

3 种中型蜘蛛卵袋形态特征与纤维组成结构

蒋平^① 吕太勇^① 肖永红^① 廖信军^① 郭聪^{②*}

① 井冈山大学生命科学学院 生态环境与资源研究所 江西省生物多样性与生态工程重点实验室
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: 采用扫描电镜和氨基酸自动分析仪对球蛛科 (Theridiidae) 温室拟肥腹蛛 (*Parasteatoda tepidariorum*)、肖蛸蛛科 (Tetragnathidae) 肩斑银鳞蛛 (*Leucauge blanda*) 及狼蛛科 (Lycosidae) 猴马蛛 (*Hippasa holmerae*) 3 种中型蜘蛛卵袋的超微结构和氨基酸组成进行了观察。形态观察表明, 这 3 种蜘蛛的卵袋形态各异, 温室拟肥腹蛛卵袋一头尖, 呈梨状; 肩斑银鳞蛛卵袋呈扁平状; 猴马蛛卵袋呈椭圆形。扫描电镜观察表明, 温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层仅仅由一种均一直径的柱状腺丝组成, 而另外 2 种蜘蛛卵袋外覆盖层主要由柱状腺丝与少量其他丝腺纺出的丝纤维组成。氨基酸组成分析表明, 温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层的丝纤维的氨基酸组成与具有保守性的其他种类蜘蛛柱状腺丝心蛋白的氨基酸组成差异较大, 这表明其可能含有新的丝心蛋白家族成员。本文根据氨基酸组成与扫描电镜的结果分析探讨了不同直径丝纤维的丝腺来源。

关键词: 温室拟肥腹蛛; 肩斑银鳞蛛; 猴马蛛; 卵袋; 纤维组成

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2012)05-79-09

Morphology and Fibrous Composite Structure of Egg Cases of Three Middle-size Spiders

JANG Ping^① LÜ Tai-Yong^① XIAO Yong-Hong^① LIAO Xin-Jun^① GUO Cong^{②*}

① College of Life Sciences, Institute of Eco-environment and Resources, Jinggangshan University, Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, Jiangxi Province, 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 microstructures and fibrous composition of egg cases of three middle-size spiders, *Parasteatoda tepidariorum* (Theridiidae), *Leucauge blanda* (Tetragnathidae) and *Hippasa holmerae* (Lycosidae) were examined using SEM technique and amino acid analysis. The shapes of the egg cases of the above-mentioned three spiders are pear-shaped, flabelliform ellipsoid and ellipsoid respectively. The outer cover of the egg case of *P. tepidariorum* is only composed with one type of silk fiber with even diameter, whereas outer covers of other two spiders' egg cases mainly consist of cylindrical gland silk together with a few other glands silk. The amino acid composition of cylindrical gland silk from *P. tepidariorum* egg case is very different from that of conserved Spidroin of cylindrical gland from other spiders, which indicates that cylindrical gland silk consists of unknown Spidroin. It needs to be identified through the further investigation of molecular biology. According to the amino

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31160420, 31060282, 30760041), 江西省自然科学基金项目 (No. 2010GQN120);

* 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: 蜘蛛丝和蚕丝的结构、性能与功能及应用等; 蜘蛛的生物学、生态学、行为学; E-mail: jping412@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2012-02-14, 收回日期: 2012-05-09

acid composition and SEM, the gland origin of silk fiber with different diameter was analyzed.

Key words: *Parasteatoda tepidariorum*; *Leucauge blanda*; *Hippasa holmerae*; Egg case; Fibrous composition

蜘蛛是害虫的主要捕食性天敌,在生物多样性、农林害虫防治及维持生态系统稳定中起重要作用。蜘蛛的卵袋是蜘蛛生活史早期用于保护和支持卵块及若蛛的类茧状物^[1-2],它不同于很多昆虫在蛹期织制的起保护作用的茧囊^[3],所有的蜘蛛都织制卵袋^[4],它是蜘蛛使用多种丝腺纺出的丝纤维织制的具有特殊结构和重要生物学功能的精细构造^[2, 5-10],在蜘蛛生活史中扮演着重要角色,关系到若蛛的孵化、存活、生长、发育、出蛰、群居、扩散等多个重要环节,进而直接影响到整个蜘蛛种群^[11-13]。因此,研究不同进化地位蜘蛛卵袋的构造及卵袋丝的组成、结构和性能,可深入认识和了解蜘蛛的卵袋丝结构、性能与繁育若蛛生态对策的关系,为蜘蛛资源的保护与利用提供有关生物学和生态学方面的理论依据。

对蛛丝的大量研究主要集中于蜘蛛大壶状腺纺出的拖牵丝,近年来由柱状腺纺出的卵袋丝^[14-19]以及其他丝腺(如冠状腺^[20]、葡萄状腺^[21-22]、小壶状腺^[23]、梨状腺^[24])纺出的蛛丝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,具有良好的疏水、透气、保温、保湿等特性^[25],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^[26-27]。但蜘蛛种类繁多,蜘蛛卵袋的大小、颜色、形态等都具有多样性^[28]。因此,在应用卵袋丝之前,需要先了解卵袋的构造与组成,以便获得人们需要的丝纤维。

