

Research Article

Analysis of gut microbiota in the Feces of Korean native black goat using 16S rRNA sequencing

Ho Chan Kang¹, Cheol Hyun Myung¹, Ji Yeong Kim¹, Sang Hyun Song², Woo Cheol Jeong², Seung Chang Kim³, Dae Hyeok Jin³, Hyun Tae Lim^{1,4*}

¹Department of Animal Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

²College of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

³Animal Genetic Resources Research Center, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Hamyang 50000, Korea

⁴Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

*Corresponding author: s_htim@gnu.ac.kr

ABSTRACT

Despite the recent surge in consumer demand for native goats as an alternative meat source, driven by shifting perceptions of health foods, there is a notable lack of prior research on this livestock breed. This study aimed to characterize the gut microbiota of native goat populations to enhance our understanding of the species and to provide fundamental data for improving productivity. Fecal samples collected from January to April 2024 were analyzed using 16S rRNA sequencing to assess the gut microbiota composition. The analysis revealed that the phyla Bacillota and Bacteroidota were the most abundant, playing key roles in fiber degradation and short-chain fatty acid production, which are crucial for the physiological and functional health of the animals. The gut microbiota composition was found to be similar to that of other ruminants. Interestingly, individuals with lower abundances of Bacillota and Bacteroidota showed relatively higher levels of Bacteroidales, suggesting that their digestive efficiency was not compromised. The gut microbiota of deceased animals also displayed a similar composition to that of healthy individuals, with no specific associations with particular diseases identified. The findings from this study provide foundational data on the gut microbiota of native goats, which could be further elaborated through additional research.

Key words: Korean native black goat, Fecal microbiome, bacterial community structure, Gut Microbiota

INTRODUCTION

장내 미생물 군집은 숙주의 소화, 면역 조절, 그리고 전반적인 건강에 중요한 영향을 미치는 복합적인 체계를 가지고 있다. Flint et al. (2008)는 장내 미생물 군집이 복잡한 탄수화물의 분해를 담당하며, 이를 통해 숙주가 에너지를 효율적으로 획득하는 데 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 특히 반추동물의 장내 미생물 군집은 소화 효율성, 성장률, 질병 저항성 등 생산성과도 직접적으로 연관되어 그 중요성이 대두되고 있다. Turnbaugh et al. (2006)는 비만과 관련된 장내 미생물 군집이 에너지 흡수 능력을 증가시킨다는 연구를 통해 특정 장내 미생물 군집이 가축의 생산성에도 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다.

16S rRNA 시퀀싱 기술은 이러한 미생물 군집을 분석하는 데 있어 효율적인 도구이다. Caporaso et al. (2012)는 미생물 군집의 구성과 다양성을 높은 해상도로 분석할 수 있고 비교적 적은 양의 표본으로도 신속히 평가할 수 있어 배양이 어려운 미생물까지도 탐지할 수 있는 장점을 가지고 있다고 보고하였다. 이를 통해 획득한 데이터는 특정 환경의 미생물 군집을 분류학적으로 파악하고 기능적인 역할을 이해하는 데에 중요한 기초자료로서 이용될 수 있으며, 특정 병원체의 식별 및 환경적 요인과의 상호작용을 이해하는데 도움을 줄 수 있다(Segata et al., 2011).

또한, 국내 염소육의 대한 수입량 및 소비량이 매년 증가하고 있고, 2024년 개의 식용 목적의 사육·도살 및 유통 등 종식에 관한 특별법이 제정되어 대체육으로 더욱 주목받게 되었다. 하지만 염소는 타 축종에 비해 선행 연구가 부족하며, 특히 장내 미생물 군집의 메타 분석에 관해서는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 재래염소의 분변 표본과 16S rRNA 시퀀싱을 통해 월별에 따라 발견되는 장내 미생물 군집의 파악으로 재래염소의 관리 효율 및 생산성 향상을 위해 수행되었다.

