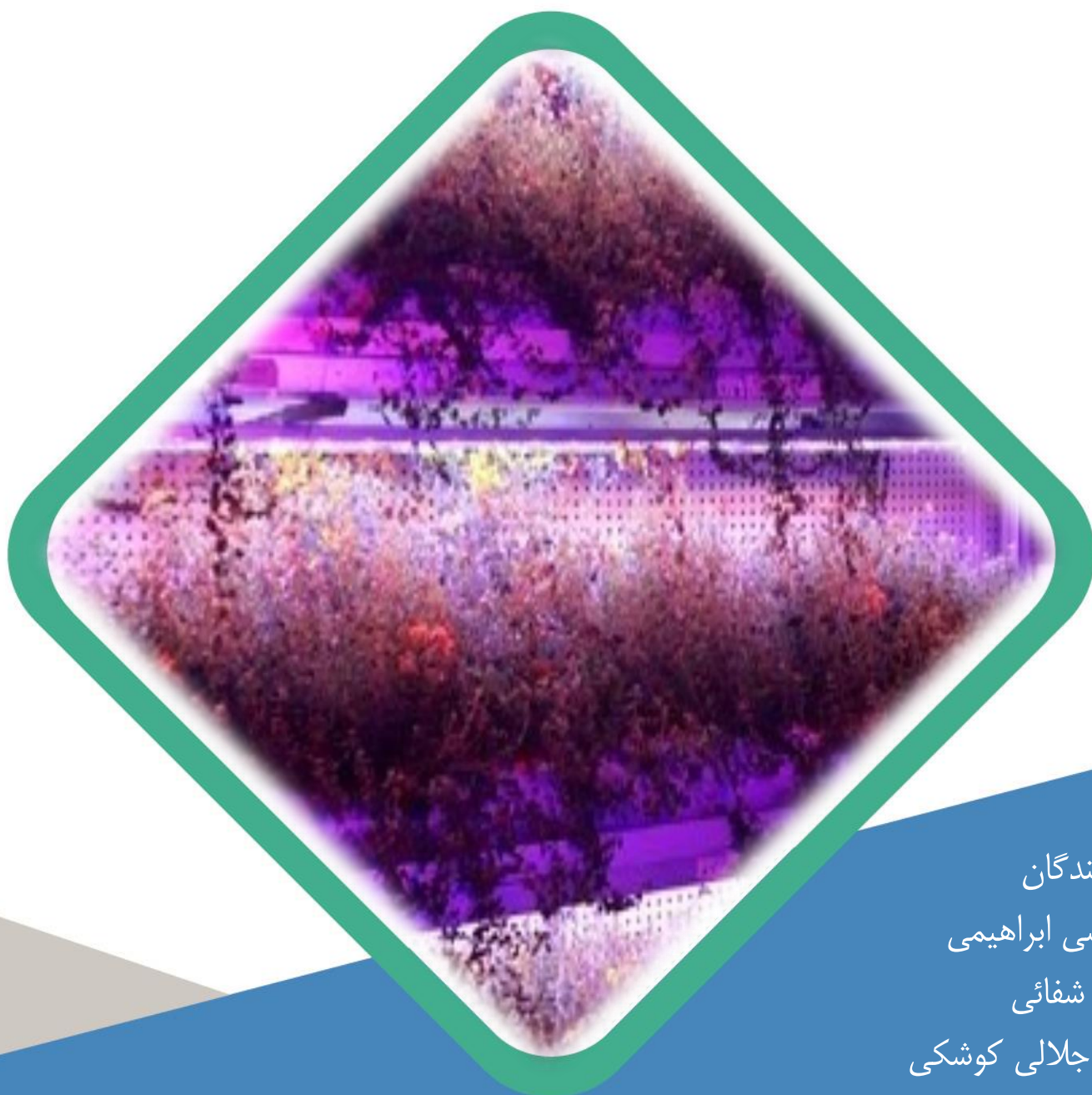


دستور العمل فنی

تولید اندام هوایی گل راعی (*Hypericum perforatum* L.)

حاوی هایپر سین و هایپر فورین در سیستم تولید گیاهی بسته

(Closed Plant Production System)



نویسندگان
مرتضی ابراهیمی
مژده شفائی
علی جلالی کوشکی

سید الشہداء علیہ السلام



نوع نشریه: دستورالعمل فنی

نام نشریه: تولید اندام هوایی گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) حاوی هایپرسیپین و هایپرفورین
درسیستم تولید گیاهی بسته (Closed Plant Production System)

نویسندگان: مرتضی ابراهیمی، مژده شفائی، علی جلالی کوشکی

ویراستار علمی:

ویراستاران ادبی:

تهیه شده در: سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی

شمارگان:

نوبت انتشار: اول

سال انتشار:

مسئولیت صحت مطالب با نویسندگان است



شماره ثبت در مرکز اطلاعات و مدرک علمی کشاورزی 68744 به تاریخ 1404/11/11 است



پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی

تولید اندام هوایی گل راعی
(*Hypericum perforatum* L.)
حاوی هایپر سین و هایپر فورین
در سیستم تولید گیاهی بسته
(Closed Plant Production System)

نویسندگان

مرتضی ابراهیمی

مژده شفائی

علی جلالی کوشکی

5.....	مقدمه
6.....	مواد و تجهیزات مورد نیاز
7.....	تهیه، آماده سازی و کاشت بذر
8.....	نگهداری بذور کشت شده و آماده سازی نشاء
9.....	ساخت سامانه کشت عمودی
13.....	ساخت محیط کشت
13.....	انتقال نشاء و تغذیه سیستم
14.....	نوردهی
15.....	نگهداری سامانه کشت عمودی
15.....	برداشت
18.....	برآورد اقتصادی
20.....	نتیجه گیری کلی
21.....	منابع

مقدمه

بر طبق اعلام سازمان جهانی بهداشت ۳/۴ (75 درصد) از مردم دنیا برای حفظ سلامتی خود از درمان‌های سنتی به ویژه گیاهان بهره می‌برند (Gilani and Rahman, 2005). استفاده از این گیاهان شفابخش روشی مؤثر، ایمن و تاحدودی کم هزینه در مقایسه با سایر روش‌های درمانی است. امروزه مشخص شده است که داروهای گیاهی به دلیل دارا بودن منشا طبیعی و همچنین نزدیکی و سازگاری با فیزیولوژی بدن انسان، در مقایسه با داروهای شیمیایی، خطرات و عوارض جانبی کمتری در پی دارند و این ویژگی یکی از دلایل اصلی رویکرد و تمایل مردم جهان به گیاهان دارویی و استفاده از آن‌ها در مقایسه با داروهای شیمیایی شده است. (Haq, 2004) از طرفی گیاهان دارویی از منابع بسیار ارزشمند در گستره وسیع منابع طبیعی ایران هستند که در صورت شناخت علمی، کشت، توسعه و بهره‌برداری صحیح و پایدار می‌توانند نقش مهمی در اشتغال زایی و صادرات غیر نفتی داشته باشند، به گونه‌ای که صادرات این گیاهان می‌تواند منبع بزرگی از درآمد برای کشور باشد (سفیدکن، ۱۴۰۰). از حدود ۸ الی ۱۰ هزار گونه گیاهی در کشور ۲۲۰۰ گونه از ۱۳۰ تیره از تیره‌های موجود و ۷۰۰ جنس جزو گیاهان دارویی و معطر هستند. از این تعداد حدود ۲۵ درصد آنها انحصاری ایران می‌باشند و به طور خاص ۱۹ تیره از آنها در ایران کشت می‌شود (سفیدکن، ۱۴۰۰).

