

بررسی فعالیت ضدباکتریایی دو گیاه دارویی *Trachyspermum copticum* L. و *Ziziphora tenuior* L. در منطقه آزادشهر استان گلستان

هادی کوهساری^{۱*}، عزت‌اله قائمی^۲، مریم صادق شش پلی^۳، منیره جاهدی^۴،

مریم ظهیری^۵، علی صادق^۵

^۱ دکتری تخصصی میکروبیولوژی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

^۲ استاد گروه میکروبیشناسی دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

^۳ دانشجوی دکتری تخصصی پزشکی مولکولی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

^۴ کارشناس ارشد مهندسی شیمی گرایش صنایع غذایی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

^۵ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، واحد آزادشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، آزادشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۳

چکیده

گیاهان دارویی معطر از گذشته‌های دور برای پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی استفاده می‌شده‌اند و استفاده از آنها در عصر حاضر نیز مورد توجه بسیار قرار گرفته است. در این مطالعه به منظور بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاهان دارویی کاکوتی (*Ziziphora tenuior* L.) و زنیان (*Trachyspermum copticum* L.) که علاوه بر پراکنش بهینه اکولوژیکی، از مصارف دارویی و خوراکی زیادی نیز نزد مردم بومی منطقه به عنوان ضد عفونی کننده و ضد التهاب برخوردارند. برگ‌های گیاه کاکوتی و میوه گیاه زنیان در فروردین ماه ۱۳۹۲ و از رویشگاه طبیعی آنها واقع در حومه آزادشهر در استان گلستان جمع‌آوری و سپس عصاره اندام‌ها با اتانول ۷۰ درصد و با روش پرکولاسیون در چهار غلظت ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲٫۵ میلی گرم در میلی لیتر تهیه گردید. فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهان علیه ۴ گونه باکتری گرم مثبت و ۵ گونه باکتری گرم منفی بر اساس انتشار در آگار و با روش‌های دیسک و چاهک تعیین شد. نتایج نشان دادند که عصاره اتانولی هر دو گیاه اثر ضد باکتریایی قابل توجهی علیه باکتری‌های مورد آزمون دارند و روش چاهک در مقایسه با روش دیسک دیفیوژن اثر بیشتری از خود نشان داد. حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به عصاره این دو گیاه در روش چاهک، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس به ترتیب با قطرهای عدم رشد ۳۰ و ۲۶ میلی‌متر بودند و باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری نشان دادند. نتایج این تحقیق در تایید یافته‌های اتنوفارماکولوژی این دو گونه در منطقه و مستندسازی علمی مصارف سنتی این گیاهان در طب سنتی به‌عنوان ضد عفونی کننده و ضد پاتوژن مطرح می‌سازد و این یافته به‌عنوان یک سر نخ کلیدی می‌تواند در توجیه ضرورت انجام مطالعات بالینی با هدف فراآوری، استخراج و تولید داروهای موثر و کم خطر از عصاره این گیاهان در پیشگیری و درمان باشد.

واژگان کلیدی: روش دیسک، روش چاهک، زنیان، فعالیت ضدباکتریایی، کاکوتی.

