

젖산균과 클로렐라 첨가가 이탈리아라이그라스-헤어리베치 사일리지의 사료가치 및 품질에 미치는 영향

최기춘^{1*} · M. Valan Arasu^{1,2} · S. Ilaveni¹ · 박형수¹ · 정민웅¹ · 김지혜¹ · 정종성¹ · 황보순³ · 김원호¹ · 임영철¹

¹국립축산과학원, ²King Saud University, ³대구대학교

Effect of Addition of Lactic Acid Bacteria and Chlorella on Nutritive Values and Quality of Italian Ryegrass-Hairy Vetch Silage

Ki Choon Choi^{1*}, M. Valan Arasu^{1,2}, S. Ilaveni¹, Hyung Su Park¹, Min Woong Jung¹, Ji Hye Kim¹,
Jeong Sung Jung¹, Soon Hwangbo³, Won Ho Kim¹ and Young Chul Lim^{1*}

¹Grassland and forage division, National Institute of Animal Science, RDA, Seonghwan-Eup, Cheonan-Si, Chungnam,
330-801, Republic of Korea, ²Department of Botany and Microbiology, Addiriyah Chair for Environmental Studies,

College of Science, King Saud University, Riyadh 11451, Saudi Arabia

³Department of Animal Resources, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of the addition of lactic acid bacteria (LAB) and chlorella on the change of nutritive value, quality and microbes regarding the mixture silage of Italian ryegrass and hairy vetch (IRG-HV silage). The content of crude protein of IRG-HV silage in only the LAB treatment was not different as compared to the control. However, the content of crude protein significantly increased in the treatment of LAB with chlorella, compared to both the control and LAB treatments ($p < 0.05$). Acid detergent fiber, neutral detergent fiber, total digestible nutrient and *in vitro* dry matter digestibility of IRG-Alfalfa silage were not significantly different in all treatments. Further, the pH of IRG-HV silage in only the LAB treatment was not different as compared to control, but decreased in both LAB and chlorella treatments ($p < 0.05$). The content of lactic acid in the LAB treatment increased as compared to the control, and also significantly increased in the LAB treatment with chlorella ($p < 0.05$). In addition, the number of LAB in LAB treatment increased as compared to the control, and significantly also increased in the LAB treatment with chlorella ($p < 0.05$). Therefore, we suggest that IRG-HV silage improved with addition of both LAB and chlorella.

(Key words : Italian ryegrass, Hairy vetch, Silage, Lactic acid bacteria, Chlorella)

I. 서 론

최근 전 세계적으로 바이오매스 이용 증가에 따른 곡물
가 급등은 수입 사료가격을 상승시켜 우리 축우농가에게
많은 어려움을 주고 있다. 이러한 이유로 인하여 축우농가
는 조사료 확보를 위해 저장조사료를 제조하여 확보하고자
하는 노력을 기울이고 있는데 이들 방법 중의 하나가 겨울
철 답리작 사료작물 이용이 가장 합리적인 대안으로 알려
져 있다(Choi et al., 2012; Ha et al., 2012; Kim et al.,

2011; Ji et al., 2011; Kim et al., 2007; Seo et al., 2007;
Seo et al., 2004).

현재 이탈리아 라이그라스(Italian ryegrass, IRG)는 전국적
으로 약 10만 ha 정도 재배되고 있는 양질의 동계 답리작
사료작물(Kim et al., 2011; Kim et al., 2009; Kim et al.,
2007; Lim et al., 2007; Seo et al., 2007)로서 많은 관심의
대상이 되고 있기 때문에 축산농가와 경종농가의 협력이
매우 중요하다. 특히 우리나라에서 육종된 IRG ‘코원어리,
코스피드, 코원마스터’는 내한성과 내습성이 강하여 수량성

* Corresponding author : Ki Choon Choi, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-808, Korea. Tel: +82-41-580-6755,
Fax: +82-41-580-6779, E-mail: choiwh@korea.kr

과 사료가치가 높고 가축의 기호성이 우수하여 담리작 재배에 유리한 사료작물이다(Seo et al., 2011; Kim et al., 2009; Choi et al., 2008)

최근 조사료는 가축의 생체조절, 질병예방, 질병회복 등에 밀접한 관련이 있는 것으로 보고(Valan Arasu et al., 2014; Choi et al., 2013a, b; Hwang et al., 2013)되고 있기 때문에 조사료의 효율적인 활용을 위해서 조사료의 영양성분 강화 및 품질향상 기술 개발은 매우 중요하며, 또한 영양 강화를 통한 사일리지의 품질 향상 등의 측면에서 다양한 접근방법을 모색해야 한다. 그러므로 영양 강화 사일리지의 제조 기술 개발은 국내산 사일리지의 품질 향상에 기여할 뿐 아니라 조사료 유통 활성화 및 신뢰도를 향상시켜 국내산 조사료의 안정성에 기여하고 또한 조사료의 영양 강화 및 품질향상을 통하여 완전배합사료 원료로 수입되고 있는 수입 조사료의 대체가 가능할 것으로 생각된다.