گل‌راعی با نام علمی *Hypericum perforatum* L. و با نام انگلیسی St. John's wort گیاهی چند ساله و متعلق به خانواده *Hypericaceae* است. عصاره گل‌راعی معمولاً برای درمان افسردگی (Ng et al., 2017) و التهاب پوست (Bonaterra et al., 2015) استفاده می‌شود. علاوه بر این، عصاره این گیاه دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی مانند اثرات فوتودینامیکی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد تومور است. (Napoli et al., 2018; De-Morais et al., 2020). پتانسیل درمانی این گیاه به طور عمده مربوط به سه متابولیت ثانویه مهم از جمله هایپرپرسین، سودوهایپرپرسین و هایپرپورین می‌باشد. (Crockett, 2010) هایپرپرسین‌ها، نفتو-دی-اترون‌هایی هستند که در غدد با رنگ تیره تجمع می‌یابند و هایپرپورین‌ها از دسته فلروگلوکوسینول‌ها در غدد شفاف توزیع می‌شوند (Zobayed et al., 2005; Hölscher et al., 2009; Crockett, 2010). اگرچه غدد تیره و شفاف در برگ‌ها فراوان و قابل مشاهده هستند، اما محل اصلی تجمع ترکیبات فعال زیستی گل‌ها هستند و میزان/مقدار این ترکیبات در گل‌ها ۵ تا ۱۰ برابر برگ‌ها است (Zobayed et al., 2005; Kladar et al., 2017). فرآیندهای ژنتیکی مربوط به بیوسنتز ترکیبات فعال در گیاهان دارویی به طور قابل توجهی تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما، نور و رطوبت نسبی قرار می‌گیرد. شرایط مختلف محیطی باعث تغییر در کیفیت و کمیت ترکیبات زیست-فعال گیاهان دارویی می‌شود. امروزه در سطوح تجاری کشت و تولید گل‌راعی در مزرعه رایج می‌باشد. بسیاری از گزارش‌ها نشان می‌دهند که محتوای هایپرپرسین و سودوهایپرپرسین در اندام‌های گیاه به شدت تحت تأثیر شدت نور، کیفیت و دوره نوری تغییر می‌کند. (Brechtner et al., 2007; Odabas et al., 2009). همچنین، میزان متابولیت‌های دارویی می‌تواند با هجوم عوامل بیماری‌زا، حشرات و آلاینده‌های محیطی تغییر نماید. (Murch et al., 2006). طبق بررسی‌های صورت گرفته میزان هایپرپرسین و سودوهایپرپرسین در برگ‌های گل‌راعی رشد یافته در فصل تابستان افزایش می‌یابد و نسبت به گیاهان رشد کرده در زمستان تا ۵۰ برابر با هم متفاوت است. (Southwell and Bourke, 2001) گاهی این تغییرات در میزان متابولیت‌ها منجر به مسمومیت مصرف کنندگان می‌شود. بنابراین برای اطمینان از ایمنی، کارایی و اثرگذاری این گیاه دارویی، کشت در شرایط کنترل شده ضروری است (Zobayed et al., 2005; Mosaleeyanon et al., 2005).

کشت گیاهان در محیط کنترل شده منجر به تولید محصولات یکنواخت و عاری از عوامل بیماری‌زا با عملکرد بالا و دوره رشد کوتاه در طول سال می‌شود (Heo et al., 2013) و می‌تواند به عنوان روشی کارآمد و جایگزین برای تولید محصول با کیفیت بالا و پایدار در نظر گرفته شده و امکان استفاده از محرک‌ها را برای القاء مسیرهای متابولیکی ترکیبات مورد نیاز فراهم کند (Kozai, 2013; Goto et al., 2012; Joshi et al., 2017). منبع نور مصنوعی یکی از اجزای مهم در سیستم‌های تولید انبوه گیاهی است. پدیده‌هایی مانند رشد، مورفوتز و تمایز گیاهان، با کیفیت، شدت و مدت زمان نور کنترل می‌شود (Bian et al., 2015). کیفیت نور بر عملکرد فتوسنتز (Kitazaki et al., 2018) و گلدهی (Liao et al., 2014) و همچنین بر فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند تولید متابولیت‌های ثانویه تأثیر قابل توجهی دارد. (Batista et al., 2018) طول موج‌های قرمز و آبی معمولاً تأثیر بسزایی در توسعه گیاه و ظرفیت فتوسنتزی آن دارند و این پاسخ‌ها با توجه به گونه‌های گیاهی متفاوت است (Kasajima et al., 2008). ویژگی‌هایی مانند افزایش طول ساقه، عملکرد فتوسنتز، گسترش برگ و محتوای کلروفیل تحت تأثیر نور قرمز قرار می‌گیرد (Rabara et al., 2017; Szopa et al., 2018)، در حالی که نور آبی بر رشد و باز شدن روزنه، گسترش و آناتومی برگ

و بیوستز متابولیت‌های ثانویه (Hogewoning et al., 2010; Jensen et al., 2018) تاثیرگذار است. نتایج آزمایش‌های متعدد نشان می‌دهد که نور قرمز و آبی تک رنگ نمی‌تواند نیازهای نوری گیاه را برآورده کند (Hernández and Kubota, 2015; Kim et al., 2020). وقوع سندرم "کمبود طیفی"، که به معنی عملکرد فتوسنتزی غیر طبیعی است که در گیاهان رشد یافته در زیر نور قرمز تک رنگ مشاهده می‌شود، می‌تواند عاملی برای کاهش رشد گیاه باشد (Trouwborst et al., 2016). بنابراین، علاوه بر نورهای تک رنگ قرمز و آبی، می‌توان تأثیر ترکیب این دو طول موج بر گونه‌های مختلف را نیز مورد مطالعه قرار داد (Kim et al., 2020).

از طرفی در کشاورزی مدرن کنونی، کنترل کاملی بر تمامی عناصر و پارامترهای تولید وجود دارد، مانند کوددهی مناسب که یکی از ضروریات بهبود عملکرد و کیفیت محصولات است (Li et al., 2014; Zhou et al., 2019). استفاده بی‌رویه و بیش از حد از کودها باعث آلودگی خاک و آب و بروز ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی گیاهان می‌شود (Wang et al., 2016). بنابراین، بهبود کارایی استفاده از مواد مغذی برای حفاظت از محیط زیست و افزایش بهره‌وری محصول ضروری است (Li et al., 2018). در مجموع در زراعت گل راعی عوامل مختلفی درگیر هستند که در کمیت و کیفیت تولید تاثیر گذارند و میزان ماده موثره در ارتباط با آنها تغییرات چشم‌گیری دارد. به علاوه استفاده از سموم و باقی مانده آن در محصول برداشت شده و نیز مشکل انبارداری و تجزیه مواد موثره هایپرسیسین و هایپرفورین، تولید دارو بر پایه این مواد را در شرکت‌های داروسازی با مشکل مواجه ساخته است. بنابراین با توجه به مزایای موجود و مشکلات متعدد تولید این گیاه در مزرعه، تولید در سیستم بسته می‌تواند به عنوان یک ضرورت در نظر گرفته شود. این دستورالعمل، روش تولید گل راعی در سیستم بسته را مرحله به مرحله توضیح می‌دهد.

مواد و تجهیزات مورد نیاز

تجهیزات مورد نیاز برای کشت گل راعی در یک سازه کشت عمودی در سیستم بسته در سه طبقه با طول 2 متر و عرض 60 سانتی متر (به شرح جداول 1، 2 و 3 می‌باشد. این سازه با چهار لوله پلی اتیلنی سایز 90 میلی‌متر در هر طبقه پیش بینی شده است.

جدول 1: فهرست مواد و تجهیزات مورد نیاز جهت تهیه مواد گیاهی

ردیف	مواد و تجهیزات مورد نیاز جهت تهیه مواد گیاهی
1	قارچکش مانکوزب (2/)
2	بذر گل راعی
3	محلول 0/5٪ هیپوکلریت سدیم
4	Tween-20
5	توری با مش 250 میکرومتر
6	سینی نشاء 105 خانه ای
7	پرلیت بافت ریز
8	کوکوپیت
9	محلول H_2O_2
10	آب پاش

جدول 2: فهرست مواد و تجهیزات مورد نیاز جهت ساخت سازه کشت طبقاتی سه طبقه با طول 2 متر و عرض 60 سانتی کشت طبقاتی در

سیستم بسته

ردیف	تجهیزات مورد نیاز ساخت سازه کشت طبقاتی
1	لوله پلی اتیلنی 90 میلی‌متری
2	صفحه کورکن ابتدا و انتهای لوله (درپوش)
3	شیلنگ آبیاری 15 میلی‌متری
4	شیر قطع و وصل آبیاری قطره‌ای
5	پمپ هوای آکواریومی

پمپ آب	6
بست	7
پرو فیل 4×4	8
لامپ ال ای دی (LED) طول موج 660 نانومتر	9
لامپ ال ای دی سفید	10
ترانس 12 ولت 30 آمپر (مبدل AC به DC)	11
سوسک گیر	12
فوم پلی اورتان	13
مخزن 20 لیتری پلی پروپیلنی تیره	14
pH متر	15
EC متر	16
تایمر	17

