

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

蜘蛛絲之物理特性、基因表現及行為生態研究(3/3)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC93-2311-B-029-001-

執行期間：93年08月01日至94年07月31日

執行單位：東海大學生命科學系

計畫主持人：卓逸民

報告類型：完整報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 11 月 3 日

## 摘要

過去之研究顯示，結圓網蜘蛛會藉調整其蜘蛛網之形值而增加對不同類型獵物的捕捉效率，最近之研究更發現蜘蛛可能因某種特定獵物持續之出現而調節曳絲基因產物之比例，進而改變絲的胺基酸組成。結圓網蜘蛛除了調整網的形值外，若也能調整絲的蛋白質組成因而改變其物理特性，理論上應能有更佳的捕食效率。本研究藉餵食人面蜘蛛不同的獵物探討網的形值、拉力以及曳絲的物理特性及化學組成是否有所不同。我們將從野外採集回來的人面蜘蛛先以麵包蟲餵食 3 次後，將蜘蛛分為兩組，分別餵食蟋蟀或蒼蠅，而在餵食 7 次後收採其網測量形值（捕捉面積、縱絲數目、絲總長度、網目大小）與拉力，並以抽絲機取其曳絲進行胺基酸組成及物理性質分析。蜘蛛網拉力的測量則是利用直徑 30cm 的圓形木框將網取下，在網的下半部，距網中央 10cm 處選擇 8 個點進行拉力量測。此外，我們也測量不同餵食狀況下蜘蛛的背甲寬、絲直徑，我們在網的下半部左、中、右各取一段縱絲，利用掃描式電子顯微鏡測量其絲直徑。我們以 ANCOVA 分析不同餵食狀況下網的形值和網拉力是否有差異。絲的物理特性是主要是量測絲的直徑、應力 (stress) (力量/截面積)、應變 (strain) Modulus，並以 MANOVA 進行分析。餵食不同獵物之人面蜘蛛其曳絲之主要胺基酸組成則是以 MANOVA 進行分析。結果顯示，不同餵食狀況下蜘蛛體長、網目大小、絲總長度、網面積均無顯著差異；然而，餵食蟋蟀之蜘蛛所結之網其絲直徑及拉力皆顯著大於餵食蒼蠅者，分析拉力與各因子間之關係發現縱絲數與拉力顯著相關。餵食不同獵物之人面蜘蛛其曳絲胺基酸組成中，胺基酸 glutamine、glycine、proline 並無顯著差異，alanine 幾乎達顯著差異，餵食蟋蟀的蜘蛛其絲胺基酸中的 serine 則顯著高於餵食蒼蠅者。絲的物理性質方面，不同餵食的蜘蛛，絲的伸長比率並無顯著不同，然而餵食蟋蟀的蜘蛛其絲直徑顯著大於餵食蒼蠅者，但餵食蒼蠅的蜘蛛其絲應力及 Modulus 大於餵食蟋蟀者。本研究結果顯示，蜘蛛會因攝食不同獵物而改變曳絲胺基酸組成、絲直徑大小、絲的物理性質及網的部分形值，進而改變網的拉力來增加對持續出現之獵物之捕捉效率。

## Abstract

Recent studies have demonstrated that orb-weaving spiders may alter web architectures, the amount of silk in webs, and the protein composition of silks in response to variation in amount or type of prey. In this study we conducted food manipulations to examine whether orb-weaving spiders may adjust the physical properties of silk or its amino acid composition, as well as the structural features of orb webs, to variation in prey. We fed *Nephila pilipes* two different types of prey, crickets or flies, and then compared orb structure and the chemical and physical properties of major ampullate (MA) silk between groups. Prey type did not affect orb structures in *N. pilipes*. However, MA silk diameter and the stiffness of orbs constructed by spiders fed crickets were significantly greater than for the fly group. MA silk manually drawn from *N. pilipes* fed crickets was significantly thicker, but less stiff, than silk from spiders fed flies. Spiders in the cricket treatment also produced MA silk with slightly, but statistically significantly, more serine and marginally less alanine than silk from spiders in the fly treatment. Percentages of other major amino acids (proline, glycine and glutamine) did not differ between treatments. This study demonstrated that orb-weaving spiders can alter structural and material properties of MA silk, as well as the physical characteristics of webs, in response to different types of prey.

