Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science 35(4) : 277~282, 2015
http://dx.doi.org/10.5333/KGFS.2015.35.4.277
ISSN 2287-5824 (Print)
ISSN 2287-5832 (Online)

Research Article

Lactobacillus plantarum 첨가가 호밀 사일리지의 발효 품질에 미치는 영향

최기춘* · S. Ilavenil · M. Valan Arasu · 박형수 · 김원호

국립축산과학원

Effect of Addition of Lactic Acid Bacteria on Fermentation Quality of Rye Silage

Ki Choon Choi*, Soundarrajan Ilavenil, Mariadhas Valan Arasu, Hyung-Su Park and Won-Ho Kim

National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-808, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of novel *Lactobacillus plantarum* KCC-10 and KCC-19 on the quality and fermentation characterization of rye silages. The study was conducted at the National Institute of Animal Science, Cheonan province in Korea and consisted of three treatments: control without lactic acid bacteria, treatment with *L. plantarum* KCC-10 and treatment with *L. plantarum* KCC-19. The amounts of acid detergent fiber and neutral detergent fiber as well as the *in vitro* dry matter digestibility in KCC-10 and KCC-19 were similar to the control. The pH of rye silage in *L. plantarum* KCC-10 and KCC-19 treatments decreased compared to the control ($p<0.05$). The amount of lactic acid in *L. plantarum* KCC-10 and KCC-19 treatments increased ($p<0.05$), but the amounts of acetic acid and butyric acid in KCC-10 and KCC-19 treatments decreased ($p<0.05$). In addition, the number of lactic acid bacteria in *L. plantarum* KCC-10 and KCC-19 treatments increased compared to the control ($p<0.05$). Therefore, we suggest that rye silage was improved by the addition of *L. plantarum* KCC-10 and KCC-19.
(**Key words :** Rye, Lactic acid bacteria, Silage, Fermentation quality)

Ⅰ. 서 론

지금까지 겨울철 답리작 조사료 생산용 맥류는 호밀이 주종을 이루고 있다. 호밀은 Triticeae과의 일년생 작물로서 토양이 척박하고 추운지역에서 생육이 왕성하여 우리나라 대표적인 답리작 조사료 생산용 맥류이다. 호밀은 논에서는 벼와의 작부체계로, 밭에서는 옥수수와의 작부체계로 가을에 파종하고 이른 봄에 수확하여 조사료용으로 이용되고 있을 뿐 아니라 녹비작물로 활용되고 있다 (Kim et al., 2012; Song et al., 2010; Jeon et al., 2009; Kwon et al., 2008; Kim et al., 2005; Lee and Kim, 1997). 그러나 호밀은 이처럼 다양하게 이용되고 있으나 개화기를 지나게 되면 사료가치와 품질이 급격히 저하되는 등 양질의 조사료용으로 활용하기 위해서는 수확적기가 매우 중요하다. 많은 연구자들은 호밀을 사일리지, 유기조사료 및 유기축산물과 연계하여 다양한 측면에서 연구를 수행하였다 (Oh et al., 2014; Song et al., 2009; Ju et al., 2009; Ju et al., 2008; Yoon et al., 2007; Kim et al., 2000)

대부분 국내외적으로 젖산균을 첨가하여 사일리지의 품질을 유지하기 위한 연구가 다양하게 수행되어져 왔다 (Choi et al., 2011a,b; Kim et al., 2009). 일반적으로 젖산균은 사일리지 제조에 매우 중요하고 사일리지내 젖산균의 분포는 사일리지의 품질을 결정하는 요인이 되기 때문에 젖산생성능이 우수하고 생육이 좋은 젖산균을 선발하는 것은 매우 중요하다 (Hu et al., 2015; Dogi et al., 2015; Wu et al., 2014; Tohno et al., 2012a,b; Sun et al., 2012; Liu et al., 2012; Pang et al., 2011). 국내 유통되고 있는 사일리지는 보관 및 유통 부주의로 인하여 유해 곰팡이 (mycotoxygenic fungus) 감염 (Sung et al., 2011; Nelson, 1993; Sebunya and Yourtee, 1990; Smith and Lynch, 1973)이 발생되고 있기 때문에 근래 들어 곰팡이억제 젖산균에 대한 관심을 갖기 시작했다 (Valan Arasu et al., 2014b; Valan Arasu et al.,

* 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

2013). 양질의 호밀 사일리지 제조는 호밀의 품질을 향상에 기여할 뿐 아니라 유통 활성화 및 신뢰도를 향상시켜 수입 조사료의 대체가 가능하기 때문에 젖산 생성능이 우수하고 곰팡이 억제능이 우수한 젖산균 개발은 매우 중요하다. 최근 Valan Arasu et al. (2014b) 및 Valan Arasu et al. (2013)은 곰팡이 억제능이 우수한 젖산균 *Lactobacillus plantarum* KCC-10 및 KCC-19을 분리 동정하였다.

