

호랑거미 (*Argiope aurentia*) 알주머니 형성과정중 관상 견사선의 변화

문 명 진

단국대학교 자연과학대학 생물과학부

Changes of Tubuliform Silk Glands during the Cocoon Production in the Garden Spider, *Argiope aurentia*

Myung-Jin Moon

Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714

(Received October 19, 1998; revised November 14, 1998)

ABSTRACT

The silk glands of the spiders are of several types. Among the several types of spider's silk glands, the principal fibers used in constructing the eggcase are products of the tubuliform glands (TBG), which are present only in females. Development of these glands parallels maturation of the ovaries and fat bodies. In order to understand the mechanism of eggcase-silk production, this paper has examined the fine structural changes of the TBG during the period of egg maturation in the garden spider, *Argiope aurentia*. Between the two kinds of secretory granules observed in the glandular epithelium of the mature TBG, the electron-dense granules which have paracrystalline structure are revealed to be the precursors of the eggcase silk fibers. During the production of eggcase, rapid release of the secretory product occurs at apical surface by the mechanism of apocrine secretion. Moreover, secondary lysosomes appear due to the rapid disorganization of cellular components during the eggcase formation. Examinations of formed fibers indicate a multicomponent internal structure, and electron micrographs reveal each fiber contains numerous electron lucent fibrils embedded in an amorphous electron dense matrix. The secretory precursors are produced as separated vesicles via well-oriented rER, and no Golgi complex has been found in the glandular epithelial cells.

Key words : Tubuliform gland, Silk, Cocoon, Spider, *Argiope aurentia*

서 론

거미류는 산란시 알을 보호하기 위한 특수한 알주머니를 만드는데, 주로 체내에서 분비된 견사(silk)

를 이용하는 특성을 지니고 있다(Sekiguchi, 1955; Tillinghast and Townley, 1987). 따라서 알주머니를 만드는 견사는 알을 보호하기 위하여 일정한 보호색을 띄고 있으며(Coddington, 1986), 월동기 동안 알의 건조나 결빙을 방지하기 위한 특수한 장치

를 지니고 있을 것으로 추정된다. 뿐만 아니라, 부화된 거미의 유생들은 알주머니 속에서 일정기간동안 탈피 및 성장의 과정을 거치는 생태적 특성(Kovoor, 1987)으로 미루어 초기 유생의 단백질 공급원(Bergthaler, 1995; Tillinghast and Townley, 1994)으로도 사용될 것으로 추측된다.

거미의 알 그물은 보통 여러 종류의 견사선으로부터 만들어지지만(Kavanagh and Tillinghast, 1979), 거의 대부분의 구성 성분은 관상선(tubuliform gland)에서부터 분비되는 것으로 알려지고 있다(Sekiguchi, 1955; Peters, 1987, 1993; Kovoor, 1987). 왕거미과의 거미들은 공통적으로 세 쌍의 관상선을 가지고 있는데, 한 쌍은 중방적돌기에, 그리고 나머지 두 쌍은 후방적돌기에 개구되어 있다(Moon and Kim, 1989). 조직화확반응과 전기영동법에 의한 분석에 의하면, 중방적돌기나 후방적돌기에 연결된 선 사이에는 차이가 없는 것으로 보고되었다(Moon *et al.*, 1988).

관상선은 다른 종류의 견사선과 마찬가지로 거미의 종류에 따라서 그 수나 형태에 변이가 많은 것으로 알려져 있는데(Kovoor, 1987; Moon and Kim, 1989), 공통적으로 거미의 자성 개체에서만 관찰된다. 여기서부터 만들어지는 실은 산란된 알을 보호하기 위한 알 그물로서 사용되는 동시에 갓 부화된 어린 거미들이 일시적으로 생활하기 위한 구조물로도 사용되는데, 난소내에서 난황형성(vitellogenesis)이 시작되는 시기를 전후하여 그 기능이 시작되는 것으로 알려져 있다(Lopez *et al.*, 1985).