일반적으로 두과목초의 단백질 함량은 수확시기에 따라 다양한 차이를 보이지만 약 20% 내외의 함량을 가지고 때문에 단백질함량을 높이기 위한 방법으로서 두과목초의 활용은 양질의 조사료 확보차원에서 매우 중요하다(Kim et al., 2007; Kim et al., 2005). 또한 녹조류인 클로렐라의 단백질 함량은 약 60% 정도이고 다양한 기능성(Bae et al., 2013; Ramos et al., 2010; Kang et al., 2004)을 가지고 있기 때문에 이러한 원료를 이용하여 조사료의 영양성분을 강화할 수 있는 방법 또한 양질의 조사료 이용성을 증진시키는 데 중요한 방법이 될 수 있다. 또한 최근 TMR 업체들은 양질의 조사료 영양성분 강화 및 품질이 향상된 조사료의 필요성을 역설하고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 이탈리아라이그라스-헤어리베치(IRG-HV) 사일리지 제조시 젖산균과 클로렐라를 처리하여 사일리지의 사료가치, 품질 및 미생물상의 변화를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 포장시험 및 사일리지 제조

본 연구는 충남 천안 국립축산과학원 사료작물 재배지에서 2012년 부터 2013년까지 수행되었다. 공시초종으로 이탈리아 라이그라스 ‘코윈어리’와 헤어리베치 ‘윈터’을 이용하여 수행하였다. 모든 초종은 파종적기에 파종하여 관행 시비한 다음 재배하였다. 수확은 수확적기(IRG; 개화기, Hairy vetch; 개화전기)에 수확하여 사일리지를 제조하였으며 이때 젖산균 첨가제(청미바이오, 한국)를 처리하여 각

처리당 3반복으로 하였다. 시험구는 대조구, 젖산균 첨가구, 젖산균과 클로렐라 첨가구로 구성하였다. 젖산균의 첨가제의 양은 첨가제 제조회사(청미바이오, 한국)에서 제시한 권장량을 증류수에 희석하여 사용하였다. 즉, 젖산균은 *L. plantarum*으로 1.5×10^{10} cfu/g을 함유하고 있으며, 본 균주를 증류수(1 g/100 ml)에 녹여 50 kg의 사일리지 제조에 이용하였다. 그리고 클로렐라(*Chlorella vulgaris*) 첨가는 0.25%로 첨가하여 젖산균 접종과 함께 사용하였다. 그리고 이탈리아라이그라스-헤어리베치의 비율을 8:2 수준으로 사일리지를 조제하여 사일리지의 특성을 조사하였다. 사일리지는 플라스틱 시험용 사일로에 충전 시킨 후 완전 밀봉하여 그늘에서 보관하였다. 이렇게 조제된 사일리지는 약 45일 동안 보관 한 후 개봉하여 사료가치, 품질 및 미생물상을 조사하였다.

2. 사료가치 분석

사일리지의 사료가치를 조사하기 위하여 각 시험구에서 저장 45일 후 사일리지 각 처리구당 약 500 g을 취하여 일부는 65°C 순환식 송풍건조기에서 3일 이상 건조 후 분쇄하여 시료의 Crude protein (CP)은 AOAC법(1990)에 의해 분석하였고, Neutral detergent fiber (NDF) 및 Acid detergent fiber (ADF) 함량은 Goering 및 Van soest법(1970)으로 분석하였다. *In vitro* 건물소화율은 Tilley 및 Terry법(1963)을 Moore(1970)가 수정한 방법을 이용하였으며, 가소화영양소 총량(total digestible nutrients, TDN)은 $88.9 - (ADF\% \times 0.79)$ 에 의해서 산출하였다. 그리고 나머지 일부는 -20°C 냉동고에 보관하였다가 사일리지 특성조사에 사용하였다.

