

## 不同产地冬虫夏草及不同厂家虫草发酵菌丝的可溶性蛋白比较

俞森华 王晓虎 李绍平 季 晖

(中国药科大学生药学教研室, 南京 210038)

**The comparison on soluble protein of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. from different localities and its fermentative hyphae from different factories** YU Sen-hua, WANG Xiao-hu, LI Shao-ping, JI Hui (Department of Pharmacognosy, China Pharmaceutical University, Nanjing, 210038), *J. Plant Resour. & Environ.* 2000, 9(2): 59~61

**Abstract:** Polyacrylamide gel electrophoresis was employed to comparatively analyse the soluble protein zones of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. from Qinghai, Yunnan, Sichuan Provinces and fermentative hyphae of *Cordyceps sinensis* from 4 factories. The results indicated that there are differences in constituents of protein zones among different samples. The soluble protein zones of different sections of *Cordyceps sinensis* are obviously different. This study can provide scientific basis for identification and quality evaluation of *Cordyceps sinensis*.

**关键词:** 冬虫夏草; 可溶性蛋白; 发酵菌丝

**Key words:** *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.; soluble protein; fermentative hyphae

**中图分类号:** S567.3<sup>+</sup>5; Q51 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2000)02-0059-03

冬虫夏草 [*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.] 为我国滋补名贵出口中药, 主产于青海、西藏、四川、云南、甘肃等省。因野生资源有限, 严重脱销。为解决药源问题, 近年来我国已开发出了虫草菌丝体发酵产品<sup>[1]</sup>。由于虫草系真菌寄生在昆虫体上的复合体, 形态鉴定标准难以把握, 药材购销过程中常出现品种混淆, 真伪难分, 并且不同产地的冬虫夏草价格相差也较大, 特别是不同厂家用于发酵生产的菌株不同, 产品价格相差 10 倍以上。因此提供可靠的鉴别依据和合理的品质评价标准十分必要, 但至今这方面的工作开展甚少。

利用蛋白质谱带构成电泳图谱的相似程度能正确预测种间亲缘关系<sup>[2]</sup>, 并且已有研究表明不同虫草品种及不同虫草发酵菌丝的蛋白质谱带存在着差异<sup>[3,4]</sup>, 因此作者利用蛋白质电泳手段, 分析比较了不同产地天然冬虫夏草和不同厂家虫草发酵菌丝的可溶性蛋白谱带, 旨在为虫草及其发酵菌丝的鉴定和品质评价提供科学依据。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材 料

不同产地的天然虫草从当地医药公司购得, 经进一步鉴定确证后作清洁、干燥和紫外照射处理, 用洁净刀片按不同部位切取备用。不同厂家的虫草发酵菌丝从厂家直接购得, 经干燥和紫外照射处理后备用(见表 1)。

#### 1.2 方 法

参照黄韶光等的方法<sup>[4]</sup>进行样品液的制备; 采用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶电泳, 其电泳制板及电泳条件按吴少伯<sup>[5]</sup>方法; 按傅鸿仪等<sup>[6]</sup>方法进行染色。

先随机选取 4 株青海产冬虫夏草的菌核部分, 其中 1 株的菌核去除皮壳, 3 株菌核皮壳保留, 制备 4 份样品, 重复 3

次电泳。结果表明同一产地的不同样株间, 各样品的重复实验以及完整菌核与去皮壳的菌核间均表现出基本一致的蛋白谱带, 差异甚小; 对子座的子囊壳部位和非子囊壳部位分别进行提取和电泳, 两者的蛋白谱带也基本一致。在预试验的基础上, 按表 1 取天然虫草材料各 1 g, 发酵菌丝粉末各 2 g 共制备 8 份样品在同一凝胶板上重复 3 次电泳, 并对电泳结果进行分析。

