

臺灣二〇〇六年國際科學展覽會

科 別：動物學

作 品 名 稱：人面蜘蛛藉調整絲基因表現及網結構促進捕食效率

得 獎 獎 項：第二名
美國正選代表:美國第 57 屆國際科技展覽會

學 校 / 作 者：國立臺灣師範大學附屬高級中學 趙依祈

作者簡介



小時候全家到郊外遊玩，邊郊遊邊在田野草叢中、山間樹林裏觀察小蝗虫，把玩可愛小蝴蝶；遇到獨角仙或其他易養的小動物，偶而會帶回家當寵物餵養；所以大自然的一切，對我來說既不陌生，也成了我的最愛；隨著年紀增長，從喜愛而產生好奇，因著好奇驅駛我想更多瞭解，想去探索的衝動，研究大自然成了我的興趣，成了我最大的娛樂。

摘要

前人研究顯示結網性蜘蛛會因環境中獵物組成的改變而改變其網結構。然而，除了結構之外，構成網的絲的物理性質與蜘蛛網的捕捉效率也應有密切之關連，但目前並無人探討蜘蛛是否會因獵物而調整絲之化學及物理性質。在本研究中，我以人面蜘蛛為材料，探討：(一)其在面對不同類型之獵物時是否調整其網之結構，絲之胺基酸組成和其物理性質；(二)所產生之改變是否能促進不同類型獵物的捕食效率；以及(三)是獵物之養份或振動刺激引起這些改變。我藉著操控獵物的養份及振動刺激將人面蜘蛛分成四個處理組，分別餵以活蟋蟀(C組)，活蒼蠅(F組)，死蟋蟀加蒼蠅振動刺激(Cd組)及死蒼蠅加蟋蟀振動刺激(Fd組)。在完成食控處理後比較各組間之網結構、絲胺基酸組成、絲物理性質、對不同獵物之留置能力以及振動訊號傳遞能力。實驗結果顯示 F 組之蜘蛛所結之網有較大的面積及較小的網目，並有較佳之蒼蠅留置力；然而此結構之改變卻會降低其振動訊號傳遞率。C 組之蜘蛛所結之網有較強之張力及較佳之蟋蟀留置力，而且其所產之曳絲有較高比例之 alanine、glycine 及 glutamine 並較佳之延伸度及韌度，以因應體型較大之獵物。上述結果顯示人面蜘蛛能調整網的結構、絲的蛋白質組成及物理性質來更有效率的捕捉不同類型的獵物。而由於上述各樣變數在 C 及 F 組間有顯著差異，而在獵物養份與振動訊號錯置的 Cd 與 Fd 組間無顯著差異，顯示此二項刺激需同時存在才能使人面蜘蛛在面對不同類型獵物時產生結網行為及絲基因表現之改變。

abstract

Previous studies showed that orb-weaving spiders may adjust web structures when encountering different types of prey. In addition to web structures, silk physical properties should also be critical in affecting the prey catching efficiency of webs. However, so far no one has studied whether spiders adjust silk chemical and physical properties when encountering different types of prey. In this study, I used the giant wood spider *Nephila pilipes* to investigate (1) would *N. pilipes* adjust web structures, silk amino acid composition and silk physical properties when encountering different types of prey (2) would such changes enhance the catching efficiency of different prey and (3) were such changes generated by prey chemical composition or vibration signals? To answer these questions, I manipulated prey chemical composition and vibration signals by assigning *N. pilipes* into the following four feeding groups: (1) living crickets (group C), (2) living flies (group F), (3) dead cricket but with fly vibration signals (group Cd) and (4) dead flies but with cricket vibration signals (group Fd). After the feeding treatments were completed the following variables were compared between the feeding groups: web structures, silk amino acid composition, silk physical properties, retention time of different prey and vibration signal transmission rate of webs. The results showed that the webs built by spiders fed with living flies exhibited larger area, smaller mesh and longer fly retention time. However, such structural changes also reduced the vibration signal transmission ability of the web. On the other hand, webs built by spiders fed with living crickets were stiffer and retained crickets longer. Moreover, their silks exhibited higher percentages of alanine, glycine, glutamine and consequently higher elasticity and strength to cope with the larger prey. These results demonstrated that spiders can adjust web structures, silk protein composition and silk physical properties to enhance the catching efficiency of different prey. While the aforementioned variables differed significantly between spiders in C and F groups, they did not vary between spiders in Cd and Fd groups, in which groups the prey chemical composition and vibration signals were decoupled. Such result suggested that prey chemical composition and vibration signal were both needed in generating changes in web building behavior and silk gene expression in spiders.

人面蜘蛛藉調整絲基因表現及網結構促進捕食效率

Giant wood spiders enhance hunting efficiency by adjusting
silk gene expression and web structures

壹、前言

蜘蛛網是研究動物工程最佳的材料，因為蜘蛛紡的絲雖纖細，但架構出的蜘蛛網卻能捕捉快速飛行的昆蟲。許多生物學家的研究發現蜘蛛會因不同外在刺激改變結網行爲。例如，蜘蛛會因過去捕捉獵物的經驗改變結網行爲。蜘蛛在捕捉及消化獵物時會利用與獵物接觸而得到的環境資訊在 24 小時內改變結網的型態、捕捉面積及絲總長度等(Tso, 1999；Venner et al., 2000)。周遭有獵物出現時，蜘蛛會提早結網，且網會較小，結網時間也縮短(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提高捕食效率(Higgins & Buskirk, 1992)。此外，鬼蜘蛛屬的 *Araneus diadematus* 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、網目會增大(Schneider, 1998)；如環境中有很多體型較小的獵物，蜘蛛則會結出網目較小的網(Sandoval, 1994; Watanabe, 2000)，而能有效的捕捉小型的飛行性昆蟲(Sandoval, 1994)。蜘蛛絲間的角度、距離及張力是蜘蛛用來感知獵物的因子，蜘蛛會隨著外在環境的不同調整這些因子(Wirth & Barth, 1992.)。前人的研究顯示，蜘蛛會因外在環境不同而改變網的結構，來調整對不同類型類物的捕食效率。例如，*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愈敏銳(Watanabe, 2000)。

蜘蛛除了會因連續攝取不同食物改變結網行爲外，最近研究亦顯示捕食不同獵物時也會改變絲胺基酸組成(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。而經由餵食實驗，發現餵食蒼蠅及蟋蟀的兩組蜘蛛，曳絲的胺基酸組成也有明顯差異，而這些差異反映出蜘蛛可能調整了不同曳絲基因的表現量。經由已往學者的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 β -sheet 之結晶構造(Gosline et al, 1999)，與絲之強度有關(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 β -turns 之螺旋構造，與絲具彈性有關

(Hayashi et al., 1999)。雖然這些研究是針對 *N. clavipes* 所進行，但 Tai 等人(2004)發現美洲的人面蜘蛛 *N. clavipes* 及台灣所產之人面蜘蛛 *N. pilipes* 的 MaSp1 序列及主要胺基酸極相似。結圓網蜘蛛若能調整 MaSp1 及 MaSp2 兩種基因產物之比例，導致因胺基酸組成不同而有不同之物理性質，便能在環境中取得最佳的資源(Craig et al. 2000)。

其次，蜘蛛的視覺並不靈敏，其主要藉由偵測網的不同振動，而感受其環境刺激。Boys(1880)發現蜘蛛會去攻擊在網上振動的叉子；之後 Burgess(1979)使用不同頻率的振動，觸 *Mallos gregalis* 所結之網，發現蜘蛛會有各種不同的行為反應。Masters 和 Markl 在 1981 年，藉由非接觸式的測量方法，分析出不同傳遞模式行進波的物理性質，發現不同波的振盪模式與蜘蛛行為確有極大的關聯性。Landolf 和 Barth (1996)更進一步藉由 Masters 非接觸式的測量方法，分析網上的振動，推斷美洲的人面蜘蛛(*N. clavipes*)係利用振動的訊號來辨別獵物在網上所在之位置。另外，1971 年 Robinson 及 Mirick 發現人面蜘蛛(*N. clavipes*)捕獵的過程中有扯網行為。Klärner 和 Barth(1982)大膽假設蜘蛛係藉扯網產生的振動以偵查獵物，並且觀察到蜘蛛利用此方法甚至可找出 0.05 克的獵物。

雖然生物學家經由研究確證在不同覓食情況下，蜘蛛會改變網的結構及形質，也會改變曳絲胺基酸組成，另一方面某些學者也證實蜘蛛的視覺不佳，其捕食係藉偵測網上的不同振動刺激，網的不同振動訊號成為牠明瞭周遭環境的介面。然而，蜘蛛因覓食情況改變而調整網的結構、形質，甚至改變曳絲胺基酸組成的成因為何？是因為獵物的養份不同所導致；或是獵物在網上掙扎所產生的不同振動刺激使然；或是兩者均有關聯？這個疑點目前尚無相關的研究。再者，網的結構及形質改變真能影響蜘蛛對不同類型獵物的捕食效率嗎？蜘蛛攝食不同食物既然能改變絲的化學組成，是否連帶改變其物理性質如堅韌度、彈性呢？對於上述問題，目前尚無相關的研究結果。因此本研究試圖藉由餵食人面蜘蛛不同類型的獵物(蒼蠅、蟋蟀)，操控其獵物的養份組成及振動刺激；分析在各處理情況下蜘蛛所結網的拉力、形值、曳絲胺基酸組成、絲的物理性質，以及不同網對於獵物的捕食效率。希望藉由本研究之結果來整體探討蜘蛛是否會在分子層面調整絲基因之表現，並在行為層面改變網的結構，來更有效率的促進對不同類型獵物的捕捉效率。

貳、研究目的

結圓網蜘蛛連續獵食同一種獵物，除了會調整其網結構及形值，如網目、縱絲數、網面積、絲總長外，亦會改變絲的化學成分即胺基酸組成，業由學者設計實驗一一予以證實。惟對於攝取不同食物會改變網形值、絲物理性質及化學成分，係因獵物養份或刺激所造成；另外網結構及絲物理性質等之改變確否能促進捕食效率，目前並無相關研究結果發表。本研究將針對前人所未涉及的問題，以人面蜘蛛為實驗對象，進行一系列操控實驗，進行以下問題之探討：

一、人面蜘蛛在捕食不同類型獵物的情況下，是因獵物養份，或是由於獵物之振動刺激，或是兩者而導致下列網形值及結構的改變：

- 1.網張力
- 2.網縱絲數及網目大小
- 3.捕捉面積

二、人面蜘蛛在捕食不同類型獵物的情況下，是因獵物養份，或是由於獵物之振動刺激，或是兩者而導致下列蜘蛛絲性質之改變：

- 1.絲胺基酸組成
- 2.絲直徑
- 3.伸長率、楊氏係數及韌性

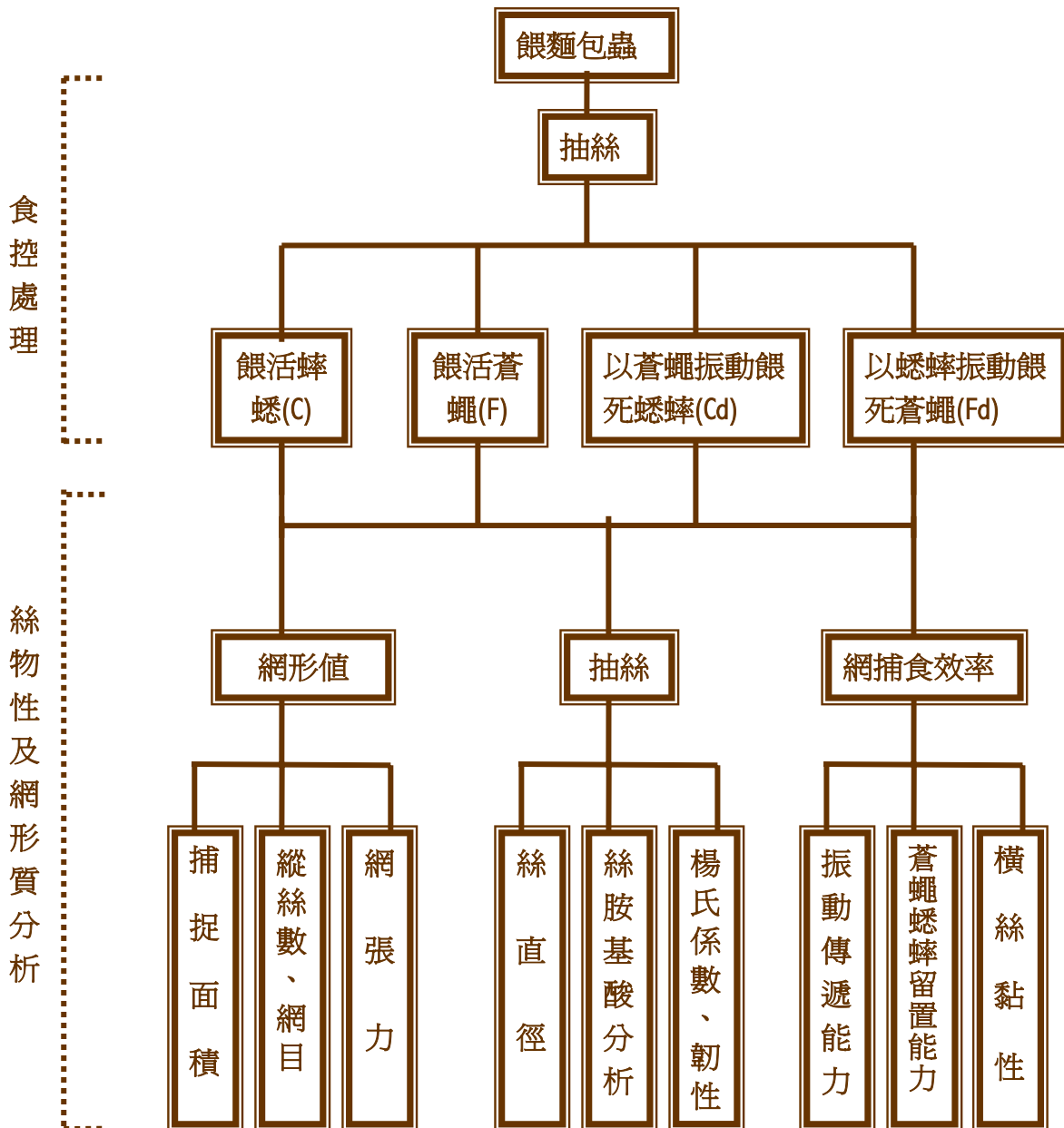
三、人面蜘蛛在捕食不同類型獵物的情況下，是因獵物養份，或是由於獵物之振動刺激，或是兩者而導致下列捕食效率的改變：

- 1.振動傳遞能力
- 2.蒼蠅、蟋蟀留置能力
- 3.橫絲黏性

參、研究材料與方法

本研究藉由操控獵物養份及其振動訊息觀察蜘蛛有無產出不同的網及絲，連同其捕食效率的變化，綜合探討獵物之養份與刺激與各項量測變數間的關聯性，藉以釐清造成網、絲及捕食效率改變的真正成因。由於實驗所採取邏輯及工具相當複雜，相關之變項項目繁多，為期化繁入簡，先行歸納本研究之實驗流程如圖一，其次針對各項研究子項一一敘明方法如下：

一、 實驗流程



圖一：實驗流程圖。

二、實驗分組

先前學者的研究指出，蜘蛛其結網行為會因連續攝取某一特定獵物，而調整其網架構、網形值，以及絲的化學成分。然而網架構形值甚至絲化學成分的改變是獵物養分造成的嗎？還是獵物在網上造成的特殊振動促發的？或是兩者均有影響？為回答上述問題，本研究在實驗前先預設四個食控分組如下：

(一)食控分組

組別	C 組	F 組	Cd 組	Fd 組
處理	餵食活蟋蟀	餵食活蒼蠅	以蒼蠅振動刺激，餵死蟋蟀	以蟋蟀振動刺激，餵死蒼蠅
備註：Cd 及 Fd 兩組分別先以蒼蠅或蟋蟀振動吸引蜘蛛，待其衝來捕食，再將死蒼蠅或死蟋蟀置於其前由其獵食(蜘蛛視力不佳只能感測網上振動卻無法分辨眼前物體)。				

