

The comparative study of aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis* on reproductive parameters of male Wistar albino rats

Estudo comparativo dos extractos aquoso e metanólico de sementes de *Irvingia gabonensis* nos parâmetros reprodutivos de ratos albinos Wistar machos

M. O. Olukowi  & M. O. Oyeyemi 

Keywords: *Irvingia gabonensis*, testis, epididymis, testosterone, male reproduction, semen

Palavras-chave: *Irvingia gabonensis*, testículo, epidídimo, testosterona, reprodução masculina, sêmen

To Cite:

Olukowi, M. O. & Oyeyemi, M. O. (2025) The comparative study of aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis* on reproductive parameters of male Wistar albino rats. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 22(1), 1-15.

 <https://doi.org/10.19277/bbr.22.2.363>

Faculty of Veterinary Medicine, Department of Theriogenology, University of Ibadan, Ibadan, Oyo state, Nigeria

Correspondence to / Correspondência a:
olmofetoluwa@gmail.com

Received / Recebido: 16/03/2025
Accepted / Aceite: 13/08/2025

Abstract

This study investigates the comparative effects of aqueous and methanolic *Irvingia gabonensis* (IG) seed extracts on male reproductive parameters in Wistar rats, addressing the gap in phytochemical and reproductive toxicity data. Forty-eight male Wistar rats were randomized into six groups (n=8): control (distilled water), vehicle (10% DMSO), aqueous extracts (200 mg/kg and 400 mg/kg), and methanolic extracts (200 mg/kg and 400 mg/kg). Animals received a single oral dose and were observed for 14 days. Reproductive parameters assessed included sperm motility, count, morphology, testicular and epididymal biometrics, and histological analysis of the testes. Phytochemical composition of the extracts was analyzed to compare bioactive compounds. Sperm characteristics remained unaffected across all treatment groups ($p > 0.05$). Methanolic extract groups showed a significant increase ($p < 0.05$) in testicular and epididymal weights, with no observable histological lesions. Aqueous extract groups showed no significant changes in reproductive indices. Phytochemical analysis revealed differences between the two extracts, suggesting possible bioavailability variations. *Irvingia gabonensis* seed extracts, particularly at 200 mg/kg, showed no adverse effects on male reproductive health. The results support the safe use of 200 mg/kg aqueous and methanolic extracts in animal model, with further research recommended to determine optimal dosages for human consumption.

Resumo

Este estudo investiga os efeitos comparativos dos extratos aquosos e metanólicos de sementes de *Irvingia gabonensis* (IG) nos parâmetros reprodutivos masculinos em ratos Wistar, abordando a lacuna nos dados fitoquímicos e de toxicidade reprodutiva. Quarenta e oito ratos Wistar machos foram randomizados em seis grupos (n = 8): controlo (água destilada), veículo (10% DMSO), extratos aquosos (200 mg/kg e 400 mg/kg) e extratos metanólicos (200 mg/kg e 400 mg/kg). Os animais receberam uma dose oral única e foram observados durante 14 dias. Os parâmetros reprodutivos avaliados incluíram motilidade, contagem e morfologia espermática, biometria testicular e epididimária e análise histológica dos testículos. A composição fitoquímica dos extratos foi analisada para comparar os compostos bioativos. As características espermáticas permaneceram inalteradas em todos os grupos de tratamento ($p > 0,05$). Os grupos com extrato metanólico apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) nos pesos testicular e epididimário, sem lesões histológicas observáveis. Os grupos com extrato aquoso não apresentaram alterações significativas nos índices reprodutivos. A análise fitoquímica revelou diferenças entre os dois extratos, sugerindo possíveis variações na biodisponibilidade. Os extratos de sementes de *Irvingia gabonensis*, particularmente a 200 mg/kg, não mostraram efeitos adversos na saúde reprodutiva masculina. Os resultados apoiam o uso seguro de extratos aquosos e metanólicos a 200 mg/kg em modelos animais, com recomendações para pesquisas adicionais para determinar as dosagens ideais para consumo humano.

