



Kharazmi University

Investigation of the habitat effect on the antimicrobial properties of *Pycnocycla spinosa* Decne. in Iran

Afsaneh Teymouri¹, Atefe Amirahmadi^{2✉} , Reza Naderi³, Fatemeh Salimi⁴, Reza Sheikhabari-Mehr⁵

1. M.Sc. Graduate in Plant Physiology, School of Biology, Damghan University.
2. Corresponding author, Department of Plant Sciences, School of Biology and Institute of Biological Sciences, Damghan University, Damghan, Iran. E-mail: a.amirahmadi@du.ac.ir
3. Department of Plant Sciences, School of Biology and Institute of Biological Sciences, Damghan University, Damghan, Iran.
4. Department of Cellular and Molecular Biology, School of Biology, Damghan University, Damghan, Iran.
5. Department of Biology, Faculty of Science, University of Qom, Qom, Iran.

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received 20 October 2024
Received in revised form 20 December 2024
Accepted 6 January 2025
Available online 25 March 2025

Keywords:

Pycnocycla spinosa,
pathogenic bacteria,
traditional medicine,
Iran

ABSTRACT

Objective: The identification and introduction of medicinal plants hold significant importance in modern life. The genus *Pycnocycla*, belonging to the Apiaceae family, includes eight endemic species in Iran. *P. spinosa* has attracted attention due to its medicinal properties. This study aims to investigate the effect of three habitats (the Damghan, Semnan, and Kerman city) on the antimicrobial properties of extracts obtained from *P. spinosa* using different solvents.

Method: To examine the antimicrobial properties, methanolic, ethyl acetate, and hexane extracts at a concentration of 2 mg/ml were tested against two pathogenic Gram-negative bacteria, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enterica*, using the agar disk diffusion method

Results: The results indicated that the extracts had varying effects on the bacteria. Additionally, the different geographical regions of Iran, due to their distinct climatic conditions, exhibited varying effects on the bacteria. Extracts from Kerman, especially those using methanol and ethyl acetate as solvents, showed the highest antimicrobial activity against *S. enterica*.

Conclusions: The current study underscores the significant influence of both geographical origin and solvent polarity on the antimicrobial efficacy of *P. spinosa* extracts. High-altitude environments such as Kerman appear to enhance the plant's biosynthetic capacity for antimicrobial compounds, particularly when extracted using methanol or ethyl acetate.

Cite this article: Teymouri, A., Amirahmadi, A., Naderi, R., Salimi, F. & Sheikhabari-Mehr, R. (2025). Investigation of the habitat effect on the antimicrobial properties of *Pycnocycla spinosa* Decne. in Iran. *Nova Biologica Reperta*, 12 (1), 1-13. <http://doi.org/10.22034/NBR.12.1.2>



© The Author(s).

DOI: <http://doi.org/10.22034/NBR.12.1.2>

Publisher: Kharazmi University.

Introduction

The global escalation of antibiotic-resistant bacterial strains has necessitated the exploration of new antimicrobial agents, particularly those derived from natural sources. Medicinal plants, owing to their rich arsenal of secondary metabolites—including flavonoids, alkaloids, phenolic acids, and essential oils—are increasingly being investigated as alternatives or adjuncts to conventional antibiotics. Among these, *Pycnocycla spinosa* (family Apiaceae), a thorny, perennial herb endemic to Iran, has attracted attention for its traditional uses and reported pharmacological activities. Locally known as "Sag Dandan Khardar," this plant has long been utilized in Iranian traditional medicine for treating wounds, gastrointestinal disturbances, and inflammatory conditions.

Several studies have validated the antispasmodic, cardiovascular, anti-inflammatory, analgesic, and antibacterial properties of *P. spinosa*. However, limited research has focused on how environmental and geographical factors, such as habitat elevation, influence its bioactivity. Given the known impact of ecological stressors on the biosynthesis of bioactive compounds, examining the variation in antimicrobial activity of *P. spinosa* across different habitats is of particular scientific and practical value.

This research aimed to investigate the antimicrobial effects of *P. spinosa* extracts obtained from three ecologically distinct habitats in Iran—Damghan, Semnan, and Kerman—which share similar arid climates but differ significantly in altitude. Additionally, the study examined the influence of extraction solvents with varying polarities—methanol, ethyl acetate, and hexane—on the efficacy of the plant's antimicrobial compounds. The primary goal was to determine how habitat and solvent selection jointly affect the antibacterial activity of the plant against two foodborne Gram-negative pathogens.

Method

Plant specimens were collected from three locations: Damghan (1191 m), Semnan (1766 m), and Kerman (1930 m). These regions were chosen based on prior reports of *P. spinosa* occurrence and their variation in elevation. After drying and pulverizing the aerial parts, extraction was performed via maceration in three solvents representing a polarity gradient—methanol (high polarity), ethyl acetate (moderate polarity), and hexane (non-polar). Extracts were filtered, concentrated, and preserved at 4°C.

Antimicrobial activity was assessed using the agar disk diffusion method against two pathogenic bacteria: *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella enterica*, both of which are notable for their resistance profiles and public health relevance. Extracts were standardized to a concentration of 2 mg/ml. The inhibition zones (in mm) were measured after incubation, and data were statistically analyzed using one-way ANOVA to evaluate significant differences ($p \leq 0.05$) between extract groups.

Results & Discussion

The study demonstrated that both solvent type and habitat significantly influenced extract efficacy. Extracts obtained from plants grown in Kerman consistently exhibited the highest

antimicrobial activity, especially against *Salmonella enterica*. Methanolic and ethyl acetate extracts from this region produced inhibition zones as large as 21 ± 2 mm. These findings were in contrast to extracts from Damghan and Semnan, which generally displayed lower activity. Furthermore, *Y. enterocolitica* was less susceptible overall, with notable inhibition only by ethyl acetate extracts from Kerman (9 ± 2 mm).