따라서 본 연구에서는 호밀 사일리지의 이용성 및 보존성을 증진시키기 위해서 *L. plantarum* KCC-10 및 KCC-19를 이용하여 호밀 사일리지의 사료가치, 품질 및 미생물상의 변화를 조사하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 포장시험 및 사일리지 제조

L. plantarum KCC-10 및 KCC-19 젖산균을 이용한 사일리지 제조 시험은 충남 천안 국립축산과학원 사료작물 재배지에서 2013년부터 2014년까지 2년 동안 수행되었으며 공시초종으로 호밀 '곡우'를 이용하여 수행하였다. 종자는 파종적기에 파종하고 관행 방법으로 시비 및 재배한 후 출수초기 (수분함량 79%)에 수확하여 사일리지를 제조하였다. 사일리지 제조는 호밀을 2~3 cm로 세절하여 사일리지용 비닐 팩 (가로 35 cm, 세로 26 cm)에 총 무게가 500 g 되게 넣고 공기를 제거한 후 밀봉하여 그늘에서 보관하였다. 이렇게 조제된 사일리지는 약 45일 동안 보관 한 후 개봉하여 사료가치 및 품질 등을 조사하였다. 이때 젖산균 첨가는 젖산균 (1.5×10^{10}cfu/g)을 증류수 (0.1g/10 ml)에 녹여 5 kg의 사일리지에 처리하는 양으로 하였으며 각 처리당 3반복으로 하였다. 이들 분리된 젖산균은 젖산균 대량생산용 배지 (glucose 1%, soy peptone 0.25%, yeast extract 1%, $MgSO_4$ 0.01%, $MnSO_4$ 0.04%, NaCl 0.1%, $CaCO_3$ 0.2%, Na_2HPO_4 0.6%)를 이용하여 발효기에서 대량 배양한 다음 젖산균을 동결 건조하여 분말형태로 제형화 과정을 거친 후 사일리지 제조에 이용하였다. 그리고 본 연구에서 이용된 *L. plantarum* KCC-10 및 KCC-19의 생리·생화학적 특성 및 곰팡이 억제 등 보고되었다 (Valan Arasu et al., 2014b; Valan Arasu et al., 2013).

2. 사료가치 분석

사일리지의 사료가치를 조사하기 위하여 각 시험구에서 저장 45일후 사일리지 각 처리구당 500 g을 취하여 일부는 65℃ 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 Terry법을 Moore (1970)가 수정한 방법을 이용하였으며, 가소화영양소 총량 (total digestible nutrients, TDN)은 88.9−(ADF%*0.79)에 의해서 산출하였다. 그리고 나머지 일부는 −20℃ 냉동고에 보관하였다가 사일리지 특성조사에 사용하였다.

3. 사일리지의 pH 및 유기산 함량 조사

사일리지의 pH와 유기산 성분은 개봉한 사일리지 10 g을 증류수 100 ml에 넣고 냉장고에서 주기적으로 흔들어 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 ㎛ 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℃에서 냉동보관 하였다.

4. 사일리지 미생물상 조사

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 (de Man, Rogosa and Sharpe) 배지에서 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

5. 통계분석

본 시험에서는 Windows 용 SPSS/PC (Statistical Package for the Science, ver 12.0. USA) 통계프로그램을 이용하여 모든 결과를 분석(One-way ANOVA)하였으며 최소유의성을 검정은 P-value가 0.05로 평가하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 호밀 사일리지의 사료가치 변화

호밀 사일리지 제조시 사료가치를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 호밀 사일리지 제조시 KCC-10 및 KCC-19 접종구의 조단백질 함량은 무접종구 보다 증가하였으나 통계적인 차이는 나타나지 않았다. NDF 및 TDN 함량에서는 KCC-19 접종구는 무접종에 비해 감소되었으나 ($p<0.05$), ADF 및 *in vitro* 건물소화율에서는 비슷한 수준을 보였다.