따라서 본 연구는 알주머니를 만드는 견사의 특성을 파악하기 위한 연구의 일환으로, 먼저 견사를 생성하는 관상선을 실험 재료로 하여 난성숙과정과 알주머니 형성에 따른 선상피세포의 조직학적 및 미세구조적 변화를 관찰하고, 이를 토대로 알주머니 견사의 생성과정과 견사 전구물질의 체내 생성경로를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

야외에서 채집한 호랑거미(*Argiope aurentia*)를 실험실의 사육조에서 사육하며, 발생 단계에 따라

각 5개체씩을 실험재료로 사용하였다. 거미의 생리 식염용액(160 mM NaCl, 7.5 mM KCl, 4 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 4 mM NaHCO₃, 20 mM glucose, pH 7.4, Groome *et al.*, 1991)을 사용하여 해부현미경하에서 적출한 각 발생 단계의 관상선을 0.1 M phosphate buffer로 완충시킨 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde 혼합액(4°C, pH 7.4, Karnovsky, 1965)으로 2시간 동안 전고정(pre-fixation) 하고, 동일 완충용액으로 3회 세척하였다. 이어서 1% OsO₄(4°C, pH 7.4, phosphate buffer)로 후고정(post-fixation)하였으며, 다시 동일 완충용액을 사용하여 충분히 세척하고, ethanol 농도상승 순서로 탈수하였다. 탈수가 끝난 시료는 propylene oxide로 치환하고, Epon-Araldite 혼합액으로 포매하였다.

포매된 조직은 LKB ultramicrotome으로 먼저 준초박절편(semithin section)을 제작하여 1% borax에 녹인 1% toluidine blue로 hot plate(60°C) 상에서 염색한 다음, 광학현미경으로 관찰하였다. 이어서 초박절편(thin section)을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEM 100 CX-II형 투과전자현미경(TEM)으로 80 kV에서 관찰하였다.

결 과

호랑거미의 관상선은 세 쌍의 관상 견사선으로서, 자성 개체에서만 관찰되었다. 산란 직전에 최대로 성숙된 관상선의 선분비부는 분비관과 연결되어 관상선의 거의 대부분을 차지하고 있는 근위부(proximal portion)와 끝이 맹관으로 되어있는 원위부(distal portion)로 이루어져 있었으며, 이들 두 부위에서는 현저한 미세구조적 차이가 관찰되었다. 관상구조로 되어있는 분비부는 단층원주상의 상피세포와 이를 둘러싼 결합조직으로 이루어져 있었다. 산란이전의 관상선은 점진적인 크기의 증가와 함께 분비성 견사물질의 급속한 축적이 관찰되었다. 선강내에 축적된 분비물은 난소의 성숙과 함께 현저한 색상의 변화가 나타나는데, 무색 투명한 구조에서 짙은 갈색으로 변형되었고, 이 변화는 관상분비선의

원위부 말단으로부터 근위부 쪽으로 진행됨이 확인되었다.

이 시기의 선상피세포는 이질염색질의 발달되어 있었고, 원주상의 세포질 내에는 분비과립이 축적되어 세포간의 경계가 불분명하였다. 세포질에 축적된 분비과립은 전자밀도에 따라 밀도가 높은 과립과 밀도가 낮은 과립의 두 종류로 구분되었다. 전자밀도가 낮은 구형 과립은 평균직경이 약 8 μm 인 구형과립으로서 주로 관상선의 원위부에, 그리고 전자밀도가 높은 과립은 평균직경이 5 μm 인 구형과립으로서 주로 관상선의 근위부에 형성되어 있음이 관찰되었다(Fig. 1). 전자밀도가 높은 과립은 고배율의 전자현미경 상에서 격자형의 준결정(paracrystalline) 구조를 가진 단백질 과립이 확인되었으며, 견사물질의 농축에 따라 다양한 형태적 변이가 관찰되었다(Fig. 2).

특이하게, 전자밀도가 높은 과립이 함유된 분비세포의 세포질에서는 전자밀도가 낮은 구형 과립이 함께 관찰되었는데, 과립간의 융합에 의해 크기가 증가하거나, 대형과립의 내부에 소형과립이 다수 함유된 multivesicular body 형태의 과립도 흔히 관찰되었다(Fig. 3). 그러나 전자밀도가 낮은 과립이 함유된 원위부의 세포에서는 세포질에 미토콘드리아와 글리코겐 입자들이 다수 함유되어 있을 뿐, 전자밀도가 높은 과립은 전혀 함유되어 있지 않았다(Fig. 4).