MATERIALS AND METHODS

표본 수집

본 연구에 사용된 표본은 경상국립대학교 부속 농장에서 관리중인 재래염소 성체들 중 통영 계통 6두(암:4, 수:2), 장수 계통 5두(암:2, 수:3), 경상국립대학교 계통 5두(암:4, 수:1)를 선정하여 총 16두의 표본을 채취하였다. 개체들은 동일한 사료를 동일한 시간에 급여하였으며, 2024년 1월부터 4월까지 매월 1회 채취하였다. 4월 표본 채취 전 통영 계통의 1두가 폐사하였고, 통영 계통 1두 표본의 오염으로 4월 분석 표본은 총 14두로 진행하였다. 채취 시 멸균된 장갑과 도구를 사용하였으며, 각 분변 표본은 15ml tube에 담아 즉시 -70°C 초저온 냉동고에 보관하였다.

DNA 추출

재래염소 분변 표본로부터의 genomic DNA 추출은 QIAamp FAST DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)를 사용하여 제조사에서 제공한 프로토콜에 따라 수행하였다. 각 표본 당 200mg의 분변을 사용하여 DNA를 추출하였으며, 추출된 DNA의 농도와 순도는 NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 평가하였다.

16S rRNA 유전자 증폭 및 시퀀싱

16S rRNA 유전자의 V3-V4 영역을 증폭하기 위해 특정 프라이머 세트를 사용하였다 (Forward: 341F, 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3', Reverse: 805R, 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3'). PCR 반응은 50 μL 반응 혼합물에서 수행되었으며, 반응 조건은 초기 변성 95°C 에서 3분, 이후 95°C 에서 30초 동안 30회 변성, 55°C 에서 30초 동안 결합, 72°C 에서 30초 동안 신장, 72°C 에서 5분동안 최종적으로 신장단계를 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter, Brea, CA, USA)를 사용하여 정제하였다. 정제된 PCR 산물은 Illumina MiSeq platform (Illumina, San Diego, CA, USA)을 사용하여 시퀀싱하였으며, 각 표본은 MiSeq v3 kit로 처리 후 약 300bp의 Fair-end sequence를 생성하였다.

데이터 처리 및 통계 설정

시퀀싱된 데이터는 FastQC 소프트웨어를 사용하여 품질 평가 후, Cutadapt v3.2(Martin, 2011)를 사용하여 저품질 리드 및 어댑터 시퀀스를 제거하였다. Amplifcon Sequence Variants(ASV) 시퀀스를 생성하기 위해 DADA2 v1.18.0(Callahan et al., 2016) 패키지를 이용하여 리드의 노이즈를 제거하고 오류를 수정하였으며, 키메라 시퀀스는 removeBimeraDenovo 함수를 사용한 컨센서스 방법으로 제거되었다. 생성된 ASV 데이터는 Bayesian classifier(Wang and Zhang, 2024) 알고리즘을 통해 정렬하였다. 미생물 군집의 차이를 평가하기 위해, Kruskal-Wallis 검정 및 Dunn's 사후 분석을 통해 각 표본 그룹 간의 통계적 유의성을 평가하였고, 통계적 분석은 R 소프트웨어 v4.0.3를 사용하여 수행하였으며, $p\text{-value} < 0.05$ 를 유의수준으로 설정하였다.