사일리지의 pH와 유기산 성분은 개봉한 사일리지 10 g을 증류수 100 ml에 넣고 냉장고에서 주기적으로 흔들며 주면서 24시간 보관 후 4중 거즈로 1차 거른 뒤 여과지(Whatman No. 6)를 통과한 추출액을 조제하여 pH는 pH meter(HI 9024; HANNA Instrument Inc. UK)로, 그리고 젖산은 0.22 μ m 실린지 필터를 사용하여 여과시킨 다음 HPLC (HP1100, Agilent Co. USA)로 분석하였다. 초산과 낙산 분석은 Gas chromatography(GC-450, Varian Co., USA)를 이용하여 분석하였다. 추출액은 분석에 이용할 때까지 -70°C에서 냉동보관 하였다.

미생물상 조사를 위해서 사일리지 시료 10 g을 멸균된 250 mL의 플라스크에 넣고 멸균수 90 mL를 넣고 1시간동안 shaker(150 rpm)에서 shaking 시킨 후 미생물 희석법에 의해 희석하여 젖산균은 28°C에서 4일 동안 MRS agar에서 배양하였으며, 효모는 3M petrifilm(3M Microbiology

Products, St.Paul, USA)에서, 곰팡이는 Potato Dextrose agar(PDA)를 이용하여 28°C에서 4일 동안 배양한 후 계수화 하였다.

시키기 위한 클로렐라 이용을 위해서는 다양한 연구접근이 이루어져야 할 것으로 보여진다.

III. 결과 및 고찰

1. IRG-HV 사일리지의 사료가치 변화

Table 1은 IRG-HV 사일리지의 사료가치를 조사한 결과로서, IRG-HV 사일리지 제조시 대조구와 젖산균 단독처리구의 조단백질 함량은 비슷한 수준을 보였다. 그러나 젖산균과 클로렐라 공용처리구에서는 현저하게 증가하였다($p<0.05$). 섬유소와 TDN 함량 그리고 *in vitro* 건물소화율(IVDMD, *in vitro* dry matter digestibility)의 처리구에서는 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과에서 보는 바와 같이 젖산균 첨가 유무에 관계없이 사일리지의 사료가치는 변화가 나타나지 않았는데 이는 Choi et al.(2011 c,d) 등의 연구결과와 유사하였다. 그러나 클로렐라에 의해 약간의 단백질 함량의 증가가 나타났는데 이는 클로렐라 첨가에 의한 영향으로 보여진다. 따라서 조사료에 영양성분을 강화

2. IRG-HV 사일리지의 pH 및 유기산 함량 변화

IRG-HV 사일리지의 pH와 유기산 함량은 Table 2에 나타난 바와 같다. IRG-HV 사일리지에서 대조구는 젖산균 단독처리구의 pH와 비슷하였으나 클로렐라와 젖산균 공용처리구에서는 대조구에 비해 pH가 감소되었다($p<0.05$). 젖산함량은 대조구에 비해 젖산균 단독처리구에서 증가되었으며($p<0.05$), 클로렐라와 젖산균 공용처리구에서는 대조구와 젖산균 단독처리구에 비해 젖산함량이 현저하게 증가하였다($p<0.05$). 초산함량은 대조구에 비해 젖산균 단독처리구에서 증가되었으며($p<0.05$), 클로렐라와 젖산균 공용처리구에서는 비슷하였다. 낙산함량은 모든 처리구에서 차이는 나타나지 않았다. 사일리지 등급은 모든 처리구에서 비슷한(우수) 등급으로 나타났다.

Choi et al. (2011a,b)은 옥수수 그리고 수수-수수 교잡종의 원형근포사일리지 제조시 젖산균 첨가 유무에 관계없이 pH는 비슷하다고 하였으며 젖산함량에서는 젖산균을 첨가

Table 1. Changes of nutritive value on mixture silage of Italian ryegrass and hairy vetch according to inoculation of lactic acid bacterium and chlorella

Treatment	CP ³⁾ (%)	ADF ⁴⁾ (%)	NDF ⁵⁾ (%)	TDN ⁶⁾ (%)	IVDMD ⁷⁾ (%)
Control	10.66b	40.26	58.73	57.09	67.80
LAB ¹⁾	10.79b	34.36	59.23	60.13	67.22
LAB + CA ²⁾ 0.25%	13.05a	36.42	58.86	61.76	68.73

¹⁾ LBA: Lactic acid bacterium, ²⁾ CA: chlorella additive ³⁾ CP: Crude protein, ⁴⁾ ADF: Acid detergent fiber, ⁵⁾ NDF: Neutral detergent fiber, ⁶⁾ TDN: Total digestible nutrient, ⁷⁾ IVDMD: *in vitro* dry matter digestibility

a and b: Means with different letters within a column are significantly different at the 5% level.

