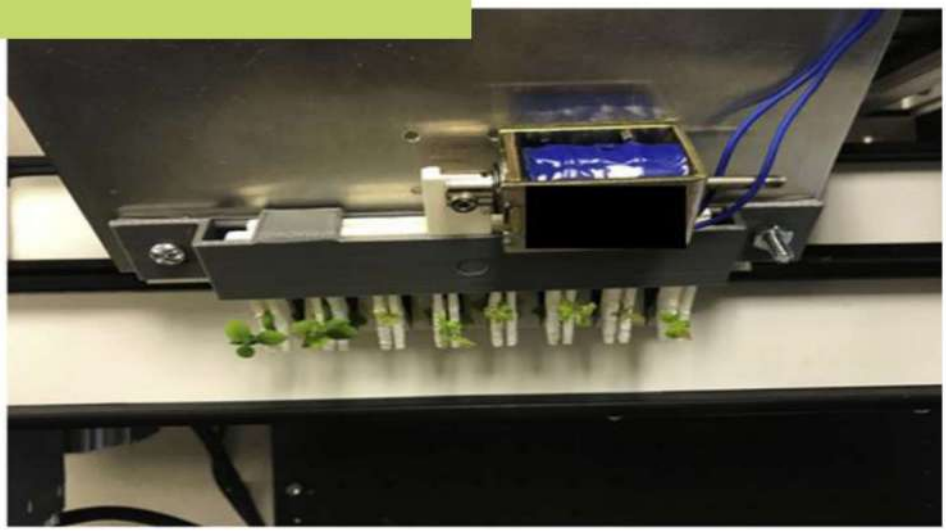
اتوماسیون ریزازدیادی گیاهان از طریق کشت بافت

ریحانه پیروزی

دانشجوی دکتری اگروتکنولوژی بذر، دانشگاه تهران

reyhaneh.pirozy@ut.ac.ir



چکیده

ریزازدیادی یک تکنیک پیشرفته تکثیر رویشی جهت تولید گیاهان باکیفیت بالا و عاری از بیماری‌ها در حجم بالا و در مدت‌زمان اندک است. با افزایش تقاضا برای تولیدات زراعی، باغی و گیاهان دارویی، ریزازدیادی از طریق کشت بافت گیاهی اهمیت روزافزونی پیداکرده است. بااین‌حال، این روند بسیار پرزحمت و حجم کار بسیار بالا است. اخیراً سیستم‌های جدیدی جهت اتوماسیونی کردن فرآیند ریز ازدیادی به‌منظور کاهش هزینه نیروی کار، افزایش توان عملیاتی، کاهش خطر آلودگی با به حداقل رساندن تماس انسانی توسعه‌یافته‌اند. مطالعه حاضر به بررسی طراحی، فرآیند و امکان‌سنجی سیستم اتوماسیون ریز ازدیادی پیشنهادشده توسط لی و همکاران [۱]، پرداخته است. نمونه‌ای از این سیستم ساخته شد و آزمایش‌های پایلوت با یک نوع گیاه بلوبری انجام شد و تا ۹۰ درصد موفقیت به دست آورد. علاوه بر این، نتایج تجربی نشان داد که نرخ تولید آن با توان عملیاتی فرآیند دستی قابل‌مقایسه بود. سیستم خودکار پیشنهادی پتانسیل بالایی جهت پاسخگویی به تقاضای روزافزونِ تکثیر سریع گیاهان را دارد.

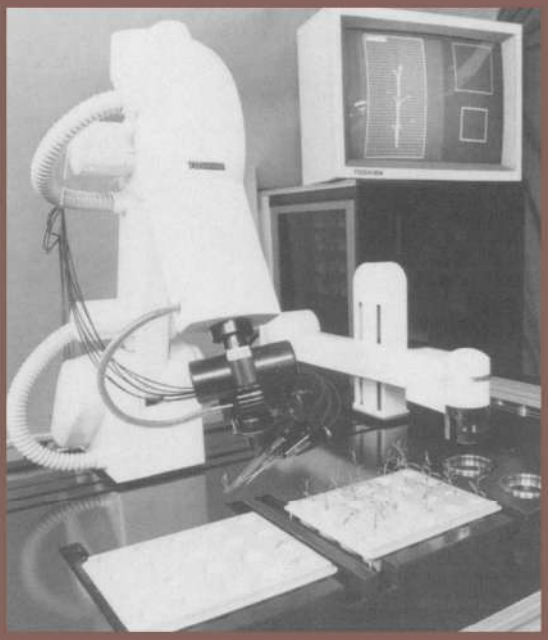
مقدمه

ریزازدیادی یک تکنیک کشت بافت برای تکثیر گیاهان یکسان ازنظر ژنتیکی (کلون) در شرایط این ویترو (in vitro) است. این روش به‌طور گسترده‌ای جهت تکثیر سریع و انبوه ژنوتیپهای مطلوب، تولید گیاهان باکیفیت بالا و عاری از بیماریها به‌خصوص عاری از ویروسها استفاده میشود. امروزه بسیاری از گیاهان در سراسر جهان از طریق کشت بافت تولید میشوند و ریزازدیادی به یک بخش ضروری در کشاورزی مدرن تبدیل‌شده است که جنبه‌های کاربردی زیادی در زراعت و باغبانی دارد. به دلیل افزایش تقاضا برای محصولات زراعی و باغی مانند انواع بریها، سیب‌زمینی و ارکیده، ریز ازدیادی روزبه‌روز محبوبیت بیشتری پیداکرده است. باوجود مزایای این روش، استفاده از آن نسبت به روشهای معمول گیاهافزایی در سطح تجاری با مشکلات متعددی ازجمله هزینههای بالای تولید، حجم کار بالا و نیاز به نیروی کار ماهر و آموزش‌دیده همراه است. ازاین‌رو فرآیند ریزازدیادی به کاندیدای مناسبی برای اتوماسیون تبدیل میشود.

