

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-502435

(P2004-502435A)

(43) 公表日 平成16年1月29日(2004.1.29)

(51) Int. Cl.⁷

A01G 1/00

F I

A O 1 G 1/00 3 O 2 A

A O 1 G 1/00 3 O 1 Z

テーマコード(参考)

2 B O 2 2

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 29 頁)

(21) 出願番号 特願2002-508242 (P2002-508242)
 (86) (22) 出願日 平成13年7月6日(2001.7.6)
 (85) 翻訳文提出日 平成15年1月7日(2003.1.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/FI2001/000648
 (87) 国際公開番号 W02002/003776
 (87) 国際公開日 平成14年1月17日(2002.1.17)
 (31) 優先権主張番号 20001628
 (32) 優先日 平成12年7月7日(2000.7.7)
 (33) 優先権主張国 フィンランド(FI)

(71) 出願人 503014160
 アムーレアル オサケ ユキチュア ユル
 キネン
 フィンランド国 02100 エスポー
 レヴォンチュレンティエ 6
 (74) 代理人 100072051
 弁理士 杉村 興作
 (72) 発明者 カレルヴォ ヘルララ
 フィンランド国 05200 ラヤマキ
 ハーパランティエ 4
 Fターム(参考) 2B022 AA01 AB20 DA19

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クローン苗及び挿し木の生産方法

(57) 【要約】

本発明は、木質植物のクローンを生産する方法に関するものである。前記方法では、まず最初に根挿しを生産するために選別したクローンから親株を選別し、該親株を強い根系を形成するのに十分な期間生育する。前記の生育期間の後、成長した親株を休眠状態で放置する。親株の根系を回収し、該根系の最も薄い部分は取り除き、根を切断する。前記の根の切断部、すなわち根挿しを適切な成長培地中で発根状態にして発根させるか、又は必要に応じて該根挿しを前処理する。前記の発根した根挿し及び/又は苗条を成長させ始めた根挿しを選別、回収、及び生育し、植物体とする。あるいは、根を切断するか又は前処理することにより得られた根挿しを選別し、選別した森林栽培地に直接植え付ける。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

木質植物のクローンの生産方法であって、

根挿し (r o o t c u t t i n g) を生産するために選別したクローンから親株を選別すること、

苗条及び根系を形成するために、前記親株を少なくとも一自然成長期間又はその一部の期間生育すること、

前記親株を前記成長期間後休眠状態で放置すること、

前記親株が完全に休眠期に達した後、該親株の苗条を切断すること、

前記親株の根系を回収すること、

前記親株の最薄部分を取り除き、かつ 3 c m 以上の直径の根を切断して根挿しとし、該根挿しを必要に応じて階層化すること、

前記根挿しを発根状態にし、適切な培地中で発根させること、

植付から 8 週間以内に苗条の成長を開始し発根した根挿し、又は苗条及び / 又は根の成長開始の兆候を示した根挿しを選別し、かつ回収すること、及び

選別した根挿しを生育し、植物体とすること

を特徴とする前記方法。

10

【請求項 2】

前記親株の苗条を 5 ~ 4 0 c m の高さ、好ましくは約 2 0 c m の高さで切断することを特徴とする、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 3】

植物栽培の初期において、前記親株の根系を回収することを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【請求項 4】

ミクロ繁殖法又は何らかの他の確実なクローニング法により、前記親株を生産することを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 5】

親株として、裸根を有する植物体又は 0 . 5 ~ 1 年の根のついた植物体 (b a l l p l a n t) を選別すること特徴とする、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

30

【請求項 6】

前記親株の前記成長期間が 0 . 5 ~ 1 . 5 年間であることを特徴とする、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 7】

栽培において、前記親株を互いに 4 0 ~ 1 0 0 c m の距離において配置することを特徴とする、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 8】

前記親株を少なくとも隣接する 2 列に配置し、該列間の距離を大体 1 0 0 ~ 5 0 0 c m とし、それにより該列間に肥料線をつくることを特徴とする、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

40

【請求項 9】

根の生産時に窒素性の肥料を使用し、該根の成長を促進することを特徴とする、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 10】

厚さが 3 m m 未満である親株の根を切り取り、3 m m 以上の直径の根を切断して断片をつくることを特徴とする、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 11】

根挿しとして、前記根の根元部分又は中間部分を選別することを特徴とする、請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 12】

50

根挿しとして、約 2 ~ 10 cm、好ましくは約 3 ~ 6 cm の長さを有する根の断片を選別することを特徴とする、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 13】

根挿しを泥炭土壌に置き発根させることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 14】

根挿しを実質水平な場所に置き発根させることを特徴とする、請求項 1 ~ 13 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 15】

根挿しを成長培地に挿す前に、該根挿しを階層化することを特徴とする、請求項 1 ~ 14 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。 10

【請求項 16】

根挿しが苗条及び / 又は根の成長開始の兆候を示すために十分な期間、該根挿しを発根状態に保つことを特徴とする、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 17】

選別した根挿しを移植し、生育して植物体とすることを特徴とする、請求項 1 ~ 16 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 18】

根挿しから成長した植物体が冬の準備ができた時に、該植物体を掘り出すことを特徴とする、請求項 1 ~ 17 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。 20

【請求項 19】

精選した栽培地域に選別した根挿しを直接挿し木することを特徴とする、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 20】

挿し木を植付ける場所の栽培地の基礎土と植付用の培地を混ぜることを特徴とする、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

ポプラ属の樹種のクローンを生産することを特徴とする、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。

【請求項 22】

ヨーロッパヤマナラシ (*P. tremula*)、アメリカヤマナラシ (*P. tremuloides*)、ポプラ・バルサメア (*P. balsamea*)、ドロヤナギ (*P. balsamifera*)、ポプラ・トリコカーパ (*P. trichocarpa*)、ポプラ・ヘテロフィラ (*P. heterophylla*)、ポプラ・デルトイデス (*P. deltoides*)、ポプラ・グランディデンタタ (*P. grandidentata*) のクローン；ヨーロッパヤマナラシ x アメリカヤマナラシ (*P. tremula x tremuloides*)、ヨーロッパヤマナラシ x ヨーロッパヤマナラシ (*P. tremula x tremula*)、ポプラ・デルトイデス x ポプラ・トリコカーパ (*P. deltoids x trichocarpa*)、ポプラ・トリコカーパ x ポプラ・デルトイデス (*P. trichocarpa x deltoides*)、ポプラ・デルトイデス x ポプラ・ニグラ (*P. deltoids x nigra*)、ポプラ・マキシモウィックジ x ポプラ・トリコカーパ (*P. maximowiczii x trichocarpa*) のような貯蔵したヤマナラシ株の交配により作成された雑種ヤマナラシの樹種若しくは遺伝子技術により作成した他の樹種のクローン、又はポプラのクローンを生産することを特徴とする、請求項 21 に記載の方法。 30