جدول 3: فهرست مواد شیمیایی مورد نیاز برای ساخت محلول تغذیه

ردیف	مواد شیمیایی مورد نیاز برای ساخت محلول تغذیه
1	KNO ₃
2	NH ₄ NO ₃
3	KH ₂ PO ₄
4	K ₂ HPO ₄
5	MgSO ₄
6	NaCl
7	Ca (NO ₃) ₂ .2H ₂ O
8	MnSO ₄ .H ₂ O
9	ZnSO ₄
10	CuSO ₄ .5H ₂ O
11	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O
12	FeSO ₄ .7H ₂ O
13	Na ₂ EDTA
14	H ₃ BO ₃
15	آب مقطر
16	BAP (6-Benzylaminopurine)

تهیه، آماده سازی و کاشت بذر

بذر گل راعی به مدت 10 دقیقه با آب شهری شستشو شود. تعداد بذر بر اساس درصد سبز شدن و تعداد گیاهچه مورد نیاز برای کاشت در سیستم تهیه گردد. درصد سبز شدن به کیفیت بذر از نظر رقم و ماندگاری در انبار مرتبط است. بذور شسته شده در مرحله بعد با محلول هیپوکلریت سدیم ضدعفونی سطحی شود. بدین منظور ابتدا 200 میلی لیتر محلول هیپوکلریت سدیم 0/5٪ حاوی یک قطره تئوین 20 تهیه شود. بذور در این محلول به مدت 10 دقیقه ضدعفونی سطحی شود. این کار با قرار دادن ظرف حاوی بذر و محلول ضدعفونی، بر روی شیکر با سرعت چرخش 150 دور بر دقیقه انجام گیرد. پس از گذشته 10 دقیقه، بذور از محلول ضدعفونی جدا شده و با استفاده از آب مقطر استریل سه مرتبه شستشو شود (شکل 1). بذور شسته شده در سینی کشت 105 خانه، حاوی مخلوط کوکوپیت 3: پرلیت ریز 1 به عنوان بستر، کشت گردد (شکل 2). برای این سیستم به تعداد 180 عدد گیاهچه نیاز هست. بنابراین تنها 2 سینی نشاء حاوی تعداد کافی نشاء می باشد.



شکل 1: ضدعفونی سطحی بذور گل راعی



شکل 2: آماده سازی بسترکشت بذور و کشت بذور گل راعی

نگهداری بذور کشت شده و آماده سازی نشاء

سینی‌های کشت شده به ژرمیناتور انتقال داده شود. دمای نگهداری به ترتیب 25 درجه سانتی‌گراد برای روز و 22 درجه سانتی‌گراد برای شب تنظیم گردد. رطوبت نسبی ژرمیناتور 75٪ و شدت نور 50 میکرومول بر متر مربع بر ثانیه با نور سفید و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی تنظیم شود (شکل 3).



شکل 3: الف) نشاهای کشت شده درون ژرمیناتور، ب) نشاهای رشد یافته و آماده انتقال به سیستم کشت عمودی

اولین آبیاری با استفاده از آب مقطر و پس از جوانه زنی به صورت هفتگی با استفاده از محلول غذایی حاوی 2 گرم بر لیتر از کود 20:20:20 حاوی نسبت مساوی از سه عنصر ازت:فسفر:پتاسیم (N:P:K) به همراه عناصر کم مصرف صورت گیرد. این کودها به صورت تجاری (20:20:20+TE) توسط شرکت های مختلف تهیه و آماده فروش در بازار در دسترس هستند.

بعد از رشد گیاهان در سینی نشاء، گیاهچه‌ها را برای آماده سازی آنها جهت کشت در سیستم هیدروپونیک، از سینی نشاء خارج نمایید. سپس به آرامی پیت ماس را از اطراف ریشه‌ها جدا نموده و در نهایت ریشه را داخل آب به آرامی تکان دهید تا بقایای پیت

ماس از اطراف ریشه شسته شود. بعد از آن گیاه را به مدت 20 دقیقه در تشت حاوی قارچکش مانکوزب (2٪) قرار دهید (شکل 4 - الف). در ادامه گیاهچه‌ها را از محل طوقه در وسط یک تکه اسفنج و در نهایت داخل سبد پلاستیکی (توری سوسک گیر) و درون حفره‌های تعبیه شده قرار دهید (شکل 4 - ب).

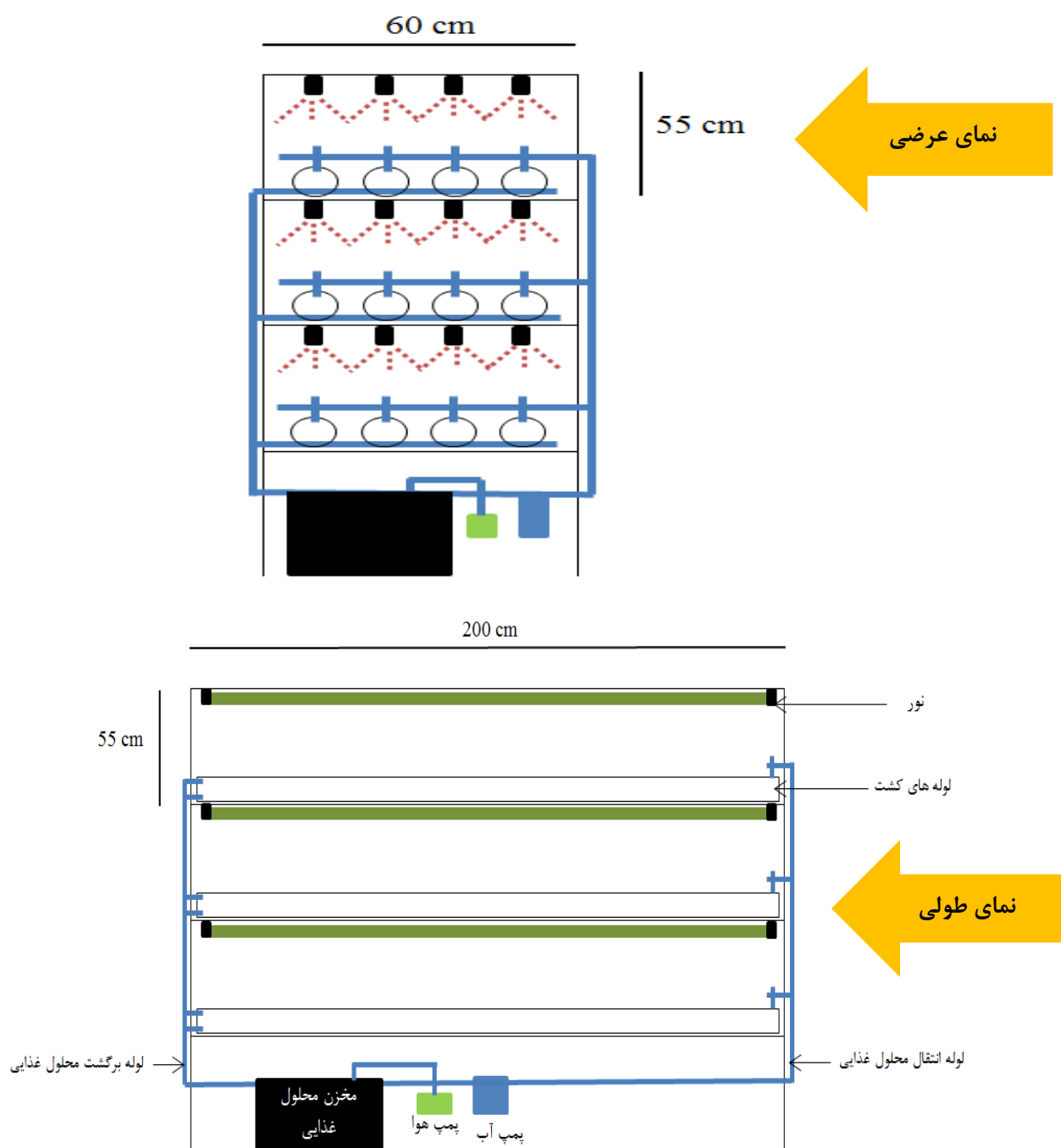


شکل 4: الف - شستشوی بقایای پیت‌ماس و نگهداری در محلول حاوی قارچکش مانکوزب 2٪ و ب - آماده سازی گیاهچه‌ها با انتقال به سوسک‌گیر

ساخت سامانه کشت عمودی

سیستم تغذیه مورد استفاده در این تحقیق، شامل یک سیستم کشت بدون خاک سه طبقه و به طول 2 متر با سیستم فیلم تغذیه یا (Nutrient film technique) NFT (Howard, 2017) است (شکل 5). در این سیستم جریان مواد غذایی از یک سمت وارد شده و از سمت دیگر کاملاً تخلیه می‌گردد. در این سیستم از لوله‌های پلی اتیلنی به قطر 90 میلی متر استفاده می‌شود. جزییات ابعاد سیستم در شکل 5 نشان داده شده است.