Hexane extracts, regardless of collection site, yielded the least antimicrobial activity, highlighting the limited role of non-polar compounds in the plant's antibacterial profile. This observation supports the notion that the active agents are likely polar or moderately polar constituents, such as phenolics and flavonoids.

Environmental parameters, especially elevation, have been shown to influence the metabolic pathways of plants, resulting in qualitative and quantitative changes in their secondary metabolites. Previous studies on species such as *Thymus kotschyanus* and *Artemisia* spp. have demonstrated that increasing altitude enhances the biosynthesis of certain phytochemicals, including thymol and phenolic acids. The greater antimicrobial performance of Kerman samples can thus be attributed to altitude-induced biochemical modulation.

The differences in bacterial sensitivity can also be explained by structural distinctions between *S. enterica* and *Y. enterocolitica*. While both are Gram-negative, their cell wall compositions and efflux mechanisms differ, potentially affecting permeability to phytochemicals. The pronounced inhibition of *S. enterica* by Kerman methanolic extracts underlines the bacterium's relative vulnerability to specific plant metabolites.

These results are in line with earlier findings on *P. spinosa* essential oils and hydroalcoholic extracts, although this study is among the first to specifically correlate antimicrobial potential with altitude and solvent polarity. Such insights have critical implications for optimizing extraction protocols and identifying the best ecological sources of medicinal plants for pharmaceutical applications.

Conclusions

The current study underscores the significant influence of both geographical origin and solvent polarity on the antimicrobial efficacy of *Pycnocycla spinosa* extracts. High-altitude environments such as Kerman appear to enhance the plant's biosynthetic capacity for antimicrobial compounds, particularly when extracted using methanol or ethyl acetate. These findings advocate for the targeted collection and solvent-based extraction of *P. spinosa* in natural product drug discovery programs.

Given the strong antimicrobial activity against *Salmonella enterica*, *P. spinosa* holds promise as a source of plant-derived antimicrobial agents. However, to advance its application, further research is needed to isolate active constituents, elucidate their mechanisms of action, and assess their safety and efficacy in clinical or food preservation settings.

Author Contributions

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data Availability Statement

Not applicable.

Ethical Considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

بررسی اثر رویشگاه بر میزان خواص ضد میکروبی گیاه سگ دندان خاردار

(*Pycnocycla spinosa* Decne.) در ایران

افسانه تیموری^۱، عاطفه امیراحمدی^{۲*}، رضا نادری^۳، فاطمه سلیمی^۴، رضا شیخ اکبری مهر^۵

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران.

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست شناسی و پژوهشکده علوم زیستی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران. رایانامه: a.amirahmadi@du.ac.ir

۳. گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست شناسی و پژوهشکده علوم زیستی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران.

۴. گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران.

۵. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	در زندگی امروزه شناسایی و معرفی گیاهان دارویی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. جنس <i>Pycnocycla</i> متعلق به خانواده چتریان است که در ایران دارای ۸ گونه بومی است. گونه <i>P. spinosa</i> (سگ دندان خاردار) به دلیل داشتن اثرات دارویی همواره قابل توجه بوده است. هدف از این پژوهش بررسی اثر سه رویشگاه (دامغان، سمنان و کرمان) بر روی خواص ضد میکروبی عصاره‌های استخراج شده از گیاه سگ دندان خاردار با استفاده از حلال‌های مختلف می‌باشد. برای بررسی خواص ضد میکروبی از غلظت ۲ mg/ml عصاره‌های متانولی، اتیل استاتی و هگزانی و روش انتشار دیسک در آگار بر علیه دو باکتری بیماری‌زا گرم منفی <i>یرسینیا انتروکولیتیکا</i> و <i>سالمونلا انتریکا</i> استفاده شد. نتایج نشان داد که عصاره‌های تهیه شده اثرات متفاوتی بر روی باکتری‌ها داشتند. همچنین مناطق مختلف جغرافیایی ایران، به دلیل شرایط اقلیمی متفاوت، دارای اثرات متفاوتی بر باکتری‌ها بودند. عصاره‌های تهیه شده از کرمان، به‌ویژه با حلال متانول و اتیل استات، بیشترین فعالیت ضد میکروبی را علیه باکتری <i>سالمونلا انتریکا</i> نشان دادند. بنابراین نوع حلال و نوع رویشگاه می‌تواند تاثیر بسزایی بر روی خواص ضد میکروبی گیاهان داشته باشد. مطالعه حال حاضر اهمیت اثر رویشگاه و قطبیت حلال را بر روی خواص میکروبی عصاره های سگ دندان خاردار نشان داد. محیط هایی با ارتفاع بالا همچون زیستگاه کرمان به نظر می رسد ظرفیت بیوسنتزی ترکیبات ضد میکروبی را افزایش می دهد، بویژه زمانی که با استفاده از حلال های متانول و اتیل استات استخراج شوند.
کلیدواژه‌ها: سگ دندان خاردار، باکتری های بیماری زا، طب سنتی، ایران	
استناد: تیموری، افسانه؛ امیراحمدی، عاطفه؛ نادری، رضا؛ سلیمی، فاطمه؛ و شیخ اکبری مهر، رضا (۱۴۰۴). بررسی اثر رویشگاه بر میزان خواص ضد میکروبی گیاه سگ دندان خاردار (<i>Pycnocycla spinosa</i> Decne.) در ایران. یافته‌های نوین در علوم زیستی، ۱۲ (۱)، ۱-۱۳.	
http://doi.org/000000000000000000000000 نویسندگان. ©	
ناشر: دانشگاه خوارزمی.	