【請求項 23】

公園に生えた低木若しくは木のクローン、又はラズベリーのクローンを生産することを特徴とする、請求項 1 ~ 20 のいずれか 1 つの請求項に記載の方法。 40

【請求項 24】

木質植物のクローン生産方法であって、 50

根挿しを生産するために選別したクローンから親株を選別すること、
 苗条及び根系を形成するために、前記親株を少なくとも一自然成長期間又はその一部の
 期間生育すること、
 前記親株を前記成長期間後休眠状態で放置すること、
 前記親株が完全に休眠期に達した後、該親株の苗条を切断すること、
 前記親株の根系を回収すること、
 前記親株の最薄部分を取り除き、かつ3cm以上の直径の根を切断して根挿しとし、該
 根挿しを必要に応じて階層化すること、
 前記根挿しを発根状態にし、適切な培地中で発根させること、
 植付から8週間以内に苗条の成長を開始し発根した根挿し、又は苗条及び/又は根の成
 長開始の兆候を示した根挿しを選別し、かつ回収すること、及び
 選別した根挿し又は階層化した根挿しを選別した栽培地に直接挿し木することを特徴と
 する方法。

【請求項25】

挿し木の植付場所の栽培地の基礎土と植付用の培地を混ぜることを特徴とする、請求項24に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、請求項1の前文に記載の木質植物のクローン及び挿し木(cutting)を生産する方法に関するものである。

【0002】

多数の良質な挿し木が森林植林に必要とされている。しかしながら、現在挿し木を生産するには多大な手作業が必要であり、挿し木の生産工程を機械化することによりかなり成功したという例は未だない。

【0003】

Lepistoの1995年の刊行物には、クローニングのために最良のヤマナラシ(aspen)の一個体を選別する方法についての記載がある。またLepistoの1996年の刊行物には、休眠中の雑種ヤマナラシ(hybrid aspen)の芽を材料として使用してミクロ繁殖法を行うことにより、選別したヤマナラシの一個体由来の枝挿し(stem cutting)のクローンを培養する方法についての記載がある。

【0004】

ヤマナラシを分裂組織及び枝挿しから大量に繁殖できることは、既知である。しかしながら、ヤマナラシの分裂組織を使用してミクロ繁殖法を行うには、挿し木の生産に高額な費用がかかることから、その適用は制限される。前記の高額な費用は、実験室施設及び労働力の必要性を主な原因とするものである。枝挿しも、繁殖率及び発根が低水準であって、それによってやはり挿し木の生産費用が高額なことから、その適用は制限される。

【0005】

Reimの1930年の刊行物では、ヤマナラシの根系を地面から持ち上げ、それを切断して根挿し(root cutting)を作り、その後該根挿しを温室又は苗床に植え付ける方法が提案されている。該Reimの刊行物では、土を掘り起こして根を植え付けることは難しく高額な費用がかかるとみなされている。公開SUA 1079215では、親株の根系を切断し屋外で植え付けて栽培する、ポプラの繁殖方法が提案されている。前記公開では、親株を選別し該親株を用いて本来不純物を含まないクローンの挿し木部分を生産するという記載は全く無く、また挿し木を生産し選別するという記載も無い。

【0006】

ヤマナラシは製紙の原材料として使用される。しかしながら、異なるヤマナラシのクローンではその特性に大きな相違があることが既知であり、それ故、製紙業の立場からは、特定の所望のヤマナラシのクローンから原材料を得ることが望まれる。例えば、雑種ヤマナラシは25年～35年程度の短期間に用材規模の大きさに達するため、他の樹種と比較して、ヤマナラシを栽培することは木材の製造業者にとって良い選択肢ともなるであろう。

しかしながら、所望のヤマナラシのクローンからクローン及び挿し木を生産する、信頼性があり費用的にも有効な方法が無いという問題がある。

【0007】

本発明は、従来技術の欠点を解消し、木製植物のクローン及び挿し木、特にポプラ (*Populus*) 属の樹種又は発根がポプラ属の樹種に類似する樹種のクローン及び挿し木の生産について、全く新しい解決方法を提供することを目的とする。

【0008】

本発明は、植え付けられる植物体として選抜されたクローンである親株の根系を機械により切り離した部分から、根挿しを生産することができるという発見に基づくものである。前記根挿しのうち発根可能であるとして選別した根挿しは、成長して植物体となり、該植物体をさらに木材の栽培者に届けるか、又は該根挿しを直接土地に植え付けることも出来る。

10

【0009】

本発明に係る方法は異なる植物種にも適用することが出来る。しかし、前記方法は、木質植物のクローンを生産することに特に適している。木質植物は、発根状態がポプラ属の樹種に類似しているからである。前記方法は、特にヨーロッパヤマナラシ (*Populus tremula*) や、フィンランドヤマナラシとアメリカヤマナラシ (*Populus tremuloides*) の間の雑種である雑種ヤマナラシのようなポプラ属の樹種のクローンを生産すること、又はポプラ属のうち他の樹種のクローンを生産することに適している。

20

【0010】

本発明は、多数の長所を有している。それにより、特定の選別されたクローンから多大な数の相互同一な植物体を非常に有利な生産費用で生産するために、本明細書に記載の方法を使用することが出来る。前記方法はミクロ繁殖法と同じくらい信頼性が高いが、植物体当たりにかかる費用は少なくとも20%低い。該費用削減は主に挿し木の生産を実験室から苗床に移すことができるという事実によるものである。前記方法は迅速であり、挿し木は一成長期間で生産することさえ可能である。さらに、本発明に係る方法は、容易に自動化及び機械化することが可能である。

【0011】

本発明では、根挿しを生産するためにクローン及び該クローン由来の親株を最初に選別する。前記親株は適切な方法を用いて生産したものとす。前記親株は、例えばミクロ繁殖法のようなクローニング方法により生産することが出来る。前記親株として選別した植物体のクローンは、目的に適したゲノムを有していなければならない、かつそれによりクローンの由来を確実に知ることが可能にしなければならない。目的に適したゲノムを有するクローンとは、最終ユーザーの立場から考えて所望の好ましい特性を有するクローンをいうが、特に使用する方法に適したクローンをいう。前記の使用する方法には、特に多量の根塊を生産するクローン及び苗条及び根によく分化するクローンが適している。裸根又は0.5~1年の根のついた植物体 (*baller plants*) を親株として選別する。選別時には注意を払い、病気や害虫のような環境要因により植物が任意の被害を受けないようにする。親株を少なくとも一自然成長期間、又はその一部の期間生育し、苗条及び根系を形成する。一自然成長期間は0.5~1.5年とすることができる。前記期間は0.5~1.5年よりも短くするか又は長くすることができる。成長期間中に、良質な苗条及び強力で大きい根系を形成することが親株にとって重要である。

30

40

【0012】

親株の生育に空地を使用する場合には、クローンが他のクローン又は近縁の植物が存在しない状態あることを保証するために、該空地は完全に休閑中でなければならない。

【0013】

本発明の実施例では、親株を互いに40~100cmの幅で配置している。また、親株を少なくとも2列に配置し、列間の幅をおよそ100~500cmとして、該列間に肥料線を配置することが好ましい。根の生育を促進するために、窒素性の肥料を使用することが