ابتدا تمامی لوله‌ها و ملزومات با محلول هیپوکلریت سدیم 1٪ ضدعفونی شوند. بدین منظور با رقیق سازی محلول‌های سفید کننده تجاری موجود در بازار حاوی هیپوکلریت سدیم 5٪ با نسبت اختلاط 20 لیتر محلول سفید کننده تجاری با 80 لیتر آب استفاده نمایید. بر روی این لوله‌ها حفره‌هایی به قطر ۴۵ میلی متر با فواصل یکسان 15 سانتی متر ایجاد شود. دو طرف این لوله‌ها با استفاده از درپوش مسدود و در ابتدا و انتهای این لوله‌ها منفذی برای ورود و خروج محلول غذایی در نظر گرفته می‌شود (شکل 6). از یک ظرف ۲۰ لیتری پس از ضد عفونی کردن در کنار این لوله‌ها به عنوان مخزن محلول غذایی استفاده می‌شود.



شکل 5: نمای شماتیک (شکل بالا: نمای عرضی و شکل پایین: نمای طولی) از سیستم کشت عمودی با سه طبقه کشت با تغذیه هیدروپونیک و یک مخزن 60 لیتری. این مخزن می تواند به سه مخزن مجزای 20 لیتری برای هر طبقه تقسیم گردد.



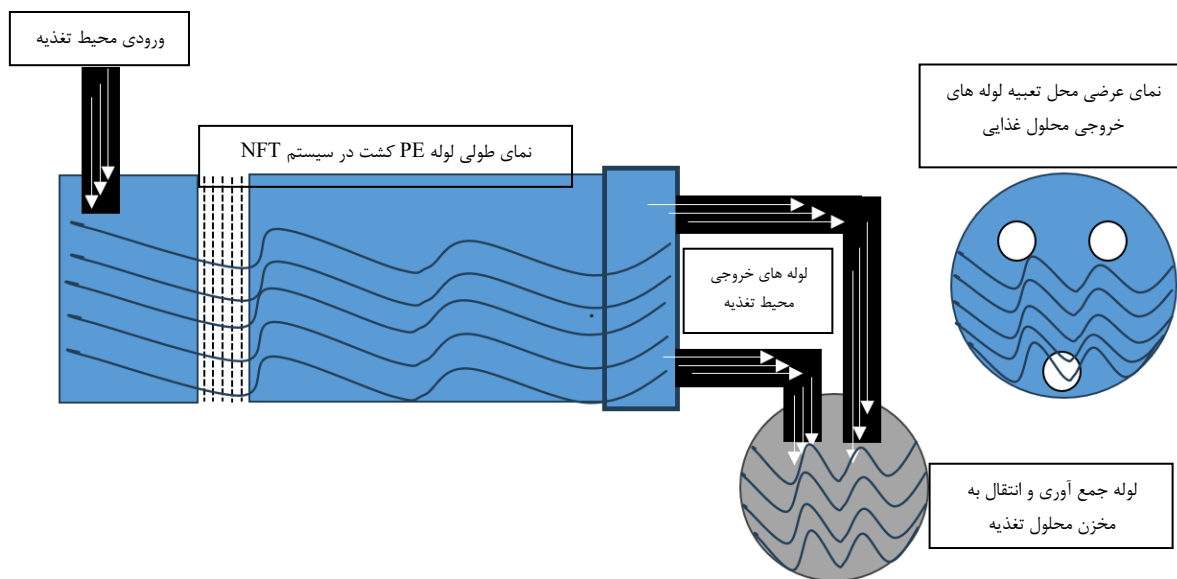
شکل 6: نمایی از چیدمان لوله‌های کشت و نمایی از مخزن محیط کشت برای تغذیه گیاهچه‌ها و کشت نشاء در لوله‌های پلی اتیلنی

از این مخزن یک لوله متصل به پمپ آب که در داخل مخزن قرار داده شده است خارج می‌شود. پمپ مورد استفاده در این سیستم برای هر طبقه از نوع آکوآتک AQ203 (مشخصات فنی: ولتاژ: ۲۲۰ - ۲۴۰ ولت، فرکانس: ۵۰ - ۶۰ هرتز، توان مصرفی: ۱۲ وات، واتر پمپ آکوآتک AQ203، قدرت پمپاژ آب: ۶۰۰ لیتر در ساعت، حداکثر ارتفاع پمپاژ آب (H. MAX): ۱ متر) ساخت کشور چین می‌باشد (شکل ۷).

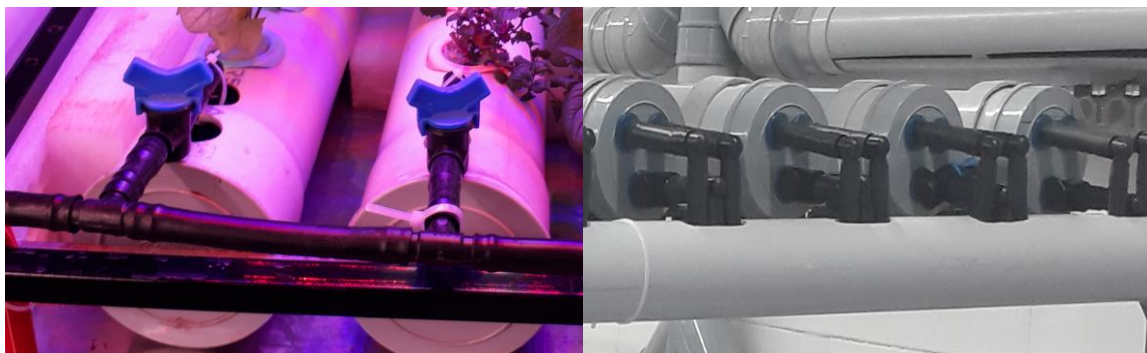


شکل ۷: نمونه پمپ آکواریومی آکوآتک AQ203 مورد استفاده در مخزن محیط تغذیه.

طرف دیگر پمپ به یک لوله پلی اتیلنی که در ادامه به دو شاخه منشعب می‌شود، وصل می‌گردد و هر کدام از این انشعابات به یک شیر متصل و درون منفذ ورودی محلول غذایی نصب گردد. برای پمپاژ کردن محلول غذایی به داخل لوله‌ها، یک عدد سوئیچ تایمردار که با فواصل زمانی موجب روشن شدن سیستم و انتقال محلول غذایی از مخزن به لوله‌ها می‌شود، استفاده گردد. فواصل تغذیه و خاموشی بر اساس رژیمی که در ادامه توضیح داده شده است، تنظیم گردد. در طرف دیگر لوله‌های اصلی دو خروجی در نظر گرفته شود که هر کدام با لوله پلی اتیلنی به مخزن وصل می‌شوند (شکل ۸ و شکل ۹).



شکل 8: نمای شماتیک نصب دریچه های ورودی محلول غذایی و خروجی جهت تخلیه کامل و سرریز محلول غذایی



شکل 9: نمای واقعی از دریچه های ورودی محلول غذایی (سمت چپ) و خروجی محلول با سه منفذ تخلیه (سمت راست)

خروجی پایینی برای تخلیه کامل محلول و خروجی بالایی به عنوان سرریز در نظر گرفته شود. در کنار این سیستم یک پمپ هوا نیز قرار داده شود. با استفاده از لوله های مخصوص هوادهی و اسپارژر¹، هوادهی همزمان با محلول تغذیه در داخل لوله ها انجام شود. پمپ های هوای مورد استفاده از نوع پمپ ساده آکواریومی می باشد. ابتدا لوله ها با آب پر شده و پمپ آب ورودی هوا و گردش محلول غذایی با توجه به سطح آب و شیر ورودی محلول غذایی تنظیم شود. همزمان در مخزن تغذیه از H_2O_2 به غلظت 100 ppm استفاده شود. این کار سبب ضد عفونی تکمیلی تمام مسیرهای ورودی و خروجی محلول های غذایی خواهد شد. یک روز کامل اجازه دهید تا گردش آب ادامه داشته باشد تا از کارکرد صحیح سیستم و ضد عفونی مسیرها اطمینان حاصل شود. سپس آب مورد استفاده در مخزن تخلیه شود. در این سیستم برای کاشت گیاهان از هیچ ماده ای به عنوان بستر استفاده نمی شود و فقط یک تکه اسفنج به عنوان تکیه گاه به کار می رود. برای این سیستم سبدهای پلاستیکی هم قطر منافذ ایجاد شده روی لوله ها استفاده شود و بعد از قطع

¹ Sparger

انتهای این سبدها، در داخل حفره‌های ایجاد شده قرار داده می شوند. تمامی سبدها و اسفنج های مورد استفاده قبل از شروع کار با هیپوکلریت سدیم ۵/۰ درصد (آب ژاول ۱۰ درصد) ضدعفونی شوند.

