 二物種蜘蛛重量及網型質。(A) 蜘蛛重量之比較。(B) 捕捉網面積比較。(C) 網目大小比較。(D) 縱絲數比較。



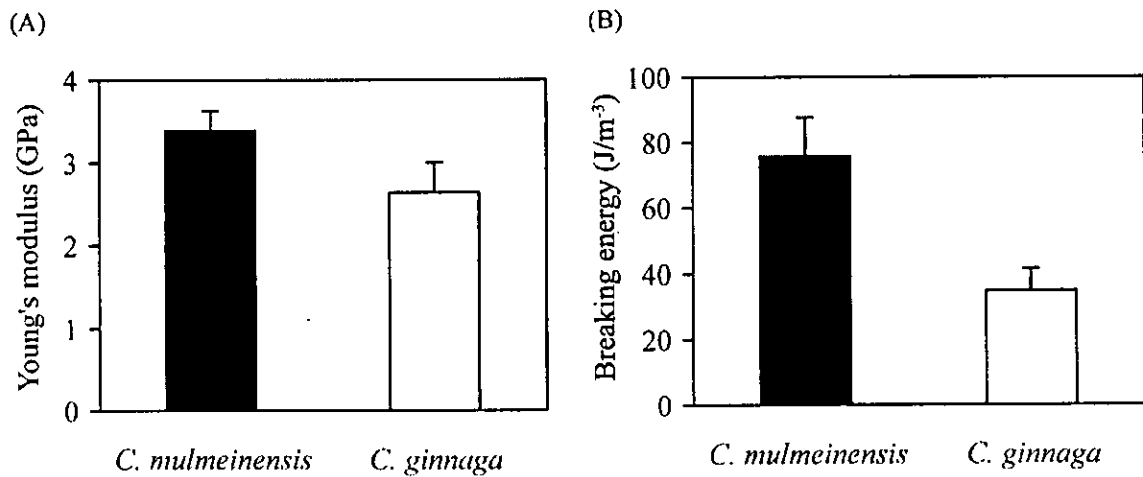
圖四：比較二角塵蛛 (*C. mulmeinensis*) 與長銀塵蛛 (*C. ginnaga*) 於拉伸 30 mm 之網張力。以蜘蛛重量除網張力作為標準化過程。



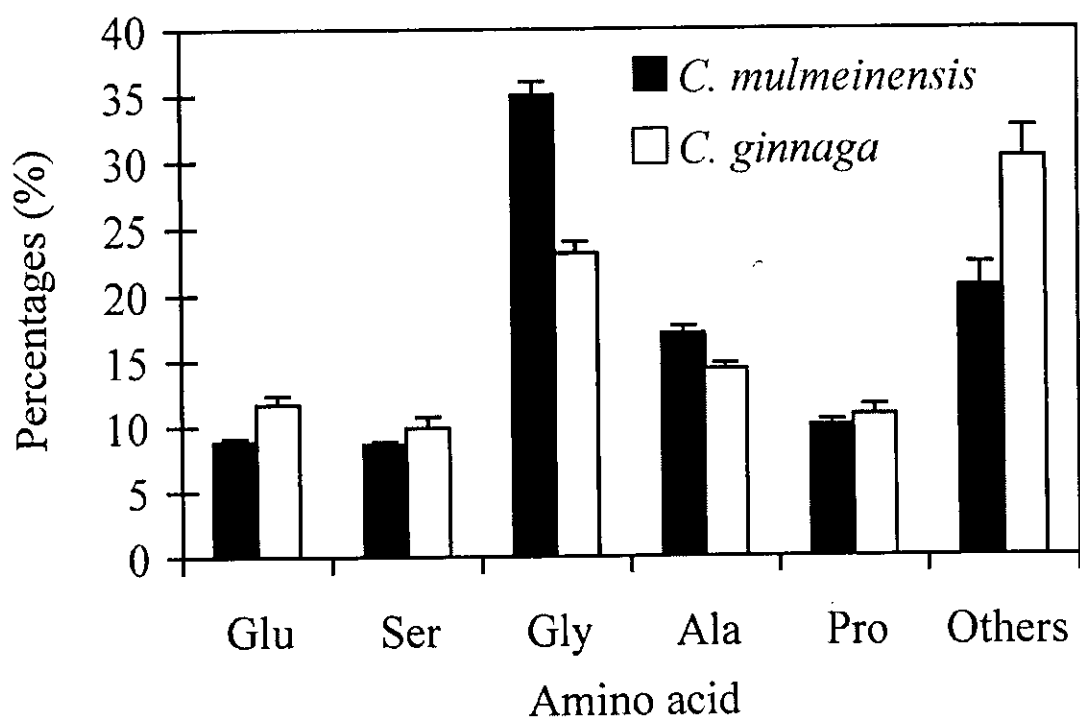
圖五：比較二角塵蛛 (*C. mulmeinensis*) 與長銀塵蛛 (*C. ginnaga*) 之大壺狀腺單絲之絲直徑。



圖六：二角塵蛛 (*C. mulmeinensis*) 與長銀塵蛛 (*C. ginnaga*) 之應力應變曲線。



圖七：二角塵蛛 (*C. mulmeinensis*) 與長銀塵蛛 (*C. ginnaga*) 之 (A) 大壺狀腺單絲之楊氏係數與 (B) 斷裂能。



圖八：二角塵蛛（Seashore sp.）與長銀塵蛛（Forest sp.）大壺狀腺絲之胺基酸比例。