50

できる。この実施例は、根が完全に直立して成長するという長所を有し、それにより該根を容易に処理することができる。

【0014】

成長期の後、栽培した親株を休眠状態で放置する。休眠状態とは、植物体の光合成量、呼吸量、及び水消費量が最小な状態をいう。温室においては、前記休眠状態は、植物体が最小照度で、冷室で、それほど頻りに水を与えられていない状態で保たれていることを意味する。自然においては、前記休眠状態は、成長期後に照度及び温度が低下して植物の生体機能が低速することを意味する。休眠状態に入る時、植物体の栄養素は根系に蓄積され、苗条の切断、該植物体の運搬、又は根の短縮などの種々の処理に対し、該植物体はより強い耐性を有する。この場合、植物体の根系が必要とされる機械的処理に対し強い耐性を有することが重要である。

10

【0015】

親株が完全に休眠状態に達した後、植物体の苗条を切断する。苗条を切断しない場合には、苗条の成長のために植物体は根系に蓄積された栄養素を使用するかもしれない、すると根系の発根能力が弱まる。前記切断は、5～40cmの高さ、好ましくは約20cmの高さで行う。根系を処理する場合には、掴む部分として親株に残存する約20cmの切り株が適している。親株の根系は、植物栽培の初期の段階に回収することが望ましい。これは、親株を掘り出すか又は該親株を温室若しくは冷蔵庫から移した後の成長の初期の段階に、該根系をさらに処理することを意味する。前記親株の最薄部分は根系から取り除き、3mm以上の直径の根を切断して挿し木を形成する。3mm未満の直径の根を含んでもよいが、該根は処理することがより難しく、新しい根系及び苗条を形成する能力が制限される。さらに、根挿しとして根の根元部分又は中間部分を選別することが望ましい。根の断片の長さは約2～10cm、好ましくは約3～6cmとすることができる。機械により親株の根を消毒し、選別し、切断して断片を作ることが最も実用的であり迅速である。

20

【0016】

本明細書では根の断片を根挿しと呼ぶが、該根挿しを発根状態となるようにし、適切な成長培地に植え付ける。前記の適切な成長培地は例えば泥炭土とすることができる。成長培地は、例えばセルの中に置くこともできる。(例えば1cmの)成長培地の薄層を、根断片の上部に広げることできる。

【0017】

根挿しを実質水平な位置に置くことが特に望ましい。実際には、これは根挿しの縦軸が水平面に関して45°未満の角度となる位置を意味する。

30

【0018】

成長培地に挿した根挿しは、温室のように温度及び湿度が適切な状態に保たれた状態で発根する。例えば自然光から成る光を照明とすることができる。

【0019】

根挿しは、苗条及び/又は根が成長開始の兆候を示すのに十分な期間、発根状態で保つ。その時に、苗条が例えば3～10cmの大きさに達し、根が成長を開始するか又は成長を開始しようとする。前記期間は、約4～8週間、実際には特定のクローンにおいて又は特定の成長状態においては、この期間は12週間とすることができる。この期間は、成長状態、クローン並びに根断片の長さ及び薄さにより影響を受ける。前記期間の後、植え付けをした根挿し又は苗条を形成した根挿しを移植、すなわち根鉢と共に移し新しい成長培地(例えばほぼ純粋な園芸用泥炭培地)中で生育する。前記の新しい成長培地では空間に余裕があるため、苗条及び根は成長し、所望の大きさの挿し木苗(より大きい根鉢)となる。

40

【0020】

根挿しを階層化すること、すなわち根挿しを成長培地に挿す前に前記の発根状態に相当する条件下で該根挿しを前処理して、発根している挿し木又は発根する可能性のある挿し木を同定することにより、前記方法の信頼性及び有効性をさらに高めることができる。光、水分及び必要に応じてサイトカイニンのようなホルモンを用いて前記の前処理を行うことにより、特別に萌芽に寄与する状態を作り出すことができる。前記の前処理では、好まし

50

くは適切な培地の上部の水平面に互いに密集して隣合うように根断片を植え、該根断片が成長培地に埋もれないようにする。前記根断片を軽いガーゼ又は紙で覆い、適切な湿度を保つこともできる。根挿しにおいて、苗条の分化は根断片の近接端部から開始し、該分化は根の表面に膨らみとして現れる。根挿しを前記の状態です約10～15日間保ち、それにより、例えば根の根皮が目に見て分かる程度の塊に成長し始める。そのことは、苗条及び根が成長し始めたことを示している。前記の兆候に基づき、よく発根する根挿しをゆっくり発根するか全く発根しない根挿しと区別することができる。上記の状態です、数週間以内に、すなわち苗条を作り始めた根挿しを移植しさらに生育する期間の内に、萌芽が起こる。移植工程で、根の形成を促進するために、移植する根挿しをオーキシンのようなホルモンで処理することができる。

10

【0021】

移植後、ビニール・ハウス中で、根挿しから成長したいいわゆる挿木苗の植え付けを行うことができる。通常は、例えば根細胞から移植したヤマナラシの挿し木については数日間(3～6日間)しかかからないが、階層化した根から移植した挿し木についてはより長期間(6～10日間)がかかる。その場合、移植した植物体は新しい成長培地中で発根し、野外、特に実際に生育する場所への移植に耐性を有する。野外の生育場では、肥料散布及び害虫駆除のために良質のイリガートル及び有効な機械装置が必要である。

【0022】

根挿しは、移植に使用した成長培地に直接植え付け、3～8週間又はそれより長期間発根状態に保ち、その後植え付けした根挿しを移し野外で生育することもできる。移植では、通常当該植物に適した肥沃な園芸用の泥炭土を成長培地として使用することができる。階層化した根挿しを使用するか、又は階層化していない根挿しを使用するかにより必要な期間が決まる。この方法には、上記の移植工程の場合よりもより大きい空間がグリーン・ハウス中に必要である。

20

【0023】

根挿しから成長した任意の植物体を、冬を過ごした後に掘出す。本明細書では、冬とは植物体が休眠状態に達した時、すなわち成長が停止し、例えば芽が形成し、葉が黄色に変わり落ちた時を意味する。森林栽培に使用する予定であるヤマナラシのクローンの植物体を分類する時には、例えば樺の分類基準を用いることができる。前記の樺の分類基準は、Commercial Code 684/79 on Forest Reproductive Material及びResolutions 271/91 and 1210/94 of Ministry of Agriculture and Forestry on the Marketing of Forest Reproductive Materialにより定義されたものとする。植物体の在庫目録化はクローン毎に行うが、もちろん梱包に印を付すことが望ましい。

30

【0024】

前記方法の全ての操作及び生育工程において、最終工程までクローンを互いに離して保持しなければならないことに留意すべきである。

【0025】

植物体は冬の間に冷蔵庫で保存するか、又は植物体を入れた袋を野外の冬用保管庫で保存することができる。

40

【0026】

秋の森林植林には、成長の最終段階に向けて、夏の終わり(フィンランドではおよそ8月中旬)に配達することができる。配達時には、植物体を傷つけないように該植物体を運搬する時及び取り扱う時に細心の注意を払わなければならない。