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^[18],国内外对蜘蛛卵袋特征、结构和组成及其与若蛛生长发育等生态过程的关系都缺乏较为系统的研究。Schimkewitsch^[29]和 Sekiguchi^[30]的研究表明,蜘蛛卵袋大直径丝纤维是由柱状腺纺出的。Gheysens 等^[31]与 Hieber^[2]、Stubbs 等^[5]、Foradori 等^[32]、Moon^[33]分别观察到 X 型楚蛛(*Zygiella x-notata*)与橙色金蛛(*Argiope*

aurantia)的卵袋具有多层结构,主要含有柱状腺和葡萄状腺纤维。潘志娟等^[34-35]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、物理机械性能与热性能进行了研究报道。蒋平等对悦目金蛛(*Argiope amoena*)、棒络新妇(*Nephila clavata*)、摩鹿加云斑蛛(*Cyrtophora moluccensis*)和横纹金蛛(*A. bruennichi*)卵袋结构与组成进行了研究报道^[7-10]。国内外学者只是对大型蜘蛛的卵袋进行了研究,但对中小型蜘蛛卵袋的组成与结构鲜见报道。为此,本文采用扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)和氨基酸自动分析仪对球蛛科的温室拟肥腹蛛(*Parasteatoda tepidariorum*)、肖蛸科的肩斑银鳞蛛(*Leucauge blanda*)和狼蛛科的猴马蛛(*Hippasa holmerae*)这3种中型蜘蛛卵袋的超微结构和各层丝纤维氨基酸组成进行观察和研究,通过对卵袋各层丝纤维的扫描电镜观察和氨基酸组成的分析来探讨丝纤维的丝腺起源,并探讨了卵袋结构组成与其生物学功能之间的关系,为进一步深入研究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 蜘蛛与卵袋 实验所用的温室拟肥腹蛛、肩斑银鳞蛛和猴马蛛3种蜘蛛采自于井冈山大学校园及附近农林地与居民住地(东经114.10°,北纬26.34°)。所取蜘蛛均为雌性成体,每种8只,共24只,分别放入40 cm × 40 cm × 40 cm的3个笼中,用蚊虫喂养,饲养房条件为:(24.5 ± 2.0)℃,相对湿度50% ± 5%,光照条件L:D = 12 h:12 h。在蜘蛛织制完卵袋(图1A,B)后,立即收集卵袋备用。

1.2 卵袋解剖与蜘蛛丝样品的准备 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。

1.3 蜘蛛卵袋超微结构和丝纤维的组成 将各卵袋层或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 JSM25900 Hitachi Japan,观察条件:电压 20 kV,电流 0.6 nA),在扫描电镜下放大丝纤维并拍照。在配套软件 Smileview 下放大图片进行丝纤维的直径测量和统计^[36]。

1.4 氨基酸组成分析 所测蛛丝中,卵袋框丝的量相对其他蛛丝要少些,但能达到测试所要求的最低量 1 mg 左右。用电子分析天平(AUW120D,精确度为 0.01 mg,上海精密仪器厂)称取 1~3 mg 的各类蜘蛛丝,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。数据统计处理主要用 SPSS 17.0 软件完成。采用 One-way ANOVA 分析,数据的差异显著性利用 Duncan 多重比较法实

现。在进行单因素方差分析前,检验数据正态性和方差齐性,数据表示为平均值±标准误。

2 结果与分析

2.1 卵袋的形态特征 温室拟肥腹蛛、猴马蛛和肩斑银鳞蛛卵袋形态特征各异(图 1)。温室拟肥腹蛛卵袋棕色,一头尖,呈梨状,猴马蛛卵袋白色略带暗绿色,呈椭球形,而肩斑银鳞蛛卵袋为白色,呈扁球形。肩斑银鳞蛛卵袋比另外 2 种蜘蛛卵袋大,易解剖,这 3 种蜘蛛的卵袋都主要是由内外覆盖层构成。另外,卵袋覆盖层厚度、结构、纤维组成、颜色等特征也各异(表 1)。

2.2 卵袋的丝纤维组成与形态特征 根据扫描电镜图计算 3 种蜘蛛卵袋所含不同丝纤维的直径,再将其氨基酸组成与文献已报道的丝心蛋白氨基酸组成进行比较^[6-10, 16-25],分析不同