مکانیزاسیون فرایند ریزازدیادی میتواند سهم عمدهای در غلبه بر محدودیتهای ناشی از روشهای معمول کشت بافت داشته باشد. روشهای رایج که بر اساس فعالیت آزمایشگاههای تحقیقاتی شکل‌گرفته‌اند شامل تعداد زیادی ظروف کشت کوچک و کاربرد محیطهای کشت مختلف برای کشت سلول، بافت و اندامهای گیاهی در شرایط استریل میباشند. در روش متداول، همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده‌شده است گیاهچه ها در ظروف پر از محیط رشد استریل حاوی مواد مغذی، قندها و تنظیم‌کننده‌های رشد لازم رشد میکنند. اپراتور در زیر یک هود لامینار (Laminar Hood)، گیاهچهها را یکی پس از دیگری از محیط رشد جدا میکند و آن‌ها را به دو یا سه قلمه کوچکتر برش میدهد. سپس آن‌ها را در ظروف جدید حاوی محیط تازه کاشته و در یک محیط کنترل‌شده نگهداری می‌کنند تا برای واکشت‌های بعدی آماده شوند [۱].

شکل ۱
ظروف کشت مورداستفاده جهت ذخیره‌سازی گیاهچه‌های کشت بافتی (روش متداول)

در دهه‌های اخیر، در آمریکای شمالی و اروپا، بخش عمده (تا ۸۰ درصد) هزینه کشت بافت گیاهان مربوط به نیروی کار بوده است [۲،۳]. هزینه نیروی کار هنوز هم یکی از هزینه‌های اصلی در صنعت کشت بافت در کشورهای توسعه‌یافته است [۴]). دومین عاملی که در هزینه بالا دخیل است، مصرف برق است. روشنایی قفسهها و تهویه اتاقکهای رشد، به میزان قابل‌توجهی (در حدود ۸۵٪) برق مصرف میکنند. بر این اساس توجه زیادی جهت اتوماسیون مراحل تکراری برش، جداسازی، واکشت و انتقال جوانهها، قلمهها یا گیاهچه‌ها در مراحل تکثیر و انتقال معطوف گشته است [۵]. علاوه بر کاهش هزینه نسبی نیروی کار، مزیت دیگر اتوماسیون فرآیند ریزازدیادی، کاهش خطر آلودگی است [۶–۸]. آلودگیهای باکتریایی و قارچی توسط تکنسینهای عملیاتی به‌عنوان یکی از جدیترین مشکلات کشت سلول و بافت گیاهی معرفی‌شده‌اند [۶،۹]. علاوه بر این، تولید سیستماتیکتر، منسجم‌تر و کنترل بهتر گیاهان را با اتوماسیونی کردن فرآیند ریزازدیادی میتوان به دست آورد. بااین‌حال، با توجه به اینکه گیاهان بسیار متنوع و متفاوت از یکدیگر هستند، توسعه یک فرآیند اتوماسیون عمومی برای همه گیاهان ازنظر فنی چالش‌برانگیز است همچنین انعطافپذیری حاصل از ترکیب چشم و دست انسان را نمیتوان به‌راحتی حتی توسط پیچیدهترین تکنولوژیها نظیر (vision manipulator-controller) به دست آورد.



شکل ۲
سیستم کشت بافت توشیبا جهت تکثیر گیاهان گره‌دار [۱۱]

از اواخر دهه ۱۹۸۰ تا اواسط دهه ۹۰ میلادی، تمایل زیادی در میان کشورهای مختلف (به‌ویژه ایالات‌متحده آمریکا، انگلستان، هلند، آلمان، ژاپن و استرالیا) جهت توسعه فناوری‌های اتوماسیون ریزازدیادی وجود داشت و محققان و شرکت‌های متعددی تلاش نمودند تا سیستم‌های اتوماسیون را برای تکثیر گیاهان از طریق کشت بافت توسعه دهند. برای مثال، چندین شرکت در ژاپن سیستم‌های اتوماسیون را در مجموعه کشت بافت خود پیاده‌سازی کردند [۱۰]. یکی از این شرکت‌ها، سیستم کشت بافت توشیبا را جهت تکثیر گیاهان گره‌دار طراحی نمود [۱۱]. این سیستم شامل دو ربات همکار بود: یک ربات حسگر و یک ربات برش. ربات حسگر موقعیت صحیح گیاه را با استفاده از پرتو لیزر حس می‌کرد و ربات برش مجهز به دو بازو بود که بازوی اول گیاهان را از سینی کشت برمی‌داشت و نگه می‌داشت و بازوی دوم مجهز به یک گیره پنس و قیچی مانند بود که گره‌ها را برش و سپس انتقال می‌داد (شکل ۲). گره‌ها زمانی شناسایی می‌شدند که قطر ساقه از یک مقدار از پیش تعیین‌شده تجاوز می‌کرد، یعنی جایی که شاخه‌ها از ساقه اصلی منشعب می‌شدند. نیروی گیرش با استفاده از فشارسنج‌های تعبیه‌شده بر روی گیره اندازه‌گیری می‌شد و به‌منظور دستیابی به فشار ملایمی که به گیاه آسیبی نرساند به موتور منتقل می‌شد. زمان لازم برای شناسایی، برش و پیوند یک گره، ۱۵ ثانیه بود.

گروه تحقیقاتی دیگری در ژاپن سیستم‌های رباتیک ادغام‌شده با دید سه‌بعدی را برای ریزازدیادی گیاهان توسعه دادند [۱۲]. دو سیستم رباتیک برای دو نوع مختلف از گیاهان توسعه داده شد و هر سیستم از سیستم‌های دید مجزایی برای هر یک از مراحل برش، تنظیم و کاشت استفاده می‌کرد. برخی از محققین اروپایی نیز سیستم‌های ریزازدیادی خودکاری را توسعه دادند که از برش لیزری به‌عنوان ابزار تشریح گیاهان استفاده می‌کرد [۱۳،۱۴].

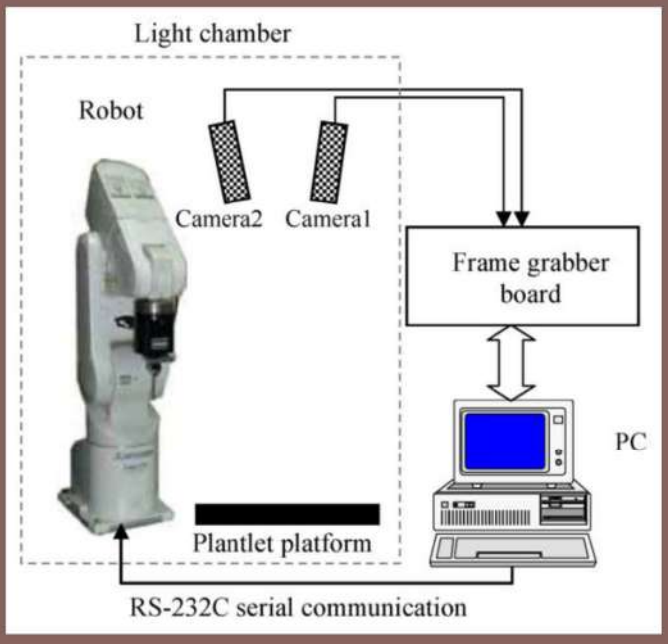
علاوه بر این، گروهی از محققین آلمانی سیستم ریزازدیادی خودکاری برای گراس‌ها (گندمیان) پیشنهاد کردند [۱۵]. این سیستم شامل سه ماژول بود که از طریق یک تسمه مونتاژ به هم وصل می‌شدند. گیاهانی که برای تکثیر استفاده می‌شدند از اتاقک کشت بیرون می‌آمدند و به ماژول اول می‌رسیدند و در آنجا این گیاهان توسط یک اندفکتور بیرون کشیده می‌شدند و بر روی یک پالت قرار می‌گرفتند. سپس پالت به ماژول دوم می‌رفت و در ماژول دوم توسط یک سیستم بینایی بررسی و ساقه‌ها با کاتر بریده می‌شدند. پس‌ازآن، پالت به ماژول سوم می‌رفت و در آنجا ساقه‌ها برداشته‌شده و در ظرف کشت جدید کشت می‌شدند.

گروه دیگری از محققان یک شرکت استرالیایی سیستم ریزازدیادی خودکاری برای گیاهان چوبی ایجاد کردند [۱۶]. این سیستم شامل سه محفظه بود و از نیروی پنوماتیک برای راه‌اندازی سیستم استفاده می‌شد. در محفظه اول، سینی‌های حاوی محیط کشت تازه و گیاهان بر روی سیستم بارگذاری می‌شدند سپس سینی ها به محفظه دوم منتقل شدند و در آنجا درپوش‌هایی که جهت پوشاندن سینی‌ها استفاده‌شده بود، برداشته می‌شدند و گیاهان توسط یک دوربین CCD بازرسی می‌شدند. سپس، گیاهان در همان محفظه برش یافته و ساقه‌های برش داده‌شده به محیط کشت تازه منتقل می‌شدند تا کاشته شوند. پس از پر شدن سینی، به محفظه سوم منتقل می‌شدند تا جمع‌آوری شوند.

در تایوان، گروهی تحقیقاتی، سیستمی را توسعه دادند که به نرخ موفقیت ۷۸,۲ درصدی درگرفتن قسمت‌های موردنظر گیاهان برای دستیابی به نرخ موفقیت بالاتر جهت آماده‌سازی ریز نمونه‌ها دست یافتند [۱۷].

در این سیستم از دو دوربین CCD برای ایجاد یک تصویر سه‌بعدی استفاده می شد تا مختصات و اطلاعات محل دقیق برش به بازوی ربات صنعتی منتقل شود (شکل ۳).