【0027】

春の植林には、運搬及び植林前に植物体を入れた袋を溶かさなければならない。植物体を冷蔵庫で保管していたのであれば、該植物体を植林前に約1日間水に浸し、該植物体に新たな水を供給しなければならない。

【0028】

50

植林地は目的に適した場とし、土を準備しなければならない。クローンの数は規定に従わなければならない。植林に関しては、モグラ (mole) 避け及びノウサギ (hare) 避けを取り付けなければならない。シカ (deer) 及びオオジカ (elk) による被害に曝された場所では、代わりに電気又はワイヤー製のネットフェンスを建てなければならない。

【 0 0 2 9 】

根挿しから植物体まで生育し、該植物体を栽培地まで配達する方法は、上記の通りである。別の可能性としては、良質で暖かい土を有する土地のような精選した良い栽培地域に、直接根挿しを植え付ける方法がある。その場合、植物体の生育工程は省略する。根を切断し、発根した挿し木を選別することにより、又は前処理、すなわち階層化を行うことにより得た根挿しを選別し、熱、水分及び振動による欠点を最小限に抑えて作成した配達のために開発された箱に詰め、該根挿しを直接栽培地まで送る。

10

【 0 0 3 0 】

根挿しを栽培地に運搬する時には、買い手と売り手との間に厳密な配達計画が必要とされる。根挿しは 2 ヘクタールの領域内であれば小包郵便で届けることができ、その場合には重さは 2 0 k g 未満とする。運搬の時間は 1 日を越えてはならない。

【 0 0 3 1 】

根を栽培地に植え付けるか又は“挿し木”する。前記栽培地は、土が好ましくは優れた水分特性、すなわち 3 ~ 6 % の有機物を含み暖かい土となるように作成する。挿し木を土地に挿すのに最も好ましい時期は、成長期の初期段階、すなわち晩春から初夏の間 (フィンランドでは 5 月中旬から 6 月中旬の間、5 月 2 0 日から 6 月 1 0 日の間) 、土地が適切な暖かさであり乾燥していない時である。挿し木を植え付ける場所の栽培地の基礎土と森林培地を混ぜることが望ましい。根挿しは、指示に正確に従い培地に植え付けなければならない。植物用の網を該根挿しの上に被せなければならない。

20

【 0 0 3 2 】

後に、すなわち約 1 ~ 1 . 5 ヶ月後 (フィンランドでは 7 月上旬) に、前記挿し木がどのようにして成長し始めるかを調べ、さらに植林が必要か否かについて判断することができる。好ましくは植林から数ヶ月後 (フィンランドでは 7 月から 8 月の変わり目) の挿し木を用いてさらなる植林を行う。

【 0 0 3 3 】

本発明に係る方法は、特にポプラ属の樹種のクローンを生産するために使用することができる。前記クローンは、例えば、ヨーロッパヤマナラシ (*P. tremula*) 、アメリカヤマナラシ (*P. tremuloides*) 、ポプラ・バルサメア (*P. balsamea*) 、ドロヤナギ (*P. balsamifera*) 、ポプラ・トリコカーパ (*P. trichocarpa*) 、ポプラ・ヘテロフィラ (*P. heterophylla*) 、ポプラ・デルトイデス (*P. deltoides*) 、ポプラ・グランディデンタタ (*P. grandidentata*) のクローン ; ヨーロッパヤマナラシ x アメリカヤマナラシ (*P. tremula* x *tremuloides*) 、ヨーロッパヤマナラシ x ヨーロッパヤマナラシ (*P. tremula* x *tremula*) 、ポプラ・デルトイデス x ポプラ・トリコカーパ (*P. deltoids* x *trichocarpa*) 、ポプラ・トリコカーパ x ポプラ・デルトイデス (*P. trichocarpa* x *deltoides*) 、ポプラ・デルトイデス x ポプラ・ニグラ (*P. deltoids* x *nigra*) 、ポプラ・マキシモウィックジ x ポプラ・トリコカーパ (*P. maximowiczii* x *trichocarpa*) のような貯蔵したヤマナラシ株の交配により作成された雑種ヤマナラシの樹種若しくは遺伝子技術により作成した他の樹種のクローン、又はポプラのクローンとすることができる。

30

40

【 0 0 3 4 】

本発明に係る方法は、ポプラ属の樹種に類似した発根特性を有する他の木質植物 (例えば栽培根を有するプラム又はチェリー) のクローンを生産するためにも使用することができる。該方法は、例えば種々の公園の低木若しくは木のクローン又はラズベリーのクローン

50

を生産するために使用することができる。

【0035】

下記の非限定的な実施例は本発明を詳細に示したものである。

【0036】

(実施例1)

試験では、雑種ヤマナラシの根を種々に配置し、該配置についての比較を行った。根挿しの植え付けを5月中旬(5月11日~18日)に行った場合には、発根率(全根挿しのうち苗条及び根を形成した根挿しの割合)は6月下旬(6月21日~22日)の発根の結果とし、全発根率(%)は約1ヶ月後(7月19日まで)の結果とする。表1に示すように、完全に水平に配置した根が最も良い結果を示した。

10

【0037】

【表1】

位置	位置試験	
	発根率(%)	全発根率(%)
垂直	24.0%	41.3%
上下逆	7.3%	26.0%
水平	73.6%	84.0%
全位置	35.0%	50.5%

20

【0038】

(実施例2)

試験では、成長期に親株に種々の肥料を与え、雑種ヤマナラシの根挿しの発根について調べ、該肥料についての比較を行った。ケッキラ・スーパーX5(Kekkiila Super X5)及びスーパーX7(Super X7)はどちらも混合栄養を含む肥料であるが、ケッキラ・スーパーX7は窒素を含まない。発根率(%)及び全発根率(%)は、実施例1に定義した通りである。

30

【0039】

【表2】

肥料	実際の試験 (actual test)		集団試験 (mass test)		全体試験 (whole test)	
	発根率 (%)	全発根率 (%)	発根率 (%)	全発根率 (%)	発根率 (%)	全発根率 (%)
無肥料	40.5%	55.5%	31.6%	46.2%	34.9%	48.8%
ケッキラ・スーパーX5	39.7%	58.3%	37.1%	51.4%	38.1%	54.1%
ケッキラ・スーパーX7	35.9%	55.8%	32.7%	47.6%	34.5%	51.5%
全肥料	38.3%	56.9%	34.6%	49.1%	36.2%	52.3%

40

【0040】

表2の結果は、特に窒素性の肥料で施肥を行うと全発根率が上がることを示している。

【0041】

50

(実施例3)

雑種ヤマナラシの根の種々の部分が発根する能力を比較した場合、表3に示すように、該根の根元部分及び中間部分が最も効果的に発根することが分かった。発根率(%)及び全発根率(%)は、実施例1に定義した通りである。

【0042】

【表3】

根の部分	実際の試験 (actual test)	
	発根率 (%)	全発根率 (%)
根元部分	54.7%	68.4%
中間部分	31.8%	52.8%
先端部分	18.8%	36.3%
全部分	37.2%	54.6%

