

# 横纹金蛛卵袋结构与纤维组成

蒋平<sup>①</sup> 吕太勇<sup>①</sup> 肖永红<sup>①</sup> 江丽琴<sup>①</sup> 熊超群<sup>①</sup> 郭聪<sup>②\*</sup>

① 井冈山大学生命科学学院 生态环境与资源研究所 江西 吉安 343009

② 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 四川大学生命科学学院 成都 610064

**摘要:** 采用 SEM 和氨基酸自动分析仪对横纹金蛛(*Argiope bruennichi*) 卵袋的超微结构与氨基酸组成进行了观察研究。结果表明, 横纹金蛛卵袋呈封闭的葫芦形, 是由多种丝腺纺出的微米与纳米级的丝纤维形成的多个覆盖层构成, 具有多层复杂结构, 从外向内分别为: 框架、卵袋覆盖帽、外覆盖层和内覆盖层、卵块覆盖帽、卵块包裹层, 其中外覆盖层与卵袋覆盖帽内侧面的丝较外侧面的丝排列规则均匀。卵袋框丝与典型的拖牵丝(大壶状腺丝)氨基酸组成相似, 甘氨酸和丙氨酸的含量最丰富, 分别约占 37% 和 25%, 其次是谷氨酸、脯氨酸和丝氨酸, 分别约占 10%、7% 和 5%; 其余卵袋丝纤维的氨基酸组成与典型的柱状腺丝相似。与卵袋框丝相比, 卵袋覆盖层的丝氨酸含量显著增加, 约占 22%, 同时甘氨酸与脯氨酸的含量显著减少, 分别约占 7% 与 2%, 并含有更多的极性和大侧链氨基酸。本文根据氨基酸组成与扫描电镜的结果综合分析了不同直径丝纤维的丝腺来源。

**关键词:** 横纹金蛛; 卵袋结构; 氨基酸组成; 扫描电镜

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2011)04-92-10

## Structure and Fibrous Composition of the Egg Case of Spider *Argiope bruennichi*

JIANG Ping<sup>①</sup> LÜ Tai-Yong<sup>①</sup> XIAO Yong-Hong<sup>①</sup> JIANG Li-Qin<sup>①</sup>  
XIONG Chao-Qun<sup>①</sup> GUO Cong<sup>②\*</sup>

① College of Life Sciences, Institute of Eco-environment and Resources, Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343009;

② Key Laboratory of Bio-resources and Eco-environment, Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China

**Abstract:** The structures and fibrous composition of egg case of the spider (*Argiope bruennichi*) were examined using SEM as well as amino acid analysis. The egg case is composed of multiple layers of silk, including the frame, outer cover, cover cap, inner cover, egg cover cap and egg wrapping cover, and formed by different colored silk with diameters between hundreds of nanometers and several micrometers. The amino acid composition was similar in the frame silk and typical dragline silk, glycine (about 37%) and alanine (about 25%) are the most abundant amino acids present, and glutamic acid (about 10%), proline (about 7%) and serine (about 5%) as the next most abundant. The amino acid composition of cover silk was similar with typical cylindrical gland silk. In contrast to the frame silk, all cover silk of egg case contained a significant

**基金项目** 国家自然科学基金项目(No. 30760041, 31060282), 江西省教育厅科技项目(No. GJJ08422), 江西省自然科学基金项目(No. 2010GQN0120);

\* 通讯作者, E-mail: guocong@gmail.com;

**第一作者介绍** 蒋平, 男, 副教授; 研究方向: 动物蛋白纤维结构、性能与功能, 蜘蛛生物生态学等; E-mail: jping412@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2010-12-08, 修回日期: 2011-03-14

proportion of the serine (about 22%) and less glycine (about 7%) and prone (about 2%), and contained more polar amino and large side acids. The original gland that produce silk fibers with different diameters was analyzed based on the results of SEM and amino acid composition studies.

**Key words:** *Argiope bruennichi*; Egg case structure; Amino acid composition; SEM

在自然界中,很多昆虫都要织茧,茧是昆虫在休眠期即蛹期织制的袋形保护层<sup>[1]</sup>,而蜘蛛卵袋则是用于支持和保护卵块或若蛛的类茧状物<sup>[2-3]</sup>,所有的蜘蛛都织制卵袋。卵袋是雌蛛使用多种丝腺纺出的丝纤维织制的囊状物,它们具有特殊的结构和重要的生物学功能<sup>[4-6]</sup>。卵袋主要是由柱状腺丝构成,卵袋丝在蜘蛛繁殖活动中起重要作用,其特有的结构和性能与其生态进化对策密切相关<sup>[7]</sup>,但至今在蜘蛛卵袋的结构和组成方面研究较少。Hieber 和 Gertsch 观察到金蛛属蜘蛛 *Argiope aurantia* 的卵袋具有多层结构<sup>[8-9]</sup>。Stubbs 等、Foradori 等和 Moon 的研究表明,*A. aurantia* 卵袋的外覆盖层包含有大直径(5~10 μm)和小直径(0.1~0.2 μm)两种丝纤维<sup>[10-12]</sup>。潘志娟等从材料物理化学的角度对大腹园蛛 (*Araneus ventricosus*) 卵袋丝的化学组成、结构、机械性能与热性能进行了研究报道<sup>[13]</sup>。蒋平等对棒络新妇 (*Nephila clavata*) 和悦目金蛛 (*Argiope amoena*) 卵袋结构与组成进行了研究报道<sup>[5-6]</sup>。