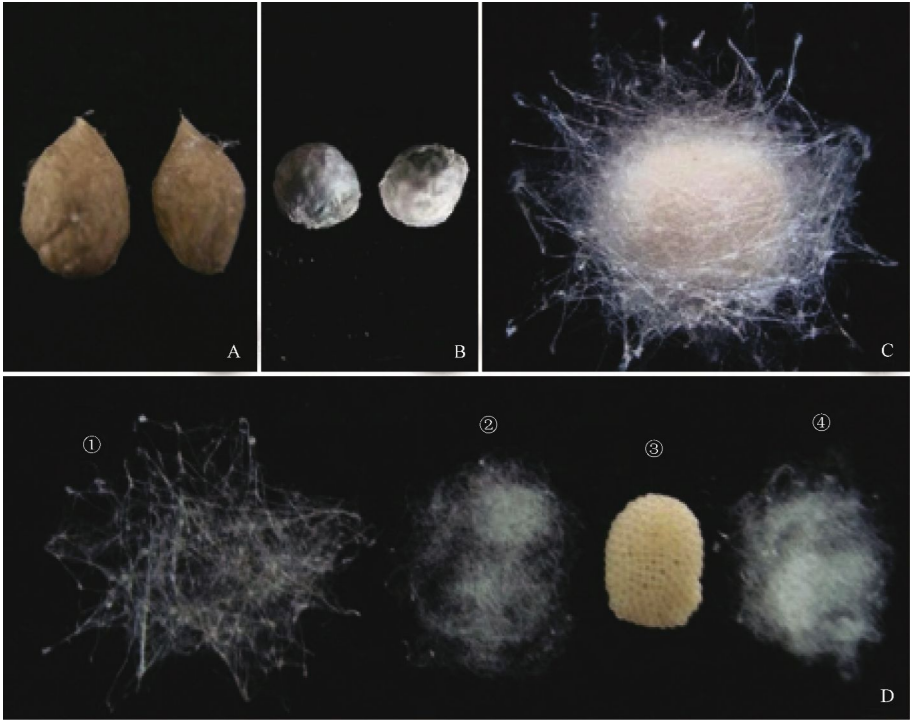


图 1 3 种蜘蛛卵袋形态特征

Fig. 1 The morphology and structure of egg case of three spiders

A: 温室拟肥腹蛛卵袋; B: 猴马蛛卵袋; C: 肩斑银鳞蛛卵袋; D: 肩斑银鳞蛛卵袋结构, ①白色框架丝, ②白色外覆盖层, ③米黄色卵块, ④白色内覆盖层。

A: Egg case of *Parasteatoda tepidariorum*; B: Egg case of *Hippasa holmerae*; C: Egg case of *Leucauge blanda*; D: Egg case structures of *L. blanda*. ① White scaffolding silk; ② White outer cover silk; ③ Egg mass of yellowish egg; ④ White inner cover silk.

表 1 3 种中型蜘蛛卵袋特征
Table 1 Features of three middle-size egg cases

蜘蛛卵袋特征 Spider Features	温室拟肥腹蛛 <i>Parasteatoda tepidariorum</i>	猴马蛛 <i>Hippasa holmerae</i>	肩斑银鳞蛛 <i>Leucauge blanda</i>
形状 Shape	封闭梨形	封闭椭圆形	半开放扁球形
大小 Size (cm)	长径 Long diameter	0.8 ~ 1.0	0.4 ~ 0.6
	短径 Short diameter	0.3 ~ 0.5	0.2 ~ 0.3
厚度 Robustness	覆盖层致密较厚	覆盖层致密较厚	覆盖层较薄
结构 Structure	较为复杂、多层	较为复杂、多层	相对简单、较为疏松
丝纤维组成 Composition of cover	只含有柱状腺丝	含有柱状腺、葡萄状腺丝,可能含有梨状腺丝	含有柱状腺和葡萄状腺丝
颜色 Colors	棕色	白色和暗绿色	白色
蜘蛛排卵对策 Ovulation Strategies	多次排卵,编织多个卵袋		
科名 Family	球蛛科 Theridiidae	狼蛛科 Lycosidae	肖蛸蛛科 Tetragnathidae

直径丝纤维的来源(表2)。温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层由直径较为均一($1.0 \sim 1.2 \mu\text{m}$)的柱状腺丝组成,丝表面较光滑、细腻(图版 I: A, B)。肩斑银鳞蛛卵袋外覆盖层由大直径($5.6 \sim 6.4 \mu\text{m}$)柱状腺丝和小直径($1.8 \sim 2.1 \mu\text{m}$)的葡萄状腺丝纤维构成,其内覆盖层只由一种直径较为均一($5.9 \sim 6.5 \mu\text{m}$)的柱状腺丝纤维构成,丝表面粗糙,有分泌物、凹陷的圆孔和沿丝纤维横向分布的清晰沟槽与条纹(图版 I: C ~ G)。猴马蛛卵袋外覆盖层的外侧面由大直径($0.3 \sim 0.9 \mu\text{m}$)柱状腺丝、中直径($0.1 \sim 0.3 \mu\text{m}$)葡萄状腺丝和小直径($0.06 \sim 0.10 \mu\text{m}$)的梨状腺丝纤维组成,其外覆盖层的内侧面是由直径均一($0.7 \mu\text{m}$)的柱状腺丝纤维组成,即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(图版 I: H ~ J),而其内侧面的