산란후 알주머니를 형성한 후의 관상선은 내부에 축적된 견사물질이 일시에 소모됨으로써 해부현미경 상에서 급격히 축소되고 퇴화된 형태로 관찰되었다. 세포질에 축적된 전자밀도가 높은 분비과립은 대부분이 소실되었고, 형성과정에 있는 전자밀도가 낮은 과립만이 일부 함유되어 있었으며, 과립의 내부에는 미세한 섬유상의 구조가 관찰되었다(Fig. 5). 이 시기의 선상피세포는 알주머니 형성이전의 상피가 긴 원주형의 세포배열을 이루고 있었음에 반해, 입방형의 세포로 변형되었으며, 세포질에는 전자밀도가 높은 이차 라이소솜이 다수 함유되어 있었다. 세포의 내강부에서는 미세용모가 발달되어 있었고, 인접세포와의 연결부에는 septate junction과 desmosome이 뚜렷이 구분되었다(Fig. 6).

세포의 내강부로 이행된 분비과립들은 섬유성 물질의 증가와 함께 약간의 전자밀도 증가가 확인되었으나, 더 이상의 농축과정 없이 내강부로 분비되었으며, 이때 세포질의 일부가 함께 분비되는 전형적인 이출분비(apocrine secretion)의 형태가 관찰되었다(Fig. 7). 내강부의 세포질에는 급속한 분비현상으로 인한 세포의 자기용해과정(autolysis)을 반영하는 다수의 이차 라이소솜이 관찰되었고, 분비직전의 과립에서는 전자밀도가 높은 섬유상의 구조물이 함유되어 있었다(Fig. 8).

선상피세포의 내강면에는 미세용모가 형성되어 있었고, 내강부의 원형질막을 통해 분비된 과립들은 내강부에서 전자밀도가 높은 분비물의 덩어리와 전자밀도가 낮고 균일한 기질(matrix)로 분리되었다. 선상피세포의 분비과립에 축적되었던 전자밀도가 높은 섬유상 구조물은 내강부에서 응축된 구형의 과립을 형성하였고, 이들은 과립간의 융합에 의해 점차 전자밀도가 높은 분비물의 덩어리로 축적되었다. 반면 분비과립에서 전자밀도가 낮은 부분은 내강부의 원형질막을 통과한 후, 전자밀도가 낮고 균일한 기질물질을 형성하였다(Figs. 9, 10).

내강으로 분비된 분비부의 물질은 분비관을 통과하며 더욱 농축되어 두 가지 구성 성분이 확연히 구분되었다. 기질물질은 다소의 전자밀도 증가가 이루어졌으며, 덩어리 형태의 분비과립들은 전자밀도가 감소되어 밝고 투명한 구조로 관찰되었다(Fig. 11). 분비관을 통과하여 체외에서 알주머니를 형성한 관상선의 견사분비물질은 횡단면으로 관찰하였을 때, 분비관을 통과한 한 가닥의 견사(fiber)가 실제로는 직경이 다양한 미세사(fibril)의 집합체로 이루어져 있음이 확인되었다. 또한 이들 미세사의 주변에는 섬유상의 기질물질이 광범위하게 분포되어 보은 및 완충의 기능을 수행할 수 있는 특수 견사로서의 구조가 형성되어 있음이 관찰되었다(Fig. 12).

알주머니 형성직후의 조직 표본에서는 관상선내 견사전구물질의 합성경로를 확인할 수 있는 특징적인 구조가 명확히 관찰되었다. 선상피세포의 핵 주변부에서 전자밀도가 낮은 구형과립의 형태로 합성된 견사전구물질은 세포질에 발달된 조면소포체를 경유하여 형성되었으며, 과립의 한계막도 조면소포

체의 cisternae로부터 형성됨이 확인되었다 (Fig. 13). 핵 주변부에서 형성중인 과립들은 예외없이 모두 조면소포체와 연결되어 있었으며, 핵 주변의 세포질에는 조면소포체 외에 유리 리보솜 (free ribosome)도 발달되어 있었는데, 주로 형성중인 과립의 주변부에 집중 분산되어 있었다 (Fig. 14).