蜘蛛丝是一种天然动物蛋白纤维,具有强度高、弹性好、初始模量大、断裂能大、可生物降解、生物相容性好且轻盈等优良机械性能及特性,是具有广阔应用前景的新兴生物材料。对蜘蛛丝的大量研究主要集中于大壶状腺纺出的拖丝,近年来由柱状腺纺出的卵袋丝<sup>[14-17]</sup>以及其他丝腺,如冠状腺、小壶状腺、葡萄状腺、梨状腺<sup>[4, 18-22]</sup>纺出的蛛丝蛋白纤维愈来愈受到人们的关注,特别是卵袋的主要组成纤维柱状腺丝,它具有良好的疏水、透气、保温、保湿等特性,成为继拖牵丝之后又一极具应用潜力的新型蛛丝纤维材料。但蜘蛛种类繁多,蜘蛛卵袋的大小、颜色、形态、丝纤维组成等都具有多样性<sup>[23]</sup>。因此,在应用卵袋丝之前,需要先弄清卵袋的结构与组成,以便获得人们想要的丝纤

维。本文研究的横纹金蛛 (*A. bruennichi*) 是一种常见的大中型农林蜘蛛,卵袋较大,丝量也大,是一个很好的研究对象。为此本文采用扫描电镜 (scanning electron microscopy, SEM) 和氨基酸自动分析仪对横纹金蛛卵袋的超微结构与氨基酸组成进行了观察研究,并分析了不同直径大小丝纤维的丝腺来源,为进一步深入研究及与卵袋密切相关的蜘蛛繁殖生态学提供一些参考依据。

## 1 材料与方法

**1.1 横纹金蛛生活史野外初步调查** 2007~2009年的4~10月在江西井冈山大井风景区(114.19°E, 26.54°N)对横纹金蛛出蛭、成熟、交配、产卵的时间等生活史进行了初步调查。

**1.2 蜘蛛与卵袋的准备** 56只雌性横纹金蛛均于2009年8月20~26日采自江西省井冈山自然保护区。采回后放入60 cm × 60 cm × 60 cm的笼中,在开放的半自然的室内条件下饲养。饲养方法为将黄粉虫 (*Tenebrio molitor*) 幼虫直接放在雌蛛网上直至雌蛛上前捕食。饲养条件为(24 ± 2) °C,相对湿度50% ± 5%,光照时间为L:D = 12 h:12 h。在蜘蛛织制完卵袋(图1)后,立即收集卵袋备用。

**1.3 卵袋解剖及卵袋丝样品的准备** 用干净的镊子、刀片和剪刀从一个完整的卵袋上将黄色的框架丝取下,然后对卵袋进行解剖,并收集不同颜色的卵袋层,用于扫描电镜观察和氨基酸组成分析。

**1.4 卵袋超微结构和丝纤维的组成** 将卵袋层丝纤维用双面胶贴在样品台上,用金粉喷镀5 min后,直接送入样品室进行观察 (JEOL JSM-5900 Hitachi Japan, 观察条件:20 kV, 0.6 nA), 丝纤维的直径通过在扫描电镜下放大的照片来测定<sup>[11-12]</sup>。在配套软件 Smileview 下放

大图片进行丝纤维直径的测量和统计。

**1.5 卵袋丝氨基酸组成分析** 用电子分析天平(A1204型梅特勒-托利多Mettler Toledo电子天平,精确度为0.1 mg)称取1~3 mg的各类卵袋丝,酸水解,使用L8000氨基酸自动分析仪(Hitachi, Japan)进行氨基酸组成分析。数据的统计处理采用SPSS 17.0软件完成。蜘蛛丝直径数据表示为平均值±标准误。

## 2 结果与分析

**2.1 横纹金蛛基本生活史** 井冈山国家自然保护区的横纹金蛛以1龄若蛛在卵袋内越冬,翌年5月上旬从卵袋内出蛻,7月上旬出蛻结束,若蛛经6个龄期于7月中下旬发育至成蛛,

7、8月份交配,9、10月份产卵,10月份孵化若蛛,横纹金蛛没有世代重叠的现象。雌性横纹金蛛(图1A)一般重400~1700 mg。每个个体一生中一般织制3~6个卵袋,卵袋较大,长径3~4 cm,短径1.5~2.5 cm,一般重300~400 mg,似葫芦形,棕色或橙黄色,也有为白色的(图1B)。每个卵袋含卵数百粒。

**2.2 卵袋的形态特征** 横纹金蛛的卵袋特征见表1,为封闭的葫芦形,由多覆盖层构成。且横纹金蛛纺织的卵袋正反面卵袋丝颜色有差异,正面比反面的颜色深(图1C)。横纹金蛛卵袋与另一种金蛛*A. aurantia*<sup>[7-9]</sup>的形态特征相似,而与棒络新妇<sup>[12]</sup>的差异较大。

表1 横纹金蛛卵袋的结构与特征及与其他蜘蛛的比较

Table 1 Characteristics of egg cases of *Argiope bruennichi* and other three spiders