Introduction

Irvingia gabonensis Baill., commonly called African bush mango or wild (bush) mango, is a tropical tree of the family *Irvingiaceae* indigenous to West and Central Africa. The species is economically and nutritionally important: its kernels (often called dika nut or dika seed) are widely used as a condiment and soup-thickener, and the fruit and kernels contribute to local food security and trade (1). Proximate and physicochemical analyses indicate that the kernels are energy-dense, with a high lipid fraction (reported in many studies between ~50–70% of dry weight), appreciable protein content and dietary fiber, and a composition that justifies their culinary and functional roles in local diets (2,3).

Beyond nutrition, *I. gabonensis* has a long history of ethnomedicinal applications. Traditional uses reported across West and Central Africa include remedies for gastrointestinal complaints (diarrhea, dysentery), inflammatory conditions, wound healing, and oral hygiene, with various plant parts (bark, leaves, stems, and seeds) used in different preparations (4). Experimental pharmacology has substantiated several of these traditional claims: extracts of *I. gabonensis* exhibit antioxidant, antimicrobial, hypoglycemic, hypolipidemic and anti-inflammatory activities in vitro and in vivo (5,6,7). Clinical and human trial data (e.g., studies of IGOB131) report body weight and lipid-lowering effects in overweight subjects, although outcomes vary with preparation and duration (8).

Phytochemical investigations reveal that *I. gabonensis* seeds and other parts contain diverse secondary metabolites flavonoids, phenolic acids, tannins, saponins, terpenoids, and alkaloids which likely mediate many of its biological effects. Contemporary reviews emphasize both the therapeutic promise and the need for standardized extraction/characterization of active components, as well as additional safety and long-term studies (7,8,9,10,11).

However, its impact on male reproductive health remains underexplored. Studies on other medicinal plants have assessed their reproductive effects on male albino Wistar rats to determine safety or therapeutic potential (12,13,14).

Introdução

Irvingia gabonensis Baill., comumente chamada de manga africana ou manga selvagem (do mato), é uma árvore tropical da família *Irvingiaceae*, nativa da África Ocidental e Central. A espécie é importante do ponto de vista econômico e nutricional: seus grãos (frequentemente chamados de nozes dika ou sementes dika) são amplamente utilizados como condimento e espessante de sopas, e os frutos e grãos contribuem para a segurança alimentar e o comércio local (1). Análises centesimais e físico-químicas indicam que as sementes são ricas em energia, com uma elevada fração lipídica (relatada em muitos estudos entre ~50-70% do peso seco), teor apreciável de proteínas e fibra alimentar, e uma composição que justifica os seus papéis culinários e funcionais nas dietas locais (2,3).

Além da nutrição, a *I. gabonensis* tem uma longa história de aplicações etnomedicinais. Os usos tradicionais relatados na África Ocidental e Central incluem remédios para queixas gastrointestinais (diarreia, disenteria), condições inflamatórias, cicatrização de feridas e higiene oral, com várias partes da planta (casca, folhas, caules e sementes) utilizadas em diferentes preparações (4). A farmacologia experimental comprovou várias destas alegações tradicionais: os extratos de *I. gabonensis* exibem atividades antioxidantes, antimicrobianas, hipoglicemiantes, hipolipemiantes e anti-inflamatórias in vitro e in vivo (5,6,7). Dados clínicos e de ensaios em humanos (por exemplo, estudos do IGOB131) relatam efeitos na redução do peso corporal e dos lípidos em indivíduos com excesso de peso, embora os resultados variem com a preparação e a duração (8).