(二)實驗設計

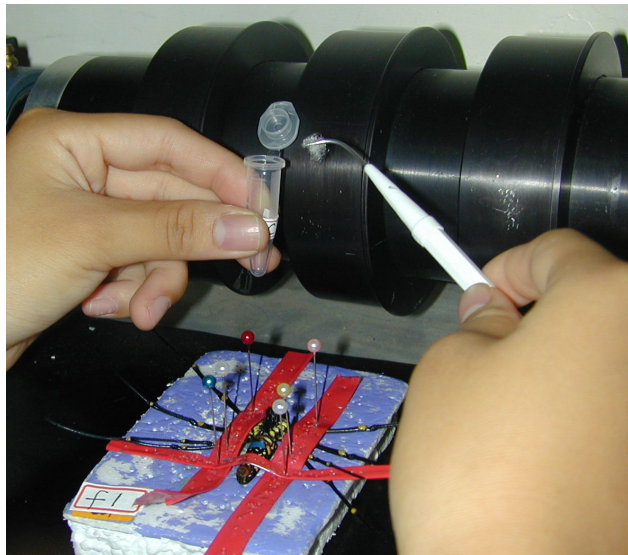
C vs F 組：即蜘蛛所攝取之養分及刺激均不相同的分組。

Cd vs Fd 組：即蜘蛛所攝取之養分及刺激相互對調之分組

影響因素 \ 食控分組	C	F	Cd	Fd
蜘蛛所攝食之養分	蟋蟀	蒼蠅	蟋蟀	蒼蠅
蜘蛛所感受之刺激	蟋蟀	蒼蠅	蒼蠅	蟋蟀
可能出現之結果及代表意義：				
1.如果養分之影響大於刺激的影響，則 C vs F 組與 Cd vs Fd 組結果應相同(例如某變數之值 $C > F$ ，而 $Cd > Fd$)。				
2.如果刺激之影響大於養分的影響，則 C vs F 組與 Cd vs Fd 組之結果應相反(例如某變數之值 $C > F$ ，而 $Cd < Fd$)。				
3.如果養分與刺激影響相同，均扮演重要角色，缺一不可；則 C vs F 組有明顯差異而 Cd vs Fd 組應無明顯差異。(如某一變數之值 $C > F$ ，但 $Cd = Fd$)				

三、餵食與抽絲

實驗所使用的人面蜘蛛(*Nephila pilipes* Fabricius 1793)是從基隆情人湖採集而來，人面雌成蛛飼養於實驗室內(以等間距釘置木條供作結網支架)，任由其自由爬行。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蜘蛛達到類似之營養狀態，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，蜘蛛分為四組，分別為餵食活蟋蟀、活蒼蠅、死蟋蟀配合蒼蠅振動及死蒼蠅配合蟋蟀振動，各計 15 隻。每結一個新的完整的網才餵食一次，共餵食 7 次，且蟋蟀及蒼蠅組皆餵食相等重量，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。四組分別餵食完畢後，以抽絲機抽曳絲進行胺基酸組成之分析。

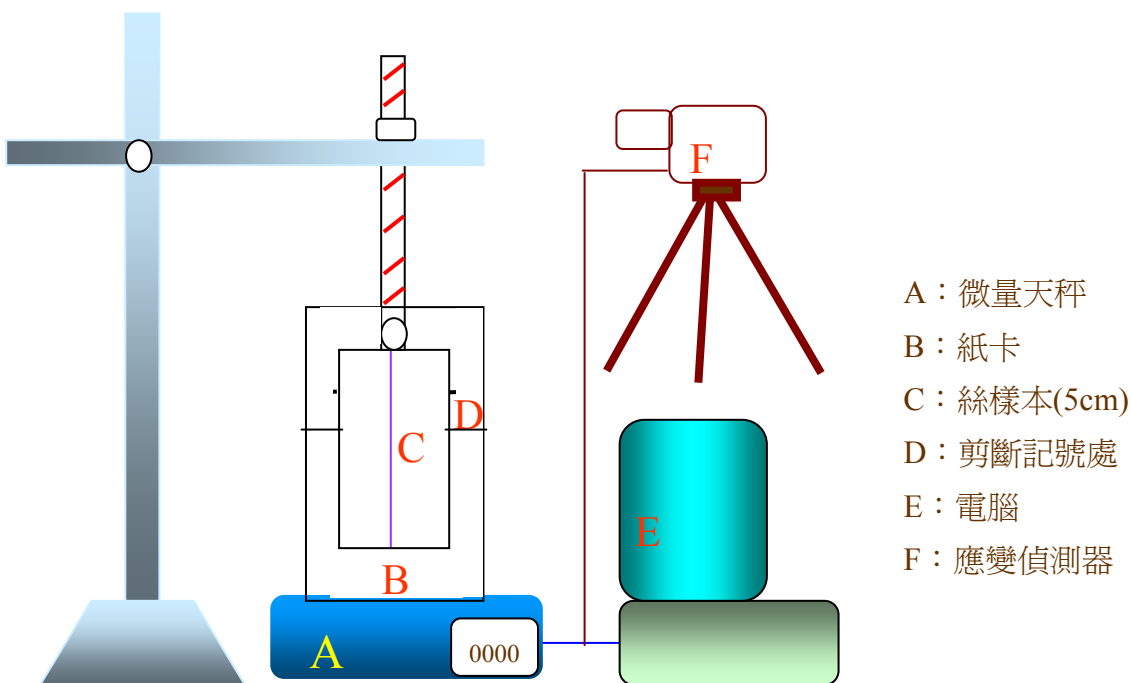


圖二：解剖顯微鏡下人面蜘蛛的六個絲疣。圖三：利用抽絲機抽取曳絲並存放於試管中。

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，以三條 6×1.5 cm 的紙條及大頭針，固定蜘蛛的腳及腹部於 $10 \times 7 \times 2$ (cm³)之保麗龍板，於解剖顯微鏡下取絲，蜘蛛的絲疣分前中後各 2 個，如圖二，我們將曳絲以外的絲以膠帶黏住，避免其沾附污染所欲抽取的曳絲，再以鑷子取蜘蛛的二個前絲疣所分泌之二條曳絲，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.(Knight et al,2000)，蜘蛛絲存放於 1.5ml 試管中保存，如圖三。

四、 絲物理性質測量

完成餵食程序的各組蜘蛛，在抽絲前、後，我們以人工方式拉取單根曳絲，將單根曳絲各 10 根用紙膠帶黏貼在紙卡上保存，以進行單絲之強伸度量測，以比較各食控組蜘蛛所產生之絲的物理性質是否有所不同，其測量裝置如圖四所示。在本部分研究中，取抽絲之前及抽絲之後的曳絲是爲了比較抽絲前、後絲的物理性質是否有差異，若無差異表示藉由所抽之絲獲得之胺基酸組可充份解釋所抽單絲之物理特性。絲的物理特性量測包含絲的直徑、應變 (strain)、應力(stress)(力量/截面積)，及楊氏係數(modulus)(應力-應變曲線之斜率)，應力愈高表示物質的強度愈高；應變愈高表示物質的延伸性愈好、而 modulus 愈大表示物質強度愈高 (gosline et al., 1999)。



圖四：測量單絲應力及應變之裝置圖。

實驗操作說明：

本裝置之操作方法，係將黏貼單絲之紙卡(B)置於微量秤(A)上，以剪刀將紙卡 D 處剪斷後，上半邊紙卡以每分鐘 1.7cm/min 速度向上拉伸，此時，絲亦會隨同拉伸，過程中雖無法將下半部紙卡上拉，惟其拉力會使下半部紙卡重量減輕，所減輕之重量乘以重力加速度 (9.8kg/m^2) 再除以絲之截面積即爲絲單位面積所承受之力，即「應力」。至於紙卡上升長度即爲「應變」。拉伸過程中以攝影機同時紀錄微量秤刻度及紙卡上升長度，並於電腦中 (E) 將所求得之應力與應變結合畫一曲線，即爲「應力-應變曲線」，找出此曲線的斜率即爲「楊

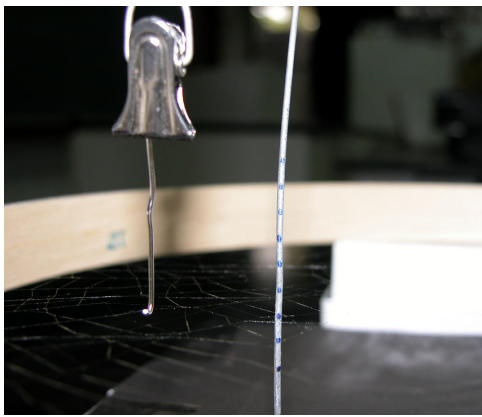
氏係數 (modulus)」,再將此曲線予以積分,即得出「韌度」,也就是絲在斷裂前所能承受之總斷裂能量。

五、網張力之測量

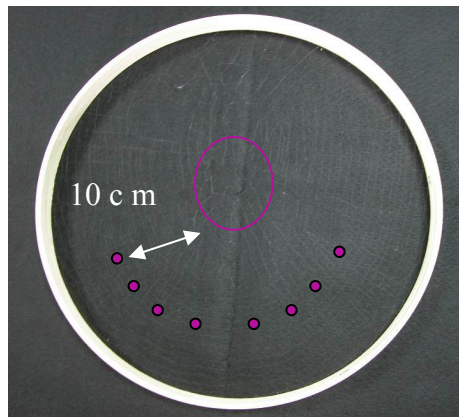
蜘蛛在完成餵食處理後所結的第二個網進行網張力的測量。首先利用直徑 30cm 的兩個圓形木框,貼上雙面膠,將網絲黏著於兩木框中間合上後,用香將蜘蛛絲燒斷取下。取下之每個網選定 8 根縱絲作張力的量測如圖五(c)。,縱絲有高的強度及延展性,為網吸收撞擊力的主要架構(Kohler & Vollrath, 1995)。張力量測的方式為將一實驗夾綁於顯微鏡上,將準確至 0.1g 之彈簧秤夾於實驗夾上,彈簧秤下夾著由鐵絲做成的小勾子,將勾子勾於所要測張力的縱絲上,絲旁以一畫有刻度的鐵絲插於保麗龍板上,如此便可讀取刻度,利用顯微鏡之粗調節輪,固定彈簧秤上升速度,將彈簧秤勾住絲往上拉,直到高為 3cm 便停止,如圖五(a)(b)所示。因為人面蜘蛛的絲在延伸 20% 限度內不會有結構性的改變,先前已量測每根絲的平均長度,計算出伸長 3cm 時,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,實驗所取的網,其上半部的縱絲較短,不適合做張力的量測,且人面蜘蛛的網下半部較常被使用,蜘蛛往網的下半部的跑速度比往上半部跑快(Rhisiart & Vollrath, 1994),而且上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張力。



圖五(a)：顯微鏡轉軸帶動彈簧秤上下移動。



圖五(b)：利用鐵勾將縱絲拉至一定高度以測量網之張力。



圖五(c)：固定於本框上之人面蜘蛛圓圈所示為張力量測點。

六、網形值測量

取網進行網張力量測之前，先紀錄完整之網，從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、及上下左右四個方向的橫絲數。之後計算網的捕捉面積、絲的總長度、網目大小，以比較不同食控下蜘蛛是否改變網的形值，以適應不同體型及振動之獵物。

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計算公式。

$$1、\text{捕捉面積公式：}\left[\frac{1}{2}\pi r_{au}^2 - \frac{1}{2}\pi(Hr_u)^2\right] + \left[\frac{1}{2}\pi r_{al}^2 - \frac{1}{2}\pi(Hr_l)^2\right]$$

$$r_{au} = \frac{r_u + \frac{d_h}{2}}{2} \qquad r_{al} = \frac{r_l + \frac{d_h}{2}}{2}$$

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

3、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

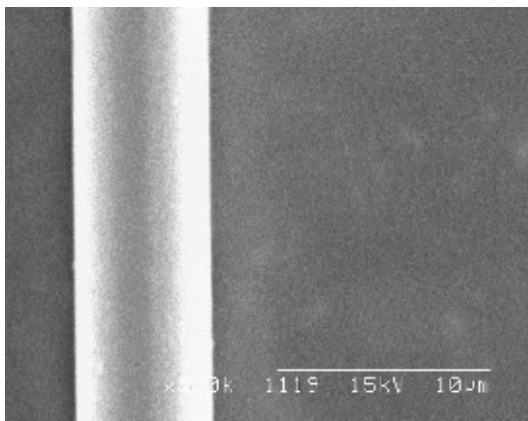
$\bar{x} R_{hub}$ 為 hub 的平均半徑

$\bar{x} \# \text{spiral}$ 為平均橫絲數

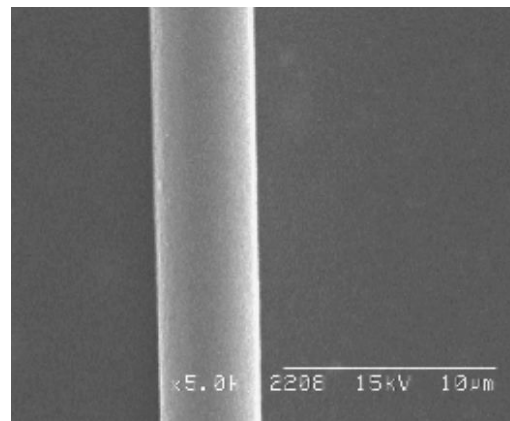
$\bar{x} \# \text{radii}$ 為縱絲數。

七、絲直徑之量測

用木框取下之網在完成網張力的量測後，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* 的研究中，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-2400 掃描式電子顯微鏡觀測絲直徑。



圖六(a)：以掃描式電子顯微鏡拍攝之
餵食蟋蟀(C)組單絲直徑 4.3
 μm ，放大 5000 倍。



圖六(b)：以掃描式電子顯微鏡拍攝之餵
食蒼蠅(F)組單絲直徑 2.82 μm
放大 5000 倍。

八、網傳遞振動能力測量

本部分操作目的，為瞭解食控後蜘蛛所結不同形值的網對於振動訊號的傳遞能力是否有所差異。我利用以下二項變數來進行網傳遞能力的比較；

- 1.振動強度(振幅)隨傳遞距離的增長而衰減的情形。
- 2.蜘蛛扯網(用以感知獵物存在的機制)後產生阻尼週期的大小變化(代表蜘蛛對獵物存在的感知速度)。

為能比較振動在網上衰減情形，設計以下的裝置，如圖七所示。

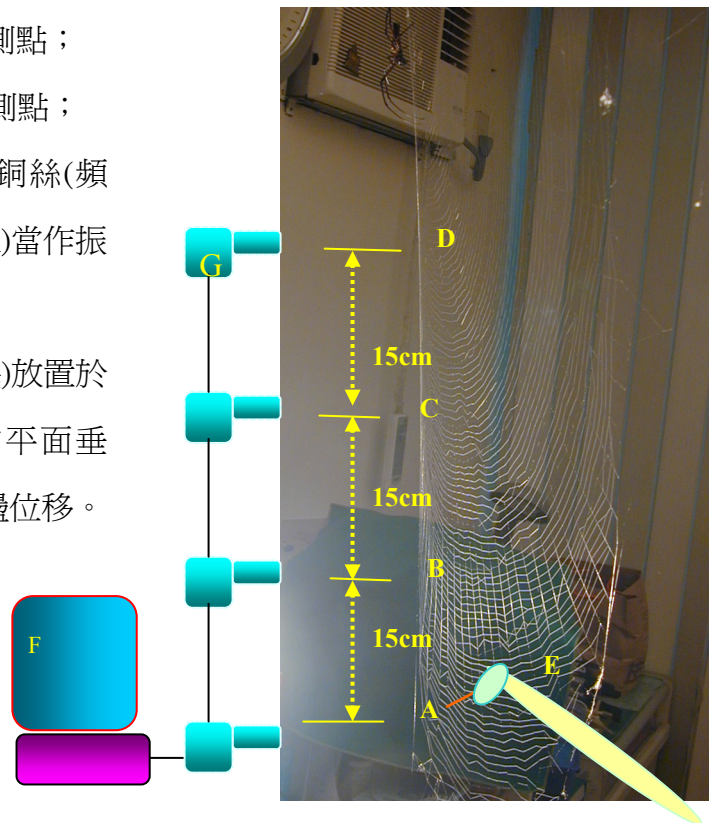
(一)振動衰減率量測裝置：

1.相關配置說明：

- A：表振源所在之處；
- B：表距振源 15 cm 觀測點；
- C：表距振源 30 cm 觀測點；
- D：表距振源 45 cm 觀測點；

2.使用電動按摩棒外接銅絲(頻率 66Hz，振幅 0.6 cm)當作振源，觸碰 A 點。

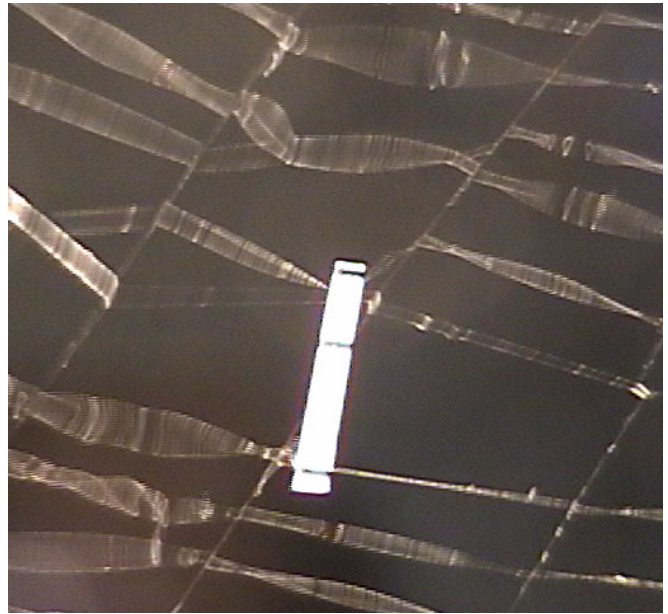
3.四個偵測器(D8 攝影機)放置於各觀測點前並與網的平面垂直，同時紀錄絲的振盪位移。