یکی از مشکلات طب جدید با وجود امتیازهای ظاهری نسبت به طب سنتی که با خود به ارمغان آورده است، مصرف روز افزون داروهای شیمیایی است که متأسفانه روز به روز شکل حادثری به خود می‌گیرد و در این میان گسترش روزافزون مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی یکی از معضلاتی است که هم اکنون جامعه بهداشت جهانی با آن روبروست. این موارد سبب شده است که تلاش مستمر برای یافتن داروهای جدید ضد میکروبی صورت پذیرد. یکی از منابع یافتن چنین داروهایی، گیاهانی هستند که در طب سنتی ایران به صورت تجربی از آنها استفاده می‌شده است. طبق تخمین سازمان بهداشت جهانی حدود ۸۰ درصد از جمعیت دنیا به تاثیر ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها اعتقاد دارند (Capasso, 1998). گیاهان عالی دارای متابولیت‌های ثانویه فراوانی می‌باشند که می‌توانند به عنوان یکی از مهمترین منابع دارویی با اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی جدید در نظر گرفته شوند. در طب سنتی ایران، استفاده از گیاهان دارویی در درمان سوختگی‌ها، ناراحتی‌های پوستی، بیماری‌های عفونی، سپتی سمی و التهاب متداول است (Oussalah et al., 2007; Shahidi, 2004). گیاه کاکوتی با نام علمی *ziziphora tenuior* از گیاهی از تیره نعنائیان است که کاربردهای غذایی و دارویی دارد. بوته‌های این گیاه چند ساله پرپشت بوده و ارتفاع آن بین ۲۰ تا ۵۰ سانتی‌متر می‌باشد و دارای گل‌های بنفش است. این گیاه اغلب در درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل پیچه کار برد دارد (Zargari, 1995).

میوه زنیان با نام علمی *Trachyspermum copticum* L. از تیره چتریان که میوه وریشه آن در طب سنتی مورد توجه می‌باشد و دارای اثرات درمانی متعددی همانند اثرات آنتی‌سپتیک، کاهنده کلسترول

خون، خلط‌آور و تسکین دهنده اسپاسم است (Oskuee et al., 2011).

مطالعات متعددی به نقش ضد باکتریایی و ضدقارچی این دو گیاه دارویی پرداخته‌اند همچنین آنالیز ترکیبات این دو گیاه نیز مورد بررسی قرار گرفته است. رسولی و همکاران به این نتیجه رسیدند که روغن‌های استخراج شده از میوه گیاه زنیان، می‌تواند به عنوان یک ماده نگهدارنده در مواد غذایی به منظور مهار آسپرژیلوس پارازیٹیکوس و تولید افلاتوکسین استفاده شود. آنها به مطالعه ترکیبات موجود در روغن این گیاه دارویی پرداخته و نتایج آنها نشان داد که پیپریتون، آلفا پینن، لیمونن، سینئول، تیمول، سیمن و گاما ترپینن به ترتیب مهمترین آنها می‌باشد (Rasooli et al., 2008).

Khajeh و همکاران نیز در مطالعه‌ای دیگر مهمترین این ترکیبات را به ترتیب تیمول، گاما ترپینن، سیمن، بتا پینن، میرسن و لیمونن معرفی کردند (Khajeh et al., 2004).

Mahboubi و Kazempour در مطالعه‌ای به مقایسه ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد میکروبی زنیان و مرزه پرداختند. آنها تیمول، گاما-ترپینن و سیمن را به عنوان مهمترین ترکیبات زنیان معرفی کردند و نشان دادند که زنیان در مقایسه با مرزه اثرات ضد میکروبی بیشتری دارد (Mahboubi and Kazempour, 2011).

در خصوص گیاه دارویی کاکوتی نیز مطالعاتی صورت پذیرفته است Mahboubia و همکارانش ۴۴ ترکیب را در روغن کاکوتی شناسایی کردند که در این میان آلفا ترپینئول، تیمول و استات ژرانیل از مهمترین آنها بودند. در مطالعه آنان همچنین اثرات ضد میکروبی روغن این گیاه دارویی علیه فارچ‌های ساپروفیت و همچنین سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوکوس فکالیس و باسیلوس سرئوس به اثبات رسید (Mahboubia et al., 2012).

سودوموناس آئروژینوزا^۴ و یرسینیا انتروکولیتیکا^۵ بودند و باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمون شامل استتافیلوکوکوس اورئوس^۶، استتافیلوکوکوس اپیدرمایدیس^۷، انتروکوکوس فکالیس^۸ و باسیلوس سرئوس^۹ بودند که همگی آنها از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. پس از تهیه عصاره‌ها جهت تعیین اثر ضدباکتریایی آنها از دو روش دیسک دیفیوژن، چاهک استفاده شد.

