# 牧草の乾物消化率推定のための迅速セルラーゼ法の応用

古谷政道*　植田精一**
樋口誠一郎*　筒井佐喜雄*

セルラーゼによる粗飼料の乾物消化率の推定法について，更に簡便で迅速な方法を検討した。粉砕サンプル0.5ｇを１％濃度のセルラーゼ溶液とともに，40℃の振とう器の中で２時間分解するもので，これを迅速セルラーゼ法とした。in vivo 可消化乾物量・可消化養分総量既知の10種類の牧草サンプルを供試した結果，in vivo 乾物消化率と本法による乾物消化率との間に高い相関（r＝0.902，$p < 0.001$）が認められ，in vivo 乾物消化率推定の回帰式，$Y = 41.64 + 0.58X$（Xは迅速セルラーゼ法による乾物消化率）が得られた。又，可消化養分総量と本法による乾物消化率との相関は極めて高く（r＝0.969，$p < 0.001$），本法が粗飼料の品質評価判定に応用できることが示された。

## 緒　　言

牧草，飼料作物の乾物消化率は，飼料成分の一指標を示すだけでなく，家畜の嗜好性や採食量に大きな影響を与え，増体量とも密接な関係が認められている[9,19]。しかし乾物消化率の検定には，供試家畜と管理のための多大な労力と時間ならびに大量の試料を必要とする[20]。このためこれらの条件を満すきわめて限られた試料についてだけ，乾物消化率の検定とその試験研究が行われているにすぎない。

これらの欠点を補うため，Tilley et al.[29,30]によって、家畜の胃液とペプシンの利用を特徴としたin vitro法が考案された。本法は少量の試料によって試験管内で乾物消化率を推定するin vitro法で，各国で試験されたが[13,16,21,25]，その結果はin vivo乾物消化率と高い相関を示すだけでなく，得られる乾物消化率の絶対値が，in vivo乾物消化率と良く適合する画期的な方法であった。この方法が開発されて以来，牧草の乾物消化率は，育種における選抜試験[10,26]や，栽培，利用試験[8,17]に応用されている[14,23,34]。

またin vivo法の簡便法ともいえる，極く少量の粉砕試料を小袋に詰め直接家畜の胃内へ吊す，いわゆるナイロンバッグ法も実用に供されている[4,7]。

しかしこれらの方法でも，in vivo法より管理のむずかしいルーメンフェステル装着の家畜が必要であり[15,30]，in vivo法ほどでないが、分析に長時間を要し，多数の分析を行う育種試験などへの応用は困難であった。

一方乾物消化率推定のための消化酵素の応用も古くから検討されている。その多くは，ペプシン[12,31]またはセルラーゼ[22,27,28]の利用で，酵素単独または他の分解法との併用[1,33]などがあり，酵素による乾物消化率とin vivo乾物消化率の間に密接な関係が認められている。

この試験では，牧草の乾物消化率を，短時間に推定するため，分解時間と酵素濃度について検討を行い，得られた乾物消化率から可消化養分総量，可消化粗蛋白質の推定の可能性を検討した。比較のため標準 in vitro 法として Tilley and Terry 法[30]による分析を同時に実施した。

1981年８月１日

* 北海道立北見農業試験場，099-14　常呂郡訓子府町
** 同　上（現農林水産省北海道農業試験場，061-01　札幌市豊平区）

## 試験方法と標準試料

### 1. 試験方法

(1) セルラーゼ法

従来までのセルラーゼ法の分解時間を短縮するため，分解時間を２時間，４時間，６時間の３段階とし，セルラーゼ濃度を0.1%と１%の２段階とした。方法は阿部等[1]の乾物消化率分析法の前処理部分を除いたセルラーゼ分解部を基本にして行った。

乾燥粉砕サンプル0.5ｇをサンプルビンに秤量し，pH4.0に調製した酢酸緩衝液50mlと，所定量のセルラーゼ（オノヅカ，近畿ヤクルト製造）を加える。セルラーゼの使用量は、１サンプル当り500 mg（以後１%と記す）と50 mg（以後0.1%と記す）の２段階とした。40°Cの振とう器内で，所定時間振とう分解したのち，あらかじめ乾燥し，秤量してあるろ紙（No. 5A，東洋ろ紙）を用いてろ過し，残渣を等量の水で洗浄し，ろ紙とともに105°Cで乾燥，秤量し，分解前後の乾物重量差からセルラーゼ法による乾物消化率（以後 DDM と記す）を算出した。

(2) ペプシン法

乾燥粉砕サンプル0.5ｇをサンプルビンに秤量し，ペプシン（１：10,000，和光純薬工業）溶液を加へ，振とう分解後，乾燥秤量し，前後の乾物重量差からペプシン法による DDM を算出した。ペプシン溶液は、蒸留水45 ml に所定量のペプシンを溶解し、１N塩酸５ ml を加へて調製した。その他の方法は、前述のセルラーゼ法と同様である。

(3) Tilley and Terry 法

Tilley and Terry 法（以後T＆T 法と記す）は，Alexander and McGowan[3]と Dent[11]の改良法によって DDM の分析を行った。

### 2. 標準試料

供試した標準試料は，Table 1に記す DDM 既知の10種類の試料で，そのうち８種類の試料については可消化養分総量（以後 TDN と記す），可消化粗蛋白質（以後 DCP と記す），粗蛋白質（以後CP と記す）も知られている。in vivo と in vitro の相関を検討する場合，狭い範囲の試料にかぎれば，高い相関を示すことがある[24]。しかし本試験に供試した標準試料は，広い範囲の材料であり，最適な試料であるといえよう。なお標準試料は，農林水産省畜産試験場阿部亮技官（試料番号：１，５，６，10），同草地試験場中嶋紘一技官（試料番号：2，4，8），鹿児島大学橋爪徳三教授（試料番号：3，9），帯広畜産大学吉田則人教授（試料番号：7）よりいただいた。

## 試 験 結 果

### 1. セルラーゼ法における分解時間と DDM の関係

**Table 1.** List of standard samples

| Sample No. | Forage | Digestible dry matter in vivo (%) | Total* digestible nutrient (%) | Digestible* crude protein (%) | Crude* protein (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Rye hay | 81.2 | 80.2 | 23.5 | 27.8 |
| 2 | Hay cube | 70.7 | 64.0 | 20.8 | 25.8 |
| 3 | Mixed hay | 68.8 | 67.6 | 9.0 | 14.4 |
| 4 | Italian ryegrass | 68.0 | — | — | — |
| 5 | Italian ryegrass | 68.0 | 66.1 | 5.2 | 9.3 |
| 6 | Timothy | 66.0 | 65.9 | 8.8 | 13.4 |
| 7 | Mixed hay | 66.1 | 58.4 | 6.9 | 10.7 |
| 8 | Alfalfa | 59.0 | — | — | — |
| 9 | Mixed hay | 56.4 | 55.3 | 7.7 | 12.2 |
| 10 | Timothy | 51.6 | 51.7 | 4.4 | 8.9 |
| Mean | | 65.6 | 63.7 | 10.8 | 15.3 |
| Standard Deviation | | 8.24 | 8.79 | 7.23 | 7.35 |

* Dry matter basis.

セルラーゼによるDDMの分析結果はTable 2に示した。DDMにおよぼす分解時間の影響は明らかで，セルラーゼ濃度に関係なく，分解時間の長い処理が高いDDMを示したが，分解時間2時間の平均DDMと，4時間（1%），6時間（1%）の平均DDMの差は，それぞれ1.6%，4.0%で、大きな差はなかった。0.1%区の4時間，6時間の平均DDMは，2時間の平均DDMに比較すると，それぞれ6.9%，4.7%低い値を示した。

**Table 2.** Digestible dry matter by cellulase digestion method

| Sample No. | Digestible dry matter (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Cellulase concentration | | | | |
| | 1 per cent | | | 0.1 per cent | |
| | Period of shaking | | | | |
| | 2 hours | 4 hours | 6 hours | 4 hours | 6 hours |
| 1 | 69.2 | 71.2 | 73.6 | 57.7 | 60.6 |
| 2 | 45.1 | 48.7 | 51.1 | 38.1 | 39.7 |
| 3 | 46.1 | 47.5 | 50.9 | 39.0 | 40.4 |
| 4 | 44.2 | 45.2 | 47.9 | 36.5 | 37.8 |
| 5 | 48.3 | 49.3 | 50.4 | 40.4 | 42.4 |
| 6 | 37.9 | 40.3 | 42.3 | 29.2 | 31.4 |
| 7 | 30.9 | 32.4 | 33.7 | 23.6 | 32.9 |
| 8 | 39.0 | 40.2 | 44.8 | 34.5 | 35.8 |
| 9 | 29.6 | 28.2 | 30.5 | 22.8 | 23.3 |
| 10 | 25.5 | 26.3 | 28.2 | 22.0 | 22.5 |
| Mean | 41.3 | 42.9 | 45.3 | 34.4 | 36.6 |
| Standard Deviation | 12.72 | 12.99 | 13.14 | 10.74 | 10.80 |

DDMとセルラーゼ濃度の関係は，1%区の平均DDMは，0.1%区の平均DDMより約9%高かった。

各処理の標準偏差は，平均DDMと良く似た傾向を示し，セルラーゼ濃度が高く，かつ分解時間の長い処理が、大きい値を示した。

各処理とも最もDDMの高い試料はライ麦で，最も低い試料はチモシーであった。

セルラーゼによるDDMとin vivo DDMとの相関係数は、Table 3に示した。セルラーゼによるDDMとin vivo DDMとの相関係数は、分解時間，セルラーゼ濃度により若干異なるが，いずれも高い値を示し，0.1%水準の有意性が認められた。とくにセルラーゼ濃度1%，分解時間2時間処理区は，従来行われているセルラーゼ法に比較すると，分解時間は極めて短かく，相関係数も高く，迅速分析法として有効であることが明らかになった。以下セルラーゼ濃度1%，分解時間2時間処理を，迅速セルラーゼ法と呼ぶ。

迅速セルラーゼ法によるDDMからin vivo DDM推定のための回帰式は，Table 4に示した。この回帰式により算出された推定DDMとin vivo DDMの平均値の差の標準誤差は，1.12で，T&T法の0.77に比較するとやや大きかった。

### 2. 迅速セルラーゼ法によるDDMからTDN，DCPの推定

迅速セルラーゼ法によるDDMとTDNの相関係数は，Table 3に示すとおり，0.969と極めて高く，迅速セルラーゼ法によるTDNの推定は十分

**Table 3.** Correlation coefficients between per cent digestible dry matter by cellulase digestion methods and forage nutritive values in vivo

| In vivo value | Cellulase concentration | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 per cent | | | 0.1 per cent | |
| | Period of shaking | | | | |
| | 2 hours | 4 hours | 6 hours | 4 hours | 6 hours |
| Digestible dry matter (%) | 0.902*** | 0.913*** | 0.896*** | 0.856*** | 0.915*** |
| Total digestible nutrient (%) | 0.969*** | 0.969*** | 0.970*** | 0.950*** | 0.948*** |
| Digestible crude protein (%) | 0.741* | 0.770* | 0.778* | 0.748* | 0.733* |

* Significant at the 5 % level.
*** Significant at the 0.1 % level.

**Table 4.** Regression equations between per cent digestible dry matter (X) by swift cellulase or Tilley and Terry in vitro digestion method and digestible dry matter in vivo ($Y_1$) or total digestible nutrient ($Y_2$)

| In vitro method | Digestible dry matter in vivo (%) | | Total digestible nutrient (%) | |
|---|---|---|---|---|
| | Regression equation | Standard error | Regression equation | Standard error |
| Swift cellulase | $Y_1 = 41.64 + 0.58X$ | 1.12 | $Y_2 = 39.32 + 0.59X$ | 0.77 |
| Tilley and Terry | $Y_1 = 7.92 + 0.88X$ | 0.77 | $Y_2 = 10.15 + 0.81X$ | 1.20 |

**Table 5.** Digestible dry matter by pepsin digestion method

| Sample No. | Digestible dry matter (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Pepsin concentration | | | | |
| | 1 per cent | | | 0.1 per cent | |
| | Period of shaking | | | | |
| | 2 hours | 4 hours | 6 hours | 4 hours | 6 hours |
| 1 | 49.9 | 51.4 | 52.0 | 50.1 | 51.0 |
| 2 | 43.1 | 44.8 | 45.9 | 44.8 | 45.8 |
| 3 | 27.8 | 28.0 | 28.5 | 28.0 | 28.4 |
| 4 | 32.6 | 33.4 | 33.6 | 32.7 | 33.3 |
| 5 | 35.5 | 36.3 | 36.8 | 36.0 | 36.4 |
| 6 | 28.5 | 28.7 | 29.2 | 28.3 | 28.9 |
| 7 | 20.7 | 21.6 | 21.8 | 21.0 | 20.9 |
| 8 | 36.6 | 36.9 | 37.2 | 36.5 | 36.8 |
| 9 | 21.6 | 22.3 | 22.9 | 22.3 | 22.6 |
| 10 | 20.1 | 20.1 | 20.6 | 19.6 | 20.1 |
| Mean | 31.6 | 32.4 | 32.9 | 31.9 | 32.4 |
| Standard Deviation | 9.91 | 10.30 | 10.41 | 10.15 | 10.38 |

可能であろう。

迅速セルラーゼ法による DDM から TDN 推定のための回帰式は，$Y = 39.32 + 0.59X$（X：迅速セルラーゼ法による DDM）と算出された。この回帰式から得られた推定 TDN と in vivo TDN の平均値の差の標準誤差は 0.77 で，T & T 法の標準誤差1.20より小さかった。

迅速セルラーゼ法による DDM と DCP の相関係数は，0.741の有意な値が得られたが，DDM や TDN の相関に比較するとやや低かった。

### 3. ペプシン法による DDM の検討

ペプシンによる DDM の分析結果は Table 5に示した。ペプシン濃度，分解時間のちがいによる DDM の差は，セルラーゼ法に比較するとかなり小さく，平均 DDM の最も高い処理と最も低い処理の差は，1.3%であったが，ペプシン濃度の高いほど，また分解時間の長いほど，より高い DDM を示した。しかし処理間の平均 DDM の順位はセルラーゼ法と異なった。平均 DDM，標準偏差とも，セルラーゼ法より小さかった。各処理とも DDM の最も高い試料はライ麦で，最も低い試料はチモシーであり，その差は約30%であった。

ペプシンによる DDM と in vivo DDM の相関は，0.742から0.752の5%水準で有意な値が得られたが，セルラーゼ法による相関係数より低く，ペプシンを供試する有利性は認められなかった。

## 考　　察

本試験では，牧草の DDM を迅速に推定する方法について，併せて TDN，DCP の関係を検討した。

### 1. 迅速セルラーゼ法による DDM の推定

セルラーゼによる10点の標準試料の平均 DDM は45.3%から34.4%で，in vivo DDM に比較すると，絶対値において約20%から31%低い値を示し，標準偏差は逆に大きかった。しかしセルラーゼによる DDM と in vivo DDM との相関は高く，0.856から0.915の高い相関係数が算出された。とくにセルラーゼ1%，分解時間2時間（迅速セルラーゼ法）では0.902，セルラーゼ1%，分解時間4時間では0.913，セルラーゼ0.1%，分解時間6時間においては0.915と，いずれも0.9を越す相関係数が得られた。迅速セルラーゼ法による DDM から in vivo DDM 推定の回帰式は Table 4 に示したが，T & T 法に比較すると，回帰係数は0.58と小さく，Y 切片は41.64とかなり大きかった。平均値の差の標準誤差は1.12と T & T 法より大きいが，t 検定の結果は有意水準以下であり，迅速セルラーゼ法によ

**Table 6.** Correlation coefficients between per cent digestible dry matter by pepsin digestion methods and forage nutritive values in vivo

| In vivo value | Pepsin concentration: 1 per cent, Period of shaking: 2 hours | 1 per cent, 4 hours | 1 per cent, 6 hours | 0.1 per cent, 4 hours | 0.1 per cent, 6 hours |
|---|---|---|---|---|---|
| Digestible dry matter (%) | 0.744* | 0.752* | 0.748* | 0.744* | 0.742* |
| Total digestible nutrient (%) | 0.843** | 0.834** | 0.827* | 0.826* | 0.822* |
| Digestible crude protein (%) | 0.896*** | 0.877** | 0.879** | 0.875** | 0.877** |

* Significant at the 5 % level.
** Significant at the 1 % level.
*** Significant at the 0.1 % level.

るDDMの推定は，十分可能であろう。セルラーゼ濃度と分解時間の関係では，セルラーゼ濃度が1％の場合は2時間の分解時間でよく，0.1%においては，6時間が4時間より高い相関を示した。この結果，短時間で分析したい場合には，セルラーゼ濃度を1％，分解時間を2時間とする迅速セルラーゼ法，またセルラーゼ量を少なくする場合には，分解時間を6時間にし，セルラーゼ濃度を0.1%とすることが可能である。またこの方法は，T&T法に較べて分析時間は極めて短く，1日に50点以上の分析が可能であり，家畜を使わないので，分析は実験室内で行われ，操作は簡単であり熟練を要さないなど，セルラーゼ法は，牧草のDDM推定のための多くの利点を持つ簡易な方法といえよう。

ペプシンによるDDMの推定は，セルラーゼ法と同様に，分析操作は極めて簡便であった。しかしペプシンによるDDMとin vivo DDMとの相関は，セルラーゼによる相関に比較するとかなり低く，ペプシンによる牧草のDDMの推定にはやや無理があろう。

セルラーゼとペプシンによるDDMのちがいについては，牧草の消化過程において，構造性炭水化物の分解の難易が牧草の消化性を大きく左右し[5,32]，in vivoにおいては，構造性炭水化物の分解は，ルーメン内細菌のセルラーゼ，ヘミセルラーゼによって行われることから[18]，ペプシンよりもセルラーゼによるDDMが，in vivo DDMと高い相関を示すものと考えられる。

**Table 7.** Correlation coefficients between per cent digestible dry matter by Tilley and Terry in vitro digestion method and forage nutritive values in vivo

| Digestible dry matter in vivo (%) | Total digestible nutrient (%) | Digestible crude protein (%) |
|---|---|---|
| 0.956*** | 0.923*** | 0.799* |

* Significant at the 5 % level.
*** Significant at the 0.1 % level.

T & T法によるDDMは，多くの報告のとおり[10,13,17,21]in vivo DDMと高い相関を示し，10点の標準試料の平均DDMは，in vivo DDMと一致した。しかし迅速セルラーゼ法に比較すると，分析時間が長いだけでなく，分析操作は複雑で，簡便法としては，迅速セルラーゼより劣った。

### 2. 迅速セルラーゼ法によるDDMからTDN，DCPの推定

セルラーゼによるDDMとTDNの相関は，各処理とも極めて高く，0.948から0.970の相関係数が算出された。この相関係数はペプシン法の0.822から0.843や，T & T法の0.923より高かった。Table 4に示した迅速セルラーゼ法のTDN推定の回帰式は，T & T法に比較すると回帰係数は0.59と小さく，逆にY切片は39.32とかなり大きく，DDM推定式と似た傾向を示している。推定TDNとin

vivo TDN の平均値の差の標準誤差は，T＆T 法より小さく，t 検定の結果は，有意水準以下であった。以上の結果から，迅速セルラーゼ法が，最も効果的であり，極めて高い精度での推定が可能であった。先に述べたとおり分析方法に大きな問題はなく，迅速セルラーゼ法によって，DDM と TDN を同時に推定できることになり，牧草の飼料価値を，2つの形質から簡便に検討することが可能になった。

迅速セルラーゼ法による DDM と DCP の相関係数は小さく，DDM から DCP を推定するには，かなりの誤差が伴なうことが明らかとなった。DCP の簡易推定法として，CP からの推定がある[2,6]が，本試験においても DCP と CP の相関係数は0.998と高く，今後更に検討の必要があろう。

## 謝　辞

本稿を草するに当り，北海道立北見農業試験場馬場徹代場長，同増谷哲雄牧草科長に御校閲を賜わった。本試験遂行に際し，北海道立中央農業試験場中山利彦場長に多くの御指導をいただいた。本試験に供試した標準試料は，帯広畜産大学吉田則人教授，鹿児島大学橋爪徳三教授，農林水産省畜産試験場阿部亮技官，同草地試験場中嶋紘一技官に御恵与いただいた。緬羊へのルーメンフェステル装着手術は，北海道立北見農業試験場太田竜太郎専門技術員の手を煩わした。深大なる謝意を表する。

## 引　用　文　献

1) 阿部亮，堀井聡，亀岡暄一．“セルラーゼによる粗飼料の乾物消化率推定法に関する研究，III．Two step 法の乾物消化率推定への応用”．日畜会報．**43**，175—180 (1972)．

2) Adams, R, S. “Results of feed analysis in feeding dairy cattle”. J. Dairy Sci. **44**, 2105—2112(1961).

3) Alexander, R. H.; McGowan, M. “A filtration procedure for the in vitro determination of digestiblity of herbage”. J. Brit. Grassl. Soc.. **16**, 275—276 (1961).

4) Archibald, J. G.; Fenner, H; Owen, Jr. D. F.; Barnes, H. D. “Measurement of the nutritive value of alfalfa and timothy hay by varied techniques”. J. Dairy Sci. **44**, 2232—2241(1961).

5) Barnes, R. F. “Collaborative in vitro rumen fermentation studies on forage substrates”. J. Anim. Sci. **26**, 1120—1130 (1967).

6) Baumgardt, B. R.; Taylor, M. W.; Cason, J. L. “Evaluation of forages in the laboratory, II, Simplified artificial rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forage nutritive value”. J. Dairy Sci. **45**, 62—68 (1962).

7) Burton, G. W.; Hart, R. H.; Lowrey, R. S. “Improving forage quality in bermudagrass by breeding”. Crop Sci. **7**, 329—332 (1967).

8) Calder, F. W.; Macleod, L. B. “In vitro digestibility of forage species as affected by fertilizer application, stage of development and harvest dates”. Can. J. Plant Sci. **48**, 17—24 (1968).

9) Chapman, H. D.; Marchant, W. H.; Burton, G. W.; Monsom, W. G.; Utley, P. R. “Performance of steers grazing Pensacola bahis, Coastal and Coastcross-1 bermudagrasses”. J. Anim. Sci. **32**, 374 (1971).

10) Cooper, J. P.; Tilley, J. M. A.; Raymond, W. F.; Terry, R. A. “Selection for digestibility in herbage grasses”. Nature. **195**, 1276—1277 (1962).

11) Dent, J. W. “Applications of the two-stage in vitro digestidility method to variety testing”. J. Br. Grassl. Soc. **18**, 181—188 (1963).

12) Donefer, E.; Niemann, P. J.; Crampton, E. W.; Lloyd, L. E. “Dry matter disappearance by enzyme and Aqueous solutions to predict the nutritive value of forages”. J. Dairy Sci. **46**, 965—970 (1963).

13) Gil, H. C.; Davis, R. L.; Barnes, R. F. “Inheritance of in vitro digestibility and associated characteristics in Medicago sativa L.”. Crop Sic. **7**, 19—21 (1967).

14) 後藤寛治．“牧草の栄養価と育種”．北海道草地研究会報．**4**，1—11 (1970)．

15) Johnson, R. R. “Techniques and procedures for in vitro and in vivo rumen studies”.J. Anim. Sci.**25**, 855—875 (1966).

16) Jule'n, G.; Lager, A. “Use of the in vitro digestibility test in plant breeding”. Proc. 10th. Int. Grassl. Congr.652—657 (1966).

17) Mcleod, M. N.; Minson, D. J. “The use of the in vitro technique in the determination of the digestibility of grass／legume mixtures”. J. Br. Grassl. Soc. **24**, 296—298 (1969).

18) 湊　一．“炭水化物の消化”．乳牛の化学．梅津元昌編．農山漁村文化協会，1966．p. 185—204．

19) Minson, D. J.; Harris, C. E.; Raymond, W. F.; Milfird, R. “The digestibility and voluntary intake

of S22 and H.1 ryegrass, S170 tall fescue, S48 timothy, S215 meadow fescue and germinal cocksfoot". J. Br. Grassl. Soc. **19**, 298—305 (1964).

20) 森本宏・"飼料学". 養賢堂, 1968. p. 59—61.

21) Mowat, D. N.; Fulkerson, R. S.; Tossell, W. E.; Winch, J. E. "The in vitro digestibility and protein content of leaf and stem portions of forages". Can J. Plant Sci. **42**, 321—331 (1965).

22) 中嶋紘一, 鶴見養明, 吉山武敏. "トールフェスクにおける乾物消化率の簡易検定法の検討". 九州農業研究. **41**, 157—158 (1979).

23) 大原久友. "反芻家畜における草類の摂取量と消化におよぼす要因について". 日畜会報. **37**, 191—197 (1966).

24) Richards, C. R.; Weaver, H. G.; Connolly, J. D. "Comparison of methoxyl, lignin, crude fiber, and crude protein contents of forage and feces as indirect indicators of dry matter digestibility". J. Dairy Sci.**41**, 956—962 (1956).

25) Rogers, H. H.; Whitmore, E. T. "A modified method for the in vitro determination of herbage digestibility in plant-breeding studies" J. Br. Grassl. Soc.**21**, 150—152 (1966).

26) Ross, J. G.; Bullis, S. S.; Lin, K. C. "Inheritance of in vitro digestibility in smooth bromegrass". Crop. Sci. **10**, 672—673 (1970).

27) 雑賀優, 宝示戸貞雄. "オーチャードグラスにおける消化率の個体間変異および消化率と形態的・生理的形質との関係. 日草誌. **23**, 177—182 (1977).

28) Tarumoto, I.; Masaoka, Y. "Digestibility of fresh sorghum leaf by simple cellulase digestion method". J. Jpn. Grassl. Sci. **24**, 1—9 (1978).

29) Tilley, J. M. A.; Deriaz, R. E.; Terry, R. A. "The in vitro measurement of herbage digestibility and assessment of nutritive value".Proc. 8th Int. Grassl. Congr. 533—537 (1960).

30) Tilley, J. M. A.; Terry, R. A. "Two stage technique for the in vitro digestion of forage Crops". J. Br. Grassl. Soc. **18**, 104—111 (1963).

31) 植田精一, 古谷政道, 樋口誠一郎, 筒井佐喜雄. "チモシーにおける高可消化成分系統の選抜に関する研究, 第3報, in vitro(T & T)法と酵素による乾物消化率の関係". 日草誌 (講演要旨) **16**, 221 (1970).

32) Van Soest, P. J.; Moore, L. A. "New chemical methods for analysis of forages for the purpose of predicting nutritive value". Proc. IXth. Int. Grassl. Congr. 1, 783—789 (1965).

33) Van Soest, P. J.; Wine, R. H.; Moore, L. A. "Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls". Proc. 10th Int. Grassl. Congr. 438—441 (1966).

34) Woodford, E. K. "The need for a fresh approach to the place and purpose of the ley". J. Br. Grassl. Soc. **21**, 109—115 (1966).

# Application of Swift Cellulase Digestion Method for predicting Digestible Dry Matter of Forages

Masamichi FURUYA* Seiichi UEDA**, Seiichiro HIGUCHI*,
and Sakio TSUTSUI*

**Summary**

The swift cellulase digestion method for estimation of digestible dry matter, total digestible nutrient and digestible crude protein of forage was examined.

A small sample (0.5g) of the ground forage was incubated at 40°C for 2 hours with 50ml of cellulase solution in a 100ml polyethylene bottle placed in a shaking apparatus. Cellulase solution was made up by dissolving 500mg of cellulase (CELLULASE ONOZUKA) in 50ml 0.1M acetate buffer solution (pH 4.0).

After digestion, the supernatant was filtered with No.5A filter paper and the insoluble residue was dried and weighed, and per cent digestible dry matter was calculated.

The per cent digestible dry matter of forage analysed by swift cellulase digestion method was lower than that in vivo value (Table 2). However, the per cent digestible dry matter by swift cellulase digestion method was significantly correlated with per cent digestible dry matter in vivo, total digestible nutrient and digestible crude protein (Table 3).

The correlation between per cent digestible dry matter by swift cellulase digestion method and per cent digestible dry matter in vivo was highly significant (Table 3). The regression equation $Y = 41.64 + 0.58X$ was calculated, where Y = per cent digestible dry matter in vivo and X = per cent digestible dry matter by swift cellulase digestion method (Table 4).

The correlation between per cent digestible dry matter by swift cellulase digestion method and total digestible nutrient was also highly significant (Table 3). The regression equation was $Y = 39.32 + 0.59X$, where Y = total digestible nutrient and X = per cent digestible dry matter by swift cellulase digestion method (Table 4).

* Hokkaido Prefectural Kitami Agricultural Experiment Station, Kunneppu, Hokkaido, 099-14, Japan.
** Hokkaido National Agricultural Experiment Station, Sapporo, Hokkaido, 061-01, Japan.