圖七：人面蜘蛛網振動衰減率量測圖示。
A、B、C、D 為觀測點，E 為 66Hz 的電動按摩棒，F 為電腦，G 為偵測器。

※振動衰減率量測說明：

由於絲實在太細，根本難以觀察並偵測，又網的承載力僅及數克，實在無法直接在網上架設接觸式測振儀器，因此，以往學者均使用非接觸式方法來測量網振動的相關訊息，只是所使用的儀器均為高貴光電儀器。本實驗乃使用不同方法，即影像處理方式來分析，原來曳絲雖然纖細，卻會反光，其次因有橫絲與其交叉，且橫絲有粘珠(粘珠更易反光)，



圖八：人面蜘蛛網振動衰減率實驗圖示。A 為 1 公分長參考指標；B 為放射絲(縱絲) C 為粘性絲(橫絲)；D 為縱絲之振幅。

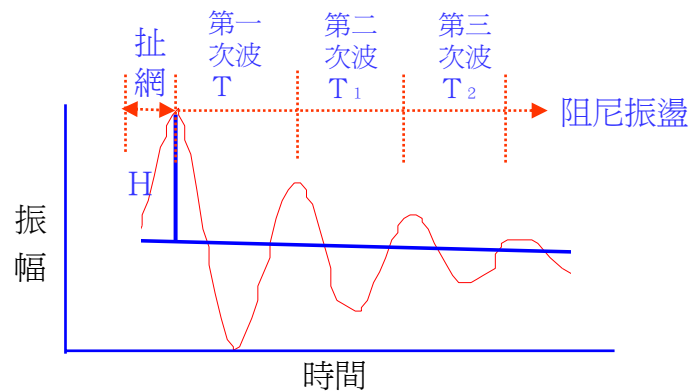
藉由巧妙設計燈光的照射方向，即可清楚以肉眼觀察縱波之振動，如圖八。

惟要產生以上之影像，需為高頻模式振動，係因攝影機每秒能攝取三十張影像，如果振動速度够快，則攝影機即能攝取其殘影即托曳尾影如上，粘性絲根部即靠近放射絲處之殘影寬度就是放射絲縱波振動之振幅。將影像截取後以特殊影像處理軟體 Video Point 即可計算其振幅大小。此種方法成本低廉，操作簡單又快速。

(二) 阻尼週期之量測

當獵物無明顯掙扎時，蜘蛛會有扯網行爲，且邊走邊扯網，顯而易見，已藉扯網所產生的振盪來偵測獵物存在及其所在位置(趙及 趙, 2004)。本部份研究比較不同處理組之網對於扯網後所產生之連續性第一次振盪，即阻尼振盪之週期變化，以瞭解蜘蛛對獵物存在感知速度之快慢。阻尼週期(T)定義如下：

T 表示第一次(阻尼)振盪週期，該週期為人面蜘蛛扯網後感知(等待)阻尼回饋振盪的時間，當 T 值越大大，表示其等待時間越長，獵物距離越遠。反之，T 值越小，表示獵物越近。藉 T 值大小，蜘蛛可感知獵物的遠近，如圖九所示。



圖九：阻尼週期示意圖。

1. 相關配置說明：

O：表平行於放射絲施力之振源；

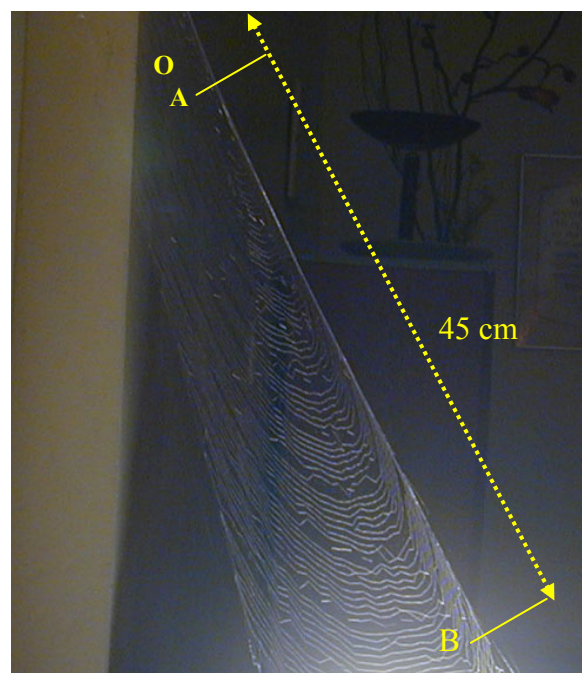
A：表觀測點；

B：表距虛擬振源 45 cm 之虛擬獵物；

2. 單脈衝振盪器振幅固定 1.5 cm 頻率 10Hz，施加縱波於 O 點。

3. 檢測器放置觀測點前並同時垂直於網的平面，紀錄絲的振盪位移，如圖十。

4. 電腦分析出不同距離的虛擬獵物縱波，比較其週期的變化。



圖十：人面蜘蛛阻尼振盪週期實驗圖示。

A 為觀測點；B 為振源處。

九、獵物留置時間之量測：

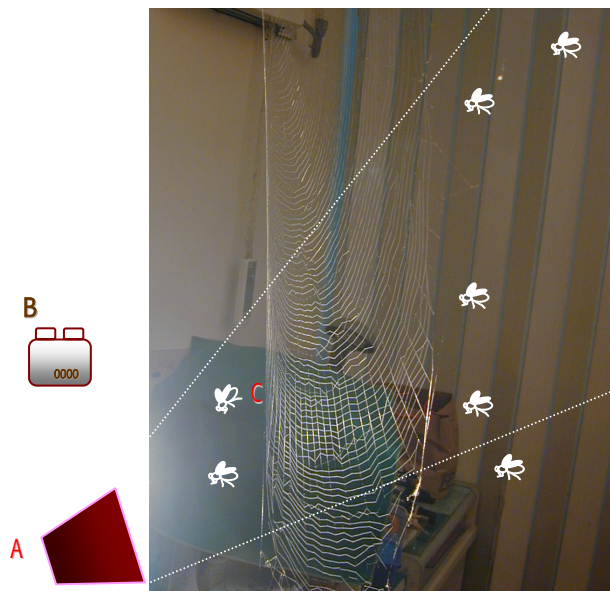
本部份研究比較不同食控後，蜘蛛網對於特定獵物留置能力，探討蜘蛛在捕食不同類型獵物時是否會有捕食效率之改變。

(一)蒼蠅留置時間實驗：

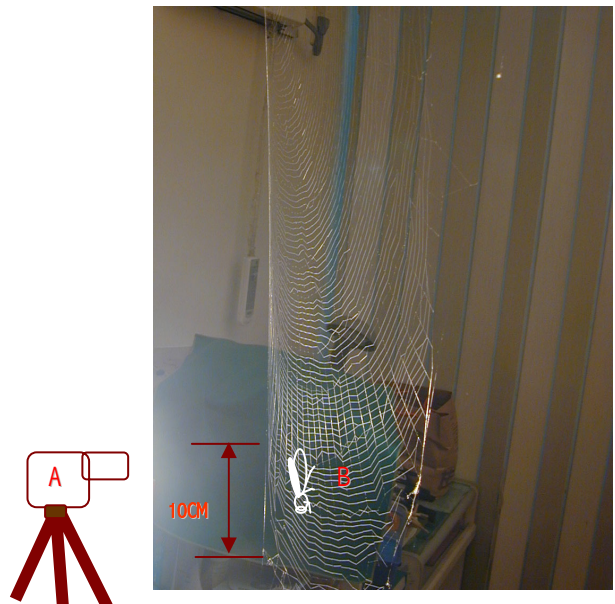
由於蒼蠅有向光性，在黑夜時間將強光置於網下方角落後，放出蒼蠅自由飛翔，蒼蠅會循光向網衝撞，當發現被網絆住時，以碼錶計算其絆住的時間，計算時間最高以 20 秒為限，因為留置網上 20 秒過後，表示已被蜘蛛捕食了，如圖十一所示。

(二)蟋蟀留置時間實驗：

將蟋蟀直接置於網下方，距網邊二十公分處，再以攝影機紀錄其留置在網上掙扎情形，因蟋蟀掙扎乃是斷續的，在其掙脫前合計其掙扎時間，計算時間最高以 20 秒為限，因為留置網上 20 秒過後，表示已被蜘蛛捕食了，如圖十二所示。



圖十一：人面蜘蛛網蒼蠅留置時間量測示意圖。A為探照燈；B為碼錶；C為蒼蠅。

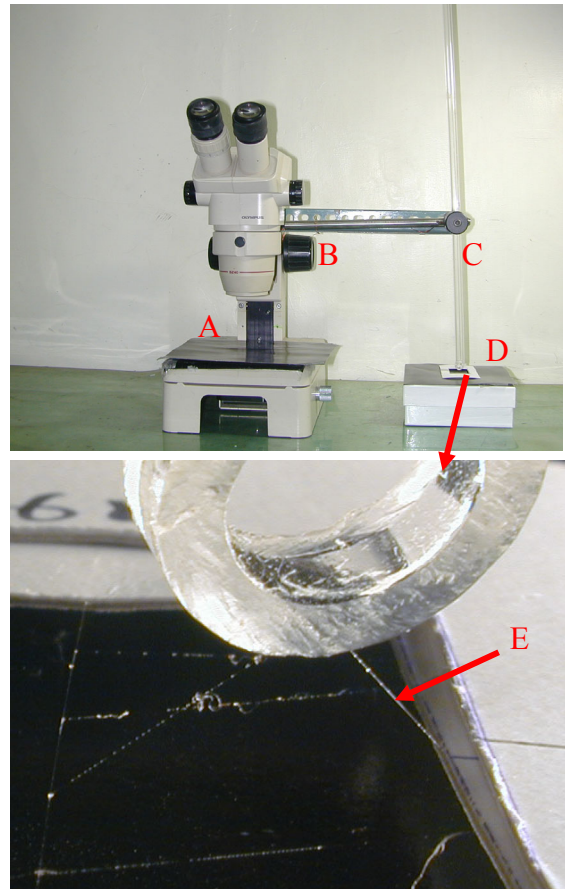


圖十二：人面蜘蛛網蟋蟀留置時間量測示意圖。A為攝影機；B為蟋蟀。

(三)橫絲黏性之量測：

網之捕食能力除了需其縱絲有強的彈性、剛度及韌性以架構出堅強結構承受昆蟲衝撞及重力外，也需有橫絲超強的黏著力來配合，方能構成完美的陷阱藉以捕獵。

本部份研究比較橫絲之黏性在不同處理組之間是否有明顯之差異，其裝置如圖十三所示。透明圈為切割下來的壓克力管(其表面已經潤滑劑擦拭)，黏於細管端點，該細管並連於顯微鏡轉軸。將透明圈輕觸橫絲後，藉由粗調節輪可固定透明圈的上上升速度，拉至橫絲自然脫離透明圈為止；紀錄橫絲被透明圈拉引的最大高度作為其黏性之代表。



圖十三：人面蜘蛛橫絲黏性量測裝置圖。

A為顯微鏡；B為粗調節輪；C為壓克力長管；D為壓克力透明圈；E為人面蜘蛛橫絲。

十、曳絲胺基酸組成分析

將不同食控後的絲利用抽絲機收集後，先稱重再浸於 HFIP (hexafluoro-isopropanol)溶液中，每毫克絲以 500 μ l HFIP 進行溶解。絲溶解後，首先小心檢查是否有懸浮顆粒，之後搖盪至絲蛋白質完全被溶解。絲樣本乃利用清華大學化學系貴重儀器中心之反向 HPLC 來分析。溶解的絲樣本，首先在 110°C 溫度下把它晾乾，最後放在 Waters PICO. TAG 胺基酸分析系統，由程式去分離波峰，並計算每一個波峰的面積，求得總面積後，再計算五種曳絲主要胺基酸 alanine、proline、glutamine、serine 及 glycin 的面積；各個胺基酸面積與總面積之比即為各該胺基酸之比例。

十一、統計方法

本研究利用 SYSTAT(9.0)軟體進行統計分析。以共變數分析 ANCOVA(Analysis of Covariance)比較不同餵食狀況下網的各樣網形值，如縱絲數、網目大小、網張力，在不同處理組間是否有差異，我則以蜘蛛之體長作為共變數。而以 MANOVA(Multivariate Analysis of Variance)分析不同餵食下絲的各項物理性質如絲直徑、應力、應變、楊氏係數是否有差異，以及餵食不同昆蟲之蜘蛛所產之曳絲的胺基酸組成分析是否有所差異。因為上述絲物理性質及胺基酸組成之間並非獨立之變數，故利用 MANOVA 進行分析。

肆、研究結果

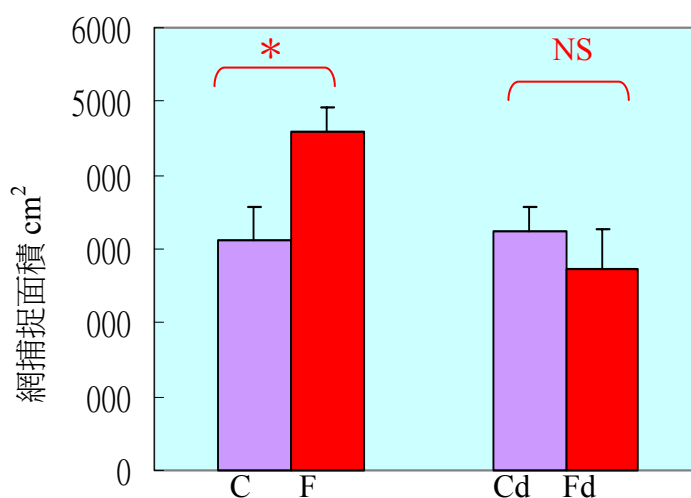
蜘蛛網的形值諸如網面積、網目及絲的相關物性，如絲直徑、承載力、剛硬度等，可能會隨著成熟度(年齡)而增大，而蜘蛛的成熟度又與體長成正比，亦即體長會隨著年齡而增大，為避免因樣本成熟度之不同而造成實驗結果誤差，本實驗各對照組儘量選養體長相近的蜘蛛。利用 ANOVA test 比較各實驗組蜘蛛體長之結果顯示 C 組與 F 組間以及 Cd 組與 Fd 組之間均無體長上之差異(C vs F, $F = 3.362$, $P = 0.082$; Cd vs Fd, $F = 1.847$, $P = 0.189$)。因此，以下各項因變數之統計結果應不致是因各實驗組間蜘蛛之體長有所差異而導致。

一、不同食控處理組蜘蛛所構築網之形值：

蜘蛛網不僅是結圓網蜘蛛感知周遭環境的主要憑藉，在其捕獵過程中，網更是制服獵物的重要工具。本部份實驗探討蜘蛛在連續捕獵某一特定獵物之後，是否能調整捕食策略以適應食物變化，改變網的相關形值及架構。

(一)捕捉面積

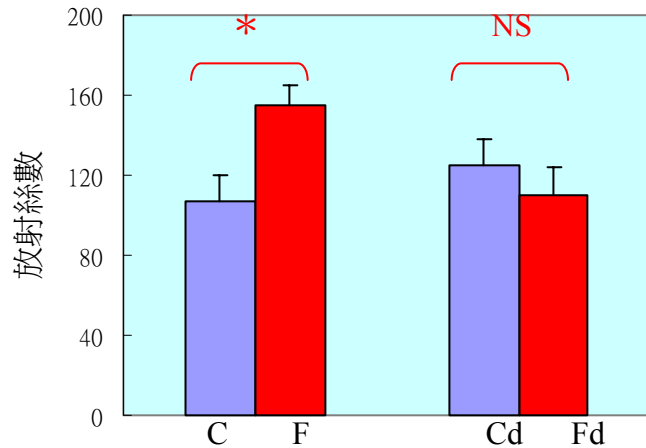
餵食蒼蠅組人面蜘蛛所結網的捕捉面積顯著大於餵食蟋蟀組，前者約為後者的 1.5 倍($F = 8.485$, $P = 0.009$)。而 Cd 組與 F 組間則無顯著差異($F = 0.167$, $P = 0.687$)(圖十四)。