روش دیسک دیفیوژن: در روش دیسک دیفیوژن دیسک‌های بلانک ساخت شرکت پادتن طب در لوله‌های حاوی رقت‌های تهیه شده از عصاره‌ها قرار گرفت و بعد از ۵ تا ۱۰ دقیقه، دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه تا کاملاً خشک شده و جهت دیسک‌گذاری آماده شود (Cook, 2008).

از تمام سویه‌های باکتریایی، سوسپانسیون میکروبی معادل لوله ۰/۵ مک فارلند (cfu/ml) $10^8 \times 1/5$ تهیه شد و از این سوسپانسیون در سطح محیط مولر هیتون آگار کشت یکنواخت انجام شد. آنگاه دیسک‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌ها، روی سطح محیط کشت آگار قرار داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و نتایج اثر ضدباکتریایی با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌ها ثبت شد. برای حصول اطمینان، این آزمایش برای هر سویه باکتری دو بار تکرار گردید و میانگین قطر هاله عدم رشد در دو بار تکرار به‌عنوان قطر نهایی ثبت شد. همچنین از دیسک حاوی پروپیلن گلیکول به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

لذا با توجه به کثرت رویشگاه‌های طبیعی گونه‌های فوق در روستاهای شهرستان گلستان و از طرفی شهرت و استفاده‌های فراوانی که از فرآورده‌های مختلف این دو گیاه به‌صورت منفرد یا ترکیبی به‌عنوان مقوی، ضداسپاسم، ضدالتهاب و ضدعفونی‌کننده قوی در درمان بیماری‌های مختلف از جمله دل درد، دیسمنوره، اسهال و عفونت‌های قارچی پوست می‌شود، این تحقیق برای نخستین بار در شرق استان با هدف بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره اتانولی میوه گیاه زنیان و برگ گیاه کاکوتی علیه ۹ گونه از باکتری، با استفاده از روش‌های دیسک و چاهک انجام گردید.

مواد و روش‌ها

عملیات صحرائی به منظور شناسایی رویشگاه‌های طبیعی گیاهان مورد نظر در نواحی روستایی شهرستان آزادشهر واقع در استان گلستان انجام گرفت و در فروردین‌ماه ۱۳۹۲ میوه‌های گیاه زنیان (*Trachyspermum copticum* L.) و برگ‌های گیاه کاکوتی (*Ziziphora tenuior* L.) جمع‌آوری در شرایط مناسب (تاریک و خشک) نگهداری و به‌طور کامل خشک شدند. بعد از خشک شدن، عصاره اتانولی گونه‌ها با روش پرکولاسیون و اتانول ۷۰ درصد استخراج گردید. پس از عصاره‌گیری عمل جداسازی حلال، از دستگاه روتاری با روش تقطیر در خلاء انجام شد (Cook, 2008) و سپس رقت‌های متوالی در غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ و ۶۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آن تهیه شد.

باکتری‌های گرم منفی مورد آزمون شامل اشریشیا کولی^۱، سالمونلا تیفی موریوم^۲، شیگلا دیسانتری^۳،

4. *Pseudomonas aeruginosa*
5. *Yersinia enterocolitica*
6. *Staphylococcus aureus*
7. *Staphylococcus epidermidis*
8. *Enterococcus faecalis*
9. *Bacillus cereus*

1. *Escherichia coli*
2. *Salmonella typhimurium*
3. *Shigella dysenteriae*

نشان دادند. حساس ترین باکتری‌ها نسبت به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره اتانولی گیاه زنیان علیه باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۳۰، ۲۸ و ۲۵ میلی‌متر بودند. این اثر ضد باکتریایی حتی در غلظت‌های ۶۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز مشاهده شد (جدول ۱) و حساس‌ترین باکتری‌ها نسبت به غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی گیاه کاکوتی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، یرسینیا انتروکولیتیکا و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۲۶، ۲۵ و ۲۲ میلی‌متر بودند. این اثر ضدباکتریایی حتی در غلظت‌های ۶۲،۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز مشاهده شد (جدول ۲). حساسیت این باکتری‌ها با روش دیسک دیفیوژن نیز مورد تایید قرار گرفت.