با پیشرفت فناوری اتوماسیون، روش‌های جدیدی توسعه‌یافته‌اند. این موارد شامل: استفاده از تکنیک‌های جایگزین مانند سیستم‌های کشت بافت اتوتروفیک (که در آن گیاهان در لوله‌های بزرگ و در محیط کنترل‌شده رشد می‌کنند) و سیستم‌های میکروپونیک (که در آن گیاهان در محلول مواد مغذی در مقیاس کوچک رشد می‌کنند) است. هزینه تولید برای اتوماسیون سیستم‌های اتوتروفی به دلیل تجهیزات موردنیاز برای کنترل شرایط کشت مطلوب بالا است. درحالی‌که سیستم‌های میکروپونیک برای کنترل محیط به چنین تجهیزاتی نیاز ندارند. اما در این سیستم فرآیند ریزازدیادی باید تحت شرایط استریل انجام شود. سیستم‌های مذکور به دلیل نیاز به زیرساخت نسبتاً بزرگ، طراحی برای یک روش خاص و پردازش و تشریح یک‌به‌یک گیاهچه‌ها کارایی پایینی دارند [۱۸] [۱۸]. اخیراً اتوماسیون سیستم‌های ریزازدیادی ازنظر فناوری بالغ‌تر شده‌اند [۱۹،۲۰]. برخی از شرکت‌ها، اتوماسیون را در مرحله کاشت پیاده‌سازی کرده‌اند اما در خودکارسازی مراحل برش و آماده‌سازی گیاهچه‌ها محدودیت‌هایی دارند. گروهی از محققین در چین سیستم ریزازدیادی خودکاری را برای برش و انتقال



شکل ۳
تصویر شماتیک از سیستم گرفتن گیاهچه [۱۷]

نشاء سیب‌زمینی پیشنهاد کردند [۱۸]. در این سیستم پیشنهادی از دو تسمه مونتاژ به ترتیب برای انتقال شیشه‌های محتوی گیاهچه‌ها و شیشه‌های پرشده با محیط‌های کشت استفاده می‌شد. در ورودی این سیستم، از یک بازوی رباتیک برای نگه‌داشتن شیشه‌های حاوی گیاهان و چرخاندن آن به جهت دلخواه استفاده می‌شد. سپس، بازوی مکانیکی این شیشه‌ها را معکوس کرده و به یک جمع کننده منتقل می‌کرد، که از آن برای جمع‌آوری تمام گیاهچه‌ها در یک بسته استفاده می‌شد همچنین از یک کاتر جهت بریدن گیاهان به شاخه‌های کوچک استفاده می‌شد. سپس ساقه‌های برش یافته به درون شیشه‌های خالی حمل شده توسط تسمه مونتاژ دیگر منتقل می‌شدند. بااین‌وجود، نرخ موفقیت خارج کردن گیاهان از شیشه در حدود ۸۵٫۶ و نرخ بقا ساقه‌هایی برش یافته در حدود ۹۰٫۶ بود؛ زیرا همه ساقه‌ها به‌درستی در محیط رشد قرار نمی‌گرفتند. عامل دیگر محدودکننده این سیستم این بود که برای دسته خاصی از گیاهان یا گونه‌های مختلف عملکرد مناسبی نداشت.

لی و همکارانش [۱]، سیستم جدیدی جهت اتوماسیون ریزازدیادی گیاه بلوبری پیشنهاد کردند. وجه تمایز این سیستم با سیستم‌های پیشین، طراحی منحصربه‌فرد ظروف کشت به‌منظور دسترسی آسان به گیاهچه‌ها و پردازش و تشریح دسته‌جمعی گیاهچه‌ها در وضعیت عمودی به‌جای برداشتن ساقه‌ها و پردازش یک‌به‌یک آن‌ها است. علاوه بر این، سیستم پیشنهادی می‌تواند در زیر یک هود جریان آرام برای اهداف استریلیزاسیون قرار گیرد، ابعاد آن کوچک، ساخت آن آسان و قابلیت تجاری‌سازی را دارد.

ما در مطالعه حاضر به بررسی طراحی، فرآیند و امکان‌سنجی سیستم خودکار ریز ازدیادی پیشنهادشده توسط لی و همکاران[۱]پرداخته‌ایم.

در کشت بافت، به‌طور متداول از شیشه‌های کشت، ظروف پلی‌پروپیلن قابل اتوکلاو یا پلی کربنات متداول استفاده می‌شود [۹]. تمام این ظروف بخصوص شیشه‌های کشت که در آزمایشگاه‌های کشت بافت گیاهی دانشگاهی مورداستفاده قرار می‌گیرند، یک مشکل مشترک دارند و آن این است که ممکن است به دلیل قرار گرفتن غیراصولی قلمه یا شاخه‌ها در درون ظروف گرد به‌راحتی درهم‌پیچیده شوند و این ممکن است منجر به تولید گیاهان غیریکنواخت و غیرنرمال شود. مشکل دیگر این است که به دلیل فضای خالی بین شیشه‌های مجاور، از فضای ذخیره‌سازی به‌درستی استفاده نمی‌شود.