ساخت محیط کشت

پس از ساخت سامانه فوق، نسبت به آماده سازی مواد غذایی اقدام شود. فرمول غذایی مورد استفاده در این آزمایش، بر طبق فرمول پیشنهادی Briskin و همکاران (۲۰۰۱) نوشته شده است.

- مواد غذایی مطابق با جداول ۴ و ۵ محاسبه و توزین شود.
- بعد از حل شدن هر یک از ترکیبات محلول به حجم رسانده شود.
- در نهایت pH محلول غذایی روی عدد ۶ تنظیم شود. در این محلول EC حدود ۲ می باشد.
- محلول غذایی هر ۱۰ روز یکبار تعویض گردد.

جدول ۴: فرمول غذایی عناصر پر مصرف

Macro 1X	mg/l
KNO ₃	252.5
Ca(NO ₃) ₂	123
NH ₄ NO ₃	40
KH ₂ PO ₄	108.8
K ₂ HPO ₄	52.2
MgSO ₄	92.3
NaCl	11.7

جدول ۵: فرمول غذایی عناصر کم مصرف

نام ترکیب	mg/l
H ₃ BO ₄	2.86
MnSO ₄	0.34
ZnSO ₄	0.5
CuSO ₄	0.08
Na ₂ MoO ₄	0.04
FeSO ₄	27.8
Na ₂ EDTA	37.3

انتقال نشاء و تغذیه سیستم

- بعد از آماده شدن سازه و محلول تغذیه، گیاهچه‌ها (شکل ۱۰) به سیستم منتقل شده و جریان ورود محلول غذایی به سیستم به کمک شیر ورودی، تایمر و پمپ تنظیم شود. گیاهچه‌ها در این مرحله به وزن حدود ۲۵۰ الی ۵۰۰ میلی گرم رسیده اند.



شکل 10 - نشاء گل راعی آماده جهت انتقال به کشت هیدروپونیک در سیستم بسته

- به ازای هر 15 دقیقه تزریق محلول غذایی، 5 دقیقه توقف در نظر گرفته شود.
- همزمان با تغذیه، تزریق هوا نیز توسط شیلنگ های منفذ دار در کف لوله پلی اتیلنی حاوی محلول تغذیه انجام شود.
- از هفته سوم الی هفته چهارم در سه مرحله نسبت به محلول پاشی گیاهان با محلول BAP با غلظت 1 میلی گرم بر لیتر اقدام شود.

نوردهی

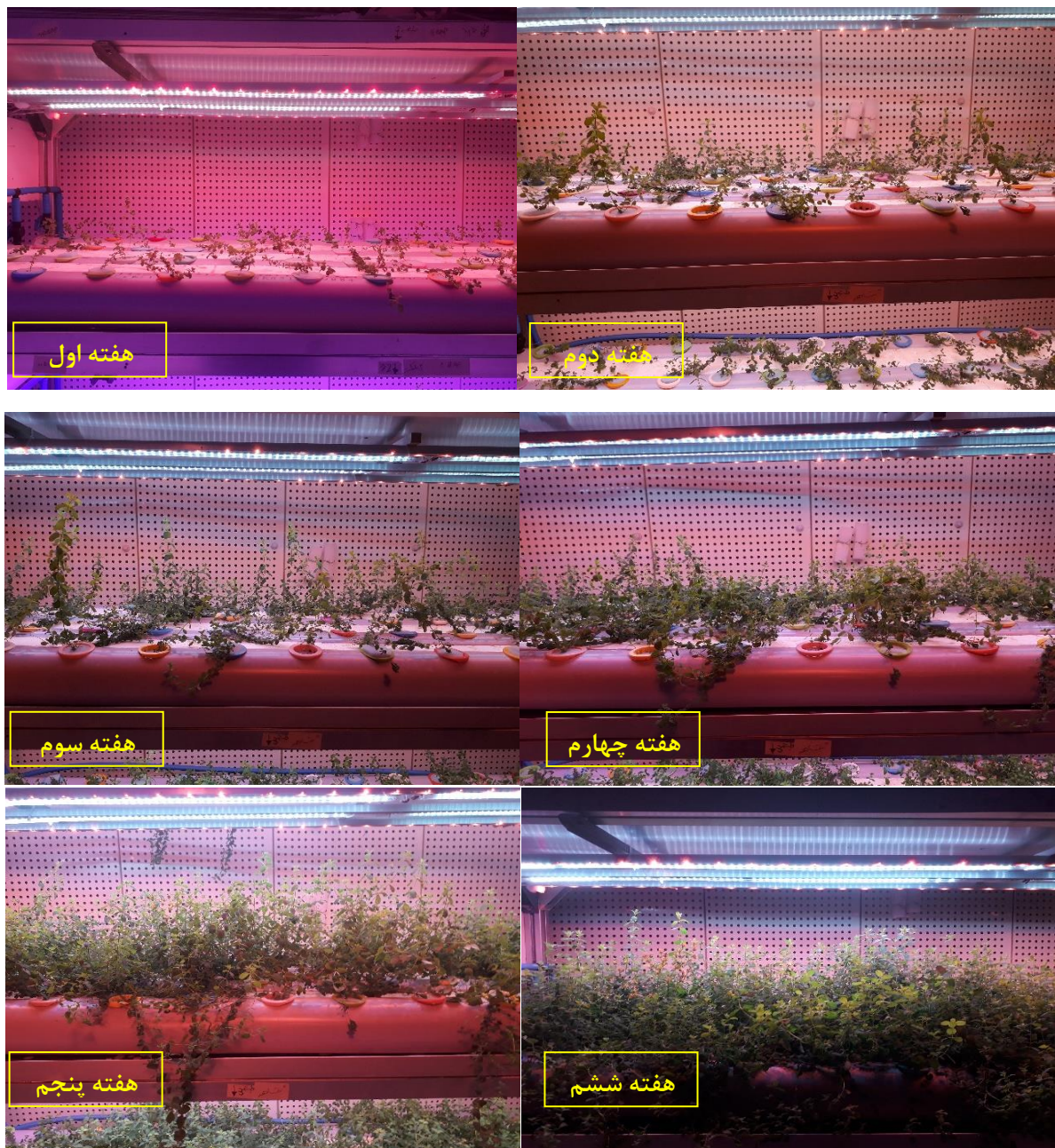
- گیاهچه های آماده شده، تحت تابش نور قرار گیرند.
- بدین منظور از لامپ های LED مدل Lumilux ساخت کشور آلمان استفاده شود.
- نور ترکیبی شامل طیف نور قرمز (R:660 nm) + آبی (B:450 nm) و سفید (W) به نسبت R2:B1:W2 و شدت آن روی ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه تنظیم شود.
- این ترکیب نوری برای مدت دو هفته اعمال می گردد.
- از هفته سوم به بعد از طیف نور قرمز (660 nm) با شدت ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه جهت تامین نور استفاده شود. ترکیب این نور با نور سفید نیز می تواند نتیجه خوبی ایجاد کند.
- دیگر شرایط محیطی در اتاقک رشد (فیتوترون) به صورت زیر باشد:
 - ✓ دمای روزانه در ۱۶ ساعت روشنایی 25 ± 1 درجه سانتی گراد، دمای شبانه در ۸ ساعت تاریکی 20 ± 1 درجه سانتی گراد،
 - ✓ رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد
 - ✓ میزان دی اکسید کربن 600 ± 50 میکرومول (با استفاده از دستگاه کیفیت سنج هوا مدل AQ-9901SD ساخت شرکت Lutron، کشور تایوان).