روش چاهک: در روش چاهک از سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند بر سطح محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت یکنواخت کشت داده شد. سپس با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن چاهک‌هایی با قطر ۷ میلی‌متر حفر کرده و با سمپلر ۱۰۰ میکرولیتری از غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در چاهک‌ها ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از این مدت با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها حساسیت یا مقاومت باکتری‌های مورد آزمون تعیین شد (Joshi et al., 2009; walter et al., 2011; Cowan, 1999).

نتایج

یافته‌های مستخرج از جداول ۱ و ۲ نشان داد که عصاره اتانولی هر دو گیاه علیه اکثر باکتری‌های مورد مطالعه اثرات ضدباکتریایی مخصوصاً در روش چاهک

جدول ۱. اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه زنیان علیه ۹ گونه باکتریایی به روش‌های دیسک و چاهک

S.N	ORGANISMS	Well diffusion method				Disk diffusion method			
		500mg/ml	250mg/ml	125mg/ml	62.5mg/ml	500mg/ml	250mg/ml	125mg/ml	62.5mg/ml
1	<i>E.coli</i>	12*	9	0	0	9	0	0	0
2	<i>S.aureus</i>	28	27	24	21	20	17	13	9
3	<i>P.aeruginosa</i>	9	0	0	0	9	0	0	0
4	<i>E.feacalis</i>	16	14	10	0	11	9	0	0
5	<i>S.epidermidis</i>	30	29	26	21	20	16	12	0
6	<i>S.dysentry</i>	16	13	10	8	10	8	0	0
7	<i>S.typhimurium</i>	11	9	8	0	10	8	0	0
8	<i>Y.entrocologica</i>	21	19	17	13	17	14	10	9
9	<i>B.cereus</i>	25	20	16	14	14	11	0	0

*Zone Of Inhibition (mm)

جدول ۲. اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه کاکوتی علیه ۹ گونه باکتریایی به روش‌های دیسک و چاهک

S.N	ORGANISMS	Well diffusion method				Disk diffusion method			
		500mg/ml	250mg/ml	125mg/ml	62.5mg/ml	500mg/ml	250mg/ml	125mg/ml	62.5mg/ml
1	<i>E.coli</i>	15*	12	11	10	9	0	0	0
2	<i>S.aureus</i>	26	24	22	20	16	13	10	0
3	<i>P.aeruginosa</i>	14	13	11	9	10	0	0	0
4	<i>E.feacalis</i>	8	0	0	0	0	0	0	0
5	<i>S.epidermidis</i>	22	19	16	10	16	14	10	0
6	<i>S.dysentry</i>	14	10	9	0	9	0	0	0
7	<i>S.typhimurium</i>	13	11	10	0	9	0	0	0
8	<i>Y.entrocologica</i>	25	24	22	12	18	16	12	9
9	<i>B.cereus</i>	21	19	16	14	16	14	10	0

*Zone Of Inhibition (mm)

بحث

حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی در برابر عصاره‌های گیاهان، در مطالعات متعددی از جمله در آمریکای جنوبی (Paz et al., 1995)، آفریقا (Kudi et al., 1999) و استرالیا (Vlietinck et al., 1995) گزارش شده است. مطالعات نشان داده که دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی در مقابل بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها، ترکیبات شیمیایی ضد میکروبی (Kritika et al., 2007) و حتی بسیاری از داروهای گیاهی (Sharifa et al., 2008) حساسیت بیشتری دارند. وجود لایه لیپولی ساکاریدی دیواره و نیز فضای پری پلاسمیک از دلایل مهم این مقاومت نسبی گرم منفی‌ها می‌باشد. Priscila G. Mazzola و همکارانش نیز نشان دادند که باکتری‌های گرم منفی نسبت به عوامل شیمیایی مقاوم‌تر از انواع گرم مثبت هستند (Cock, 2008; Tortora et al., 2001).