### 2 结果与分析

虫草样品可溶性蛋白质谱带  $R_f$  值见表 2, 谱带模式图见图 1。

可以看出: (1) 冬虫夏草不同取材部位有不同的蛋白谱带。从谱带数量看, 菌核部位的谱带数接近子座部位的 2 倍。谱带的  $R_f$  值也反映出菌核部位的 13 条谱带只有 3 条与子座部位相同。由此可见菌核部位与子座部位的蛋白质谱带存在较大差异。(2) 3 个不同产地冬虫夏草菌核部位都有一些活性较强便于区分的较宽谱带, 并且云南、四川产的冬虫夏草各有特征蛋白谱带(即第 20、21 和 23 带), 青海产的冬虫夏草没有特征蛋白谱带, 但可以从谱带活性、宽度等指标上与云南、四川产的冬虫夏草区别, 因此蛋白质谱带的差异可作为不同产地天然冬虫夏草的鉴别依据。(3) 4 种不同厂家虫草发酵菌丝的蛋白谱带在数量、 $R_f$  值、宽度、活性强弱上也存在着一定差异。河北保定制药厂发酵产品有 5 条较宽的活性强的谱带(第 10、13、16、22、24 带), 其他 3 家药厂产品无明显的活性较强的谱带, 因而区别明显。而浙江万丰

收稿日期: 1999-10-28

作者简介: 俞森华, 男, 1969 年 9 月生, 江苏人, 硕士, 助教, 主要从事菌物系统学及生理生化研究。

药厂、江西国药厂、华东制药厂产品谱带活性弱,不易直接从谱带上加以区别。浙江万丰药厂和华东制药厂用于发酵生产的菌株相同,在蛋白谱带上也出现了2条基本相同的较宽的但活性较弱的谱带(第20、22带),但是浙江万丰药厂发酵产品出现了较宽但活性较弱的第17谱带,而华东制药厂发酵产品出现了较宽的但活性较弱的第23谱带,因而从蛋白

质谱带的差异上可以区分两家产品。

综上所述,不同部位、不同产地的虫草以及不同厂家虫草发酵菌丝蛋白谱带的数量、 $R_f$ 值、宽度和活性强弱等均存在一定差异,且带型稳定可靠。这一研究结果可为虫草各类产品的鉴定提供科学依据,并对虫草的子座、菌核执行同一价格的市场行为提出疑问。

表1 供试虫草样品的取材部位和产地(或厂家)

Table 1 Sample sections and localities (or factories) of *Cordyceps sinensis* material tested

编号 Number	样品 Sample	取材部位 Sections examined	产地或厂家 Localities or factories
1	冬虫夏草 <i>Cordyceps sinensis</i>	子座 Stroma	青海玉树 Yushu, Qinghai
2	冬虫夏草 <i>Cordyceps sinensis</i>	菌核 Sclerotium	青海玉树 Yushu, Qinghai
3	冬虫夏草 <i>Cordyceps sinensis</i>	菌核 Sclerotium	云南中甸 Zhongdian, Yunnan
4	冬虫夏草 <i>Cordyceps sinensis</i>	菌核 Sclerotium	四川阿坝 Aba, Sichuan
5	蝙蝠蛾拟青霉 <i>Paecilomyces hepiali</i>	菌丝粉末 Hyphae fragment	江西国药厂 Guoyao medical factory, Jiangxi
6	中华束丝孢 <i>Capalosporium sinensis</i>	菌丝粉末 Hyphae fragment	浙江万丰制药厂 Wanfeng medical factory, Zhejiang
7	中华束丝孢 <i>Capalosporium sinensis</i>	菌丝粉末 Hyphae fragment	华东制药厂 East-China medical factory
8	粉红胶霉菌 <i>Gliocladium roseum</i>	菌丝粉末 Hyphae fragment	河北保定制药厂 Baoding medical factory, Hebei