圖十四：不同食控處理組之捕捉網面積平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(二)放射絲數：

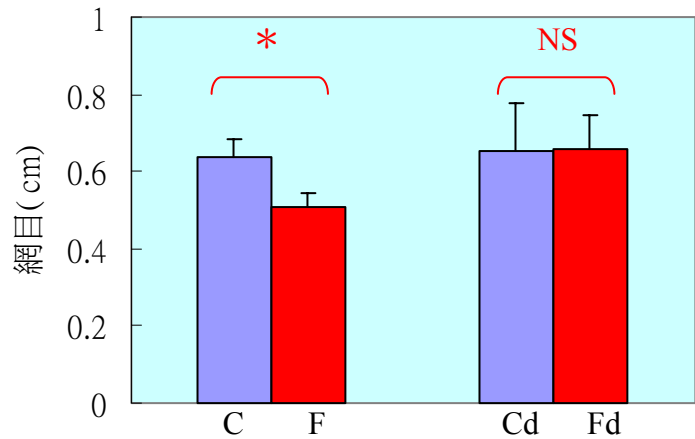
餵食蒼蠅組人面蜘蛛所結網的放射絲數明顯大於餵食蟋蟀組($F = 5.948$, $P = 0.025$)前者比後者大了將近 50%。而 Cd 組與 Fd 組間則沒有顯著差異($F = 0.999$, $P = 0.330$)(圖十五)。



圖十五：不同食控處理組之放射絲數目平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(三)網目大小：

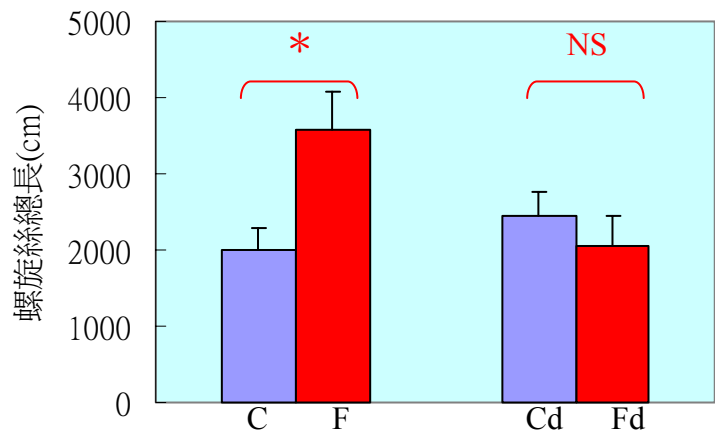
餵食蟋蟀組人面蜘蛛所結網的網目明顯大於餵食蒼蠅組，約大於 20.44%($F = 4.959$, $P = 0.038$)，而 Cd vs Fd 組沒有顯著差異($F = 0.066$, $P = 0.800$)(圖十六)。



圖十六：不同食控處理組之網目平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(四)螺旋絲總長度：

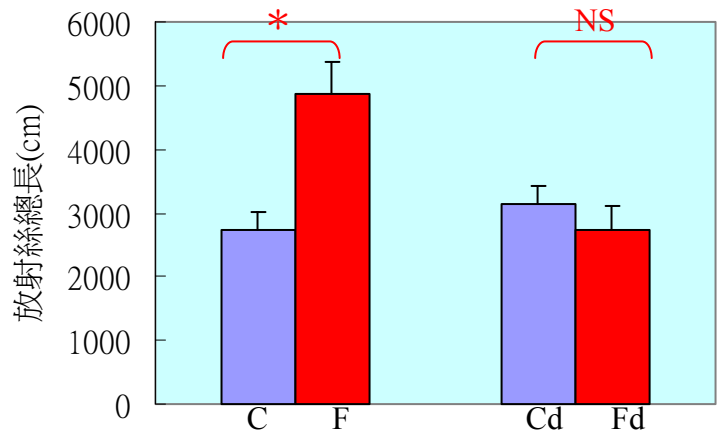
餵食蒼蠅組人面蜘蛛所結網的螺旋絲總長度明顯大於餵食蟋蟀組($F = 5.506$, $P = 0.030$)，前者比後者多了 78%。而 Cd 組與 Fd 組間則沒有顯著差異($F = 0.492$, $P = 0.491$)(圖十七)。



圖十七：不同食控處理組之螺旋絲總長度平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(五) 放射絲總長度：

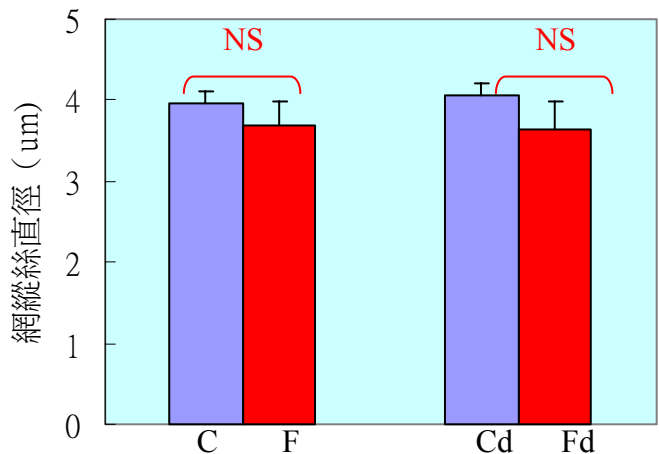
餵食蒼蠅組人面蜘蛛所結網的放射絲總長度顯著大於餵食蟋蟀組。(F = 8.237, P = 0.010)前者約為後者的 1.8 倍；而 Cd 組與 Fd 組之間則沒有顯著差異(F = 0.311, P = 0.584)(圖十八)。



圖十八：不同食控處理組之放射絲總長度平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(六) 網上放射絲直徑：

由餵食蟋蟀組人面蜘蛛所結網所取下之放射絲直徑與餵食蒼蠅組無明顯差異(F = 0.394, P = 0.538)；而 Cd 組與 Fd 組之間也沒有顯著差異(F = 0.878, P = 0.360)(圖十九)。

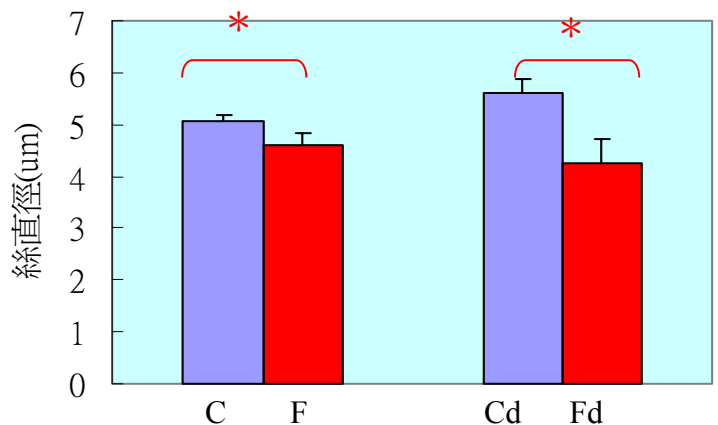


圖十九：不同食控處理組之網上放射絲直徑平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

二、不同食控處理組蜘蛛所產單絲之物理性質：

(一) 單絲直徑：

餵食蟋蟀組人面蜘蛛所結網的單絲直徑顯著大於餵食蒼蠅組；前者比起後者約大了 10%(F = 4.155, P = 0.056) Cd 組與 Fd 組之間亦有顯著差異(F = 4.409, P = 0.049),前者比後者大了 32%(圖二十)。



圖二十：不同食控處理組之單絲直徑平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(二)單絲物理性質：

各組不同餵食操控組蜘蛛所產單絲採集後，進行應力－應變之測量，經統計各組單絲物理性質，即延伸率、最大載重、楊氏係數及韌度彙整如下表一、二，表列延伸率與絲之彈性有關，楊氏係數與絲之剛度有關，而最大載重及韌度則與彈性及剛度均有關聯。從表一可看出，餵食蟋蟀(C)組的所有物理性質均明顯大於餵食蒼蠅(F)組，可見餵食蟋蟀組的曳絲彈性及剛度均比餵食蒼蠅組的曳絲為佳。至於餵食死蟋蟀(Cd)及餵食死蒼蠅(Fd)組其曳絲各項物理性質均無明顯差異，詳如表二。

表一、以 MANOVA test 比較餵食蒼蠅(F)與蟋蟀(C)之人面蜘蛛所產曳絲物理性質之結果。

	延伸率%	最大載重 g	楊氏係數 (千分之牛頓/ μm^2)/mm	韌度 千分之焦耳/ μm^2
蟋蟀組 C	19.090±1.04	2.809±0.299	0.170±0.019	6.140±1.029
蒼蠅組 F	15.818±1.052	1.7678±0.193	0.119±0.014	3.784±0.374
<i>F</i>	4.898	8.539	4.465	4.631
<i>P</i>	0.039*	0.008*	0.047*	0.044*

表二、以 MANOVA test 比較餵食死蒼蠅(Fd)與死蟋蟀(Cd)之人面蜘蛛所產曳絲物理性質之結果。

	延伸率%	最大載重 g	楊氏係數 (千分之牛頓/ μm^2)/mm	韌度 千分之焦耳/ μm^2
蟋蟀組 Cd	19.091±1.224	3.341±0.347	0.188±0.029	9.077±2.209
蒼蠅組 Fd	19.273±1.137	3.306±0.315	0.193±0.024	7.475±0.505
<i>F</i>	0.012	0.072	0.015	0.587
<i>P</i>	0.914	0.791	0.905	0.453

三、不同食控處理組蜘蛛絲之胺基酸組成：

由於各類胺基酸的比例之間並非獨立之變數，故利用 Multivariate Analysis of Variance(MANOVA)來比較不同食控處理組蜘蛛絲的成份是否有所差異。經由 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顯示，除了 proline 沒有差異外；其餘 glutamine、serine、glycin 及 alanine 均有明顯差異，且餵食蟋蟀組所產之絲各主要胺基酸之比例，均比蒼蠅組的為高(表三)。反之，餵食死蒼蠅(Fd 組)與死蟋蟀(Cd 組)之人面蜘蛛所產曳絲的主要胺基酸組成則均沒有顯著差異(表四)。

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 C	12.64 ± 0.14	4.24 ± 0.04	9.17 ± 0.13	40.37 ± 0.24	18.39 ± 0.13
蒼蠅組 F	12.14 ± 0.12	4.62 ± 0.05	8.96 ± 0.17	35.00 ± 0.65	17.06 ± 0.26
<i>F</i>	5.024	6.656	0.248	7.449	5.291
<i>P</i>	0.006*	0.001*	0.862	0.001*	0.004*

表四、以 MANOVA test 比較餵食死蒼蠅與死蟋蟀之人面蜘蛛所產曳絲的主要胺基酸組成之結果。

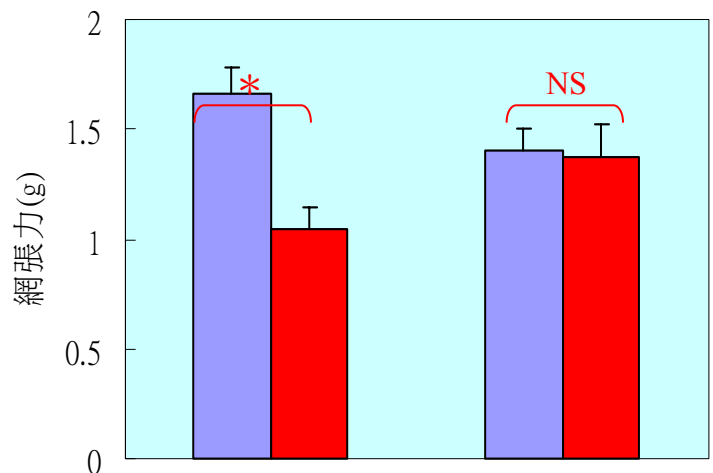
	Glutamine	Serine	Proline	Glycine	Alanine
蟋蟀組 Cd	13.40 ± 0.23	3.70 ± 0.13	9.30 ± 0.44	44.00 ± 1.38	19.80 ± 0.43
蒼蠅組 Fd	12.36 ± 0.50	3.85 ± 0.28	8.91 ± 0.48	42.66 ± 2.36	19.94 ± 1.05
<i>F</i>	2.417	1.090	0.004	0.836	0.292
<i>P</i>	0.140	0.312	0.947	0.374	0.596

四、不同食控處理組蜘蛛所結網對不同獵物之捕捉效率：

本部份實驗探討不同之食控處理所影響的人面蜘蛛所結之網對蒼蠅及蟋蟀兩種不同類型獵物之捕食效率上之差異。所比較之變數包含可表現其承載力的張力、黏滯獵物的黏性，振動的傳遞能力，以及對獵物的留置能力等。

(一)網張力：

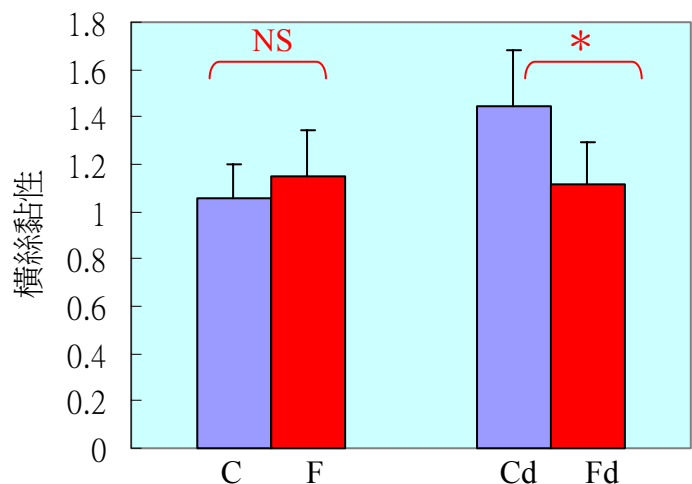
餵食蟋蟀組人面蜘蛛所結網的網張力顯著大於餵食蒼蠅組($F = 15.197$, $P = 0.001$)前者約為後者的1.6倍。而Cd組與Fd組間則沒有顯著差異($F = 0.090$, $P = 0.768$)(圖二十一)。



圖二十一：不同食控處理組之網張力平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

(二)橫絲黏性：

餵食蟋蟀組人面蜘蛛所結網的橫絲黏性與餵食蒼蠅組無顯著差異($F = 1.664$, $P = 0.213$)。然而Cd組橫絲之黏粘性顯著高於Fd組，兩者間有明顯差異($F = 12.805$, $P = 0.002$)(圖二十二)。

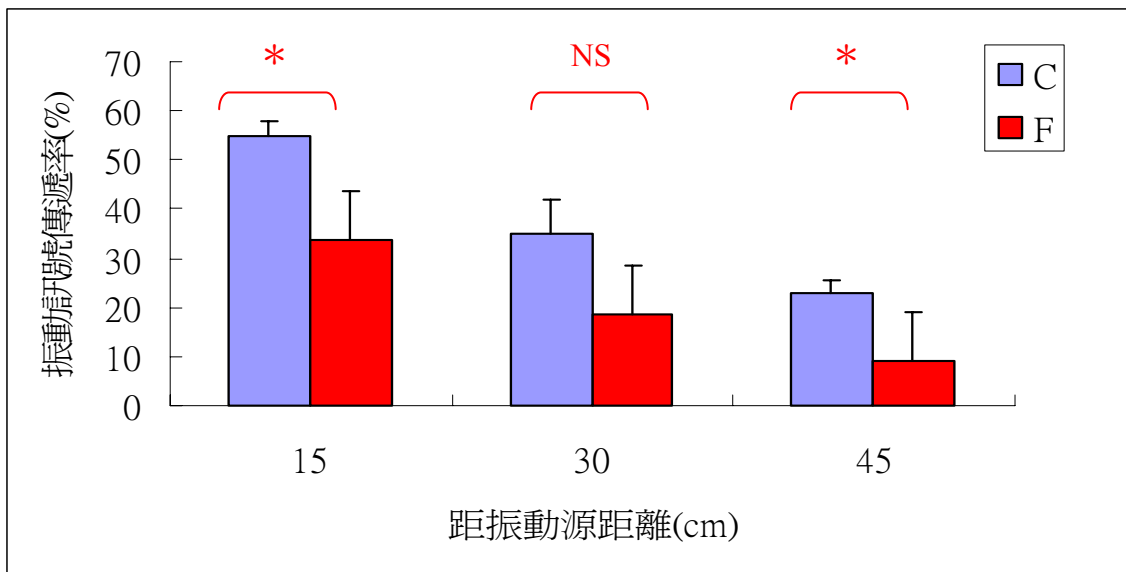


圖二十二：不同食控處理組之橫絲黏性平均值及標準差。(*：達統計顯著差異；NS：無顯著差異)