한편 분비과립의 형성이 활발한 선상피세포의 세포질에는 조면소포체와 유리 리보솜 외에도 글리코겐 입자가 다량 함유되어 있음이 관찰되었다. 그러나 세포내 분비물질의 농축과 관련된 기능을 수행하는 골지복합체는 세포질의 어디에서도 관찰되지 않았으며, 관상선의 견사 전구물질 형성 과정에 관여하지 않는 것으로 관찰되었다 (Figs. 15, 16).

고 찰

거미의 견사선은 종에 따라서 매우 다양한 변이를 보이지만, 거의 모든 종에서 존재하는 종류는 병상선, 이상선, 포도상선의 3종류이며, 알주머니를 만들기 위한 관상선이 자생 개체에 존재함이 알려져 있다 (Mullen, 1969; Koor, 1987). 거미의 관상선은 복강의 정중선을 따라 형성된 세 쌍의 분비선으로서 각각의 관상선은 그 형태적인 특성에 따라서 분비관과 선분비부로 구분되었다 (Moon and Kim, 1989; Townley *et al.*, 1991). 마지막 탈피가 일어나기 이전의 관상선은 해부현미경하에서 무색의 투명한 관상 분비선으로 관찰되었으며, 호랑거미의 경우 중방적돌기와 후방적돌기를 통해 각각 1쌍과 2쌍이 연결되어 있었다 (Moon, 1998). 관상선의 성숙은 마지막 탈피가 이루어지고, 수정이 이루어지는 시기를 전후하여 급격히 성숙되는 특성을 보였다. 이 시기는 난소내 난세포의 성숙기와 일치하며, 체내 지방체의 증가와도 밀접한 연관이 있는 것으로 확인되었다.

알 주머니를 만드는 견사섬유가 형성되는 과정은 이중 분비기작 (double secretion mechanism)에 의해 이루어짐이 보고된 바 있는데 (Anatasiu-Dumitrescu, 1937), *Teutana triangulosa*를 대상으로 관찰한 바에 의하면 먼저 관상선으로부터 tyrosine, proline 등의 기본 아미노산이 함유된 한 종의 단백

질이 분비된 이후, 색채를 가진 부가적인 생성물이 관상선의 동일세포에서부터 분비된다고 하였으며, 이러한 기작은 다른 종의 거미에서도 동일할 것으로 추측하였다. 본 실험에서도 산란 직전에 최대로 성숙된 관상선은 점진적인 크기의 증가와 함께 분비성 전사물질의 급속한 축적이 관찰되었다. 선강 내에 축적된 분비물은 성숙의 정도에 따라 현저한 색상의 변화가 나타나는데, 무색 투명한 구조에서 짙은 갈색으로 변형되었고, 이 변화는 관상분비선의 원위부 말단으로부터 근위부 쪽으로 진행됨이 확인되었다.

그러나 관상선의 경우 선분비부의 기능이 시작될 무렵의 선세포는 입방형으로 되어 있으나, 산란할 시기가 되어 선강의 내부가 생성된 분비물로 가득 차게 되면 세포의 형태가 편평형으로 바뀌게 된다고 보고된 바 있으나 (Mullen, 1969), 본 실험의 경우 내강에 분비물이 가득 차 있는 시기의 선상피는 원주형으로, 그리고 분비가 완료된 이후의 상피에서는 입방형으로 관찰되어 앞의 보고와는 조금 다른 양상을 나타내었다.

같은 왕거미과의 무당거미 (*Nephila clavata*) (Moon and Kim, 1989)나 *Araneus sericatus* (Mullen, 1969)에서 관찰된 바에 의하면, 관상선의 선분비부에 서로 다른 분비구역이 존재하며, 여기서 만들어지는 물질의 성상도 상이한 것으로 보고된 바 있다. 호랑거미를 대상으로 한, 본 연구에서도 선상피세포에 축적된 분비과립이 전자밀도에 따라 밀도가 높은 과립과 밀도가 낮은 과립의 두 종류로 구분되었고, 이들의 분포도 근위부와 원위부에 각각 분포되어 있음이 관찰되었다. 특히 전자밀도가 높은 과립은 고배율의 전자현미경 상에서 격자형의 준결정 구조를 가진 단백질 과립으로 관찰되었으며, 알주머니를 만드는데 사용되는 견사 (silk)의 직접적인 전구체인 것으로 확인되었다.