丝比较规则、均匀,丝表面较为光滑细腻(图版 I: K ~ L)。

2.3 氨基酸组成 收集卵袋各层丝纤维,然后进行氨基酸组成分析,结果见表3。温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层的谷氨酸和丝氨酸的含量最丰富,分别占 16.6% 和 16.4%,其次分别是甘氨酸、丙氨酸和天冬氨酸,分别占 15.0%、10.8% 和 10.0%,与典型的柱状腺丝心蛋白氨基酸组成差异较大。肩斑银鳞蛛卵袋白色内层丝纤维与外层丝纤维氨基酸组成相似,丝氨酸和丙氨酸含量最高,其次分别是谷氨酸和甘氨酸。猴马蛛卵袋外覆盖层的丝纤维中丙氨酸和丝氨酸的含量最丰富,分别占 24.0% 和 18.8%,其次分别是甘氨酸和谷氨酸,分别占 8.7% 和 8.5%,并含有少量甲硫氨酸。根据氨基酸 R-基的性质将 3 种蜘蛛各卵袋丝纤维所含

表 2 卵袋各层单丝直径及丝腺来源
Table 2 The diameter and gland origin of silks in different layer of egg cases

蜘蛛与卵袋结构 Spider and structure of egg case		纤维组成 Fibrous composition	纤维直径 Fiber diameter (μm)	丝腺来源 Gland origin
温室拟肥腹蛛 <i>Parasteatoda tepidariorum</i>	外覆盖层 Outer cover	小直径纤维	1.10 ± 0.30	柱状腺
	外覆盖层 Outer cover	大直径纤维	5.90 ± 0.20	柱状腺
肩斑银鳞蛛 <i>Leucauge blanda</i>	外覆盖层 Outer cover	小直径纤维	2.00 ± 0.07	葡萄状腺
	内覆盖层 Inner cover	大直径纤维	6.30 ± 0.10	柱状腺
猴马蛛卵袋外覆盖层 Outer cover of <i>Hippasa holmerae</i>	外表面 Outer surface	大直径纤维	0.60 ± 0.10	柱状腺
	外表面 Outer surface	中直径纤维	0.20 ± 0.03	葡萄状腺
	外表面 Outer surface	小直径纤维	0.08 ± 0.01	可能梨状腺
	内表面 Inner surface	小直径纤维	0.70 ± 0.00	柱状腺

表 3 3 种中型蜘蛛卵袋各层丝纤维的氨基酸组成与其他种类之比较(摩尔%)

Table 3 Amino acid composition of the silks from three middle-size spiders' egg cases compared with that of other spiders (mole percent)

氨基酸 Amino acids	温室拟肥腹蛛 <i>Parasteatoda tepidariorum</i>	猴马蛛 <i>Hippasa holmerae</i>	肩斑银鳞蛛 <i>Leucauge blanda</i>		横纹金蛛柱状腺丝心蛋白 Spidroin of <i>Argiope bruennichi</i> cylindrical gland ^[19]		勾足络新妇 柱状腺丝心 蛋白 <i>Nephila clavipes</i> TuSp1 ^[16, 18]	猫脸园蛛 柱状腺丝心 蛋白 <i>Araneus gemmoides</i> TuSp1 ^[16, 18]
	外层 Outer cover	外层 Outer cover	外层 Outer cover	内层 Inner cover	CySp1	CySp2		
天冬氨酸 Asp	10.0	5.6	5.1	4.1	6.5	5.2	3.9	4.7
苏氨酸 Thr	2.9	5.8	4.0	4.1	4.0	4.0	5.5	3.7
丝氨酸 Ser	16.4	18.8	24.7	27.0	25.7	28.3	21.9	32.3
谷氨酸 Glu	16.6	8.5	10.5	10.7	7.4	7.5	7.3	10.2
甘氨酸 Gly	15.0	8.7	8.2	6.7	9.2	8.1	8.5	6.7
丙氨酸 Ala	10.8	24.0	21.9	24.2	25.8	25.9	29.3	23.7
半胱氨酸 Cys	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.2		
缬氨酸 Val	4.7	3.7	4.3	4.5	5.4	5.8	2.2	5.1
甲硫氨酸 Met	0.0	1.0	0.0	0.0				
异亮氨酸 Ile	2.9	2.1	1.9	1.6	6.9	6.5	7.9	5.5
亮氨酸 Leu	4.7	7.1	6.4	6.7	1.3	1.0	2.6	1.1
酪氨酸 Tyr	2.3	1.8	2.3	2.4				
苯丙氨酸 Phe	2.8	3.7	4.2	4.1	4.1	4.0	4.7	2.9
赖氨酸 Lys	1.8	1.4	1.5	0.7	0.0	0.1		
组氨酸 His	1.8	1.1	1.1	0.5	0.0	0.1		
精氨酸 Arg	4.4	4.8	1.5	1.1	1.5	1.4	2.9	1.8
脯氨酸 Pro	2.9	2.1	2.4	1.8	1.0	0.8		

表 4 3 种中型蜘蛛卵袋丝氨基酸种类分析(摩尔%)

Table 4 Analysis of the various type of amino acid R-groups associated with the spider silk proteins of the spider (mole percent)