در بررسی‌های مشابه دیگر نشان دادند که در روش چاهک اثر ضد باکتریایی ادویه‌ها و گیاهان دارویی بیشتر از روش دیسک بود (Indu, 2006) که این یافته‌ها با نتایج تحقیق ما مطابقت دارد و این پدیده می‌تواند به میزان نفوذ مواد موثره گیاهان در دیسک‌های کاغذی بلانک کم بوده و بنابراین میزان انتشار مواد موثره، از دیسک به سطح محیط کشت باکتری کمتر از میزان نفوذ ادویه از چاهک به داخل محیط کشت است.

در بررسی مشابه که توسط مهرابیان و همکاران (۱۳۷۵) انجام گرفت، حساسیت باکتری‌های گرم منفی (اشریشیا کولی، شیگلا دیسانتری، سالمونلا تیفی، سالمونلا پاراتیفی و کلبسیلا کسی توکا) را نسبت به عصاره گیاه کاکوتی نشان دادند و در بررسی اسانس گیاه آن عملکرد را به ترکیبات آلفا-تریپتول، تیمول و استات ژرانیل موجود در اسانس گیاه کاکوتی

اثرات دارویی گیاهان بومی و معطر در هر منطقه به حضور متابولیت‌های ثانویه آنها وابسته است. از آنجایی که اکوسیستم‌ها و شرایط متفاوت آن نقش مهمی در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و اثرات دارویی آنها دارند و اینکه عواملی چون درجه حرارت، میزان بارندگی، شدت نور و ارتفاع از سطح دریا که تعیین کننده اقلیم یک منطقه است، از جمله مهمترین عوامل محیطی تاثیر گذار در تجمع متابولیت‌های ثانویه و اثرات دارویی آنها است (Davise et al., 1994)، لذا برداشت گیاهان از رویشگاه‌های طبیعی و بررسی اثرات دارویی آنها در زیستگاه‌های طبیعی بسیار ضروری است (Mazandarani et al., 2011) و از آنجاییکه بررسی اثرات ضد باکتریایی فراورده‌های طبیعی گیاهان علیه باکتری‌های عامل فساد و مسمومیت‌های غذایی به منظور جایگزین کردن نگهدارنده‌های طبیعی مشتق از گیاهان به جای نگهدارنده‌های شیمیایی در سالهای اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

نتایج این تحقیق (جدول ۱ و ۲) نشان داد که عصاره هر دو گیاه مخصوصاً در روش چاهک از عملکرد ضدباکتریایی بیشتری برخوردار بود و اینکه باکتری‌های گرم مثبت از حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی برخوردار بودند.

نتایج تحقیق حاضر حساسیت باکتری‌های گرم مثبت از جمله استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس را نشان داد. در مطالعات مشابه شهلا سلطانی‌نژاد و همکارانش همچنین Akgül و Kivanç در ترکیه حساسیت باکتری‌های گرم مثبت همچون استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، باسیلوس سرئوس و باسیلوس سابتیلیس را نسبت به اسانس کاکوتی نشان دادند (Kivanç and Akgül, 1986).

تاثیر اقلیم مختلف و اثرات دارویی آنها به اثبات رسیده است، بنابراین انجام تحقیقات مشابه در رویشگاه‌های مختلف به منظور دستیابی به ترکیبات بهینه ضدباکتریال و تولید داروهای موثر و کم خطر طبیعی در بحث پیشگیری و درمان بیماری‌های عفونی پیش از پیش ضروری است.

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش عصاره اتانولی دو گیاه معطر و بومی زنیان و کاکوتی که از رویشگاه‌های طبیعی در شهرستان آزادشهر در استان گلستان جمع‌آوری شده بودند علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی به خصوص در روش چاهک اثر ضد باکتریایی نشان دادند و از آنجایی که فراورده‌های طبیعی با منشأ گیاهی نقش مهمی در یافتن دارو جهت درمان بیماری‌ها دارند و با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌های بیماریزا جستجوی مواد ضد میکروبی جدید بسیار حائز اهمیت می‌باشد. هم‌چنین مطالعه متابولیسم و مکانیسم عمل ترکیبات موجود در این گیاهان می‌تواند به ساخت داروهای جدید و موثر کمک کند.