مقدمه

تیره چتریان یکی از شناخته‌شده‌ترین تیره‌های گیاهان گلدار است که دارای ۴۳۴ جنس و حدود ۳۷۸۰ گونه است (Wang et al., 2022). این تیره شامل جنس‌های فراوان با ارزش اقتصادی و پزشکی بالا و غنی از متابولیت‌های ثانویه است (Wen et al., 2021). تیره Apiaceae براساس نوع گل آذین و چند ویژگی ریخت‌شناسی و تشریحی میوه مانند حضور کارپوفور، چوبی شدن اندوکارپ، شکل و موقعیت کریستال‌های اگزالات کلسیم و حضور مجاری روغنی به سه زیر خانواده تقسیم بندی می‌شود (Clarkson et al., 2021). جنس *Pyncocycla* Lindl. متعلق به زیر خانواده Apioideae و قبیله Echinophoreae است که دارای ۱۵ گونه پذیرفته شده در سراسر جهان است. این جنس در ایران دارای ۸ گونه می‌باشد که چهار گونه بومی ایران هستند (Askari et al., 2022; Mozaffarian, 2007). گونه *Pyncocycla spinosa* Decne. گیاهی است چندساله، خشبی، خاردار، با انشعابات دوشاخه‌ای، به ارتفاع حدود ۳۰ تا ۸۰ سانتیمتر، با کرک‌های نمدی تا مخملی، ساقه در سراسر طول برگ‌دار است. این گونه در ایران دارای دو واریته به نام‌های *P. spinosa* var. *spinosa* و *P. spinosa* var. *aitchisonii* (Rech.f.) Hedge & Lamond می‌باشد که هر دو انحصاری ایران هستند. تفاوت این دو واریته با یکدیگر براساس اندازه خارهای برگ‌ها و برگ‌هاست؛ این خارها در واریته *spinosa* از اندازه چترهای رسیده کوتاهتر است در حالی‌که در واریته *aitchisonii* از اندازه چترهای رسیده بلندتر می‌باشد.

سگ دندان خاردار به طور سنتی برای درمان زخم‌ها و جراحات استفاده می‌شود. برخی از خواص دارویی قسمت‌های هوایی و ریشه‌های *P. spinosa*، مانند اثرات ضد اسپاسم، ضد اسهال، فعالیت‌های قلبی عروقی (Hosseini et al., 2022; Sadraei, 2003a; 2003b; 2008) و ضد دردی (Arzi et al., 2017; Hosseini et al., 2022) تأیید شده است. همچنین اثبات شده است که عصاره متانولی ریشه و بخش هوایی و اتانولی بخش‌های هوایی برای حیوانات بی خطر است (Sadraei et al., 2004; Palizban et al., 2008) و فشارخون و میزان ضربان قلب حیوانات را تغییر نمی‌دهد (Sadraei et al., 2006). چند مطالعه نیز بر روی ترکیبات شیمیایی روغن‌های ضروری اندام‌های رویشی، زایشی شامل گل یا میوه گیاه وجود دارد (Ahmadi & Mirza, 1998; Asghari et al., 2001; Mahboubi et al., 2016). مطالعات اندکی به مطالعه خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضد میکروبی چند نوع عصاره و یا روغن ضروری این گیاه پرداخته‌اند (Jalali et al., 2007; Mahboubi et al., 2014; 2016). نتایج تمامی این مطالعات نشان دادند که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانتی و ضد میکروبی است.

امروزه، با افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زا و تمایل مصرف‌کنندگان به استفاده از محصولات طبیعی، یافتن ترکیبات زیست فعال از منابع طبیعی مانند گیاهان اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی می‌توانند علیه باکتری‌های غذازاد مهم مانند *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *سالمونلا انتریکا*، که از عوامل اصلی مسمومیت‌های غذایی هستند، موثر باشند. مطالعه بر روی گیاهانی مانند سگ دندان خاردار که در شرایط اقلیمی مختلف ایران رشد می‌کنند، می‌تواند منجر به شناسایی و توسعه نگهدارنده‌های طبیعی جدید شود. با توجه به اهمیت باکتری‌هایی مانند *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *سالمونلا انتریکا* در ایجاد بیماری‌های منتقله از غذا، مطالعه حاضر در نظر دارد تا اثر ارتفاع و حلال‌های مختلف را بر ویژگی‌های ضد میکروبی گیاه *P. spinosa* var. *spinosa* علیه این دو باکتری بررسی نماید.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

در ابتدا با بررسی مطالعات انجام شده روی گیاه سگ دندان خاردار سه رویشگاه با اقلیم تقریباً مشابه اما با ارتفاع متفاوت در شهرستان‌های دامغان، منطقه‌ای با خاک‌های گچی در سمنان و کرمان شناسایی و جهت مطالعه انتخاب شدند. مشخصات نقاط نمونه برداری شده در جدول ۱ ذکر شده است.