알주머니를 형성한 후의 관상선은 내부에 축적된 전사물질이 일시에 소모되어 급격히 축소되었는데, 세포질에 축적되었던 분비과립은 대부분 소실되었고, 세포의 자기용해과정 (autolysis)이 진행되고 있음을 입증하는 다수의 이차 라이소좀이 형성되어 있었다. 이는 선상피세포의 분비과립이 세포질의 일부 성분과 함께 이탈되는, 전형적인 이출분비의 기작에

의해 분비된다는 관찰 결과로 미루어 관상선의 견사 견사물질이 알주머니를 만드는 짧은 기간동안 급속하게 소모됨을 짐작할 수 있다. 이러한 분비방식은 거미 견사분비과정의 공통적인 특성으로 이미 여러 연구에서도 동일한 결과가 보고된 바 있다 (Moon and Kim, 1989; Moon *et al.*, 1998).

형성된 알주머니로부터 관찰한 결과에 의하면, 분비관을 통과한 한 가닥의 견사 (fiber)가 실제로는 직경이 다양한 미세사 (fibril)의 집합체로 이루어져 있었고, 미세사의 주변에는 섬유상의 기질물질이 광범위하게 분포되어 있음이 관찰되었다. 이러한 구조상의 특성은 비교적 최근에 Peters와 Kovoov (1991), Stubbs 등 (1992), Peters (1993) 등에 의해 일부 보고된 바 있으며, 보온, 투수 및 완충의 역할을 수행할 수 있는 특수 견사로서의 기능이 이러한 구조로부터 기인될 것으로 추정되고 있다.

한편, 거미의 견사선에서는 전체 중량의 약 10%에 달하는 막대한 양의 견사물질이 매일 합성되며, 합성에 소요되는 시간도 매우 짧아서 자극 후 20분 이내에 견사물질의 생성이 완료되는 것으로 알려져 있다 (Peakall, 1965, 1966). 알주머니 형성에 관여하는 관상선의 견사 전구물질도 세포질에 발달된 조면소포체를 경유하여 형성되었으며, 세포내 분비물질의 농축과 관련된 기능을 수행하는 골지복합체는 전혀 관여하지 않는 것으로 관찰되었다. 이는 견사의 합성이 매우 급속하게 진행되어 조면소포체와 골지체를 경유하는 일반적인 분비방식이 견사합성과정에는 적용되지 않음을 시사하고 있다.

Bell과 Peakall (1969), Moon과 Kim (1989), Moon 등 (1998) 등도 견사물질을 생성하는 견사선의 선세포에 골지복합체가 없고 조면소포체만이 발달되어 있다는 사실을 관찰하고 거미의 견사물질은 조면소포체 내에서 이미 분비할 준비가 완료된 상태로 합성되며, 골지복합체를 통한 더 이상의 농축과정이 필요하지 않음을 보고한 바 있다. 본 실험에 사용된 관상선의 선분비부에서도 골지복합체가 전혀 관찰되지 않았고, 조면소포체만이 매우 발달되어 있었으며, 분비과립이 조면소포체와 직접 연결되어 있는 점등으로 미루어, 분비과립은 모두 조면소포체로부터 기원하며, 과립의 한계막도 소포체로부터 형성

되는 것으로 사료된다.

결 론

거미의 여러 견사선 중에서 알주머니를 만들기 위해 주로 사용되는 섬유는 자성 개체에서만 존재하는 세 쌍의 관상선으로부터 형성된다. 이러한 관상선의 성숙은 난소의 성숙과 지방체의 증가가 일어나는 시기와 일치하는 것으로 관찰되었다. 본 연구는 호랑거미의 일종인 *Argiope aurantia*를 실험체료로 산란과 알주머니 형성을 전후한 관상선의 미세구조적 변화를 비교 분석하여 알주머니 형성과 관련된 견사의 합성 기전을 밝히고자 하였다.