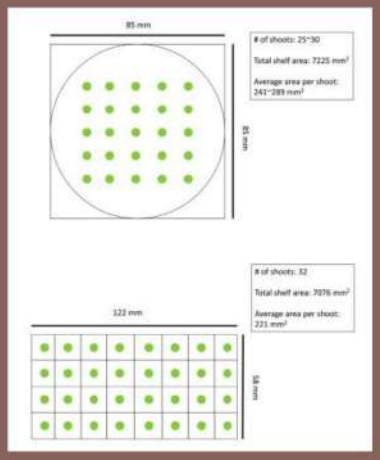
برخلاف روش ذخیره‌سازی سنتی (استفاده از شیشه‌های کشت، شکل ۱)، در این سیستم جهت ذخیره‌سازی از سینی‌هایی که بر روی یکدیگر قرار می‌گیرند، استفاده می‌شود. طرح اولیه این ظروف در شکل ۴ نشان داده‌شده است، در این سیستم از وکتور کشت جداشدنی که به‌اختصار DVV نامیده می‌شوند، استفاده می‌شود. این ظروف به‌راحتی پس از هر بار استفاده می‌توانند استریل شوند. هر ردیف از DVV از سایر ردیف‌ها و از محفظه جدا می‌شود و هر بخش (سلول) از DVV ازنظر ابعاد برای پذیرش یک گیاهچه منفرد بهینه‌شده است. با انجام این کار، دسترسی به گیاهچه‌ها افزایش‌یافته و سطح کاشت برای ذخیره‌سازی بهینه می‌شود. شکل ۵، مقایسه فضای ذخیره‌سازی بین شیشه‌های کشت فعلی و DVV های پیشنهادی را نشان می‌دهد. قطر هر شیشه حدود ۸۵ میلی‌متر است که به سطح قفسه ۷۲۲۵ میلی‌متر مربع نیاز دارد. هنگامی‌که چهار DVV باهم دسته‌بندی می شوند و با استفاده از یک پوشش شفاف (به ضخامت دیواره یک میلی‌متر) همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده‌شده است، فضایی به مساحت ۷۰۷۶ میلی‌متر مربع از سطح قفسه را اشغال می‌کنند. ابعاد داخلی هر سلول DVV، 10*10 میلی‌متر و ضخامت دیواره آن ۲ میلی‌متر است که برای جلوگیری از فرورفتگی و تاب برداشتن ناشی از قالب‌گیری تزریقی کافی است. این قطعات با موادی مانند پلی کربنات یا نایلون ساخته می

شوند که برای فرآیند اتوکلاو سازی با دمای بالا قبل از هر استفاده‌ای مناسب هستند.

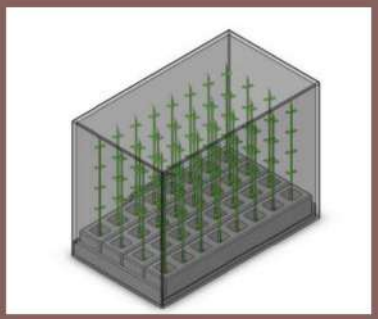
مشکل اساسی سیستم‌های قبلی این بود که بخش‌های گره باید توسط یک ربات برداشته می‌شدند و بنابراین نیاز به یک سیستم بینایی جهت تشخیص موقعیت و جهت ساقه روی میز کار یا تسمه‌نقاله بود. فرم رویشی بسیاری از گیاهان ازجمله گیاهان بلوبری به‌صورت ایستاده است، در سیستم ریزازدیادی جدید بدون نیاز به هیچ‌گونه سیستم بینایی، گیاهان به‌صورت عرضی تشریح می‌شوند، قلمه‌های جداشده به‌صورت ایستاده (عمودی) باقی می‌مانند و قبل از انتقال به DVV استریل در این موقعیت طبیعی خود نگه‌داشته می‌شوند. یکی از مزایای تشریح گیاهان درحالتی که در ظرف کشت قرار دارند این است که با حذف مرحله‌ای که گیاهان توسط یک بازوی مکانیکی برای تشریح خارج می‌شوند، زمان پردازش یا تشریح کاهش می‌یابد. در این سیستم، از یک مجموعه گیره و کاتر با طراحی خاص (شکل ۷)، به‌منظور نگه‌داشتن و جداسازی قلمه‌ها استفاده می‌شود. این مجموعه قابلیت تنظیم دارد، به این معنی که می‌توان سیستم را با تعویض مجموعه گیره و کاتر برای گونه‌های گیاهی با اندازه‌های مختلف استفاده نمود.

کاربرد گیره، نگه‌داشتن گیاهان در موقعیتی است که آماده تشریح شود. کاتر برای برش گیاهچه‌ها به قلمه‌ها یا شاخه‌های کوچک‌تر آماده کشت در DVV ها استفاده می‌شود. سومین مزیت سیستم ریزازدیادی پیشنهادی لی و همکاران [۱]، امکان تشریح دسته‌جمعی گیاهچه‌ها است. درصورتی‌که بتوان چندین گیاهچه را به‌طور هم‌زمان تشریح کرد، ریزازدیادی به‌طور قابل‌توجهی افزایش خواهد یافت. در سیستم پیشنهادی به دلیل طراحی جدید و منحصربه‌فرد ظروف کشت دسترسی آسان به گیاهچه‌ها امکان‌پذیر است – یعنی گیاهچه‌های DVV ها را می‌توان به‌طور هم‌زمان تشریح کرد. در این سیستم، ردیف سینی به‌گونه‌ای قرار می‌گیرند که بتوان قسمت فوقانی همه گیاهچه‌ها را به‌طور هم‌زمان تشریح کرد، و گیره تمام بخش‌های قلمه را نگه می‌دارد و آن‌ها را به‌یک‌باره به ظروف جدید منتقل می‌کند.

