

질소 추비량이 유색 보리의 생산성, 사료가치 및 안토시아닌 함량에 미치는 영향

송태화^{1*} · 한옥규² · 박태일¹ · 김양길¹ · 김기종¹ · 박기훈¹

Effect of Nitrogen Top Dressing Levels on Productivity, Feed Value, and Anthocyanin Content of Colored Barley

Tae-Hwa Song^{1*}, Ouk-Kyu Han², Tae-Il Park¹, Yang-Kil Kim¹, Kee-Jong Kim¹
and Ki-Hun Park¹

ABSTRACT

This experiment was carried out to evaluate the effects of nitrogen top dressing levels on the growth, feed value, and anthocyanin content for developing functional feed of colored barley. A colored barley cultivar, Boanchalbori, was tested in this experiment. Nitrogen top dressing levels was six (0, 20, 40, 60, 80, 100%) and top dressing time was a regeneration time. In case of productivity, heading data was get behind and dry matter rate was significant decreased with higher nitrogen top dressing levels ($p < 0.05$). Fresh yield, dry matter yield and TDN yield was increased with higher nitrogen top dressing levels, but not significant. In case of feed value, crude protein content was significant increased with higher nitrogen top dressing levels ($p < 0.05$), and higher in the order of spike, whole and leaf · culme of the plant. Percent NDF and ADF was decreased with higher nitrogen top dressing levels in leaf · culme, but no difference in spike and whole ($p < 0.05$), and higher in the order of leaf · culme, whole and spike of the plant. TDN was increased with higher nitrogen top dressing levels in leaf · culme, but no difference in spike and whole ($p < 0.05$), and higher in the order of spike, whole and leaf · culme of the plant. Total anthocyanin content was significant decreased with higher nitrogen top dressing levels in leaf · culme and whole ($p < 0.05$), and higher in the order of leaf · culme, whole and spike of the plant. Specially, cyanidin-3-glucoside (C3G), delphinidin (Del), malvidin-3-glucoside (M3G) and malvidin (Mal) show a significant decrease. So there are an accumulation of anthocyanin in the culm, and standard nitrogen top dressing levels dressing on the regeneration time for produces high anthocyanin content of the colored barley.

(Key words : Colored barley, Nitrogen top dressing levels, Productivity, Anthocyanin content)

I. 서 론

현재 우리나라는 경제발전예 따라 국민의 식생활이 양 중심에서 질 중심으로 변화함으로써 육류의 소비도 급격히 증가하고 있는 추세이

다. 이에 따라 가축 사양방법도 조방적 방법에서 가축의 대량 생산을 위한 단기적이고 집약적인 방식으로 전환되었으며, 가축먹이도 대량 사육 시 발생할 수 있는 각종 질병의 피해 예방 차원에서 사료에 항생제 등 각종 동물성 영

¹ 국립식량과학원 벼맥류부 (Rice and Winter Cereal Crop, NICS, RDA, Iksan 570-080, Korea)

² 국립식량과학원 (National Institute of Crop Science, RDA, Suwon 441-857, Korea)

Corresponding author : Tae Hwa Song, Rice and Winter Cereal Crop, NICS, RDA, Iksan 570-080, Korea, Tel: +82-63-840-2145, E-mail: ocean0916@korea.kr

양제나 의약품을 첨가하여 급여하고 있다. 그러나 최근 식품의 안전성을 중시하는 사회적 추세에 발맞춰 선진국에서는 가축사료에 항생제 사용을 금지하는 각종 법안이 만들어졌고, 국내에서도 2012년부터 가축사료 내 성장촉진용 항생제 사용을 전면 금지하는 법안이 마련됨에 따라 가축사료에 첨가하여 항생제를 대체할 수 있고 사료로서도 가치가 있는 천연 기능성 사료 개발이 시급하게 되었다.