Table 2. Changes of pH and organic acids on mixture silage of Italian ryegrass and hairy vetch according to inoculation of lactic acid bacterium and chlorella

Treatment	pH	Lactate (%/DM ³⁾)	Acetate (%/DM)	Butyrate (%/DM)	Flieg's score
Control	5.06b	6.64c	0.79b	0.09	Excellent
LAB ¹⁾	4.99b	9.26b	1.51a	0.67	Excellent
LAB + CA ²⁾ 0.25%	3.89a	14.82a	0.99ab	0.19	Excellent

¹⁾ LBA: Lactic acid bacterium, ²⁾ CA: chlorella additive, ³⁾ DM: Dry matter

a, b and c: Means with different letters within a column are significantly different at the 5% level.

Table 3. Changes of microbes on mixture silage of Italian ryegrass and hairy vetch according to inoculation of lactic acid bacterium and chlorella

Treatment	LAB ³⁾ ($\times 10^7$ CFU ⁴⁾ /g)	Yeast ($\times 10^4$ CFU/g)	Fungi ($\times 10^3$ CFU/g)
Control	148.0c	10.0	0.0
LAB ¹⁾	259.5b	0.10	0.0
LAB + CA ²⁾ 0.25%	327.5a	24.0	2.5

¹⁾ LBA: Lactic acid bacterium, ²⁾ CA: chlorella additive, ³⁾ Lactic acid bacterium, ⁴⁾ CFU: Colony per unit
a, b and c: Means with different letters within a column are significantly different at the 5% level.

함으로써 증가한다고 보고하였는데 본 연구 결과와 비슷한 결과를 보였다. 그러나 본 연구에서 제시한 바와 같이 클로렐라와 젖산균 공용처리함으로써 pH와 젖산균 함량이 현저하게 차이를 보이기 때문에 사일리지 제조시 클로렐라의 활용에 대한 다양한 접근이 필요하다.

3. IRG-HV 사일리지의 미생물상 변화

IRG-HV 사일리지내 미생물상 변화를 조사하였는데 그 결과는 Table 3에서 보는바와 같다.

IRG-HV 사일리지의 대조구에서는 젖산균이 약 1.5×10^9 cfu/g의 정도를 보였으나 젖산균 단독 처리구에서는 2.6×10^9 cfu/g의 증가되었다($p < 0.05$). 그리고 클로렐라와 젖산균 공용처리구는 3.3×10^9 cfu/g으로 대조구와 젖산균 단독처리구보다 증가되었다($p < 0.05$). 효모의 경우 모든 처리구에서 비슷한 수준을 보였으며 곰팡이 수는 10^3 cfu/g 이하였다.

이상의 결과에서 제시한 바와 같이 젖산균을 첨가에 의해 사일리지내 젖산균 수가 현저하게 증가하였으며 특히 클로렐라와 젖산균 공용처리함으로써 젖산균 단독 처리구보다 현저하게 증가하는 것을 알 수 있었다. 이는 젖산균이 클로렐라의 단백질을 이용하여 증식하는 것으로 해석되는데, 혐기상태에서의 젖산균의 증식에 클로렐라의 영양분이 활용여부와 관한 연구도 수행되어야 할 것으로 보여진다.

일반적으로 화분과 목초와 두과목초를 혼과 또는 혼합함으로써 단백질 함량을 높이고 사료가치를 향상시킬 수 있음이 많은 연구자들에 의해 보고되었다(Kim et al 2007; Kim et al 2005). 특히 본 실험에 사용된 클로렐라는 단백질 함량이 약 60% 정도이기 때문에 사료가치가 낮고 질이 좋지 않은 조사료에 단백질 원료로서 첨가될 수 있음에도 불구하고 클로렐라를 이용한 조사료 이용 측면에서의 연구

는 이루어지지 않았다. 본 연구에서 제시한 바와 같이 클로렐라는 조사료의 영양 강화를 유도할 수 있을 뿐 아니라 사일리지내 젖산균량을 증가시키고 젖산균의 증식을 유도할 수 있는 장점이 있기 때문에 경제성을 근거로 한 타당성 검토를 실시하여 클로렐라의 이용성에 관한 새로운 연구의 접근이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

이상의 IRG-HV 사일리지의 결과를 요약해 보면 IRG-HV 사일리지 제조시 클로렐라 처리에 의해 단백질 함량 및 젖산량이 향상되는 경향을 보였으며 또한 클로렐라와 젖산균 처리시 pH가 감소되었다. 또한 젖산균 처리시 젖산균 수가 현저히 증가되었으며 사일리지 품질도 향상되었다.