شکل ۴
ظروف کشت قابل جدا شدن

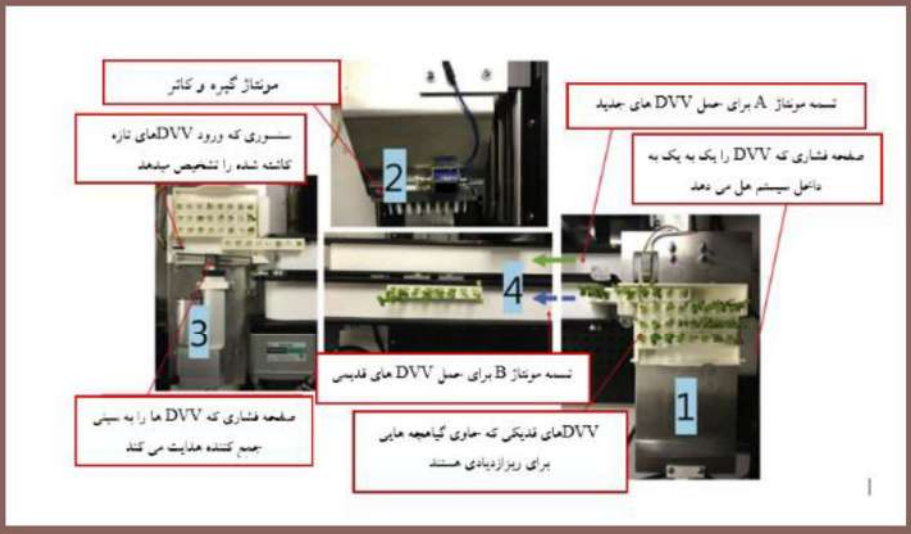


شکل ۵
مقایسه توزیع قلمه‌های بلوبری بین ظروف کشت رایج (بالا) و سیستم پیشنهادی (پایین))



شکل ۶
دیاگرام سه‌بعدی از آرایش چهار DVV محصورشده توسط یک پوشش شفاف استریل

شکل ۷
مجموعه گیر و کاتر)



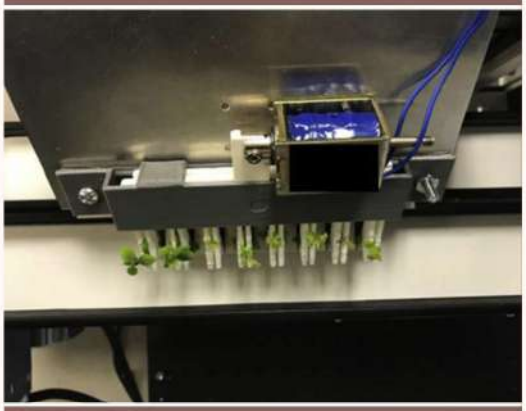
شکل ۸ – نمونه اولیه سیستم اتوماسیون ریز ازدیادی پیشنهادی (AMS) از نمای بالا: ۱) محفظه تغذیه، ۲) محفظه اصلی، ۳) محفظه جمع کننده، ۴) تسمه‌های مونتاژ.

سیستم و فرآیند اتوماسیون ریزازدیادی

سیستم اتوماسیون ریزازدیادی پیشنهادی توسط لی و همکاران در شکل ۸ نشان داده‌شده است. این سیستم از یک محفظه تغذیه (بخش ۱ در شکل ۸)، یک محفظه اصلی (بخش ۲ در شکل ۸) و یک محفظه جمع کننده (بخش ۳ در شکل ۸) تشکیل‌شده است. محفظه تغذیه جایی است که گیاهان مادری و DVV های خالی وارد آن می‌شوند. دو تسمه مونتاژ (بخش ۴ در شکل ۸) جهت انتقال و معرفی DVV حاوی گیاهچه و DVV های خالی به سیستم استفاده می‌شود. قبل از شروع فرآیند، DVV هایی که حاوی گیاهچه هستند توسط یک اپراتور انسانی روی سیستم بارگذاری می‌شود و از یک صفحه فشار به‌منظور فشار دادن DVV ها به اولین تسمه مونتاژ (تسمهB) استفاده می‌شود (همان‌طور که در شکل ۸ نشان داده‌شده است). اپراتور به‌صورت بصری ظروف کشت را بازرسی خواهد کرد و هر دسته‌ای که علائم آلودگی در آن‌ها دیده شود را حذف خواهد کرد.

از سوی دیگر، تسمه مونتاژ دوم (تسمه A) ظروف استریل حاوی محیط تازه‌وارد می‌کند و آن‌ها را در موقعیت موردنظر، موازی با ظروف حاوی گیاهچه قرار می‌دهد. برخی پارامترها، مانند طول گیاهچه و طول میانگره‌ها، قبل از شروع فرآیند اتوماسیون باید اندازه‌گیری شوند. این سیستم منطبق با انواع مختلفی از گیاهان طراحی‌شده است. در گیاهان مختلف، فاصله بین مریستم متفاوت است، و بنابراین طول قطعه‌بندی‌ها متفاوت خواهد بود.

یک پروفایل برش می‌تواند برای دسترسی آسان به پارامترهای موردنیاز برای مواقعی که ممکن است همان نوع گیاه در آینده پردازش و تشریح شود، ذخیره شود. در نبود سیستم بینایی، این پارامترها اهمیت پیدا می‌کنند، به‌عنوان‌مثال، طول قطعه‌بندی‌ها فواصل برش را مشخص می‌سازد تا اطمینان حاصل شود که حداقل یک مریستم در هر قطعه وجود دارد همچنین طول گیاهچه‌ها به‌منظور محاسبه تعداد برش‌های موردنیاز استفاده می شود. هنگامی‌که سینی‌ها در محفظه اصلی هستند،



شکل ۹

فعالیت مجموعه گیر و کاتر

فرآیند ریزازدیادی همان‌طور که در شکل ۹ نشان داده‌شده است، انجام می‌شود. در محفظه اصلی از سه استپر موتور استفاده می‌شود تا سه‌طبقه خطی را متناسب با آن حرکت دهند. یک طبقه خطی برای حرکت گیره وکاتر در جهات بالا و پایین استفاده می‌شود و دوطبقه خطی دیگر به ترتیب برای حرکت دادن گیره و کاتر به جهات جلو و عقب استفاده می‌شوند. دو سولنوئید جهت فعال‌سازی گیره و کاتر استفاده می‌شوند.