## 前言

蜘蛛網是動物工程中很好的範例，大多數的蜘蛛網已高度適應來捕捉快速飛行的昆蟲。結圓網蜘蛛所攝取的獵物會影響其對獵物捕捉的行為，因為蜘蛛所感受到不同強度的獵物震動會因為網的張力的改變不同而不同 (Watanabe, 2000)。過去已經有許多研究發現蜘蛛會改變結網行為，Venner 等人 (2000) 發現蜘蛛會利用過去捕捉獵物的經驗改變結網行為，因為蜘蛛在捕捉及消化獵物時會利用與獵物接觸得到關於一些環境的資訊而在 24 小時內改變結網的行為，如網的捕捉面積及絲總長度。

結圓網之蜘蛛會因不同的覓食狀況而調整網的型態及絲的長度 (Tso, 1999; Venner et al., 2000)。當環境中有獵物時蜘蛛會比沒有獵物時提早結網，且網會較小，結網時間也較短 (Pasquet et al., 1994)。而當環境中獵物較少時，蜘蛛會以產出較多的絲總長度來增加網面積的方式來提高捕食效率 (Higgins & Buskirk, 1992)。根據 Schneider (1998) 的研究顯示 *Araneus diadematus* 這種蜘蛛會隨著環境中某種特定獵物持續之出現而調節其網的形值，當環境中持續出現體型較大的獵物時蜘蛛網的捕捉面積、網目大小會增大。此外，蜘蛛會隨環境中獵物的大小調整網目大小。當環境中有很多體型較小的獵物時，蜘蛛則會結出網目較小的網 (Chacon & Eberhard, 1980; Murakami, 1983; Sandoval., 1994; Watanabe, 2000) 而較小的網目能有效的捕捉小型的飛行昆蟲 (Sandoval, 1994)。Herberstein 及 Heiling (1999) 發現蜘蛛網的不對稱性是由於蜘蛛的重量，重量愈重的蜘蛛其網的不對稱性則愈高。而網的結構會影響蜘蛛對獵物產生反應而捕捉的速度，*Octonoba sybotides* 會藉調整 hub 使縱絲張力增大，當縱絲的張力越大時，蜘蛛對小型獵物的反應則會較敏銳 (Watanabe, 2000)。過去的研究顯示蜘蛛絲間的角度、距離、絲的強度及張力是蜘蛛用來感知獵物的因子，蜘蛛會隨著環境的狀況調整這些因子 (Wirth & Barth, 1992.)，蜘蛛的結網行為跟體內的狀況 (Vollrath, 1987) 環境因素如光、風、降雨 (Craig, 1989; Henscel & Lubin, 1990) 也都有顯著之關係。

除了結網之行為外，最近之研究顯示蜘蛛在捕食不同的獵物時會改變絲之胺基酸組成 (Craig et al., 2000)。在 Tso 等人 (2005) 針對人面蜘蛛野外族群的曳絲胺基酸組成之探討中，發現不同地區蜘蛛的曳絲胺基酸組成有差異，可能因為各地區獵物昆蟲組成不同所造成的，顯示蜘蛛曳絲胺基酸組成可能會隨著捕食之獵物種類不同而有差異。在餵食實驗中，餵食蒼蠅及蟋蟀的兩組蜘蛛，曳絲的胺基酸組成分析顯示蜘蛛曳絲胺基酸組成會隨著食物不同而有差異。目前研究發現曳絲蛋白至少由 Major Ampullate Spidroin 1 (MaSp1) (Xu & Lewis 1990) 與 Major Ampullate Spidroin 2 (MaSp2) (Hinman & Lewis 1992) 兩種基因之產物組成。MaSp1 中含有  $(GA)_n$ 、 $(A)_n$  與  $(GGX)_n$  三種 motif (G: Glycine; A: Alanine; X: 任意胺基酸) (Xu & Lewis 1990)，其中  $(GA)_n$  與  $(A)_n$  構成絲蛋白的  $\beta$ -sheet 之結晶構造 (Gosline et al, 1999)，和絲之強度有關 (Winkler & Kaplan 2000)。MaSp2 中則含有 GPGXX 與 GPGQQ 兩種 motif (P: Proline; Q:

Glutamine), 構成蜘蛛絲蛋白  $\alpha$ -turns 之螺旋構造, 和絲之彈性有關 (Hayashi et al., 1999)。雖然這些研究是針對 *N. clavipes* 所進行, 但 Tai 等人 (2004) 發現 *N. clavipes* 及台灣所產之人面蜘蛛 *N. pilipes* 的 MaSp1 序列極相似, 及所產生的主要胺基酸極為相似。Tso 等人 (2005) 的研究結果顯示餵食蟋蟀的蜘蛛曳絲中含有較高的 glutamine 及 proline, 較低的 alanine, 由 FTIR 發現餵食蟋蟀的絲有較高的含有 proline 及 glutamine 的  $\alpha$ -turns 含量, 較少含有 alanine 的  $\beta$ -sheet, 表示蜘蛛可能會為因某種特定獵物持續之出現而調節曳絲基因 MaSp1、MaSp2 產物之比例, 進而改變絲蛋白結構及曳絲的物理性質。可能因蟋蟀重量及體型較蒼蠅大, 蜘蛛捕捉蟋蟀時蜘蛛網必須承受較大之撞擊力, 需要較有彈性的曳絲。結圓網蜘蛛為了適應環境, 若能改變絲的組成, 便能在環境中取得最佳的資源 (Craig et al. 2000)。雖然已經有研究證據指出在不同覓食情況下蜘蛛之曳絲胺基酸組成會有所差異, 但這些差異如何影響絲之物理性質? 除了絲之外, 蜘蛛又會如何調整其網之形值? 為了了解這些問題之答案, 本實驗餵食人面蜘蛛不同的獵物 (蒼蠅、蟋蟀), 分析其網的拉力、形值、曳絲胺基酸組成及絲的物理性質, 來整體探討蜘蛛這些不同的覓食反應間彼此的相關聯性。

## 材料與方法

### 不同餵食蜘蛛曳絲胺基酸組成之分析

實驗所使用的人面蜘蛛分別從埔里蓮華池、苗栗火炎山採集而來, 人面蜘蛛飼養於 60 x 60 x 30 (cm) 的籠子中, 籠子由木條、紗網自製而成; 蜘蛛籠置於室外 5 x 5 x 3 (m) 的紗網房。蜘蛛先以麵包蟲每天餵食一次, 總計餵食三次後以抽絲機抽其曳絲並分析其胺基酸組成。餵食麵包蟲的目的是使之馴化並調整每隻蜘蛛其體內絲的胺基酸在開始實驗時皆為相同。餵食三次麵包蟲後, 蜘蛛分為兩組, 一組餵食蟋蟀, 一組餵食蒼蠅, 蟋蟀組為 11 隻, 蒼蠅組為 10 隻, 每結一個新的完整的網才餵食一次, 共餵食 7 次, 蟋蟀及蒼蠅組皆餵食相等重量之蟋蟀、蒼蠅, 避免因餵食的獵物重量不同, 造成蜘蛛的飢餓狀態及體重不同而對蜘蛛的結網行為有影響, 在 Wirth 及 Barth (1992) 研究中發現縱絲的張力會隨著蜘蛛體重而增加; 當蜘蛛重量增加時, 所結出的網不對稱性也會增加

(Herberstein & Heiling, 1999)。兩組分別餵食完畢後, 以抽絲機抽曳絲進行胺基酸組成之分析。我們利用機器抽絲的方式和 Guinea 等人 (2005) 所用的方法相似, 不涉及蜘蛛的麻醉, 單純用固定蜘蛛的方式抽絲。抽取曳絲的方式, 是將蜘蛛腹部朝上, 以 3 條 6 x 1.5 cm 的紙條及大頭針, 固定蜘蛛的腳及腹部於 10x7x2 (cm<sup>3</sup>) 之保麗龍板, 於解剖顯微鏡下取絲, 我們將非目標的絲以膠帶黏住, 避免其他絲疔的絲沾附污染, 再以鑷子取蜘蛛的 2 個前絲疔所分泌之 2 條曳絲, 利用由變速馬達與轉輪所構成之抽絲機抽絲, 抽絲的速度為 1-2 M/min., 蜘蛛絲存放於 1.5ml 試管中保存並送往國立清華大學貴重儀器中心之 reverse-phase HPLC (high-pressure liquid chromatography) 進行絲的胺基酸組成之分析。

## 蜘蛛絲物理性質之量測

餵完蟋蟀或蒼蠅的蜘蛛用抽絲機抽絲之前及之後，我們以人工方式拉取單根曳絲，將單根曳絲用紙膠帶黏貼在幻燈片上保存，每隻蜘蛛在餵食完抽絲分析胺基酸組成之前取 10 根單根曳絲，抽完測胺基酸組成的絲後，再取 10 根絲，黏在幻燈片上的單根曳絲長度約為 2.4cm，所收集的單根曳絲送至 Department of Biology, University of California Riverside 進行單絲之強伸度量測，比較餵食蟋蟀及蒼蠅之蜘蛛所產生之絲的物理性質會是否不同。在本部分研究中，取抽絲之前及抽絲之後的曳絲是為了比較抽絲前後絲的物理性質是否有差異，以得知抽絲的過程是否會對蜘蛛造成生理的影響。絲的物理特性是主要是量測絲的直徑、應力 (stress) (力量/截面積)，應力愈高表示物質的強度愈高、應變 (strain)，應變愈高表示物質的延伸性愈好、Modulus 是應力與應變之斜率，Modulus 愈大表示物質強度愈高 (Gosline et al., 1999)。

