

两种鲨鱼鳃部真菌菌群的 PCR-DGGE 分析*

张翼^{1,2} 穆军^{1,3} 冯妍¹ 阎松¹

(1. 大连交通大学环境与化学工程学院 大连 116028; 2. 大连理工大学生命科学与技术学院 大连 116024;
3. 浙江海洋学院海洋科学与技术学院 舟山 316022)

摘要 以提取自东海海域两种鲨鱼(尖吻鲭鲨和噬人鲨)鳃耙组织的总 DNA 为模板, 对其真菌菌群 rDNA 的基因内转录间隔区 ITS1 序列进行了 PCR 扩增, 扩增产物经变性梯度凝胶电泳(DGGE)分离, 电泳图谱中的 7 条主要条带经过二次 PCR 扩增后进行了克隆测序。NCBI-BLAST 比对及分子系统发育分析结果表明, 尖吻鲭鲨鳃部真菌菌群的优势种来自四个分类单元, 其中一个来自青霉属, 三个来自曲霉属; 噬人鲨鳃部真菌的优势种来自四个分类单元, 其中一种来自青霉属、两个来自梗孢酵母属、一个来自枝顶孢属; 青霉属为两种鲨鱼鳃部共同的优势菌; 另外 DGGE 指纹图谱显示还有种类较丰富的劣势菌存在。数据库检索显示多数真菌分类单元具有较好的产生生物活性天然产物的潜力。该 PCR-DGGE 分析揭示鲨鱼鳃部栖生有较丰富的真菌类群, 它们的代谢产物及其与宿主之间的相互作用还有待深入研究。

关键词 鲨鱼; 鳃; 真菌菌群; ITS rDNA; 变性梯度凝胶电泳

中图分类号 Q938 doi: 10.11693/hyhz20121205002

在海洋动植物的体内或体表普遍栖生有真菌等各类微生物, 它们与宿主之间存在着共栖、共生或寄生关系。某些共附生微生物能产生一些具有细胞毒性或抗菌活性的化学物质, 参与宿主对外界虫害、捕食者、污损生物或病原微生物的化学防御, 提高宿主的的环境适应性和生存能力(Haygood *et al*, 1999; Armstrong *et al*, 2001; Taylor *et al*, 2007), 因此成为海洋天然产物化学研究的焦点资源, 其中共附生真菌因其代谢潜力强大而备受关注(Bugni *et al*, 2004; Saleem *et al*, 2007)。但目前国内外海洋共附生真菌等药源微生物的宿主来源主要集中于海绵、红树林、海藻等营固着生活的海洋动植物, 对于鱼类等营游泳生活的宿主的相关研究报道非常少(林永成等, 2003; Bugni *et al*, 2004; 周荣丽等, 2008)。

鲨鱼是体型较大的鱼类, 广泛分布于各大洋, 也是我国海域主要的软骨鱼类(朱元鼎等, 2001; 张清榕等, 2005)。它们的一些生理特点不同于硬骨鱼类, 如

没有鳔, 而仅靠肝脏油脂浮力不足, 因此多数鲨鱼一直在积极游泳靠鳍提供升力以避免下沉, 在游泳时大流量的海水流经鳃裂给鲨鱼提供氧气, 以姥鲨为例, 每小时须过滤 2000m³ 的海水(孟庆闻等, 1987; Maddalena, 2007; Knickle *et al*, 2011), 这非常有利于截获富集广泛海域内的丰富多样的海洋微生物。而且鳃组织充足的氧气、毛细血管网提供的丰富营养都非常有利于真菌等好氧海洋微生物的栖居生长, 可视为一种“自航式微生物采样器”, 但目前关于其药源微生物的研究报道非常少(王灿等, 2009)。

众所周知, 可培养微生物通常只占环境微生物总数的冰山一角, 而变性梯度凝胶电泳技术(DGGE)则可不依赖于传统的菌株分离培养策略, 可直接揭示样品中的微生物种类及其组成, 因此也被越来越多地用于研究珊瑚、海绵、海藻等海洋生物宿主中共附生微生物菌群组成(Bourne *et al*, 2005; Gao *et al*, 2008; Zuccaro *et al*, 2008)。由于鲨鱼鳃具有较明显的