10

【0043】

無肥料で育てた親株である雑種ヤマナラシの苗条を切断する時間が発根の性質に及ぼす影響を調べたところ、切断は明らかに発根に有利な影響を及ぼすことが分かった。発根率(%)及び全発根率(%)は、実施例1に定義した通りである。表4に示すように、完全に植物が休眠状態にある時(12月10日)に苗条の切断を行った場合に、最も良い結果が得られた。

20

【0044】

【表4】

	実際の試験 (actual test)		集団試験 (mass test)		全体試験 (whole test)	
	発根率 (%)	全発根率 (%)	発根率 (%)	全発根率 (%)	発根率 (%)	全発根率 (%)
無切断	29.0%	41.0%	18.1%	24.2%	22.2%	32.2%
1998年9月24日	27.0%	40.5%	19.6%	31.1%	23.0%	34.3%
1998年12月10日	49.0%	67.0%	40.6%	56.6%	42.6%	59.3%
1999年4月23日	40.5%	55.5%	31.6%	46.2%	34.9%	48.8%
全切断	36.4%	51.0%	28.1%	40.6%	31.0%	44.1%

30

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 January 2002 (17.01.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/03776 A1

- (51) International Patent Classification: A01G 7/00, 2300, A01H 4/00
- (21) International Application Number: PCT/FI01/00648
- (22) International Filing Date: 6 July 2001 (06.07.2001)
- (25) Filing Language: Finnish
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 20001028, 7 July 2000 (07.07.2000) FI
- (71) Applicant (for all designated States except US): M-REAL OYJ [FI/FI], Revontulentie 6, FIN-02100 Espoo (FI).
- (72) Inventor; and
- (75) Inventor/Applicant (for US only): HERRALA, Kalevu [FI/FI], Haapatalantie 4, FIN-05200 Rajamäki (FI).
- (74) Agent: SEPPÖ LAINE OY, Isämerenkatu 3 B, FIN-00180 Helsinki (FI).

- (81) Designated States (national): AF, AG, AI, AM, AU, AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, CZ (utility model), DE, DE (utility model), DK, DK (utility model), DM, DZ, EC, EE, EG (utility model), ES, FI, FI (utility model), GB, GD, GE, GH, GM, GR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NG, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SK (utility model), SL, TL, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GL, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, UZ, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, UJ, UZ), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NH, SN, TD, TG).

Published:
— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/03776 A1

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING CLONE SAMPLINGS AND CUTTINGS

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing clones of woody plants. According to the method, first, the mother plants are selected from selected clones in order to produce root cuttings and the mother plants are grown long enough to form a strong root system. After the growing period, the grown mother plants are left in dormancy. The root system of the mother plant is recovered, the thinnest part of the root system is removed, and the roots are cut. The pieces of root, i.e., the root cuttings, are brought to rooting conditions to take root in a suitable growth medium or, optionally, the root cuttings are pre-treated. The root cuttings that have taken root and/or started to grow a shoot are selected, recovered, and grown to become plants. Alternatively, the root cuttings obtained from cutting or pre-treating the roots are selected and inserted directly into the selected area of forest cultivation.

WO 02/03776

PCT/JP01/00648

Process for producing clone saplings and cuttings

The present invention relates to a method according to the preamble of claim 1 for producing clones and cuttings of woody plants.

5

Large numbers of high-quality cuttings are needed for forest planting. However, cutting production at the moment requires a lot of handwork, and mechanizing the processing phases of cuttings has not been successful to a considerable degree.

10 Lepistö's publication of (1995) describes a method, wherein the best aspen individuals are selected for cloning, and Lepistö's publication (1996) describes a method for growing clone cuttings from the selected aspen individuals by using the micro propagation method using, as the material, buds of a hybrid aspen in dormancy.

15 It has been previously known that aspen can be productively propagated from meristems and stem cuttings. However, the applicability of micro propagation from the meristems of aspen is restricted by high cutting production costs, which are mainly caused by the need for laboratory facilities and working. The applicability of stem cuttings is reduced by the low level of the propagation coefficient and rooting, which also causes high cutting
20 production costs.

Reim's (1930) publication suggests a method for lifting the root system of the aspen from the ground and cutting it into root-cuttings, which are then planted in a greenhouse or a nursery. The Reim publication considers digging up and processing roots as difficult and
25 expensive. Publication SU A 1079215 suggests the propagation of poplar, where the root system of the mother plant is cut off and planted to grow outside. The said publications have no mention of the selection and applicability of the mother plants to the production of originally clean clone cutting portions nor of the processing and selection of cuttings.

30 Aspen is used as a raw material in papermaking. However, great differences have been found between the properties of different aspen clones; therefore, from the point of view of the paper industry, it would be preferable, if the raw material could be obtained from certain, desired aspen clones. As, for example, the hybrid aspen reaches the size of saw-

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

2

timber in as little as 25 to 30 years, growing aspen in comparison with other wood species would be a good alternative for the wood producer as well. However, the problem has been that there are no reliable and cost-effective methods for producing clones and cuttings from the desired aspen clones.

5

The purpose of the present invention is to eliminate the drawbacks related to prior art and to provide quite a new kind of solution for producing clones and cuttings of woody plants, particularly those of the tree species of the *Populus* genus or tree species that are reminiscent of the tree species of the *Populus* genus as to their rooting.

10

The invention is based on the discovery that root cuttings can be prepared from pieces that are mechanically isolated from the root system of the mother plant of the selected clone of the plant that is to be planted. The cuttings capable of rooting selected from them can be grown into plants and the plants can further be delivered to planters of wood, or the root cuttings can be planted in the ground directly.

15

The method according to the invention can be applied to different plant species, but it is especially well suited to producing clones of woody plants, which resemble the species of the *Populus* genus as to their rooting. The method is especially well suited to producing the clones of the species of the *Populus* genus, such as aspen (*Populus tremula*) and hybrid aspen, which is a cross between the Finnish and the North-American aspen (*Populus tremuloides*), or to producing the clones of other species of the *Populus* genus.

20

The invention provides considerable advantages. Thus, the method described herein can be used to produce large numbers of mutually identical plants from certain selected clones at very advantageous production costs. The method is as reliable as the micro propagation method, but the costs per plant are at least 20% lower. The cost savings are primarily due to the fact that cutting production can be transferred from laboratories to nurseries. The method is quick; cuttings can even be produced during one season of growth. Furthermore, the method according to the invention is easy to automate and mechanize.

25

30

According to the method, the clones and the mother plants from the clones are first selected in order to produce root cuttings; the mother plants having been produced by using a

WO 02/03776

PCT/F01/00648

3

suitable method. The mother plants can be produced, for example, by using a cloning method, such as micro propagation. The plant clones selected as the mother plants should have a genome that suits the purpose, and it must be possible to ensure the origin of the clones. The clones with a genome that suits the purpose refer to clones which, from the viewpoint of the end user, have the desired preferable properties, but also to clones in particular, which suit the method that is used. For the method used, especially those clones are suitable, which produce a great deal of root mass and which will differentiate well into a shoot and roots. Bare root or balled plants of 0.5-1 year of age are selected as mother plants. In the selection, attention is paid to the fact that the plants do not suffer from any damage caused by environmental factors, such as disease or pests. The mother plants are grown for at least one natural growing period or a part thereof to form a shoot and a root system. The natural growing period can be 0.5-1.5 years. The period can be shorter or longer than this. During the growing period, it is essential for the mother plant to form a good shoot and a strong and extensive root system.