IV. 요약

본 연구에서는 이탈리아 라이그라스와 헤어리 베치를 이용하여 사일리지 제조시 젖산균과 클로렐라를 처리하여 사일리지의 사료가치, 품질 및 미생물상의 변화를 조사하였다. IRG-HV 사일리지 제조시 대조구와 젖산균 단독처리구의 조단백질 함량은 비슷한 수준을 보였으나 클로렐라와 젖산균 공용처리구는 현저하게 증가하였다($p < 0.05$). 섬유소와 TDN 함량 그리고 *in vitro* 건물소화율 처리구에서는 차이를 나타나지 않았다. IRG-HV 사일리지에서 대조구는 젖산균 처리구의 pH와 비슷하였으나 클로렐라와 젖산균 공용처리구에서는 대조구에 비해 pH가 감소되었다($p < 0.05$). 젖산함량은 대조구에 비해 젖산균 첨가구에서 증가되었으며($p < 0.05$), 클로렐라와 젖산균 공용처리구에서는 대조구에 비해 젖산함량이 현저하게 증가하였다($p < 0.05$). IRG-HV 사일리지 젖산균 단독 처리구의 젖산균 수는 대조구에 비해 현저하게 증가하였으며($p < 0.05$). 또한 클로렐라와 젖산균 공용처리구도 현저하게 증가하였다.

이상의 결과를 요약해 보면 IRG-HV 사일리지 제조시

젓산균과 클로렐라 처리에 의해 사일리지의 품질이 향상되었다.