منابع

۱. سلطانی‌نژاد، ش.، ستایی مختاری، ط.، رهبریان، و. ۱۳۸۹. مطالعه اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره متانولی کاکوتی کوهی بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زا. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی. دوره دوم، شماره پنجم. صفحه ۶-۱.
۲. مهربان، ص.، ملباشی، ز. و مجد، ا. ۱۳۷۵. بررسی اثر ضد میکروبی سه گونه از گیاهان تیره نعناع (کاکوتی، مریم‌گلی و نعناع) بر ۱۵ سویه باکتری بیماریزای روده‌ای و عامل مسمومیت غذایی. نشریه علوم. جلد هشتم. شماره ۱، صفحات ۱۱-۱.

نسبت دادند و اینکه کمیت و کیفیت آن مواد موثره در رویشگاه‌های مختلف و عملکرد ضدباکتریایی آنها نیز متغیر گزارش گردید و این موضوع در تایی تاثیر عوامل محیطی در کیفیت مواد موثره و عملکرد ضد باکتریایی و ضدقارچی آنها علیه قارچ‌های ساپروفیت و همچنین سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوکوس فکالیس و باسیلوس سرئوس به اثبات رسید (Mahboubia et al., 2012).

صالحی و همکاران نیز در مطالعه‌ای دیگر حساسیت باکتری‌های گرم منفی اشیریشیا کولی، کلبسیلا پنومونیه و سودوموناس آئروژینوزا را به ترکیبات سینئول، کارواکرول، تیمول، گاما-تریپنین اسانس دو گیاه زنیان و کاکوتی نسبت دادند که عملکرد ضدباکتریایی آنها بسته به کیفیت و کمیت آن مواد موثره در رویشگاه‌های مختلف تغییر کرده است (Salehi et al., 2005; Marino et al., 1999).

Ercisli و Ozturk نشان دادند که اسانس گیاه کاکوتی اثر ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره متانولی آن دارد. آنها این اثرات را به ماده پولگون، که ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس کاکوتی می‌باشد نسبت دادند. آنها نشان دادند که پولگون علیه سالمونلا انتریکا و انتروباکتر ائروژنز بر خلاف سودوموناس آئروژینوزا موثر است (Ozturk and Ercisli, 2005).

در بررسی‌های دیگر از مهمترین اجزاء ضد باکتریال اسانس زنیان به ترتیب از تیمول (۴۹-۳۶ درصد)، گاما تریپنین (۳۶-۳۰/۸ درصد) و پاراسیمن (۲۱-۱۵/۷ درصد) نام بردند (Khajeh et al., 2004; Goudarzi et al., 2011).

از آنجایی که اثرات مختلف گیاهان دارویی بومی به حضور متابولیت‌های ثانویه آنها وابسته است و عوامل محیطی در تولید و تجمع متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی نقش مهمی دارند (Davise et al., 1994) و تفاوت میزان مواد موثره در گیاهان تحت

