

Effets de L'extrait Aqueux des Racines d'*Hymenocardia acida* (Euphorbiaceae) sur la Qualité du Sperme de Rats

Severin Koffi, Doctorant
Tianga Yaya Soro, Professeur
Kouassi Emile Bégin, Doctorant
N'Guessan Ernest Zougrou, Docteur
Georges Abizi, Doctorant
Allassane Koné, Doctorant
Koffi Kouakou, Professeur

UFR Biosciences, Université Felix Houphouët Boigny,
Abidjan, Côte d'voire

[Doi:10.19044/esj.2022.v18n24p248](https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n24p248)

Submitted: 14 March 2022

Accepted: 27 July 2022

Published: 31 July 2022

Copyright 2022 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Koffi S., Soro T.Y., Bégin K.E., Zougrou N.E., Abizi G., Koné A. & Kouakou K. (2022). *Effets de L'extrait Aqueux des Racines d'Hymenocardia acida (Euphorbiaceae) sur la Qualité du Sperme de Rats*. European Scientific Journal, ESJ, 18 (24), 248.

<https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n24p248>

Résumé

Les racines d'*Hymenocardia acida* sont utilisées dans la médecine traditionnelle africaine pour traiter principalement la dysfonction érectile. La présente étude vise à évaluer les effets de l'extrait aqueux des racines d'*Hymenocardia acida* sur la qualité du sperme de rats. Les différents composés chimiques de l'extrait aqueux des racines d'*Hymenocardia acida* ont été identifiés par des réactions en tube décrites dans la pharmacopée africaine. Deux groupes de quinze rats traités pendant 30 et 60 jours ont été répartis chacun en lot témoin, lot traité à 500 mg/kg et lot traité à 1000 mg/kg de poids corporel. La densité, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes ont été évaluées selon des méthodes standards. Le taux de testostérone et le tissu testiculaire ont été étudiés. Le tri phytochimique a révélé la présence de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins catéchiques, de saponosides, d'alcaloïdes et de stérols et polyterpènes. L'extrait a favorisé une augmentation significative ($P < 0.05$) du nombre de spermatozoïdes, des taux de spermatozoïdes mobiles et normaux dans l'épididyme caudal. Il a entraîné

également une augmentation significative ($P < 0.05$) du taux de la testostérone sérique et a favorisé l'accroissement des spermatozoïdes dans les tubes séminifères. Les racines d'*Hymenocardia acida* améliorent la qualité du sperme des rats. Cela pourrait être dû en grande partie à l'augmentation du taux sérique de la testostérone.

Mots-clés : *Hymenocardia acida*, Paramètres spermatiques

Effects of aqueous extract of *Hymenocardia acida* (Euphorbiaceae) roots on the quality of rat sperm

Severin Koffi, Doctorant
Tianga Yaya Soro, Professeur
Kouassi Emile Bégin, Doctorant
N'Guessan Ernest Zougrou, Docteur
Georges Abizi, Doctorant
Allassane Koné, Doctorant
Koffi Kouakou, Professeur

UFR Biosciences, Université Felix Houphouët Boigny,
Abidjan, Côte d'ivoire

Abstract

Hymenocardia acida roots are used in traditional African medicine to treat mainly erectile dysfunction. The present study aims to evaluate the effects of aqueous extract of *Hymenocardia acida* roots on the quality of rat sperm. The different chemical compounds of the aqueous extract of the roots of *Hymenocardia acida* were identified by tube reactions described in the African pharmacopoeia. Two groups of fifteen rats treated for 30 and 60 days were divided into control, 500 mg/kg and 1000 mg/kg body weight. Sperm density, motility and morphology were assessed by standard methods. Testosterone levels and testicular tissue were studied. Phytochemical sorting revealed the presence of polyphenols, flavonoids, catechic tannins, saponosides, alkaloids and sterols and polyterpenes. The extract promoted a significant ($P < 0.05$) increase in sperm count, motile and normal sperm rates in the caudal epididymis. It also caused a significant increase ($P < 0.05$) in serum testosterone levels and promoted the increase of spermatozoa in the seminiferous tubules. *Hymenocardia acida* roots improve sperm quality in rats. This could be due in large part to the increase in serum testosterone levels.

Keywords: *Hymenocardia acida*, Sperm parameters

Introduction

Hymenocardia acida (H. *Acida*) est une espèce végétale de la famille des Euphorbiaceae. C'est un arbuste dioïque, caducifolié, atteignant 6 à 10 m de haut et d'écorce lisse, brun pâle ou grise (Arbonnier, 2004). C'est une espèce de savane, fréquente dans le nord de la Côte d'Ivoire et au Burkina Faso et s'étendant jusqu'en Ouganda (Turiaux, 1943).

Les études ethnobotaniques ont montré qu'en Côte d'Ivoire, le décocté de l'écorce de tronc, de racine ou l'infusion des feuilles de *H. acida* s'ingère pour traiter les douleurs abdominales, la diarrhée, la dysenterie, les douleurs menstruelles, la stérilité féminine, les gonflements douloureux, la toux, les crises d'épilepsie et utilisé comme aphrodisiaque (Atindehou et al., 2004 ; Koné et al., 2005).