* 国家自然科学基金项目, 20902009 号; 中国博士后科学基金项目, 2011M500051 号, 2012T50258 号; 辽宁省教育厅优秀人才支持计划, 2009R08 号。张翼, 博士, 副教授, E-mail: hubeizhangyi@163.com

通讯作者: 穆军, 博士, 教授, E-mail: mujun1971@126.com

收稿日期: 2012-12-05, 收修改稿日期: 2013-04-22

软件构建 NJ 树、UPGMA 树(Thompson *et al*, 1997; Tamura *et al*, 2007)。结合 BLAST 比对及聚类分析系统树结果, 确定优势条带所对应的分类单元。

2 结果

2.1 PCR 扩增

如图 1 所示, 使用真菌 rDNA 通用引物对 ITS1-GC、ITS2-GC 从两种鲨鱼的鳃组织中都扩增出了较明亮的条带, 其长度约为 320 bp, 符合真菌 ITS1 rDNA 区的长度特征, 这表明这两种鲨鱼鳃部都栖息有较丰富的真菌。实验中也曾使用通用引物对 ITS1、ITS4 试图扩增出 ITS1-5.8S-ITS2 全长序列, 但发现扩增条带亮度较为微弱, 不宜用于下一步的变性梯度凝胶电泳, 故未采用。

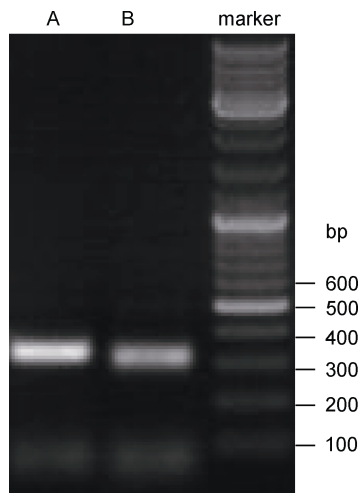


图 1 两种鲨鱼鳃部真菌 ITS1 rDNA 及邻接区 PCR 扩增结果(A.尖吻鲭鲨; B.噬人鲨)

Fig.1 PCR amplification result of fungal partial 18S-ITS1-partial 5.8S rDNA sequences in two shark species' gill samples (A. *Isurus oxyrinchus*; B. *Carcharodon carcharias*)

2.2 变性梯度凝胶电泳 DGGE

将 PCR 扩增得到的产物(ITS1 全长序列及相邻的上游 18S 和下游 5.8S 的部分序列)经变性梯度凝胶电泳后, 可用于分析两种鲨鱼鳃中的真菌菌群。如图 2 结果显示, 两种鲨鱼鳃都显示了较丰富的 DGGE 指纹, 样品 A、B 各含有 4 条较亮带, 这表明它们各自含有至少四种优势菌, 其中带 1 为两样品的共有条带, 除此之外, 两样品中还都显示了较丰富的微量条带, 该结果表明这两种鲨鱼鳃部均栖息有较丰富的真菌类群。而这两种鲨鱼鳃中的优势均又存在明显差异, 这可能与其生活环境有关, 也可能是由种间差异或个体差异造成的。

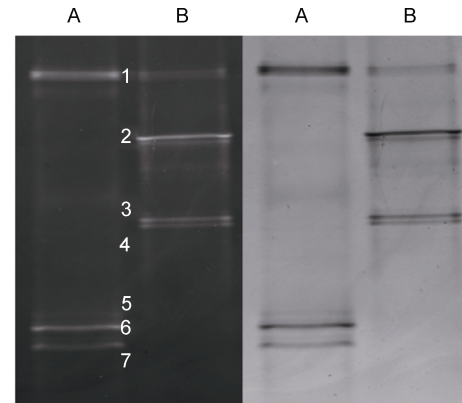


图 2 两种鲨鱼鳃部真菌菌群的 DGGE 指纹图谱(左: 紫外成像; 右: 自然光成像。A.尖吻鲭鲨; B.噬人鲨)

Fig.2 DGGE fingerprints of fungal community in the two shark species' gill (left: image under UV; right: image under natural light. A. *Isurus oxyrinchus*; B. *Carcharodon carcharias*)

为提高扩增反应的可靠性、提高测序成功率, 利用引物对 ITS1、ITS2 对上述优势条带进行了第二次 PCR 扩增, 如图 3 所示, 7 条带均获得了较浓的扩增产物, 其序列长度符合真菌 ITS1 区特征。经电泳纯化、连接载体、转化大肠杆菌感受态细胞后, 从每个条带获得的 3 个阳性克隆提取质粒测序, 结果一致, 并将序列提交 GenBank (表 2), 通过 BLAST 与 GenBank 收录的真菌相应序列数据比对后, 发现带 1 为青霉菌(*Penicillium*), 带 2、3 为梗孢酵母属(*Sterigmatomyces*), 带 4 为枝顶孢属(*Acremonium*), 带 5、6、7 为曲霉属(*Aspergillus*), 它们与数据库中相应种属菌株序列的相似性达到了 99%—100%。

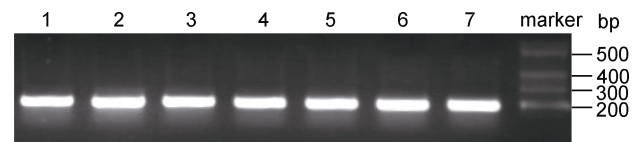


图 3 经第二次 PCR 扩增后的优势条带电泳图

Fig.3 The electrophoresis of the dominant bands amplified by the second round of PCR

由于 BLAST 结果显示每个条带与 GenBank 收录的相应属中多个种的序列相似性数值均相同, 为进一步了解优势条带所代表真菌的分类地位, 从 GenBank 数据库下载了相应属中多个种的该段 DNA 序列进行比较, 这些序列均来自一些主要菌种库, 如美国典型培养物保藏中心(ATCC)、美国农业部农业研究局菌种保藏中心(ARS/NRRL)、荷兰微生物菌种保藏中心(CBS)、英国真菌保藏中心(CABI)及丹麦科技大学真菌保藏中心(IFT)的保藏菌株。利用 MEGA

表 2 DGGE 优势条带序列 BLAST 比对结果
Tab.2 Sequences' BLAST result of dominant DGGE bands

条带编号	GenBank 登录号	序列长度	最接近已知种属菌株(部分结果)	参照菌株 GenBank 登录号	相似度
1	KC152051	254bp	<i>Penicillium</i> sp. SGE28 (分离自海草)	JX232275	100%
			<i>Penicillium dipodomycicola</i> isolate LKF08-135	JX171186	100%
			<i>Penicillium chrysogenum</i> isolate A85C	JQ781839	100%
2	KC183784	241bp	<i>Sterigmatomyces</i> sp. HLS309 (分离自海绵)	FJ770079	99%
			<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	NR_073302	99%
			<i>Sterigmatomyces</i> sp. F5 (分离自海绵)	FJ755830	99%
3	KC152053	240bp	<i>Sterigmatomyces</i> sp. HLS309 (分离自海绵)	FJ770079	99%
			<i>Sterigmatomyces halophilus</i>	NR_073302	99%
			<i>Sterigmatomyces</i> sp. F5 (分离自海绵)	FJ755830	99%
4	KC152054	242bp	<i>Acremonium</i> sp. zhu-22-ye-13 (分离自红树林)	JN687975	99%
			<i>Acremonium kiliense</i> Kw441-2010	FR694874	99%
			<i>Acremonium strictum</i> genogroup III strain UW 940	AY138846	99%
5	KC152055	234bp	<i>Aspergillus versicolor</i> strain SGE24 (分离自海草)	JX232271	99%
			<i>Aspergillus</i> sp. C2-13(分离自珊瑚)	JQ717330	99%
			<i>Aspergillus flavus</i> isolate A10C	JQ781721	99%
6	KC152056	234bp	<i>Aspergillus versicolor</i> strain SGE24(分离自海草)	JX232271	100%
			<i>Aspergillus</i> sp. C2-13(分离自珊瑚)	JQ717330	100%
			<i>Aspergillus flavus</i> isolate A10C	JQ781721	100%
7	KC152057	234bp	<i>Aspergillus versicolor</i> strain SGE24(分离自海草)	JX232271	99%
			<i>Aspergillus</i> sp. C2-13(分离自珊瑚)	JQ717330	99%
			<i>Aspergillus flavus</i> isolate A10C	JQ781721	99%

4.0 软件将其与本实验中条带序列一起构建了系统树(NJ 法、UPGMA 法)。结果显示(NJ 树见图 4), 条带 1 中的 DNA 序列与产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)、灰黄青霉(*P. griseofulvum*)及袋鼠鼠青霉(*P. dipodomycicola*)的 DNA 序列具有较近亲缘关系, 条带 5、6、7 的 DNA 序列与聚多曲霉(*Aspergillus sydowii*)和肉色曲霉(*Asp. carneus*)的 DNA 序列具有较近亲缘关系, 条带 4 的 DNA 序列与基利枝顶孢霉(*Acremonium kiliense*)的 DNA 序列具有较近亲缘关系, 条带 2、3 的 DNA 序列与嗜盐梗孢酵母(*Sterigmatomyces halophilus*)的 DNA 序列关系较近。UPGMA 树也显示相同亲缘关系(未附图)。

3 讨论

众所周知, 鲨鱼被发现患恶性肿瘤的几率非常低, 约为百万分之一, 其同类之间因争夺食物经常撕咬造成的外伤能很快愈合, 很少因此导致严重微生物感染, 这种海洋生物可能具有强大的化学防御机制(Lee *et al.*, 1983; 贺丽虹等, 2005; Luer, 2012)。目前国内外对于鲨鱼化学防御及药用研究主要集中在鲨

鱼自身成分如角鲨烯、鲨鱼肝及胃中的具有抗肿瘤和广谱抗菌活性的角鲨胺 Squalamine 以及鲨鱼软骨抗肿瘤成分的研究与开发(Moore *et al.*, 1993; Cho *et al.*, 2002; 贺丽虹等, 2005)。

鲨鱼是否存在其他化学防御机制, 如共附生微生物的协助防御呢? 这是一个值得研究的问题。尽管迄今对于鲨鱼共附生微生物研究报道还比较少, 但已有研究表明共附生微生物是有可能参与鲨鱼的化学防御的。如郑忠辉等(1998)曾报道从鲨鱼的肠道中分离的一株弧菌和一株未鉴定菌株具有抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和鳗弧菌的活性; 另外王灿等(2009)报道 23 株分离自姥鲨消化道的细菌中有 65% 具有抗菌活性; Luer(2012)报道从鲨鱼的近亲——两种魮鱼的体表粘液中分离到的共生细菌中分别有 12.0%或 21.6%的菌株可拮抗与外伤感染相关的病原菌。上述王灿等的报道中曾提及从姥鲨鳃中分离到 5 株分类地位及生物活性不详的微生物, 但总而言之, 鲨鱼鳃作为一个新颖的海洋共附生药源微生物来源, 迄今国内外有关研究报道仍非常少。