卵袋特征 Features	横纹金蛛 <i>Argiope bruennichi</i>	悦目金蛛 <i>A. amoena</i> <sup>[11]</sup>	<i>A. aurantia</i> <sup>[7-9]</sup>	棒络新妇 <i>Nephila clavata</i> <sup>[12]</sup>
形态 Shape	封闭的葫芦状	封闭倒三角形	封闭葫芦状	开放的椭球形
长径(cm) Long diameter	3.0~4.0	3.0~4.0	2.0~2.5	4.0~6.0
短径(cm) Short diameter	1.5~2.5	2.5~3.0	1.5~2.0	3.0~5.0
覆盖层厚度 Robustness of cover	致密较厚	致密较厚	致密较厚	稀疏较薄
结构 Structure	复杂多层	复杂多层	复杂多层	简单立体网筛
丝纤维组成 Composition of cover	含有大壶状腺、柱状腺、梨状腺、葡萄状腺4种不同丝腺纺出的丝,可能含小壶状腺丝	含有大壶状腺、柱状腺和葡萄状腺3种丝	含有大壶状腺、柱状腺和葡萄状腺3种丝,可能含有梨状腺丝	至少含有大壶状腺、柱状腺和葡萄状腺3种丝,可能含有小壶状腺和梨状腺丝
颜色 Colors	各覆盖层的蛛丝颜色从外到内分别为:金黄色、棕色、浅棕色、白色和浅黄色	各覆盖层的蛛丝颜色从外到内分别为:金黄色、灰绿色、浅棕色、白色和棕色	浅棕色或深棕色	金黄色和白色或全为白色
蜘蛛排卵对策 Ovulation strategies	分批排卵,织制3~6个卵袋	分批排卵,织制1~2个卵袋		一次排卵,织制1个卵袋

**2.3 卵袋结构与丝纤维组成** 横纹金蛛卵袋结构特征见图1,其卵袋主要是由柱状腺和葡萄状腺等至少2种丝腺纺出的丝纤维形成的多个覆盖层构成的,包括金黄色或白色的框架,浅棕色卵袋覆盖帽,棕色、浅黄色或白色外覆盖层,棕色或白色内覆盖层,棕色卵块覆盖帽,淡棕色或白色卵块包裹层(有些个体没有)。图

版I为横纹金蛛卵袋各层丝纤维的扫描电镜图片,观察表明,卵袋的外覆盖层外侧面丝较内侧面丝弯曲,且不规则、不均匀、更细,丝的表面更粗糙。卵袋覆盖帽与卵块覆盖帽也有相似的现象。根据扫描电镜图计算出它们所含不同丝纤维的直径,再将它们的氨基酸组成与文献已报道的相关丝腺丝心蛋白氨基酸组成<sup>[4-6, 24-26]</sup>



图 1 横纹金蛛及其卵袋形态结构

Fig. 1 Spider *Argiope bruennichi* and the morphology and structure of egg case

A: 横纹金蛛; B: 横纹金蛛的卵袋; C: 横纹金蛛卵袋结构, ①卵袋白色框丝(也有为金黄色的); ②卵袋外覆盖层(a:棕色外侧面, 白点为白色连接细丝; b:白色内侧面); ③卵袋覆盖帽; ④棕色或/和白色卵袋内层丝; ⑤卵块覆盖帽; ⑥卵块包裹丝; ⑦卵块。

A. *Argiope bruennichi*; B. Egg case; C. Structure of egg case; ①White (or golden) scaffolding silk; ②Outer cover (a: brown outer face, white points are white joining fibrils; b: white inner face); ③Egg case outer cover cap; ④Brown or/ and white egg case inner cover silk; ⑤Cover cap of clutch of eggs; ⑥Wrapping cover silk of clutch of eggs; ⑦Clutch of egg.

进行比较, 分析不同直径丝纤维的丝腺来源(表 2)。横纹金蛛卵袋框架主要是由大直径(约 10  $\mu\text{m}$ )的大壶状腺丝纤维构成。卵袋外覆盖层、卵袋覆盖帽、卵块覆盖帽主要由 6 根大直径柱状腺丝和小直径葡萄状腺丝纤维混合成的基本纤维束所折叠成的致密片层丝被构成, 而卵袋内覆盖层则仅仅由 6 根大直径(约 8.1  $\mu\text{m}$ )的柱状腺丝纤维形成的基本纤维束疏松地折叠而成。蜘蛛后中纺器上具有一对柱状腺纺管, 而后侧纺器上具有两对柱状腺纺管<sup>[4]</sup>, 上述情况表明, 3 对柱状腺纺管同时参与了横纹金蛛纺丝织制卵袋的行为。

**2.4 卵袋丝的氨基酸组成** 对横纹金蛛的卵袋丝进行常规的氨基酸组成分析, 结果见表 3。卵袋框丝与典型的拖牵丝的氨基酸组成相似,

甘氨酸和丙氨酸的含量最丰富, 分别占 37.0% 和 24.7% 左右; 其次分别是谷氨酸、脯氨酸和丝氨酸, 分别占 10.3%、7.1% 和 5.2% 左右。卵袋内外覆盖层、卵袋覆盖帽、卵块覆盖帽和卵块包裹层丝纤维的氨基酸组成与典型的柱状腺丝相似。与卵袋框丝相比, 这些部分的丝发生了一个重要的变化: 丝氨酸的含量显著增加, 所占比例高于 21%, 与此同时甘氨酸的含量显著减少, 只占 11.6% 左右。丙氨酸的含量变化不大, 仍占 25% 左右。天冬氨酸和苏氨酸的含量较高, 脯氨酸含量较低。根据横纹金蛛氨基酸 R-基的性质不同, 可将其卵袋丝纤维所含的氨基酸进行分类, 汇总于表 4。可以看出, 与卵袋框丝相比, 由于卵袋内层丝蛋白的丝氨酸含量增加, 因此卵袋内层丝纤维的极性氨基酸所占

表 2 横纹金蛛卵袋各层单丝直径及丝腺来源

Table 2 The diameter and gland origin of silk in different layer of *Argiope bruennichi* egg case