RESULTS AND DISCUSSION

재래염소 장내 미생물의 분류학적 구분

1월부터 4월까지의 장내 미생물 군집 분석결과를 Figure 1에 제시하였다. 재래염소의 장내 미생물은 평균 비율이 1% 이상인 5개의 문과 목, 20개의 속으로 구분할 수 있었으며, 풍부도가 높은 상위 5개의 문은 Bacillota, Bacteroidota, Spirochaetota, Verrucomicrobiota, Mycoplasmatota로 확인되었다. 분석에 활용된 표본 대부분 주된 장내미생물 구성이 유사하게 나타났으며, 월별에 따른 차이는 확인할 수 없었다. 경상국립대, 장수, 통영 계통의 월별 장내 미생물 분석 결과는 Table 1, 2, 3, 4에 제시하였다. 1월에 비해 4월에 채취한 표본들의 전체적인 평균치가 Bacillota, Mycoplasmatota 문은 각각 5.93%, 0.29% 증가하였으며, Bacteroidota 문은 6.09% 감소하였다. Bacillota 문은 경상국립대와 장수 계통에서 증가하였고, Verrucomicrobiota 문은 세 계통 모두에게서 증가하였다. Bacteroidota, Spirochaetota 문은 감소하였으며, 그 외의 문은 표본을 채취한 기간 동안 모두 유사한 경향을 나타내는 것으로 확인하였다. 4월에 폐사한 통영 개체 1두의 경우, 채취된 타 표본과 비교 시 미생물 군집의 구성에서 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 염소의 경우 기대 수명이 10년 전후로 알려져 있으며, 폐사한 개체는 2015년에 태어난 개체이다. 따라서 폐사한 개체는 환경적 요인으로 인한 미생물 군집의 변화로 인한 폐사가 아닌, 노환에 의한 폐사로 판단된다.

Bacillota 문에서 분류되지 않는 속을 제외하면 Romboutsia, Clostridium 속이 가장 높은 풍부도를 차지하였다. Romboutsia, Clostridium 속은 섬유질을 분해하여 반추동물의 주요 에너지원으로 사용되는 단쇄지방산(Short Chain Fatty Acid, SCFA)을 생성하는 미생물로, 장내에서 병원균의 성장을 억제하며, 비타민 K2 등의 비타민을 생성함으로써 반추동물의 생리적, 기능적 건강 유지에 필요하다(Rawal et al., 2024). 경상국립대 계통의 개체 1두와 장수 계통의 개체 1두는 Romboutsia, Clostridium 속이 확인되지 않거나 매우 적게 확인되었다. Bacillota 문의 감소는 SCFA의 생성 감소로 이어지며, 반추동물의 소화율이 떨어지므로 장내 미생물 불균형이 발생해 장내 염증과 같은 문제가 발생할 수 있다(Yan et al., 2022). 하지만 해당 개체들은 Bacteroidales 목의 비중이 상대적으로 높은 것을 확인하였으며, Rawal et al. (2024)가 보고한 내용에 따르면, Bacteroidales 목에 속하는 Bacteroides, Prevotella 속은 Romboutsia, Clostridium 속과 동일하게 섬유질을 분해하여 SCFA를 생성하며, 일부는 단백질과 질소 화합물을 분해하여 암모니아를 생성하고 반추동물의 질소 대사의 효율이 증가하는 것을 확인하였다. 따라서 해당 개체들은 주요 에너지원인 SCFA를 생성하는 다른 미생물 군집의 상호보완적 작용을 통해 개체의 적합한 소화 효율을 유지하고 있는 것으로 판단된다. 또한, 계절에 따른 먹이의 섬유질 구성이나 추위 스트레스 등의 환경요인이 반추동물의 미생물 군집 변화에 관한 선행 연구들에서 다수 보고되었기 때문에 해당 연구에서도 관찰할 수 있을 것으로 판단하였으나(Islam et al., 2021; Noel et al., 2017; Wei et al., 2021), 특정 문이나 속 등의 증감과 풍부도의 변화를 관찰할 수 없었다. 이는 연구에 사용된 재래염소 집단은 폐쇄형 축사를 여러 개의 분방으로 나누어 1~3두가 사육되고 있는 형식이다. 관리 기간 중에는 전 개체에 동일한 시간에 동일한 사료를 급여하여 식이에 따른 차이가 없도록 하였고, 추위 스트레스 저감을 위해 출입문을 폐쇄하고 온열등을 설치하는 등의 환경요인을 통제했기 때문이라고 생각된다. 따라서 현재의 연구 결과는 특정 기간에 채취한 소수의 표본으로 국한되어 있기 때문에, 결과의 일반화를 위해서 지속적인 표본의 채취와 이유전·후, 임신 등 연령 및 시기에 따른 개체의 표본 채취를 통한 추가적인 검증이 필요하다고 판단된다.