本文研究表明, 在作者采样的两个鲨鱼样本鳃

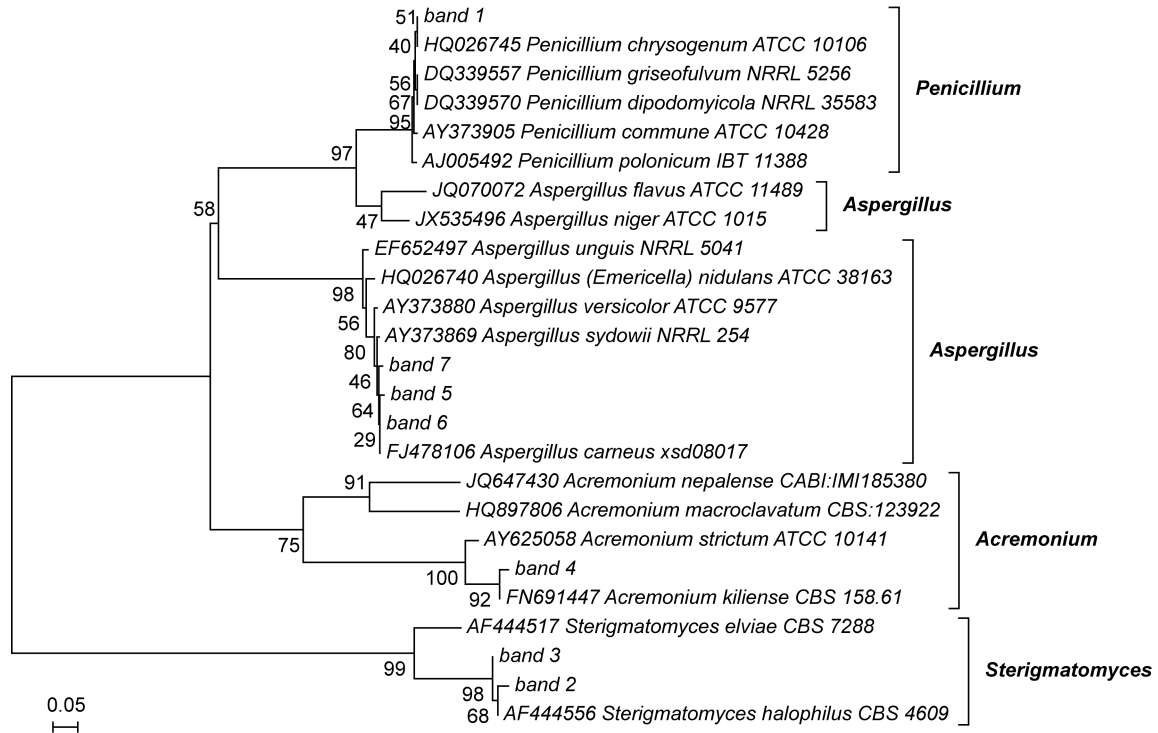


图 4 基于优势真菌菌群 ITS1 及相邻序列构建的 NJ 聚类分析树(自展 1000 次验证节点置信度)

Fig.4 Neighbour-joining tree based on ITS1 rDNA and adjacent areas of the dominant fungal groups (Bootstrap values were calculated using 1000 replications)

部的确生活有组成较丰富的真菌菌群,且两者的优势菌群存在明显差异,其中青霉属是它们共同的优势菌,曲霉属为尖吻鲭鲨鳃部独有优势菌,枝顶孢属和梗孢酵母属则为噬人鲨鳃部独有优势菌。其中青霉属、曲霉属、枝顶孢属隶属于子囊菌亚门,而梗孢酵母属隶属于担子菌亚门。值得注意的是青霉属、曲霉属也是被报道最多的海洋真菌类群,这被认为跟它们对于盐度的较强适应能力有关(Bugni *et al.*, 2004)。另外,曲霉、青霉也是最重要的生物活性次生代谢产物产生菌,检索天然产物数据库 Dictionary of Natural Products on DVD (Buckingham, 2011)显示库中源自海洋青霉的天然产物多达 235 个(所有已收录青霉天然产物达 1435 个),而源自海洋曲霉的多达 244 个(所有已收录曲霉天然产物达 1524 个)。枝顶孢属也是重要的天然产物来源,来自整个自然界的枝顶孢属天然产物已达 200 个,而源自海洋枝顶孢属的已达 47 个。梗孢酵母属最早是从海洋中发现的一个属(Fell, 1966),但尚未见到有来自梗孢酵母属的天然产物收录。除上文所述优势菌外, DGGE 指纹图谱显示这两种鲨鱼鳃中还含有丰富的微量真菌类群,对这些微量条带区域的进一步 PCR-DGGE 分析有助于更多地了解鲨鱼鳃中真菌菌群组成,而这些分类学背景将

有可能用于指导选择性培养策略来富集培养尽可能多的可培养真菌,或运用非培养依赖性的宏基因组技术来有针对性的克隆一些具有药用潜力物种的药源基因。

鲨鱼属于较特殊实验材料,从活体鲨鱼鳃部现场即时取样具有一定危险性,而死亡鲨鱼不排除受到空气中真菌的污染。不过,由于鲨鱼鳃裂外皮对鳃耙具有一定封闭作用,且本文鳃样品采自死亡时间不足一天且刚运抵港口的新鲜鲨鱼,样品经过无菌水重复冲洗,可能存在的附着不牢的少量陆源污染真菌被较大程度上排除,经鉴定的 DNA 条带确属报道较多的海洋真菌类群,且与 GenBank 中一些海洋来源菌株序列的相似性达到了 99%—100%。此外,大量获取新鲜鲨鱼样本也具有一定困难,限于实验条件,本文所采鲨鱼样本数量有限,尚不足以说明这两条不同种鲨鱼鳃部真菌菌群的差异是来自于种间差别抑或个体差别。对于以上不足之处,如条件具备,仍以从大量活体鲨鱼样本现场即时取样更为科学严谨。另外,噬人鲨和尖吻鲭鲨均广布于热带、亚热带和温带海洋,活动范围广、行踪难溯,关于其鳃部真菌菌群的差异与其生活环境的关系尚难做出推论。

PCR-DGGE 作为一种可不依赖于菌株分离培养

的技术,对于海洋生物宿主中共附生微生物菌群组成的研究具有独特的优势。当然,该技术也存在一定局限性,如 Vallaey 等(1997)报道过 DGGE 实验中具有不同序列 DNA 片段的共迁移现象,因此为了得到可靠结果,本文中对于 DGGE 条带采用克隆测序是确有必要的。另外动物宿主组织 DNA 样品成分较为复杂,干扰因素多,这可能也导致了本文中附生真菌 ITS1-5.8S-ITS2 rDNA 长序列扩增产物浓度过稀,不足以进行 DGGE 及切胶分离,从而未能获得更长序列信息,以进一步鉴定同一属中的不同种。该技术有必要与其他分子生物学、微生物学方法配合使用,以提供共附生微生物菌群组成更丰富的信息。

综上所述,对具有药用潜力的鲨鱼鳃部共附生真菌进行深入研究,将有望发现新颖的活性化合物,用于治疗人类恶性肿瘤、病原微生物感染的新药的开发,另外也有助于进一步揭示鲨鱼的化学防御机制,对环境友好的海水养殖抗菌、抗寄生虫病害药物的开发也有借鉴启示作用。

参 考 文 献

- 王 灿,曹张军,邵志宇等,2009. 姥鲨共附生微生物抗菌活性筛选及系统发育分析. 中华航海医学与高气压医学杂志, 16(5): 265—268
- 龙良鲲,羊宋贞,姚 青等,2005. AM 真菌 DNA 的提取与 PCR-DGGE 分析. 菌物学报, 24(4): 564—569
- 朱元鼎,孟庆闻,2001. 中国动物志(圆口纲、软骨鱼纲). 北京: 科学出版社, 1—552
- 张清榕,杨圣云,2005. 中国软骨鱼类种类、地理分布及资源. 厦门大学学报(自然科学版), 44(Sup.): 207—211
- 林永成,周世宁,2003. 海洋微生物及其次生代谢产物. 北京: 化学工业出版社, 23—27
- 周荣丽,穆 军,张 翼等,2008. 海洋真菌活性代谢产物最新研究进展. 天然产物研究与开发, 20(4): 741—747
- 郑忠辉,陈连兴,1998. 厦门海区潮间带海洋动植物共附生微生物的抗菌活性. 台湾海峡, 17(4): 439—444
- 孟庆闻,苏锦祥,李婉端,1987. 鱼类比较解剖. 北京: 科学出版社, 205, 211—218
- 贺丽虹,黄建华,沈颂东等,2005. 鲨鱼中的抗肿瘤活性物质及其作用机制. 海洋科学, 29(11): 63—66, 91
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T 著, 2002. 黄培堂译, 2002. 分子克隆实验指南(第3版). 北京: 科学出版社, 479—483
- Armstrong E, Yan L M, Boyd K G *et al*, 2001. The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia*, 461: 37—40
- Bourne D G, Munn C B, 2005. Diversity of bacteria associated with the coral *Pocillopora damicornis* from the Great Barrier Reef. *Environ Microbiol*, 7(8): 1162—1174
- Buckingham J, 2011. Dictionary of Natural Products on DVD. Chapman and Hall/CRC, London, UK
- Bugni T S, Ireland C M, 2004. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. *Nat Prod Rep*, 21(1): 143—63
- Cho J, Kim Y, 2002. Sharks: a potential source of antiangiogenic factors and tumor treatments. *Mar Biotechnol (NY)*, 4(6): 521—525
- Doare-Lebrun E, El Arbi A, Charlet M *et al*, 2006. Analysis of fungal diversity of grapes by application of temporal temperature gradient gel electrophoresis-potentialities and limits of the method. *J Appl Microbiol*, 101(6): 1340—1350
- Fell J W, 1966. *Sterigmatomyces*, a new fungal genus from marine areas. *Antonie van Leeuwenhoek*, 32: 99—104
- Gao Z, Li B L, Zheng C C *et al*, 2008. Molecular Detection of Fungal Communities in the Hawaiian Marine Sponges *Suberites zeteki* and *Mycale armata*. *Appl Environ Microbiol*, 74: 6091—6101
- Haygood M G, Schmidt E W, Davidson S K *et al*, 1999. Microbial symbionts of marine invertebrates: opportunities for microbial biotechnology. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 1(1): 33—43
- Knickle C, Billingsley L, DiVittorio K, 2011. Biological Profiles basking shark. Florida Museum of Natural History. <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/gallery/descript/baskingshark/baskingshark.html>
- Lee A, Langer R, 1983. Shark cartilage contains inhibitors of tumor angiogenesis. *Science*, 221: 1185—1187
- Luer C, 2012. Novel Compounds From Shark and Stingray Epidermal Mucus With Antimicrobial Activity Against Wound Infection Pathogens. Annual Report of Mote Marine Laboratory, Inc. Sarasota, Florida. 4—30
- Maddalena A D, 2007. Great White Sharks Preserved in European Museums. Newcastle: Cambridge Scholars Publishing, 10
- Moore K S, Wehrli S, Roder H *et al*, 1993. Squalamine: an aminosterol antibiotic from the shark. *Proc Nat Acad Sci USA*, 90(4): 1354—1358
- Saleem M, Ali M S, Hussain S *et al*, 2007. Marine natural products of fungal origin. *Nat Prod Rep*, 24: 1142—1152
- Tamura K, Dudley J, Nei M *et al*, 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 24: 1596—1599
- Taylor M W, Radax R, Steger D *et al*, 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiol Mol Biol Rev*, 71(2): 295—347
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F *et al*, 1997. The CLUSTALX windows inter-face: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 25: 4876—4882

- Vallaey T, Topp E, Muyzer G *et al*, 1997. Evaluation of denaturing gradient gel electrophoresis in the detection of 16S rDNA sequence variation in rhizobia and methanotrophs. *FEMS Microbiol Ecol*, 24(3): 279—285
- Zuccaro A, Schoch C L, Spatafora J W *et al*, 2008. Detection and identification of fungi intimately associated with the brown seaweed *Fucus serratus*. *Appl Environ Microbiol*, 74(4): 931—941

THE PCR-DGGE ANALYSIS OF FUNGAL COMMUNITY IN THE GILLS OF TWO SHARK SPECIES

ZHANG Yi^{1,2}, MU Jun^{1,3}, FENG Yan¹, YAN Song¹

(1. School of Environmental and Chemical Engineering, Dalian Jiaotong University, Dalian 116028, China;

2. School of Life Science and Biotechnology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China;

3. Marine Science and Technology College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract Gill tissue DNA samples were extracted from two shark specimens from East China Sea, *Isurus oxyrinchus* and *Carcharodon carcharias*, and used as templates for PCR amplification for the sequences of internal transcribed spacer 1 in ribosomal DNA gene of the fungal communities in the gill tissue. The PCR products were subsequently separated by DGGE (denatured gradient gel electrophoresis). Then, seven main electrophoresis stripes in the spectrum were amplified by secondary PCR, cloned, and sequenced. NCBI-BLAST comparison and molecular phylogenetic analysis indicated that the dominant fungal species in the gills of *I. oxyrinchus* come from four taxonomical units including one from genus *Penicillium* and three from *Aspergillus*. For *C. carcharias*, one dominant taxonomical unit comes from *Penicillium*, two from *Sterigmatomyces*, and one from *Acremonium*. *Penicillium* is the common dominant fungal group in gills of the two shark species. In addition, the DGGE fingerprint also shows the presence of diverse minor fungal groups. Database searching suggested that most of these fungal taxonomical units have good potential in the production of natural bioactive substances. The PCR-DGGE analysis revealed that rich fungal community inhabits the two shark specimens' gills. More investigations are demanded for understanding the metabolites and interaction with their hosts.

Key words sharks; gills; fungal community; internal transcribed spacer ribosomal DNA; denatured gradient gel electrophoresis