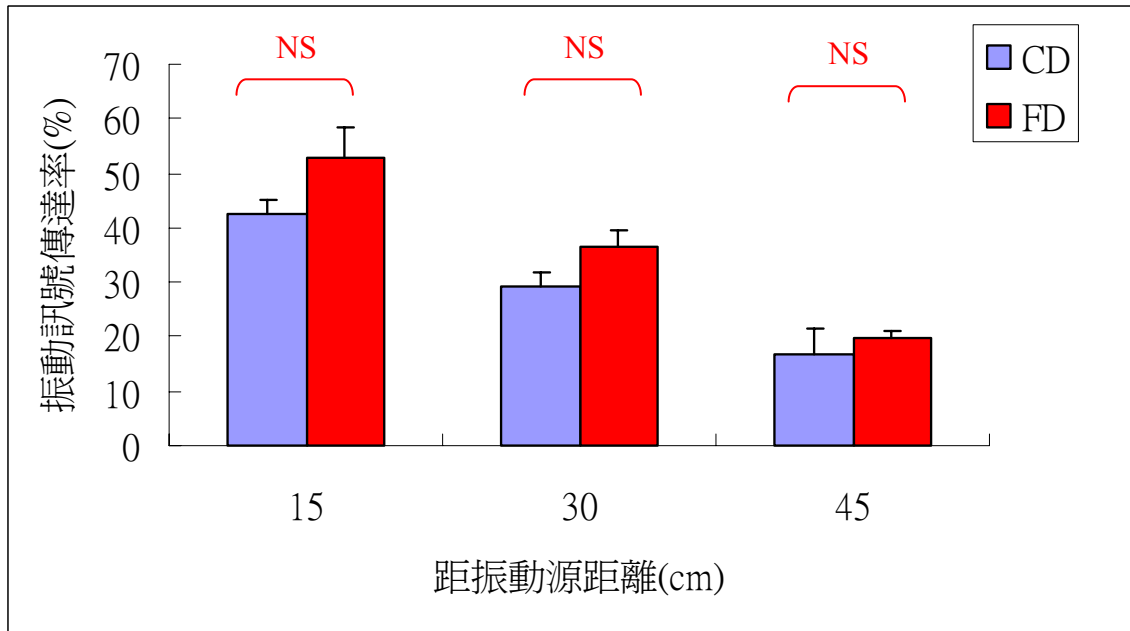
(三)網傳遞振動衰減率：

當以非接觸式方法測量餵食活蟋蟀及活蒼蠅所結的網，對於高頻振動的傳遞能力時，發現訊號在網上均會隨著傳遞距離的增加而衰減(圖二十三，二十四)。當訊號傳遞到 15 及 45 公分時，餵食蒼蠅與蟋蟀兩組之間的衰減比率有顯著差異，而以餵食蒼蠅組的網衰減較大(15 公分處： $F = 28.960$ ， $P = 0.001$ ；45 公分處： $F = 11.841$ ， $P = 0.009$)。在 30 公分處訊號之衰減率在兩組間雖無明顯差異($F = 4.304$ ， $P = 0.072$)，但幾乎達顯著之水準，且其平均值仍以蒼蠅網的衰減較大(圖二十三)。

而 Cd 組與 Fd 組所結網的訊號衰減率比較結果顯示，不論是在 15 公分($F = 3.007$ ， $P = 0.121$)，30 公分($F = 3.939$ ， $P = 0.082$)或 45 公分($F = 0.351$ ， $P = 0.570$)處，兩組間之訊號衰減率皆無顯著差異($F = 3.007$ ， $P = 0.121$)(圖二十四)。



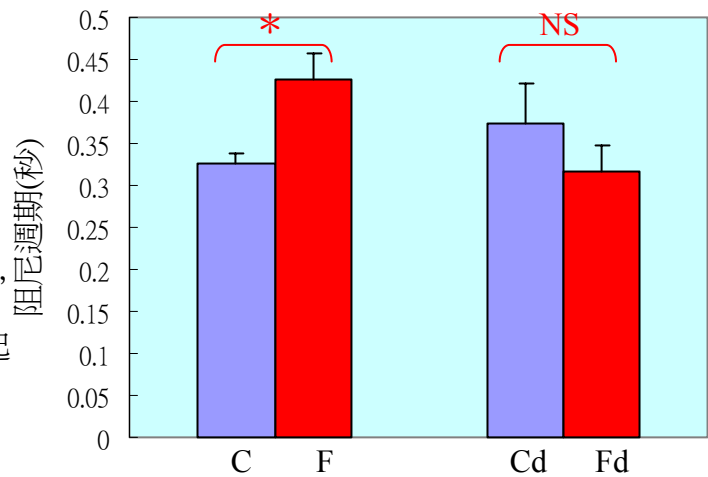
圖二十三：C 組及 F 組人面蜘蛛所結網不同部位之振動訊號衰減率平均值及標準差。



圖二十四：Cd 組及 Fd 組人面蜘蛛所結網不同部位之振動訊號衰減率平均值及標準差。

(四) 阻尼週期：

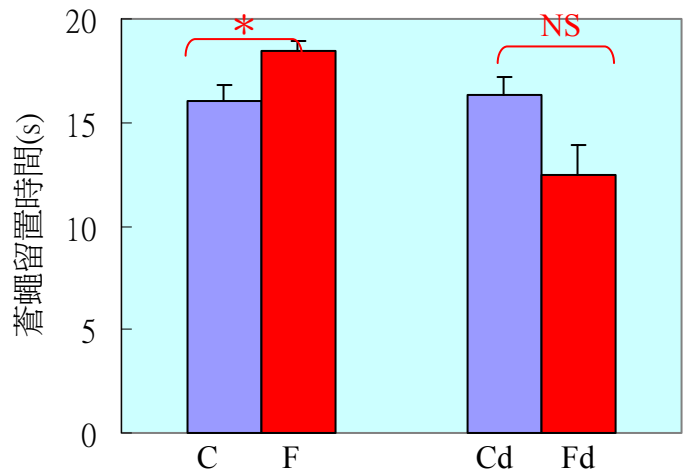
餵食蒼蠅組人面蜘蛛所結網的阻尼週期顯著大於餵食蟋蟀組，(F = 19.893, P = 0.002)；前者比起後者約大 30%，而 Cd 組與 Fd 組間沒有顯著差異(F = 4.436, P = 0.071)(圖二十五)。



圖二十五：不同食控處理組蜘蛛所結網之阻尼週期平均值及標準差。

(五)蒼蠅留置時間：

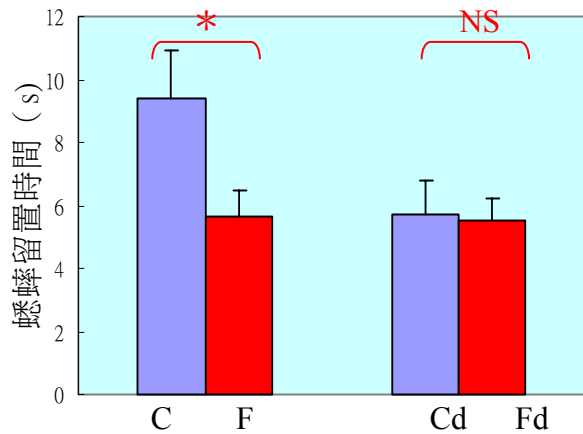
餵食蒼蠅組人面蜘蛛所結網對於蒼蠅的留置時間顯著大於餵食蟋蟀組($F = 5.121$ ， $P = 0.036$)，前者比起後者多了 2.5 秒的留置時間。而 Cd 組與 Fd 組間則沒有顯著差異($F = 3.877$ ， $P = 0.064$)(圖二十六)。



圖二十六：不同食控處理組蜘蛛所結網之蒼蠅留置時間平均值及標差。

(六)蟋蟀留置時間：

餵食蟋蟀組人面蜘蛛所結的網對於蟋蟀的留置時間顯著大於餵食蒼蠅組，($F = 4.231$ ， $P = 0.054$)。前者約為後者的 1.7 倍；而 Cd 組與 Fd 組間則沒有顯著差異($F = 0.103$ ， $P = 0.752$)(圖二十七)。



圖二十七：不同食控處理組蜘蛛所結網對蟋蟀留置時間平均值及標差。

伍、討論

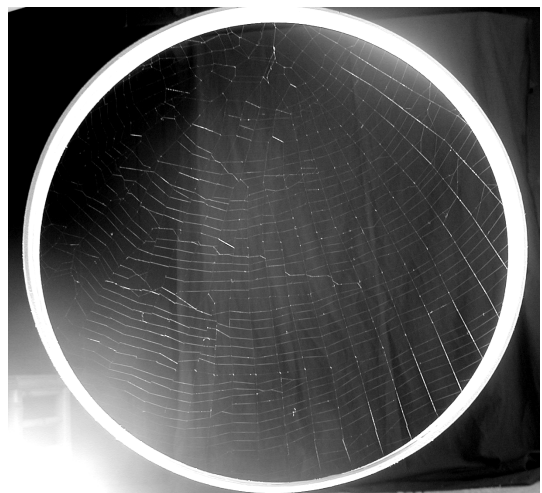
從以上的實驗結果，發現餵食操控後的蜘蛛，其產絲、結網、捕食相關因變數確實有明顯的差異，且各項變數間極有一致性，顯示本實驗所採用之食控處理確實能影響人面蜘蛛產絲結網行為及絲基因之表現。以下便就各部份實驗結果在行為生態上所代表之意義加以討論。

一、 網形質變化：

從實驗結果發現，在連續餵食活蒼蠅後，人面蜘蛛網其有效網面積明顯較大，放射絲根數增多，放射絲及螺旋絲總長度亦隨同增長，而網目及張力卻明顯縮小(圖二十八)。這樣的結果與前人利用不同種類蜘蛛所進行之研究成果吻合；顯示結圓網性蜘蛛在環境中有大量且持續性出現的小型飛行性昆蟲，會增加產絲的長度，增大網的捕捉面積，並縮小兩兩橫絲間的距離，也就是網目的大小。至於網面增大後，其相關結構如放射絲數、總長度及螺旋絲總長度等，也隨同增大。而人面蜘蛛在連續餵食活蟋蟀後，其網面積不像餵食蒼蠅組個體所結的那麼大；網目也沒有那麼細(圖二十九)。然而，在縱絲及橫絲數皆較少的情況下，其網之張力却是蒼蠅組個體結網的 1.6 倍。此結顯示人面蜘蛛在連續出現大型獵物的狀況下，會結面積較小但是却較堅固



圖二十八：餵食活蒼蠅之人面蜘蛛所結的網。



圖二十九：餵食活蟋蟀之人面蜘蛛所結的網。

的網子，來有效捕捉力氣較大破力較強的大型昆蟲。雖然蜘蛛藉調整圓網之結構來因應環境中所出現的不同獵物在先前已被報導過；但蜘蛛在面臨持續出現的大型獵物時結出較結實張力較大的網，却是首次有實驗證據加以證實。

二、 絲化學性質變化

本研究之食控處理除了影響人面蜘蛛的結網行為外，其所產之絲的胺基酸組成也受到了影響。比較餵食活蒼蠅與活蟋蟀之人面蜘蛛所產曳絲的主要胺基酸組成之結果顯示，除了 proline 沒有差異外，其餘 glutamine、serine、glycin 及 alanine 均有明顯差異，且餵食蟋蟀組所產之絲其上述各項胺基酸之比例均比蒼蠅組為大。這樣的結果顯示人面蜘蛛在不同的覓食情況下，除了在行為層面調整網的結構外；也會在基因層面調整不同絲基因的表現量。

蜘蛛之曳絲目前已知主要由 Major Ampullate Spidroin 1(MaSp1) (Xu & Lewis,1990)與 Major Ampullate Spidroin2(MaSp2)(Hinman & Lewis, 1992)兩種基因之產物所組成。MaSp1 蛋白中的 β -sheet 結構是曳絲張力來源(Winkler & Kaplan, 2000)。而 MaSp2 蛋白的 β -turn 結構則是曳絲之彈性來源。 β -sheet 結構主要是由 alanine、glycine 組成，其相對數量之多寡與絲的強度呈正相關(Gosline et al, 1999)。此外，MaSp2 蛋白的 β -turn 結構主要由 glutamine 及 proline 構成，與絲延伸度有關。MaSp1 中的 alanine、glycine 等胺基酸含量較高；而 MaSp2 中的 glutamine 及 proline 的比例則較高。若人面蜘蛛在不同的餵食情況下並未調整各絲基因產物的相對量，而只調整絲的粗細及網的結構，則兩組間的曳絲胺基酸組成應無顯著的變化。然而，本實驗結果顯示餵食活蟋蟀之蜘蛛其曳絲中有顯著為高之 glycine，alanine 以及 glutamine，可見在此組之絲中有較大量的 MaSp1 及 MaSp2 兩種產物構成。目前，並不清楚除了 MaSp1 及 MaSp2 外，曳絲是否亦由其他基因之產物所構成。若曳絲只由 MaSp1 及 MaSp2 兩產物構成，則當絲中的 glycine 及 alanine 比例高時，glutamine 及 proline 之比例應當降低。然而，在本研究中餵食活蟋蟀組個體所產之絲幾乎所有的曳絲胺基酸的比例皆較餵食蒼蠅組所產之絲為高；暗示著人面蜘蛛之曳絲除 MaSp1 及 MaSp2 外，尚有其他基因之產物；在餵食活蟋蟀

時，MaSp1 及 MaSp2 的比例增加，而其餘絲基因的產物量降低；而導致所觀察到的蟋蟀組蜘蛛所產之絲在幾種曳絲胺基酸之比例皆較蒼蠅組顯著為高之現象。

目前，以蛛絲為材料之分子生物學研究相當多，然而，目前却無學者探討蜘蛛曳絲除 MaSp1 及 MaSp2 外是否仍有其他基因之產物。本部份研究之結果顯示人面蜘蛛之曳絲成分中極有可能有未知基因之產物；值得相關學者針對此現象進行更深入的研究。

三、 單絲物理性質分析

由曳絲胺基酸組成的分析中得知餵食活蟋蟀組的人面蜘蛛其絲中有較高比例的 alanine, glycine 及 glutamine，由此結果可推測在此處理組的絲中有較高比例的 β -sheet 結晶以及 β -trun 彈性結構，而導致此組之絲有較高之韌度及彈性。而單絲物性分析所獲得之結果與此推論完全吻合，經比較不同食控處理組之單絲物性發現蟋蟀組的楊氏系數(即強度)、伸長率及韌度(斷裂前所能承受的總衝擊能量)均比餵蒼蠅組的值為大。可見，人面蜘蛛為適應大型獵物確實會藉改變絲基因之相對表現量，調整曳絲物性，以加強並支撐網結構。

值得一提的是，單絲應力－應變分析的結果也充份解釋了為何餵食活蟋蟀組人面蜘蛛所結的網子，有顯著為高的張力。比起餵食蒼蠅組個體所結的網子，此組個體所結的網子不管是放射絲數及橫絲數都少了很多(圖十五、十六)。從網結構的角度來看，這樣的網子應該具有較小的張力。然而拉力測量的結果却顯示餵食蟋蟀組蜘蛛所構築結構較不緊密的網子反而更為堅固(圖二十一)。綜合網張力、絲胺基酸組成以及絲物性測量之結果顯示，此組蜘蛛所結網子較堅固之特性乃由其具有結晶度較高，韌性較強的絲所導致；才能在放射絲數遠較餵食蒼蠅組個體為少的情況下還能構築出更堅固的網子。本研究之結果顯示在探討圓網性蜘蛛之覓食行為時，不能光只是測量其網結構之變化；還需對構成網的各種絲之性質進行分析測量，才能真正掌握蜘蛛是如何的來因應其覓食環境之變化。

四、不同食控組蛛網捕食能力分析

以上既已證實在不同餵食操控下，人面蜘蛛會改變網的相關形質及結構，也會調整其曳絲蛋白的胺基酸組成，以改變單絲的強度及彈性，惟蜘蛛所採行的這些調整，是否幫助網適應不同獵物以增強捕捉能力呢？從實驗結果顯示，人面蜘蛛在不同食控下所結之網，對於蒼蠅的留滯能力(retention time)，以餵食蒼蠅的網為強，而對於蟋蟀的留滯能力，則以餵食蟋蟀的網較高。從這些結果看來，當人面蜘蛛在持續的捕食某類型昆蟲之後，所結之網會對該型獵物有較高的置留能力。可是，此結果與各食控處理下所產生之網形質及絲物性差異又有何關聯呢？根據網形質測量之結果，網結構的改變可能是餵食蒼蠅組個體所結之網有較佳之蒼蠅置留力的主因。此組個體所產之橫絲其粘性與餵食蟋蟀組並無差異；可見並不是藉著較高之橫絲粘性而造成較佳之蒼蠅留置能力。然而，此組網子之網目顯著小於餵食蟋蟀組，顯示在單位面積裏有較多的具粘性之橫絲，以致於能延遲蒼蠅掙脫網子的時間。而餵食蟋蟀組個體所結之網為何能將蟋蟀留置的較久，則沒有明顯解釋。此組個體所結之網子橫絲粘性不比另一組高，網目也比另一組大，因此無法以單位面積粘絲數的角度來解釋。所觀察到的結果是否是放射絲的韌性較高及網張力較大所造成？目前並無法看出兩者間的關聯度，值得再更進一步探討。