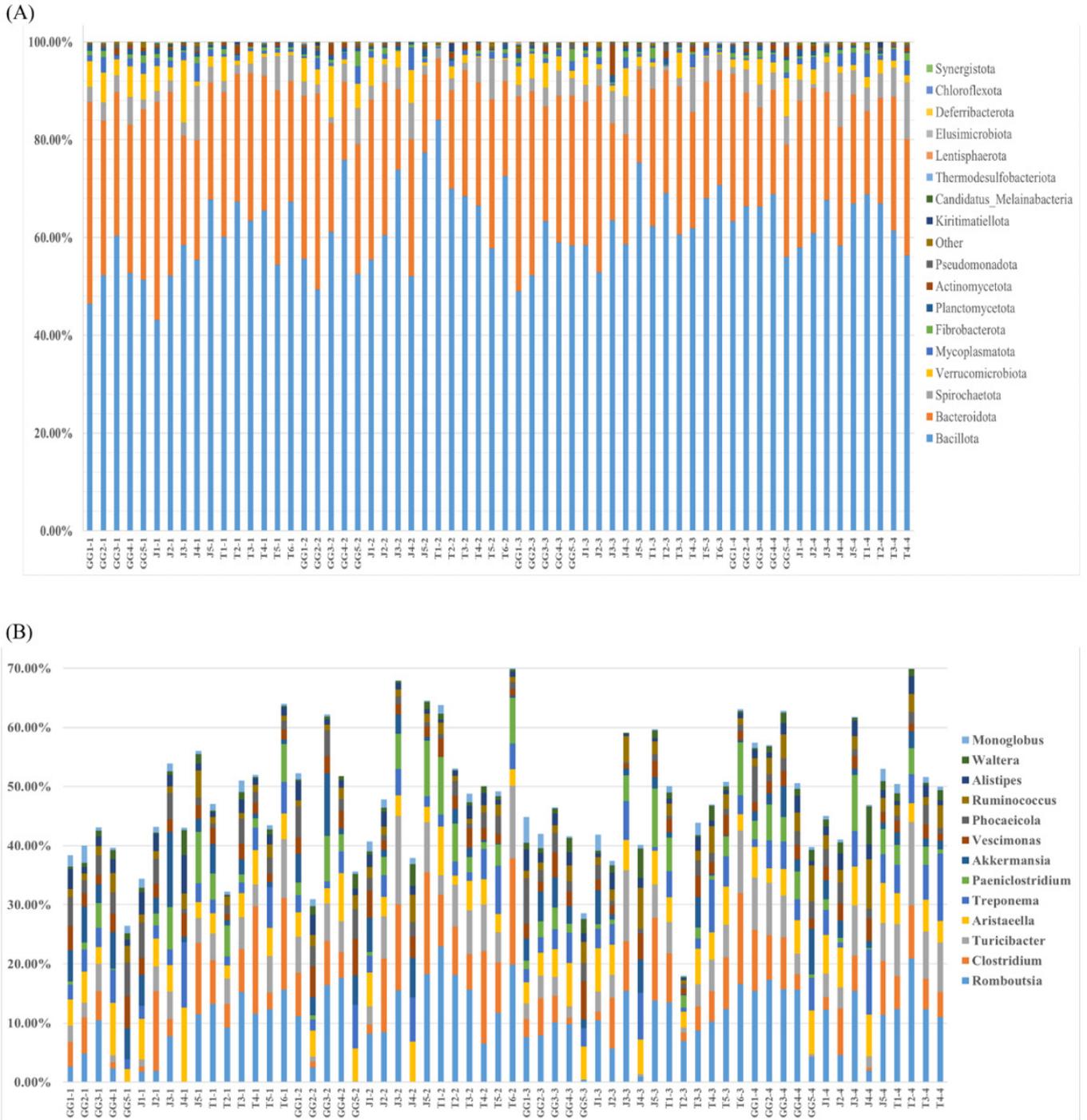


Figure 1. Gut microbiota bar plot in Korean native black goat (A) shows phylum-level gut microbiota bar plot in Korean native black goat (B) shows genus-level gut microbiota bar plot in Korean native black goat.