نگهداری سامانه کشت عمودی

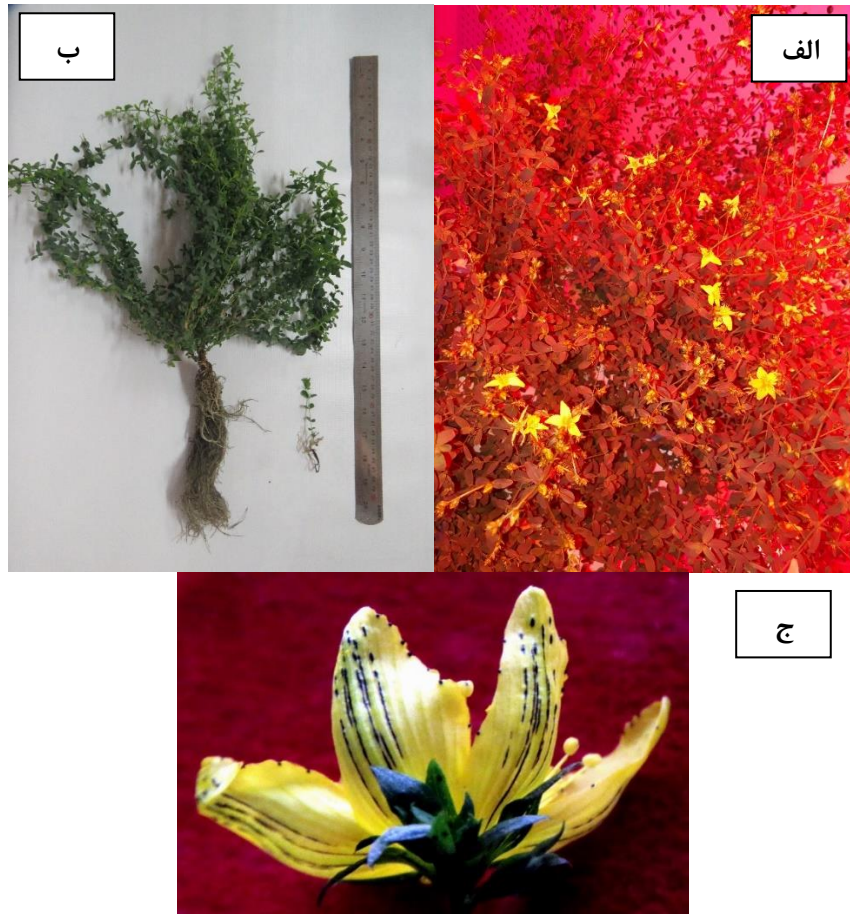
در طی فرآیند رشد گیاه در سیستم نسبت به سرکشی و بازدید مکرر روزانه از همه اجزای تولید و خصوصا گیاهچه‌ها اقدام شود. میزان محیط کشت درون مخزن هر 24 ساعت بررسی و در صورت کاهش سطح محیط کشت با آب مقطر سر ریز شود. نازل‌ها از نظر گرفتگی منفذ بررسی شود. تغییر میزان EC و pH ثبت شده و تحت نظر قرار گیرد. در صورت هرگونه تغییر شدید نسبت به حل مشکل و تعویض سربع محلول غذایی اقدام گردد.

برداشت

پس از گذشت حدود 45 روز از رشد (شکل 11) وضعیت گیاهان بررسی شده و در صورت دستیابی به بهترین مرحله از نظر باز شدن بیشترین تعداد غنچه‌های گل، برداشت صورت گیرد. عدد 45 روز می‌تواند بر اساس برخی شرایط مانند رقم، کیفیت مواد غذایی، شرایط فیزیکی رشد و محرک‌های فیزیکی بکار رفته و برخی دیگر از عواملی که تحت کنترل تولید کننده قرار ندارند، متغیر باشد. پس از جداسازی سوسک‌گیر و اسفنج، گیاه گل راعی برداشت می‌شود (شکل‌های 12، 13 و 14). این گیاه می‌تواند خشک و ذخیره گردد.



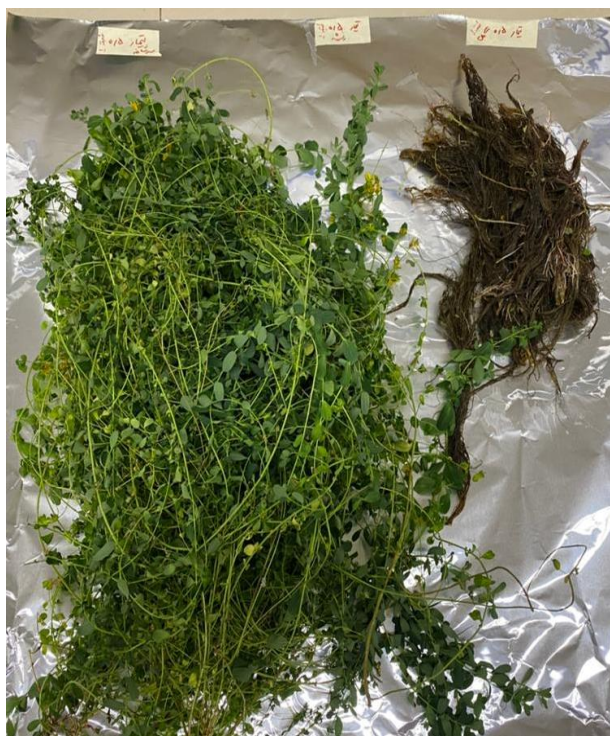
شکل 11: مراحل مختلف گیاهچه‌های گل راعی رشد کرده طی شش هفته در سیستم بسته



شکل 12: الف- گلدهی گل راعی در سیستم بسته در روز برداشت، ب- مقایسه گیاهچه‌های برداشت شده پس از 45 روز با نشاء گل راعی در روز اول انتقال، ج- گل‌های برداشت شده



شکل 13: اندازه‌گیری وزن تر گیاهچه‌ها



شکل 14: آماده‌سازی گیاهچه‌ها جهت خشک کردن درون آون

برآورد اقتصادی

ارزیابی اقتصادی تولید گل راعی در واحدی با مساحت 1000 متر مربع

در آغاز لازم به تذکر است که تمامی اعداد و ارقام مورد استفاده بر اساس نرخ تابستان سال 1404 تنظیم شده و با توجه شرایط کنونی تورم، به شدت قابل تغییر می‌باشد. در تولید گل راعی با استفاده از روش مرسوم کشت در مزرعه برای خرید زمینی به مساحت یک هکتار و با احتساب قیمت هر متر مربع حدود 750 هزار تومان (قیمت زمین زراعی در شمال کشور محدوده نور تا بابلسر که دارای آب کافی و مناسب جهت تولید این گیاه می‌باشد) می‌بایست حدود 7 میلیارد و 500 میلیون تومان پول هزینه نمود که چنانچه این مبلغ نیز از طریق وام بانکی و بازپرداخت 10 ساله و سود 14٪ تامین گردد، سالانه حدود 833 میلیون تومان سود بانکی برای تولید سالانه 3/5 تن گل راعی می‌توان لحاظ نمود (از آنجایی که سال اول برداشت انجام نمی‌شود محاسبات بجای 10 سال بر اساس 9 سال برداشت طی بازپرداخت وام لحاظ گردید). با این محاسبات هزینه واقعی تولید گل راعی تنها با توجه به هزینه خرید زمین برای هر کیلوگرم حدود 238 هزار تومان برآورد می‌گردد که کشاورز به این مورد توجهی ندارد. به علاوه این عدد بدون احتساب هزینه تمام شده تولید شامل هزینه‌های کاشت، داشت تا برداشت می‌باشد.

در مقابل تولید در سیستم‌های بسته نیز کم هزینه نیست. اما از مزیت کیفیت و ثبات برخوردار است. سرمایه ثابت مورد نیاز و هزینه‌های اصلی تولید گل راعی در زمینی به مساحت 2000 مترمربع و یک واحد کشت بسته با سطح زیر بنای 1000 متر مربع و دارای ده طبقه سینی‌های کشت با مساحت همکف حدود 700 مترمربع و مساحت کل 7 هزار متر مربع به شرح جداول 6 و 7 خلاصه شده است. این هزینه‌ها براساس داده‌های بدست آمده در مقیاس آزمایشگاهی محاسبه گردیده است. براساس محاسبات انجام گرفته سرمایه اولیه لازم حدود 200 میلیارد ریال است. بدیهی است این میزان از برآورد هزینه تحت تاثیر عوامل مختلف قرار داشته و قابل تغییر است.

جدول 6: سرمایه ثابت مورد نیاز جهت احداث یک واحد CPPS با مساحت 1000 متر مربع با 10 طبقه و مساحت مفید 10000 متر مربع

ردیف	هزینه‌های اصلی	هزار تومان
1	سوله به مساحت 1000	5600000
2	سیستم تامین نور	1840000
3	سیستم خنک کننده-20 عدد اسپلیت 28000	1800000
4	طبقات کشت	3750000
5	سینی‌های کشت	1500000
6	هزینه خرید زمین 2 هزار متر مربع	4000000
7	هزینه‌های متفرقه دیگر شامل سیستم‌های تغذیه، تامین CO ₂ و ... -20٪ هزینه کل	2000000
جمع کل		20490000

جدول 7: خلاصه مهمترین هزینه‌های قیمت تمام شده تولید در هر متر مربع در CPPS

ردیف	هزینه‌های اصلی تولید	هزینه تومان بر m ²
1	هزینه استهلاک سیستم تامین نور (استهلاک 8 ساله)	5476
2	هزینه برق مصرفی 50kwh در دوره (هر کیلووات ساعت 660 ریال)	3300
3	هزینه ساختمان (استهلاک 100 ساله)	1300
4	هزینه چهارچوب طبقات (استهلاک 100 ساله)	892
5	استهلاک سینی‌های کشت (استهلاک 20 ساله)	1785
6	هزینه استهلاک سیستم خنک کننده (استهلاک 10 ساله)	4285
7	هزینه محیط کشت و تغذیه	5500
8	نیروی انسانی (6 نفر)	30857
9	هزینه استهلاک سیستم مونیتورینگ - حسگرهای CO ₂ ، O ₂ ، رطوبت، دما و اینترفیس کامپیوتری مربوطه (استهلاک 10 ساله) و سیستم تصفیه آب (استهلاک 5 ساله) - تخمینی	1500
10	موارد پیش بینی نشده (10٪)	5489
جمع هزینه‌ها به ازای هر متر مربع محصول برداشت شده		60384
12	*** بهره وام 4-10 ساله	10238
جمع کل هزینه‌ها به ازای هر متر مربع محصول برداشت شده		70622

با توجه به هزینه حدود 200 میلیارد ریالی و بهره 4٪، سود سالیانه این سرمایه گذاری حدود 40 میلیارد ریال می گردد. در سیستم محاسبه شده هر سال 6 دوره برداشت در فضای نهایی 10 طبقه به مساحت حدود 7000 متر مربع و پیش بینی برداشت هر دوره حدود 2300 کیلوگرم و سالانه حدود 14 تن قابل پیش بینی است. در حالیکه در مزرعه از سال دوم به بعد در همین فضای 1000 متری حدود 350 کیلوگرم گل راعی قابل برداشت است.

با توجه به آزمایشات انجام شده در سیستم بسته در فضایی به مساحت 3 متر مربع حدود 1 کیلوگرم ماده خشک گل راعی قابل برداشت است. بنابراین از آنجایی که هزینه محاسبه شده در هر متر مربع حدود 70 هزار تومان برآورد شده است، لذا هزینه تمام شده برای تولید هر کیلوگرم گل راعی در سیستم بسته حدود 210 هزار تومان برآورد می گردد.

از طرفی در برخی از سایت های داخلی قیمت فروش و عرضه گل راعی با کیفیت متفاوت حدود 200² الی 600 هزار³ تومان به ازای هر کیلوگرم ثبت شده است و این عدد برای خارج از ایران بیش از 40 دلار به ازای هر کیلوگرم می باشد

² (https://basalam.com/parham1_avi/product/607663)

³ (<https://www.atarigol.ir/product/%D8%AE%D8%B1%DB%8C%D8%AF-%DA%AF%D9%84-%D8%B1%D8%A7%D8%B9%DB%8C/>)

(<https://www.amazon.com/Starwest-Botanicals-Organic-Johns-Powder/dp/B00ZVD2BNK?th=1>). اگر چه مشکلات تولید مواد گیاهی دارویی در مزرعه مانند عدم پایداری در کمیت و کیفیت تولید قبلاً ذکر شده است و این موضوع ضرورت تولید گیاهان دارویی در CPPS را به خوبی نشان می‌دهند، اما محاسبات اقتصادی فعلی نیز نشان دهنده رقابتی بودن و حتی به لحاظ کیفیت برتری داشتن تولید در چنین سیستم‌هایی است که در نگاه اول بسیار پر هزینه می‌نمایند.

نتیجه گیری کلی

هایپرسیس و هایپرفورین دو ترکیب اصلی و مهم دارویی گل راعی به شمار می‌روند که با تغییرات محیطی میزان آنها می‌تواند تا 50 برابر تغییر کند. آلودگی مواد گیاهی برداشت شده با سموم، فلزات سنگین، انگل‌ها و عوامل بیماری‌زای باکتریایی و قارچی، عملکرد پایین و محدودیت جدی مرتبط با منابع آب، تجزیه مخواد موثره در طی دوره انبار داری و ... مواردی هستند که بحث تولید گیاهان دارویی در شرایط بسته را توجیه پذیر می‌نمایند. تولید مواد موثره‌هایپرسیس و هایپرفورین با استفاده از روش کشت ریشه موئین با موفقیت چندانی روبرو نبوده است، اما تولید این محصول در سیستم بسته کارخانه گیاهی از نظر در اختیار داشتن تولیدی با کیفیت پایدار می‌تواند امید بخش باشد.

بدیهی است که هزینه‌های تولید در CPPS به مرور زمان دستخوش تغییرات چشمگیری خواهد شد. بخشی از این تغییرات مربوط به عدم ثبات قیمت‌ها در بازار و بخش دیگر مربوط به بهینه سازی دائمی سیستم‌های بکار رفته در این واحدها می‌باشد. تعداد کل واحدهای موفق تولیدی در جهان نیز تابعی از پیشرفت‌های حاصله در تکنولوژی‌های بکار رفته مانند نور، سیستم سرمایش، کاشت و نگهداری CPPS، هوش مصنوعی و ربات‌ها بوده و طی سالهای اخیر با کاهش هزینه‌ها، تعداد تولیدی‌ها افزایش چشمگیری داشته‌اند. به عنوان مثال با ظهور لامپ‌های دارای بازده زیاد تبدیل انرژی الکتریکی به انرژی نورانی و نیز شناخت بیشتر محققین از نیازهای رشدی گیاهان مورد نظر و یا بکارگیری ربات‌ها در کاشت و نگهداری CPPS هزینه‌های تولید به شدت تحت تاثیر قرار می‌گیرد. این هزینه‌ها با بکارگیری فضای خالی پشت بام شرکت‌های دارویی و صرفه‌جویی در هزینه خرید زمین و یا بازیافت آب آبیاری جهت استفاده‌های دیگر در کارخانجات تولیدی و نیز بکارگیری سیستم‌های تامین انرژی الکتریکی پاک ناشی از باد و یا خورشید و استفاده از هوای سرد بیرون برای حداقل 6 ماه از طول سال جهت کاهش بار سیستم‌های سرمایشی، و نیز بهینه سازی تکنولوژی ساخت لامپ‌های کم مصرف در داخل و کاهش شدید قیمت خرید و ... دستخوش تغییرات خواهد بود.