Des études chimiques sur différentes parties de *H. acida* ont révélés la présence d'alcaloïde, d'anthocyanine, d'anthraquinones, d'hydrates de carbones, de glycoside, cardiaques, de flavonoïdes, de phénols, de saponines, de stéroïdes, de tanins et de triterpenoïde (Sofidiya et al., 2009 ; Olotu et al., 2011).

Les études pharmacologiques réalisées sur *H. acida* ont montré que cette plante possède des activités anti-bactériennes, anti-oxydantes, antidiabétiques et anti inflammatoires (Hoet et al., 2004, Ogbunugafor et al., 2010).

La présente étude vise à évaluer les effets de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* sur la qualité du sperme de rats.

Méthodes

Matériel végétal

Les racines de *H. acida* ont été récoltées à Korhogo dans la région du Poro (Cote d'Ivoire). Un échantillon de cette plante est identifié au Centre National de Floristique de l'Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Cote d'Ivoire) sur la base de caractères taxonomiques et par comparaison directe avec le spécimen d'herbier N° 4CJ006089. Les racines de *H. acida* ont été débitées puis séchées dans une pièce à la température ambiante (28-30°C) pendant quatre semaines.

Matériel animal

Des rats de l'espèce *Rattus norvegicus* (Muridae), de la souche Wistar, âgés de 8 semaines et dont les poids sont compris entre 110 et 120 g sont utilisés. Ces animaux, tous de sexe mâle, proviennent du vivarium de l'Ecole Normale Supérieure (Abidjan, Cote d'Ivoire). Dans ce vivarium, la température moyenne est de 28 ± 2 °C avec une humidité relative de 60 % et une photopériode de 12/12. Les animaux ont été nourris avec une alimentation standard pour animaux d'expérimentation et ont reçu de l'eau à volonté.

Préparation de l'extrait aqueux des racines de H. acida

Trois cent gramme (300 g) de racine de H. acida sont mis à ébullition dans 1 L d'eau distillée durant 30 min dans un récipient en verre. Après refroidissement puis filtration sur du coton hydrophile et du papier Wattman, le décocté obtenu est lyophilisé (N'guessan et al., 2012). La poudre obtenue après lyophilisation constitue l'extrait aqueux des racines de H. acida.

Screening phytochimique

Les différents composés chimiques de l'extrait aqueux des racines de H. acida sont identifiés par des réactions en tube décrites dans la pharmacopée africaine (OUA, 1988).

Détection des stérols et polyterpènes

Ces composés sont recherchés par la réaction de Liebermann. Ainsi, cinq (5) mL de solution d'extrait sont évaporés sur bain de sable. Le résidu est dissout à chaud dans un (1) mL d'anhydride acétique. Une quantité de 0,5 mL d'acide sulfurique concentré est ajouté au triturât. L'apparition à l'interphase d'un anneau pourpre ou violet qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive.

Détection des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique ($FeCl_3$) a permis de caractériser les polyphénols. L'ajout d'une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique (2 %) à deux (2) mL de solution d'extrait provoque en présence de dérivés polyphénoliques, l'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée.

Détection des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont révélés par la réaction dite « à la cyanidine ». Ainsi, une quantité de deux (2) mL de solution d'extrait est évaporée et le résidu est repris dans cinq (5) mL d'alcool chlorhydrique dilué deux fois. L'ajout de deux à trois copeaux de magnésium provoque un dégagement de chaleur puis une coloration rose-violacée. L'addition de trois gouttes d'alcool isoamylique intensifie cette coloration qui confirme la présence des flavonoïdes.

Détection des tanins

Les tanins catéchiques sont recherchés à partir du réactif de Stiasny. Ainsi, une quantité de cinq (5) mL de solution d'extrait est évaporée à sec. Après l'ajout de 15 mL du réactif de Stiasny au résidu, le mélange est maintenu au bain-marie à 80° C pendant 30 minutes. L'observation d'un précipité en gros flocons indique la présence des tanins catéchiques dans l'extrait.

Les tanins galliques sont mis en évidence par l'ajout de trois gouttes de FeCl₃ au filtrat de cinq (5) mL de solution d'extrait et saturé d'acétate de sodium. L'apparition d'une coloration bleu-noir intense indique la présence des tanins galliques dans l'extrait.

Détection des substances quinoniques

Les substances quinoniques sont recherchées à partir du réactif de Bornstraëgen. Ainsi, une quantité de deux (2) ml de solution d'extrait est évaporée à sec. Le résidu est trituré dans cinq (5) mL d'acide chlorhydrique au 1/5. Le triturât est versé dans un tube à essais et porté ensuite au bain-marie pendant 30 minutes. Après refroidissement, 20 mL de chloroforme sont ajoutés. L'ammoniaque diluée deux fois (0,5 mL), ajoutée à la solution chloroformique révèle la présence de quinones en prenant une coloration rouge ou violette.