산란전 최대로 성숙된 관상선의 상피에서는 두 종류의 분비과립이 구분되었다. 이 중, 전자밀도가 높은 과립은 고배율의 전자현미경 상에서 격자형의 결정구조를 가진 단백질 과립임이 확인되었으며, 견사의 직접적인 전구체인 것으로 확인되었다. 알주머니 형성기의 선상피에서는 이출분비에 의한 과립의 급속한 분비가 관찰되었고, 세포질에는 다수의 이차라이소솜이 형성되었다. 최종적으로 알주머니를 형성한 견사는 직경이 다양한 다수의 미세사가 전자밀도가 높은 무정형의 기질속에 포매되어 있는 형태로 관찰되었다.

한편 선상피에 함유된 견사 전구물질의 형성과정에는 세포질에 고루 발달되어 있는 조면소포체와 유리 리보솜, 그리고 글리코젠 입자 등이 관여하는 것으로 관찰되었으며, 견사생성과 관련된 골지복합체의 역할은 확인되지 않았다.

감사의 글

이 논문은 단국대학교 대학연구비의 지원에 의하여 수행되었음.

참 고 문 헌

Anatasiu-Dumitrescu M, 1937. Les glandes sericigenes tubulaires de *Teutana triangulosa* Walck,

- Arch. Zool. Exp. Gen. 79, 58-68
- Bell AL, Peakall DB, 1969. Changes in fine structure during silk protein production in the ampullate gland of the spider *Araneus sericatus*, J. Cell Biol. 42, 284-295
- Bergthaler GJ, 1995. The cocoon of *Argiope bruennichi* (Scopoli, 1772): a SEM study. Proc. 15th Eur. Coll. Arachnol. pp. 22-26
- Coddington J, 1986. The monophyletic origin of the orb web, In: Spider Webs and Spider Behavior, ed. W. Nentwig, Stanford Univ. Press, pp. 319-363
- Groome JR, Townley MA, de Tschaschell M, Tillinghast EK, 1991. Detection and isolation of proctolin-like immunoreactivity in Arachnids: Possible cardioregulatory role for proctolin in the orb-weaving spiders *Argiope* and *Araneus*, J. Insect Physiol. 37, 9-19
- Karnovsky MJ, 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy, J. Cell Biol. 27, 137A
- Kavanagh EJ, Tillinghast EK, 1979. Fibrous and adhesive components of the orb webs of *Araneus trifolium* and *Argiope trifasciata*, J. Morphol. 160, 17-32
- Kovoor J, 1987. Comparative structure and histochemistry of silk-producing organs in Arachnids, In: Ecobiology of Spiders, ed. W. Nentwig, Springer-Verlag, Berlin, pp. 159-186
- Lopez A, MK Stowe, Bonaric JC, 1985. Anatomie interne de l'"araignee a bolas" nordamericaine *Mastophora cornigera* (Hentz, 1850) (Araneae: Araneidae) apres sa sortie du cocon, Publ. Sci. Accel. 8, 1-8
- Moon MJ, 1998. Fine structure of the silk producing apparatus in the garden spider, *Argiope bruennichi*, Kor. J. Entomol. 28, (in press)
- Moon MJ, Baek SB, Kim WK, 1988. Study on the histochemical characteristics and protein patterns of the spider silk glands in *Nephila clavata* L. Koch, Kor. Arachnol. 4, 127-136
- Moon MJ, Kim WK, 1989. Ultrastructural study on the tubuliform glands in *Nephila clavata* L. Koch (Araneae: Araneidae), Kor. Arachnol. 5, 43-55
- Moon MJ, Townley MA, Tillinghast EK, 1998. Fine structural analysis of secretory silk production in the black widow spider, *Latrodectus mactans*, Kor. J. Biol. Sci. 2, 145-152
- Mullen GR, 1969. Morphology and histology of the silk glands in *Araneus sericatus* CL., Trans. Amer. Microsc. Soc. 88, 232-240
- Peakall DB, 1965. Regulation of the synthesis of silk fibroins of spiders at the glandular level, Comp. Biochem. Physiol. 15, 509-515
- Peakall DB, 1966. Regulation of protein production in the silk glands of spiders, Comp. Biochem. Physiol. 19, 253-258
- Peters HM, 1987. Fine structure and function of capture threads, In: Ecobiology of Spiders, ed. W. Nentwig, Springer-Verlag, Berlin, pp. 187-202
- Peters HM, 1993. Functional organization of the spinning apparatus of *Cyrtophora citricola* with regard to the evolution of the web (Araneae: Araneidae), Zoomorphology 113, 153-162
- Peters HM, Kovoor J, 1991. The silk-producing system of *Linyphia triangularis* (Araneae: Linyphiidae) and some comparisons with Araneidae: Structure, histochemistry and function, Zoomorphology 111, 1-17
- Sekiguchi K, 1955. Differences in the spinning organs between male and female spiders, Sci. Rep. Tokyo Kyoiku Daig. Sect. B 8, 23-32
- Stubbs DG, Tillinghast EK, Townley MA, 1992. Fibrous composite structure in a spider silk, Naturwissenschaften 79, 231-234
- Tillinghast EK, Townley MA, 1987. Chemistry, physical properties, and synthesis of Araneidae orb webs, In: Ecobiology of Spiders, ed. W. Nentwig, Springer-Verlag, Berlin, pp. 203-210
- Tillinghast EK, Townley MA, 1994. Silk glands of Araneid spiders: Selected morphological and physiological aspects, In: Silk Polymers: Materials science and biotechnology. Amer. Chem. Soc., pp. 29-44

