

土壤病毒的研究进展与应用前景

韩丽丽^{1,2}, 曹苗苗^{1,2}, 毕丽^{1,2}, 张丽梅^{1,2}, 贺纪正³

1. 中国科学院生态环境研究中心, 城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100049

3. 福建师范大学地理科学学院, 福州 350007

摘要 病毒是地球上数量最多的生物实体, 在调控宿主群落组成、推动宿主进化及影响土壤元素的生物地球化学循环等方面起着非常重要的作用。概括了环境病毒的研究历史及发展现状, 揭示了病毒生态学的发展历程; 分析了土壤病毒生态学常用研究方法(包括表型、基因多样性、宏基因组、生物信息学分析等), 阐述了土壤病毒的多样性、病毒在土壤生态系统中的生态功能; 展望了环境噬菌体的应用(噬菌体疗法)及发展前景。

关键词 土壤病毒; 宏病毒组; 群落组成; 元素地球化学循环; 辅助代谢基因; 噬菌体疗法

1 病毒的发现与研究概况

病毒是地球上数量最多的生物实体, 可以感染任何细胞生物。据估算, 地球上存在 4.80×10^{31} 个病毒颗粒(virus-like particles, VLPs), 约为原核细胞数量的 10 倍^[1]。其中土壤中约含有 4.88×10^{30} 个病毒颗粒, 不同类型土壤中病毒颗粒的含量在 $10^3 \sim 10^9$ gdw⁻¹ (per gram dry weight, 每克干土) 间不等(图 1(a))^[2]。它们可调控微生物的死亡率和群落结构、推动宿主进化以及影响土壤元素的生物地球化学循环, 在构建健康土壤环境、调控根际微生态、促进植物生长, 乃至影响全球气候变化等方面

面发挥重要作用^[3-4]。

人类对病毒的认识可追溯到 1892 年, 俄国科学家伊万诺夫斯基最早发现能透过“细菌过滤器”, 且能引起烟草花叶病毒病的“细菌毒素”。1898 年, 贝杰林克给这种“有感染性的、活的流质”取名为 virus。自此病毒作为一类特殊的生命体逐渐暴露于人们的视野下, 人类在发展过程中一直受到病毒威胁, 从天花、流感、AIDS、RARS、MERS 到 2020 年初由 SARS-CoV-2 引发的新冠肺炎。此外, 科学家也借助病毒奠定了生物学基础。例如, 中心法则的建立, 早期遗传物质的预测(DNA 是主要的遗传物质), 以及 CRISPR 基因编辑系统的应用。环境

收稿日期: 2021-07-14; 修回日期: 2021-11-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(41771289); 中国科学院黑土地保护与利用科技创新工程专项(XDA28020100)

作者简介: 韩丽丽, 副研究员, 研究方向为土壤病毒生态学, 电子邮箱: llhan@rcees.ac.cn

引用格式: 韩丽丽, 曹苗苗, 毕丽, 等. 土壤病毒的研究进展与应用前景[J]. 科技导报, 2022, 40(3): 75-86; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.

2022.03.007

病毒学的研究起源于海洋。1946年,Zobell第一次发现海洋病毒;1974年,Lawrence Pomeroy 揭示了海洋病毒存在的意义,并提出 marine microbial loop 假说^[5]。之后的20年,科研人员陆续关注海洋病毒的丰度、生态功能、基因组测序等^[6]。2002年,Breitbart 等首次使用宏基因组测序方法分析了未培养的病毒群落组成^[7],主要注释到双链DNA(dsDNA)有尾噬菌体和噬藻体(藻类病毒),并揭示了海洋是一个巨大的未开发的病毒库。这项研究也极大地推动了土壤病毒学的发展,如近年来科学家陆续对沙漠土壤^[8-9]、红树林土壤^[10]、冻土^[11-14]、农田土壤^[15]等多种土壤生态系统的病毒组展开研究和探索。截至2021年11月,NCBI中SRA(Sequence Read Archive)数据库公开的环境病毒组数已近400个(图1(b))。

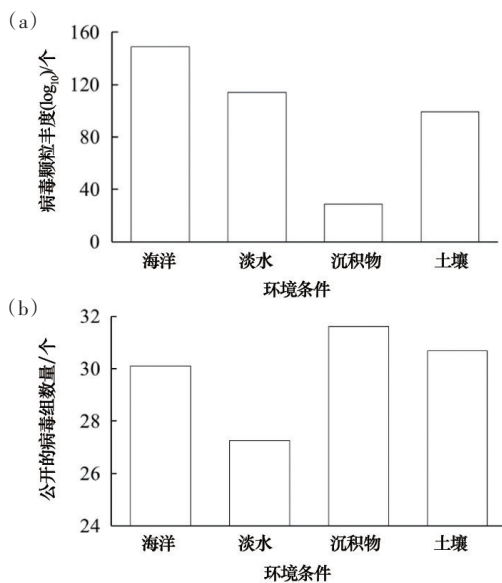


图1 地球上不同环境中病毒颗粒丰度估算(a)和NCBI中SRA数据库公开的病毒组数量(b)

2 土壤病毒的研究方法

2.1 病毒的表型与丰度

土壤病毒表型及丰度的测定方法主要有噬菌斑计数、荧光显微镜(epifluorescence microscope, EFM)计数、透射电镜表型及计数以及流式细胞仪计数等。笔者前期的综述文章^[16]已对上述方法做过详细的描述。EFM对研究土壤中病毒丰度、病

毒与微生物的丰度比(virus-to-microbe ratios, VMR)及病毒的复制策略至关重要(图2)。采用EFM分析时,需根据不同土壤类型选择合适的浸提液富集土壤病毒,将富集的土壤病毒加载到0.02 μm的滤膜上,使用核酸荧光染料(如SYBR Gold、SYBR Green)对病毒粒子的双链DNA和RNA进行灵敏染色。在488 nm波长下观察并收集荧光信号。但由于核酸染料仅能标记双链DNA和RNA病毒,无法检测单链DNA和RNA病毒,因此EFM可能会低估病毒丰度。

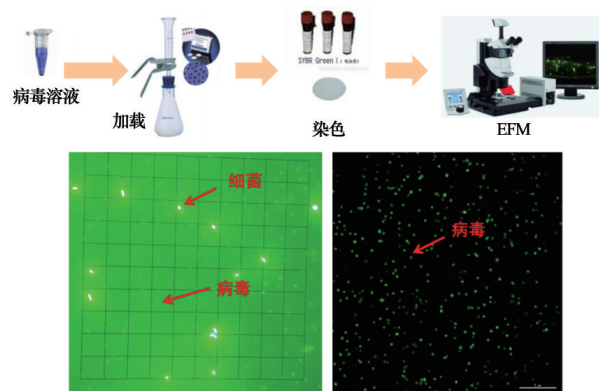


图2 土壤病毒荧光显微计数

Williamson 等^[17]综合分析了7种土壤生态型(热沙漠土壤(24)、农田土壤(13)、森林(5)、湿地(5)、冷沙漠土壤(6)、休耕土壤(3)和沙丘土壤(1))的57个土壤样品,发现不同土壤类型中的游离病毒丰度差异较大,从沙漠土壤 2.2×10^3 gdw⁻¹到森林土壤 5.8×10^9 gdw⁻¹;一般来说,病毒丰度在热沙漠中最低,在农田土壤和冷沙漠中居中,在森林和湿地土壤中最高。结合meta分析发现土壤病毒的丰度受多种环境因子的影响,例如pH值、温度^[18]、土壤湿度^[19]、土壤深度^[20]等。

2.2 病毒的分子标记基因多样性

病毒缺乏通用型引物,仅在某些病毒类群中存在一些相对保守的基因,通过这些标记基因可以研究特定病毒类群的系统发育关系和多样性。表1归纳了一些常见的病毒标记基因,主要包括编码噬蓝藻肌尾科的门户蛋白(*g20*)、T4型肌尾噬菌体主要衣壳蛋白(*g23*)和DNA聚合酶(*g43*)、噬菌体光

表1 病毒标记基因列表

标记基因	编码蛋白	病毒家族
<i>g20</i>	门户蛋白	肌尾噬菌体科
<i>g23</i>	主要衣壳蛋白	T4型肌尾噬菌体 肌尾噬菌体科中的淡水噬藻体
<i>mcp</i>	主要衣壳蛋白	藻类去氧核糖核酸病毒科 微小噬菌体科蘑菇状噬菌体亚科
<i>g91</i>	尾鞘蛋白	肌尾噬菌体科中的噬藻体
<i>psbA</i>	光合蛋白 D1	噬藻体
<i>psbD</i>	光合蛋白 D2	噬藻体
<i>phoH</i>	与磷代谢相关蛋白	噬藻体、多种噬菌体
<i>polA</i>	DNA 聚合酶	短尾噬菌体科
<i>g43</i>	DNA 聚合酶	T4型肌尾噬菌体科
<i>polB</i>	DNA 聚合酶	藻类去氧核糖核酸病毒科
<i>RdRp</i>	RNA 依赖 RNA 聚合酶	RNA 病毒
<i>Syn9_g101</i>	预测尾部纤维	肌尾噬菌体科中的噬藻体
<i>cobS</i>	预测卟啉生物合成蛋白	肌尾噬菌体科中的噬藻体
<i>T7mcp</i>	主要衣壳蛋白	T7型短尾噬菌体科
<i>polBs</i>	DNA 聚合酶	Megaviridae

合蛋白(*psbA*、*psbD*)、有尾噬菌体目末端酶(*terL*)、微小噬菌体科主要衣壳蛋白(VP1)、噬菌体的*phoH*基因等^[21]。*g20*和*g23*是常用的标记基因,Jameson及其同事通过630个*g20*克隆子(clones)的系统发育分析,发现大西洋有着比以前报道更高多样性的肌尾科病毒群(myoviral population),但并未发现宿主和病毒之间的动态关系^[22]。Chow等通过*g23*基因末端限制性片段长度多态性技术分析,发现T4型噬菌体的群落组成变化与深度、宿主丰度、季节和地理距离的关系并不一致;一些可操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)表现出一致的季节性变化,而另一些OTU则保持每年中等丰度不变^[23]。此外,中国科学院东北地理与农业生态研究所王光华团队通过农田旱地黑土*g23*基因的研究,发现*g23*基因分布与稻田环境更相近,与海洋和湖泊水体环境中的*g23*基因完全不同,且存在多个新的类群^[24-25]。*phoH*基因也常被用于海洋噬菌体多样性的研究,且相对于*g20*和*g23*,*phoH*不局限于某一特定的噬菌体家族^[26]。通过对噬菌体*phoH*基因的研究发现,海洋环境中噬菌体表现出极高的*phoH*序列多样性以及大量未知的*phoH*基因,同时*phoH*基因组成在海洋深度和地理位置分布上存在着明显的差异^[27]。笔者近期的研究发现土壤中也

存在丰富的*phoH*基因,且它们与海洋噬菌体的*phoH*基因存在明显差异^[28]。Li等针对Megaviridae的聚合酶基因(*polBs*)设计出82对简并引物,用于扩增沿海海水样品总DNA中的Megaviridae,最后检测到5595个OTUs,其数量超出了以前所有已知的巨大病毒OTU数^[29],这个方法有望应用到环境巨大病毒的多样性和生态学相关研究中。但由于病毒的功能基因保守性较低,容易出现扩增序列的假阳性,因此该方法应用于病毒丰度的测定及大量样品的研究还存在一定的局限性。

2.3 宏病毒组学研究

目前,宏病毒组学是病毒多样性研究的主要手段,解决了很多传统方法无法解决的问题,例如大多数的病毒都是不能培养的,病毒不具备如细菌16S rRNA类似的通用型引物,标记基因仅能研究某一特定病毒类群。为了获得足够量的病毒核酸并用于测序,同时减少细胞DNA的污染,一般需要采取3个主要步骤(图3):(1)对环境样品中的病毒进行浓缩;(2)纯化浓缩后的病毒粒子以减少污染;(3)测序前扩增病毒核酸^[30]。相比海洋病毒学研究中宏病毒组的广泛应用,土壤宏病毒组学目前还处于初级发展阶段。土壤病毒学研究受到各方面的挑战,例如将病毒与土壤颗粒有效分散、分离

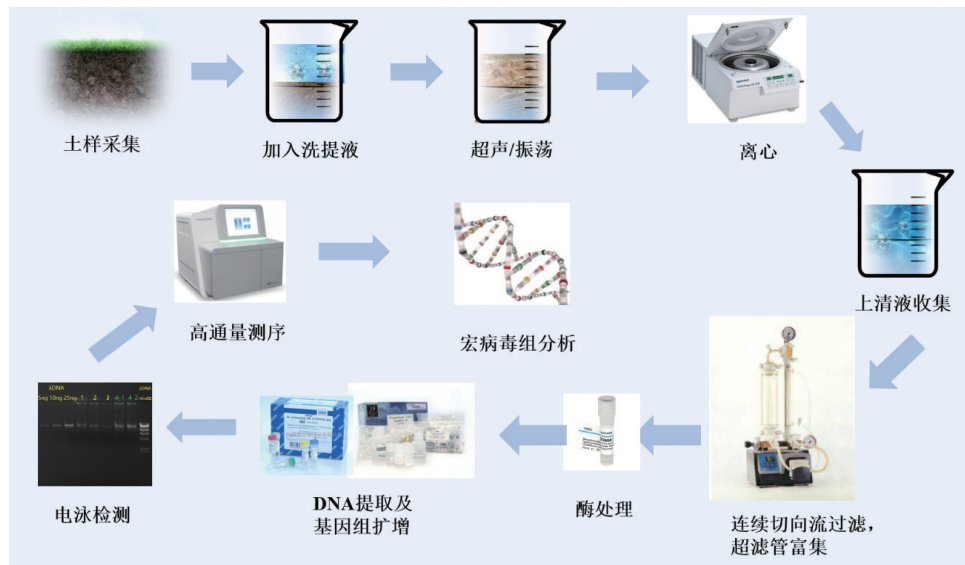


图3 土壤病毒组DNA提取过程

病毒粒子、有效扩增病毒DNA、有限的土壤病毒数据库等。土壤性质(如矿物质含量和阳离子交换量)的高度可变性可能会影响土壤病毒吸附与重悬浮,因此不同土壤类型需要采用不同的重悬浮方法。病毒粒子提取方法主要有切向流过滤、聚乙二醇沉淀法和氯化铯(CsCl)密度梯度离心法^[31]。2019年,Trubl等比较了不同病毒DNA提取试剂盒(PowerSoil, Wizard mini columns和cetyl trimethylammonium bromide)的提取效果、纯化(氯化铯密度离心)以及病毒裂解方法(热裂解或珠磨)对病毒颗粒的影响,以及评估了Accel-NGS 1S Plus Library Kit试剂盒对ssDNA病毒的回收率^[32]。研究表明,PowerSoil试剂盒提取病毒DNA效果最佳,宏病毒组质量在使用CsCl纯化后没有明显的提升,但热裂解较珠磨明显提升了DNA质量。值得一提的是,Accel-NGS 1S Plus Library Kit试剂盒能成功捕获ssDNA病毒,定量扩增dsDNA和ssDNA病毒^[33]。而之前的研究中,主要采用phi29 DNA聚合酶进行多重置换扩增(multiple displacement amplification, MDA)或序列非依赖的单引物扩增(random priming-mediated sequence-independent single-primer amplification, RP-SISPA)来获得足够量的病毒DNA。MDA操作比较简单,通过PCR就能将DNA总量从纳克级别放大到微克级别,但这个方法存在

偏好扩增ssDNA病毒^[34-35]及易产生嵌合体^[36]等问题。而RP-SISPA偏好于最丰富的病毒或最大的基因组,从而导致扩增基因组的不均匀覆盖^[37]。

2.4 宏病毒组生物信息学分析

宏病毒组分析是土壤病毒生态学研究的重点,主要包括3个关键步骤:(1)去除污染的细胞DNA;(2)病毒的物种和功能注释;(3)病毒宿主溯源。在病毒提取及测序过程中可能会引入一些污染的细胞DNA,这些宿主基因组会影响后续分析,因此在分析病毒基因组前需要去除潜在的细胞基因组,例如可移动遗传元件等^[38]。目前国外学者相继开发出多款数据分析软件用于宏病毒组数据的解析,如VIROME^[39]、Metavir^[40](已停止更新)、CheckV^[41]、VirSorter^[42]、VIBRANT^[43]和VirusSeeker^[44]等。Bolduc等建立了病毒基因组的分析流程,包括iVirus、iMicrobe和CyVerse等模块^[45]。Shkoporov和Hill对整个宏病毒组数据处理的相关软件、数据库和网站、序列质控、组装、基因预测、宿主预测、物种分类和群落组成的多元分析进行了归纳总结^[46]。

预测病毒宿主也是了解病毒生态功能的重要手段之一。目前预测病毒宿主的方法主要有4种^[38]:(1)基于病毒基因组与参考病毒基因组之间的相似性,通过参考基因组获取病毒宿主信息;(2)基于病毒基因组与宿主基因组之间的相似性,

例如利用 CRISPR spacers, tRNA 等; (3) 根据宿主核苷酸特征来推测, 如 G+C 含量、k-mer 频率和密码子的使用, 这种方法仅能预测属以上水平的宿主, 较前 2 种方法预测结果精确性低; (4) 通过比较宿主和病毒序列在空间及时间尺度上的丰度分布来计算预测相关性, 或通过更复杂模型的交互作用来预测宿主。已发表的研究病毒与宿主相互作用的软件和网站有 ViralZone (<https://viralzone.expasy.org>)^[47-48]、VirHostMatcher^[49]、RaFAH^[50]、PHISDetector^[51]、VPF-Class^[52]、vContact^[53-54]、CRISPR Recognition Tool (CRT)^[55]等。

虽然高通量测序技术的飞速发展极大地推动了土壤病毒组学的研究进程, 但仍存在一些技术问题亟待解决。(1) 病毒的富集依然是目前病毒组研究的瓶颈, 因病毒的基因组约为细菌的 1%~1%, 因此即使忽略提取效率的损耗, 提取同样总量的 DNA 所需土壤样品要扩大 100~1000 倍。该过程中浸提液的选择也至关重要, 因不同类型的病毒对不同类型的土壤吸附能力差异较大, 浸提液的选择直接决定了病毒的提取效率。(2) 因病毒的基因组较小, 实际直接提取的病毒 DNA 量很难达到测序的要求, 目前使用最多的是 MDA 扩增方法, 但这个过程容易带来扩增偏差^[34-35]及易产生嵌合体^[36]等问题, 影响后续的分析结果, 不能真实反映土壤中病毒的群落组成。(3) 公共数据库中病毒数据库的占比还非常小, 截至 2021 年 7 月对 NCBI 基因组数据库的搜索显示, 病毒全基因组共 11465 个, 远低于原核生物基因组 (348489 个), 其中土壤病毒仅占一小部分。且对病毒组分析发现土壤中近 70% 的病毒基因序列是未知的, 它们被称为病毒暗物质 (dark matter)^[1]。总的来说, 鉴于目前有限的土壤类型以及样品数量, 土壤病毒学的发展仍然任重而道远, 我们还需努力以揭开土壤病毒的神秘面纱^[56]。

3 土壤病毒的生态功能

3.1 病毒调控宿主群落组成

根据病毒在宿主中的复制策略, 可将病毒分为

烈性病毒、溶源性病毒及慢性病毒^[57]。烈性病毒的繁殖周期主要包括 5 个阶段, 即吸附、侵入、复制和生物合成、组装、裂解^[58]; 而溶源性病毒在侵染宿主时, 可将自身的遗传物质整合到宿主的基因组中, 或以质粒的形式存在于细胞内, 并伴随着宿主的繁殖进行复制, 但不产生子代病毒; 慢性病毒可侵染宿主, 在宿主胞内复制繁殖, 但遗传物质不整合到宿主基因组上, 该过程可导致宿主的生长和代谢变得缓慢, 因此称为慢性病毒, 目前只在肠道中发现^[57]。

烈性病毒 (这里主要指烈性噬菌体) 对宿主种群控制的动态变化遵循捕食-被捕食关系的经典规律。如杀死优胜者 (killing-the-winner, KtW) 假说^[59], 该模型认为密度和频率依赖的病毒捕食可抑制快速生长的优势菌群的繁殖, 维持受攻击宿主的种群平衡从而保持微生物群落的多样性, 在海洋和土壤生态系统中均观察到了 KtW 现象^[60]。此外, Knowles 等基于 223 个太平洋和大西洋珊瑚礁样品中微生物和病毒的丰度以及其他来自 22 项独立研究的数据汇编成 meta 分析, 提出了 KtW 模型的补充模型 PtW (piggyback-the-winner) 模型, 该模型认为在海洋中宿主密度的升高将增加溶源性过程^[61], 即“微生物越多, 病毒越少”。而之前有研究认为病毒偏向在不利的环境下以溶源状态获得生存优势^[62]; 从这一点看, 溶源性病毒对环境的抗性更高。土壤环境被认为是“harsh environment”, Stewart 和 Levin 推测土壤中大部分病毒是溶源性病毒^[63]。近期对土壤病毒的研究发现 PtW 现象也存在于土壤中^[13, 64-65], 但影响病毒的分布特征及复制策略的驱动因子目前仍不清楚, 还需更多的研究数据支持。

3.2 病毒影响宿主进化

病毒在感染宿主时, 向宿主细胞内引入新的基因, 从而引起基因重组。这一过程称为病毒介导的水平基因转移——转导。当转导现象发生在烈性感染时, 称之为普遍转导。在裂解周期中, 新病毒颗粒的衣壳可能会意外包裹宿主 DNA, 在病毒感染下一个宿主时, 将误装入的遗传物质释放到新的宿主内, 在宿主基因组中发生重组。溶源性病毒介导的转导称之为局限性转导, 溶源性病毒特异性切

断宿主基因组,将某一段基因整合到自己的基因组上^[66],感染下一个宿主时发生基因重组。在海洋环境中发生着高频率的转导现象,研究表明在海洋中每年多达 10^{24} 个基因通过病毒发生转导,病毒介导的基因转导总数可能超过其他普通转导粒子(generalized transducing agents, GTAs)^[67]。所有的转导过程都对宿主基因组有着重要的影响,尤其是局限性转导赋予宿主新的功能,增强宿主的适应性,拓宽宿主的生态位,同时也促进了宿主的进化^[68]。

细菌-噬菌体共同进化增强了细菌和噬菌体的表型和遗传多样性,是微生物群落进化过程的主要推动力^[69],也是微生物生态学研究的核心内容之一。细菌在与病毒对抗的过程中,形成了多种防御机制,如细菌通过改变噬菌体的结合受体,以及通过限制-修饰系统或者CRISPR-Cas系统抵抗病毒感染。当宿主改变表面或内部噬菌体吸附相关的结构时,噬菌体也可以修改其目标受体或者与宿主相互作用的结构,使其能够再次与宿主进行有效的相互作用。于是一场关于进化的“军备竞赛”^[70]应运而生,(迭代的)选择性过程驱动生物相互作用的多样性,提高进化速率,从而推动宿主进化。

3.3 病毒参与土壤元素的生物地球化学循环

3.3.1 病毒作为生物泵影响土壤元素生物地球化学循环

科学家通过近30年的研究发现病毒是海洋碳循环的重要驱动者。海洋环境中微生物被病毒裂解后产生细胞碎片,其中可溶性有机物比如核酸和蛋白质组成的细胞器富含氮、磷等养分,可以被微生物迅速利用,而颗粒态有机物比如细胞壁(富含碳),可以沉降于含氧量很低的海底,在那里稳定保存,这一过程称为生物碳泵^[71]。病毒的裂解式捕食方式使海洋表层每年可向深层海域输送3 Gt的碳^[72]。此外,病毒每天裂解大量的微生物,尤其是噬菌体诱导细菌裂解释放出大量的可溶性有机碳和营养物质,这些物质被细菌再矿化,起着海洋再循环系统的作用,这一过程被称为病毒转轨^[73]。据估算在表层海水中,浮游生物的含碳量为5 Gt,每年病毒裂解浮游生物的含碳量高达150 Gt,由病毒推动的碳循环量占整个海洋生态系统碳循环总量

的6%~26%^[72,74]。

土壤中同样也存在病毒转轨过程,即土壤微生物被病毒感染裂解死亡,导致微生物中的碳氮磷硫等营养元素释放出来被其他微生物和植物利用的过程^[75]。但在土壤环境中,病毒通过该方式对营养元素循环过程的贡献程度多大还鲜见报道。

3.3.2 病毒携带辅助代谢基因间接参与土壤元素生物地球化学循环

随着宏基因组学或宏病毒组学的发展,科学家在海洋中发现了大量病毒携带宿主的辅助代谢基因(auxiliary metabolic genes, AMGs)。这些基因涵盖多种参与元素循环的关键步骤基因,例如,硫酸化和还原基因(*sox*和*dsr*)、氮循环(*P-II*和*AmoC*)、光合作用基因(*psbA*和*psbD*)、磷饥饿相关基因(*phoH*)等^[4,76-77]。通过病毒介导的水平基因转移,这些AMGs可以在病毒侵染宿主后在宿主胞内表达,改变宿主代谢过程,从而参与元素的生物地球化学循环^[78],同时赋予宿主新的功能,拓宽其生态位^[68]。但目前为止研究最为深入的关于病毒AMGs功能的例子在海洋蓝藻细菌的光合作用中,蓝藻病毒光合基因*psbA*和*psbD*来源于宿主,当宿主蛋白合成因光抑制被暂停时,其编码的D1和D2蛋白可在光损伤修复循环中发挥关键作用^[79]。而这些海洋噬菌体通过增加光合作用的效能和产量,对海洋碳的巨量转换作出了重要贡献^[80]。

Roux等通过分析Tara Oceans和Malaspina科考采集的海洋病毒样品以及Global ocean virome数据库,发现了243个病毒携带的AMGs,其中95个基因功能是未知的^[77]。基于其中4个基因(*dsrC*, *soxYZ*, *P-II*和*amoC*)的深度分析,揭示了病毒可能直接参与整个海洋系统的硫和氮循环。随后的一些研究也证实了土壤病毒携带多种AMGs。如从纳米布沙漠土壤及中国的水稻土、玉米地土壤中均发现了大量*phoH*基因^[26,28,81]。系统发育分析表明,沙漠土壤*phoH*基因与海洋噬藻体的*phoH*有着较远的进化关系。科学家对消融的永久冻土和红树林土壤中的病毒组研究发现土壤病毒携带大量碳循环相关的AMGs,可能影响土壤的碳过程^[10,14]。近期笔者对农田土壤病毒的研究也发现在玉米根际

及非根际土壤病毒组中存在大量与碳循环相关的AMGs^[13],推测土壤病毒可能在土壤碳元素的生物地球化学循环中发挥着非常重要的作用。最新研究发现在镉污染土壤中病毒携带较多的AMGs,可能帮助宿主抵御重金属的胁迫^[82]。但需要注意的是病毒携带的辅助代谢基因主要编码不同的能量代谢路径,宿主的翻译和翻译后水平调控机制等的修饰^[83]。常用的鉴定病毒携带AMGs的软件主要有VIBRANT^[43]和DRAM-v^[84]等。

4 病毒(噬菌体)的应用

噬菌体疗法并不是一项新技术,它已经在医学领域使用了近1个世纪,虽然这一研究在格鲁吉亚等国家得到了发展,但从未成为主流医学方向。在20世纪早期,许多噬菌体科学家对使用病毒抗细菌感染非常感兴趣,人们希望通过注射或向水中倾倒噬菌体杀死病原性细菌,比如导致霍乱的细菌等^[80,85]。然而,1928年亚历山大·弗莱明发现抗生素使噬菌体疗法黯然失色,因为抗生素更易使用,一种抗生素可以在多种细菌感染中发挥作用,而噬菌体疗法则需要找到精确的噬菌体来攻击每种感染。但是今天,由于抗生素大量使用导致超级细菌的出现使得人们不得不寻找新的方法,“噬菌体疗法”的概念重新受到了人们的关注。

“噬菌体疗法”最广为流传的案例是2016年美国加州大学圣地亚哥分校(UCSD)的Steffanie Strathdee博士利用噬菌体挽救感染超级细菌——鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)的丈夫(Tom)的事迹。Tom也是美国历史上第一位成功接受体内输入噬菌体治疗的患者。Steffanie和Tom的事迹为噬菌体疗法领域打了一剂强心针,也让科学界重新审视在细菌对抗生素的抗性越来越强的情况下,噬菌体疗法的潜力。UCSD也因此成立了美国第一家研究噬菌体疗法的中心——创新噬菌体应用和医疗中心(Innovative Phage Applications and Therapeutics, IPATH)。2018年,英国15岁女孩Isabelle Carnell在做完肺移植手术后感染了对抗生素有耐药性的人类分枝杆菌(*Mycobacterium*

abscessus),当时肺移植后这种分枝杆菌感染的生存机会只有1%,因此当地医生联系了美国匹茨堡大学教授Graham Hatfull寻求新的疗法,Hatfull教授最终筛选了3种噬菌体的“鸡尾酒”进行治疗,幸运的是Isabelle的病情得到有效控制。这是世界上第一次用噬菌体进行人类分枝杆菌感染治疗,也是第一次使用基因工程噬菌体进行治疗并取得成功的案例^[86]。

虽然噬菌体疗法在医学中的案例还非常有限,但在农业病害防治、畜禽养殖和食品加工中的应用已经非常广泛了。2005年,美国国家环境保护局批准了OmniLytics公司Agriphage™的生产,用于治疗不同农作物的细菌性斑点病。2006年,美国食品及药物管理局批准通过了ListShield™作为即食肉类和家禽产品的食品添加剂,以控制具有特殊食源性危害的单核细胞增多性李斯特菌。2007年,美国食品及药物管理局批准通过了OmniLytics公司生产的以噬菌体为基本物的制备物,用于净化活体动物从而远离大肠杆菌和沙门氏菌^[87]。2018年,美国环保署批准了OmniLytics公司旗下的2款生物产品AgriPhage™-Fire Blight和AgriPhage™-Citrus Canker,分别用于防治苹果、梨树和柑橘的火疫病和溃疡病。

国内学者在噬菌体应用方面也开展了大量的研究,如利用金黄色葡萄球菌噬菌体在牛奶中的抑菌应用^[88],假单胞菌噬菌体的筛选及在冷却羊肉中的应用^[89],噬菌体在嗜水气单胞菌^[90]、变形假单胞菌^[91]、嗜环弧菌^[92]、黄海希瓦氏菌^[93]等水产养殖疾病中的应用等。菲吉乐科(Phagelux)公司在动植物健康和食品安全等领域也开发了多款噬菌体产品,旨在通过噬菌体技术减少有害病原体的数量,特别是避免了细菌对抗生素的耐药性增加以及使用农药等危险化学品造成大量残留物积累等问题。

目前噬菌体在土壤及土传病害方面应用的案例还非常有限。如利用噬菌体组合应用于土传病害青枯菌,防控番茄^[94]、烟草^[95]等的青枯病;Chae等运用噬菌体药剂控制米黄单胞菌引起的水稻白叶枯病^[96]等。但噬菌体疗法在该方向的产业化发展还非常艰难,可能是由于细菌和噬菌体之间特异性强

且存在共进化关系,这使得细菌容易对噬菌体产生抗性。噬菌体“鸡尾酒”疗法可能是一种较好的解决方法,它包含了几个不同的噬菌体,即使一株细菌对其中一个噬菌体产生抗性,它也会被其他噬菌体杀死,因此我们迫切需要积极发展土壤噬菌体资源库,以推进噬菌体疗法生物技术的发展。

5 结论

病毒是地球上数量最多、物种最丰富的生命体,在多种生态系统和食物链中扮演着不可或缺的角色。但由于研究方法的限制,我们对土壤病毒的认识仍是冰山一角,未来的研究任重道远。如针对大量样品的病毒研究方法的开发,以更全面地了解土壤病毒在大尺度上的分布特征;土壤病毒及病毒功能基因资源库的建设,以便更好地服务于噬菌体产品的开发。作为来自土壤中的有机大分子,噬菌体不能在动物、植物细胞内复制,不会引起人类感染性疾病,目前尚未发现对人类、动物、植物有不良影响,这使得利用噬菌体特异地抑制土壤细菌污染、致病菌或耐药菌成为可能,是一种“绿色”的生物技术。因此,在细菌耐药性及后抗生素时代发展的趋势下,噬菌体疗法也有望成为抗生素的有效替代品。

参考文献(References)

- [1] Edwards R A, Rohwer F. Viral metagenomics[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3(6): 504-510.
- [2] Dion M B, Oechslin F, Moineau S. Phage diversity, genomics and phylogeny[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(3): 125-138.
- [3] 王光华, 刘俊杰, 朱冬, 等. 土壤病毒的研究进展与挑战[J]. *土壤学报*, 2020, 57(6): 1319-1332.
- [4] 朱永官, 彭静静, 韦中, 等. 土壤微生物组与土壤健康[J]. *中国科学: 生命科学*, 2021, 51(1): 1-11.
- [5] Pomeroy L R. The ocean's food web, a changing paradigm[J]. *Bioscience*, 1974, 24(9): 499-504.
- [6] Rohwer F, Thurber R V. Viruses manipulate the marine environment[J]. *Nature*, 2009, 459(7244): 207-212.
- [7] Breitbart M, Salamon P, Andresen B, et al. Genomic analysis of uncultured marine viral communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(22): 14250-14255.
- [8] Scola V, Ramond J B, Frossard A, et al. Namib desert soil microbial community diversity, assembly, and function along a natural xeric gradient[J]. *Microbial Ecology*, 2018, 75(1): 193-203.
- [9] Zablocki O, Adriaenssens E M, Cowan D. Diversity and ecology of viruses in hyperarid desert soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(3): 770-777.
- [10] Jin M, Guo X, Zhang R, et al. Diversities and potential biogeochemical impacts of mangrove soil viruses[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 58.
- [11] Adriaenssens E M, Kramer R, Van Goethem M W, et al. Environmental drivers of viral community composition in Antarctic soils identified by viromics[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 83.
- [12] Han L L, Yu D T, Zhang L M, et al. Unique community structure of viruses in a glacier soil of the Tianshan Mountains, China[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2017, 17: 852-860.
- [13] Trubl G, Jang H B, Roux S, et al. Soil viruses are underexplored players in ecosystem carbon processing[J]. *MSystems*, 2018, 3(5): e00076-00018.
- [14] Emerson J B, Roux S, Brum J R, et al. Host-linked soil viral ecology along a permafrost thaw gradient[J]. *Nature Microbiology*, 2018, 3(8): 870.
- [15] Bi L, Yu D T, Du S, et al. Diversity and potential biogeochemical impacts of viruses in bulk and rhizosphere soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(2): 588-599.
- [16] 韩丽丽, 于丹婷, 贺纪正. 土壤病毒生态学研究方法[J]. *生态学报*, 2017, 37(6): 1749-1756.
- [17] Williamson K E, Fuhrmann J J, Wommack K E, et al. Viruses in soil ecosystems: An unknown quantity within an unexplored territory[J]. *Annual Review of Virology*, 2017, 4: 201-219.
- [18] Wen K, Ortmann A C, Suttle C A. Accurate estimation of viral abundance by epifluorescence microscopy[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2004, 70: 3862-3867.
- [19] Wu R, Davison M R, Nelson W, et al. DNA viral diversity, abundance, and functional potential vary across grassland soils with a range of historical moisture regimes[J]. *mBio*, 2021, 12(6): e02595-21.
- [20] Liang X L, Wagner R E, Zhuang J, et al. Viral abundance and diversity vary with depth in a southeastern

- United States agricultural ultisol[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2019, 137: 107546.
- [21] Adriaenssens E M, Cowan D A. Using signature genes as tools to assess environmental viral ecology and diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(15): 4470–4480.
- [22] Jameson E, Mann N H, Joint I, et al. The diversity of cyanomyovirus populations along a North–South Atlantic Ocean transect[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(11): 1713–1721.
- [23] Chow C E T, Fuhrman J A. Seasonality and monthly dynamics of marine myovirus communities[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(8): 2171–2183.
- [24] Wang G, Yu Z, Liu J, et al. Molecular analysis of the major capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages in an upland black soil in Northeast China[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47(3): 273–282.
- [25] Liu J, Wang G, Zheng C, et al. Specific assemblages of major capsid genes (*g23*) of T4-type bacteriophages isolated from upland black soils in Northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1980–1984.
- [26] Wang X, Liu J, Yu Z, et al. Novel groups and unique distribution of phage *phoH* genes in paddy waters in northeast China[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 38428.
- [27] Goldsmith D B, Crosti G, Dwivedi B, et al. Development of *phoH* as a novel signature gene for assessing marine phage diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(21): 7730–7739.
- [28] Han L L, Yu D T, Bi L, et al. Distribution of soil viruses across China and their potential role in phosphorous metabolism[J]. *Environmental Microbiome*, 2022, 17(6): 1–11.
- [29] Li Y, Hingamp P, Watai H, et al. Degenerate PCR primers to reveal the diversity of giant viruses in coastal waters[J]. *Viruses*, 2018, 10(9): 496.
- [30] Brum J R, Sullivan M B. Rising to the challenge: Accelerated pace of discovery transforms marine virology[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(3): 147.
- [31] Thurber R V, Haynes M, Breitbart M, et al. Laboratory procedures to generate viral metagenomes[J]. *Nature Protocols*, 2009, 4(4): 470.
- [32] Trubl G, Roux S, Solonenko N, et al. Towards optimized viral metagenomes for double-stranded and single-stranded DNA viruses from challenging soils[J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7265.
- [33] Roux S, Solonenko N E, Dang V T, et al. Towards quantitative viromics for both double-stranded and single-stranded DNA viruses[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e2777.
- [34] Parras–Moltó M, Rodríguez–Galet A, Suárez–Rodríguez P, et al. Evaluation of bias induced by viral enrichment and random amplification protocols in metagenomic surveys of saliva DNA viruses[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 1–18.
- [35] Corinaldesi C, Tangherlini M, Dell’Anno A. From virus isolation to metagenome generation for investigating viral diversity in deep-sea sediments[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 1–12.
- [36] Binga E K, Lasken R S, Neufeld J D. Something from (almost) nothing: The impact of multiple displacement amplification on microbial ecology[J]. *The ISME Journal*, 2008, 2(3): 233–241.
- [37] Karlsson O E, Belák S, Granberg F. The effect of preprocessing by sequence-independent, single-primer amplification (SISPA) on metagenomic detection of viruses[J]. *Biosecurity and Bioterrorism: Biodefense Strategy, Practice, and Science*, 2013, 11(Suppl 1): S227–S234.
- [38] Roux S, Adriaenssens E M, Dutilh B E, et al. Minimum information about an uncultivated virus genome (MI-UViG)[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(1): 29–37.
- [39] Wommack K E, Bhavsar J, Polson S W, et al. VIROME: A standard operating procedure for analysis of viral metagenome sequences[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2012, 6(3): 427.
- [40] Roux S, Tournayre J, Mahul A, et al. Metavir 2: New tools for viral metagenome comparison and assembled virome analysis[J]. *BMC Bioinformatics*, 2014, 15(1): 76.
- [41] Nayfach S, Camargo A P, Schulz F, et al. CheckV: Assesses the quality and completeness of metagenome-assembled viral genomes[J]. *Nature Biotechnology*, 2021, 39: 578–585.
- [42] Roux S, Enault F, Hurwitz B L, et al. VirSorter: Mining viral signal from microbial genomic data[J]. *PeerJ*, 2015, 3: e985.
- [43] Kieft K, Zhou Z, Anantharaman K. Vibrant: Automated recovery, annotation and curation of microbial viruses, and evaluation of viral community function from genomic sequences[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 90.
- [44] Zhao G, Wu G, Lim E S, et al. VirusSeeker, a computational pipeline for virus discovery and virome composition analysis[J]. *Virology*, 2017, 503: 21–30.
- [45] Bolduc B, Youens–Clark K, Roux S, et al. iVirus: Facilitating new insights in viral ecology with software and

- community data sets imbedded in a cyberinfrastructure [J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(1): 7–14.
- [46] Shkoporov A N, Hill C. Bacteriophages of the human gut: The "known unknown" of the microbiome[J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 25(2): 195–209.
- [47] Hulo C, De Castro E, Masson P, et al. ViralZone: A knowledge resource to understand virus diversity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39: 576–582.
- [48] Masson P, Hulo C, De Castro E, et al. ViralZone: Recent updates to the virus knowledge resource[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, 41(D1): 579–583.
- [49] Ahlgren N, Ren J, Lu Y, et al. Alignment-free d_2^* oligo-nucleotide frequency dissimilarity measure improves prediction of hosts from metagenomically-derived viral sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, 45(1): 39–53.
- [50] Coutinho F H, Zaragoza-Solas A, López-Pérez M, et al. RaFAH: A superior method for virus-host prediction[J]. *Patterns*, 2021, 2: 100274.
- [51] Zhang F, Zhou F, Gan R, et al. PHISDetector: A tool to detect diverse in silico phage-host interaction signals for virome studies[J]. *BioRxiv*, 2020: 661074.
- [52] Pons J C, Paez-Espino D, Riera G, et al. VPF-Class: Taxonomic assignment and host prediction of uncultivated viruses based on viral protein families[J]. *Bioinformatics*, 2021, btab026.
- [53] Bolduc B, Jang H B, Doucier G, et al. vConTACT: An iVirus tool to classify double-stranded DNA viruses that infect Archaea and Bacteria[J]. *PeerJ*, 2017, 5: e3243.
- [54] Bin Jang H, Bolduc B, Zablocki O, et al. Taxonomic assignment of uncultivated prokaryotic virus genomes is enabled by gene-sharing networks[J]. *Nature Biotechnology*, 37(6): 632–639.
- [55] Bland C, Ramsey T L, Sabree F, et al. CRISPR recognition tool (CRT): A tool for automatic detection of clustered regularly interspaced palindromic repeats[J]. *BMC Bioinformatics*, 2007, 8(1): 1–8.
- [56] 王光华. 掀开土壤生物“暗物质”——土壤病毒的神秘面纱[J]. *中国科学院院刊*, 2017, 32(6): 575–583.
- [57] Sausset R, Petit M, Gaboriau-Routhiau V, et al. New insights into intestinal phages[J]. *Mucosal Immunology*, 2020, 13(2): 205–215.
- [58] Batinovic S, Wassef F, Knowler S A, et al. Bacteriophages in natural and artificial environments[J]. *Pathogens*, 2019, 8(3): 100.
- [59] Murray A G, Jackson G A. Viral dynamics: A model of the effects of size, shape, motion and abundance of single-celled planktonic organisms and other particles[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1992: 103–116.
- [60] Fancello L, Trape S, Robert C, et al. Viruses in the desert: A metagenomic survey of viral communities in four perennial ponds of the Mauritanian Sahara[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(2): 359–369.
- [61] Knowles B, Silveira C, Bailey B, et al. Lytic to temperate switching of viral communities[J]. *Nature*, 2016, 531(7595): 466.
- [62] Weinbauer M G, Brettar I, Höfle M G. Lysogeny and virus-induced mortality of bacterioplankton in surface, deep, and anoxic marine waters[J]. *Limnology Oceanography*, 2003, 48(4): 1457–1465.
- [63] Stewart F M, Levin B R. The population biology of bacterial viruses: Why be temperate[J]. *Theoretical Population Biology*, 1984, 26(1): 93–117.
- [64] Tan D, Hansen M F, de Carvalho L N, et al. High cell densities favor lysogeny: Induction of an H2O prophage is repressed by quorum sensing and enhances biofilm formation in *Vibrio anguillarum*[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(7): 1731–1742.
- [65] Li Y, Sun H, Yang W, et al. Dynamics of bacterial and viral communities in paddy soil with irrigation and urea application[J]. *Viruses*, 2019, 11(4): 347.
- [66] Anderson R E, Brazelton W J, Baross J A. The deep virosphere: Assessing the viral impact on microbial community dynamics in the deep subsurface[J]. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 2013, 75(1): 649–675.
- [67] Stanton T B. Prophage-like gene transfer agents—novel mechanisms of gene exchange for *Methanococcus*, *Desulfovibrio*, *Brachyspira*, and *Rhodobacter* species[J]. *Anaerobe*, 2007, 13(2): 43–49.
- [68] Hurwitz B L, U'Ren J M. Viral metabolic reprogramming in marine ecosystems[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2016, 31: 161–168.
- [69] Koskella B, Brockhurst M A. Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2014, 38(5): 916–931.
- [70] Stern A, Sorek R. The phage-host arms race: Shaping the evolution of microbes[J]. *Bioessays*, 2011, 33(1): 43–51.
- [71] Ducklow H W, Steinberg D K, Buesseler K O. Upper ocean carbon export and the biological pump[J]. *Oceanography*, 2001, 14(4): 50–58.
- [72] Suttle C A. Viruses in the sea[J]. *Nature*, 2005, 437

- (7057): 356–361.
- [73] Wilhelm S W, Suttle C A. Viruses and Nutrient Cycles in the Sea Viruses play critical roles in the structure and function of aquatic food webs[J]. *Bioscience*, 1999, 49(10): 781–788.
- [74] Weinbauer M G, Rassoulzadegan F. Are viruses driving microbial diversification and diversity? [J]. *Environmental Microbiology*, 2004, 6(1): 1–11.
- [75] Kuzayakov Y, Mason-Jones K. Nano-scale undead drivers of microbial life, biogeochemical turnover and ecosystem functions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127: 305–317.
- [76] Monier A, Chambouvet A, Milner D S, et al. Host-derived viral transporter protein for nitrogen uptake in infected marine phytoplankton[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2017, 114(36): E7489–E7498.
- [77] Roux S, Brum J R, Dutilh B E, et al. Ecogenomics and potential biogeochemical impacts of globally abundant ocean viruses[J]. *Nature*, 2016, 537(7622): 689–693.
- [78] Breitbart M, Thompson L R, Suttle C A, et al. Exploring the vast diversity of marine viruses[J]. *Oceanography*, 2007, 20(2): 135–139.
- [79] Mann N H, Cook A, Millard A, et al. Marine ecosystems: Bacterial photosynthesis genes in a virus[J]. *Nature*, 2003, 424(6950): 741.
- [80] Rohwer F, Segall A M. A century of phage lessons[J]. *Nature*, 2015, 528(7580): 46–47.
- [81] Adriaenssens E M, Van Zyl L, De Maayer P, et al. Metagenomic analysis of the viral community in Namib Desert hypoliths[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(2): 480–495.
- [82] Huang D, Yu P, Ye M, et al. Enhanced mutualistic symbiosis between soil phages and bacteria with elevated chromium-induced environmental stress[J]. *Microbiome*, 2021, 9: 150.
- [83] Sharon I, Battchikova N, Aro E-M, et al. Comparative metagenomics of microbial traits within oceanic viral communities[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5: 1178–1190.
- [84] Shaffer M, Borton M A, McGivern B B, et al. DRAM for distilling microbial metabolism to automate the curation of microbiome function[J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, 48(16): 8883–8900.
- [85] 李升伟. 噬菌体: 一个世纪的历史回顾[J]. *世界科学*, 2016(1): 42–43.
- [86] Dedrick R M, Guerrero-Bustamante C A, Garlena R A, et al. Engineered bacteriophages for treatment of a patient with a disseminated drug-resistant *Mycobacterium abscessus*[J]. *Nature Methods*, 2019, 25(5): 730–733.
- [87] García P, Rodríguez L, Rodríguez A, et al. Food bio-preservation: Promising strategies using bacteriocins, bacteriophages and endolysins[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2010, 21(8): 373–382.
- [88] 蔡天舒, 王静雪, 林洪, 等. 金黄色葡萄球菌噬菌体的生物学特性及其在牛奶中的抑菌应用[J]. *食品科学*, 2013, 34(11): 147–151.
- [89] 刘婷. 假单胞菌噬菌体的筛选及在冷却羊肉中的应用[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- [90] 王志丽. 中华鳖养殖中芽孢杆菌, 嗜水气单胞菌及其噬菌体的分离和性质研究[D]. 保定: 河北大学, 2012.
- [91] Li Z, Zhang J, Li X, et al. Efficiency of a bacteriophage in controlling vibrio infection in the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2016, 451: 345–352.
- [92] 杨扬. 应用噬菌体防治弧菌引发的刺参腐皮综合征[D]. 大连: 大连理工大学, 2013.
- [93] 李新宇, 孜力汗, 张宝会, 等. 噬菌体在水产养殖中应用的研究进展[J]. *中国农业科技导报*, 2016, 18(5): 187–192.
- [94] Wang X, Wei Z, Yang K, et al. Phage combination therapies for bacterial wilt disease in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(12): 1513–1520.
- [95] Fujiwara A, Fujisawa M, Hamasaki R, et al. Biocontrol of *Ralstonia solanacearum* by treatment with lytic bacteriophages[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(12): 4155–4162.
- [96] Chae J C, Hung N B, Yu S M, et al. Diversity of bacteriophages infecting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in paddy fields and its potential to control bacterial leaf blight of rice[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 24(6): 740–747.

Research advances and application prospect of soil viruses

HAN Lili^{1,2}, CAO Miaomiao^{1,2}, BI Li^{1,2}, ZHANG Limei^{1,2}, HE Jizheng³

1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China
2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
3. School of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

Abstract Viruses are the most abundant biological entities on the planet and have important roles in microbial community composition, host evolution and nutrient biogeochemical cycles. Firstly, this article summarizes the research history and development status of environmental viruses and reveals the development process of virus ecology, with focuses on comparative approaches to study soil viral ecology including phenotype, gene diversity, metagenomic, bioinformatics analysis, etc. Then based on these approaches, soil viruses diversity is expounded and the ecological function of soil viruses is further explored. Finally, the application and development prospects of environmental phages (phage therapy) are reviewed and prospected.

Keywords soil virus; virome; community composition; biogeochemical cycling of soil elements; auxiliary metabolic genes; phage therapy ●



(责任编辑 徐丽娇)