卵袋结构		纤维组成	纤维直径	丝腺来源	
Egg case structure		Fibrous composition	Fiber diameter ( $\mu\text{m}$ )	Gland origin	
框架	Scaffolding	主要 L-D	10.00 $\pm$ 0.30	大壶状腺	
		少量 M-D 和 S-D	1.90 $\pm$ 0.10	可能为小壶状腺	
外层	外覆盖层	外侧面	5.70 $\pm$ 1.20	柱状腺	
		Outer face	2.20 $\pm$ 0.10	可能为小壶状腺	
	Outer cover	内侧面	8.00 $\pm$ 0.20	柱状腺	
		Inner face	0.30 $\pm$ 0.02	葡萄状腺	
	卵袋覆盖帽	外侧面	4.60 $\pm$ 0.50	柱状腺	
		Outer face	2.40 $\pm$ 0.40	葡萄状腺	
	Cover cap of egg case	内侧面	7.50 $\pm$ 0.60	柱状腺	
		Inner face	0.30 $\pm$ 0.03	葡萄状腺	
	内覆盖层 Inner cover		L-D	8.10 $\pm$ 0.20	柱状腺
	内层	卵块覆盖帽	外侧面	5.50 $\pm$ 0.30	柱状腺
Outer face			0.50 $\pm$ 0.06	葡萄状腺	
Cover cap of egg mass		内侧面	5.00 $\pm$ 0.20	柱状腺	
		Inner face	0.30 $\pm$ 0.04	葡萄状腺	
卵块包裹层		M-D	3.70 $\pm$ 0.10	柱状腺	
Egg wrapping cover		S-D	0.30 $\pm$ 0.04	葡萄状腺	

L-D:大直径(3~10  $\mu\text{m}$ ); M-D:中直径(1~3  $\mu\text{m}$ ); S-D:小直径(0~1  $\mu\text{m}$ )。

L-D:Large-diameter (3-10  $\mu\text{m}$ ); M-D:Middle-diameter (1-3  $\mu\text{m}$ ); S-D:Small-diameter (0-1  $\mu\text{m}$ ).

比例增加了。大侧链氨基酸和小侧链氨基酸的比值分析表明,卵袋内层丝(0.76) > 卵袋外层丝(0.71) > 卵袋框丝(0.49)。

### 3 讨论

Blasingame 等<sup>[21]</sup>从黑寡妇(*Latrodectus hesperus*)固定拖牵丝的粘性附着盘细丝中分离鉴定得到了一种新的分泌自梨状腺的丝心蛋白 PyrSp1。为此,我们认为在横纹金蛛卵袋框丝与外覆盖层铆钉部位所观察到的起连接铆钉作用的细丝也分泌自梨状腺(图版 I: A, B)。研究表明,小壶状腺丝被广泛使用到圆网丝<sup>[27-28]</sup>、卵袋丝<sup>[11-12, 29]</sup>、行走丝和捕食拖牵丝<sup>[30]</sup>、包裹猎物丝<sup>[20]</sup>等不同功能的丝纤维中。因此,根据不同丝腺导管连接的纺管大小及丝纤维的直径大小,横纹金蛛卵袋框丝与卵袋外覆盖层和卵袋覆盖帽外侧面观察到的中直径的

丝纤维极可能纺自于小壶状腺。

Hieber、Gertsch、Stubbs、Moon 和 Foradori 等的研究<sup>[3, 9-12]</sup>已表明,*A. aurantia*的卵袋形如葫芦状,是一个多层的封闭结构,并揭示了卵袋的外层覆盖物作为卵或若蛛保护性的屏障,包含有小直径(约 0.1~0.2  $\mu\text{m}$ )和大直径(约 5~10  $\mu\text{m}$ )丝纤维。研究表明,蜘蛛卵袋大直径丝纤维是由柱状腺纺出的<sup>[31-32]</sup>;小直径丝纤维纺自葡萄状腺<sup>[19]</sup>。而横纹金蛛卵袋也呈封闭的葫芦形,主要由柱状腺和葡萄状腺等至少 2 种丝腺纤维构成。卵袋包含有不同颜色的覆盖层,具有更复杂的多层结构,包括框架丝、外覆盖层、卵袋覆盖帽、内覆盖层、卵块覆盖帽与卵块包裹层。卵袋框架主要由大壶状腺丝构成,外覆盖层、卵袋覆盖帽、卵块覆盖帽与卵块包裹层是由不同组成比率的大直径柱状腺丝和小直径其他丝腺(有些含有少量中直径)丝纤维混

表 3 横纹金蛛卵袋各层丝纤维的氨基酸组成(摩尔百分比)

Table 3 Amino composition of spider *Argiope bruennichi* egg case layered silk (mole percent)