然而，人面蜘蛛為了增加對特定效率的捕捉效率所產生之網形質改變也會帶來一些代價。本研究利用非接觸式方法測量不同食控處理組個體所結網子之高頻振動訊號傳遞能力之結果顯示，對於高振動的傳輸衰減率以餵食蒼蠅的網其衰減較厲害，而阻尼週期也以餵食蒼蠅的網為長。可能因為餵食蒼蠅組蜘蛛為要增加對蒼蠅及小昆蟲的留滯能力，而增多橫絲數及放射絲數(即網目變小)，造成高頻振動及阻尼振盪在網上傳輸及振盪阻滯，因而減弱了其傳遞能力。此外，也有可能是此組蜘蛛所產之絲中有較低之 alanine,及 glycine 含量，有較低之 β -sheet 結晶構造量，使得縱絲較不緊緻，因而有較低之高頻振動訊號傳遞能力。然而，也有可能雖然餵食蒼蠅組所結網子之訊號傳遞能力較弱，但蒼蠅被網子粘住時所產生之振動訊號可已足以被蜘蛛所測知；而不受較密的網子造成之傳遞率降低而影

響。

因此，從實驗結果看出，常捕食蒼蠅的人面蜘蛛，會調整其內外相關機制，使其網易於捕捉蒼蠅。常餵以蟋蟀的人面蜘蛛，會結出易於捕捉蟋蟀的網。所以，人面蜘蛛為適應不同捕食環境，調整其內外相關機制，如網形、網結構等，確能提高對環境所常出現獵物的捕捉能力。

五、造成網形質及絲基因表現變化之成因分析

本研究結果顯示，結圓網蜘蛛會因攝食不同類型的獵物而調整其網形質及曳絲蛋白組成。然而，蜘蛛在捕獵過程中所接受獵物訊息，不僅是所攝取獵物養份，在未攝食前早已接受到獵物在網上掙扎的振盪。因此，啟動網形質及曳絲蛋白的組成的變化，是因所接受的獵物養份不同所導致，或是不同大小獵物掙扎的振盪頻率不同所引起，或是兩者都扮演重要的角色呢？

為針對此問題進行探討，本實驗藉操控獵物之養份及振動訊號將蜘蛛分成四個食控處理組，分別是(1)餵食活蟋蟀(C)組，有蟋蟀之養份及振動刺激；(2)餵食活蒼蠅(F)組，同時有蒼蠅之養份及振動刺激；(3)餵食死蟋蟀(Cd)組，有蟋蟀之養份却有蒼蠅之振動刺激；(4)餵食死蒼蠅(Fd)組，有蒼蠅之養份却是蟋蟀之振動刺激。如果養分之影響大於振動刺激的影響，則 C vs F 組與 Cd vs Fd 組之結果應相同。(例如某變數之值 $C > F$ ，則 Cd 亦應 $> Fd$)。此外，如果刺激之影響大於養分的影響，則 C vs F 組與 Cd vs Fd 組之結果應相反(例如某變數之值 $C > F$ ，則 Cd 應 $< Fd$)。最後，若養分與振動刺激皆具影響力，均扮演重要角色，缺一不可；則當 C vs F 組有明顯差異時，Cd vs Fd 組應無明顯差異。(如某一變數之值 $C > F$ ，但 Cd 與 Fd 組間不會有顯著差異)。本研究結果顯示，對於大部份之變數而言，獵物之養份及振動刺激皆扮演重要角色。

(一)對於網的形質部分包括網面積、網目、放射絲數、放射及螺旋絲總長度等，餵食活蒼蠅(F 組)與蟋蟀(C 組)間有明顯差異，而 Cd 組與 Fd 組間卻無明顯差異，可見啟動網形質改變，獵物的養份與刺激均扮演著同樣重要的角色。

(二)對於曳絲胺基酸組成，餵食活蒼蠅(F 組)與蟋蟀(C 組)組間有明顯差異，而

Cd 組與 Fd 組間卻無明顯差異，可見啓動曳絲胺基酸組成的改變，獵物的養份與刺激也皆扮演著同樣重要的角色，亦即人面蜘蛛根據獵物刺激及養份，調整不同曳絲基因表現，造成絲不同的堅硬度及彈性及絲直徑等，以架構出有效捕獵特定獵物的網。

然而，爲何人面蜘蛛需同時利用獵物養份及振動刺激來調整其網結構及絲基因之表現呢？在野外的人面蜘蛛捕食時並不會如同在本研究的個整體般有機會捕獲到不產生振動刺激的死亡個體；而是會在經歷到獵物在網子週圍飛行或運動所產生之振翅訊號及觸網之後的振動訊號；然後才有機會攝取到獵物的養份。既然許多研究結果提供證據顯示不同類型獵物觸網之後所產生之振動訊號已經有相當大的差異；爲何還需要再攝取其食份才能達成網結構及絲基因表現之調整？我推測其原因可能是人面蜘蛛利用攝入之養份來確認在環境中持續出現之獵物爲何種類型。由於在針對某類型之獵物作出網結構及絲物性之調整後，對其他類型之獵物的捕捉效率會有所影響；因此或許人面蜘蛛需在充份的獲得振動訊號及獵物養份雙重刺激的確認之下，才會產生行爲層面及基因層面一連串改變。在漫長的演化過程中人面蜘蛛可能在振動接收器及化學接收器同時接到適當刺激的情況下才會引發不同層面之改變。

在本研究中，當不同型獵物振動訊號及養份被錯置時，有可能人面蜘蛛無法獲得正確組合的振動訊號及養分，以致未產生顯著行爲及基因表現差異。至於何種振動及化學接收器負責訊號的接收，當獲得訊號後又是如何引發一連行爲及基因表現差異，值得在未來進行更深入的研究。

陸、結論

本實驗藉由操控不同類型獵物之養份及振動刺激，探討人面蜘蛛是否會藉調整絲基因表現及網結構以促進其對不同獵物之捕食效率，及啓動其行爲及基因層面表現改變之機制爲何，本實驗之結果顯示：

- (一) 人面蜘蛛會根據環境中連續出現不同的獵物，調整其絲總長、放射絲數、網面積及網目大小。
- (二) 人面蜘蛛會根據環境中連續出現不同的獵物，調整其曳絲胺基酸組成及物理性質。
- (三) 在環境中連續出現大型獵物時，人面蜘蛛會加大絲的直徑，增強絲的結晶化，以增加網的強度。
- (四) 在環境中連續出現小型獵物時，人面蜘蛛會加大網捕捉面積、縮小網目，減小絲的直徑。
- (五) 上述網結構和絲化學組成改變，有助於提高對特定獵物的捕捉效率，但對其振動訊息的傳遞將會受到影響。
- (六) 獵物的營養成份及刺激，在網的結構及絲的基因表現調控上，同時扮演著重要的角色。

柒、應用與展望

蜘蛛絲由於具量輕質堅的特性，許多生物科技相關單位努力的想利用基因轉殖的方式來大量製造蜘蛛絲。目前雖然有些研究人員成功的能將 Masp1 基因片斷轉殖入其他生物體內並能轉譯出此基因之產物，但此人工蜘蛛絲之物性遠較天然蜘蛛絲為差，以致於無商業運用之價值。本研究之結果顯示人面蜘蛛面對持續出現之大型獵物時，會增加其所產曳絲之韌度，經分析其胺基酸組成發現在此食控處理狀況下絲中之 alanine ,glycine 及 glutanine 皆顯著之提升。這些結果顯示除 Masp1 及 Masp2 外，曳絲有可能含有其他基因之產物。這些基因與目前已知 Masp1 及 Masp2 之產物以不同之比例被表現，因而能形成具不同物理性質之絲。所以，未來之蜘蛛絲分子研究應嘗試找出除 Masp1,Masp2 外之曳絲基因，而生物技術單位可考慮在製造人工蜘蛛絲時同時表現這些基因，按本研究所獲得之高強度之絲其胺基酸比例設計出最佳的不同基因產物比例，而能產生出強度符合商業價值的人工蜘蛛絲。

捌、參考資料

- 趙依祈, 趙贊新. New Evidence of Behavioral Mechanism for Discrimination and Orientation of Orb-web Spider *Nephilia pilipe*. 2005 年台灣國際科學展覽優勝作品專輯, 台北市, 民 94.
- 趙依祈. 一網情深---網住基隆情人湖人面蜘蛛的一生. 第 43 屆全國科學展覽優勝作品專輯, 台北市, 民 92
- Boys, C.V. 1880 The influence of a tuning-fork on the garden spider. *Nature* 23:149-150.
- Burgess, W.J. 1979 Web-signal processing for tolerance and group predation in the social spider *Mallos gregalis* (Simon). *Animal Behaviour*. 27:157-164
- Craig, C. L. 1989. Alternative modes of orb web weaving spiders. *Biotropica*, 21: 257-264.
- 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: 1904-1913.
- 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.
- Higgins, L. E. and Buskirk, R. E. 1992. A trap-building predator exhibits different tactics for different aspects of foraging behaviour. *Animal Behaviour*, 44, 485-499.
- Hinman, M. B. & Lewis, R. V. 1992. Isolation of a clone encoding a second dragline silk fibroin. *Journal of Biological Chemistry*, 267: 19320-19324.
- Knight, D.P., Knight, M. M, and Vollrath, F. 2000. Beta transition and stress-induced phase separation in the spinning of spider dragline silk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 27, 205-210.
- 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.

- Klärner, D., Barth, F.G. 1982 Vibratory signals and prey capture in orb-weaving spiders (*Zygiella x-notata*, *Nephila clavipes*; *Araneidae*). *Journal of Comparative Physiology*, 148:445-455.
- Landolf, M.A. & Barth, F.G. 1996 Vibrations in the orb web of the spider *Nephila clavipes*: cues for discrimination and orientation, *Journal of Comparative Physiology*, A. 179:493 -508.
- Masters, W.M. & Markl, H. 1981 Vibration signal transmission in spider orb webs. *Science*, 213:363-365.
- 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.
- 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.
- Tai, P. L., Hwang, G. Y. & Tso, I. M. 2004. Inter-specific sequence conservation and intra-individual sequence variation in a spider silk gene. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34:295-301.
- 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.

A Versatile Hunter: Giant Wood Spider Adjusts Web Structure and Silk Properties When Encountering Different Prey

Abstract

Previous studies have shown that orb-weaving spiders might adjust their web structures when encountering different types of prey. In this study, the giant wood spider *Nephila pilipes* was used to investigate the effects of different prey intakes and vibration signals on the web structures, physical properties of silk and insect-catching efficiency. Forty-four spiders were evenly divided into four feeding groups: live crickets (A), live flies (B), fly vibration signals with dead crickets (C) and cricket vibration signals with dead flies (D). Prior to treatments, all spiders were fed with mealworms. Then equal weight of prey was introduced after new webs were built and the treatments were conducted seven times. The web structures, physical properties of silk, retention time of different prey, and vibration signal transmission rate of new webs were analyzed. The results showed that the webs woven by group B spiders exhibited larger area, smaller mesh, longer fly retention time, and reduced vibration signal transmission. Silks of group A spiders were stiffer, more elastic and webs were stronger to cope with the larger prey. However, in groups C and D the decoupling of the prey intake and vibration signals yielded similar values in all parameters measured. These results indicate that spiders can adjust the web structures and physical properties of their silk to enhance the catching efficiency of different prey. Moreover, both prey intake and vibration signals are needed in generating such behavioral adjustments.

Introduction

Previous studies showed that orb-weaving spiders adjusted web structures when encountering different types of prey. In addition to web structures, the physical properties of silk should also be critical in affecting the prey catching efficiency of webs. However, so far no one has investigated whether spiders will adjust the physical properties of silk under such circumstances. In this study, I manipulated prey intake and vibration signals by feeding *Nephila pilipes* with different types of prey (crickets & flies) to investigate whether *N. pilipes* could adjust web structures and the physical properties of silk to enhance the catching efficiency of different prey.

Goals

- A. To study whether different types of prey will generate changes in web structures as well as the physical properties of silk.
- B. To investigate whether variations in the web structures and silk physical properties enhance prey-catching efficiency.
- C. To examine the importance of prey intake and vibration signals in generating changes in web-building behavior of *N. pilipes* by decoupling these two signals.

Materials and Methods

A. The Organism Studied



Fig. 1 Giant wood spider, *Nephila pilipes*.

In this study, giant wood spiders *Nephila pilipes* (Fig. 1) were used. *N. pilipes* is the largest orb weaving spider in Asia. This spider is widely distributed, and can be found all the way from southern Japan to northern Australia. It builds orb webs in the understory of tropical or subtropical forest. The body size of a mature female may reach 5 cm and the web diameter may exceed 1 m. Spiders were collected from the forests in northern Taiwan and were kept indoors.

B. Experimental Design

Forty-four spiders were evenly divided into four feeding groups:

Groups	A	B	C	D
Treatment	live crickets	live flies	dead crickets with fly vibration signals	dead flies with cricket vibration signals
Prey intake	cricket	fly	cricket	fly
Vibration	cricket	fly	fly	cricket
Signal association	Prey intake and vibration signal coupled		Prey intake and vibration signal decoupled	

C. Procedures

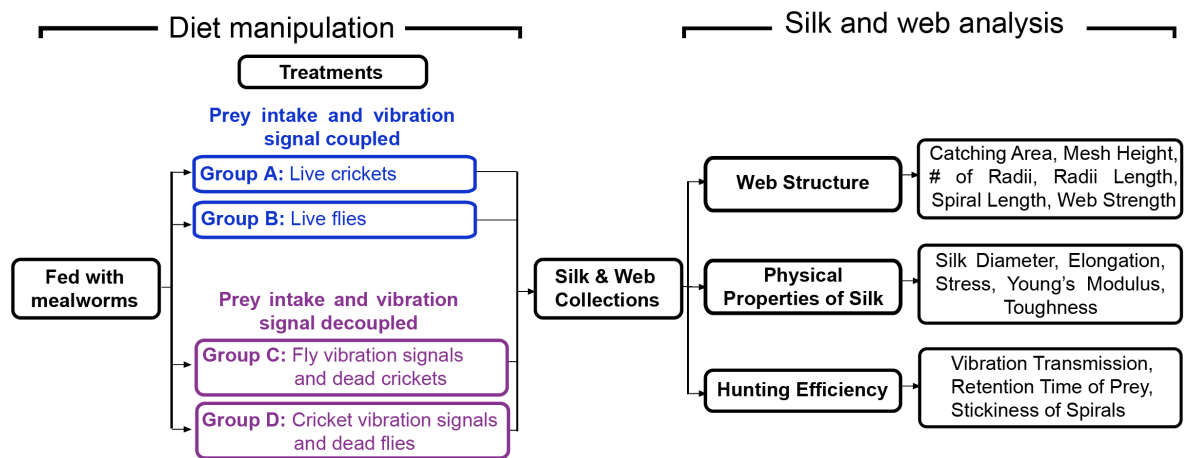


Fig. 2 Scheme of experimental design .

Prior to the following treatments, all spiders were fed with mealworms. Then equal weight of prey was introduced after new webs were built and the treatments were conducted for seven times. Because the spider has poor eyesight, it senses the environment by using vibration signals. In this study, I manipulated the prey intake and vibration signal by dividing the spiders into four feeding groups. In groups A and B, the prey intake and vibration signal were coupled. Group A was fed with live crickets, and group B was fed with live flies. In groups C and D, the prey intake and vibration signal were decoupled. Group C was fed with dead crickets but was given fly vibration signals, and group D was fed with dead flies but was given cricket vibration signals.

After the feeding treatments, the silk and the webs were collected. All the measurements could be divided into the following: web structure, the physical properties of silk and hunting efficiency. First, the catching area, mesh height, number of radii, radii length, spiral length and web strength were calculated. Secondly, the diameter of the silk was measured by using a SEM. After the diameter was measured, the elongation, Young's modulus and toughness were estimated. Finally, the hunting efficiency of the web was evaluated by examining vibration transmission, retention time of prey and stickiness of spirals.