Détection des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont caractérisés à partir des réactifs de Burchard (réactif iodo-ioduré) et de Dragendorff (réactif à l'iodo-bismuthate de potassium). Ainsi, une quantité de six (6) mL de solution d'extrait sont évaporés à sec. Le résidu est repris par 6 ml d'alcool à 60°. L'addition de 2 gouttes du réactif de Dragendorff sur la solution alcoolique provoque un précipité ou une coloration orangée. L'ajout de deux gouttes du réactif de Burchard sur la solution alcoolique induit un précipité de coloration brun-rougeâtre caractéristique des alcaloïdes.

Détection des saponosides

Pour rechercher les saponosides, 15 mL de solution d'extrait sont versés dans un tube à essai de 15 cm de longueur et de 15 mm de diamètre. Le tube est secoué rigoureusement pendant 10 secondes et laissé au repos pendant 10 min. La persistance de la mousse à une hauteur de plus de trois (3) cm caractérise les saponosides.

Traitements des animaux

Deux (2) groupes de quinze (15) rats sont constitués en fonction des durées de traitement. Ainsi, l'extrait aqueux des racines de *H. acida* est administré quotidiennement aux rats par gavage pendant 30 jours (groupe I) et 60 jours (groupe II). Chaque groupe est subdivisé en 3 lots de 5 rats et traité comme suit :

Lot 1 : Témoin, a reçu de l'eau distillée ;

Lot 2 : Traité, à 500 mg/kg de poids corporel d'extrait aqueux des racines de *H. acida* ;

Lot 3 : Traité, à 1000 mg/kg de poids corporel d'extrait aqueux des racines de *H. acida*.

Après les traitements, les animaux sont anesthésiés afin de prélever les spermatozoïdes pour l'analyse des paramètres spermatiques. Des échantillons de sang sont récupérés dans des tubes secs pour le dosage de la testostérone. En outre, les testicules sont prélevés, pesés et fixés dans du formol 10% pour l'étude histologique.

Prélèvement des spermatozoïdes

Le prélèvement des spermatozoïdes est effectué au laboratoire de Biologie et Santé de l'Unité de Formation et de Recherche Biosciences de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY.

Les animaux sont anesthésiés à l'éther. La queue de l'épididyme gauche est prélevée par ouverture du scrotum, puis dilacérée dans 10 mL de NaCl 9‰ préalablement incubé dans un bain marie à 36 °C. Ainsi les spermatozoïdes diffusent dans la solution (Ngoula et al., 2007).

Motilité des spermatozoïdes

Une fine goutte de macérât de l'épididyme est déposée et étalée légèrement sur une lame porte-objet préalablement maintenue à 36°C. L'ensemble est monté sur un microscope photonique (Olympus CX31RBSF, Phillipine) au grossissement $\times 100$. Les spermatozoïdes sont filmés avec une caméra de marque AmScope (London, United Kingdom). Les spermatozoïdes mobiles et immobiles sont comptés ultérieurement sur 5 champs au hasard et le pourcentage des formes mobiles est déterminé (Zougrou et al., 2018).

Densité en spermatozoïde du sperme

Une goutte de macérât de l'épididyme est prélevée et déposée sur une cellule de Malassez puis recouverte d'une lamelle. Le dénombrement des spermatozoïdes est effectué au microscope photonique (Grossissement $\times 400$). Le nombre de spermatozoïdes par mm³ est estimé par la formule suivante (Sultan et al., 1982) :

$$N = \frac{X \times fd \times 10^6}{4}$$

X : Nombre de spermatozoïdes dénombrés dans 5 quadrillés de la cellule de Malassez

fd : Facteur de dilution (20)

N : Nombre de spermatozoïdes par mm³

Morphologie des spermatozoïdes

Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes comprennent la fusion, des têtes isolées et des têtes et/ou des queues déformées (OCDE 416, 2001). Deux cents (200) spermatozoïdes sont examinés en milieu liquide sur 3

champs au hasard. Le pourcentage des spermatozoïdes normaux est calculés (Linder et al., 1992).

Dosage de la testostérone

La testostérone est dosée à l'aide de l'automate Hitachi 902 (Japan) par la technique ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Etude histologique

L'étude histologique est effectuée selon la méthode décrite par Lamb (Lamb, 1981). Les testicules préalablement conservés dans du formol 10% ont subi des coupes d'une épaisseur de 4 µm à l'aide d'un microtome (Leica RM2125 RTS, Allemagne) après leur inclusion à la paraffine. Ils sont ensuite colorés à l'hématoxyline-éosine, fixés entre lame et lamelle avant d'être observés à l'aide d'un microscope photonique (Olympus CX31RBSF, Phillipine) muni d'un appareil photo.

Analyses statistiques

Les différentes valeurs obtenues sont exprimées sous la forme de moyenne suivie de l'erreur standard sur la moyenne ($M \pm ESM$). La signification des différences observées entre les différents groupes tests est appréciée par l'analyse des variances (ANOVA) du test de comparaison multiple de Turkey-Kramer via le logiciel GraphPad Prism 5.

Résultats

Screening phytochimique

Le tri phytochimique réalisé sur l'extrait aqueux des racines de *H. acida* a permis d'identifier les constituants chimiques à potentialité thérapeutique consignés dans le Tableau 2. L'extrait aqueux des racines de *H. acida* contient des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des saponosides, des alcaloïdes, des stérols et polyterpènes.

Tableau 1. Composition chimique de l'extrait aqueux des racines de *H. acida*.

Groupes chimiques	Résultats	
Stérols et Polyterpène	+	
Polyphénols	+	
Flavonoïdes	+	
Tanins	Galliques	-
	Catéchiques	+
Substance quininique	-	
Alcaloïdes	BOUCHARDAT	+
	DRAGENDORFF	+
Saponoside	+	

+ Présence ; - Absence

Effets de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* sur les paramètres spermatiques

La Figure 1 présente les densités, les taux de spermatozoïdes mobiles et normaux après 30 et 60 jours de traitement à l'extrait aqueux des racines de *H. acida*. L'extrait aqueux des racines de *H. acida* a favorisé au 30^{ème} jour de traitement des augmentations de 18 % et de 20 % du nombre de spermatozoïdes respectivement aux doses de 500 et 1000 mg/kg de PC par rapport au lot témoin. Cependant, ces variations ne sont pas significatives. Par contre, après 60 jours de traitement, l'extrait aqueux des racines de *H. acida* favorise une augmentation significative ($P < 0.01$) de 65 % du nombre de spermatozoïdes à la dose 1000 mg/kg de PC par rapport au lot témoin.

Une augmentation significative ($P < 0.05$) de 26 % des spermatozoïdes normaux est observée chez les rats traités pendant 30 jours avec les différentes doses de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* par rapport au lot témoin. Il est observé également une augmentation significative ($P < 0.05$) de 26 % de spermatozoïdes normaux après 60 jours de traitement avec 1000 mg/kg de PC d'extrait aqueux des racines de *H. acida* par rapport au lot témoin.

La dose de 1000 mg/kg de PC a entraîné une augmentation significative ($P < 0.05$) de 52 % de spermatozoïdes mobiles après 30 jours de traitement à l'extrait aqueux des racines de *H. acida* par rapport au lot témoin. De plus, il est observé des augmentations significatives de 40 % ($P < 0.01$) et 66 % ($P < 0.001$) de spermatozoïdes mobiles après 60 jours de traitement à l'extrait aqueux des racines de *H. acida* respectivement aux doses de 500 et 1000 mg/kg de PC par rapport au lot témoin.

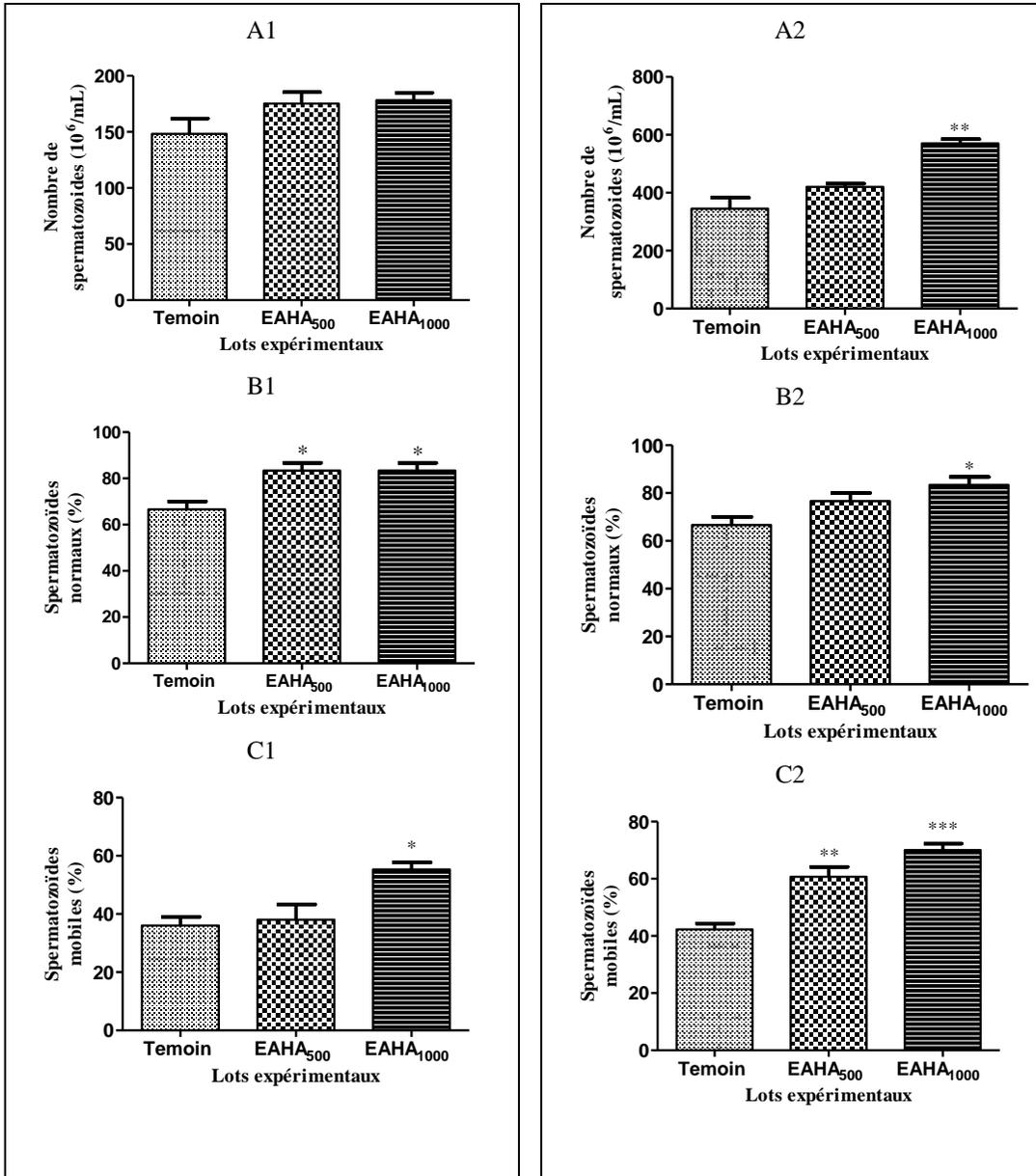


Figure 1: Effets de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* sur la concentration, la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes des rats après 30 et 60 jours de traitement

EAHA: Extrait aqueux des racines de *H. acida*

M±ESM; n = 5 ; *p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001

A1, B1 et C1: 30 jours de traitement; A2, B2 et C2: 60 jours de traitement

Effets de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* sur la concentration de la testostérone sérique

L'extrait aqueux des racines de *H. acida* favorise au 30ème jour de traitement une augmentation très significative ($P < 0,001$) de 130 % du taux sérique de testostérone à la dose de 1000 mg/kg de PC par rapport au lot témoin (Figure 2A). Il a été observé également au 60ème jour de traitement, des augmentations de 78 % et 151 % du taux sérique de la testostérone chez les animaux traités respectivement aux doses de 500 et 1000 mg/kg de PC par rapport au lot témoin (Figure 2B).

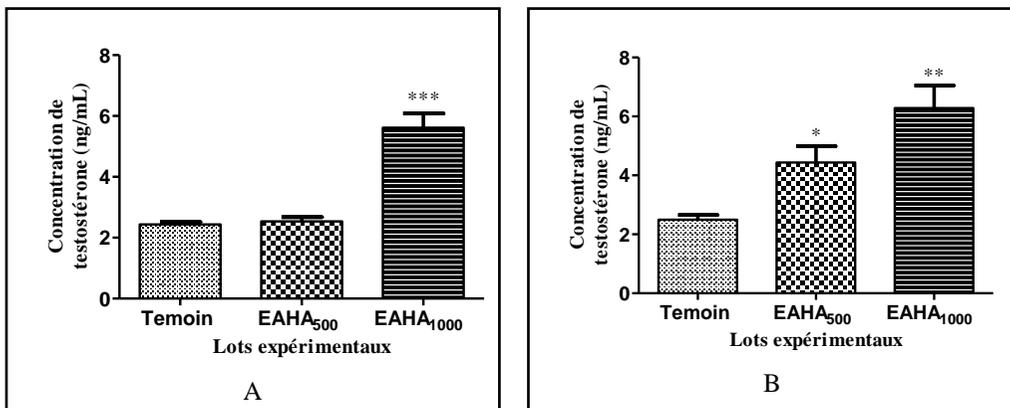


Figure 2: Effets de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* sur la concentration de la testostérone après 30 et 60 jours de traitement
EAHA: Extrait aqueux des racines de *H. acida*
 $M \pm \text{ESM}$; $n = 5$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$
30 jours de traitement; B. 60 jours de traitement

Effets de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* sur le tissu testiculaire

La Figure 3 présente les coupes transversales des testicules des animaux témoins et traités à l'extrait aqueux des racines de *H. acida* pendant 30 et 60 jours. Il est observé une augmentation du nombre de spermatozoïdes dans les tubes séminifères des rats traités avec l'extrait par rapport aux lots témoins.