V. 사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ008445)의 지원에 의해 이루어진 것임.

VI. REFERENCES

- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th ed. Washington, DC.
- Bae., M.J., Shin, H.S., Chai, O.H., Han, J.G. and Shon, D.H. 2013. Inhibitory effect of unicellular green algae (*Chlorella vulgaris*) water extract on allergic immune response. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93:3133-3136.
- Choi, G.J., Lim, Y.C., Kim, K.Y., Kim, M.J., Ji, H.C., Lee, S.H., Park, H.S., Moon, C.S., Lee, E.S. and Seo S. 2008. A cold-tolerant and medium-maturing italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) new variety, 'Kowinmaster'. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 28:177-184.
- Choi, K.C., Jo, N.C., Jung, M.W., Lee, K.D., Kim, J.G., Lim, Y.C., Kim, W.H., Oh, Y.K., Choi, J.H., Kim, C.M., Jung, D.K., Choi, J.M. and Kim, H.G. 2011a. Effect of harvest stage of corn on nutritive values and quality of roll baled corn silage manufactured with corn grown in paddy land. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 31:65-74.
- Choi, K.C., Jung, M.W., Kim, W.H., Kim, C.M., Yoon, S.H., Choi E.M., Kim, J.G., Lee, S.M., Choi, J.M., Kim, H.G. and Lim, Y.C. 2011b. effect of harvest stage of sorghum × sorghum hybrid (SSH) on the quality of round baled SSH silage. Journal of the Society of Grassland and Forage Science. 31:143-150.
- Choi, K.C., Na, S.P., Jung, M.W., Lim, Y.C., Park, H.S., Kim, J.K., Kim, W.H., Kim, M.J., Choi, G.J., Kim, M.H., Lee, S.R., Kim, D.H. and Yook, W.B. 2012. Effect of application of cattle slurry on dry matter yield and nutritive value of whole crop barley and italian ryegrass and environmental pollution in paddy land. Journal of Livestock Housing and Environment. 18:123-130.
- Choi, K.C., Hwang, J.M., Bang, S.J., Son, Y.O., Kim, B.T., Kim, D.H., Lee, S.A., Chae, M., Kim, D.H. and Lee J.C. 2013a. Methanol extract of the aerial parts of barley (*Hordeum vulgare*) suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses *in vitro* and *in vivo*. Pharmaceutical Biology. 51:1066-1076.
- Choi, K.C., Hwang, J.M., Bang, S.J., Kim, B.T., Kim, D.H., Chae, M., Lee, S.A., Choi, G.J., Kim, D.H. and Lee J.C. 2013b. Chloroform extract of alfalfa (*Medicago sativa*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by downregulating ERK/NF- κ B signaling and cytokine production. Journal of Medicinal Food. 16:410-420.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analysis. Agric. Handbook 379, U. S. Gov. Print. Office, Washington, DC.
- Ha, Y.S. and Park, K.K. 2012. Cost analysis of wrap silage production in the paddy field for forage crop cropping system. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 32:75-84.
- Hwang, J.M., Choi, K.C., Bang, S.J., Son, Y.O., Kim, B.T., Kim, D.H., Choi, G.J., Kim, D.H., Shi, X. and Lee J.C. 2013. Anti-oxidant and anti-inflammatory properties of methanol extracts from various crops. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 22:265-272.
- Ji, H.C., Kwon, O.D., Kim, W.H., Lim, Y.C., Cho, J.H. and Lee, K.W. 2011. Selection of pasture species at paddy field in southern region of Korea. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 31:113-118.
- Kang, M.S. and Sim, S.J. and Chae, H.J. 2004. Chlorella as a functional biomaterial. KSBB Journal. 19:1-11.
- Kim, J.G., Chung, E.S., Kim, M.J., Seo, S., Lee, J.K., Kim, J.D. and Seo, J.H. 2005. Effect of seeding dates and rates on the productivity and nutritive value of hairy vetch (*Vicia villosa* Roth). Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 25:17-22.
- Kim, M.J., Choi, G.J., Yook, W.B., Lim, Y.C., Yoon, S.H., Kim, J.G., Park, H.S. and Seo S. 2007. Effects of seeding method on the winter survival, dry matter yield and nutrient value of italian ryegrass in paddy field. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 27:269-274.
- Kim, M.J., Choi, K.J., Kim, J.G., Seo, S., Yoon, S.H., Lim, Y.C., Im, S.K., Kwon, E.G., Chang, S.S., Kim, H.C. and Kim, T.I. 2009. Effect of varieties and seeding date on over winter and dry matter yield of italian ryegrass in paddy field. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 29:321-328.
- Kim, W.H., Kim, K.Y., Jung, M.W., Ji, H.J., Lim, Y.C., Seo, S., Kim, J.D., Yoon, B.K. and Lee, H.W. 2011. Dry matter yield and forage quality at mixture of annual legumes and italian ryegrass on paddy field. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 31:33-38.
- Lim, Y.C., Yoon, S.H., Kim, W.H., Kim, J.G., Choi, G.J., Kim, M.J., Jung, M.W., Seo, S. and Yook, W.B. 2007. Growth characteristics and productivity of winter crops after the continuous whole crop rice cultivation in paddy field in middle region. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 27:183-188.

- Mariadhas V.A., Ilavenil, S., Kim, D.H., Gun, R.S., Lee, J.C. and Choi, K.C. 2014. *In vitro* and *in vivo* enhancement of adipogenesis by italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in 3T3-L1 cells and mice. PLoS One. 9:e85297.
- Moore, J.E. 1970. Procedure for the two-stage *in vitro* digestion of forage. Univ. of Florida, Depart. of Anim. Sci.
- Ramos, A.L., Torello, C.O. and Queiroz, M.L. 2010. *Chlorella vulgaris* modulates immunomyelopoietic activity and enhances the resistance of tumor-bearing mice. Nutrition Cancer. 62:1170-1180.
- Seo, S., Kim, W.H., Kim, J.G. and Choi G.J. 2004. Selection of promising forage crops and variety for forage production in paddy field 1. middle region(Suwon). J Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 24:207-216.
- Seo, S, Kim, W.H., Kim, J.G., Choi, G.J., Ko J.M. and Lim, S.G. 2007. Selection of promising forage crops and variety for forage production in paddy field 3. middle region(Milyang). Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 27:85-92.
- Seo, S., Kim, W.H., Kim, K.Y., Choi, G.J., Ji, H.C., Lee, S.H., Lee, K.W. and Kim, M.J. 2011. Forage productivity and quality of domestic italian ryegrass and barley varieties. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 31:261-268.
- (Received January 21, 2014/ Revised February 27, 2014/ Accepted March 4, 2014)