안토시아닌은 자연계에 널리 존재하는 수용성 flavonoid계 색소로서 (Harborne, 1988), 식품 착색 물질뿐만 아니라 생체 내에서 생리활성에 도움을 주는 것으로 알려져 있어 이들 색소에 대한 연구들도 활발히 진행되고 있다 (Kong, 2003). 안토시아닌의 효과로는 항암작용, 면역증강, DNA 손상억제 등이 보고되어 있으며 (Plochmann, 2007; Tsukada, 2001; Koide, 1997), 특히 항산화 효과에 관한 연구결과가 많이 발표되어 있다 (Kanatt, 2005; Prior, 2005; Espin, 2000). 최근 안토시아닌이 다량 축적된 식용보리 품종인 ‘보안찰보리’가 개발됨에 따라 이 식용 유색보리의 일반적 특성을 경종적으로 개선하여 고 함량의 안토시아닌과 조사료 수량성 등 기능성 사료로서 이용성이 높은 방향으로 개발하고자 한다.

따라서 본 연구는 안토시아닌이 다량 함유된 기능성 사료용 보리의 생산 기술을 개발하기 위하여 전년에 최적 시비 및 수확시기를 구명하는데 이어 최적 추비량과 부위별 축적정도를 구명하고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시비처리

이 시험은 2010년 10월부터 2011년 6월까지 전북 익산에 소재한 국립식량과학원 벼맥류부 전작포장에서 수행하였다. 시험재료는 줄기와 종실이 모두 자색인 보안찰보리 품종을 이용하

였다. 파종은 10월 22일에 실시하였으며, 방법은 협폭과 (휴폭 40 cm, 파폭 18 cm), 파종량은 ha당 180 kg 수준이었고, 시험구는 난피법을 이용하여 3반복으로 배치하였다. 시비는 진단시비를 하였으며, 기준량은 청보리 표준시비량인 ha당 N 118 kg, P₂O₅ 74 kg, K₂O 39 kg 수준이었다. 시비방법으로 질소는 기비로 40% 시용한 후 나머지 60%는 생육재생기에 추비로 실시하였으며, 나머지 60%를 다 추비한 것을 대조구로 하여 각각 20, 40, 60, 80, 100% 증비하여 처리하였고, 인산과 칼리는 전량 기비로 하였다. 추비시기와 수확시기는 각각 이전 실험 (Song et al., 2011)에서 안토시아닌 축적에 가장 적합했던 생육재생기¹⁾와 안토시아닌이 가장 많이 축적되었던 출수 후 37일경으로 하였으며, 본 시험에서 표준시비구의 출수일은 4월 24일이었다.

2. 사료가치 및 안토시아닌 분석

분석용 시료는 각 수확기별로 1 kg씩의 시료를 취하여 70°C 순환식 건조기에 60시간 이상 건조한 후 평량하여 건물함량을 산출한 다음 이를 분쇄하여 사료가치 분석에 이용하였다. 시료의 조단백질은 AOAC (1995) 방법으로, NDF (neutral detergent fiber)와 ADF (acid detergent fiber)는 Goering and Van Soest (1970)의 방법으로 분석하였다. TDN (total digestible nutrients)은 ADF와 NDF의 건물소화율 및 섭취량과 높은 상관관계를 가진다는 점에 근거하여 TDN (%) = 88.9 - (0.79 × %ADF)의 계산식을 이용하여 산출하였다 (Holland, 1990).

안토시아닌은 5 ml 갈색병에 시료 0.2 g을 넣은 후 0.1N HCl-80% MeOH 용액 2ml을 가하

1) 월동이후 맥류의 생육이 다시 시작되는 시기로서, 지상부에서 경엽을 절단한 후 새로운 잎의 신장이 인정되고, 지하부에서 새로운 뿌리의 발생이 육안으로 판명되며, 일 평균 기온이 지속적으로 0°C 이상으로 지속 될 때를 생육재생기로 판단한다.