表2 虫草样品可溶性蛋白谱带  $R_f$  值

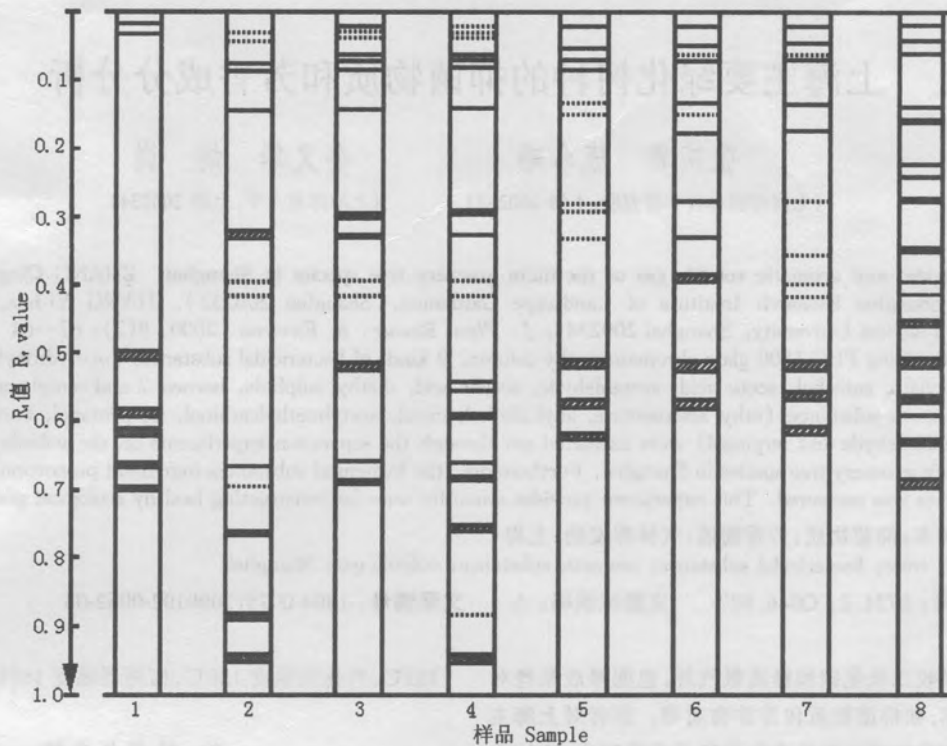
Table 2 The soluble protein zones  $R_f$  value of *Cordyceps sinensis* samples

样品 <sup>1)</sup> Sample	蛋白质谱带 $R_f$ 值 $R_f$ value of the protein zones														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	0.01	-	0.03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	0.03	0.04	-	0.07	0.09	-	0.15	-	-	-	-	-	0.33
3	-	0.03	0.03	0.04	0.06	0.07	0.09	-	0.15	-	-	-	-	0.31	0.33
4	-	0.03	0.03	0.04	0.07	0.08	0.09	-	0.15	-	-	-	-	0.31	0.33
5	-	0.02	-	0.05	-	0.07	0.08	0.14	0.15	-	-	-	0.28	0.29	0.33
6	-	0.02	-	0.05	0.07	0.07	-	0.13	0.15	0.18	-	-	0.28	-	0.33
7	-	0.02	-	0.04	0.06	0.07	-	0.13	-	0.18	-	-	0.27	-	-
8	-	0.02	-	0.04	0.06	-	-	0.14	-	0.18	0.23	0.25	0.28	-	-

样品 <sup>1)</sup> Sample	蛋白质谱带 $R_f$ 值 $R_f$ value of the protein zones														
	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
1	-	-	-	-	0.51	-	-	0.59	0.62	0.67	0.69	-	-	-	
2	-	0.40	0.41	-	-	-	-	-	-	0.67	0.69	0.75	0.88	0.94	
3	-	0.40	0.41	-	0.52	-	-	-	-	0.65	0.69	-	-	-	
4	-	0.40	0.41	-	-	0.55	-	0.59	-	0.67	0.69	0.76	0.88	0.94	
5	-	-	-	-	0.51	-	0.58	-	0.62	-	-	-	-	-	
6	-	0.39	-	-	0.52	-	0.58	-	-	-	-	-	-	-	
7	0.36	0.40	0.42	-	0.52	-	0.57	0.60	-	-	-	-	-	-	
8	0.35	0.40	0.42	0.47	0.52	-	0.57	0.59	0.63	-	0.68	-	-	-	