氨基酸 Amino acid	框架丝 Scaffolding silk		外覆盖层丝 Outer cover silk		卵袋覆盖帽丝 Cover cap of egg case silk	卵块覆盖帽丝 Cover cap of egg mass silk	内覆盖层丝 Inner cover silk		柱状腺 丝心蛋白 <sup>[26]</sup> Spidroin of <i>A. bruennichi</i> Cylindrique gland	
	金黄色 Golden	棕色 Brown	浅黄色 Pale yellow	白色 White	浅棕色 Pale Brown	棕色 Brown	白色 White	棕色 Brown	CySp1	CySp2
天冬氨酸 Asp	1.9	6.8	6.8	6.5	6.7	7.5	6.4	6.9	6.51	5.15
苏氨酸 Thr	1.0	4.0	4.1	4.3	3.9	4.5	5.6	4.0	4.00	4.00
丝氨酸 Ser	5.2	21.1	21.2	23.3	19.0	22.6	24.4	24.9	25.70	28.30
谷氨酸 Glu	10.3	7.3	7.5	8.0	6.8	7.8	7.8	7.8	7.40	7.50
甘氨酸 Gly	37.0	11.6	11.4	11.0	14.0	10.4	9.0	9.4	9.20	8.10
丙氨酸 Ala	24.7	25.7	25.1	24.6	25.3	22.5	25.2	25.7	25.80	25.90
半胱氨酸 Cys	0.2	0.4	0.4	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.10	0.20
缬氨酸 Val	1.2	4.4	4.6	5.2	4.2	5.1	5.1	4.9	5.40	5.80
甲硫氨酸 Met	0.2	0.1	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0		
异亮氨酸 Ile	0.9	1.7	1.7	1.4	2.1	1.9	1.3	1.1	6.90	6.50
亮氨酸 Leu	2.5	5.8	6.1	6.4	5.5	6.9	6.9	6.6	1.30	1.00
酪氨酸 Tyr	2.6	1.9	1.8	1.1	2.3	1.5	1.1	0.9		
苯丙氨酸 Phe	2.4	3.5	3.7	3.7	3.3	3.9	4.0	3.9	4.10	4.00
赖氨酸 Lys	0.7	0.6	0.6	0.3	0.7	0.6	0.0	0.2	0.00	0.12
组氨酸 His	0.3	0.2	0.2	0.0	0.3	0.5	0.0	0.3	0.00	0.12
精氨酸 Arg	2.0	3.4	3.1	2.1	3.5	2.5	1.7	1.8	1.51	1.43
脯氨酸 Pro	7.1	1.7	1.7	2.0	1.8	2.0	1.5	1.6	1.00	0.80

表 4 横纹金蛛蛛丝蛋白氨基酸种类分析(摩尔百分比)

Table 4 Analysis of the various classes of amino acid R-groups associated with the spider silk proteins of the orb web spider *Argiope bruennichi* (mole percent)

卵袋丝 Egg case silk		氨基酸 Amino acid					
		极性 Polar residues	酸性 Acidic residues	基本 Basic residues	小侧(SC) Short chain	大侧(LC) Large chain	大侧/小侧 LC/SC
卵袋框丝 Scaffolding silk	金黄色 Golden	21.35	12.18	2.99	66.91	33.09	0.49
	棕色 Brown	43.37	14.15	4.13	58.34	41.66	0.71
卵袋外覆盖层丝 Outer cover silk	浅黄色 Pale yellow	43.51	14.35	3.85	57.69	42.31	0.73
	白色 White	44.51	14.51	2.36	58.91	41.09	0.70
卵袋覆盖帽丝 Egg case cover cap silk	浅棕色 Pale Brown	45.84	14.13	1.73	58.64	41.36	0.71
	棕色 Brown	45.85	14.66	2.26	59.95	40.05	0.67
卵袋内覆盖层丝 Inner cover silk	白色 White	40.99	13.51	4.55	58.28	41.72	0.72
	棕色 Brown	45.92	15.27	3.56	55.50	44.50	0.80

极性氨基酸:天冬氨酸+苏氨酸+丝氨酸+谷氨酸+酪氨酸+赖氨酸+组氨酸+精氨酸;酸性氨基酸:天冬氨酸+谷氨酸;  
基本侧链氨基酸:赖氨酸+组氨酸+精氨酸;小侧链氨基酸:甘氨酸+丙氨酸+丝氨酸。

Polar residues: asp + thr + ser + glu + tyr + lys + his + arg; Acidic residues: asp + glu; Basic residues: lys + his; Short chain: gly + ala + ser.

合构成的。卵袋外覆盖层与卵袋覆盖帽外侧面的丝比内侧面的更杂乱、更细,这可能是由于外侧面丝是接触外界的异质环境,而内侧面丝是朝向卵袋内的均质环境,所以相对而言,前者处于异质环境中,而后者处于均质环境中。

Garb 等<sup>[7]</sup>的研究表明,丝心蛋白在进化上是保守的。横纹金蛛卵袋覆盖内外层丝的氨基酸组成与其柱状腺丝心蛋白 CySp1 和 CySp2<sup>[26]</sup>以及亲缘关系较近的其他种类蜘蛛的柱状腺丝心蛋白 TuSp1 的组成相似,因此,我们认为柱状腺丝心蛋白 CySp1 和 CySp2 是横纹金蛛卵袋覆盖层丝的主要蛋白成分(表 3)。横纹金蛛柱状腺丝与卵袋框丝(大壶状腺丝)相比,由于甘氨酸的含量减少和丝氨酸的含量增加,其极性氨基酸含量较高。在大腹园蛛柱状腺丝<sup>[10]</sup>、黑寡妇柱状腺丝<sup>[16]</sup>,十字园蛛(*A. diadematus*)<sup>[24]</sup>、*A. aurantia*<sup>[9]</sup>、悦目金蛛<sup>[11, 33]</sup>和棒络新妇<sup>[12]</sup>的柱状腺丝纤维中也发生相似的氨基酸含量的变化。Vasanthavada 等<sup>[20]</sup>从黑寡妇卵袋中分离鉴定到了葡萄状腺丝心蛋白 AcSp1-like,并根据其在葡萄状腺远远高于其他丝腺的 mRNA 转录量,为葡萄状腺细丝被使用到蜘蛛卵袋覆盖层提供了直接的分子生物学证据。氨基酸组成与扫描电镜的结果表明,横纹金蛛卵袋也含有葡萄状腺细丝。根据氨基酸 R-基的性质将卵袋各部分的丝纤维所含的氨基酸进行分类汇总。可以看出,与卵袋框丝相比,尽管柱状腺丝的小侧链丝氨酸的含量增加了,但同时一些大侧链氨基酸,如天冬氨酸、苏氨酸、缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸的含量都增加了,因此柱状腺丝的大侧链氨基酸(LC):小侧链氨基酸(SC)均比卵袋框丝的大。不同种蜘蛛的同一种丝腺纺出的丝纤维氨基酸含量也是不尽相同的,横纹金蛛卵袋框丝 LC 与 SC 的比值为 0.49,而悦目金蛛的为 0.79<sup>[33]</sup>,棒络新妇的为 0.85<sup>[12, 33]</sup>,黑寡妇的为 0.37<sup>[16]</sup>,即亲缘关系相近种的存在较大差异,而亲缘关系较远的横纹金蛛与黑寡妇的较为接近,这可能与它们各自所处的生境以及对卵袋框丝力学性能的要求不同密切相关。这也再次表明了蜘蛛丝在氨基酸