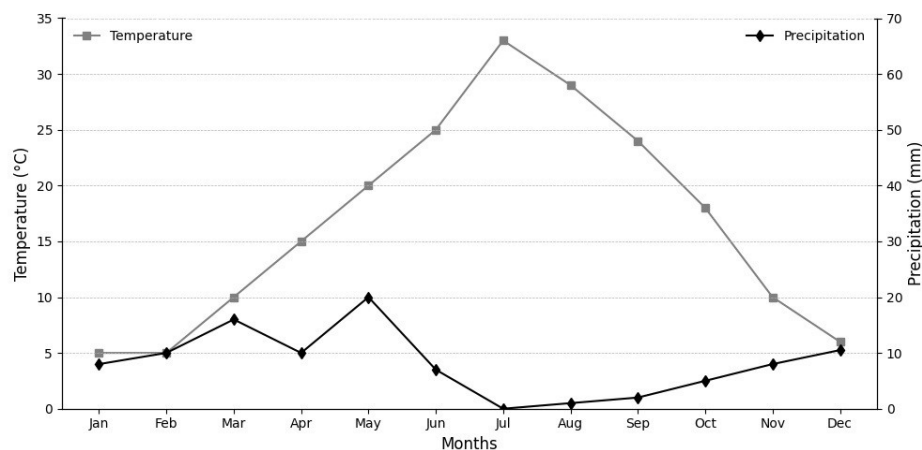
جدول ۱- موقعیت جغرافیایی سه رویشگاه مورد مطالعه سگ دندان خاردار در ایران

Table 1. Geographic location of the three study habitats of *Pycnocycla spinosa* in Iran

Collection Location	Province	Elevation (meters above sea level)	Longitude	Latitude
Damghan, 5 km north of Damghan	Semnan	1191	36°10'27.62"	54°19'00.00"
Semnan, gypsum soils around the plaster factory, Aftar village	Semnan	1766	35°37'19.42"	53°07'52.88"
Between Kerman and Mahan, Sirj intersection	Kerman	1930	30°10'24.58"	57°16'24.80"

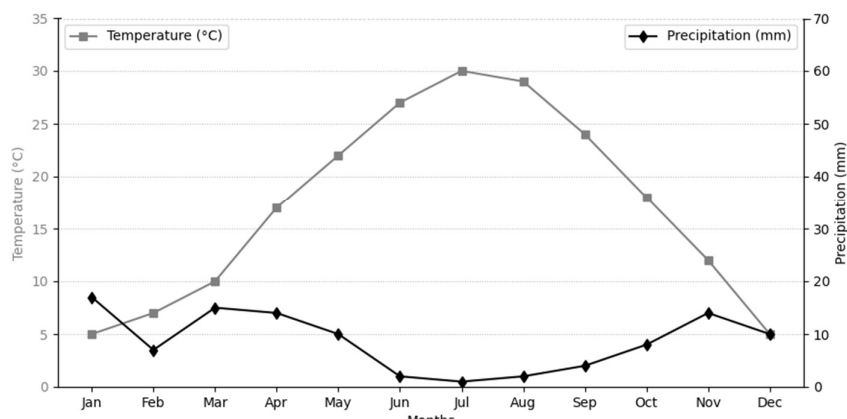
آب و هوا و اقلیم منطقه مورد مطالعه

نمودارهای آمبروترمیک برای شناخت ماههای خشک در ایستگاه اقلیمی مناطق مورد مطالعه استفاده می‌شوند. آمارهای ۱۰ ساله (۲۰۱۰ تا ۲۰۱۹) برای مناطق مورد مطالعه از سازمان هواشناسی دریافت شد. با توجه به نمودار آمبروترمیک، مناطق دامغان، سمنان و کرمان در ماههای مارس، آوریل، می، ژوئن، جولای، اوت، سپتامبر، اکتبر، نوامبر و دسامبر خشک می‌باشند (شکل‌های ۱ تا ۳). همچنین براساس روش دومارتن (خلیلی ۱۳۷۰) هر سه منطقه مورد مطالعه دامغان، سمنان و کرمان دارای اقلیم خشک هستند.



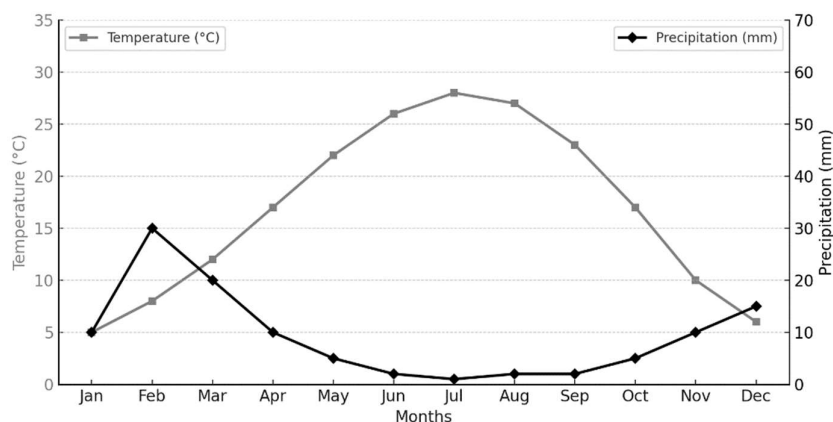
شکل ۱- منحنی آمبروترمیک منطقه دامغان طی دوره زمانی ۱۰ ساله (۲۰۱۰ تا ۲۰۱۹).

Figure 1. The ambrothermic curve of the Damghan region over a 10-year period (2010 to 2019).



شکل ۲- منحنی آمبروترمیک منطقه سمنان طی دوره زمانی ۱۰ ساله (۲۰۱۰ تا ۲۰۱۹).

Figure 2. The ambrothermic curve of the Semnan region over a 10-year period (2010 to 2019).



شکل ۳- منحنی آمبروترمیک منطقه کرمان طی دوره زمانی ۱۰ ساله (۲۰۱۰ تا ۲۰۱۹).

Figure 3. The ambrothermic curve of the Kerman region over a 10-year period (2010 to 2019).

جمع آوری گونه سگ دندان خاردار

جمع آوری نمونه‌های گیاهی از سه منطقه مورد مطالعه انجام شد. سپس سه فرد از هر جمعیت برای انجام آنالیزها به آزمایشگاه منتقل شد. پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا قسمت‌های حشره خورده و یا آفت زده‌ی نمونه‌ها بطور کامل جدا شده و سپس سرشاخه‌ها شسته شدند. نمونه‌ها در دمای محیط خشک و توسط آسیاب برقی پودر شدند و تا زمان انجام مطالعات میکروبی در ظرف‌های دربسته تیره و در یخچال (دمای ۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند.

عصاره گیری

جهت تهیه عصاره گیاهی، از هر نمونه ۲ گرم پودر به چهار ارلن ۲۵۰ میلی لیتر ریخته شد. به محتویات هر فلاسک حلال‌هایی با شاخص قطبیت متفاوت از جمله متانول (۵/۱)، اتیل استات (۴/۴) و هگزان (۰) (هر کدام ۱۰۰ میلی لیتر) به طور جداگانه افزوده شد. فلاسک‌ها به مدت یک ساعت همزده شدند و به منظور افزایش بازده استخراج ترکیبات زیست فعال، ارلن‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار داده شدند. محتویات هر ارلن از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد و حلال حاوی ترکیبات زیست فعال از بقایای گیاهی جداسازی شدند. در نهایت حلال حاوی عصاره تحت جریان هوا پرانده شد و عصاره خشک بدست آمده پس از اندازه گیری وزن تا قبل از استفاده در سنجش‌ها در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

مطالعات ضد میکروبی

آماده سازی عصاره ها و سویه های میکروبی

محلول ذخیره عصاره ها با غلظت ۲ mg/ml در حلال دی متیل سولفوکساید تهیه شد. برای رقیق سازی بیشتر از بافر فسفات استفاده گردید. سویه های میکروبی *یرسینیا/انتروکولیتیکا* PTCC 1151 و *سالمونلا/انتريکا* PTCC 1709 به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروبی میکروارگانسیم های صنعتی ایران تهیه شدند.

احیای سویه های میکروبی

پودر لیوفیلیزه هر سویه به محیط کشت اختصاصی آن افزوده شد. *یرسینیا/انتروکولیتیکا* در محیط Brain Heart Infusion براث و *سالمونلا/انتريکا* در محیط نوترینت براث به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. سپس، سویه ها روی محیط کشت جامد حاوی آگار کشت داده شده و مجدداً در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند.

بررسی اولیه فعالیت ضد میکروبی

به منظور بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره های تهیه شده از روش انتشار دیسک در آگار استفاده شد. چهار کلنی از کشت خالص هر باکتری به محیط کشت مربوطه تلقیح و به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. سپس جذب نوری محیط های کشت در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه گیری و با رقیق سازی یا گرماگذاری بیشتر، در محدوده ۰/۱ – ۰/۸ (معادل کدروت نیم مک فارلند = $10^8 \times 1/5$ cell/ml) تنظیم گردید. از سوسپانسیون های میکروبی تهیه شده، کشت چمنی روی محیط های کشت جامد مربوطه انجام شد. عصاره های گیاهی با غلظت ۸۰۰ µg/ml روی دیسک های استریل بارگذاری شدند. پلیت ها به مدت ۲ ساعت در یخچال و سپس ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند. قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک ها اندازه گیری شد. از دی متیل سولفوکساید استریل به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

وجود یا عدم وجود اختلاف معنادار بین فعالیت ضد میکروبی عصاره ها به علت پیروی داده ها از توزیع طبیعی نرمال با استفاده از آزمون One-Way ANOVA بررسی شد.

نتایج

وزن خشک عصاره خام بدست آمده با استفاده از هر یک از حلال ها در جدول ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج بدست آمده حلال های هگزان و اتیل استات نسبت به حلال متانول توانایی بیشتری در استخراج عصاره خام داشته اند (جدول ۲).

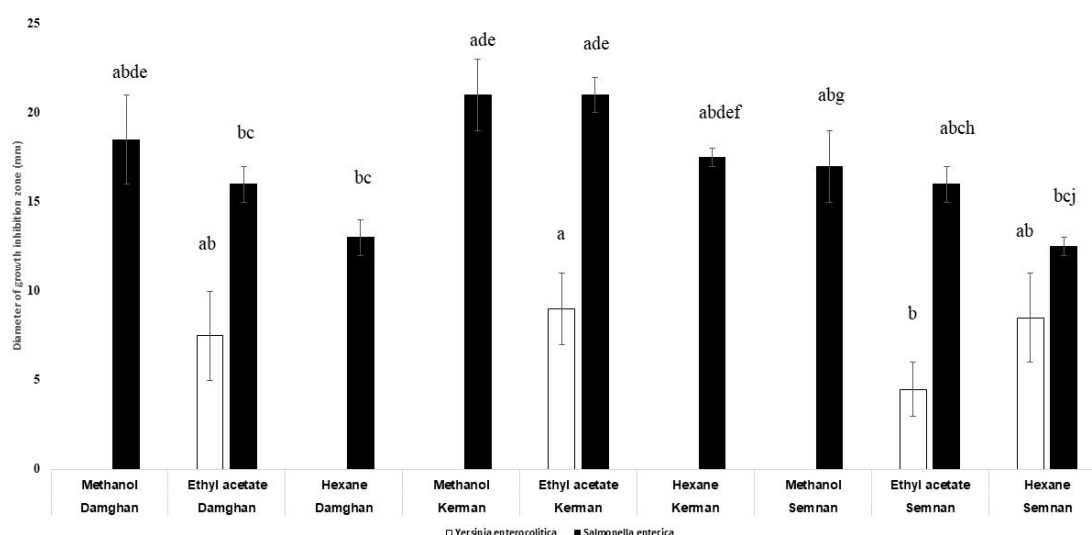
جدول ۲- وزن خشک (گرم) عصاره های خام استخراج شده توسط حلال های آلی
Table 2. Dry weight (grams) of raw extracts extracted by organic solvents