2. 호밀 사일리지의 pH 및 유기산 함량 변화

호밀 사일리지의 pH와 유기산 함량은 Table 2에 나타낸 바와 같이 KCC-19 접종구는 대조구 보다 pH의 감소가 현저하게 나타났다 ($p<0.05$). 그러나 KCC-10은 감소되는 경향을 보였지만 통계적인 차이는 보이지 않았다. 젖산 함량은 무접종구에 비해 KCC-10 및 KCC-19 접종구에서 증가되었으며 ($p<0.05$), 또한 초산 및 낙산 함량도 전산균 접종구에서 현저하게 감소되었다 ($p<0.05$). 그리고 사일리지 등급은 모든 처리구에서 비슷한(우수) 등급으로 나타났으나 점수로 환산했을 때 KCC-10 및 KCC-19 접종함으로써 증가되었다.

이상의 연구결과에서 보는 바와 같이 KCC-10 및 KCC-19 접종함으로으로써 호밀 사일리지의 pH와 젖산균 함량이 현저하게 차이를 보이기 때문에 사일리지 제조시 KCC-10 및 KCC-19의 활용에 대한 다양한 접근이 필요할 것으로 보여진다.

3. 호밀 사일리지의 미생물상 변화

호밀 사일리내 미생물상 변화를 조사하였는데 그 결과는 Table 3에서 보는바와 같다. KCC-10 및 KCC-19 접종구에 의해 호밀 사일리지의 젖산균수는 현저하게 증가하였으나 효모와 곰팡이는 10^4CFU/g에서 관찰되지 않았다.

Table 1. Nutritive value of whole rye silage according to inoculation of lactic acid bacteria

Treatment	CP[2] (%)	ADF[3] (%)	NDF[4] (%)	TDN[5] (%)	IVDMD[6] (%)
Control	15.67	31.50	51.86a	64.02	77.90ab
LAB[1] KCC-10	16.37	31.19	51.16a	64.26	81.33a
LAB KCC-19	16.26	30.58	46.60b	64.74	75.13b

[1] LAB: Lactic acid bacteria, [2] CP: Crude protein, [3] ADF: Acid detergent fiber, [4] NDF: Neutral detergent fiber, [5] TDN: Total digestible nutrient, [6] 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 rye silage according to inoculation of lactic acid bacteria

Treatment	pH	Lactic acid (DM[2]%)	Acetic acid (DM%)	Butyric acid (DM%)	Flieg's score
Control	4.19a	7.27c	1.63a	0.46a	82
LAB[1] KCC-10	3.92ab	8.12b	1.20a	0.04b	100
LAB KCC-19	3.69b	9.68a	0.20b	0.06b	100

[1] LAB: Lactic acid bacteria, [2] 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 rye silage according to inoculation of lactic acid bacteria

Treatment	LAB ($\times10^7$ CFU[2]/gram)	Yeast ($\times10^4$ CFU/gram)	Fungi ($\times10^4$ CFU/gram)
Control	3.50b	0.50	0.00
LAB[1] KCC-10	42.50a	0.00	0.00
LAB KCC-19	41.00a	0.00	0.00

[1] LAB: Lactic acid bacteria, [2] CFU: Colony forming unit.
a and b: Means with different letters within a column are significantly different at the 5% level.