Table 1. Top 5 bacterial phyla in the gut microbiota of Korean native black goat in January (Unit: %)

	Bacillota	Bacteroidota	Spirochaetota	Verrucomicrobiota	Mycoplasmata
GG1	46.46	41.24	3.14	5.29	1.15
GG2	52.28	31.68	3.71	6.08	3.12
GG3	60.36	29.35	3.47	3.22	0.78
GG4	52.69	30.39	5.68	6.20	1.72
GG5	51.37	34.78	2.03	5.27	2.23
J1	43.10	44.60	2.21	5.15	1.70
J2	52.22	37.57	2.33	2.72	1.38
J3	58.47	22.37	2.75	12.69	1.61
J4	55.42	24.53	11.09	0.87	3.76
J5	67.76	23.93	3.17	2.20	1.38
T1	60.12	29.60	2.30	4.95	0.58
T2	67.34	26.15	1.78	0.91	0.92
T3	63.42	30.25	1.84	2.56	0.63
T4	65.48	27.62	3.81	0.73	0.49
T5	54.47	35.62	6.96	0.79	0.72
T6	67.31	24.66	5.32	0.74	0.46

GG, Gyeongsang National University; J, Jangsu; T, Tongyeong

Table 2. Top 5 bacterial phyla in the gut microbiota of Korean native black goat in February (Unit: %)

	Bacillota	Bacteroidota	Spirochaetota	Verrucomicrobiota	Mycoplasmata
GG1	55.66	33.35	2.90	4.81	0.33
GG2	49.34	40.09	1.87	3.09	2.35
GG3	61.14	22.20	1.18	10.57	0.63
GG4	75.85	15.95	3.69	0.99	1.34
GG5	52.54	26.59	7.35	5.00	3.63
J1	55.41	32.76	2.88	5.80	1.26
J2	60.51	31.19	3.69	1.12	1.01
J3	73.83	16.50	4.51	3.22	0.11
J4	52.11	27.99	7.42	6.73	4.67
J5	77.39	15.99	1.80	0.68	0.76
T1	84.00	12.64	2.04	0.04	0.35
T2	69.93	20.20	2.39	2.51	0.95
T3	68.43	25.88	1.44	1.61	0.97
T4	66.51	25.20	5.10	0.32	0.54
T5	57.81	30.42	8.14	0.19	1.42
T6	72.58	19.42	4.37	0.36	0.97

GG, Gyeongsang National University; J, Jangsu; T, Tongyeong

Table 3. Top 5 bacterial phyla in the gut microbiota of Korean native black goat in March (Unit: %)

	Bacillota	Bacteroidota	Spirochaetota	Verrucomicrobiota	Mycoplasmata
GG1	49.03	39.87	2.26	3.79	0.79
GG2	52.31	37.60	2.62	5.07	0.51
GG3	63.35	23.49	3.81	5.10	0.90
GG4	58.97	30.01	5.15	2.93	1.39
GG5	58.35	30.68	3.57	1.49	2.00
J1	58.40	29.42	3.33	5.76	0.74
J2	52.87	38.13	3.48	0.93	1.40
J3	63.52	19.90	6.53	1.18	0.29
J4	58.63	22.45	7.85	5.68	2.16
J5	75.32	19.07	0.62	1.98	0.64
T1	62.33	28.08	4.45	0.93	0.84
T2	69.09	25.08	0.68	0.11	0.32
T3	60.63	30.25	1.77	5.19	0.64
T4	61.84	23.78	8.96	0.27	2.57
T5	68.05	23.72	5.14	0.23	1.15
T6	70.79	23.49	3.17	0.40	0.63

GG, Gyeongsang National University; J, Jangsu; T, Tongyeong

Table 4. Top 5 bacterial phyla in the gut microbiota of Korean native black goat in April (Unit: %)