组成上的多样性<sup>[25, 33]</sup>。分子生物学的研究已表明,蜘蛛丝心蛋白家族成员的氨基酸序列具有一定的保守性,那为什么不同种蜘蛛的同一种丝腺纺出的丝纤维氨基酸含量有这么大的差异呢?研究表明<sup>[34-36]</sup>,大壶状腺至少含有两种上皮细胞,分别分泌 MaSp1 与 MaSp2 这两种丝心蛋白, MaSp1 不含有脯氨酸, MaSp2 富含脯氨酸。当 MaSp2 流经膨大区时, MaSp1 分泌出来与 MaSp2 以不同比例混合,流经导管至纺管最后纺出<sup>[37]</sup>。因此,这种差异可能是不同的丝腺蛋白按不同的比例混合而导致的。

蜘蛛的卵袋形态与特征,在同属间较为相似,不同属间差异较大。不同横纹金蛛个体的卵袋颜色不尽相同,有的还为全白色,这可能是由卵袋丝及卵袋反射紫外光量(减少反射紫外光的量,从而避免吸引天敌以卵为食)和保护色(受卵袋所处的背景颜色与环境的光线强弱等因素的影响)共同作用的结果。Putthanarat 等的研究也表明,食物和环境以外的因素影响络新妇属蜘蛛人工抽拖牵丝的颜色<sup>[38]</sup>。人工抽丝过程中的一些因素可能妨碍了蜘蛛对丝颜色的选择。横纹金蛛卵袋内外覆盖丝具有不同的颜色,似乎表明其能通过内在的一些机制来调节从同为柱状腺纺出的丝纤维的颜色,以适应其不同的生存和繁殖策略。这似乎表明,不同颜色的卵袋丝纤维不仅仅是作为构建卵袋的具有独特氨基酸组成、蛋白结构和力学性能的纤维材料<sup>[10, 16]</sup>,同时可能也具有保护色的功能,使得卵袋成为卵块或若蛛躲避捕食者和拟寄生物侵袭的有利屏障<sup>[2-3, 5, 39-40]</sup>。

**致谢** 感谢四川省农业科学院分析测试中心的宋军、刘文娟和罗晓梅老师以及四川大学分析测试中心扫描电镜室的王辉老师对本研究提供的帮助。

## 参 考 文 献

- [1] Danks H V. The role of insect cocoons in cold conditions. *Eur Entomol*, 2004, 101: 433-437.
- [2] Austin A D. The function of spider egg sacs in relation to