Ⅳ. 고 찰

대부분 우리나라의 납부지방은 이탈리안 라이그라스와 총체보리를 재배하고 있고 중부이북지방에 주로 호밀의 재배가 활발하게 이루어지고 있다. 지금까지 많은 연구자들은 양질의 사일리지를 제조하기 위해서는 젖산균 접종의 필요성을 보고하였다(Choi et al., 2014a,b; Ilavenil et al., 2014; Valan Arasu et al., 2014a; Choi et al., 2011a,b). Kennedy et al. (1989)은 젖산균 첨가로 섬유소 함량이 영향을 받는다고 하였으나 Dewar et al. (1963)은 젖산균은 섬유소 분해효소를 생성하지 않기 때문에 섬유소 함량에 영향을 주지 않는다고 하였는데 본 연구의 결과에서는 섬유소 함량의 감소가 나타났다. 이러한 원인은 본 균주는 호밀 사일리지 제조시 섬유소에 영향을 주는 균주로 해석되기 때문에 섬유소 분해능에 대한 계속적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. Keady and Steen (1994)은 사일리지 제조시 젖산균을 접종하면 pH와 초산함량이 감소한다고 하였고, Mayne (1990)도 젖산균을 첨가함으로써 산도가 낮아진다고 하여 본 연구와 비슷한 결과를 보여주었다. 젖산균 첨가제는 사일리지 제조시 초기에 젖산의 생성을 늘려 pH를 빠르게 떨어뜨리고 발효의 속도를 증가시킨다고 Muck and Bolsen (1991)은 보고하였다. Kim et al. (1999)도 젖산균 2종을 이용한 연구결과에서 젖산균을 첨가함으로써 젖산 함량은 현저하게 증가하고 낙산과 초산은 감소하였다고 하였으며 또한 젖산균을 접종함으로써 사일리지내 젖산균 수가 현저하게 증가한다고 하였는데 본 연구 결과와 동일한 결과를 얻었다. 많은 연구자들은 젖산균을 접종함으로써 사일리지의 발효품질 개선, 저장성 향상 및 개봉 후도 호기적 안정성에도 효과가 있기 때문에 사일리지 조제하는데 반드시 고려해야 한다고 보고하고 있다(Amanullah et al., 2014; Valan Arasu et al., 2014a,b; Kang et al., 1999; Anderson et al., 1989).

본 연구의 결과에서 보는 바와 같이 호밀 사일리지 제조시 KCC-10 및 KCC-19 접종에 의해 젖산 함량이 향상되는 경향을 보였으나 pH는 감소되었다. 또한 KCC-10 및 KCC-19 접종함으로써 젖산균 수는 증가되었는데 이는 KCC-10 및 KCC-19가 호밀의 영양소원을 이용하여 많은 양의 젖산을 생성하는 것으로 해석된다. 이처럼 KCC-10 및 KCC-19은 젖산 함량을 증가시키고 젖산균의 증식을 유도할 수 있는 장점이 있기 때문에 현장에서 사일리지 제조를 위한 첨가제로써 이용성이 높을 것으로 생각된다.

Ⅴ. 요 약

본 연구에서는 호밀을 이용하여 사일리지 제조시 *Lactobacillus plantarum* KCC-10 및 KCC-19를 접종하여 사일리지의 사료가치, 품질 및 미생물상의 변화를 조사하였다. 호밀 사일리지에서 젖산균 접종구와 무접종구에서 사료가치는 크게 변화되지 않았다. 그리고 유산 함량은 젖산균 접종구가 현저하게 높은 경향을 보였으나 초산과 낙산은 젖산균 접종구가 약간 낮아지는 경향을 보였다. 젖산균 분포는 젖산균 접종구에서 현저하게 높았으며 효모와 곰팡이는 10^4CFU/g에서 관찰되지 않았다. 호밀 사일리지 제조시 KCC-10 및 KCC-19 접종구의 조단백질 및 TDN 함량은 무접종구 보다 약간 증가하였으나 섬유소 및 *in vitro* 건물소화율에서는 비슷한 수준을 보였다. 이상의 결과를 요약해 보면 호밀 사일리지 제조시 KCC-10 및 KCC-19 접종에 의해 사일리지의 품질이 향상되었다.

Ⅵ. 사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ00850201)의 지원에 의해 이루어진 것임.

Ⅶ. REFERENCES

Amanullah, S.M., Kim, D.H., Lee, H.J., Joo, Y.H., Kim, S.B. and Kim, S.C. 2014. Effects of microbial additives on chemical composition and fermentation characteristics of barley silage. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 27:511-517.

Anderson, R., Gracey, H.I., Kennedy, S.J., Unsworth E.F. and Steen, R.W.J. 1989. Evaluation studies in the development of a commercial bacterial inoculant as an additive for grass silage. Grass and Forage Science. 44:361-369.

AOAC. 1990. Official method of analysis. 15thed. Washington, DC.

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 Korean Society of Grassland and Forage Science.

31:143-150.

Choi, K.C., Valan Arasu, M., Ilavenil, S., Park, H.S., Jung, M.W. Kim, J.H., Jung, J.S., Hwangbo, S., Kim, W.H. and Lim, Y.C. 2014a. Effect of addition of lactic acid bacteria and chlorella on nutritive values and quality of Italian ryegrass-hairy vetch silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 34:39-44.

Choi, K.C., Valan Arasu, M., Ilavenil, S., Park, H.S., Jung, M.W. and Lee, S.H. 2014b. Effect of lactic acid bacteria and chlorella on nutritive values and quality of Italian Ryegrass-alfalfa silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 34:33-38.