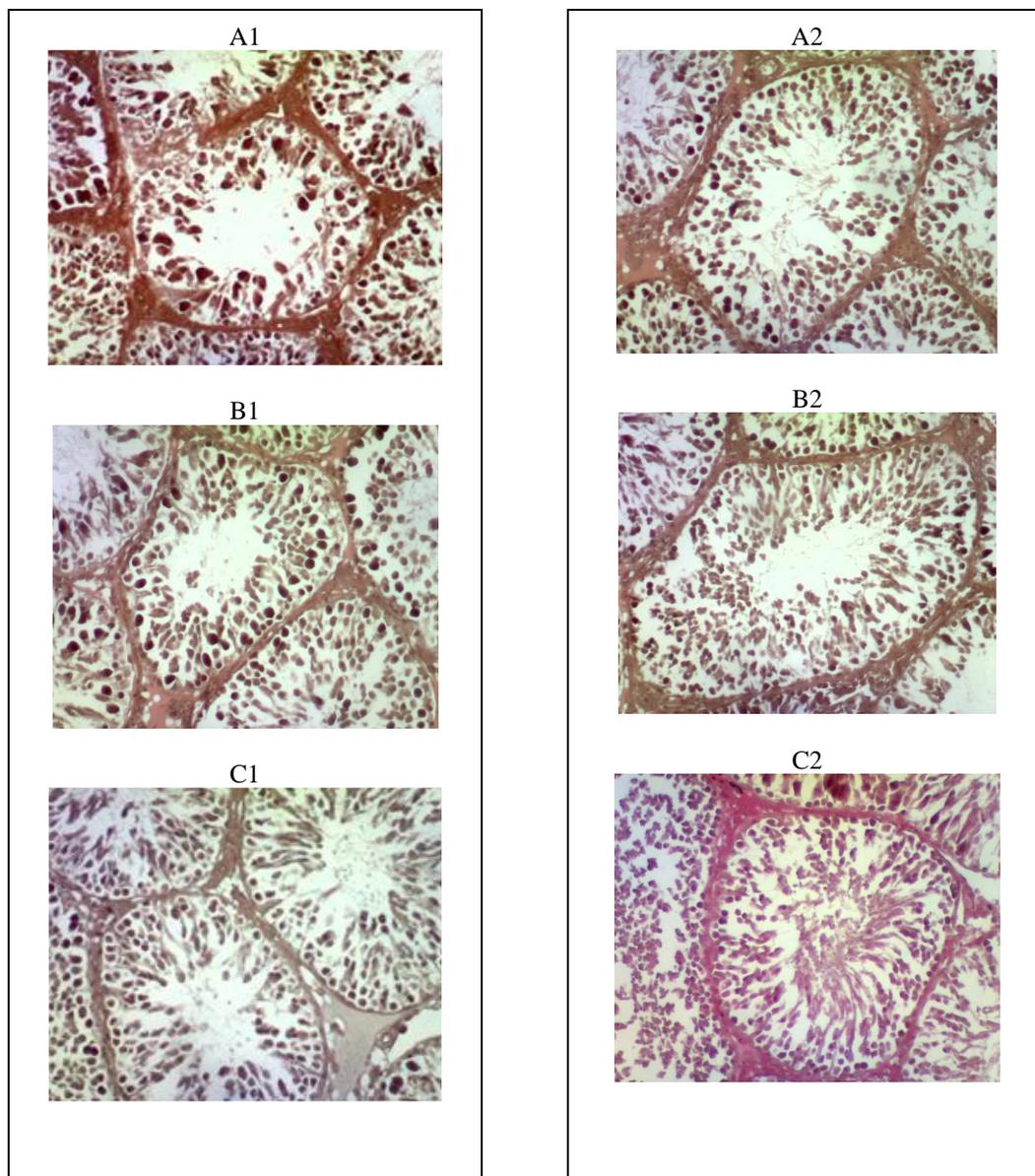


Figure 3. Microphotographie des coupes de testicules des rats après 30 et 60 jours de traitement.

A.Témoin; B. 500 mg/kg d'extrait aqueux des racines de *H. acida*; C. 1000 mg/kg d'extrait aqueux des racines de *H. acida*

A1, B1et C1: 30 jours de traitement; A2, B2et C2: 60 jours de traitement

Discussion

L'étude phytochimique de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* a révélé la présence de stérols et polyterpènes, de polyphénols, de flavonoïdes, de tanins catéchiques, d'alcaloïdes et de saponosides. Ce résultat corrobore

ceux de Sofidiya et al., (2009). Cependant, ces chercheurs ont également mis en évidence les substances quinoniques et les tanins galliques dans les feuilles de *H. acida*. Certains de ces composés chimiques tels que les saponosides et les flavonoïdes ont des effets bénéfiques sur le système reproducteur des mammifères. En effet, il est démontré que les saponosides ont la capacité de booster le taux de testostérone et de déclencher la libido (Gauthaman et Adaikan, 2008 ; Singh et Gupta, 2011). Les flavonoïdes, en plus de leurs fortes actions oestrogéniques, régulent la production des androgènes chez l'homme (Diel et al., 2004 ; Rimodi et al., 2007 ; Padashetty et Mishra, 2007).

La densité, la motilité et la morphologie des spermatozoïdes sont des indicateurs de la qualité du sperme et par conséquent, de la fertilité. Dans ce présent travail, le traitement des rats à l'extrait aqueux des racines de *H. acida* favorise une augmentation significative du nombre de spermatozoïdes dans l'épididyme caudal, avec un effet plus prononcé à la dose de 1000 mg/kg de PC après 60 jours de traitement. La densité en spermatozoïdes du sperme est considéré comme un paramètre important dans l'étude des effets des produits chimiques sur la spermatogenèse (Reddy et al., 1977). L'augmentation du nombre de spermatozoïdes observée après administration de l'extrait aqueux des racines de *H. acida* pourrait suggérer que les racines de *H. acida* améliorent la spermatogénèse. Certaines plantes comme *Fadogia andersonii* (Rubiaceae) et *Xylopiya aethiopica* (Annonaceae) améliorent également la spermatogénèse (Woode et al., 2011 ; Suleiman et al., (2014). Par contre, d'autres plantes à l'instar de *Terminalia bellirica* (Combretaceae) réduisent le nombre de spermatozoïdes (Sharangouda et al., 2010).

Le taux de motilité des spermatozoïdes s'est accru après traitement pendant 30 et 60 jours à l'extrait aqueux des racines de *H. acida*. L'augmentation du taux de la motilité des spermatozoïdes observée pourrait être due à une modification du microenvironnement dans l'épididyme caudal. Une étude antérieure a également montré que l'extrait éthanolique de *Polycarpaea corymbosa* (Caryophyllaceae) à la dose de 500 mg/kg de PC entraîne une augmentation du taux de la motilité des spermatozoïdes de l'épididyme caudal (Mohan et al., 2013).

En ce qui concerne la morphologie, le taux de spermatozoïdes normaux s'est accru significativement chez les rats traités avec l'extrait aqueux des racines de *H. acida*. Ces effets sont similaires à ceux de Mohan et al. qui ont observé une baisse du pourcentage de spermatozoïdes anormaux chez les rats traités à l'extrait aqueux des feuilles de *Polycarpaea corymbosa* (Caryophyllaceae) (Mohan et al., 2013).

L'augmentation du nombre de spermatozoïdes est en grande partie due à l'augmentation du taux de la testostérone sanguine (Etuk et Muhammad, 2009). Ainsi, l'augmentation significative du taux de la testostérone sérique

chez les rats traités avec l'extrait aqueux des racines de *H. acida* corrobore cette affirmation.

Comme les flavonoïdes et les saponosides, les alcaloïdes possèdent des activités androgéniques. Ces derniers entraînent la formation de l'androstènedione, hormone stéroïdes précurseur dans la biosynthèse de la testostérone (Rukundo, 2007).

Le tissu testiculaire des rats traités à l'extrait aqueux des racines de *H. acida* est plus dense en cellules germinales et somatiques suivant le traitement pendant 60 jours. Cela serait dû au taux élevé de testostérone chez les animaux traités. L'augmentation du niveau de testostérone pourrait résulter de l'action des cellules de Leydig mature sécrétrice de cette hormone. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par certains auteurs avec les extraits de *Orchis anatolica* (Orchidaceae) et de *Zingiber officinale* (Zingibéraceae) (Khouri et al., 2006 ; Bordbar et al., 2013).

Conclusion

En définitive, les racines d'*Hymenocardia acida* améliorent la qualité du sperme des rats. Cela pourrait être dû en grande partie à l'augmentation du taux sérique de la testostérone qui serait la conséquence des actions des flavonoïdes, des saponosides et des alcaloïdes.

Conflits d'intérêts:

Les auteurs ont déclaré qu'il n'existe pas de conflits d'intérêts.

References:

1. Arbonnier, M., (2004). Trees, shrubs and lianas of West African dry zones. CIRAD, Margraf Publishers GmbH, MNHN, Paris, France. 573 pp.
2. Atindehou, K.K., Schmid, C., Brun, R., Koné, M.W. & Traoré, D., (2004). Antitrypanosomal and antiplasmodial activity of medicinal plants from Côte d'Ivoire. *J Ethnopharmacol*, 90 (2): 221-227.
3. Bordbar, H., Esmailpour, T., Dehghani, F. & Panjehshahin, M.R., (2013). Stereological study of the effect of ginger's alcoholic extract on the testis in busulphan-induced infertility in rats. *Iran J Reprod Med*, 11 (6):467-472.
4. Diel, P., Geis, R. B., Caldarelli, A., Schmidt, S., Leschowsk, U. L., Voss, A. & Vollmer, G., (2004). The differential ability of the phytoestrogen genistein and of estradiol to induce uterine weight and proliferation in the rat is associated with a substance specific modulation of gene expression. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 22 (1-2) : 997-1006.