卵袋丝 Egg case silk	氨基酸类型 Types of amino acid					
	极性 Polar residues	酸性 Acidic residues	基本 Basic residues	小侧 Short chain	大侧 Large chain	大侧:小侧 LC:SC
温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层 Outer cover of egg case of <i>Parasteatoda tepidariorum</i>	53.88	26.62	7.94	57.76	42.24	1.37
猴马蛛卵袋外层 Outer cover of egg case of <i>Hippasa holmerae</i>	45.95	14.07	7.28	48.57	51.43	0.94
肩斑银鳞蛛卵袋 Egg case of <i>Leucauge blanda</i>						
外层 Outer cover	48.37	15.55	4.08	45.25	54.75	0.83
内层 Inner cover	48.17	14.81	2.26	42.08	57.92	0.73

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^[17]。

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

的氨基酸进行分类汇总于表 4。大侧链氨基酸和小侧链氨基酸比值(LC:SC)分析表明,温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层丝(1.36) > 猴马蛛卵袋外层(0.94) > 肩斑银鳞蛛卵袋白色外层(0.83) > 肩斑银鳞蛛卵袋白色内层(0.72)。

3 讨 论

蜘蛛种类繁多,蜘蛛卵袋的形态特征、超微结构与丝纤维组成等都具有多样性^[5,7-10,28,31-33]。通常,蜘蛛卵袋包含不同的

覆盖层,具有多层结构,一般包括框架丝、外覆盖层、内覆盖层。卵袋框架主要由大壶状腺丝构成,内外覆盖层主要由不同组成比率的大直径柱状腺丝和小直径葡萄状腺丝纤维混合组成^[5,7,9-10,32-33]。温室拟肥腹蛛、猴马蛛和肩斑银鳞蛛卵袋特征结构纤维组成有较大差异。温室拟肥腹蛛和猴马蛛与肩斑银鳞蛛卵袋的形态、封闭性、覆盖层致密疏松性分别与横纹金蛛和棒络新妇^[8,10]的相似。通常,卵袋外覆盖层含有大、小直径柱状腺和葡萄状腺丝,但温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层仅仅含有直径较均一的柱状腺丝。猴马蛛与温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层和肩斑银鳞蛛卵袋内外覆盖层的氨基酸组成与典型的柱状腺丝^[19]的相似,说明猴马蛛卵袋外覆盖层内侧面、温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层和肩斑银鳞蛛卵袋内覆盖层直径均一的丝纤维均纺自柱状腺;猴马蛛与肩斑银鳞蛛卵袋外覆盖层主要含有大直径的柱状腺丝,而中小直径的葡萄状腺细丝含量较少。猴马蛛卵袋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,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均质环境的缘故。不同种类蜘蛛卵袋特征与丝纤维组成的差异可能与它们各自的繁殖策略及若蛛生长发育特点有关。但这些卵袋特征是如何适应其各自的繁殖策略及若蛛生长发育特点,还有待进一步深入研究。肩斑银鳞蛛卵袋内覆盖层柱状腺丝表面粗糙,有分泌物和凹陷的圆孔和沿丝纤维横向分布的清晰沟槽与条纹。这一结构一方面减小了丝的横截面面积,可增强丝的力学性能,如断裂强度等^[37-38];另一方面增加了丝的表面积和粗糙度,可使卵袋具有较好的透气性,可能有助于刚孵化的若蛛攀附,有利于其发育生长。其他种类的蜘蛛,如园蛛科的大腹园蛛^[35]、橙色金蛛^[33]、银金蛛(*A. argentata*)^[37]、悦目金蛛^[38]、横纹金蛛^[10]、X型楚蛛^[31]、摩鹿加云斑蛛^[9]和络新妇科的棒络新妇^[36,38]等卵袋内层柱状腺丝也呈现出相似的微观形态结构,暗示这一结构是这类丝的普遍特征。但温室拟肥腹蛛和猴马蛛卵袋柱状

腺丝的这一特征不明显。通常,微米级的柱状腺丝与少量纳米级的葡萄状腺丝混合在一起构成卵袋外覆盖层,这保证了卵袋具有相对较好的密闭性,为卵块或若蛛提供了安全的庇护所与稳定的微环境,以避免胚胎发育、孵化及蜕皮过程中受到温度和湿度波动的影响,直到它们出蛰^[32,39]。

猴马蛛卵袋外覆盖层及肩斑银鳞蛛卵袋内外覆盖层丝的氨基酸组成与其他种类蜘蛛的柱状腺丝心蛋白 CySp1、CySp2^[19]和 TuSp1^[16,18]的氨基酸组成相似,这再次证实了丝心蛋白在进化上是保守的^[18]。但有趣的是温室拟肥腹蛛卵袋外覆盖层丝纤维的氨基酸组成与其他种类蜘蛛的柱状腺丝心蛋白的氨基酸组成^[16,18-19]差异较大,即温室拟肥腹蛛卵袋丝的丝氨酸和丙氨酸的含量远低于其他柱状腺丝心蛋白的,而其甘氨酸、谷氨酸和脯氨酸的含量又远高于其他柱状腺丝心蛋白的,表明其可能含有新的丝心蛋白成员,这有待进一步分子生物学的证实。猴马蛛卵袋外覆盖层和肩斑银鳞蛛卵袋内外覆盖层丝与典型的大壶状腺丝相比,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。在园蛛科的大腹园蛛^[34]、十字园蛛(*Araneus diadematus*)^[40]、悦目金蛛^[38]、横纹金蛛^[10]、橙色金蛛^[32]、摩鹿加云斑蛛^[9]、络新妇科的棒络新妇^[36,38]和球蛛科的黑寡妇(*Latrodectus hesperus*)^[17]的柱状腺丝纤维中也发生相似的氨基酸含量的变化。Vasanthavada 等^[22]和 Blasingame 等^[24]从黑寡妇卵袋与固定拖牵丝的黏性附着盘细丝中分别分离鉴定到了葡萄状腺丝心蛋白 AcSp1-like 与梨状腺的丝心蛋白 PyrSp1,并根据它们分别在葡萄状腺和梨状腺远远高于其他丝腺的 mRNA 转录量,为葡萄状腺和梨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。本文氨基酸组成与扫描电镜的结果表明,猴马蛛和肩斑银鳞蛛卵袋也可能含有葡萄状腺及梨状腺细丝。

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。通过计算

LC:SC 比值的方法已经用于预测丝蛋白结晶区与无定型区的相对含量^[40-41], 比值越大, 丝纤维的无定型非结晶相的含量就越大。猴马蛛卵袋外覆盖层和肩斑银鳞蛛卵袋内外覆盖层丝的 LC:SC 比值与悦目金蛛^[7]、横纹金蛛^[10]和棒络新妇^[8]的相似。与肩斑银鳞蛛和猴马蛛相比, 温室拟肥腹蛛卵袋丝中一些大侧链氨基酸如天冬氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸的含量都比较高, 而小侧链氨基酸如丝氨酸的含量比较低, 其大侧链氨基酸(LC):小侧链氨基酸(SC) = 1.37, 均比其他种类的大, 似乎表明其含有较多的无定型非结晶相。这些不同的 LC:SC 比值表明它们具有不同的蛋白二级结构与力学性能, 不同的氨基酸组成导致的蛋白二级结构与力学性能的变化是如何适应丝纤维各自功能的需求还有待深入研究。

温室拟肥腹蛛柱状腺丝的酸性、极性氨基酸和脯氨酸的含量都高于本研究的另外 2 种蜘蛛及文献报道过的蜘蛛^[7-10, 17, 32, 34, 36, 38, 40]。由于谷氨酸和脯氨酸对分子结构有重要作用, 谷氨酸为酸性氨基酸, 其侧基上的氨基和羧基使分子间的键合作用加强^[34]; 而脯氨酸的存在将有利于分子链形成类似于 β -转角的弹性螺旋状结构, 使纤维的弹性增大^[42]。虽然大侧链氨基酸含量较多, 将导致纤维的结晶度较低, 大量的极性氨基酸使分子间的作用力增强, 同时其氨基酸分布使纤维内的大分子链具有多种构象形式, 从而使这种低结晶度纤维具有高强度和高伸长率^[34, 37-38]。因此, 温室拟肥腹蛛卵袋丝似乎具有非常优良的力学性能, 这有待力学性能测试研究证实。

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] Austin A D. The function of spider egg sacs in relation to parasitoids and predators, with special reference to the Australian fauna. *Journal of Natural History*, 1985, 19(2): 359-376.
- [2] Hieber C S. The "insulation" layer in the cocoons of *Argiope aurantia* (Araneae: Araneidae). *Journal of Thermal Biology*, 1985, 10(3): 171-175.
- [3] Danks H V. The role of insect cocoons in cold conditions. *European Journal of Entomology*, 2004, 101(3): 433-437.
- [4] Turnbull A L. Ecology of the true spiders (Araneomorphae). *Annual Review of Entomology*, 1973, 18(1): 305-348.
- [5] Stubbs D G, Tillinghast E K, Townley M A, et al. Fibrous composite structure in a spider silk. *Naturwissenschaften*, 1992, 79(5): 231-234.
- [6] 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.
- [7] 蒋平, 肖永红, 周兵, 等. 悦目金蛛卵袋的结构与组成. *动物学报*, 2008, 54(5): 918-927.
- [8] 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.
- [9] 蒋平, 肖永红, 吕太勇, 等. 摩鹿加云斑蛛卵袋结构与纤维组成. *蛛形学报*, 2010, 19(2): 92-98.
- [10] 蒋平, 吕太勇, 肖永红, 等. 横纹金蛛卵袋结构与纤维组成. *动物学杂志*, 2011, 46(4): 92-101.
- [11] Kim K W. Dispersal behaviour in a subsocial spider: group conflict and the effect of food availability. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2000, 48(3): 182-187.
- [12] Kim K W, Kraff B, Choe J C. Cooperative prey capture by young subsocial spiders: I functional value. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2005, 59(1): 92-100.
- [13] Kim K W. Social facilitation of synchronized molting behavior in the spider *Amaurobius ferox* (Araneae, Amaurobiidae). *Journal of Insect Behavior*, 2001, 14(3): 401-409.
- [14] 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(2/3): 211-217.
- [15] Barghout J Y J, Czernuszka J T, Viney C. Multiaxial anisotropy of spider (*Araneus diadematus*) cocoon silk fibres. *Polymer*, 2001, 42(13): 5797-5800.
- [16] Tian M Z, Lewis R V. Molecular characterization and evolutionary study of spider tubuliform (egg case) silk protein. *Biochemistry*, 2005, 44(22): 8006-8012.
- [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*