## 網震動訊號傳遞之比較

我們使用蜘蛛在餵食完 7 次蟋蟀或蒼蠅後所結的第一個網進行網震動訊號傳遞效率之比較。我們在蜘蛛網上給予固定震動源模擬獵物的震動，測量蜘蛛對固定震源產生反應的時間。我們所使用的震動源為電動牙刷，我們將電動牙刷震源觸碰距蜘蛛網 hub 5 公分處，用碼錶測量從震動一開始到蜘蛛頭朝向震動源所需的時間，我們分別在網上距 hub 5 公分處，左、下、右三處提供震動刺激，每次實驗間隔 30 分鐘以上以避免蜘蛛出現習慣化行為。本部分研究之目的在於比較餵食不同獵物的蜘蛛是否改變絲的組成，影響絲之震動傳導特性因而對同樣震源反應的時間產生差異。

## 網拉力的測量

餵食完 7 次獵物後的蜘蛛所結的第二個網進行網張力的測量。我們利用直徑 30cm 的圓形木框，框上塗強力膠，固定在鐵架上，調整位置使木框觸碰到網，待網絲黏著於木框上後，用香將蜘蛛絲燒斷，將網取下。取下之每個網選定 8 根縱絲作張力的量測，縱絲有高的強度及延展性，為網吸收撞擊力的主要架構 (Kohler & Vollrath, 1995)。拉力量測的方式為將一實驗夾綁於顯微鏡上，將準確至 0.1g 之彈簧秤夾於實驗夾上，彈簧秤下夾著由鐵絲做成的小勾子，將勾子勾於所要測拉力的縱絲上，所要測量的絲旁以一畫有刻度的鐵絲插於保麗龍板上，如此便可讀取刻度，利用顯微鏡之粗調節輪調整上升之速度一定，將彈簧秤勾住絲往上拉，每個點從絲在原處了到垂直高為 3cm 便停止。因為人面蜘蛛的絲在延伸 20% 限度內不會有結構性的改變，我們量測每根絲的平均長度，計算出拉 3cm 為其絲剛好延伸 20% 長度。所測量之 8 個點皆在網的下半部，距網中心 10cm 處，雖然 Kohler 及 Vollrath (1995) 利用鬼蜘蛛 *Aranues diadematus* (Araneae, Araneidae) 所進行之研究顯示蜘蛛網上半部的縱絲比下半部的張力大，但因為人面蜘蛛的網為非對稱的網，形狀為直立的橢圓形，取下之網上半部的縱絲較短，

不適合做拉力的量測，且人面蜘蛛的網下半部較常被使用，蜘蛛往網的下半部跑速度比往上半部跑快 (Rhisiart & Vollrath, 1994)，而且中網之獵物通常會因為重力往下掉，故我們取網下半部的縱絲來量測拉力。

### 網的形值量測

取網進行網拉力量測之前，我們會先紀錄完整之網網中心到上下左右端四個距離、網中心到 Hub 上下左右端四個距離、縱絲數、上下左右四個方向的橫絲數。我們會計算網的捕捉面積、絲的總長度、網目大小，藉以比較不同餵食下蜘蛛是否改變網的形值適應不同體型及震動強度之獵物。

由於人面蜘蛛的網為橢圓形而非圓形，我們採用 Herberstein 及 Tso (2000) 所提出改良過之計算橢圓網的公式來計算。

捕捉面積公式：

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

網目大小公式：

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

$r_u$  為網上半部縱絲長， $r_l$  為網下半部縱絲長， $d_h$  為網左右的寬度， $H$  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

絲總長度公式：

$$\left[ (\bar{x} R_{web} + \bar{x} R_{hub}) \times \bar{x} \# \text{spiral} \right] + \left[ (\bar{x} R_{web} - \bar{x} R_{hub}) \times \bar{x} \# \text{radii} \right]$$

$\bar{x} R_{web}$  為網平均半徑， $\bar{x} R_{hub}$  為 hub 的平均半徑， $\bar{x} \# \text{spiral}$  為平均橫絲數， $\bar{x} \# \text{radii}$  為縱絲數。