شکل ۹ گیره و کاتر را در حال کار نشان می‌دهد. گیره گیاهچه‌ها را در موقعیت خود نگه می‌دارد تا قلمه‌ها برای جداسازی و برش توسط کاتر آماده شوند. پس از اتمام فرآیند اتوماسیون، DVV هایی که در آن قلمه‌ها کاشته شده‌اند، توسط تسمه مونتاژ به محفظه جمع کننده منتقل می‌شوند. محفظه جمع کننده، همان‌طور که از نامش پیداست،DVV ها را جمع‌آوری کرده و آن‌ها را یکی پس از دیگری روی‌هم قرار می‌دهد. محفظه جمع‌کننده شامل یک پایه برای نصب سینی جمع کننده، یک صفحه فشار فعال‌شده توسط یک محرک خطی آماده حرکت و یک سنسور نور است که ورود DVV را تشخیص می‌دهد. هنگامی‌که سنسور نور توسط DVV های ورودی پوشش داده می‌شود، محرک خطی فعال می‌شود و DVV ها را به داخل سینی جمع کننده هل می‌دهد (شکل ۱۰).

امکان‌سنجی سیستم و فرآیند پیشنهادی

برای نشان دادن امکان‌سنجی سیستم و فرآیند پیشنهادی، آزمایش‌های پایلوتی توسط لی و همکاران در آزمایشگاه سیستم‌های بیومکاترونیک دانشگاه سیمون فریزر انجام شد. یک نوع گیاه بلوبری، "Biloxi" (در شکل ۱)، در این آزمایش‌ها استفاده شد. ارتفاع متوسط گیاهان Biloxi بین ۱٫۵ تا ۱٫۸ متر بود. قبل از اجرای هر آزمایش، دسته‌های این گیاهان از محفظه‌های نگهداری به DVV ها منتقل شدند. DVV ها با محیط کشت ژل‌مانند (تهیه‌شده با استفاده از Gellan Gum) پر شدند تا شاخه‌ها در موقعیت خود قرار گیرند. سیزده آزمایش پایلوت به‌منظور سنجش میزان موفقیت و کارایی سیستم برای گیاهان Biloxi انجام شد.

برای هر آزمایش، تعداد برش‌ها بین ۲ تا ۴ برش، متناسب با طول گیاهچه‌ها مشخص شد. DVVهای

شکل ۱۰

قلمه‌های تکثیرشده توسط سیستم اتوماسیون ریزازدیادی (AMS) دایره قرمز نمونه‌ای از قلمه با برش نامناسب را نشان می‌دهد.

خالی توسط اپراتور از طریق تسمه مونتاژ در سیستم بارگذاری شدند. تنها متغیر بین آزمایش‌ها تعداد برش‌های اجراشده روی گیاهچه‌ها بود. هدف از این آزمایش‌ها مشاهده عملکرد کلی، یعنی میزان موفقیت و کارایی دستگاه با افزایش تعداد برش‌های اجراشده بود. درمجموع از ۱۰۴ گیاهچه برای بررسی میزان موفقیت و بازده این سیستم استفاده شد که میزان موفقیت و کارایی دستگاه به ترتیب به شرح زیر تعریف می‌شوند.

$$\text{Success rate} = OS/OT[\%]$$

که در آن OS تعداد کل قلمه‌های با موفقیت کشت‌شده و OT تعداد کل قلمه‌های تشریح شده است.

$$\text{Efficiency} = OS/T\ [\text{shoots/hr}]$$

و T زمان لازم برای کاشت موفقیت‌آمیز قلمه‌ها توسط سیستم است. طبق تعریف، یک قلمه زمانی با موفقیت کاشته شود که در DVV بماند و حداقل بیش از یک بخش گره یا مریستم انتهایی ساقه داشته باشد. بدون بخش گره یا مریستم انتهایی، گیاه زنده نخواهد ماند.

نتایج نشان داد با افزایش تعداد برش‌ها، نرخ موفقیت به‌شدت کاهش یافت. که عمدتاً ناشی از ناهمترازی مواد کاشت بود. در طول اولین برش، گیاهچه‌ها کاملاً در یک راستا قرار می‌گرفتند و بنابراین، همه قلمه‌ها با موفقیت به DVV های جدید منتقل می‌شدند. اما، در برش‌های متوالی، برخی مسائل مانند نیروی ناکافی گیرش به دلیل سطح ناهموار گیره، لرزش ناشی از فعال و غیرفعال شدن سولنوئید و غیره سبب می‌شد تا قلمه‌ها خم شوند. درنتیجه، گیره نمی‌توانست برای برش‌های متوالی موفق با قلمه‌ها تماس برقرار کند. در کنار نرخ موفقیت، راندمان سیستم یکی دیگر از پارامترهای ارزیابی است که موردتوجه قرارگرفته است. بالاترین راندمانی که سیستم به دست آورد، ۷۱۱ قلمه در ساعت با نرخ موفقیت ۷۹,۹ درصد با تنظیمات ۳ برشه بود. تحقیقات نشان داده است که یک سیستم اتوماسیون ریزازدیادی زمانی قابلیت رقابت با روش دستی را خواهد داشت که میزان تولید آن حداقل ۲۵ درصد بیشتر از یک کارگر معمولی باشد [۲۱]، یعنی انتظار میرود سیستم خودکار با نرخ۸۰۰ قلمه در ساعت فعالیت کند. در این مطالعه، با افزودن یک سلول اضافی به DVV، سیستم به راندمان مطلوب خود یعنی ۸۰۰ قلمه در ساعت رسید. به‌منظور افزایش راندمان، یکی از راهکارها افزایش تعداد قلمه‌هایی که به‌طور موفق کشت می‌شوند و راه دیگر اصلاح الگوریتم و بهبود زمان پردازش و تشریح است.

نتیجه‌گیری

یک سیستم خودکار ریزازدیادی توسط لی و همکاران به‌منظور پاسخگویی به نیاز روزافزون گیاهان کشت‌شده در شرایط آزمایشگاهی در صنایع باغبانی و کشاورزی توسعه یافت. این سیستم با گیاهچه‌های بلوبری آزمایش شد و به نرخ تولید قابل‌مقایسه‌ای با میانگین نرخ تولید کارگران دستی دست یافت. در آینده می‌توان تغییراتی را به‌منظور بهبود بیشتر عملکرد سیستم پیاده‌سازی کرد. مشکل اصلی که باید به آن توجه شود، هم ترازی کشت است. همچنین به‌منظور نگه‌داشتن این گیاهان طی مراحل برش می‌توان از روش‌های مختلفی استفاده کرد، برای مثال می‌توان به‌جای استفاده از یک گیره دوانگشتی، از یک گیره سه انگشتی برای نزدیک شدن به گیاهان استفاده شود و گیاهان را در مرکز هر سلول در یک راستا نگه دارد. با حل مشکل هم ترازی، ممکن است که سیستم خودکار پیشنهادی سهم قابل‌توجهی در صنعت کشت بافت داشته باشد. علاوه بر این، با رویکرد پردازش دسته‌ای پیشنهادی با استفاده از DVV، خودکار کردن فرآیند ریزازدیادی به‌طور فزایندهای امیدوارکننده می‌شود.

منابع:

[۱] T. J. Lee, S. Zobayed, F. Firmani, E. J. Park, Biosyst. Eng. 2019, 181, 63.

[۲] A. Donnan, 1986, pp. 167–173.

[۳] W. C. Anderson, G. W. Meagher, A. G. Nelson, HortScience 1977, 12, 543.

[۴] B. S. Ahloowalia, V. A. Savangikar, Low cost options tissue Cult. Technol. Dev. Ctries. 2004, 41.

[۵] R. Levin, V. Gaba, B. Tal, S. Hirsch, D. DeNola, I. K. Vasil, Nat. Biotechnol. 1988, 6, 1035.

[۶] C. Leifert, A. C. Cassells, Vitr. Cell. Dev. Biol. - Plant 2001, 37, 133.

[۷] A. Ilan, E. Khayat, Acta Hortic. 1997, 643.

[۸] I. Chu, in Autom. Environ. Control Plant Tissue Cult., Springer Netherlands, Dordrecht, 1995, pp. 19–27.

[۹] S. M. A. Zobayed, F. Afreen, C. Kubota, T. Kozai, in Transpl. Prod. 21st Century, Springer Netherlands, Dordrecht, 2000, pp. 231–237.

[۱۰] K. Kurata, in Autom. Environ. Control Plant Tissue Cult., Springer Netherlands, Dordrecht, 1995, pp. 257–272.

[۱۱] N. Fujita, A. Kinase, in Scale-up Autom. Plant Propag., Elsevier, 1991, pp. 231–244.

[۱۲] S. Hata, T. Hiroyasu, J. Hayashi, S. Takahashi, H. Hojo, in 2006 Int. Conf. Mechatronics Autom., IEEE, 2006, pp. 916–921.

[۱۳] D. P. Holdgate, E. A. Zandvoort, in Transpl. Prod. Syst., Springer Netherlands, Dordrecht, 1992, pp. 297–311.

[۱۴] F. R. Brown, in Transpl. Prod. Syst., Springer Netherlands, Dordrecht, 1992, pp. 283–296.

[۱۵] C. Otte, J. Schwanke, P. F. Jensch, in Opt. Agric. For. Biol. Process. II (Eds.: G. E. Meyer, J. A. DeShazer), 1996, pp. 80–87.

[۱۶] P. J. Sobey, B. Harter, A. Hinsch, in Proc. Fourth Annu. Conf. Mechatronics Mach. Vis. Pract., IEEE Comput. Soc, 1997, pp. 60–65.

[۱۷] Y.-J. Huang, F.-F. Lee, Comput. Electron. Agric. 2010, 70, 42.

[۱۸] L. Yang, D. Zhang, H. Lai, L. Wang, in 2014 Montr. Quebec Canada July 13–July 16, 2014, American Society Of Agricultural And Biological Engineers, 2014, p. 1.

[۱۹] H. L. hua, M. Hanping, H. Jianping, X. Jingyun, Z. Z. and M. Guoxin, J. Trans. Chinese Soc. Agric. Eng. CSAE) 2015, 31, 17.

[۲۰] Z. Wei, H. Guo, Z. Liu, X. Zhang, Q. Liu, Y. Qian, Y. Gong, C. Shao, Free Radic. Biol. Med. 2015, 79, 1.

[۲۱] C. J. Sluis, in Plan Tissue Cult. Eng., Springer Netherlands, Dordrecht, 2008, pp. 231–251.