15

When an open area is used for growing the mother plants, the area must be followed completely in order to ensure that the clones remain clear of other clones or closely related plants.

20 According to a preferred embodiment of the invention, the mother plants are arranged at a distance of 40-100 cm from each other. It is also preferable to arrange the mother plants in at least two adjacent rows, the distance between which is approximately about 100-500 cm, whereby a fertilizer line is arranged between the rows. To advance the growth of roots, a nitrogenous fertilizer can be used. This embodiment provides the advantage that the roots grow fairly straight, whereby it is easy to process them.

25

After the growing period, the cultivated mother plants are left in dormancy. Dormancy refers to a state, where the photosynthesis, breathing, and water consumption of the plant are at their minimum. In a greenhouse, this means that the plants are kept in minor light in a cool place, and not watered very often. In nature, this means that the vital functions of the plant are slowed down after the season of growth with the amount of light and the temperature decreasing. When going into dormancy, the nutrients of the plant accumulate in the root system and the plant better withstands various treatments, such as cutting the

30

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

4

shoot, transferring the plant or shortening the roots. In this case, it is essential that the root system of the plant withstands the mechanical treatment it is subjected to.

After the mother plants have reached complete dormancy, the shoots of the plants are cut. 5 If the shoots are not cut, the plant might use the nutrients accumulated in the root system for growing a shoot, thus weakening the ability of the root system to take root. Cutting is carried out at a height of 5-40 cm, preferably at a height of about 20 cm. The stub of about 20 cm that is left on the mother plant is a suitable place for gripping, when processing the root system. It is preferable to recover the root system of the mother plant at the beginning 10 of the plant cultivation, which means that the root system is further processed at the beginning of the growing season right after unearthing the mother plant or bringing it from a greenhouse or a cold store. The thinnest part of the mother plants' root system is removed from the root system and roots with a diameter of more than 3 mm are cut to form root cuttings. Roots with even smaller diameter could also be included, but they are more 15 difficult to process and their ability to form a new root system and shoots is limited. Furthermore, it is preferable to select as root cuttings the basal or intermediate part of the root. The length of the piece of root can be about 2-10 cm, preferably about 3-6 cm. It is most practical and quick to mechanically clean, sort, and cut the roots of the mother plants into pieces.

20 The pieces of root, which here are called root cuttings, are brought into rooting conditions to be rooted on a suitable growth medium. Such a suitable growth medium can be peat sand, for example. The growth medium can be, for example, in cells. A thin layer (such as 1 cm) of growth medium can be spread on top of the pieces of root.

25 It is especially preferable to make the root cuttings root in an essentially horizontal position. In practice, this means a position, where the longitudinal axis of the root cutting is at an angle less than 45 degrees in relation to the horizontal plane.

30 The root cuttings inserted into the growth medium are rooted in conditions, where the temperature and the moisture are kept suitable, such as a greenhouse. The lighting can consist of natural light, for example.

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

5

The root cuttings are kept in rooting conditions long enough to show signs of shoots and/or roots beginning to grow. At that time, the shoots have reached a size of 3-10 cm, for example, and the roots have begun or are beginning to grow. This period can be about 4-8 weeks in length; indeed, for certain clones or in certain growing conditions, this period can be as long as 12 weeks, which is affected by both the growing conditions, the clone, and the length and the thickness of the piece of root. After this, the root cuttings that have rooted or formed a shoot are transplanted, i.e., transferred with their root balls to grow in a new growth medium (e.g., an almost pure garden peat medium), where the shoots and the roots have room to grow and become rooted cuttings of the desired size (a larger root ball).

10

The reliability and the effectiveness of the method can further be increased by stratifying, i.e., pre-treating the root cuttings in conditions that correspond to the rooting conditions described above before inserting them into the growth medium to identify cuttings that root or are capable of rooting. With the aid of light, moisture and, optionally, hormones, such as cytokinin, the pre-treatment can be used to create conditions that contribute to sprouting in particular. In the pre-treatment, the pieces of root are preferably placed densely next to each other on a horizontal plane on top of a suitable medium, and they are not buried into the growth medium. They can be covered with light gauze or paper to maintain suitable humidity. In the root cuttings, the differentiation of the shoot begins from the proximal end of the piece of root and appears as a bulge on the surface of the root. The root cuttings are kept in such conditions for about 10 to 15 days, for example, whereby the skin of the root begins to develop lumps visible to the eye, which indicate that the shoot and/or the root have begun to grow. On the basis of these signs, the root cuttings that root well can be distinguished from those that root slowly or do not root at all. In the conditions described above, sprouting takes place within a few weeks, during which time the root cuttings that have started to produce shoots are pricked out for further growing. In the transplanting phase, the root cuttings to be pricked out can be treated with hormones, such as auxins, to advance root formation.

30

After pricking out, the so-called implanting of the rooted cuttings developed from the root cuttings can be carried out in plastic houses. Normally, for the cuttings of aspen pricked out from rooting cells, for example, this takes a few days (3 to 6 days) only, for the cuttings pricked out from those stratified, this time is longer (6 to 10 days). In that case, the pricked

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

6

out plant takes root in the new growth medium and withstands a transfer to open land, among others, where the actual growing takes place. An outdoor growing field requires good irrigators and effective mechanical devices for solute fertilization and pest control.

- 5 The root cuttings can also be inserted directly into the growing medium used for pricking out, which is kept in rooting conditions for 3 to 8 weeks or longer, after which the rooted root cuttings are transferred to outdoor growing. In the pricking out, normally, fertilized garden peat suitable for the plant in question is used as a growth medium. The time required depends on whether stratified or unstratified root cuttings are used. This process
10 requires a larger space in the plastic house than the pricking out process mentioned above.

- Any plants grown from the root cuttings are unearthed after they have wintered. Wintering here means that the plants have reached dormancy, i.e., growing has stopped and, for example, buds have been formed and the leaves have turned yellow and fallen. When
15 classifying the plants of the clone aspen intended for forest cultivation, for example, the classification standards for birch plants can be used, which are defined by the Commercial Code 684/79 on Forest Reproductive Material and by the Resolutions 271/91 and 1210/94 of the Ministry of Agriculture and Forestry on the Marketing of Forest Reproductive Material. The inventory of the plants is carried out per clones, whereby it is, of course,
20 preferable to mark the packages.

It should be noted that in all the handling and growing phases of the method, the clones should be kept apart from each other until the end of the process.

- 25 The plants can be stored for winter either in a cold store or the plant bags can be kept in winter storage outdoors.

- For autumn planting of forests, the plants can be delivered towards the end of the growing period, at the end of the summer (in Finland, around the middle of August). At that time,
30 caution should be exercised in transporting and handling the plants in order not to damage the plants.