Investigações fitoquímicas revelam que as sementes e outras partes da *I. gabonensis* contêm diversos metabolitos secundários, como flavonóides, ácidos fenólicos, taninos, saponinas, terpenóides e alcalóides, que provavelmente medeiam muitos de seus efeitos biológicos. Revisões contemporâneas enfatizam tanto a promessa terapêutica quanto a necessidade de extração/caracterização padronizada dos componentes ativos, bem como estudos adicionais de segurança e de longo prazo (7,8,9,10,11).

No entanto, o seu impacto na saúde reprodutiva masculina continua a ser pouco explorado. Estudos sobre outras plantas medicinais avaliaram os seus efeitos reprodutivos em ratos Wistar albinos machos para determinar a segurança ou o potencial terapêutico (12,13,14).

Reproductive toxicity is a key area of concern when evaluating the safety of plant-based extracts, particularly those with traditional medicinal applications. Certain phytochemicals have been reported to interfere with hormonal regulation, spermatogenesis, and testicular histology, leading to impaired fertility (15). Given the increasing use of herbal supplements, it is essential to determine whether this extract poses reproductive risks. Previous studies have primarily focused on its effects on the liver and gonads; for example, an ethanolic extract of *I. gabonensis* administered to rats was shown to have degenerative effects on both the liver and testis at high doses (16). However, there remains a gap in understanding its specific impact on male reproductive health.

This study was therefore designed to investigate the comparative effects of aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis* on reproductive functions in male Wistar albino rats. Specifically, it aimed to evaluate semen characteristics, sperm morphology, testicular and epididymal biometrics, and histological changes in the testes.

Materials and Methods

Study Location

The study location was the Laboratory Animal House of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Ibadan, Nigeria (17).

Seed collection and Extract preparation

Irvingia gabonensis seeds were harvested from the University of Ibadan Botanical Garden and authenticated at the Department of Botany Herbarium (Voucher No: UIH-23201).

Aqueous extract: The seeds were dried at 40 °C for 48 hours, pulverized, and 300 g of the powder was soaked in 1.5 L of distilled water at room temperature for 48 hours with occasional shaking. The mixture was filtered using Whatman No.1 filter paper, and the resulting filtrate was evaporated to dryness in an oven set at 45–50 °C. The dried extract was scraped, weighed, and stored at 4 °C. The yield by weight was 30%.

A toxicidade reprodutiva é uma área de preocupação fundamental na avaliação da segurança dos extratos à base de plantas, particularmente aqueles com aplicações medicinais tradicionais. Foi relatado que certos fitoquímicos interferem na regulação hormonal, na espermatogênese e na histologia testicular, levando à diminuição da fertilidade (15). Dado o uso crescente de suplementos à base de plantas, é essencial determinar se este extrato apresenta riscos reprodutivos. Estudos anteriores concentraram-se principalmente nos seus efeitos no fígado e nas gónadas; por exemplo, um extrato etanólico de *I. gabonensis* administrado a ratos mostrou ter efeitos degenerativos tanto no fígado como nos testículos em doses elevadas (16). No entanto, ainda há uma lacuna na compreensão do seu impacto específico na saúde reprodutiva masculina.

Este estudo foi, portanto, concebido para investigar os efeitos comparativos dos extratos aquosos e metanólicos das sementes de *Irvingia gabonensis* nas funções reprodutivas de ratos albinos Wistar machos. Especificamente, teve como objetivo avaliar as características do sêmen, a morfologia dos espermatozoides, a biometria testicular e epididimária e as alterações histológicas nos testículos.

Materiais e métodos

Local do estudo

O local do estudo foi o Laboratório de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Ibadan, Nigéria (17).

Recolha de sementes e preparação do extrato

As sementes de *Irvingia gabonensis* foram colhidas no Jardim Botânico da Universidade de Ibadan e autenticadas no Departamento de Botânica Herbário (Voucher No: UIH-23201).

Extrato aquoso: As sementes foram secas a 40 °C durante 48 horas, pulverizadas e 300 g do pó foram imersos em 1,5 L de água destilada à temperatura ambiente durante 48 horas, agitando ocasionalmente. A mistura foi filtrada utilizando papel de filtro Whatman n.º 1 e o filtrado resultante foi evaporado até à secura num forno regulado para 45-50 °C. O extrato seco foi raspado, pesado e armazenado a 4 °C. O rendimento em peso foi de 30%.

Methanolic extract: Similarly, 300 g of pulverized seed powder was soaked in 1.5 L of methanol for 72 hours with intermittent agitation. The mixture was filtered, and the methanol filtrate was evaporated to dryness using a rotary evaporator at 45–50 °C. The residue was collected, weighed, and stored at 4 °C. The yield by weight was 15%.

Phytochemical Analysis

Phytochemical screening was conducted to detect the presence of key secondary metabolites, including alkaloids, flavonoids, steroids, saponins, terpenoids, and glycosides, using standard procedures as described by (18). Specifically, Wagner's and Meyer's reagents were used for alkaloids, ferric chloride for flavonoids, the Salkowski test for steroids, the frothing test for saponins, sulfuric acid and chloroform for terpenoids, and the Keller-Killian test for glycosides.

These phytochemicals were assessed due to their known biological and therapeutic roles, particularly in human dietary consumption and reproductive health (19).

In vivo Experiments

Forty-eight (48) healthy, mature male Wistar albino rats (3 months old, 160–300 g) were obtained from the Faculty of Veterinary Medicine animal unit, University of Ibadan. Rats were housed in plastic cages (60 cm diameter, 20 cm depth) with wood shaving bedding (changed every 3 days). They received 21% protein, 3.5% fat, 6% fiber, and 0.8% phosphorus commercial rat feed, with water provided *ad libitum*.

Ethical Approval

All procedures adhered to the Animal Ethics Procedures and Guidelines and were approved by the University of Ibadan Animal Care and Use Research Ethics Committee (UI-ACUREC/115-1121/2).

Study Design

The study followed OECD Guideline 420 for acute oral toxicity testing, modified to evaluate reproductive toxicity endpoints (20).

Extrato metanólico: Da mesma forma, 300 g de pó de sementes pulverizadas foram imersos em 1,5 L de metanol durante 72 horas, com agitação intermitente. A mistura foi filtrada e o filtrado de metanol foi evaporado até à secura utilizando um evaporador rotativo a 45–50 °C. O resíduo foi recolhido, pesado e armazenado a 4 °C. O rendimento em peso foi de 15%.

Análise fitoquímica

Foi realizada uma análise fitoquímica para detectar a presença de metabolitos secundários importantes, incluindo alcalóides, flavonóides, esteróides, saponinas, terpenóides e glicosídeos, utilizando procedimentos padrão, conforme descrito por (18). Especificamente, foram utilizados reagentes de Wagner e Meyer para alcalóides, cloreto férrico para flavonóides, o teste de Salkowski para esteróides, o teste de espuma para saponinas, ácido sulfúrico e clorofórmio para terpenóides e o teste de Keller-Killian para glicosídeos.

Esses fitoquímicos foram avaliados devido às suas funções biológicas e terapêuticas conhecidas, particularmente no consumo alimentar humano e na saúde reprodutiva (19).

Experiências in vivo

Quarenta e oito (48) ratos Wistar albinos machos saudáveis e adultos (3 meses de idade, 160–300 g) foram obtidos da unidade animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Ibadan. Os ratos foram alojados em gaiolas de plástico (60 cm de diâmetro, 20 cm de profundidade) com cama de aparas de madeira (trocada a cada 3 dias). Receberam ração comercial para ratos com 21% de proteína, 3,5% de gordura, 6% de fibra e 0,8% de fósforo, com água fornecida *ad libitum*.

Aprovação ética

Todos os procedimentos seguiram as Diretrizes e Procedimentos Éticos para Animais e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa para Cuidados e Uso de Animais da Universidade de Ibadan (UI-ACUREC/115-1121/2).

Desenho do estudo

O estudo seguiu a Diretriz 420 da OCDE para testes de toxicidade oral aguda, modificada para avaliar os parâmetros de toxicidade reprodutiva (20).

Rats were randomly assigned to 6 groups (n=8):

Group A: Control (100% distilled water)

Group B: Vehicle control (90% distilled water + 10% DMSO)

Group C: Aqueous extract (200 mg/kg)

Group D: Aqueous extract (400 mg/kg)

Group E: Methanolic extract (200 mg/kg)

Group F: Methanolic extract (400 mg/kg)

DMSO (10%) was used as a solvent control to match the methanolic extract formulation.

The sample size was determined based on power analysis ($\alpha = 0.05$, power = 0.8) using effect sizes from previous studies in similar models. Ethical justification for the sample size used (n=8 per group) was reviewed and approved by our Institutional Animal Care and Use Committee.

The animals (n=8 per group) were sacrificed after 14 days to assess acute effect, including potential disruptions to spermatogenesis and testicular histoarchitecture (21)

Animal Sacrifice and Sample Collection

The animals were anesthetized with chloroform for 5 minutes, followed by cervical dislocation, and a mid-caudoventral abdominal incision was made with sterilized scissors, permitting access to the testis and epididymis as described by (22).

Semen Collection and Analysis

Semen was collected from the caudal epididymis and analyzed using modified Wells and Awa methods (22).

Semen Characteristics

Sperm Motility: Determined on a warm slide (37°C) mixed with 2.9% sodium citrate under 40x magnification. Only progressive forward-moving sperm were counted (22).

Live/Dead Ratio: Assessed using Eosin-Nigrosine stain. Dead sperm absorbed the dye, appearing darker (22).

Os ratos foram aleatoriamente distribuídos em 6 grupos (n=8):

Grupo A: Controlo (100% água destilada)

Grupo B: Controlo do veículo (90% de água destilada + 10% de DMSO)

Grupo C: Extrato aquoso (200 mg/kg)

Grupo D: Extrato aquoso (400 mg/kg)

Grupo E: Extrato metanólico (200 mg/kg)

Grupo F: Extrato metanólico (400 mg/kg)

O DMSO (10%) foi utilizado como controlo solvente para corresponder à formulação do extrato metanólico.

A dimensão da amostra foi determinada com base na análise de potência ($\alpha = 0,05$, potência = 0,8) utilizando os tamanhos dos efeitos de estudos anteriores em modelos semelhantes. A justificação ética para a dimensão da amostra utilizada (n = 8 por grupo) foi revista e aprovada pela nossa Comissão Institucional de Cuidados e Utilização de Animais.

Os animais (n = 8 por grupo) foram sacrificados após 14 dias para avaliar o efeito agudo, incluindo potenciais perturbações na espermatogénese e na histoarquitetura testicular (21)

Sacrifício de animais e coleta de amostras

Os animais foram anestesiados com clorofórmio durante 5 minutos, seguido de deslocamento cervical, e foi feita uma incisão abdominal médio-caudoventral com tesoura esterilizada, permitindo o acesso aos testículos e epidídimos, conforme descrito por (22).

Recolha e análise de sémen

O sémen foi recolhido da cauda do epidídimo e analisado utilizando os métodos Wells e Awa modificados (22).

Características do sémen

Motilidade espermática: determinada em uma lâmina aquecida (37 °C) misturada com citrato de sódio a 2,9% sob ampliação de 40x. Apenas os espermatozoides com movimento progressivo para a frente foram contados (22).

Relação vivos/mortos: avaliada utilizando coloração com eosina-nigrosina. Os espermatozoides mortos absorveram o corante, parecendo mais escuros (22).

Sperm Count: Measured using a Neubauer hemocytometer. Semen was diluted with normal saline before counting sperm heads within 5 large squares under 40x magnification (22).

Sperm Morphology: Sperm smears were stained with Wells and Awa stain, and abnormalities (bent heads, coiled tails) were evaluated in 600 sperm cells across multiple fields.

Testicular and Epididymal biometry

Testicular and epididymal weight were measured on a sensitive electronic weighing scale. The testicular diameter and length were also measured using a digital Vernier calliper (23).

Histological Examination

Testicular and epididymal samples were fixed in Bouin's fluid, embedded in paraffin, sectioned at 5 µm thickness, and stained with Hematoxylin and Eosin (H&E).

Histological features were examined under a bright-field Olympus BX63 microscope at 40x and 100x magnification for tubular atrophy, spermatogenesis, and interstitial space changes.

Data Analysis

Data was analyzed by descriptive statistics using one-way Analysis of Variance (ANOVA), and the mean, standard deviation, and coefficients of variation and regression were calculated and compared using the Duncan Multiple Range Test (DMRT) at a 5% probability level on the IBM SPSS 20.0 statistical package.

Results

Phytochemical composition of aqueous and methanolic seed extracts of Irvingia gabonensis

The result obtained (Table 1) showed that the quality of flavonoids, tannins, cardiac glycosides, and phenol was higher in the methanolic seed extract of *Irvingia gabonensis* (MSEIG) than the aqueous seed extract of *Irvingia gabonensis* (ASEIG), whereas alkaloids and cardiac glycosides were absent in the ASEIG. Anthraquinones, terpenoids, and saponins were

Contagem de espermatozoides: medida utilizando um hemocitômetro de Neubauer. O sémen foi diluído com solução salina normal antes da contagem das cabeças dos espermatozoides em 5 quadrados grandes sob ampliação de 40x (22).

Morfologia dos espermatozoides: As lâminas de esperma foram coradas com corante Wells e Awa, e as anomalias (cabeças dobradas, caudas espiraladas) foram avaliadas em 600 espermatozoides em vários campos.

Biometria testicular e epididimária

O peso testicular e epididimário foi medido numa balança eletrônica sensível. O diâmetro e o comprimento testicular também foram medidos utilizando um paquímetro digital Vernier (23).

Exame histológico

As amostras testiculares e epididimárias foram fixadas em fluido de Bouin, embebidas em parafina, seccionadas com 5 µm de espessura e coradas com Hematoxilina e Eosina (H&E).

As características histológicas foram examinadas sob um microscópio Olympus BX63 de campo claro com ampliação de 40x e 100x para análise da atrofia, espermatogênese e alterações no espaço intersticial.

Análise de dados

Os dados foram analisados através de estatística descritiva e de análise de variância unidirecional (ANOVA). As médias, os desvios-padrão e os coeficientes de variação (e de regressão, quando aplicável) foram calculados e comparados pelo teste de comparações múltiplas de Duncan (DMRT), considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), no software estatístico IBM SPSS, versão 20.0.

Resultados

Composição fitoquímica do extrato aquoso e metanólico das sementes de Irvingia gabonensis

O resultado obtido (Tabela 1) mostrou que a qualidade dos flavonóides, taninos, glicosídeos cardíacos e fenol era superior no extrato metanólico de sementes de *Irvingia gabonensis* (EMSIG) comparativamente ao extrato aquoso de sementes de *Irvingia gabonensis* (EASIG), enquanto os alcalóides e glicosídeos cardíacos estavam ausentes no EASIG. Antraquinonas,

Table 1 - Phytochemical composition of aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis*
Tabela 1 - Composição fitoquímica dos extratos aquoso e metanólico de sementes de *Irvingia gabonensis*

PHYTOCHEMICALS / FITOQUÍMICAS	AQUEOUS SEED EXTRACT (ASEIG / EASIG) mg/g	METHANOLIC SEED EXTRACT (MSEIG / EMSIG) mg/g
Alkaloids / Alcalóides	ND	0.5
Flavonoids / Flavonoides	0.7	2.3
Tannins / Taninos	0.8	2.1
Cardiac glycosides / Glicosídeos cardíacos	ND	2.5
Anthraquinones / Antraquinonas	0.5	0.7
Terpenoids / Terpenóides	0.6	0.8
Saponins / Saponinas	0.6	0.7
Phenol / Fenol	0.9	2.0
Steroids / Esteróides	ND	ND

ND - Not Detected / Não Detectado

present in both extracts with close values. Steroids were not detected in either extract.

Semen Characteristics of the male albino rats treated with aqueous and methanolic seed extracts of Irvingia gabonensis on Day 14 post-treatment.

The results obtained on Day 14 (Figures 1 and 2) showed no statistically significant differences ($p > 0.05$) in percentage sperm motility across all treatment groups compared to the control groups.

Similarly, no significant changes ($p > 0.05$) were observed in sperm viability across the groups. Minor variations in mean values - such as those noted in Groups C, D, E, and F - were not statistically significant and are likely within the expected range of biological variability.

There were also no statistically significant differences ($p > 0.05$) in sperm count among the groups. While some treatment groups showed slightly higher mean values compared to the control, these differences do not indicate a definitive treatment effect.

terpenóides e saponinas estavam presentes em ambos os extratos com valores próximos. Não foram detectados esteróides em nenhum dos extratos.

Características do sémen dos ratos albinos machos tratados com extratos aquosos e metanólicos de sementes de Irvingia gabonensis no 14.º dia após o tratamento.

Os resultados obtidos no dia 14 (Figuras 1 e 2) não mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) na percentagem de motilidade espermática em todos os grupos de tratamento em comparação com os grupos de controlo.

Da mesma forma, não foram observadas alterações significativas ($p > 0,05$) na viabilidade espermática entre os grupos. Variações menores nos valores médios - como as observadas nos Grupos C, D, E e F - não foram estatisticamente significativas e provavelmente estão dentro da faixa esperada de variabilidade biológica.

Também não houve diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) na contagem de espermatozoides entre os grupos. Embora alguns grupos de tratamento tenham apresentado valores médios ligeiramente mais elevados em comparação com o controlo, estas diferenças não indicam um efeito definitivo do tratamento.

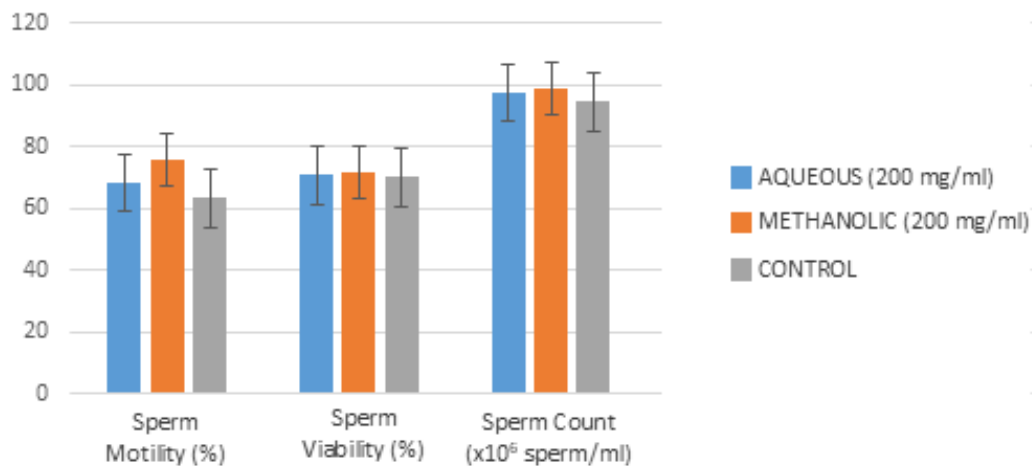


Figure 1 - Semen characteristics (sperm motility, viability, and count) of the male albino rats treated with aqueous and methanolic (200 mg/kg) seed extracts of *Irvingia gabonensis* on Day 14 post-treatment. Values are reported as mean $\pm$ SEM. No statistically significant differences ($p > 0.05$) were observed between the aqueous and methanolic groups across all parameters (sperm motility, viability, and count), as indicated by overlapping error bars.