### 絲直徑之量測

用木框取下之網在完成絲張力的量測後，會分別在網的下半部左、中、右各取一段縱絲，利用掃描式電子顯微鏡(SEM)量測絲的直徑，在 Wirth & Barth (1992) 對 *Araneus* 的研究，發現同一個網上的縱絲其絲直徑並無差異，所以我們取 3 段縱絲進行量測取平均值。蜘蛛絲本身並無太多水分，可直接鍍金不需乾燥，曳絲在電流 7mA 下鍍金 3 分鐘，在 15Kv 電壓下以 S-2300 掃描式電子顯微鏡觀測絲直徑。通常個體較大的蜘蛛絲的直徑也較大，所以我們也以游標尺量測蜘蛛的背甲寬作為參考。

## 統計分析方法

我們利用 SYSTAT (9.0) 軟體進行統計分析。我們以共變數分析 ANCOVA (Analysis of Covariance) 分析不同餵食狀況下網的各樣形值如縱絲數、網目大小和網張力是否有差異, 我們以拉力為應變數( dependent variable ), 以縱絲數、背甲寬為共變數, 數據皆開方根轉型後進行計算。絲的物理特性彼此間具有相關性, 因此我們利用 MANOVA 分析不同餵食下絲的各項物理性質如絲直徑、應力、應變、Modulus 是否有差異。另外, 由於曳絲主要胺基酸之比例彼此間並非獨立的變數(各胺基酸之總和約為 100 %), 我們以 MANOVA (Multivariate Analysis of Variance) 進行餵食不同昆蟲之蜘蛛所產之曳絲的胺基酸組成分析, 探討其主要之胺基酸組成是否有所差異。

## 結果

### 不同餵食狀況下網的形值和網拉力

有幾隻蜘蛛結網行為和其他的蜘蛛差異頗大, 在刪去網的形值為極端值的個體 (outlier) 後, 完成整個餵食程序之人面蜘蛛在蟋蟀組及蒼蠅組蜘蛛個體各有 9 隻。蟋蟀組 ( $\bar{x}=7.192\text{mm}$ ) 與蒼蠅組 ( $\bar{x}=7.3\text{mm}$ ) 的背甲寬並無顯著不同, 蟋蟀組 ( $\bar{x}=1263.02\text{ cm}^2$ ) 與蒼蠅組 ( $\bar{x}=1293\text{ cm}^2$ ) 網面積大小無顯著不同, 蟋蟀組 ( $\bar{x}=0.825\text{ cm}$ ) 與蒼蠅組 ( $\bar{x}=0.849\text{ cm}$ ) 網目大小無顯著不同, 蟋蟀組 ( $\bar{x}=1575.71\text{ cm}$ ) 與蒼蠅組 ( $\bar{x}=1807.56\text{ cm}$ ) 絲總長度無顯著不同, 蟋蟀組 ( $\bar{x}=67.78$ ) 與蒼蠅組 ( $\bar{x}=61.33$ ) 縱絲數幾乎達顯著差異, 而絲直徑部分, 蟋蟀組與蒼蠅組顯著不同, 蟋蟀組 ( $\bar{x}=3.96\text{ }\mu\text{m}$ ) 是蒼蠅組 ( $\bar{x}=3.428\text{ }\mu\text{m}$ ) 的 1.105 倍, 網的拉力部分, 蟋蟀組與蒼蠅組顯著不同, 蟋蟀組 ( $\bar{x}=1.525\text{g}$ , N=9) 網張力比蒼蠅組 ( $\bar{x}=0.826\text{g}$ , N=9) 高約 1.85 倍。在分析網拉力與各因子間之關係部分, 由 ANCOVA 的結果顯示, 在同時考慮縱絲數、背甲寬時, 不同餵食狀況下, 網的拉力與這三者有顯著相關 (見表一、二)。

### 網震動訊號傳遞之比較

這部分實驗結果兩組間並無太大差異, 蜘蛛對於電動牙刷震源的反應大概只有兩種, 一種是立刻衝向震源, 剩餘的則是持續震源兩分鐘後依然無反應, 兩組

內都有這種狀況，故這部分實驗不納入分析。

### 不同餵食下蜘蛛曳絲胺基酸組成

蟋蟀組的 1 隻蜘蛛個體及蒼蠅組的 2 隻個體因為胺基酸組成和其他個體相差甚多，我們懷疑其絲有被污染因此刪除不列入統計，進行統計的個體蟋蟀組有 8 隻而蒼蠅組有 7 隻。曳絲組成之主要胺基酸中，主要有 Glutamine、Serine、Proline、Glycine 及 Alanine 五種胺基酸，利用 MANOVA 分析之結果，Serine 有極顯著差異，Alanine 幾乎達顯著差異，Glutamine、Proline 及 Glycine 則無顯著差異。（見表三）