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

7

For spring planting, the plant bags must be melted before transportation and planting. If the plants have been stored in cold storage, the plants should be immersed in water for about 1 day before planting for giving them a fresh supply of water.

- 5 The planted area should be suitable for the purpose and the soil should be prepared. The number of clones should be in accordance with the regulations. In connection with planting, protection against moles and hares should be set; in areas exposed to deer and elk damage, in turn, electric or wire-net fences should be built.
- 10 Growing root cuttings into plants and delivering the plants to the areas of cultivation are described above. Another possibility is to directly insert the root cuttings into selected, good areas under cultivation, such as land with good mulch and warm soil. In that case, the phase of growing plants is omitted. The root cuttings obtained from cutting the roots, selecting the rooted cuttings or pre-treatment, i.e., stratification, are selected and packed in
- 15 delivery boxes developed for the purpose, wherein the disadvantages of heat, moisture, and vibration have been minimized, and the cuttings are sent directly to the area under cultivation.

- When root cuttings are transported to areas of cultivation, the transportation requires an
- 20 accurate delivery plan between the buyer and the seller. The root cuttings can be delivered by parcel post to an area of as large as 2 hectares, whereby the weight is less than 20 kg. The time used for transportation should not exceed 1 day.

- The roots are planted in or "inserted" into the area under cultivation, which has been
- 25 prepared; the soil preferably has good moisture properties, contains 3-6% organic matter, and is warm. The most preferable time to insert the cuttings into the ground would be at the beginning of the growing period, between the end of spring and early summer (in Finland, from the middle of May to the middle of June; from 20 May to 10 June), when the ground is suitably warm but not dried. It is preferable to mix a planting medium from the
- 30 foundation soil of the cultivation area at the point of planting the cutting. The root cutting should be set into the medium exactly according to the instructions, and a plant screen should be placed on top of the cutting.

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

8

Later on, after about 1 to 1.5 months, (in Finland, at the beginning of July), it can be checked, how the cuttings have started to grow and assessed, whether further planting is needed. Further planting is preferably carried out with cuttings after a couple of months from the planting (in Finland, at the turn of July and August).

5

The method according to the invention can be used to produce the clones of the wood species of the *Populus* genus in particular. These can be, for example, the clones of *P. tremula*, *P. tremuloides*, *P. balsamea*, *P. balsamifera*, *P. trichocarpa*, *P. heterophylla*, *P. deltoides*, *P. grandidentata*, an aspen species, such as *P. tremula x tremuloides*, *P. tremula x tremula*, *P. deltoides x trichocarpa*, *P. trichocarpa x deltoides*, *P. deltoides x nigra*, *P. maximowiczii x trichocarpa*, which is hybridized from stock aspens, or the clones of another species produced by gene technology, or the clones of poplar.

The method according to the invention can also be used to produce the clones of other woody plants, which have similar rooting properties as the species of the *Populus* genus (e.g., plum or cherry with cultivated roots). The method can be used to produce, for example, the clones of various park bushes or trees or the clones of raspberry.

The following non-limiting examples describe the invention in detail:

20

Example 1

In the test, different alternatives to arrange the roots of hybrid aspen were compared. The percentage of rooting (the portion of the root cuttings, which had formed a shoot and a root, of all the root cuttings) refers to the rooting result at the end of June (by 21-22 June), the total rooting % refers to the rooting result about one month later (by 19 July), when the planting of the root cuttings had taken place in the middle of May (11 to 18 May). The roots that were arranged horizontally definitely gave the best rooting result, as seen in Table 1.

30

WO 02/03776

PCT/FI01/00648

9

Table 1

Positioning	Positioning test	
	Rooting %	Total rooting %
Vertically	24.0 %	41.3 %
Upside down	7.3 %	26.0 %
Horizontally	73.6 %	84.0 %
All positions	35.0 %	50.5 %

Example 2

5

The test compared the of various alternative fertilizers on the rooting results of the root cuttings of hybrid aspen, given to the mother plants during the growing period. Kekkilä Super X 5 and Super X 7 are both multi-nutrient fertilizers, but Kekkilä Super X 7 contains no nitrogen. The rooting % and the total rooting % were defined as in Example 1.

10

Table 2.

Fertilization	Actual test		Mass test		Whole test	
	Rooting %	Total rooting %	Rooting %	Total rooting %	Rooting %	Total rooting %
Not fertilized	40.5 %	55.5 %	31.6 %	46.2 %	34.9 %	48.8 %
Kekkilä SuperX 5	39.7 %	58.3 %	37.1 %	51.4 %	38.1 %	54.1 %
Kekkilä SuperX 7	35.9 %	55.8 %	32.7 %	47.6 %	34.5 %	51.5 %
All fertilizations	38.3 %	56.9 %	34.6 %	49.1 %	36.2 %	52.3 %

The results in Table 2 indicate that fertilization with the nitrogenous fertilizer in particular improves the total rooting result.

15

WO 02/03776

PCT/F01/00648

10

Example 3

When comparing the ability of the different parts of the hybrid aspen roots to take root, it was discovered that the basal and intermediate parts of the roots were the most effective parts to take root, as Table 3 indicates. The rooting and total rooting % were defined as in Example 1.

Table 3

Part of root	Actual test	
	Rooting %	Total rooting %
Base	54.7 %	68.4 %
Intermediate part	31.8 %	52.8 %
Tip	18.8 %	36.3 %
All parts of root	37.2 %	54.6 %

10

Example 4

When examining the effect of the time of cutting the shoots of unfertilised hybrid aspen mother plants on the rooting property, it was discovered that cutting obviously had an advantageous effect on taking root. The rooting and total rooting % were defined as in Example 1. As Table 4 shows, the best result was obtained, when the cutting of shoots was performed on plants in complete dormancy (10 December).

WO 02/03776

PCT/F01/00648

11

Table 4

Cutting	Actual test		Mass test		Whole test	
	Rooting %	Total rooting %	Rooting %	Total rooting %	Rooting %	Total rooting %
No cutting	29.0 %	41.0 %	18.1 %	24.2 %	22.2 %	32.2 %
24.9.1998	27.0 %	40.5 %	19.6 %	31.1 %	23.0 %	34.3 %
10.12.1998	49.0 %	67.0 %	40.6 %	56.6 %	42.6 %	59.3 %
23.4.1999	40.5 %	55.5 %	31.6 %	46.2 %	34.9 %	48.8 %
All cuttings	36.4 %	51.0 %	28.1 %	40.6 %	31.0 %	44.1 %

WO 02/03776

PCT/F01/00648

12

Claims

1. A method for producing clones of woody plants, characterized in that
- 5 - the mother plants are selected from selected clones in order to produce root cuttings
- the mother plants are grown for at least one natural growing period or part thereof for forming a shoot and a root system,
- the grown mother plants are left in dormancy after the growing period,
- 10 - the shoots of the mother plants are cut after the plants have reached complete dormancy,
- the root system of the mother plant is recovered,
- the thinnest portion of the mother plant root system is removed and the roots of a diameter larger than 3 cm are cut into root cuttings, which are optionally stratified,
- 15 - the root cuttings are brought to rooting conditions to take root in a suitable growth medium,
- the root cuttings, which have started to grow a shoot within eight weeks from planting and taken root, or which show signs of starting to grow shoots and/or a root, are selected and recovered, and
- 20 - the selected root cuttings are grown to become plants
2. A method according to claim 1, characterized in that the shoots of the mother plants are cut at a height of 5 to 40 cm, preferably about 20 cm.
- 25 3. A method according to claim 1 or 2, characterized in that the root system of the mother plants is recovered at the beginning of the plant cultivation.
4. A method according to any one of claims 1 to 3, characterized in that the mother plants are produced by the micro propagation method or some other reliable cloning
- 30 method.
5. A method according to any one of claims 1 to 4, characterized in that plants with bare roots or ball plants of 0.5 to 1 year of age are selected as mother plants.