여 4°C에서 24시간 추출하였다. 추출액을 2.0 ml microtube에 옮긴 후 10,000rpm에서 10분간 centrifuging 하였다. 원심분리한 상등액은 0.45 µm syringe filter를 이용하여 여과한 후 HPLC 분석 시험용액으로 사용하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

Table 1. HPLC conditions for the analysis of anthocyanins

Items	Conditions
Column	YMC-Pack ODS-AM
Detector	UV, 520 nm
Flow rate	0.9 ml/min
Solvent	A: 5% formic acid, B: Acetonitrile + formic acid
Absorbance	520 nm
Injection volume	20 µl

3. 통계분석

이 실험에서 얻어낸 데이터는 SAS ver. 9.1 program을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan's multiple range test에 의하여 5% 유의 수준에서 처리구간의 통계적인 차이를 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 생육 및 수량

질소 추비량에 따른 보안찰보리의 생육특성 및 조사료 수량은 Table 2와 같다. 출수기는 질소 추비량이 증가함에 따라 지연되었는데, 이 결과는 보리에서 질소시비량이 증가함에 따라 출수기는 늦어진다고 보고한 Lee 등 (1975)의 결과와 일치하였다. 초장은 80% 증비구에서 가장 컸으며, 건물률은 질소 추비량이 증가함에 따라 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 생초수량은 질소 추비량의 증가에 따라 증가되는 경향이었으나 통계적인 유의성은 없었고, 건물수량과 TDN 수량 또한 처리구간 유의성이 없었다. Kim 등(1994)은 질소시비량이 많을수록 호밀의 건물률이 감소하였다고 보고하였고, Yun과 Kazuo (1998)는 트리티케일에서 질소시비량의 증가에 따라 건물률이 유의하게 증가하였다고 보고하였는데, 이 연구결과에서는 질소추비량이 증가함에 따라 건물률이 감소하는 결과를 얻었다. 이런 결과는 질소 추비량이 증가함에 따라 영양생장기가 길어지면서 출수가 늦어짐과 동시에 건물축적에도 영향을 미쳐 얻어진 결과라고 사료된다. 실제로 포장에서도 질소

Table 2. Changes in growth characteristics and yield according to nitrogen top dressing levels in colored barley

Nitrogen top dressing level	Heading date	Plant height (cm)	Dry matter (%)	Yield (MT ha ⁻¹)		
				Fresh	Dry	TDN
Control ¹⁾	Apr. 24	81.5 ^b	49.3 ^a	27.0	13.2	9.1
20 ²⁾	Apr. 26	81.2 ^b	48.7 ^{ab}	26.5	12.9	9.0
40 ²⁾	Apr. 26	82.2 ^b	46.0 ^b	29.6	13.6	9.7
60 ²⁾	Apr. 27	82.8 ^{ab}	45.5 ^b	31.8	14.5	10.2
80 ²⁾	Apr. 27	84.9 ^a	43.2 ^c	32.5	14.0	9.9
100 ²⁾	Apr. 28	81.6 ^b	44.7 ^b	31.1	13.9	9.6
Mean	Apr. 26	82.4	46.2	29.8	13.7	9.6

¹⁾ Standard nitrogen top dressing rate, in amount 60% of total nitrogen application.

²⁾ Added nitrogen top dressing application rate, %.

^{a-c} Means in a row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

추비를 많이 한 처리구일수록 수확기에 숙기가 늦어지는 것을 관찰할 수 있었다. 생초수량이 증가했음에도 건물수량이 차이가 없었던 것도 건물률이 줄어들면서 얻어진 결과라고 생각된다.

2. 식물체 부위별 사료가치

질소 추비량에 따른 보안찰보리의 부위별 사료가치는 Table 3과 같다. 조단백질 함량은 부위별로 이삭>총체>잎·줄기 순으로 높았으

며 ($p<0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 모든 부위에서 유의적으로 증가하였다 ($p<0.05$). NDF와 ADF는 부위별로 잎·줄기>총체>이삭 순으로 높았으며 ($p<0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 잎·줄기에서는 감소하였고, 총체와 이삭은 처리구간에 차이가 없었다. TDN 함량은 이삭>총체>잎·줄기 순으로 높았으며 ($p<0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 잎·줄기는 증가하였고 ($p<0.05$), 총체와 이삭은 처리구간에 차이가 없었다. Kwon (2003)은 맥류의 부위별 사료가치는 단백질이 잎>이삭>총체>줄기 순이

Table 3. Changes in feed value by nitrogen top dressing levels in colored barley

Part of plant	Nitrogen top dressing level	Crude Protein (%)	NDF ³⁾ (%)	ADF ⁴⁾ (%)	TDN ⁵⁾ (%)
Whole	Control ¹⁾	7.1 ^d	45.8	25.4	68.8
	20 ²⁾	8.5 ^c	45.9	23.8	70.1
	40 ²⁾	10.8 ^{ab}	45.3	22.7	71.0
	60 ²⁾	10.4 ^b	44.8	23.2	70.6
	80 ²⁾	11.5 ^a	44.0	23.0	70.7
	100 ²⁾	11.7 ^a	46.7	25.2	69.0
	Mean	10.0 ^B	45.4 ^B	23.9 ^B	70.0 ^B
Spike	Control	11.7 ^d	25.7	10.3	80.8
	20	14.0 ^c	28.0	9.8	81.1
	40	14.5 ^{bc}	28.7	10.8	80.4
	60	16.2 ^{ab}	28.7	10.8	80.4
	80	16.8 ^a	29.5	10.6	80.6
	100	16.2 ^{ab}	30.9	12.5	79.0
	Mean	14.9 ^A	28.6 ^C	10.8 ^C	80.4 ^A
Leaf and culm	Control	2.2 ^c	71.9 ^a	44.8 ^a	53.5 ^c
	20	3.0 ^b	69.8 ^b	43.2 ^a	54.8 ^c
	40	3.0 ^b	66.0 ^{bc}	39.8 ^{ab}	57.4 ^{bc}
	60	4.5 ^a	64.4 ^c	38.5 ^b	58.5 ^b
	80	4.9 ^a	62.4 ^d	38.0 ^b	58.8 ^b
	100	4.5 ^a	60.6 ^d	36.1 ^c	60.4 ^a
	Mean	3.7 ^C	65.9 ^A	40.1 ^A	57.2 ^C

¹⁾ Standard nitrogen top dressing rate, in amount 60% of total nitrogen application.

²⁾ Added nitrogen top dressing application rate, %. ³⁾ NDF : Neutral detergent fiber,

⁴⁾ ADF : Acid detergent fiber,

⁵⁾ TDN : Total digestible nutrients.

^{a-c} Means in a row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

고, NDF와 ADF는 줄기 > 총체 > 이삭 > 잎 순이라고 보고하였다. 이 시험에서는 잎과 줄기를 같이 분석하였으며, 잎과 줄기에서 잎이 차지하는 비율이 아주 적기 때문에 주로 줄기의 사료가치인 것으로 판단된다. Reneau 등 (1983)은 질소를 영양생장 촉진에 이용하는 사료작물은 질소비료 증가에 의하여 조단백질, 조지방, NFE 및 TDN 함량은 높아지고, 조섬유와 조지방 함량은 낮아진다고 보고하였다. 이 연구결과에서도 질소추비량이 증가함에 따라 단백질은 모든 부위에서 증가하였고, 섬유소는 섬유질이 많은 잎·줄기에서 유의적으로 감소하였

다. 이는 질소가 식물에 미치는 생리작용은 식물원형질의 주성분인 단백질 합성에 중요한 역할을 하기 때문에 질소의 증가는 세포내용물을 증가시켜 조단백질 함량 등은 증가되나 상대적으로 세포벽구성물질은 감소하는 것이라는 (Songin, 1985)의 보고로 해석할 수 있다.

3. 식물체 부위별 안토시아닌 함량

질소 추비량에 따른 보안찰보리의 부위별 안토시아닌 함량의 변화는 Table 4 및 Fig. 1 및 2와 같다. 안토시아닌 함량은 부위별로 잎·줄

Table 4. Changes in anthocyanin content according to nitrogen top dressing levels in colored barley

Part of plant	Nitrogen top dressing level	Anthocyanin content (mg/g)								Total
		C3G ³⁾	P3G	Del	M3G	Cya	Pel	Peo	Mal	
Whole	Control ¹⁾	0.157 ^a	0.037	0.118 ^a	0.557 ^a	0.038	0.044	0.054	0.125 ^a	1.129 ^a
	20 ²⁾	0.082 ^b	0.027	0.065 ^b	0.276 ^b	0.036	0.031	0.034	0.073 ^b	0.624 ^b
	40 ²⁾	0.078 ^b	—	0.064 ^b	0.254 ^b	—	0.030	0.033	0.070 ^b	0.527 ^c
	60 ²⁾	0.061 ^{bc}	—	0.047 ^c	0.180 ^c	—	0.029	—	0.058 ^c	0.375 ^d
	80 ²⁾	0.042 ^c	—	0.038 ^d	0.131 ^d	—	—	—	0.049 ^d	0.261 ^e
	100 ²⁾	0.038 ^c	—	0.031 ^d	0.101 ^d	—	—	—	0.048 ^d	0.218 ^e
	Mean	0.076	0.032	0.060	0.250	0.037	0.033	0.040	0.070	0.523 ^B
Spike	Control ¹⁾	0.040	—	0.029	0.081	—	—	—	0.044	0.194
	20	0.038	—	0.031	0.092	—	—	—	0.047	0.208
	40	0.036	—	0.028	0.081	—	—	—	0.045	0.190
	60	0.037	—	0.029	0.087	—	—	—	0.044	0.197
	80	0.039	—	0.031	0.098	—	—	—	0.042	0.210
	100	0.041	—	0.030	0.088	—	—	—	0.045	0.204
	Mean	0.039	—	0.029	0.088	—	—	—	0.045	0.200 ^C
Leaf and culm	Control ¹⁾	0.266 ^a	0.053	0.182 ^a	0.960 ^a	0.047	0.056	0.083	0.164 ^a	1.812 ^a
	20	0.262 ^a	0.048	0.185 ^a	0.886 ^b	0.048	0.067	0.071	0.111 ^b	1.678 ^b
	40	0.150 ^b	0.043	0.125 ^b	0.656 ^c	0.043	0.036	0.061	0.102 ^b	1.217 ^c
	60	0.150 ^b	0.037	0.104 ^{bc}	0.542 ^{cd}	0.036	0.038	0.051	0.093 ^c	1.051 ^c
	80	0.079 ^c	—	0.070 ^c	0.377 ^d	—	—	—	0.069 ^d	0.596 ^d
	100	0.066 ^c	—	0.051 ^d	0.255 ^e	—	—	—	0.050 ^d	0.421 ^d
	Mean	0.162	0.045	0.120	0.613	0.044	0.049	0.067	0.115	1.146 ^A

¹⁾ Standard nitrogen top dressing rate, in amount 60% of total nitrogen application.

²⁾ Added nitrogen top dressing application rate, %.

³⁾ C3G : cyanidin-3-glucoside, P3G : pelargonidin-3-glucoside, De l: delphinidin, M3G : malvidin3-O-glucoside, Cya : cyanidin, Pel : pelargonidin, Peo : peonidin, Mal : malvidin.

^{a-e, A-C} Means in a row with different superscripts are significantly different (p<0.05).

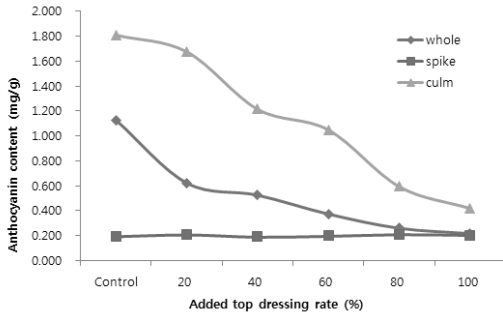


Fig. 1. Changes in anthocyanin content by amount of nitrogen top dressing in each part of plant.

가>총체>이삭 순으로 높았으며 ($p<0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 잎·줄기와 총체에서 유의적으로 감소하였다 ($p<0.05$). 특히 cyanidin-3-glucoside (C3G), delphinidin (Del), malvidin-3-glucoside (M3G), malvidin (Mal)의 감소가 가장 현저하였으며 ($p<0.05$), 추비량이 많아질수록 일부 안토시아닌 성분은 검출되지 않았다. 이삭에서는 C3G, Del, M3G, Mal만 검출되었고, 질

소 추비량의 증가에 따라 처리구간에 차이가 없는 것으로 나타났다. Gisela와 Wilhelm (2006)과 Jeong 등 (2006)의 보고에 의하면 전분이 많은 유색감자에서 질소 시비량에 따라 안토시아닌의 함량은 차이가 없다고 했다. 유색보리의 이삭에는 종피에만 소량의 안토시아닌이 축적되어 있고 또한 높은 전분 함량으로 인해 안토시아닌의 함량이 차이가 나타나지 않은 것으로 판단된다. 결국 총체에서 안토시아닌의 유의적인 감소는 잎·줄기의 안토시아닌 감소에서 기인된 것임을 알 수 있었다. Delgado 등 (2006)과 Mohd 등 (2012)은 포도와 약용식물에서 질소함량이 증가할수록 안토시아닌의 축적이 낮아진다고 보고하였고, Wang과 Jiao (2000)도 식물체 내에 질소 함량이 낮을 때 안토시아닌이 축적된다고 보고하였다. 또한 Bongue와 Phillips (1995)는 질소 스트레스는 안토시아닌 생합성과 관련된 암화효소 유전자의 표현에 영향을 미친다고 보고하였다. 안토시아닌의 색소의 발현 기작은 극히 복잡하여 질소 외에 광, 온

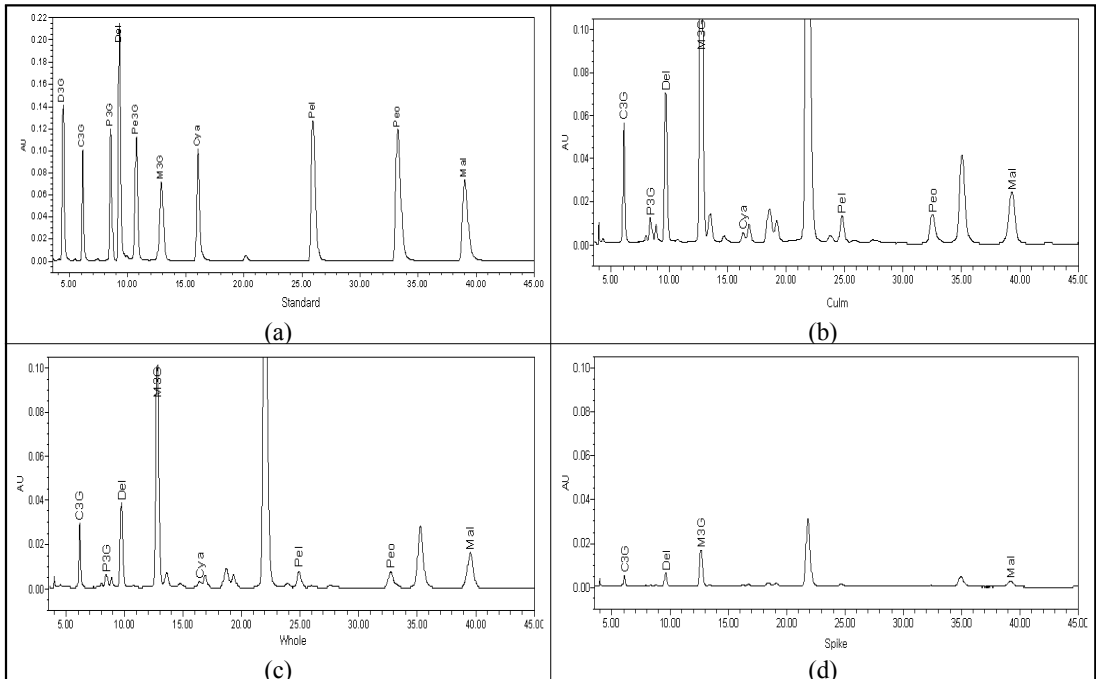


Fig. 2. Anthocyanins of each plant part detected by HPLC. (a) standards of anthocyanins, (b) leaf and culm, (c) whole plant, (d) spike.

도, 수분 등 여러 가지 요인이 작용하지만 (Ju and Lim, 2002), 안토시아닌의 기본원료는 포도당이므로 탄수화물이 충분히 공급되어야 한다. 질소 추비량이 증가할수록 안토시아닌 함량이 줄어드는 것은 높은 질소 함량이 엽록소 생성에 작용해서 엽록소의 분해가 늦어지며 또한 늦게까지 잎과 줄기의 영양생장을 촉진시키므로 여기에 이용되는 탄수화물 소모가 많기 때문에 색소 축적에 이용되는 탄수화물이 줄어들었기 때문이라고 사료된다.

IV. 요약

이 연구는 기능성 사료용 보리의 생산 기술을 개발하기 위한 기초자료를 얻고자 식물체 전체에 안토시아닌이 함유된 겉보리인 ‘보안찰보리’ 품종을 이용하여 전년에 구멍된 안토시아닌의 축적을 높이기 위한 최적 추비 및 수확 시기를 구명하는데 (Song et al., 2011) 이어 최적 시비량과 생산성, 사료가치 및 부위별 축적 정도를 검토하였다. 그 결과 질소 추비량이 증가함에 따라 출수기가 지연되었고, 초장은 80% 증비구에서 가장 컸으며, 건물율은 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 생초수량은 증가되는 경향이었으나 통계적인 유의성은 없었고, 건물수량과 TDN 수량은 처리구간에 차이가 없었다. 조단백질 함량은 부위별로 이삭 > 총체 > 잎·줄기 순으로 높았으며 ($p < 0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 모든 부위에서 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). NDF와 ADF는 부위별로 잎·줄기 > 총체 > 이삭 순으로 높았으며 ($p < 0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 잎·줄기에서는 감소하였고, 총체와 이삭은 처리구간에 차이가 없었다. TDN 함량은 이삭 > 총체 > 잎·줄기 순으로 높았으며 ($p < 0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 잎·줄기는 증가하였고 ($p < 0.05$), 총체와 이삭은 처리구간에 차이가 없었다. 안토시아닌 함량은 부위별로 잎·줄기 > 총체 > 이삭 순으로 높았으며 ($p < 0.05$), 질소 추비량의 증가에 따라 잎·

줄기와 총체에서 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.05$). 특히 cyanidin-3-glucoside (C3G), delphinidin (Del), malvidin-3-glucoside (M3G), malvidin (Mal) 의 감소가 가장 현저하였다 ($p < 0.05$). 이상의 결론을 종합하여 볼 때, 이 연구에 이용된 ‘보안찰보리’는 잎·줄기에 안토시아닌 축적이 가장 많고, 조사료 수량을 고려하면서 안토시아닌 함량이 높은 조사료용 유색보리를 생산하기 위해서는 월동 후 생육재생기에 표준 추비량을 주는 것이 가장 유리한 것으로 판단되었다.

V. 사 사

본 연구는 2011년도 농촌진흥청 주관 공동연구사업인 “안토시아닌 함유 유색보리를 이용한 기능성 조사료 개발” 과제에 연구비 및 국립식량과학원 박사후연수과정 지원사업에 의해 수행되었으며, 이의 지원에 감사드립니다.

VI. 인용문헌

1. AOAC. 1995. Official method of analysis (15th ed.) Association & Official Analytical Chemists, Washington DC.
2. Bongue-Bartelsman, M. and D.A. Phillips. 1995. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiol. Biochem.* 33:539-546.
3. Delgado, G., M.R. Gonzalez and P. Martin. 2006. Interaction effects of nitrogen and potassium fertilization on anthocyanin composition and chromatic features of tempranillo grapes. *Int. J. Vine Wine Sci.* 40:141-150.
4. Espin, J.C., C. Soler-Rivas, H.J. Wichers and C. Garcia-Viguera. 2000. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. *J. Agric. Food Chem.* 48:1588-1592.
5. Gisela J. and W. Flammen. 2006. Coloured potatoes (*Solanum tuberosum* L.). - Anthocyanin content and tuber quality. *Genet. Resour. and Crop Evol.* 53:1321-1331.
6. Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage

- fiber analysis. Agric. Handbook 379, U.S. Gov. Print. Office Washington, DC.
7. Harborne, J.B. 1988. Introduction to ecological biochemistry (3rd ed). Academic press, London.
 8. Holland, C., W. Kezar, W.P Kautz, E.J. Lazowski, W.C. Mahanna and R. Reinhart. 1990. Pioneer Hi-Bred International, Inc., Des moines, IA.
 9. Jeong, J.C., D.C. Chang, Y.H. Yoon, C.S. Park and S.Y. Kim. 2006. Effect of Cultural Environments and Nitrogen Fertilization Levels on the Anthocyanin Accumulation of Purple-fleshed Potato (*Solanum tuberosum* L.) Variety Jasim. J. Bio-Envir Control. 15(2):204-210.
 10. Joo, M.K. and J.S. Lim. 2002. Effect of Light and Temperature on Yield, Chlorophyll and Anthocyanin Contents of Leaf Lettuce (*Lactuca sativa* L.). Korean J. Intl. Agri. 14(2):105-112.
 11. Kanatt, S.R., R. Chander, P. Radhakrishna and A. Sharma. 2005. Potato peel extract a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in radiation processed lamb meat. J. Agric. Food Chem. 53:1499-1504.
 12. Kim, C.H. and J.C. Chae. 1994. Effects of nitrogen fertilizer application level and cutting time on forage yield and feed value of rye in paddy field. Korea J. Crop Sci. 39(4):373-381.
 13. Koide, T., H. Kamei, Y. Hashimoto, T. Kojima and M. Hasegawa. 1997. Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans *in vitro* and *in vivo*. Cancer Biotherapy and Radiopharmacol. 12:277-280.
 14. Kong, J.M., L.S. Chia, N.K. Goh, T.F. Chia and R. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochem. 64:923-933.
 15. Kwon, Y.U. 2003. Studies on growth, nutrient components and optimal harvesting time in winter forage crops. Dongguk Univ. Ph. D. Paper. Seoul. Korea.
 16. Lee, H.S., E.W. Lee and H.Y. Lee. 1975. Studies on the response of barley varieties to nitrogen application and seeding methods. Korean J. Crop Sci. 20:152-162.
 17. Mohd, H.I., Z.E.J. Hawa, R. Asmah and A.R. Zaharah. 2012. Involvement of nitrogen on flavonoids, glutathione, anthocyanin, ascorbic acid and antioxidant activities of malaysian medicinal plant *Labisia pumila* blume (Kacip Fatimah). Int. J. Mol. Sci. 13(1):393-408.
 18. Plochmann, K., G. Korte, E. Koutsilieri, E. Richling, P. Riederer, A. Rethwilm, P. Schreier and C. Scheller. 2007. Structure-activity relationships of flavonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells. Arch. Biochem. 460:1-9.
 19. Prior, R.L., X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized method for determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and biological and food samples. J. Agric. Food Chem. 53:4290-4302.
 20. Reneau, R.B., Jr. G. D. Jones and J.B. Freodricks. 1983. Effect of P and K on yield and chemical composition of forage sorghum. Agron. J. 75:5-8.
 21. Song, T.H., O.K. Han, Y.K. Kim, T.I. Park, K. H. Park and K.J. Kim. 2011. Effect of top dressing and harvest time on growth, feed value, and anthocyanin content of colored barley. Korean J. Crop Sci. 56(2):159-166.
 22. Songin, W. 1985. The effect of nitrogen application on the content of nitrogen, phosphorus, potassium and calcium in the dry matter of rye and winter rye grown as winter catch crop. Herb. Abst. 55(2):297.
 23. Tsukada, Y.I., K. Miyazawa and N. Kitamura. 2001. High intensity ERK signal mediates hepatocyte growth factor-induced proliferation inhibition of the human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. J. Biol. Chem. 276:40968-40976.
 24. Wang, S.Y. and H. Jiao. 2000. Scavenging capacity of berry crops superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen. J. Agric. Food Chem. 48:5677-5684.
 25. Yun, S.G. and A. Kzaou. 1998. Effect of Planting Dates and Nitrogen Fertilization Rates on the Forage Yield and Feeding Value of Introduced Triticale. J. Korean Grassl. Forage Sci. 18(2):113-122.

(Received May 31, 2012/Accepted June 13, 2012)