### 不同餵食下蜘蛛絲的物理性質

不同餵食下，絲的應變均無差異，而蟋蟀組的絲直徑顯著高於蒼蠅組，蒼蠅組絲的應力及 Modulus 顯著高於蟋蟀組。（見表四）

## 討論

在不同餵食狀況下，餵食蟋蟀之蜘蛛所結之網其絲直徑及網拉力皆顯著大於餵食蒼蠅者。雖然兩組間之縱絲數無顯著之差異，可是餵食蟋蟀組所結之網之縱絲數（ $\bar{x}=67.78$ ）多於餵食蒼蠅者。而且，ANCOVA 分析之結果也顯示縱絲數對網拉力有顯著影響。這些結果顯示蜘蛛會隨不同獵物的大小、震動強度而調整絲直徑及縱絲數，進而改變網的拉力。雖然以往之研究顯示結網性蜘蛛會因獵物之不同而改變網之形值，但在本研究中兩組間之網目大小、絲總長度、網面積均無顯著差異，這可能因為人面蜘蛛為大型之蜘蛛，因受結網空間之限制故無法發揮其行為。

前言提到蜘蛛之曳絲主要由 Major Ampullate Spidroin 1 (MaSp1) (Xu & Lewis 1990) 與 Major Ampullate Spidroin 2 (MaSp2) (Hinman & Lewis 1992) 兩種基因之產物所組成。MaSp1 其量多寡會影響曳絲之張力 (Winkler & Kaplan 2000)。而 MaSp2 其量多寡則會影響曳絲之彈性。MaSp1 蛋白中的  $\beta$ -sheet 結構主要是由 Alanine 組成，是造成絲強度的原因 (Gosline et al, 1999)。本研究之曳絲胺基酸組成分析結果顯示餵食蒼蠅組所產之絲的 Alanine 顯著高於蟋蟀組。而在單絲物理性質測量中，餵食蒼蠅組所產之絲的應力及 Modulus 大於蟋蟀組的應力及 Modulus，應力及 Modulus 愈高表示物質強度愈高；因此胺基酸組成分析之結果和絲的物理性質大致相符。Zax 等人 (2004) 對 *N. clavipes* 的研究也明確發現 Alanine 及 Glycine 是構成絲強度的原因。此外，MaSp2 蛋白的  $\beta$ -turn 結構主要由 Glutamine 及 Proline 構成，是造成絲延伸度的原因。本研究之曳絲胺基酸組成分析之結果中 Glutamine 和 Proline 含量在兩餵食組間並沒有顯著差異，此外，單絲物理性質測量的結果亦指出絲的伸長比率無顯著差異；因此兩組數據之

結果亦大致互相符合。無論是 MaSp1 與 MaSp2 兩個基因產物皆含有大量 Glycine，因此可能是在統計分析結果中 Glycine 並無顯著差異的原因 (Tso et al., 2005)。由於蒼蠅 (Proline : 5.2, Serine : 12.9, Glutamine : 12.9, Alanine : 6.4, Glycine : 6.8) 及蟋蟀 (Proline : 6.7, Serine : 4.7, Glutamine : 10.5, Alanine : 6.6, Glycine : 6.5) 兩類型昆蟲體中主要胺基酸組成並無太大差異 (Ramos-Elorduyet al., 1997)，而餵食此二種昆蟲後人面蜘蛛之曳絲胺基酸組成不同，顯示兩組蜘蛛曳絲中胺基酸組成的差異並非直接反映食物之胺基酸組成差異。餵食蟋蟀之蜘蛛藉由增加縱絲數及加大絲直徑來適應體型較大的獵物。想反的，在餵食蒼蠅後蜘蛛所產之曳絲强度高，絲直徑小，網上之縱絲較少。然而，為何蜘蛛不調控曳絲的胺基酸使蟋蟀組的絲強度更高，卻藉由調控縱絲數及絲直徑，並以強度較小的絲來適應震動強度較大的獵物，在餵食蒼蠅後卻會增加絲強度，但卻減小絲直徑以及縱絲數？我們目前並不知道蜘蛛是如何決定何種狀況下調控胺基酸，何種狀況下調控網的形值及絲直徑；然而本實驗結果顯示兩種此覓食反應的調控相當複雜，而且有交互作用之狀況。

本次實驗和 Tso 等人 (2005) 所報導之曳絲胺基酸組成略有不同，但大方向是一致的。Serine 及 Alanine 都有差異，在兩餵食處理間之 Alanine 比例之差異並不像 Tso 等人 (2005) 所報導的那麼高，其原因可能是我們刪除了 1 隻蟋蟀組 (N=8)，2 隻蒼蠅組，因為懷疑它們的絲被污染了，若能夠加上這 3 隻的數據，胺基酸分析結果差距應該會變高。蜘蛛的行為是很複雜的，同種蜘蛛或甚至於同一隻蜘蛛個體所結出的網會因牽扯到許多外在的環境因子及蜘蛛本身的狀況而有很大的變異 (Pasquet, 1984 ; Leborgne & Pasquet, 1987), Work & Young (1987) 發現同一種蜘蛛甚至同一隻蜘蛛所產的同一種絲胺基酸組成都有很大的變異。本實驗研究結果顯示，蜘蛛會調整曳絲胺基酸組成、改變網的形值及絲直徑來適應不同獵物，顯示蜘蛛在面對環境的壓力時會以一種以上的策略來適應環境。

### 參考文獻

- Chacón, P. & Eberhard, W. G. 1980. Factors affecting numbers and kinds of prey caught in artificial spider webs, with considerations of how orb webs trap prey. *Bulletin of the British Arachnological Society*, 5: 29-38.
- Craig, C. L. 1989. Alternative modes of orb web weaving spiders. *Biotropica*, 21: 257-264.
- Craig, C. L. 1987. The ecological and evolutionary interdependence between web architecture and web silk spun by orb web weaving spiders. *Journal of the Linnean Society*, 30: 135-162.

- Craig, C. L., Riekel, C., Herberstein, M. E., Weber, R. S., Kaplan, D. & Pierce, N. E. 2000. Evidence for diet effects on the composition of silk proteins produced by spiders. *Molecular Biology and Evolution*, 17(12): 1904-1913.
- Gilman, J. J. 1996. Strength of Spider Silk. *Science*, 272.
- Gosline, J. M., Guerette, P. A., Ortlepp, C. S. & Savage, K. N. 1999. The mechanical design of spider silks: from fibroin sequence to mechanical function. *Journal of Experimental Biology*, 202: 3295-3303.
- Guinea, G. V., Elices, M. & Real, J. I. 2005. Reproducibility of the tensile properties of spider (*Argiope trifasciata*) silk obtained by forced silking. *Journal of experimental Zoology*, 303A: 37-44.
- Hayashi, C. Y., Shipley N.H. & Lewis R. V. 1999. Hypotheses that correlate the sequence, structure, and mechanical properties of spider silk proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24: 271-275.
- Henscel, J. R. & Lubin, Y. D. 1990. Environmental factors affecting the web and activity of a psammophilous spider in the Namib Desert. *Journal of Arid Environments*, 22: 173-189.
- Herberstein, M. E. & Heiling A. M. 1999. Asymmetry in the orb webs: a result of physical constraints? *Animal Behaviour*, 58: 1241-1246.
- Herberstein, M. E. & Tso, I. M. 2000. Evaluation of formulae to estimate the capture area and mesh height of orb webs (Araneoidae, Araneae). *Journal of Arachnology*, 28: 180-184.
- Hieber, C. S. 1984. Orb-web orientation and modification by spiders *Araneus diadematus* and *Araneus gemmoides* (Araneae:Araneidae) in response to wind and light. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 65: 250-260.
- Hinman, M. B. & Lewis, R. V. 1992. Isolation of a clone encoding a second dragline silk fibroin. *Journal of Biological Chemistry*, 267: 19320-19324.

- Kohler, T. & Vollrath, F. 1995. Thread biomechanics in the two orb-weaving spiders *Araneus diadematus* (Araneae, Araneidae) and *Uloborus walckenaerius* (Araneae, Uloboridae). *Journal of Experimental Zoology*, 271: 1- 17.
- Leborgne, R. & Pasquet, A. 1987. Influence of aggregative behaviour on space occupation in the spider *Zygiella x-notata* (Clerck). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 20: 203-208.
- Opell, B. D. 1989. Measuring the stickiness of spider prey capture threads. *Journal of Arachnology*, 17:112-113.
- Pasquet, A. 1984. Predatory site selection and adaption of the trap of four species of orb-weaving spiders. *Biological Behaviour*, 9: 3-19.
- Pasquet, A., Ridwan, A. & Leborgne, R. 1994. Presence of potential prey affects web-building in an orb-weaving spider *Zygiella x-notata*. *Animal Behaviour*, 47: 477-480.
- Persons, M. H. & Uetz, G. W. 1996. The influence of sensory information on patch residence time in wolf spiders (Araneae: Lycosidae). *Animal Behaviour*, 51: 1285-1293.
- Ramos-Elorduy, J., Moreno, J. M. P., Prado, E. E., Perez, M. A., Otero, J. L. & Guevara, O. L. 1997. Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10: 142-157.
- Rhisiart, A. & Vollrath, F. 1994. Design features of a spider's orb web. *Behavioral Ecology*, 5: 280-287.
- Sandoval, C. P. 1994. Plasticity in web design in the spider *Parawixia bistrriata*: a response to variable prey type. *Functional Ecology*, 8: 701-707.
- Schneider, J. M. & Vollrath, F. 1998. The effect of prey type on the geometry of the capture web of *Araneus diadematus*. *Naturwissenschaften*, 85: 391-394.
- Tso, I. M., Wu, H. C. & Hwang, I. R. 2005. Giant wood spider *Nephila pilipes* alters

- silk protein in response to prey variation. *Journal of Experimental Biology*, 208: 1053-1061.
- Venner, S., Pasquet, A. & Leborgne, R. 2000. Web-building behaviour in the orb-weaving spider *Zygiella x-notata*: influence of experience. *Animal Behaviour*, 59: 603-611.
- Vollrath, F. 2000. Strength and structure of spider's silks. *Reviews in Molecular Biotechnology*, 74: 67-83.
- Watanabe, T. 2000. Web tuning of an orb-web spider, *Octonoba sybotides*, regulates prey-catching behaviour. *Proceedings of Royal Society, London*, 267: 565-569.
- Winkler, S. & Kaplan, D. V. 2000. Molecular biology of spider silk. *Reviews in Molecular Biotechnology*, 74: 85-93.
- Wirth, E. & Barth, F. G. 1992. Forces in the spider orb web. *Journal of Comparative Physiology A*, 171: 359-371.
- Xu, M. & Lewis, R. V. 1990. Structure of a protein superfiber: spider dragline silk. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87: 7120-7124.
- Zax, D. B., Armanios, D. E., Horak, S., Malowniak, C. & Yang, Z. 2004. Variation of Mechanical properties with amino acid content in the silk of *Nephila Clavipes*. *Biomacromolecules*, 5: 732-738.

表一、不同餵食狀況下網的形值及拉力及 ANCOVA 分析之結果。

	背甲寬(mm)	網面積(cm <sup>2</sup> )	網目大小(cm)	絲總長度(cm)	縱絲數
蟋蟀組	7.19 ±0.21	1263 ±128	0.82 ±0.15	1575 ±191	67.7 ±3.1
蒼蠅組	7.3 ±0.32	1293 ±104	0.85 ±0.17	1807 ±192	61.3 ±3.6
<i>F</i>	2.014	0.081	0.023	0.356	2.371
<i>P</i>	0.178	0.778	0.880	0.558	0.143

	絲直徑(μm)	網拉力(g)
蟋蟀組	3.96 ±0.22	1.525 ±0.164
蒼蠅組	3.43 ±0.32	0.826 ±0.008
<i>F</i>	7.954	12.684
<i>P</i>	0.013	0.003

表二、以 ANCOVA test 比較餵食蒼蠅與蟋蟀之人面蜘蛛網拉力與各因子間之關係之結果。

Source	Sum-of-squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
不同餵食	0.223	1	0.223	12.705	0.003
縱絲數	0.204	1	0.204	11.608	0.004
背甲寬	0.118	1	0.118	6.707	0.021
Error	0.246	14	0.018		

表三、以 MANOVA test 比較餵食蒼蠅與蟋蟀之人面蜘蛛所產曳絲的主要胺基酸組成之結果。

	Glutamine	Serine	Proline	Glycine	Alanine
蟋蟀組	13.4 ±0.2	4.3 ±0.0	10 ±0.2	38.1 ±0.2	18.1 ±0.2
蒼蠅組	13.2 ±0.2	4.06 ±0.0	10.32 ±0.2	37.6 ±0.2	18.6 ±0.2
<i>F</i>	2.014	24.632	1.768	2.832	4.283
<i>P</i>	0.178	0.01	0.203	0.115	0.057

表四、以 MANOVA test 比較餵食蒼蠅與蟋蟀之人面蜘蛛絲物理性質之結果。

	絲直徑( μ m)	應力(GPa)	應變(%)	Modulus
蟋蟀組	6.1 ±1.12	262 ±18.1	0.027 ±0.0	12.4 ±0.8
蒼蠅組	4.4 ±1.4	309 ±10.3	0.027 ±0.0	14.9 ±0.5
<i>F</i>	7.223	4.979	0.007	6.009
<i>P</i>	0.016	0.04	0.934	0.062