D. Web Structure and Strength

1. Web structure

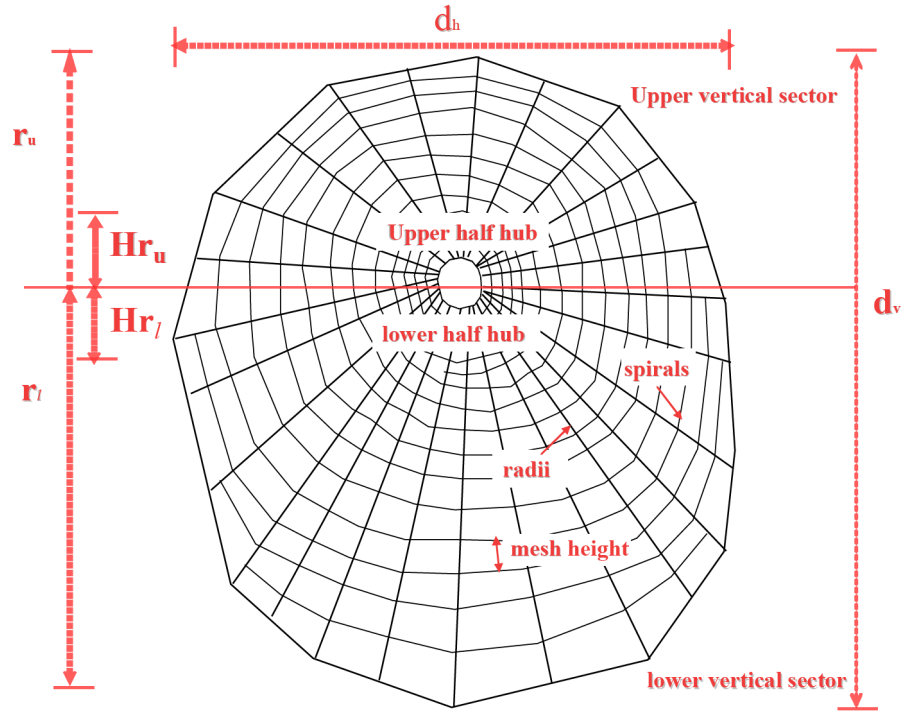


Fig. 3 Calculating variables of web structure.

The radius of the upper, lower, left and right halves of the web and the radius of the hub were measured. The number of radii and spirals of four final directions of the web were counted. Then the catching area, mesh height, and total length of the silk were calculated. The formulae are as follows:

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

$$r_{au} = (r_u + d_h / 2) / 2$$

$$r_{al} = (r_l + d_h / 2) / 2$$

Hr_u : The upper hub radii
 Hr_l : The lower hub radii

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

S_u : The number of sticky spirals in the upper web,
 S_l : The number of sticky spiral in the lower web

Total length of the silk

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

$\bar{\chi} R_{web}$: mean of web's radius
 $\bar{\chi} R_{hub}$: mean of hub's radius
 $\bar{\chi} \# \text{ spiral}$: mean number of spiral
 $\# \text{ radii}$: mean number of radii

2. Web strength

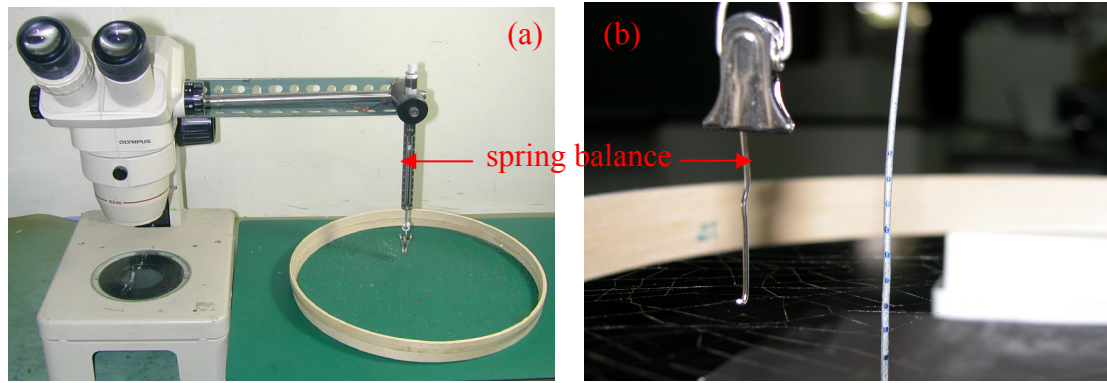


Fig. 4 Apparatus used in measuring web strength.

One end of the spring balance was fixed on the dissecting microscope (Fig. 4a). By turning the adjustment knob of the microscope, the upward speed of the spring balance could be controlled. The web built by *N. pilipes* was carefully mounted onto a wooden frame. The spring balance grabbed the web using an iron hook, and the selected points of the web were lifted 3 cm vertically with the spring balance to measure the web strength (Fig. 4b).

E. Physical Properties of Silk

1. Silk diameter

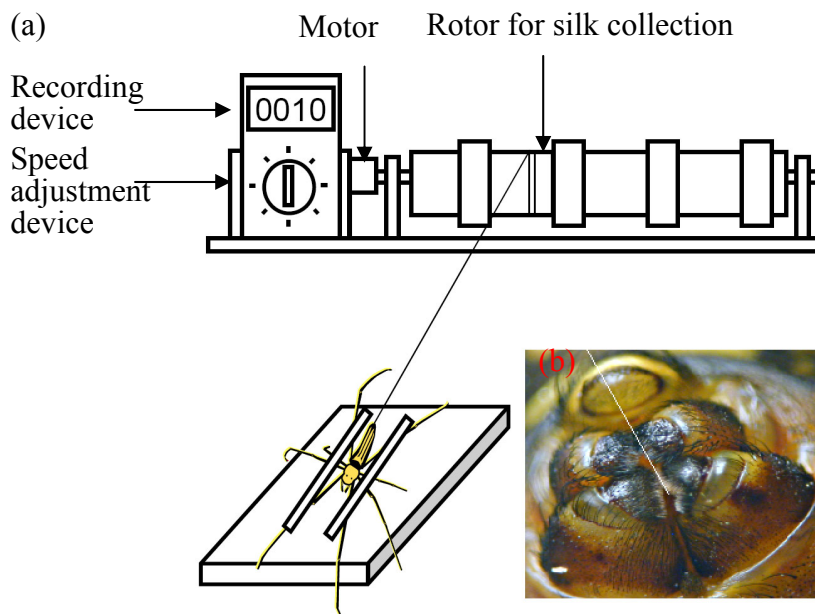


Fig. 5 The silk-reeling machine (a) and the spinneret of the *N. pilipes* (b).

The silk was collected by a silk reeling machine (Fig. 5a) from the spinneret of the *N. pilipes* (Fig. 5b), and its diameter was measured by using the scanning electron microscope.

2. Stress- strain

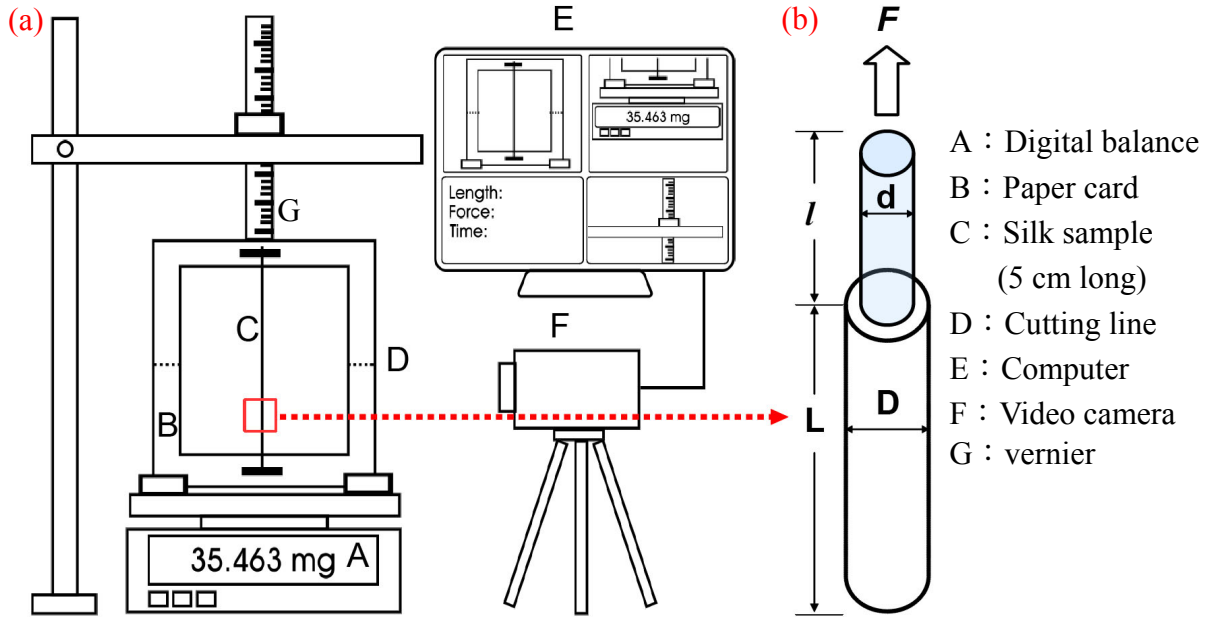


Fig. 6 Apparatus for measuring physical properties of dragline silk (a) and the diagram of the elongated silk(b).

An instrument (Fig. 6a) was designed to characterize the physical properties of the silk. Dragline silk (C) was collected and pasted to the paper card (B). The card was put on the digital balance and then cut at point D. By pulling up the card at a speed of 1.7 cm/min, the silk was also pulled at the same time. The pulling force may then reduce the reading of the weight on the digital balance (A). During the process of pulling, a video camera (F) was used to record both the reading of the digital balance and the movement of the vernier (G) by using mirrors. The reading of the digital balance is the same as the weight of the silk loaded, and the movement of the vernier is the same as the length of the silk elongated (Fig. 6b). These data were used in calculating the silk elongation, stress and Young's modulus. The formulae were as follows:

(a) Elongation = $(l/L) \times 100\%$

(b) Stress = $F/A = G \times g / \pi (d/2)^2 = G \times g / \pi \left(\frac{D}{2} \sqrt{\frac{L}{L+l}} \right)^2$

G : Acceleration of gravity

g : Weight borne by the silk

D : Original diameter of the silk

d : Diameter of the silk after elongation

(c) Young's modulus = $(F/A) / (l/L)$

F : Force borne by the silk

A : Cross-sectional area of the silk

L : Original length of the silk

l : Elongation of the silk after application of force

(d) Toughness = $\sum S \cdot l$

S : Stress

F. Hunting Efficiency of the Web

Three measurements were performed to examine the hunting efficiency among four groups.

1. Vibration signal transmission efficiency

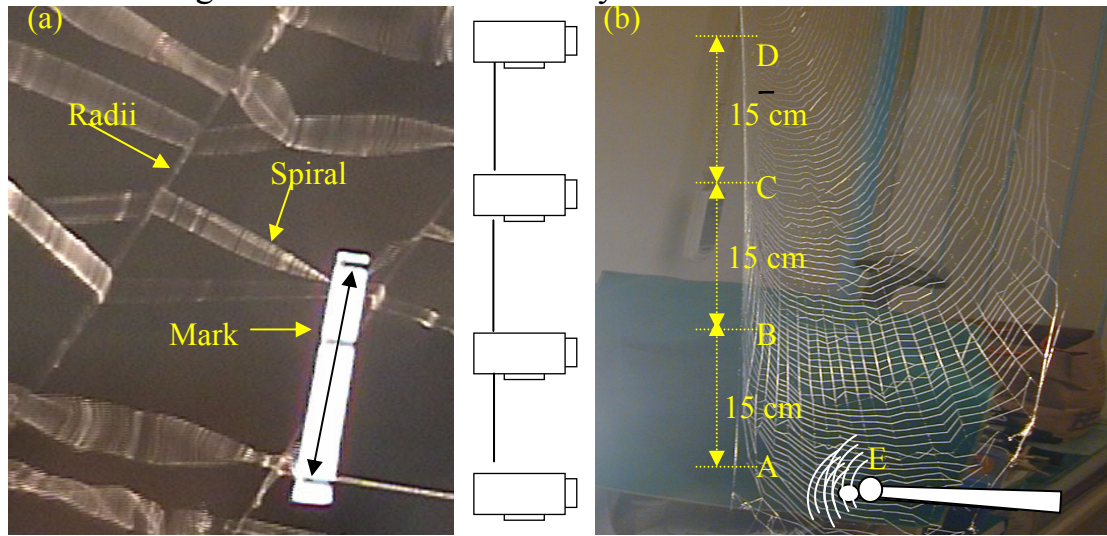


Fig. 7 Apparatus and design measurement of vibration signal transmission efficiency.

Four video cameras were vertically placed in front of the web at points A to D (Fig. 7b). The vibration signal was applied at point E and the amplitude of the vibrations (Fig. 7a) at point A ~ D were recorded simultaneously with the four video cameras. The image was then analyzed to estimate the decrement of the vibration.

2. Retention time of prey

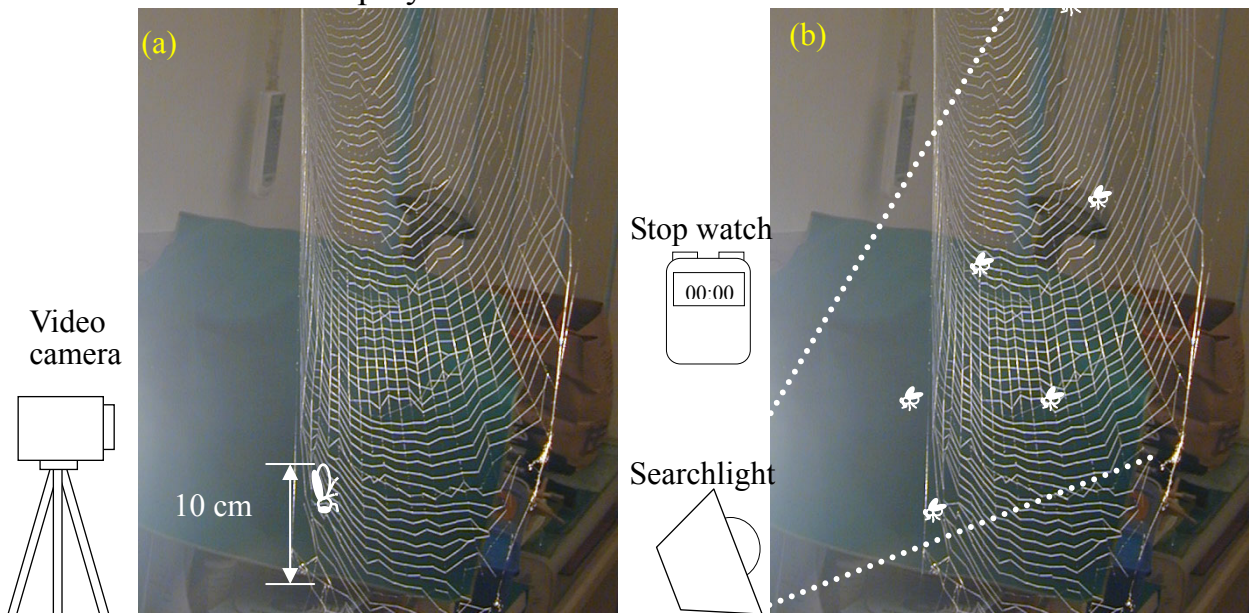


Fig. 8 Apparatus and design for measuring retention time of prey.

The cricket was entrapped about ten centimeters away from the edge of the web, and then the total retention time of the cricket was recorded by using the video camera (Fig. 8a). A searchlight was used to lure the flies bumping into the web and then the retention time of entrapped flies was recorded by using a stopwatch (Fig. 8b).

3. Stickiness of spiral

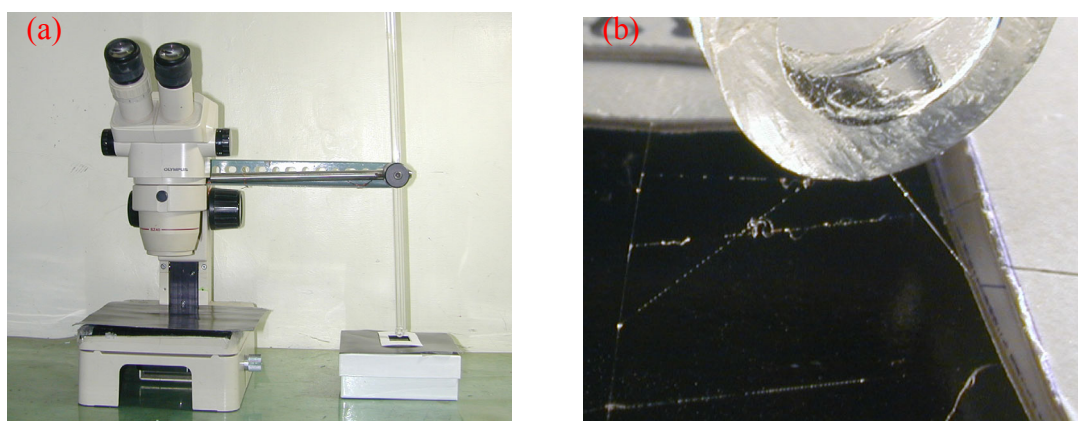


Fig. 9 (a) Apparatus for spiral stickiness measurement, a spiral stuck to an acrylic pipe and then pulled up on (b).