Dewar, W.A., McDonald, P. and Whittenbury, R. 1963. The hydrolysis of grass hemicelluloses during ensilage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 14:411-417.

Dogi, C.A.1., Pellegrino, M., Poloni, V, Polon, I.L., Pereyra, C.M., Sanabria, A., Pianzzola, M.J., Dalcero, A. and Cavaglieri, L. 2015. Efficacy of corn silage inoculants on the fermentation quality under farm conditions and their influence on aspergillus parasitucus, A. flavus and A. fumigatus determined by q-PCR. Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment 32:229-235.

Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analysis. Agic. Handbook 379, U. S. Gov. Print. Office, Washington, DC.

Hu, X., Hao, W., Wang, H., Ning, T., Zheng, M. and Xu, C. 2015. Fermentation characteristics and lactic acid bacteria succession of total mixed ration silages formulated with peach pomace. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 28:502-510.

Jeon, W.T., Seong, ,K.Y., Lee, J.K., Kim, M.T. and Cho, H.S. 2009. Effects of seeding rate on hairy vetch (Vicia villosa)-rye (Secale cereale) mixtures for green manure production in upland soil. Korean Journal of Crop Science. 54:327-331.

Ju, J.I., Lee, S.S., Yoo, J.H., Lee, J.J., Park, K.H. and Lee, H.B. 2008. Seed blending effect on growth, yield and feed value among four winter cereals for whole crop silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 28:203-214.

Ju, J.I., Choi H.G, Kang, Y.S., Lee, J.J., Park, K.H. and Lee, H.B. 2009. Changes of growth and forage yield at different cutting dates among five winter cereals for whole crop silage in middle region. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 29:111-120.

Kennedy, S.J., Gracey, H.I., Unsworth, E.F., Steen, R.W.J. and ANderson, R. 1989. Evaluation studies in the development of a commercial bacterial inoculant as an additive for grass silage. 2. Responses in finishing cattle. Grass and Forage Science. 44:371-380.

Kang, W.S., Kim, G.G., Chung, E.S., Ham, J.S., Kim, J.D. and Kim, K.N. 1999. Studies on Improvement of Quality of Round Bale Silage Using Fresh Rice Straw. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 19:41-48.

Kwon, Y.U., Baek, S.B., Heo, H.Y., Park, H.H., Kim, J.G., Lee, J.E., Lee, C.K. and Shin, J.C. 2008. Changes in forage quality of plant parts with harvesting time in five winter cereal Crops. Korean Journal of Crop Science. 53:144-149.

Keady, T.W.J. and Steen, R.W.J. 1994. Effects of treating low dry-matter grass with a bacterial inoculant on the intake and performance of beef cattle and studies on its mode of action. Grass and Forage Science. 49:438-446.

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 cillosa Roth). Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 25:17-22.

Kim, K.M., Lee, B.J. and Cho, Y.S. 2012. Differences of soil carbon by green manure crops in rotated cropping system. Korean Journal of Soil Science and Fertilizer. 45:1027-1031.

Kim, J.G., Seo, S. Jung, E.S., Kang, W.S., Ham, J.S. and Kim, D.A. 2000. Effect of maturity at harvest on the changes in nutritive value of round baled rye silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 20:309-316.

Kim, J.G., Kim, D.A., Jung, E.S., Kang, W.S., Ham, J.S. and Seo. S. 1999. Effect of maturity at harvest and inoculants on the quality of round baled rye silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 19:347-354.

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.

Lee, K.N. and Kim, D.A. 1997. Effects of wilting and additives on the fermentation chrateristics, quality and aerobic Sstability of rye silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 17:187-198.

Liu, Q., Chen, M., Zhang, J., Sh,i S. and Cai, Y. 2012. Characteristics of isolated lactic acid bacteria and their effectiveness to improve stylo (Stylosanthes guianensis Sw.) silage quality at various temperatures. Animal Science Journal. 83:128-135.

Ilavenil, S., Valan Arasu, M., Vijayakumar, M., Jung, M.W., Park, H.S., Lim, Y.C. and Choi, K.C. 2014. *Lactobacillus plantarum* improves the nutritional quality of Italian Ryegrass with alfalfa mediated silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 34:174-178.

Mayne, C.S. 1990. An evaluation of an inoculant of *Lactobacillus plantarum* as an additive for grass silage for dairy cattle. Animal Production. 51:1-13.

Moore, J.E. 1970. Procedure for the two-stage *in vitro* digestion of forage. Univ. of Florida, Depart. of Anim. Sci.

Muck, R.R. and Bolsen, K.K. 1991. Silage preservation and silage additives. p. 105-125. In Bolsen, K.K., Baylor, J.E. and McCullough, M.E. (eds) Hay and Silage Management in North America. Nat. Feed Ingreed. Assoc., West Des Moines, Iowa.

Nelson, C.E. 1993. Strategies of mold control in dairy feeds. Journal of Dairy Science. 76:898-902.

Oh, M.G., Jo, I.H. and Hwanfbo, S. 2014. Effect of mixed-sowing of legume and applying of cattle manure on the productivity, feed values and organic hanwoo carrying capacity of rye (*Secale cereale* L.). Korean Journal of Organic Agriculture. 22:457-468.

Pang, H., Zhang, M., Qin, G., Tan, Z., Li, Z., Wang, Y. and Cai, Y. 2011. Identification of lactic acid bacteria isolated from corn stovers. Animal Science Journal. 82:642-653.

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.

Smith, D.F. and Lynch, P.L. 1973. Aspergillus fumigatus in sample of moldy silage. Journal of Dairy Science. 56:828-829.

Sebunya, T.K. and Yourtee, D.M. 1990. Aflatoxigenic aspergilli in foods and feeds in Uganda. Journal of Food Quality. 13:97-101.

Song, B.H., Lee, K.A., Jeon, W.T., Kim, M.T., Cho, H.S., Oh, I..S., Kim, C.G. and Kang, U.G. 2010. Effects of green manure crops of legume and gramineae on growth responses and yields in rice cultivation with respect to environment friendly agriculture. Journal of Crop Science. 55:144-150.

Song, T.H., Han, O.K., Yun, S.K., Park, T.I., Seo, J.H., Kim, K.H. and Park, K.H. 2009. Changes in quantity and quality of winter cereal crops for forage at different growing stages. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 29:129-136.

Sun, Q., Gao, F., Yu, Z., Tao, Y., Zhao, S. and Cai, Y. 2012. Fermentation quality and chemical composition of shrub silage treated with lactic acid bacteria inoculants and cellulase additives. Animal Science Journal. 83:305-309.

Sung, H.G., Lee, J.K. and Seo, S. 2011. Studies on fungal contamination and mycotoxins of rice straw round bale silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 31:451-462.

Tohno, M., Kobayashi, H., Nomura, M., Uegaki, R. and Cai, Y. 2012a. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from mixed pasture of timothy and orchardgrass, and its badly preserved silage. Animal Science Journal. 3:318-330.

Tohno, M., Kobayashi, H., Nomura, M., Kitahara, M., Ohkuma, M., Uegaki, R. and Cai, Y. 2012b. Genotypic and phenotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Italian ryegrass silage. Animal Science Journal. 83:111-120.

Valan Arasu, M., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D.H., Lee, K.D., Park, H.S. and Choi K.C. 2014a. Effect of addition of chlorella with *Lactobacillus plantarum* on quality, microbial contents and fermentation metabolites of barley and pea silages. Journal of Pure and Applied Microbiology. 8:4017-4023.

Valan Arasu, M., Jung, M.W., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D.H,. Lee, K.D,. Park, H.S., Huh, T.Y., Choi, G.J., Lim, Y.C., Al-Dhabi N.A. and Choi, K.C. 2013. Isolation and characterization of antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* KCC-10 from forage silage with potential beneficial properties. Journal of Applied Microbiolology. 115:1172-1185.

Valan Arasu, M., Jung, M.W., Kim, D.H., Ilavenil, S., Lee, K.D., Choi, G.J., Al-Dhabi N.A. and Choi, K.C. 2014b. Isolation and characterization of *Lactobacillus plantarum* KCC-19 from crimson silage. Journal of Pure and Applied Microbiology. 8:3575-3587.

Wu, J.J., Du, R.P., Gao, M, Sui, Y.Q., Xiu, L. and Wang, X. 2014. Naturally occurring lactic Acid bacteria isolated from tomato pomace silage. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 27:648-657.

Yoon, S.H., Kim, J.G., Jung, E.S. and Lim, Y.C. 2007. The study on double cropping system for organic forage production in middle part of Korea. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 27:275-280.

(Received June 1, 2015 / Revised June 16, 2015 / Accepted October 2, 2015)