منابع

- سفیدکن، ف. ۱۴۰۰. طرح کلان فناوریهای توسعه گیاهان دارویی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی با مشارکت مؤسسات و مراکز تحقیقاتی، دانشگاهها، شبکه گیاهان دارویی، سازمان ملی استاندارد، دستگاههای اجرایی و بخش خصوصی، ص ۱-۲۶.
- Batista, D.S., Felipe, S.H.S., Silva, T.D., de Castro, K.M., Mamedes- Rodrigues, T.C., Miranda, N.A., Ríos-Ríos, A.M., Faria, D.V., Fortini, E.A., Chagas, K., and Torres-Silva, G., 2018. Light quality in plant tissue culture: does it matter? In vitro cellular and developmental biology-plant, 54(3), 195–215.
- Bian, Z.H., Yang, Q.C., and Liu, W.K., 2015. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: a review. Journal of the science of food and agriculture, 95(5), 869–877.
- Bonaterre, G.A., Schwendler, A., Hüther, J., Schwarzbach, H., Schwarz, A., Kolb, C., and Kinscherf, R., 2018. Neurotrophic, cytoprotective, and anti-inflammatory effects of St. John's Wort extract on differentiated mouse hippocampal HT-22 neurons. Frontiers in pharmacology, 8, 955.
- Brechner, M.L., Albright, L.D., and Weston, L.A., 2007. Impact of a variable light intensity at a constant light integral: effects on biomass and production of secondary metabolites by *Hypericum perforatum*. Acta horticulturae, 756(23), 221–228.
- Briskin, D.P. and Gawienowski, M.C., 2001. Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum*. Plant Physiology and Biochemistry, 39(12), pp.1075-1081.
- Crockett, S.L., 2010. Essential oil and volatile components of the genus *Hypericum* (Hypericaceae). Natural product communications, 5(9), 1493–1506.
- De-Morais, F.A.P., Gonçalves, R.S., Vilsinski, B.H., Lazarin-Bidóia, D., Balbinot, R.B., Tsubone, T.M., Brunaldi, K., Vataru-Nakamura, C., Hioka, N., and Caetano, W., 2020. Hypericin photodynamic activity in DPPC liposome – part II: Stability and application in melanoma B16-F10 cancer cells. Photochemical and Photobiological Sciences.
- Gilani, A.H., and Rahman, A.u., 2005. Trends in ethnopharmacology. Journal of ethnopharmacology, 100(1-2), 43–49.
- Goto, E., 2012. Plant production in a closed plant factory with artificial lighting. Acta horticulturae. 956(2), 37–49.
- Haq, S.K., Atif, S.M., and Khan, R.H., 2004. Protein proteinase inhibitor genes in combat against insects, pests, and pathogens: natural and engineered phytoprotection. Archives of biochemistry and biophysics. 431(1), 145–159.
- Heo, J.W., Kim, D.E., Han, K.S., and Kim, S.J., 2013. Effect of light quality control on growth of *Ledebouriella seseloides* grown in plant factory of an artificial light type. The Korean journal of environmental agriculture, 32(3), 193–200.
- Hernández, R. and Kubota, C., 2016. Physiological responses of cucumber seedlings under different blue and red photon flux ratios using LEDs. Environmental and experimental botany, 121, pp.66-74.
- Hogewoning, S.W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., van-leperen, W., and Harbinson, J., 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. Journal of experimental botany, 61(11), 3107–3117.
- Hölscher, D., Shroff, R., Knop, K., Gottschaldt, M., Crecelius, A., Schneider, B., Heckel, D.G., Schubert, U.S., and Svatos, A., 2009. Matrix-free UV-laserdesorption/ionization (LDI) mass spectrometric imaging at the single-celllevel: distribution of secondary metabolites in *Arabidopsis thaliana* and *Hypericum* species. The plant journal. 60(5), 907–918.
- Howard, M., 2017. Hydroponics for the Home Grower. CRC Press.
- Jensen, N.B., Clausen, M.R., and Kjaer, K.H., 2018. Spectral quality of supplemental LED grow light permanently alters stomatal functioning and chilling tolerance in basil (*Ocimum basilicum* L.). Scientia horticulturae, 227(2), 38–47.
- Joshi, J., Zhang, G., Shen, S., Supaibulwatana, K., Watanabe, C.K.A., and Yamori, W., 2017. A combination of downward lighting and supplemental upward lighting improves plant growth in a closed plant factory with artificial lighting. American society for horticultural science, 52(6), 831–835.
- Kasajima, S., Inoue, N., Mahmud, R., and Kato, M., 2008. Developmental responses of wheat cv. Norin 61 to fluence rate of green light. Plant production science, 11(1), 76–81.
- Kim, Y.J., Kim, H.M., Kim, H.M., Lee, H.R., Jeong, B.R., Lee, H.J., and Hwang, S.J., 2020. Growth and phytochemicals of ice plant (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) as affected by various combined ratios of red and blue LEDs in a closed-type plant production system. Journal of applied research on medicinal and aromatic plants, 20, 100267.
- Kitazaki, K., Fukushima, A., Nakabayashi, R., Okazaki, Y., Kobayashi, M., Mori, T., Nishizawa, T., Reyes-Chin-Wo, S., Michelmore, R.W., Saito, K., and Shoji, K., 2018. Metabolic reprogramming in leaf lettuce grown under different light quality and intensity conditions using narrowband LEDs. Scientific reports, 8, 7914.

- Kladar, N., Mrđanović, J., Anačkov, G., Šolajić, S., Gavarić, N., Srđenović, B., and Božin, B., 2017. *Hypericum perforatum*: Synthesis of active principles during flowering and fruitification—Novel aspects of biological potential. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2017(10), 1–11.
- Kozai, T., 2013. Resource use efficiency of closed plant production system with artificial light: Concept, estimation and application to plant factory. Proceedings of the Japan academy series B: physical and biological sciences, 89(10), 447–461.
- Li, C., Li, Y., Li, Y., and Fu, G., 2018. Cultivation techniques and nutrient management strategies to improve productivity of rain-fed maize in semi-arid regions. Agricultural water management, 210(3), 149–157.
- Li, S.X., Wang, Z.H., Miao, Y.F., and Li, S.Q., 2014. Soil organic nitrogen and its contribution to crop production. Journal of integrative agriculture, 13(10), 2061–2080.
- Liao, Y., Suzuki, K., Yu, W., Zhuang, D., Takai, Y., Ogasawara, R., Shimazu, T., and Fukui, H., 2014. Night-break effect of LED light with different wavelengths on shoot elongation of *Chrysanthemum morifolium* Ramat 'Jimba' and 'Iwa No Hakusen'. Environmental control in biology, 52(1), 51–55.
- Mosaleeyanon, K., Zobayed, S.M.A., Afreen, F., and Kozai, T., 2005. Relationships between net photosynthetic rate and secondary metabolite contents in St. John's wort, Plant science, 169(3), 523–531.
- Murch, S.J., and Saxena, P.K., 2006. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): Challenges and strategies for production of chemically-consistent plants. Canadian journal of plant science, 86(6), 765–771.
- Napoli, E., Siracusa, L., Ruberto, G., Carrubba, A., Lazzara, S., Speciale, A., Cimino, F., Saija, A., and Cristani, M., 2018. Phytochemical profiles, phototoxic and antioxidant properties of eleven *Hypericum* species— A comparative study. Phytochemistry 152(1), 162–173.
- Ng, Q.X., Venkatanarayanan, N., and Ho, C.Y.X., 2017. Clinical use of *Hypericum perforatum* (St John's wort) in depression: A meta-analysis. Journal of affective disorders, 210(1), 211–221.
- Odabas, M.S., Radugiene, J., Camas, N., Janulis, V., Ivanauskas, L., and Çırak, C., 2009. The quantitative effects of temperature and light intensity on hyperforin and hypericins accumulation in *Hypericum perforatum* L. Journal of medicinal plant research, 3(7), 519–525.
- Rabara, R.C., Behrman, G., Timbol, T., and Rushton, P.J., 2017. Effect of spectral quality of monochromatic LED lights on the growth of Artichoke seedlings. Frontiers in plant science, 8, 190.
- Southwell, I.A., and Bourke, C.A., 2001. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). Phytochemistry, 56(5), 437–441.
- Szopa, A., Starzec, A., and Ekiert, H., 2018. The importance of monochromatic lights in the production of phenolic acids and flavonoids in shoot cultures of *Aronia melanocarpa*, *Aronia arbutifolia* and *Aronia × prunifolia*. Journal of photochemistry and photobiology B: Biology, 179(1), 91–97.
- Trouwborst, G., Hogewoning, S.W., van-Kooten, O., Harbinson, J., and van-Ieperen, W., 2016. Plasticity of photosynthesis after the 'red light syndrome' in cucumber. Journal of experimental botany, 121(1), 75–82.
- Wang, Z.H., Miao, Y.F., and Li, S.X., 2016. Wheat responses to ammonium and nitrate N applied at different sown and input times. Field crops research, 199(1), 10–20.
- Zhou, H., Niu, X., Yan, H., Zhao, N., Zhang, F., Wu, L., Yin, D., and Kjelgren, R., 2019. Interactive effects of water and fertilizer on yield, soil water and nitrate dynamics of young apple tree in semiarid region of northwest China. Agronomy, 9(7), 360.
- Zobayed, S.M.A., Afreen, F., and Kozai, T. 2005. Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. Plant physiology and biochemistry, 43(10), 977–984.