<sup>1)</sup> 1. 青海玉树冬虫夏草子座 stroma of *Cordyceps sinensis* from Yushu, Qinghai; 2. 青海玉树冬虫夏草菌核 sclerotium of *Cordyceps sinensis* from Yushu, Qinghai; 3. 云南中甸冬虫夏草菌核 sclerotium of *Cordyceps sinensis* from Zhongdian, Yunnan; 4. 四川阿坝冬虫夏草菌核 sclerotium of *Cordyceps sinensis* from Aba, Sichuan; 5. 江西国药厂蝙蝠蛾拟青霉菌丝粉末 hyphae fragment of *Paecilomyces hepiali* from Guoyao medical factory, Jiangxi; 6. 浙江万丰制药厂中华束丝孢菌丝粉末 hyphae fragment of *Capalosporium sinensis* from Wangfeng medical factory, Zhejiang; 7. 华东制药厂中华束丝孢菌丝粉末 hyphae fragment of *Capalosporium sinensis* from East-China medical factory; 8. 河北保定制药厂粉红胶霉菌菌丝粉末 hyphae fragment of *Gliocladium roseum* from Baoding medical factory, Hebei



1. 青海玉树冬虫夏草子座 stroma of *Cordyceps sinensis* from Yushu, Qinghai; 2. 青海玉树冬虫夏草菌核 sclerotium of *Cordyceps sinensis* from Yushu, Qinghai; 3. 云南中甸冬虫夏草菌核 sclerotium of *Cordyceps sinensis* from Zhongdian, Yunnan; 4. 四川阿坝冬虫夏草菌核 sclerotium of *Cordyceps sinensis* from Aba, Sichuan; 5. 江西国药厂蝙蝠蛾拟青霉菌丝粉末 hyphae fragment of *Paecilomyces hepiali* from Guoyao medical factory, Jiangxi; 6. 浙江万丰制药厂中华束孢菌丝粉末 hyphae fragment of *Cephalosporium sinensis* from Wangfeng medical factory, Zhejiang; 7. 华东制药厂中华束孢菌丝粉末 hyphae fragment of *Cephalosporium sinensis* from East-China medical factory; 8. 河北保定制药厂粉红胶霉菌菌丝粉末 hyphae fragment of *Gliocladium roseum* from Baoding medical factory, Hebei

图1 虫草可溶性蛋白谱带模式图  
Fig. 1 The soluble protein zones of *Cordyceps sinensis*

参考文献

[1] 宋振玉. 中草药现代研究[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1995. 91~113.

[2] Lorenzo A, Kronstad W E, Vieira L G E. Relationship between high molecular weight glutenin subunits and leaf volume in wheat as measured by the sodiumdodecyl sulphate sedimentation test[J]. *Crop Sci*, 1987, 27: 253~257.

[3] 陈敏,戴如琴,邵爱娟,等. 几种虫草发酵菌丝酯酶同工酶及游离全蛋白的比较[J]. *中国中药杂志*, 1995, 20(10): 585~586.

[4] 黄韶光,王祖恩. 冬虫夏草及其混淆品的蛋白电泳鉴别[J]. *中国中药杂志*, 1992, 17(4):202~203.

[5] 吴少伯. 植物组织中蛋白质及同工酶的聚丙烯酰胺盘状电泳[J]. *植物生理学通讯*, 1979, (1):30~33.

[6] 傅鸿仪,耿玉轩,张孔恬. 高粱雄性不育系的呼吸酶和游离全蛋白质的电泳分析[J]. *遗传*, 1980, 2(3):28~30.

(责任编辑:宗世贤)