	Bacillota	Bacteroidota	Spirochaetota	Verrucomicrobiota	Mycoplasmata
GG1	63.33	30.13	1.32	1.66	0.35
GG2	66.43	23.19	4.70	1.90	0.39
GG3	66.32	20.26	4.68	5.23	0.35
GG4	68.90	21.30	3.54	2.08	1.63
GG5	56.09	22.97	5.81	7.73	1.09
J1	58.01	30.00	4.22	3.21	1.19
J2	60.91	29.60	0.90	2.95	2.50
J3	67.69	22.04	6.09	1.13	0.06
J4	58.34	24.28	10.99	1.34	2.65
J5	66.93	22.38	4.90	1.02	2.57
T1	68.82	17.05	4.76	2.18	4.82
T2	66.97	21.61	4.92	2.82	0.95
T3	61.40	27.44	5.90	1.47	2.30
T4	56.37	23.79	11.52	1.50	3.01

GG, Gyeongsang National University; J, Jangsu; T, Tongyeong

미생물 군집 구성 비교

Domínguez et al. (2022)는 자연 건초를 먹인 염소의 분변에서 미생물 군집을 분석하여 풍부도가 높은 상위 10개의 문을 Acidobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Lentisphaerae, Planctomycetes, Bacillota, Proteobacteria, Spirochaetes, Tenericutes, Verrucomicrobia라고 보고하였으며, 이는 본 연구와 유사하게 나타났다. 인도흑소(*Bos Indicus*), 젖소, 양, 타 반추동물 등의 장내 미생물 분석에서도 Bacillota, Bacteroidota 문이 가장 높은 풍부도를 차지하며, 군집 구성이 유사함을 확인하였다(Conteville et al., 2023; Guo et al., 2024; Kibegwa et al., 2023; Rabee et al., 2024; Vogel et al., 2024; Zhang et al., 2024). 선행 연구들과 재래염소의 공통 미생물 군집은 Bacillota, Bacteroidota와 같은 특정 박테리아문, 속이었으며 이는 lignocellulose와 같은 섬유질의 분해와 탄수화물 대사에서 중요한 역할을 한다(Keum et al., 2024). 이러한 공통 미생물 군집은 장내에서 생분해 과정을 촉진하는 데에 기여하고 식이와 대사에 관련한 집단적 적응을 나타낸다고 할 수 있다(Vogel et al., 2024).

CONCLUSION

본 연구는 재래염소의 미생물 군집 분석을 통해 축종의 이해도를 높이고 생산성 향상에 기여하기 위해 수행되었다. 분석 결과 염소를 비롯한 타 반추동물과의 장내 미생물 군집 구성에 큰 차이를 발견할 수 없었으며, 풍부도가 우세한 박테리아문과 속들은 주로 소화와 대사 활성과 같은 생존에 필수적인 미생물로 구성된 것을 확인하였다. 가장 우세한 Bacillota, Bacteroidota 문은 주로 섬유질을 분해하고 단쇄지방산을 생성하여 주로 개체의 생리적, 기능적 건강에 영향을 미치는 것으로 사료되나, 타 반추동물과의 차이를 확인할 수 없었고, 폐사한 개체의 장내 미생물 구성 또한 일반 개체들과 유사한 결과로 특정 질병과의 연관성은 파악할 수 없었다. 그러나 본 연구는 재래염소의 장내 미생물을 월별로 파악하여, 질병 및 계절별 변화를 파악하고자 한 것으로 이는 재래염소 장내 미생물 연구의 기초자료로서 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 사료 급여 및 환경적인 요소에 대한 추가 연구가 이루어진다면, 재래염소의 생산성 향상을 위한 개량 방향 설정에도 활용 가능할 것으로 판단된다.

CONFLICT OF INTERESTS

No potential conflict of interest relevant to this article is reported.