Townley MA, Horner NV, Cherim NA, Tugmon *cavaticus* (Araneae, Araneidae), J. Morphol. CR, Tillinghast EK, 1991. Selected aspects of 208, 175-191 spinning apparatus development in *Araneus*

FIGURE LEGENDS

- Figs. 1-4.** Electron micrographs of the tubuliform gland in the garden spider, *Argiope aurentia*, just before ovulation. 1, The secretory regions are composed of single layer of tall columnar epithelial cells with large and irregular nuclei. Two kinds of secretory cells are identified according to their secretory granules. 2, 3, The electron dense secretory granules (Gd) have peculiar paracrystalline structure which are characteristics of protein granules. These granules are presumed to be the main precursors of eggcase silk fibers. 4, The electron lucent secretory granules (Gl) which are also presumed to be the precursors of silk fibers appeared at the distal secretory portion of the tubuliform gland. All scale bars indicate 5 μ m.
- Figs. 5-8.** Electron micrographs of the tubuliform gland in the garden spider, *Argiope aurentia*, after production of the eggcase. 5, After extrusion of silk granules, glandular epithelium is changed to single layer of cuboidal cells with large electron-lucent secretory vesicles (Sv). 6, 7, During the production of eggcase, rapid release of the secretory product occurs at apical surface by the mechanism of apocrine secretion, and each cell loses part of its cytoplasm in this process. The apices of the glandular cells are fringed with short and irregular microvilli (Mv). 8, Numerous secondary lysosomes (Ly) appear due to the rapid disorganization of cellular components during the eggcase formation. Scale bars indicate 3 μ m (Figs. 5, 6, 7) and 1 μ m (Fig. 8), respectively.
- Figs. 9-12.** Electron micrographs of the tubuliform gland in the garden spider, *Argiope aurentia*, after production of the eggcase. 9, 10, Along the luminal surface, the secretory silk products (Sp) are progressively filled with compact material during the process of maturation. The secretory products of these glandular epithelium are clearly visible as discrete vesicles released into the lumen. 11, 12, Examinations of formed fibers indicate a multicomponent internal structure, and electron micrographs reveal each fiber contains numerous electron lucent fibrils (Fb) embedded in an amorphous electron dense matrix (Mx). Cu: cuticle, Mv: microvilli. Scale bars indicate 3 μ m (Figs. 9, 10, 11) and 1 μ m (Fig. 12), respectively.
- Figs. 13-16.** Electron micrographs of the tubuliform gland in the garden spider, *Argiope aurentia*, before ovulation stage. 13, 14, At the basal epithelium, electron-lucent secretory vesicles (Sv), which are presumed to be the precursors of eggcase-silk granules, are formed. Small vesicles (arrows) are synthesized from the rough endoplasmic reticulum (rER), and secretory silk vacuoles are formed by fusion with other small vesicles. Limiting membranes of these vesicles also connected with cisternae of this cell organell. 15, 16, The secretory precursors are also produced with the aids of glycogen particles (Gp) and numerous free ribosomes (Rb). However, no Golgi complex has been found in the glandular epithelial cells. Nu: nucleus. All scale bars indicate 5 μ m.