5. Etuk, E.U. & Muhammad, A.A., (2009). Fertility enhancing effects of aqueous stem bark extract of *Lophiralanceolata* in male Sparguedawley rats. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 1(1):001-004.
6. Gauthaman, K. & Adaikan, P. G., (2008). The hormonal effect of *Tribulus Terrestris* and role its role in the management of erectile dysfunction- an evaluation using primates rabbit and rats. *Phytomedicine*, 15 (1): 44- 54.
7. Hoet, Oppendoes, F., Brun, R., Adjakidje, V. & Quetin-Leclercq, J., (2004). *J Ethnopharmacol*, doi:10.1016/j.jep.2003.11.008
8. Khouri, N.A., Nawasreh, M., Al-Hussain, S.M. & Alkofahi, A.S. (2006). Effects of orchids (*Orchisanatolica*) on reproductive function and fertility in adult male mice. *Reprod Med Biol*, 5 :269-276.
9. Koné, W.M., Kamanzi, A.K., Traoré, D. & Bruno, B., (2005). Anthelmintic activity of medicinal plants used in northern Côte d'Ivoire against intestinal helminthiasis. *Pharmaceutical Biology*, 43(1): 72–78.
10. Lamb, GM. (1981). *Manual of Veterinary Laboratory Techniques in Kenya*. Ministry of livestock development/CIBAGEIGY, Basale: Switzerland: 93-107.
11. Linder, R.E., Strader, L.F., slott, V.L. & Suarez, J.D., (1992). Endpoints of Spermatoxicity in the Rat After Short Duration Exposures to Fourteen Reproductive Toxicants. *Reproductive Toxicology*, 6: 491-505.
12. Mohan, V. R., Balamurugan, K. & Sakthidevi, G., (2013). Fertility enhancement of *Polycarpaeacorymbosa*(L.) lam (caryophyllaceae) whole plant on male albino rats. *Asian J Pharm Clin Res*, (5): 151-155.
13. Ngoula, F., Watcho, P., Dongmo, M. C., Kenfack, A., Kamtchouing, P. & Tchamboué, J., (2007). Effects of Pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats. *African Health Science*, 7(1) : 3-9.
14. OCDE, 416, (2001).- Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques; Étude de toxicité pour la reproduction sur deux générations: 14p.
15. Ogbunugafor, H., Sofidiya, O., Okpuzor, J., Kemdilim, M., Anajekwe, B., & Ekechi A., (2010). *J Am Sci*, 6(2): 143-145.
16. N'guessan, K, Fofie, Y, Coulibaly, K, Kone, D, 2012. Evaluation de la toxicite aigue de *Boerhavia diffusa* chez la souris. *Agron Africaine*, 50 (1) :1-6.
17. OUA, (1988). Organisation de l'unité africaine/commission scientifique technique et de la recherché (OUA/CSTR), Pharmacopée

- africaine. Méthodes générales d'analyses. Première Ed., Lagos, Nigéria, 254 p.
18. Padashetty, S. A. & Mishra, S. H., (2007). Aphrodisiac studies of *Tricholepis glaberrima* with supportive action from antioxidant enzymes. *Pharm. Biol.*, (7): 580- 586.
 19. Reddy, C. M., Murthy, D. R. K. & Patil S. B., (1997). Antispermatic and androgenic activities of various extracts of *Hibiscus rosasinensis* in albino mice. *Indian. J. Exp. Biol.*, 35 (11):1170-1174.
 20. Rimoldi, G., Christoffel, J., Seidlova-Wuttke, D., Jarry, H. & Wuttke, W., (2007). Effects of chronic genistein treatment in Mammary gland, uterus, and vagina. *Environ. Health Perspect.*, 115 (1): 62-68.
 21. Rukundo, R., (2007). Contribution à l'étude androgénique de *Nauclea latifolia*. Thèse d'Etat de Docteur en médecine Vétérinaire (Sénégal), n°35.
 22. Sharangouda, J.P., Satishgouda, S., Vishwanatha, T. & Patil, S.B., (2010). Effect of *Terminalia bellirica* barks extracts on activities of accessory reproductive in male rats. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 1(2) :75-79.
 23. Singh, S. & Gupta, Y. K., (2011). Aphrodisiac activity of *Tribulus terrestris* Linn. In experimental models in rats. *J Men's Health*. 8(1): 575-577.
 24. Sofidiya, M.O., Odukoya, O.A., Afolayan A.J. & Familoni, O.B., (2009). Contenu phénolique, activités antioxydantes et antibactériennes d'*Hymenocardia acida*. *Nat Prod Res*, 23: 168-177.
 25. Suleiman, I., Mabrouk, M.A. & Alhassan, A.W., (2014). Effect of aqueous root extract of *Fadogia andersonii* on sperm count and motility in adult male Wistar rats. *Ann Biol Sci*, 2(4) : 33-36.
 26. Sultan, C., Priolet, G., Benzard, Y., Rosa, R. & Josso, F., (1982). *Technique en hématologie 2ème édition*. Flammarion Medicine/Sciences, 15-32.
 27. Turiaux, L., (1943). Tanins végétaux du Katanga. *Bull. Agr. Congo belge*, 33, 245-54, 1942 et 34, 160.
 28. Woode, E., Alhassan, A. & Abaidoo, C.S., (2011). Effect of ethanolic fruit extract of *Xylopias aethiopicus* on reproductive function of male rats. *Int J Pharm Biomed Res*, 2(3):161-165.
 29. Zougrou, N.E., Blahi, A.N., Kouassi, K.D. & Kouakou, K., 2018. - Effects of the Aqueous Extract of *Cnestis ferruginea* on the Histological Structure of Female Rat Ovary and Uterine Horns. *Journal Of Scientific & Technical Research*, 2(1) : 2073-2078.