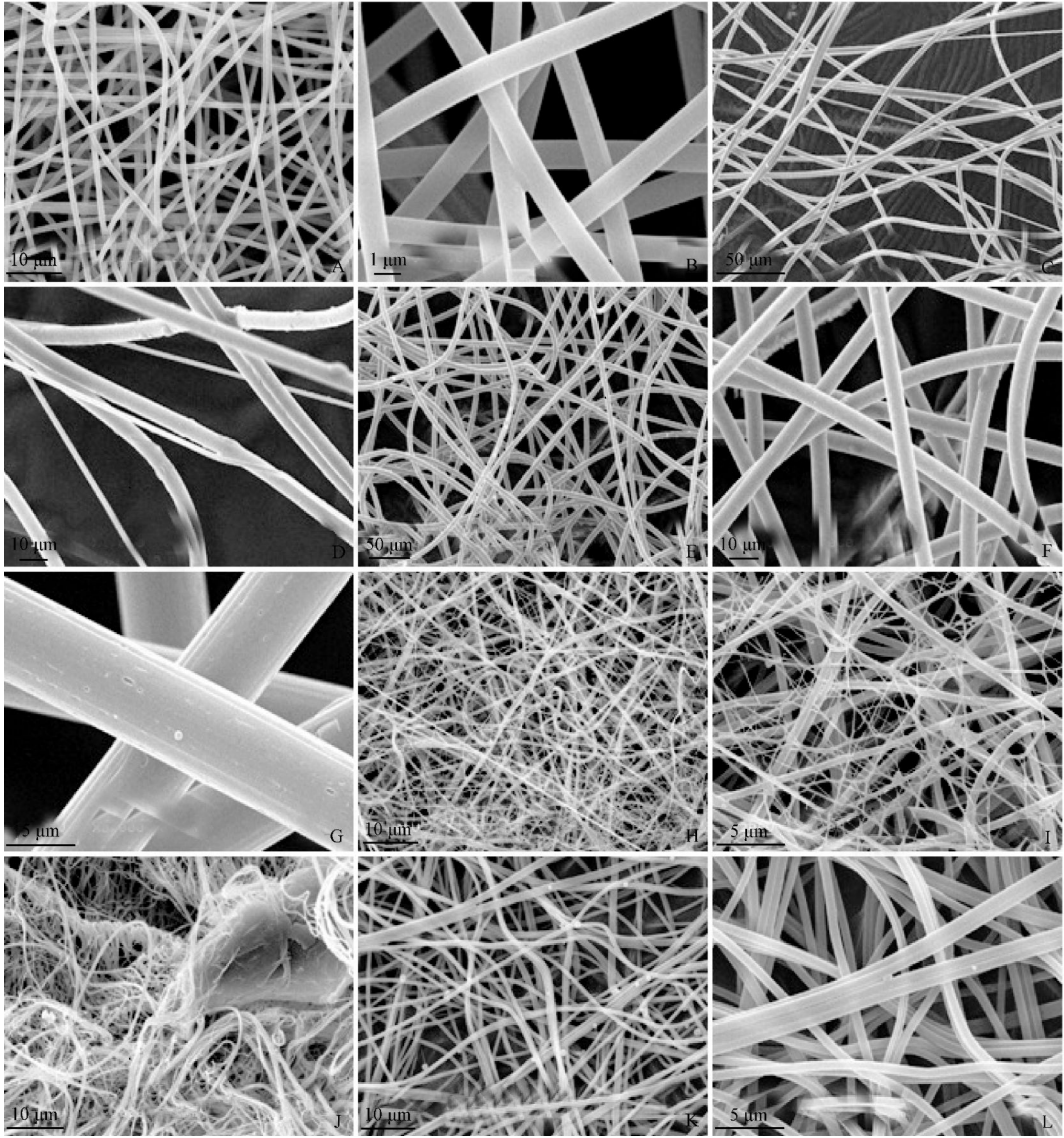
- Biological Macromolecules, 1999, 24(2/3): 103–108.
- [18] Garb J E, Hayashi C Y. Modular evolution of egg case silk genes across orb-weaving spider superfamilies. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2005, 102(32): 11379–11384.
- [19] Zhao A C, Zhao T F, Nakagaki K, et al. Novel molecular and mechanical properties of egg case silk from Wasp Spider, *Argiope bruennichi*. Biochemistry, 2006, 45(10): 3348–3356.
- [20] Hayashi C Y, Lewis R V. Evidence from flagelliform silk cDNA for the structural basis of elasticity and modular nature of spider silks. Journal of Molecular Biology, 1998, 275(5): 773–784.
- [21] 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. Molecular Biology and Evolution, 2004, 21(10): 1950–1959.
- [22] Vasanthavada K, Hu X Y, Falick A M, et al. Aciniform spidroin, a constituent of egg case sacs and wrapping silk fibers from the black widow spider *Latrodectus hesperus*. The Journal of Biological Chemistry, 2007, 282(48): 35088–35097.
- [23] Mattina C L, Reza R, Hu X Y, et al. Spider minor ampullate silk proteins are constituents of prey wrapping silk in the cob weaver *Latrodectus hesperus*. Biochemistry, 2008, 47(16): 4692–4700.
- [24] Blasingame E, Tuton-Blasingame T, Larkin L, et al. Pyriform spidroin 1, a novel member of the silk gene family that anchors dragline silk fibers in attachment discs of the black widow spider, *Latrodectus hesperus*. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(42): 29097–29108.
- [25] Hu X Y, Kohler K, Falick A M, et al. Spider egg case core fibers: trimeric complexes assembled from TuSp1, ECP-1, and ECP-2. Biochemistry, 2006, 45(11): 3506–3516.
- [26] Van Nimmen E, Gellynck K, Van Langenhove L, et al. The tensile properties of cocoon silk of the spider *Araneus diadematus*. Textile Research Journal, 2006, 76(8): 619–628.
- [27] Van Nimmen E, Gellynck K, Gheysens T, et al. Modeling of the stress-strain behavior of egg sac silk of the spider *Araneus diadematus*. The Journal of Arachnology, 2005, 33(2): 629–639.
- [28] 林冠伦, 钱贻隽. 十三种农田蜘蛛卵囊的识别. 昆虫天敌, 1981, 3(Suppl 1): 91–92.
- [29] Schimkewitsch W. Etude sur l'anatomie de l'Epeire. Annales Des Sciences Naturelles Aturelles-Zoology Et Biology Ani, 1884, 17: 1–94.
- [30] Sekiguchi K. Differences in the spinning organs between male and female adult spiders. Science Reports of the Tokyo Kyoiku Daigaku; Section B, 1955, 8: 23–32.