WO 02/03776

PCT/F01/00648

13

6. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the growing period of the mother plants is 0.5-1.5 years.
- 5 7. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that, for cultivation, the mother plants are arranged at a distance of 40 to 100 cm from each other.
8. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the mother plants are arranged in at least two adjacent rows, the distance between them being
- 10 approximately about 100 to 500 cm, whereby a fertilizing line is arranged between the rows.
9. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that, in root production, a nitrogenous fertilizer is used to advance the growth of the roots.
- 15 10. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the roots of the mother plants, which are less than 3 mm in thickness, are cut off and the roots with a diameter larger than this are cut into pieces.
- 20 11. A method according to claim 10, characterized in that the basal or intermediate part of the root is selected as a root cutting.
12. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that a piece of root with a length of about 2 to 10 cm, preferably about 3 to 6 cm, is selected as a
- 25 root cutting.
13. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the root cuttings are placed on a peat sand base to take root.
- 30 14. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the root cuttings are positioned in an essentially horizontal position to take root.

WO 02/03776

PCT/F01/00648

14

15. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the root cuttings are stratified before inserting them into the growth medium.
16. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the root cuttings are kept in rooting conditions long enough for them to show signs of starting to grow shoots and/or roots.
17. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the selected root cuttings are pricked out and grown to become plants.
18. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the plants developed from the root cuttings are unearthed, when they have become ready for the winter.
19. A method according to any one of claims 1 to 16, characterized in that the selected root cuttings are inserted directly into the selected area of cultivation.
20. A method according to claim 19, characterized in that a planting medium is mixed from the basic soil of the cultivation area at the planting point of the cutting.
21. A method according to any one of the preceding claims, characterized in that the clones of the tree species of the *Populus* genus are produced.
22. A method according to claim 21, characterized in that the clones of the *P. tremula*, *P. tremuloides*, *P. balsamea*, *P. balsamifera*, *P. trichocarpa*, *P. heterophylla*, *P. deltoides*, *P. grandidentata*, an aspen species hybridised from stock aspens, such as *P. tremula x tremuloides*, *P. tremula x tremula*, *P. deltoides x trichocarpa*, *P. trichocarpa x deltoides*, *P. deltoides x nigra*, *P. maximowiczii x trichocarpa* or another species produced by gene technology, or the clones of poplar are produced.
23. A method according to any one of claims 1 to 20, characterized in that the clones of park bushes or trees or those of raspberry are produced.

WO 02/03776

PCT/F01/00648

15

24. A method for producing the clones of woody plants, characterized in that
- the mother plants are selected from selected clones in order to produce root cuttings;
 - the mother plants are grown for at least one natural growing period or part thereof
 - 5 for forming a shoot and a root system,
 - the grown mother plants are left in dormancy after the growing period,
 - the shoots of the mother plants are cut after the plants have reached complete dormancy,
 - the root system of the mother plant is recovered,
 - 10 - the thinnest portion of the mother plant root system is removed and the roots of a diameter larger than 3 cm are cut into root cuttings, which are optionally stratified,
 - the root cuttings are placed in rooting conditions to take root in a suitable growth medium,
 - the root cuttings, which have started to grow a shoot within eight weeks from
 - 15 planting and taken root, or which show signs of starting to grow shoots and/or a root, are selected and recovered, and
 - the selected root cuttings or the stratified root cuttings are inserted directly into the selected area of cultivation.
- 20 25. A method according to claim 24, characterized in that a planting medium is mixed from the base soil of the cultivation area at the planting point of the cutting.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/FI 01/00648
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC7: A01G 7/00, A01G 23/00, A01H 4/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC7: A01G, A01H		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
SE,DK,FI,NO classes as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
EPO-INTERNAL, WPI DATA, PAJ, CHEM.ABS.DATA		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Tartu Ülikooli Metsosakonna toimetused nr. 16, 1930, Mitteilungen der Forstwissenschaftlichen Abteilung der Universität Tartu, Paul Reim: "Haava paljunesmis-bioloogia" "Die Vermehrungsbiologie der Aspe" XV-XVI --	1-25
X	WPI/Derwent's abstract, Accession number 1985:042572, week 8507, ABSTRACT OF SU,1079215, (MANGYSHLAG HORTIC) 15 March 1984 (15.03.84) --	1-25
X	USDA Forest Service General Technical Report, Intermountain Forest and Range Experiment Station, "George A. Schier: "Vegetative Propagation of Rocky Mountain Aspen"(1978) No. INT-44, pp. 13. 4 pl. 27, pages 1-13 --	1-25
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"I" Inter document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" documents which may throw doubts on novelty claimed or which are cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"Z" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
29 October 2001	29 -10- 2001	
Name and mailing address of the ISA/ Swedish Patent Office Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. +46 8 666 02 86	Authorized officer Gerd Stranda11/BS Telephone No. +46 8 782 25 00	

Form PCT/ISA,210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FI 01/00648

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	General Technical Report - North Central Forest Experiment Station, USDA Forest Service, (1990) R.B. Hall et al: Commercial-Scale Vegetative Propagation of Aspens", No. NC-140, pp. 211-219. --	1-25
X	General Technical Report, Intermountain Forest and Range Experiment Station, USDA Forest Service, (1984) Asexual VS. Sexual Propagation of Quaking Aspen", Robert B. Campbell, No. INT-168, pp. 61-65 --	1-25
X	Research Note, Intermountain Forest and Range Experiment Station, USDA Forest Service, (1978), George A. Schier et al: "Effect of Cold Storage on Development of Suckers on Aspen Root Cuttings", No. INT-248, pp. 1-8 --	1-25
X	STN International, file CABA, CABA accession no. 76:39134, document no. 760630973, Dimitrov, Kh. et al: "Methods of propagating Populus alba", & Gorskostopanska Nauka, (1975), vol 12, no 5, pp. 34-42 --	1-25
A	Matti Lepistö, Haavanjalostuksen tulokset käyttöön Vantaa 1995, "Metsän Jalostus Säätiö, Foundation for Forest Tree Breeding", pages 5-7 --	1-25
A	Matti Lepistö, Hybridihaavan mikrotaimituotantoa kehitetään, Vantaa 1996, Metsänjalostussäätiö Foundation for Forest Tree Breeding, page 23 -- -----	1-25

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1998)

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW