تقييم فعالية العصير الخام لثمرة الزيتون (*Olea europaea*) في خفض نسبة الانحرافات الكروموسومية و النوى الصغيرة في خلايا نقي العظم للفئران البيض

*بتول علي شهاب** *مها بركان عبد الرحمن** *سعد محمد الندا***

استلام البحث 4، تشرين الاول، 2012
قبول النشر 18، اذار، 2013

الخلاصة:

اجري هذا البحث لتقيم فعالية العصير الخام لثمرة الزيتون على بعض مؤشرات الوراثة الخلوية للفئران البيض مثل نسب الانحرافات الكروموسومية وتكون النوى الصغيرة.

اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية للعصير الخام لثمار الزيتون الاخضروالاسود في نسب الانحرافات الكروموسومية(3.77,4.1) ومعدل تكون النوى الصغيرة(0.25,0.25) قياسا بالسيطرة السالبة (0.22,3.39) على التوالي .اظهر التداخل بين العصير الخام قبل وبعد المعاملة بالمطفر'MMC' ان عصير الثمرة من المثبطات الحيوية من خلال تقليله للتأثير الضار للمطفر عن طريق تقليل نسب الانحرافات الكروموسومية وخفض معدل تكون النوى الصغيرة في نقي العظم للفئران.

الكلمات المفتاحية:MMC, micronuclei, chromosomal aberration, ***Oleo europaea***

المقدمة:

امتلكت المنتجات الطبيعية دوراً رئيسًا في علاج الأمراض منذ القدم، إذ اعتمد الإنسان على المنتجات الطبيعية وخاصة النباتية منها في علاج أمراض مختلفة منذ آلاف السنين. إذ استعمل المصريون والصينيون والهنود والإغريق القدماء النباتات في استطباباتهم، ويذكر أن أول كتابة مسجلة للاستعمال الطبي للنباتات ظهرت منذ ما يقارب 2600 سنة قبل الميلاد عند السومريين والاكديين. كما إن عدداً من الأدوية الحديثة قد طورت من تلك النباتات [1] وتعد شجرة الزيتون احد اهم النباتات التي أُعتمدت في الطب القديم واستعملت أغلب أجزائِها بصورة واسعة في الطب الشعبي في أجزاء مختلفة من العالم في دول حوض البحر المتوسط والدول العربية والمناطق الاستوائية وشبه الاستوائية بوصفها دواء مدراً للبول وخافضاً للضغط ومهدئاً وملينا للأمعاء ومقوياً ومسكناً وطارداً للحمى ومنظفاً للجلد ومدراً للصفراء، ويستعمل في علاج إصابات الجهاز البولي وحصى المرارة وحساسية الربو القصبي والتهاب المسالك التنفسية والمغص والإسهال وداء الثعلبة وآلام الروماتزم وآلام عرق النسا [3,2] كما ان لزيتها ومكونات ثمارها تأثيرات مضادة للأحياء المجهرية الممرضة ومضادة للأكسدة [4] ، فضلا عن كون الزيتون وزيته احد المكونات الغذائية في بلدان كثيرة خاصة في المناطق الاستوائية وبلدان حوض البحر المتوسط.

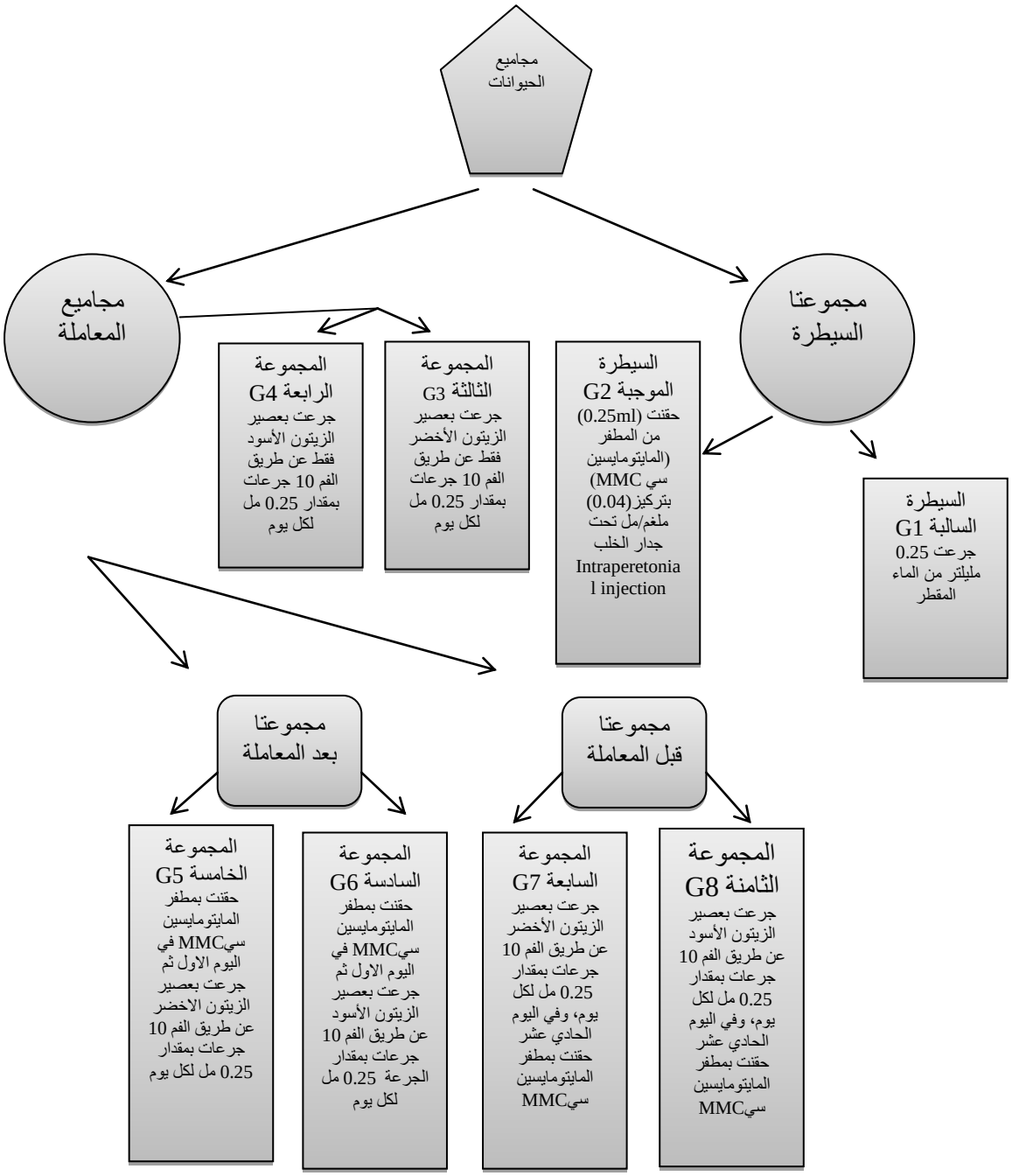
أدت العلاقة بين الغذاء والسرطان (بأن السرطان هو مرض يمكن أن يُمنع) إلى زيادة الدراسات التجريبية لفحص قدرة بعض المكونات الغذائية على تحفيز الطفرة أو تثبيطها، مما زاد من اكتشاف المكونات الغذائية التي تمنع المُطفِرات من تحفيز الطفرة أو الضرر الكروموسومي [5] أو تعالج الضرر ، اذ تعمل أكثر ميكانيكيات منع السرطان على تثبيط الطفرات على المستوى الخلوي [6] واعتمادا على هذه الأفكار وجدنا أن من الأهمية دراسة التأثيرات الوراثية الخلوية التي يحفزها كل من عصير الزيتون الاخضر والاسود الخام داخل الجسم وفعاليته الحيوية اتجاه عقار المايتومايسين سي MMC بوصفه مطفراً باستعمال اختبار فحص التغيرات الكروموسومية بالتقنية الكلاسيكية باعتماد صبغة كمزا، اذ تُمكن هذه التقنية من حساب كل خلية في الطور الاستوائي على حدة خلال الفحص المباشر ومعرفة الأنواع المختلفة من الضرر الكروموسومي [7] وكذلك استعمال اختبار فحص النوى الصغيرة اذ يمنح هذا الاختبار قياساً مباشراً لتكرار الانحرافات العددية للتراكيب الكروموسومية ويتمايز بالسرعة الكبيرة والسهولة في تحضير الشرائح وتحليل النتائج مقارنة بالاختبارات الاخرى [8]

المواد وطرائق العمل:

استعملت ذكور فئران بيضاء *Mus musculus* بعمر 6-8 اسابيع وبأوزان ما بين(25-27)غم.

*كلية العلوم للبنات/ قسم علوم الحياة
** مركز التقانة الاحيائية/جامعة النهرين

ثمار الزيتون تم غسلها وعصرها بجهاز كهربائي بعد ازالة النوى للحصول على العصير الخام ،وزع في قناني صغيرة وحفظ في الثلاجة الى حين الاستعمال. تم اجراء الدراسة لكلا الاختبارين بتجريع المجاميع بعصير الزيتون الاخضر او الاسود الخام فمويا بعد المعاملة post-treatment وقبل المعاملة pre-treatment بعقار MMC لتقييم القدرة العلاجية والوقائية لعصير الزيتون الخام ، ولتحضير الكروموسومات الجسمية لنقي العظم اتبعت طريقة [9] فحصت الشرائح تحت قوة العدسة الزيتية بتكبير(1000X)في 50 خلية متوقفة في الطور الاستوائي لتسجيل الانحرافات الكروموسومية .حيوانات الاختبار قسمت وجرعت بحسب المخطط الاتي:-



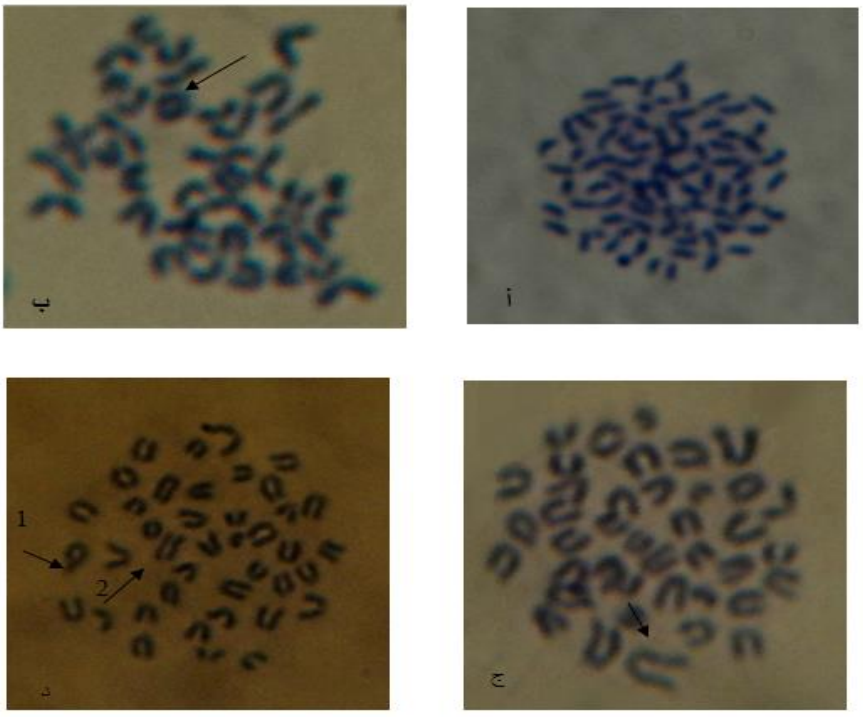
النتائج:

بينت نتائج الدراسة الحالية لاختبار الانحرافات الكروموسومية الموضحة في الجدول (1) عدم وجود فرق معنوي بين المجموعة المعاملة بعصير الزيتون الأخضر والأسود عن السيطرة السالبة التي بلغت (4.10 و3.77 و3.39 %) على التوالي. كما بينت نتائج اختبار الانحرافات الكروموسومية وجود ارتفاع معنوي في معدل الانحرافات الكروموسومية للمجموعة المعاملة بعقار MMC، إذ بلغت النسبة 25.66 % مقارنة بالسيطرة السالبة 3.39 %، وسجلت النتائج عددا من انواع الانحرافات (التي تضمنت الفجوات، الكسور الكروموسومية ،كسور كروماتيدية، كروموسومات حلقية ، فقدان، تعدد المجموعة الكروموسومية) والموضحة في الشكل (1). أما نتائج تأثير عصير الزيتون الأخضر و الأسود الخام بعد المعاملة بعقار MMC(post treatment) في معدل الانحرافات الكروموسومية Chromosome aberration فقد أظهرت انخفاضاً معنوياً في معدل الانحرافات الكروموسومية في مجموعتي المعاملة بعصيري الزيتون (الأخضر والأسود) التي بلغت (18.87 % و18.49 %) على التوالي مقارنة بالسيطرة الموجبة التي كانت 25.66 % ، وكانت نسبة التثبيط لفعل MMC 28.07% للزيتون الأخضر و 29.82 % للزيتون الأسود.

جدول (1) : الانحرافات الكروموسومية,(CAs) ونسبة التثبيط للانحرافات في نقي العظم للفئران المتجرعة بالعصير الخام للزيتون وتداخله مع عقار MMC (قبل وبعد).

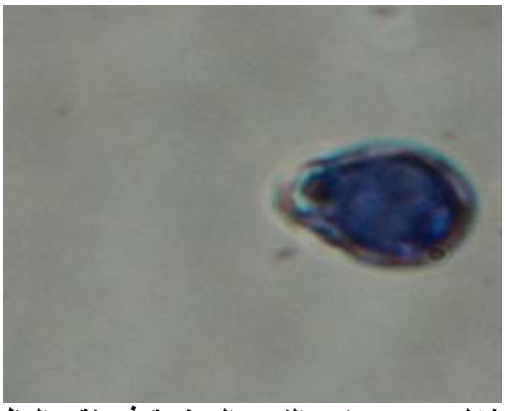
مجاميع الحيوانات	الانحرافات الكروموسومية(CAs)	
	النسبة المئوية المعدل ± الخطأ المعياري	نسبة التثبيط % المعدل +الخطأ المعياري
السيطرة السالبة	d 0.22 ± 3.39	-
السيطرة الموجبة	a 0.38 ± 25.66	-
عصير الزيتون الأخضر	d 0.09 ± 4.1	-
عصير الزيتون الأسود	d 0.44 ± 3.77	-
المعاملة بعد المطفر*	b 0.57 ± 18.87	b 0.04 ± 28.07
المعاملة بعد المطفر**	b 1.15 ± 18.49	b 0.47± 29.82
المعاملة قبل المطفر*	c 0.12 ± 13.21	a 0.22± 54.38
المعاملة قبل المطفر**	c 0.26 ± 12.46	a 0.58± 57.89
المعدل العام	1.62 ± 12.50	0.41±42.54

تدل الأحرف المختلفة على وجود فرق معنوي على احتمال ($p \leq 0.05$)
يدل الرمز(*) على المعاملة بعصير الزيتون الأخضر
يدل الرمز (**) على المعاملة بعصير الزيتون الأسود



شكل (1): التغيرات الكروموسومية المحفزة في نقي العظم للفئران، تبين(أ) تعدد كروموسومي polyploidy (ب) كروموسوم حلقي (ج) فجوة gap (د) :(1) كسر كروماتيدي ،(2) كسر عند المريكز. (1000 X)

اظهرت نتائج اختبار النوى الصغيرة الموضحة في الجدول (2) وجود فرق معنوي بين السيطرة الموجبة(2.11) وبين جميع المعاملات الاخرى والتي اختلفت معنويا فيما بينها.ان معدل النوى في مجموعة السيطرة والمجاميع المعاملة بعصير الزيتون الأخضر والاسود فقط لم تختلف معنويا مع بعضها اذ كانت (0.22، 0.25، 0.25) على التوالي ، اما المجاميع المعاملة بعصير الزيتون الاخضر والاسود قبل المطفر فاظهرت انخفاضا معنويا في معدل تكون النوى (0.8 ،0.72) عن المجاميع المعاملة بعصير الزيتون الاخضر والاسود بعد المطفر(1.28،1.15) وكذلك نسبة التثبيط في المجاميع المعاملة بعصير الزيتون الاخضر والاسود ازدادت معنويا قبل المطفر (69.31% ،73.55%) عن المجاميع المعاملة بالعصير بكلا نوعيه بعد المطفر(43.92%، 50.79 %) والشكل (2) يوضح خلية حمراء متعددة الكرماتين polychromatic erythrocyte تحتوي على نوية صغيرة .



شكل (2) يوضح النوى الصغيرة في نقي العظم للفار(1000X)

جدول (2): النسب المئوية للنوى الصغيرة في نقي العظم للفئران المجرعة بالعصير الخام للزيتون الاخضروالاسود وتداخله مع عقار المايتومايسين سي قبل وبعد التجريع بالمستخلصات.

مجاميع الحيوانات	النسبة المئوية للنوى الصغيرة % المعدل ± الخطأ المعياري	نسبة التثبيط % المعدل +الخطأ المعياري
السيطرة السالبة	d 0.01 ± 0.22	_
السيطرة الموجبة	a 0.06 ± 2.11	_
عصير الزيتون الاخضر	d 0.01 ± 0.25	_
عصير الزيتون الاسود	d 0.06 ± 0.25	_
المعاملة بعد المطفر*	b 0.07 ± 1.28	**b 0.05 ± 43.92**
المعاملة بعد المطفر**	b 0.04 ± 1.15	**0.02 ± 50.79 b**
المعاملة قبل المطفر*	c 0.09 ± 0.80	**0.07 ± 69.31 a**
المعاملة قبل المطفر**	c 0.02 ± 0.72	**0.04 ± 73.55 a**
المعدل العام	**0.07 ± 0.85**	**0.06 ± 59.39**

تدل الأحرف المختلفة على وجود فرق معنوي على احتمال ($p \leq 0.05$)
يدل الرمز(*) على المعاملة بعصير الزيتون الأخضر
يدل الرمز (**) على المعاملة بعصير الزيتون الأسود

المناقشة:

تأثير عصير الزيتون الأخضر و الأسود في معدل الانحرافات الكروموسومية Chromosome aberration و معدل النوى الصغيرة Micronuclei .

من خلال النتائج تبين عدم امتلاك عصير الزيتون الأخضر أو الأسود أي سمية على المادة الوراثية والخلايا وهذا ما بينته الجواري من عدم ظهور تأثير سمي للمستخلص المائي والفينولي لثمرة الزيتون في خلايا اناث الأرانب [10].

تأثير عقار MMC في معدل الانحرافات الكروموسومية Chromosome aberration و معدل النوى الصغيرة Micronuclei

يتم اعتماد MMC في كثير من الاختبارات الوراثية الخلوية داخل الجسم الحي(in vivo)لخواصه التطفيرية ولتأثيراته السمية التي تظهر على المادة الوراثية من الانقسام الأول الذي يلي المعاملة

جاءت النتائج موافقة لما جاءت به الحديدي إذ أن الارتفاع الكبير في معدل الانحرافات الكروموسومية ومعدل النوى الصغيرة لمجموعة السيطرة الموجبة يعود إلى التأثير السمي لعقار

MMC في المادة الوراثية للخلايا [11]، اذ يعمل MMC على تكوين أواصر تساهمية مع الكوانين في شريط الدنا DNA المفرد أو بين شريطي الدنا DNA المزدوجين ويعمل على اللاكلة الدنا alkylating DNAلاحتوائه على المجموعة الإكليلية alkylating agent وتكوين الجذور الحرة داخل الخلية [12] وبذلك يؤدي إلى تكوين كسور كروموسومية ومن ثم نشوء الطفرة. ومن الأضرار التي يسببها تبادل الكروموسومات الشقيقة SCEs وعدد من أنواع الانحرافات الكروموسومية (تتضمن الفجوات gaps ، الكسور الكروموسومية chromosome breaks، كسور كروماتيدية chromatid breaks، الفقدان deletion، الانتقال translocation ، تعدد المجموعة الكروموسومية polyploidy) [5] ويحث تكوين النوى الصغيرة في نقي عظم الفئران [13] ، وقد يؤثر MMC في أنظمة الإصلاح داخل الخلية وتعطيل مسارات إصلاح الأضرار في الدنا DNA من خلال تأثيره في الإنزيمات والبروتينات الخاصة بعملية الإصلاح، إذ يعمل على تثبيط بناء الرنا RNA والبروتين عند التراكيز العالية [12] وبذلك يزيد من معدل الأضرار.

تأثير التداخل بين عصير الزيتون الاخضر و الاسود الخام وعقار MMC في معدل الانحرافات الكروموسومية Chromosome aberration ومعدل النوى الصغيرة Micronuclei :

أ-تأثير عصير الزيتون الأخضر و الأسود الخام بعد المعاملة بعقارMMC (post treatment)

نستدل من النتيجة التي بينت الانخفاض المعنوي في معدل الانحرافات الكروموسومية ومعدل النوى الصغيرة للمجموعتين (المعاملة بعصير الزيتون الأخضر الخام والمعاملة بعصير الزيتون الأسود الخام) بعد MMC الفعل العلاجي الذي يوفره عصير الزيتون والذي قد يرجع إلى مكوناته والمركبات الفعالة الموجودة فيه ذات الخصائص الحيوية المهمة ومنها الخاصية المضادة للأكسدة. اذ تمتلك مركبات زيت الزيتون فعالية تثبيطيه لتحوير القواعد النيتروجينية لشريط الدنا الذي يسببه تحرر الجذور الحرة وتثبط عملية إضافة مجموعة النترات لقاعدة التايروسين [14]، كما ان الانخفاض المعنوي في CA % وMN % لمجموعة بعد المعاملة post treatment مقارنة بالسيطرة الموجبة المعاملة بعقار MMC فقط يدل على ان التقليل من الضرر لا يرجع إلى تأثير عمليات الإصلاح التي تجري بصورة طبيعية في الخلية وإنما كانت بسبب المركبات الفعالة للزيتون والتي أدت إلى زيادة كفاءة عمليات الإصلاح داخل الخلايا [15] .

ب- تأثير عصير الزيتون الاخضر و الاسود الخام قبل المعاملة بعقار MMC (pre- treatment)

نستدل من النتائج ان لعصير الزيتون الأخضر وعصير الزيتون الأسود تأثيراً وقائياً إذ عَمل على حماية الخلية والدناDNA من التدمير بفعل عقارMMC. وقد يرجع هذا التأثير الوقائي إلى تزويد عصير الزيتون الأخضر وعصير الزيتون الأسود الجسم بمضادات الأكسدة التي تتوسط عمليات اختزال مجاميع التأكسد وتمنع اقتراب العوامل المطفرة والمُسرطِنة من المحاور الأساس للدنا DNA [16]، إذ تعمل المركبات الفينولية على تحوير مستويات عمليات الأكسدة والعمليات المضادة للأكسدة في الجسم من خلال قدرتها على التفاعل مع المعادن الموجبة الشحنة مثل الحديد Fe^{+} والنحاس Cu^{++} التي تساعد على تكوين الجذور الحرة من خلال عملها كلابات ماسكة لهذه المعادن chelators agents [17]، وتعمل هذه المركبات كذلك على كنس الجذور وتثبيط أكسدة الدهون منخفضة الكثافة LDL وتكسير السلسلة المتفاعلة للبيروكسيد [18] ، وترجع قدرة المركبات متعددة الفينول على كنس الجذور الحرة وعملها كلابات ماسكة للايون المعدني في جزء منها الى وجود الجزيئة الفينولية Catechol moieties التي تعمل على تكوين معقد مع الايونات المعدنية مثل الحديد Fe^{+} في درجة حموضة 7.4 وتحفز التفاعل العكسي لبيروكسيد الهيدروجين لتكوين الهيدروكسيل OH^{-} [19] . وترجع هذه الفعاليات للمركبات الفينولية الرئيسة verbascoside [20]، hydroxytyrosol ، tyrosol، oleuropein، flavonoids والمركبات الأخرى مثل tocopherols والمركبات التربينية مثل oleanolic acid والمركبات الستيرولية مثل β-sitosterol والأحماض الدهنية غير المشبعة مثل oleic acid في ثمرة الزيتون[14]. يعمل مركب oleuropein كذلك موضعيا على حماية المركبات الغذائية الأخرى في الجسم ذات الخاصية المضادة للأكسدة مثل α-tocopherol (فيتامين C) من التجزؤ في الأمعاء مما يساعد على زيادة القدرة الكُلِّية المضادة للأكسدة [21]

جاءت هذه النتيجة موافقة مع ما جاء به Evangelista وجماعته من أن المعاملة بجرعة مفردة من الزيتون أو زيت الزيتون البكر قبل المعاملة قلل إحصائيا وبصورة معنوية من معدل الانحرافات الكروموسومية والخلايا غير الطبيعية المتوقفة في الطور الاستوائي المُحَفزة بوساطة عقار Cisptatin مقارنة بالسيطرة الموجبة المعاملة بعقار Cisptatin لوحده [22] .

المصادر:

1. Shoeb, M. 2006. Anticancer agents from medicinal plants. Bangladesh. *J. Pharmacol*. 1:35-41.

2. Khan, Y.; Panchal, S.; Vyas, N.; Butani, A. and Kumar, V. 2007. *Olea europaea:* A Phyto-Pharmacological Review. *Phcog. Rev*., 1:114 – 118.

3. Waterman, E. and Lockwood, B. 2007. Active components and clinical applications of olive oil. *Altern. Med. Rev*. 12(4):331-342.

4. Sousa, A.; Ferreira, I.C.F.R.; Calhelha, R.; Andrade, P.B.; Valentâo, P.; Seabra, R.; Estevinho, L.; Bento, A. and Pereira, J..A. 2006. Phenolic and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. *Bioorganic & Med. Chem.* 14:8533-8538.

5. Abo-Zeid, M.A. and Farghaly, A.A. 2009. The anti-mutagenic activity of piperine against Mitomycine C induced sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in mice. Nature and science. 7:72-78.

6. Mitscher, L.A.; Telikepalli, H.; McGhee, E. and Shankel, D.M. 1996. Natural antimutagenic agents. *Mutat. Res*. 350:143-152.

7. Hatayoglu, S. E. and Orta, T. 2007. Relationship Between radiation induced dicentric chromosome aberrations and micronucleus formation in human lymphocytes. J. Exp. Clin. Cancer Res. 26: 229-234.

8. Ribeiro, L.R.; Takahashi, C.S.; Erdtman, B.; Oliveira, S.V.; da Costa, C. T. A. and Gimmeter-Luz, M.C. 1993. Inter-Labrotary calibration program for the mouse micronucleus test. Rev. Brasil. Genet. 16:631-638.

9. Allen, J.W.; Shuler, C.F.; Mendes, R.W. and Latt, S.A. 1977. A simplified technique for in vivo of sister chromatid exchange using 5-bromodeoxy-uridine tables.Cytogenetics.18: 231-237.

10. Al-Jawari, S.A.A. 2009. Effect of aqueous and alchoholic extracts of fig(Ficus carica) and olive (Olea europaea) on some physiological and histological parameters in female rabbits. Ph. D. thesis. College of Science for Woman. Biology Dep, Baghdad University. Baghdad, Iraq.

11. Al Hadidi, I.H.H. 2011. Effect of crude extract of the fungus Agaricus bisporus on cancer and normal cell lines in vitro and in vivo. Ph. D. thesis. College of Science. Biology Dep, Al-Mustansiriyah University. Baghdad, Iraq.