- [31] Gheysens T, Beladjal L, Gellynck K, et al. Egg sac structure of *Zygiella x-notata* (Arachnida, Araneidae). Journal of Arachnology, 2005, 33(2): 549–557.
- [32] Foradori M J, Kovoov 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(2): 218–226.
- [33] Moon M J. Fine structural analysis of the cocoon silk production in the garden spider, *Argiope aurantia*. Korean Journal of Biological Sciences, 2003, 7(1): 35–41.
- [34] 潘志娟, 李春萍, 刘敏, 等. 大腹圆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.
- [35] 潘志娟, 朱美男. 原子力显微镜下蚕丝及蜘蛛丝的微观结构. 材料科学与工程学报, 2005, 23(3): 365–368.
- [36] Jiang P, Guo C, Lv T Y, et al. Structure, composition and mechanical properties of the silk fibres of the egg case of the Joro spider, *Nephila clavata* (Araneae, Nephilidae). Journal of Biosciences, 2011, 36(5): 897–910.
- [37] Blackledge T A, Hayashi C Y. Silken toolkits: biomechanics of silk fibers spun by the orb web spider *Argiope argentata* (Fabricius 1775). Journal of Experimental Biology, 2006, 209(13): 2452–2461.
- [38] 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研究. 生物物理学报, 2010, 26(2): 149–163.
- [39] Hieber C S. The role of spider cocoons in controlling desiccation. Oecologia, 1992, 89(3): 442–448.
- [40] Anderson S O. Amino acid composition of spider silks. Comparative Biochemistry and Physiology, 1970, 35(3): 705–711.
- [41] Lombardi S J, Kaplan D L. The amino acid composition of major ampullate gland silk (dragline) of *Nephila clavipes* (Araneae, Tetragnathidae). Journal of Arachnology, 1990, 18(3): 297–306.
- [42] Savage K N, Gosline J M. The effect of proline on the network structure of major ampullate silks as inferred from their mechanical and optical properties. Journal of Experimental Biology, 2008, 211(12): 1937–1947.

蒋 平等: 3 种中型蜘蛛卵袋超微结构与纤维组成

图版 I

JIANG Ping *et al.* :Microstructure and Fibrous Constitute of Egg Cases of Three
Middle-size Spiders

Plate I



蜘蛛卵袋各层扫描电镜图

A ~ B: 温室希蛛卵袋外覆盖层; C ~ D: 肩斑银鳞蛛外覆盖层; E ~ G: 肩斑银鳞蛛内覆盖层; H ~ J 猴马蛛卵袋外覆盖层外侧面; K ~ L 猴马蛛卵袋外覆盖层内侧面。

The SEM morphologies of egg case cover of three spiders

A - B: Outer cover of egg case of *Parasteatoda tepidariorum*; C - D: Outer cover of egg case of *Leucauge blanda*; E - G: Inner cover of egg case of *L. blanda*; H - J: Outer face of outer cover of *Hippasa holmerae* egg case; K - L: Inner faces of outer cover of *H. holmerae* egg case.