Solvent	Station 1 (Damghan)	Station 2 (Semnan)	Station 3 (Kerman)
Dry weight of plant used for extraction (grams)	2	2	2
Hexane	0.0153	0.0043	0.0095
Ethyl acetate	0.0066	0.0064	0.0072
Methanol	0.0033	0.0043	0.0034

در مطالعه حاضر فعالیت ضد میکروبی عصاره های گیاه سگ دندان خردار جمع آوری شده از سه رویشگاه مختلف (دامغان، کرمان و سمنان) علیه دو باکتری بیماری زا *یرسینیا/انتروکولیتیکا* و *سالمونلا/انتريکا* بررسی شد. عصاره گیری با استفاده از سه حلال متفاوت (متانول، اتیل استات و هگزان) انجام شد. نتایج نشان می دهد که فعالیت ضد میکروبی عصاره ها بسته به نوع حلال، منطقه رویش گیاه و گونه باکتری متفاوت است. عصاره اتیل استاتی گیاه سگ دندان خردار از منطقه کرمان بیشترین اثر را با قطر هاله عدم رشد ۹±۲ میلی متر را علیه *یرسینیا/انتروکولیتیکا* نشان داد (شکل ۴). عصاره های هگزانی سمنان ۸/۵±۲، اتانولی دامغان

۷/۲±۵/۵ و اتیل استاتی سمنان ۴/۵±۱/۵ به ترتیب رتبه‌های بعدی فعالیت ضد میکروبی علیه *یرسینیا انتروکولیتیکا* را نشان دادند. عصاره‌های متانولی و هگزانی از ریشگاه دامغان و کرمان و همچنین عصاره متانولی سمنان هیچ اثر ضد میکروبی علیه این باکتری نشان ندادند (۰±۰ میلی‌متر).

در خصوص باکتری *سالمونلا انتریکا* عصاره متانولی از منطقه کرمان بیشترین اثر مهاری (با قطر هاله عدم رشد ۲±۲۱ میلی‌متر) را علیه این باکتری نشان داد. عصاره اتیل استاتی در تمام مناطق اثر قابل توجهی داشتند به طوری که این عصاره در منطقه کرمان دارای بیشترین اثر ضد میکروبی بود (۱±۲۱). به طور کلی عصاره‌های هگزانی اثر کمتری نسبت به دو حلال دیگر نشان داد (شکل ۴).



شکل ۴- فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه سگ دندان خاردار براساس عدم رشد قطر هاله به میلی متر. حروف متفاوت برای هر گروه نشان دهنده اختلاف معنی دار ($p \leq 0.05$) می باشد.

Figure 4. Antimicrobial activity of different extracts of *Pycnocycla spinosa* based on the absence of growth in the halo diameter (in millimeters). Different letters for each group indicate a significant difference ($p \leq 0.05$).

بحث

در این مطالعه، اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاه سگ‌دندان خاردار از سه منطقه مختلف (دامغان، کرمان و سمنان) بر دو باکتری بیماری‌زا، *یرسینیا انتروکولیتیکا* و *سالمونلا انتریکا* ارزیابی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که تغییرات ارتفاعی بر میزان خواص ضد میکروبی گیاه سگ دندان خاردار موثر است. *Chrysargyris* و دیگران (۲۰۲۰) به بررسی خواص آنتی‌اکسیدانتی برخی از گیاهان دارویی در مناطقی با ارتفاع متفاوت پرداختند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که در ارتفاعات بالاتر میزان ترکیبات فنلی و خواص آنتی‌اکسیدانتی گیاه درمنه افزایش پیدا می‌کند. همچنین Mohebbizadeh و Naderi (۲۰۲۴) اثر تغییرات ارتفاعی را بر میزان روغن‌های ضروری گیاه آویشن بررسی کردند به طوری که میزان ترکیب تیمول با افزایش ارتفاع از ۱۷۵۰ تا ۲۱۵۰ متر به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. بنابراین شرایط آب و هوایی متفاوت بویژه ارتفاع از سطح دریا می‌تواند تاثیر بسزایی بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی، ضد میکروبی و کمیت روغن‌های ضروری گیاهان دارویی داشته باشد (Khalil et al., 2020; Elkady et al., 2021; Adhikari et al., 2022).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اثرات ضد میکروبی عصاره سگ دندان خاردار بسته به نوع حلال مورد استفاده متفاوت است به طوریکه عصاره‌های متانولی و اتیل استاتی منطقه کرمان بیشترین اثر ضد میکروبی را بر علیه باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* داشتند. عسگرپناه و دیگران (۲۰۱۳) نیز در تحقیق خود به فعالیت ضد باکتریایی زعفران علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پرداختند و مشاهده کردند که عصاره متانولی فعالیت بهتری نشان می‌دهد. نتایج ما نیز با این یافته‌ها همخوانی دارد و نشان داد که حلال‌های مختلف اثرات متفاوتی روی فعالیت ضد میکروبی دارند؛ این موضوع در تحقیق Okmen و دیگران (۲۰۱۶) نیز به خوبی نشان داده شده است. همچنین، در مطالعه محبوبی و دیگران (Mahboubi et al., 2014)، اثرات آنتی‌اکسیدانتی و ضد میکروبی عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی بخش‌های هوایی گیاه سگ‌دندان خاردار بررسی شد و نتایج نشان داد که عصاره اتانولی به دلیل میزان بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، اثرات آنتی‌اکسیدانتی و ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که عوامل محیطی و نوع حلال مورد استفاده در فرآیند عصاره‌گیری می‌توانند نقش مهمی در تعیین فعالیت ضد میکروبی گیاهان دارویی ایفا کنند، که تأکیدی بر اهمیت انتخاب دقیق این پارامترها در مطالعات آتی است.

نتایج به دست آمده از این تحقیق بخوبی نشان داد که پاسخ‌های باکتری *سالمونلا انتریکا* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* نسبت به عصاره‌های مشابه متفاوت بوده است. اکثر عصاره‌های استخراج شده از گیاه سگ دندان خاردار بویژه اتیل استاتی و متانولی اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر علیه باکتری *سالمونلا انتریکا* داشته‌اند در صورتیکه بیشتر این عصاره‌ها هیچ اثری بر علیه باکتری *یرسینیا انتروکولیتیکا* نداشته‌اند. پژوهشگران به حساسیت‌های متفاوت گونه‌های باکتریایی نسبت به عصاره‌های استخراج شده از گیاه سگ دندان خاردار اشاره کردند و به نظر می‌رسد تفاوت حساسیت باکتری‌های گوناگون به مواد ضد میکروبی می‌تواند به دلیل ساختار متفاوت این میکروارگانیسم‌ها باشد. به عنوان مثال جلالی و دیگران (Jalali et al., 2007) اثرات ضد میکروبی چند نوع عصاره گیاه سگ دندان خاردار را بر علیه هشت میکروارگانیسم بیماری‌زای انسان مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که عصاره‌های مورد استفاده تنها بر روی یک باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* و دو گونه قارچی *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* اثر ضد میکروبی داشتند. در مطالعه دیگری محبوبی و دیگران (Mahboubi et al., 2016) ترکیبات شیمیایی، خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانتی روغن‌های ضروری دو گونه *P. spinosa* و *P. flabellifolia* را بررسی کردند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که قطر ناحیه مهار برای روغن ضروری *P. flabellifolia* بطور معنی داری بیشتر از دو روغن ضروری *P. spinosa* می‌باشد و حساس ترین میکروارگانیسم‌ها برای هر دو گونه *Pycnocycla* به ترتیب *آسپرژیلوس نایجر* و *کاندیدا آلبیکنس* هستند.

به طور کلی انتخاب حلال مناسب برای استخراج ترکیبات فعال ضد میکروبی بسیار مهم است. حلال‌های قطبی مانند متانول و اتیل استات عموماً در استخراج ترکیبات ضد میکروبی موثرتر بوده‌اند. همچنین، منطقه رویش گیاه نیز بر میزان و نوع ترکیبات ضد میکروبی تأثیرگذار است که می‌تواند ناشی از تفاوت در ارتفاع منطقه باشد. به طور کلی، عصاره‌های گیاهی اثر قوی‌تری علیه *سالمونلا انتریکا* نسبت به *یرسینیا انتروکولیتیکا* نشان دادند. این تفاوت می‌تواند به دلیل ساختار متفاوت دیواره سلولی این دو باکتری و حساسیت متفاوت آن‌ها به ترکیبات ضد میکروبی باشد. این مطالعه پتانسیل استفاده از این گیاه را به عنوان منبع ترکیبات ضد میکروبی طبیعی نشان می‌دهد. با این حال، مطالعات بیشتری برای شناسایی ترکیبات فعال، بررسی مکانیسم عمل آن‌ها و ارزیابی ایمنی و کارایی در شرایط *in vivo* مورد نیاز است.

نتیجه گیری

این پژوهش برای اولین بار اثر ارتفاع را بر روی خواص ضد میکروبی گیاه سگ دندان خاردار بررسی کرد. نتایج بدست آمده نشان داد که خواص ضد میکروبی این گونه در رویشگاه‌های مختلف متفاوت است. نتایج ارائه شده در پژوهش حاضر پتانسیل ضد میکروبی مناسبی را برای گیاه سگ دندان خاردار نشان داد. بیشترین فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه سگ دندان خاردار مربوط به عصاره های متانولی و اتیل استاتی کرمان علیه باکتری *سالمونلا انتریکا* می‌باشد. به طور کلی می‌توان بیان نمود که شرایط آب و هوایی

اکوسیستم‌های مختلف می‌تواند نقش کلیدی در نوع و غلظت ترکیبات زیست فعال دارای فعالیت‌های زیستی از جمله فعالیت ضد میکروبی گیاه سگ دندان خار داشته باشد.