16. Mazandarani, M., Zarghami Moghaddam, P., Baiat, H., Zolfaghari, M.R., Ghaemi, E.A., Hemati, H. 2011. Antioxidant activity, phenol, flavonoid and anthocyanin contents in various extracts of *Onosma dichroanthum* Boiss. in north of Iran. *Iranian Journal of Plant Physiology*. 1(3):169-176.
17. Oskuee, R.K., Behravan, J., and Ramezani, M. 2011. Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of *Carum copticum* from Iran. *Avicenna J. Phytomed*, 1:83-90.
18. Oussalah, M., and Caillet, S. 2007. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria. *Food Control*. 18:414-420.
19. Ozturk S, and Ercisli S. 2006. The chemical composition of Essential oil and in vitro antibacterial activities of essential oils and methanol extract of *Ziziphora persica* Bunge. *J. Ehtanopharmacol*. 106(3): 327-376.
20. Palombo, E.A., and Semple, S.J. 2001. Antibacterial activity of traditional Australian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*. 77:151-157.
21. Paz, E.A., Cerdeiras, M.P., Fernandez, J., Ferreira, F., Moyna, P., Soubes, M., Vazquez, A., Vero, S., and Zunino, L. 1995. Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity, *Journal of Ethnopharmacology*. 45:67-70.
22. Rasooli, I, Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A. and Rezaei, M.B. 2008. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 122(1-2): 135-139.
23. Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S., Yousefzadi, M. 2005. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) Rech. F. from Iran. *Biol. Pharm. Bull*. 28:1892-1896.
24. Shahidi, B. 2004. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. *J. Ethnopharmacol*. 94: 301-305.
25. Sharifa, A.A., Neoh, Y.L., Iswadi, M.I., Khairul, O., Abdul Halim, M., Jamaludin, M., Mohamed Azman, A.B., Hing, H.L. 2008. Effects of Methanol, Ethanol and Aqueous Extract of *Plantago majoron* Gram Positive Bacteria, Gram Negative Bacteria and Yeast. *Annals of Microscopy*. 8: 42-44.
26. Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. 2001. *Microbiology: An Introduction*, Benjamin Cummings, San Francisco. 12.
3. Capasso, L. 1998. 5300 years ago, the Ice Man used natural laxatives and antibiotics, *Lancet*. 352:1864.
4. Cock, I.E. 2008. Antibacterial Activity of Selected Australian Native Plant Extracts. *The Internet Journal of Microbiology*. 4(2):1-8.
5. Cowan, M.M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-582.
6. Davise, F.S., and Albrigo, L.G. 1994. *Citrus*, C.A.B. International Press, Wallington, UK, 9814.
7. Goudarzi, G.R., Saharkhiz, M.J., Sattari, M., and Zomorodian, K. 2011. Antibacterial Activity and Chemical Composition of Ajowan (*Carum copticum* Benth. & Hook) Essential Oil. *J Med Plant Res.*, 13:203-208.
8. Indu, M.N. 2006. Antimicrobial activity of some of south-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*". *Braz. J. Microbiol.*, 37(2):153-158.
9. Kivanç, M., and Akgül, A. 1986. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. *Flavour and Fragrance Journal*. 1(4-5):175-179.
10. Khajeha, M., Yaminia, Y., Sefidkonb, F., and Bahramifara, N. 2004. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. 86(4):587-591.
11. Kritika, N. 2007. Antimicrobial effect of five Zingiberaceae Essential oils. *Molecules*, 12: 2047-2060.
12. Kudi, A.C., Uhoh, J.U., Eduvie, L.O., and Gefu, J. 1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology*. 67: 225-228.
13. Mahboubia, M., Kazempoura, N., and Hossein Hosseini, H. 2012. Chemical Composition, Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Ziziphora tenuir* L. Aerial Parts. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 15(4):545-549.
14. Mahboubi, M., and Kazempour, N. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity *Saturejahortensis* and *Trachyspermum copticum* Essential Oil. *Iran J. Microbiol*. 3(4):194-200.
15. Marino, M., Bersani, C., and Comi, G. 1999. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric Method. *J. Food Prot*, 62:1017-23.

28. Walter, C., Shinvari, Z.K., Afzal, I., and Malik, R.N. 2011. Antibacterial Activity in Herbal Products Used in Pakistan. Pak. J. Bot. 43: 155-162.
29. Zargari A. 1995. Iranian medicinal plants. Tehran university press. Tehran. Iran. 4:103-104.
27. Vlietinck, A.J, van Hoof, L., Totte, J., Lasure, A., Vanden Berghe, D., Rwangabo, P.C., and Mvukiyumwani, J. 1995. Screening of a hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties, Journal of Ethnopharmacology. 46: 31-47