12. Mao, Y., Varoglu, M. and Sherman, D. 1999. Molecular characterization and analysis of the biosynthetic mitomycin C from Streptomyces tavendulae NRR 2564. Chem. & Bio. 6:251-263.

13. Vilar, J.B.; Leite, K.R. and Chen, L. 2009. Antimutagenicity protection of Ginkgo biloba extract (Egb 761) against mitomycin C and cyclophosphamide in mouse bone marrow. Genetic and Molecular Research. 8: 328-333.

14. Lipnik-Štangelj, M.; Bučar-Miklavčič, M. and Butinar, B. 2006. Olive tree-the source of pharmacodynamically active substances. ANNALES. Ser. Hist. nat. 16: 231- 238.

15. Bronzetti, G. 1997.The role of antimutagenisis and anti carcinogenesis. J. Environ. Patho. Toxical & Oncol. 16:259-262.

16. Owen, R.W., Haubner, R., Wurtele, G., Hull, W.E., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H. 2004. Olives and olive oil in cancer prevention. Eur J Prev. 13:319-326.

17. Weinbrenner, T., Fitó, M., dela Torre, R., Saez, G.T., Rijken, P., Tormos, C., Coolens, S., Albaladejo, M.F., Abanades, S.,

Mechanisms J Nutr. 138:1411-1416.

20. Esposito, E.; Toso, R.D.; Pressi, G.; Bramanti, P.; Meli, R. and Cuzzocrea, S. 2010. Protective effect of verbascoside in activated C6 glioma cells: possible molecular mechanisms. Naunyn-Schmied Arch Pharmacol. 381:93–105.

21. Edgecombe, S.C.; Stretch, G.L. and Hayball, P.J. 2000. Oleuropein, antioxidant polyphenol from olive oil is poorly absorbed from isolated perfused rat intestine. J. Nutr. 130:2996-3002..

22. Evangelista, C.M.; Antunes, L.M.; Francescato, H.D. and Bianchi, M.L. 2004. Effects of the olive, extra virgin olive and Colona oils on cisplatin-induced clastogenesis in Wister rats. Food Chem. Toxicol. 42,1291-1297.

Schroder, H., Marrugat, J. and Covas, MI. 2004.Olive oil high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. J.Nut. 134:2314-2321.

18. Tuck, K.L.; Freeman, M.L.; Hayball, P.J.; Stretch, G.L. and Stupans, I. 2001. The In Vivo Fate of Hydroxytyrosol and Tyrosol, Antioxidant Phenolic Constituents of Olive Oil, after Intravenous and Oral Dosing of Labeled Compounds to Rats. J. Nutr. 131: 1993–1996.

19. Fabiani, R.; Rosignoli, P.; Bartdomer, A.D.; Fuccelli, R.; Servili, M.; Montedoro, G.F. and Morozzi, G. 2008. Oxidation DNA damage is prevented by extracts of olive phenolic compounds in human blood mononuclear cells and HL60 cells. Biochemichal Molecular and Genetic

Evaluation of the effectiveness of the crude juice of Olive (*Olea europaea*) in reducing the percentages of chromosomal aberration and micronuclei in albino mice

Batool A. Shihab* ***Maha B.Abdul-Rahman****

Saad M. Al-Nida**

*The Collage of Science for Women/Baghdad University

**** Al -Nahreen University, College of Science, Biotechnology, Department.

Abstract:

This research was carried out to evaluate the activity of crude juice of Olive on some cytogenetic parameters in mice like chromosomal aberration (CAs) and micronuclei formation(MN). The results showed that there was no significant difference between the crude juice (green and black)in CAs(3.77,4.10)and MN(0.25,0.25) in comparison with negative control (3.39,0.22)respectively. The interaction effect between the crude before and after treatment with mutagen MMC showed that the crude is one of the vital inhibitors of the mutagen by its ability in reducing the percentages of both the CAs and MN in bone marrow cells in mice.