- parasitoids and predators, with special reference to the Australian fauna. *Nat His*, 1985, 19: 359 – 376.
- [ 3 ] Hieber C. The “insulation” layer in the cocoons of *Argiope aurantia* (Araneae: Araneidae). *Therm Biol*, 1985, 10: 171 – 175.
- [ 4 ] 蒋平, 卓春晖, 杨文博, 等. 棒络新妇和悦目金蛛丝腺形态初步观察. *蛛形学报*, 2006, 15(2): 90 – 97.
- [ 5 ] 蒋平, 肖永红, 周兵, 等. 悦目金蛛卵袋结构与组成. *动物学报*, 2008, 54(5): 918 – 927.
- [ 6 ] 蒋平, 周兵, 肖永红, 等. 棒络新妇卵袋结构与组成. *四川动物*, 2009, 28(4): 481 – 487.
- [ 7 ] Garb J E, Cheryl Y H. Modular evolution of egg case silk genes across orb-weaving spider superfamilies. *PNAS*, 2005, 102(32): 11379 – 11384.
- [ 8 ] Hieber C. Spider cocoons and their suspension systems as barriers to generalist and specialist predators. *Oecologia*, 1992, 91: 530 – 535.
- [ 9 ] Gertsch W. *American Spiders*. 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1979.
- [ 10 ] Stubbs D, Tillinghast E, Townley M, et al. Fibrous composite structure in a spider silk. *Naturwissenschaften*, 1992, 79: 231 – 234.
- [ 11 ] Moon M J. Fine structural analysis of the cocoon silk production in the Garden Spider, *Argiope aurantia*. *Korean J Biol Sci*, 2003, 7: 35 – 41.
- [ 12 ] Foradori M J, Kovoor J, Moon M J, et al. Relation between the outer cover of the egg case of *Argiope aurantia* (Araneae: Araneidae) and the emergence of its spiderlings. *Journal of Morphology*, 2002, 252: 218 – 226.
- [ 13 ] 潘志娟, 李春萍, 刘敏, 等. 大腹园蛛包卵丝的化学组成与物理机械性能. *东华大学学报: 自然科学版*, 2002, 28(4): 34 – 39.
- [ 14 ] Tian M, Lewis R V. Tubuliform silk protein; a protein with unique molecular characteristics and mechanical properties in the spider silk fibroin family. *Appl Phys A*, 2006, 82: 265 – 273.
- [ 15 ] Barghout J Y J, Thiel B L, Viney C. Spider (*Araneus diadematus*) cocoon silk: a case of non-periodic lattice crystals with a twist? *International Journal of Biological Macromolecules*, 1999, 24: 211 – 217.
- [ 16 ] Barghout J Y J, Czernuszka J T, Viney C. Multiaxial anisotropy of spider (*Araneus diadematus*) cocoon silk fibres. *Polymer Communication, Polymer*, 2001, 42: 5797 – 5800.
- [ 17 ] Casem M L, Turner D, Houchin K. Protein and amino acid composition of silks from the cob weaver, *Latrodectus hesperus* (black widow). *International Journal of Biological Macromolecules*, 1999, 24: 103 – 108.
- [ 18 ] Hayashi C Y, Lewis R V. Evidence from flagelliform silk cDNA for the structural basis of elasticity and modular nature of spider silks. *J Mol Biol*, 1998, 275: 773 – 784.
- [ 19 ] Hayashi C Y, Blackledge T A, Lewis R V. Molecular and mechanical characterization of aciniform silk: uniformity of iterated sequence modules in a novel member of the spider silk fibroin gene family. *Mol Biol Evol*, 2004, 21(10): 1950 – 1959.
- [ 20 ] Vasanthavada K, Hu X, Falick A M, et al. Aciniform spidroin, a constituent of egg case sacs and wrapping silk fibers from the black widow spider *Latrodectus hesperus*. *J Biol Chem*, 2007, 282: 35088 – 35097.
- [ 21 ] Mattina C L, Reza R, Hu X, et al. Spider minor ampullate silk proteins are constituents of prey wrapping silk in the cob weaver *Latrodectus hesperus*. *Biochemistry*, 2008, 47: 4692 – 700.
- [ 22 ] Blasingame E, blasingame T T, Vierra C, et al. Pyriform spidroin I, a novel member of the silk gene family that anchors dragline silk fibers in attachment discs of the black widow spider, *Latrodectus hesoerus*. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(42): 29097 – 29108.
- [ 23 ] 林冠伦, 钱贻隼. 十三种农田蜘蛛卵囊的识别. *昆虫天敌*, 1981, Z1: 91 – 92.
- [ 24 ] Anderson S O. Amino acid composition of spider silks. *Comp Biochem Physiol*, 1970, 35: 705 – 711.
- [ 25 ] Vollrath F, Knight D P. Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, 2001, 410: 541 – 548.
- [ 26 ] Zhao A C, Zhao T F, Nakagaki K, et al. Novel molecular and mechanical properties of egg case silk from Wasp Spider, *Argiope bruennichi*. *Biochemistry*, 2006, 45: 3348 – 3356.
- [ 27 ] Riekel C. Applications of micro-SAXS/WAXS to study polymer fibers. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2003, 199: 106 – 111.
- [ 28 ] Kovoor J. Donnees histochimiques sur les glandes sericigenes de la veuve noire *Latrodectus mactans* fabr. (Araneae: Theridiidae). *Ann Sci Nat Zool*, 1977, 19: 63 – 87.
- [ 29 ] Gheysens T, Beladjal L, Gellynck K, et al. Egg sac structure of *Zygiella x-notata* (Arachnida, Araneidae). *Journal of Arachnology*, 2005, 33: 549 – 557.
- [ 30 ] 蒋平, 刘辉芬, 肖永红, 等. 棒络新妇和悦目金蛛拖丝超微结构与力学行为. *四川动物*, 2010, 29(1): 1 – 6.
- [ 31 ] Sekiguchi K. Differences in the spinning organs between male and female adult spiders. *Sci Rep Tokyo Kyoiku*



- Daigaku Sect B, 1955, 8: 23 – 32.
- [32] Schimkewitsch W. Etude sur l' anatomie de l' Epeire. *Ann Sci Nat Zool Paleon*, 1884, 17: 1 – 94.
- [33] 蒋平, 吕太勇, 肖永红, 等. 悦目金蛛和棒络新妇卵袋丝物理化学结构表征及其力学性能. *生物物理学报*, 2010, 26(2): 149 – 163.
- [34] Hayashi C Y, Shipley N, Lewis R V. Hypotheses that correlate the sequence, structure, and mechanical properties of spider silk proteins. *Int J Biol Macromol*, 1999, 24: 271 – 275.
- [35] Himan M B, Jones J A, Lewis R V. Synthetic spider silk: a modular fiber. *Trends in Biotechnology*, 2000, 18: 374 – 379.
- [36] Gosline J M, Guerette P A. The mechanical design of spider silk: from fibroin sequence to mechanical function review. *Journal of Experimental Biology*, 1999, 202: 3295 – 3303.
- [37] Dicko C, Vollrath F, John M K. Spider silk protein refolding is controlled by changing pH. *Biomacromolecules*, 2004, (5): 704 – 710.
- [38] Putthanarat P S, Zarkoob T S, Miller L D, et al. The color of dragline silk produced in captivity by the spider *Nephila clavipe*. *Polymer*, 2004, 45: 1933 – 1937.
- [39] 杨明旭. 蜘蛛卵黑秆蝇的初步观察. *植物保护*, 1984, 1: 39.
- [40] 杨明旭. 寄生蜘蛛卵的三种姬蜂. *植物保护*, 1993, 5: 46 – 48.

## 图 版 说 明

### 横纹金蛛卵袋各层丝纤维扫描电镜图

A ~ C: 卵袋框丝及其与卵袋外覆盖层铆钉部位丝; D, E: 外覆盖层外侧面; F, G: 外覆盖层内侧面; H, I: 卵袋覆盖帽外侧面; J, K: 卵袋覆盖帽内侧面; L, M: 内覆盖层丝; N, O: 卵块覆盖帽外侧面; P, Q: 卵块覆盖帽内侧面; R: 卵块包裹丝。

## Explanation of Plate

The SEM morphologies of *A. bruennichi* egg case cover silk

A – C: Egg case scaffolding silk and anchoring silk; D, E: Outer face of outer cover; F, G: Inner face of outer cover; H, I: Outer face of egg case cover cap; J, K: Inner face of egg case cover cap; L, M: Egg case inner cover silk; N, O: Outer face of cover cap of clutch of eggs; P, Q: Inner face of cover cap of clutch of eggs; R: Wrapping cover silk of clutch of eggs.

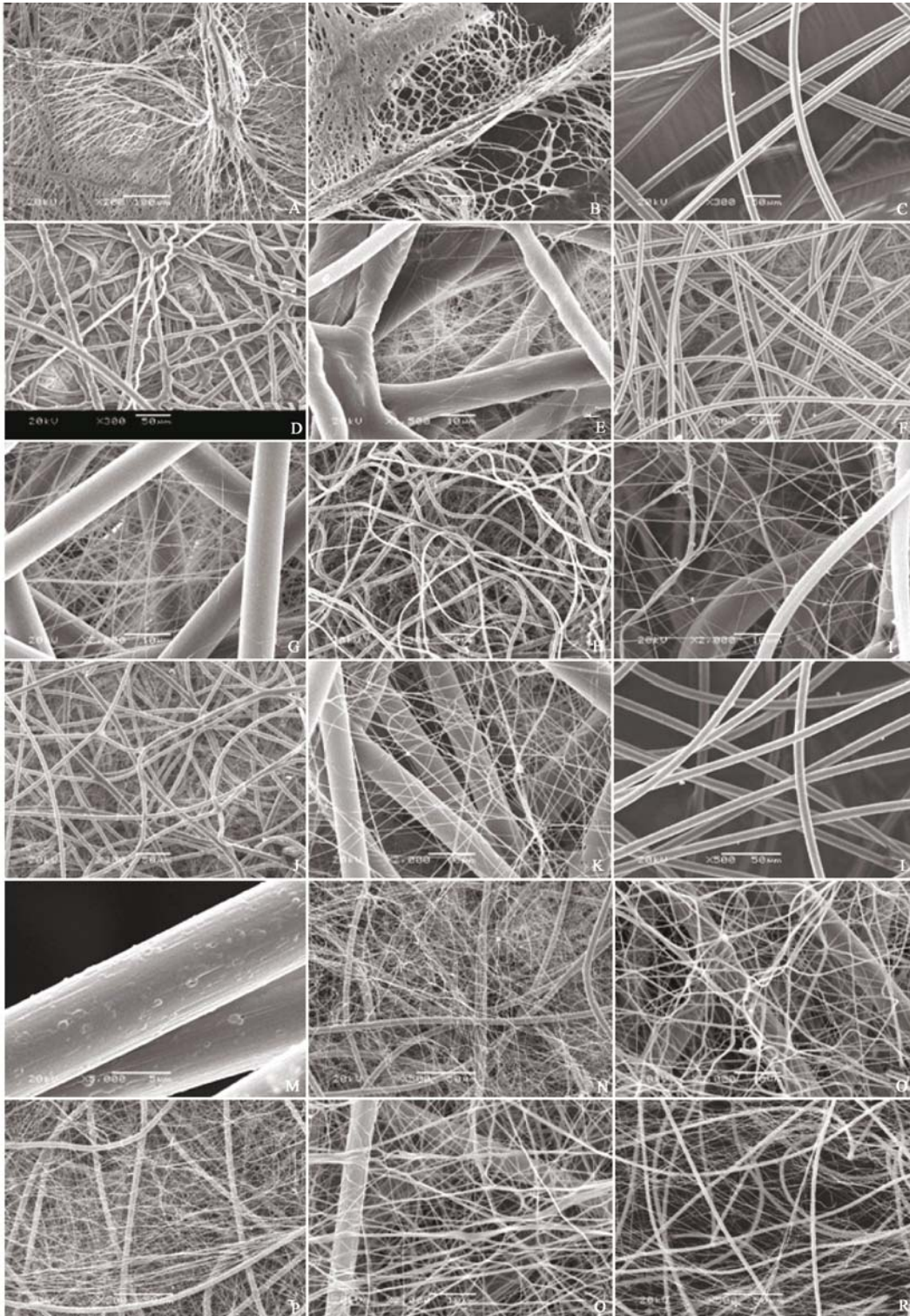
蒋 平等:横纹金蛛卵袋结构与纤维组成

图版 I

JIANG Ping *et al.* : Structure and Fibrous Composition of the Egg Case of Spider

*Argiope bruennichi*

Plate I



图版说明见文后