ACKNOWLEDGEMENTS

농촌진흥청(Rural Development Administration) 공동연구사업(과제번호: RS-2022-RD009978)의 지원에 의해 이루어진 것이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP. 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 13(7):581-583.
- Caporaso, JG, Lauber CL, Walters WA, Berglyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R. 2012. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*. 6(8): 1621-1624.
- Conteville LC, da Silva JV, Andrade BGN, Cardoso TF, Bruscadin JJ, de Oliveira PSN, Mourao GB, Coutinho LL, Palhares JCP, Berndt A, de Medeiros SR, Regitano LCA. 2023. Rumen and fecal microbiomes are related to diet and production traits in *Bos indicus* beef cattle. *Front. Microbiol*. 14.
- Domínguez FF, Crisanto MEV, Castro RLS, Rojas LV, Cuba VMB, Santos GRS, Ramos CAL, Mialhe E. 2022. Metagenomic analysis of the intestinal microbiome in goats on cactus and Salicornia-based diets. *Open veterinary journal*. 12(1):61-68.
- Flint HJ, Scott KP, Duncan SH, Louis P, Forano E. 2012. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes*. 3(4):289-306.
- Guo W, Liu T, Wang W, Yu Y, Neves ALA, Zhou M, Chen X. 2024. Survey of the fecal microbiota of indigenous small ruminants living in different areas of Guizhou. *Front. Microbiol*. 15.
- Islam M, Kim SH, Son AR, Ramos SC, Jeong CD, Yu Z, Kang SH, Cho YI, Lee SS, Cho KK, Lee SS. 2021. Seasonal Influence on Rumen Microbiota, Rumen Fermentation, and Enteric Methane Emissions of Holstein and Jersey Steers under the Same Total Mixed Ration. *Animals*. 11(4):1184.
- Keum GB, Pandey S, Kim ES. 2024. Understanding the Diversity and Roles of the Ruminant Microbiome. *J Microbiol*. 62:217-230.
- Kibegwa FM, Bett RC, Gachuri CK, Machuka E, Stomeo F, Mujibi FD. 2023. Diversity and functional analysis of rumen and fecal microbial communities associated with dietary changes in crossbreed dairy cattle. *PLoS ONE*. 18(1).
- Martin M. 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal*. 17(1):10-12.

- Noel SJ, Attwood GT, Rakonjac J, Moon CD, Waghorn GC, Janssen PH. Seasonal changes in the digesta-adherent rumen bacterial communities of dairy cattle grazing pasture. *PLoS One*. 12(3)
- Rabee AE, Khalil MMH, Khadiga GA, Elmahdy A, Sabra EA, Zommara MA, Khattab IM. 2023. Response of rumen fermentation and microbiota to dietary supplementation of sodium selenite and bio-nanostructured selenium in lactating Barki sheep. *BMC Vet Res*. 19:247.
- Rawal S, Kaur H, Bhathan, S, Mittal D, Kaur G, Ali SA. 2024. Ruminant Gut Microbiota: Interplay, Implications, and Innovations for Sustainable Livestock Production. *Sustainable Agriculture Reviews*. 62.
- Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C. 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol*. 12:6
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 444:1027-1031.
- Vogel FW, Carlotto N, Wang Z, Garrido L, Chatzi V, Herrero RG, Benavent-Albarracin L, Gimenez JM, Carbonell L, Porcar M. 2024. The Stool Microbiome in African Ruminants: A Comparative Metataxonomic Study Suggests Potential for Biogas Production. *Fermentation*. 10(3):119.
- Wang MM, Zhang XY. 2024. Quantum Bayes Classifiers and Their Application in Image Classification. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2401.01588>
- Wei X, Dong Z, Cheng F, Shi H, Zhou X, Li B, Wang L, Wang W, J Zhang. 2021. Seasonal diets supersede host species in shaping the distal gut microbiota of Yaks and Tibetan sheep. *Sci Rep*. 11.
- Yan X, Si H, Zhu Y, Li S, Han Y, Liu H, Du R, Pope PB, Qiu Q, Li Z. 2022. Integrated multi-omics of the gastrointestinal microbiome and ruminant host reveals metabolic adaptation underlying early life development. *Microbiome*. 10:222.
- Zhang K, He C, Wang L, Sui Langda, Guo M, Guo J, Zhang T, Xu Y, Lei Y, Liu G et al. 2024. Compendium of 5810 genomes of sheep and goat gut microbiomes provides new insights into the glycan and mucin utilization. *Microbiome*. 12:104.