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

- Adhikari P, Joshi K, Singh M, Pandey A. Influence of altitude on secondary metabolites, antioxidants, and antimicrobial activities of Himalayan yew (*Taxus wallichiana*). *Plant Biosystems*. 2022;156(1):187-195.
- Ahmadi L, Mirza M. Volatile Constituents of the Essential Oil of *Pycnocycla spinosa* Decne. & Boiss. from Iran. *Journal of Essential Oil Research*. 1998;10(2):197-198. <https://doi.org/10.1080/10412905.1998.9700878>
- Arzi A, Azemi E, Sistani Karampour N, Fakhri Behbahani A. Evaluation of Analgesic Effect of the Hydro-alcoholic Extract of *Pycnocycla caespitosa* in Comparison with Morphine and Aspirin by Formalin Test. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2017;16(2):143-151. doi: 10.22118/jsmj.2017.49239
- Asgarpanah J, Darabi-Mahboub E, Mahboubi A, Mehrab R, Hakemivala M. In-Vitro evaluation of *Crocus sativus* L. petals and stamens as natural antibacterial agents against food-borne bacterial strains. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013;9(4):69-82.
- Askari F, Sefidkon F, Soltanipour M, Mirza M, Fekri Qomi S. Chemical compounds of essential oil in *Pycnocycla flabellifolia* Boiss. and *P. nodiflora* Decne ex. Boiss. In Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*. 2022;38(2):191-199. doi: 10.22092/ijmapr.2021.352261.2884
- Asghari G, Houshfar G, Mahmoudi Z. Composition of the essential oil of *Pycnocycla spinosa* Decne. ex Boiss. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2001;9:28-29.
- Asghari GhR, Lajvardi SM. Determination of sucrose content in *Pycnocycla spinosa* Decne. Ex Boiss. root using polarimetry. *Journal of Sugar Beet*. 2013;29:13-15.
- Chrysargyris A, Mikallou M, Petropoulos S, Tzortzakis N. Profiling of essential oils components and polyphenols for their antioxidant activity of medicinal and aromatic plants grown in different environmental conditions. *Agronomy*. 2020;10(5):727. <https://doi.org/10.3390/agronomy10050727>
- Clarkson JJ, Zuntini AR, Maurin O, Downie SR, Plunkett GM, Nicolas AN, Smith JF, Feist MAE, Gutierrez K, Malakasi P, Bailey P. A higher-level nuclear phylogenomic study of the carrot family (Apiaceae). *American Journal of Botany*. 2021;108(7):1252-1269.
- Elkady WM, Gonaïd MH, Yousif MF, El-Sayed M, Omar HAN. Impact of altitudinal variation on the phytochemical profile, anthelmintic and antimicrobial activity of two *Pinus* species. *Molecules*. 2021;26:3170. <https://doi.org/10.3390/molecules26113170>
- Hosseini R S, Asgarpanah J, Bakhtiarian A, Mousavi Z. Phytochemical Analysis, Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Pycnocycla Bashgardiana* Aerial Parts Essential Oil in Experimental Animals. *Journal of Medicinal plants and By-Products*. 2022;11(2):231-238. doi: 10.22092/jmpb.2021.343038.1213.
- Jalali M, Abedi D, Asghari GR, Rezaie Z. A study of anti-microbial effect of *Pycnocycla spinosa*'s fruit extracts. *Journal of Mazandaran University Medical Sciences*. 2007;17(59):76-86.
- Khalil N, El-Jalel L, Yousif M. Altitude impact on the chemical profile and biological activities of *Satureja thymbra* L. essential oil. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2020;20:186. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02982-9>
- Mahboubi M, Mahdizadeh E, Heidary Tabar R. The chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activities of *Pycnocycla spinosa* and *Pycnocycla flabellifolia* essential oils. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*. 2016;71(11-12):403-408. doi:10.1515/znc-2016-0038.

- Mahboubi M, Taghizadeh M, Kazempour N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Pycnocycla spinosa* extracts. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2014;9(3):e13859. <https://doi.org/10.17795/jjnpp-13859>
- Mirzaei A, Akbartabar M, Sadeghi H, Sharifi B. The Antioxidant activities and total phenolic of *Artemisia martima*, *Achillea millefolium* and *Matricaria recutita*. *Journal of Armaghan-e Danesh*. 2010;15(1):243-252. (in Persian)
- Mohebbizadeh SH, Naderi Gh. The effects of changes in altitude on quantity of essential oil, carvacrol and thymol of *Thymus kotschyanus* Boiss in Central Province (Arak). *Journal of Medicinal Plants and Herbs*. 2024;3:203. (in Persian)
- Mozaffarian V. Umbelliferae. In: Assadi M, Khatamsaz M, Maassoumi AA, editors. *Flora of Iran*. No. 54. Tehran: Research Institute of Rangelands and Forests; 2007. (in Persian).
- Okmen G, Kardas S, Bayrak D, Arslan A, Cakar H. The antibacterial activities of *Crocus sativus* against mastitis pathogens and its antioxidant activities. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016;5(3):146-156.
- Sadraei H, Asghari G, Arabzadeh A. Effect of hydroalcoholic extract of *Pycnocycla spinosa* on rat isolated bladder contraction. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2004;4:237-41.
- Sadraei H, Asghari G, Hajhashemi V, Nezami M. Evaluation of cardiovascular effect of *Pycnocycla spinosa* Decne. ex Boiss. var. *spinosa* extract in anaesthetized rat. *Journal of in Pharmaceutical Sciences*. 2006;14:11-4.
- Sadraei H, Asghari G, Hekmatti AA. Antispasmodic effect of three fractions of hydroalcoholic extract of *Pycnocycla spinosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 2003a;86(2-3):187-90. doi: 10.1016/s0378-8741(03)00077-1.
- Sadraei H, Asghari G, Khazael, M. Relaxant activities of four fractions separated from alkaloid extract of *Pycnocycla spinosa* on rat isolated ileum. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2008;3(2):9-14.
- Sadraei H, Asghari G, Naddafi A. Relaxant effect of essential oil and hydro-alcoholic extract of *Pycnocycla spinosa* Decne. ex Boiss. on ileum contractions. *Phytotherapy Research*. 2003b;17(6):645-9. doi: 10.1002/ptr.1217.
- Wang XJ, Luo Q, Li T, Meng PH, Pu YT, Liu JX, Zhang J, Liu H, Tan GF, Xiong AS. Origin, evolution, breeding, and omics of Apiaceae: a family of vegetables and medicinal plants. *Horticulture Research*. 2022;9:uhac076. doi: 10.1093/hr/uhac076.
- Wen J, Xie DF, Price M, Ren T, Deng YQ, Gui LJ, Guo XL, He XJ. Backbone phylogeny and evolution of Apioideae (Apiaceae): New insights from phylogenomic analyses of plastome data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2021;161:107183. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107183>.