A paper card was used to collect a piece of the web (10×10 cm) built by spiders in each of the four groups (Fig. 9a). An acrylic pipe was fixed to the microscope (Fig. 9a) and was used to touch to a thread of sticky spiral and then it was pulled up slowly (Fig. 9b) until the sticky spiral separating from it. The vertical distance traveled was used to estimate stickiness.

G. Statistical Analysis

ANCOVA (Analysis of Covariances) tests were applied to analyze the parameters of web structures (spider body length as the covariate) and the retention time of prey (web characteristics as the covariates). Since various silk properties were dependent to each other, MANOVA (Multivariate Analysis of Variance) tests were used to analyze the properties of silk collected from different groups. Statistical analysis was performed by using SYSTAT 9.0.

Results and Discussion

Effects of coupling (groups A v.s. B) and decoupling (groups C v.s. D) prey intake and vibration signal on (A) the web structure and strength, (B) physical properties of silk and (C) hunting efficiency of the web were examined and the results are as follows.

A. Web Structures

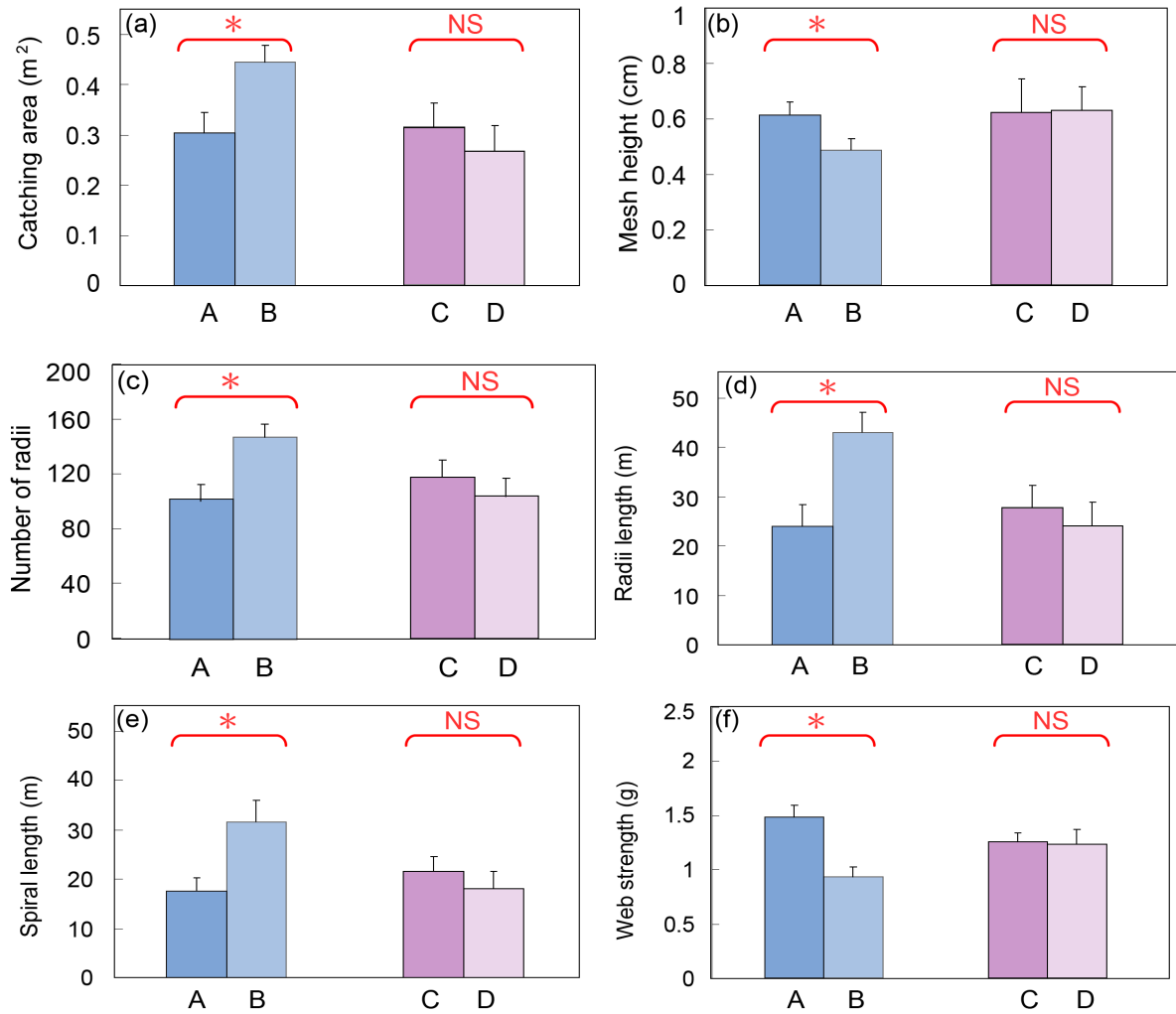
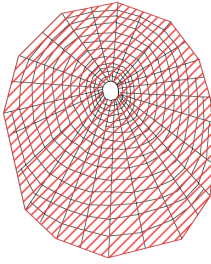
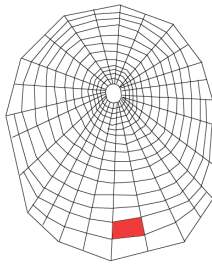
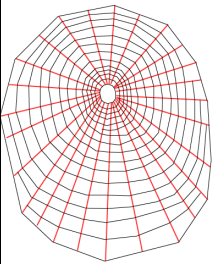
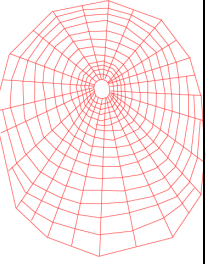
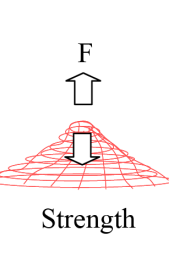


Fig. 10 Means (± SE) of various web structure variables among four feeding groups.

Table 1 The comparison of web structure built by *N. pilipes* in groups A and B.

Variables	Area	Mesh	# of radii	Silk length	Strength
Groups					
Larger prey (cricket)	Smaller	Larger	Fewer	Shorter	Larger
Smaller prey (fly)	Larger	Smaller	More	Longer	Smaller

The webs built by spiders fed with larger prey (group A), exhibited smaller area (Fig. 10a & Table 1); larger mesh (Fig. 10b & table 1), fewer number of radii (Fig. 10c & Table 1), shorter total length of radii and spiral silk (Fig. 10d, 10e & table 1). On the contrary, webs built by spiders fed with smaller prey (group B), exhibited larger area, smaller mesh, more number of radii, longer total length of radii and spiral silk. The web strength in group A was greater than that of group B (Fig. 10f & table 1). On the other hand, for all the variables examined no significant difference was found between group C and D (Fig. 10a~10f).

B. Physical Properties of Silk

1. Silk diameter

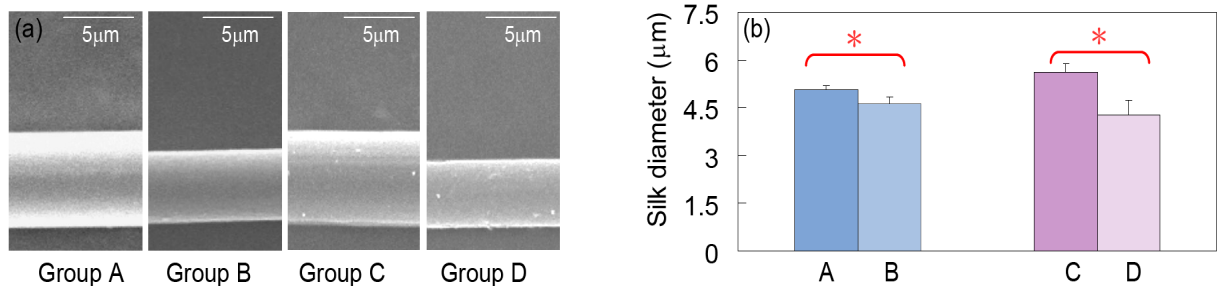


Fig. 11 The SEM photographs of the dragline silk collected from four feeding groups (a). Mean (\pm SE) diameter of dragline silk produced by spiders in four feeding groups (b).

The SEM photos of the dragline silk of group A, B, C and D were given in figure 11a. The diameter of the dragline silk produced by group A was larger than that of group B (Fig. 11b). The silk diameter of group C was also larger than that of group D (Fig. 11b).

2. Stress-strain

Table 2 Mean (\pm SE) of various physical properties of dragline silk and statistical results of comparisons.

	group A	group B	group C	group D	A vs. B	C vs. D
Elongation(%)	19.09 \pm 1.04	15.82 \pm 1.05	19.09 \pm 1.22	19.27 \pm 1.14	$F=4.898, p=0.039^*$	$F=0.012, p=0.914$
Weight (g)	2.81 \pm 0.30	1.77 \pm 0.19	3.43 \pm 0.35	3.31 \pm 0.32	$F=8.539, p=0.008^*$	$F=0.072, p=0.791$
Y's modulus (10^9 N/m ²)	7.70 \pm 0.87	5.28 \pm 0.74	9.02 \pm 1.44	9.58 \pm 1.21	$F=4.489, p=0.047^*$	$F=0.006, p=0.937$
Toughness (10^6 J/m ²)	6.14 \pm 1.03	3.78 \pm 0.37	9.08 \pm 2.03	7.48 \pm 0.51	$F=4.631, p=0.044^*$	$F=0.006, p=0.453$

The results showed that the elongation, stress, Young's modulus, and toughness of dragline silk produced by spiders in group A were significantly higher than those in group B (Table 2). Such results indicate that the dragline silk of the spiders fed with crickets is much stiffer. The physical properties of the dragline silk produced by group C did not differ from those of group D.

C. Hunting Efficiency of the Web

1. Vibration signal transmission

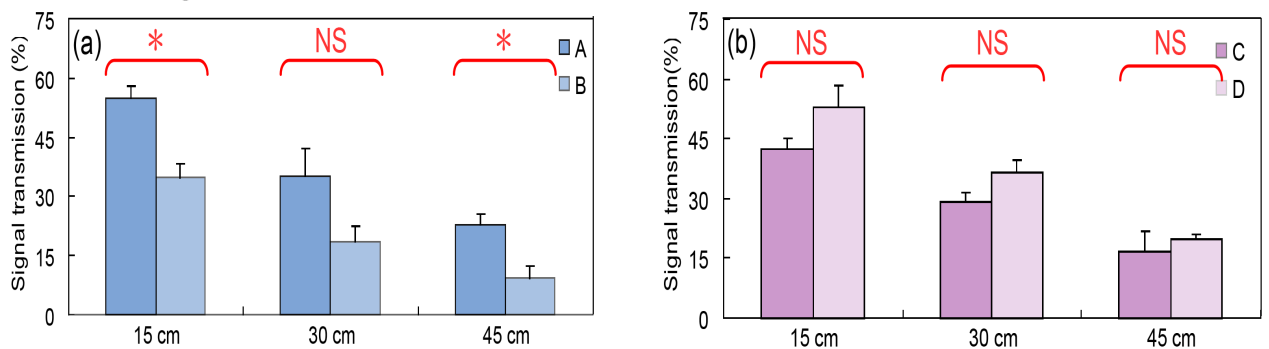


Fig. 12 Mean (\pm SE) vibration signal transmission rates of webs built by *N. pilipes* of feeding groups A, B (a) and C, D (b).

The vibration signal transmission efficiency of group A was better than that of group B (Fig. 12a). Because both the number of radii and spirals of group B were greater than those in group A, the energy in group B might have attenuated more quickly than in group A. In other words, the attenuation of the vibration signals in the web built by the spiders fed with flies was higher. And those in groups C and D were not significantly different (Fig. 12b).

2. The retention time of prey and stickiness of spiral

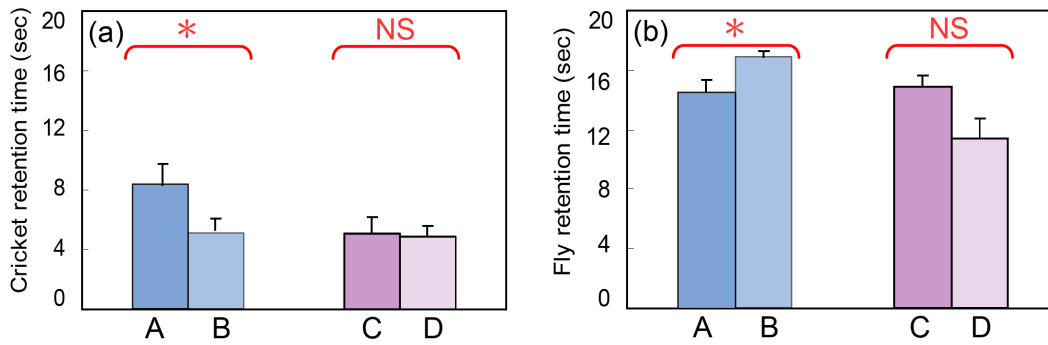


Fig. 13 Mean (\pm SE) retention time of cricket (a) and fly (b) of webs built by *N. pilipes* in four feeding groups.

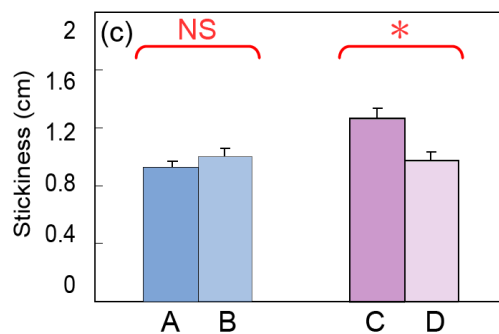


Fig. 14 Mean (\pm SE) stickiness of spiral collected from webs built by *N. pilipes* in four feeding groups.

The web in group A, in which the spiders were fed with the crickets, was able to entangle the crickets significantly longer (Fig. 13a). This might result from higher web strength, silk elasticity and toughness. The smaller mesh and more sticky spirals per unit area of group B webs might be responsible for their longer fly retention time.(Fig. 13b). The observed results did not seem to be caused by the stickiness of capture silk, because the stickiness was not significantly different between the spiral silks of groups A and B (Fig. 14).

D. Causes of Web Structural and Silk Property Variations

Table 3 Summary of web structure and silk property comparisons between spiders of feeding groups A, B (stimuli coupled) and C, D (stimuli decoupled).

Variables Groups	Web structures						Silk physical properties				
	Catching area	Mesh height	No. of radii	Radii length	Spiral length	Web strength	Silk diameter	Elongation	Stress	Young's modulus	Toughness
A vs. B (Prey intake & vibration coupled)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
C vs. D (Prey intake & vibration decoupled)	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS

*: Significant at $p = 0.05$ level ; NS: Non-significant

In this study, all the comparisons between group A and B showed significant differences. However, almost all comparisons between group C and D showed no significant difference (Table 3). Such results indicate that both prey intake and vibration signal are

important in generating the adjustments of the web structures and the physical properties of the silk.

Conclusions

1. Giant wood spiders do adjust their web structures and physical properties of the silk when they encounter different types of prey.
2. Spiders fed with larger prey built webs with larger mesh size, fewer radii but greater strength. The silk produced by these spiders exhibited larger diameter, higher elasticity and stiffness. Such webs performed better in retaining large prey.
3. Spiders fed with smaller prey built webs with smaller mesh size, more radii but less strength. The silk produced by these spiders exhibited smaller diameter, less elasticity and stiffness. Such webs performed better in retaining smaller prey.
5. The adjustments of web structures and physical properties of the silk do enhance the prey hunting efficiency of the web and also affect the vibration signal transmission.
6. Both the prey intake and the vibration signals are crucial and they must be simultaneously present to generate appropriate behavioral and physiological responses of *N. pilipes*.

Reference

1. 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.
2. Guinea, G. V., Elices, M., Real, J. I., Gutierrez, S., & Perez-Rigueiro, J. (2005) Reproducibility of the tensile properties of spider (*Argiope trifasciata*) silk obtained by forced silking, *Journal of Experimental Zoology*, 303A: 37-44.
3. Herberstein, M. E. & Tso, I. M. (2000) Evaluation of formulae to estimate the capture area and mesh height of orb webs (Araneoidea, Araneae), *Journal of Arachnology*, 28: 180-184.
4. 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.

All the pictures were taken by

評語

本件作品對餵食及刺激影響人面蜘蛛的物理特性之研究，有很好的結果。
唯對表圖表現方面的研究方法及觀念需要大幅的修正，整體而言作品表現相當優秀。