Figura 1 - Características do sêmen (motilidade, viabilidade e contagem de espermatozoides) dos ratos albinos machos tratados com extratos aquosos e metanólicos (200 mg/kg) de sementes de *Irvingia gabonensis* no dia 14 após o tratamento. Os valores são apresentados como média $\pm$ SEM. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os grupos aquoso e metanólico em todos os parâmetros e es (motilidade, viabilidade e contagem de espermatozoides), conforme indicado pelas barras de erro sobrepostas.

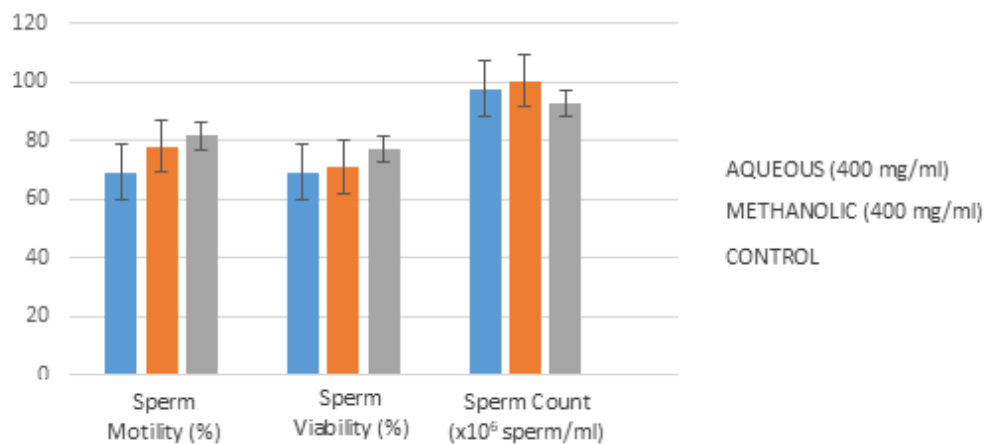


Figure 2 - Semen characteristics (sperm motility, viability, and count) of the male albino rats treated with aqueous and methanolic (400 mg/kg) seed extracts of *Irvingia gabonensis* on Day 14 post-treatment. Values are reported as mean $\pm$ SEM. No statistically significant differences ($p > 0.05$) were observed between the aqueous and methanolic groups across all parameters (sperm motility, viability, and count), as indicated by overlapping error bars.

Figura 2 - Características do sêmen (motilidade, viabilidade e contagem de espermatozoides) dos ratos albinos machos tratados com extratos aquosos e metanólicos (400 mg/kg) de sementes de *Irvingia gabonensis* no dia 14 após o tratamento. Os valores são apresentados como média $\pm$ SEM. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os grupos aquoso e metanólico em todos os parâmetros e es (motilidade, viabilidade e contagem de espermatozoides), conforme indicado pelas barras de erro sobrepostas.

Table 2 - Sperm morphology abnormalities of the male albino rats treated with aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis* Day 14 post-treatment.

Tabela 2 - Anomalias na morfologia dos espermatozoides dos ratos albinos machos tratados com extractos aquosos e metanólicos de sementes de *Irvingia gabonensis* no dia 14 após o tratamento.

GROUP / GRUPO	GROUP A (control for aqueous)	GROUP D (400 mg/kg ASEIG)	GROUP B (control for methanol)	GROUP E (200 mg/kg MSEIG)	GROUP F (400 mg/kg MSEIG)
Bent tail / Cauda curvada	3.33 ± 0.88 ^a	3.75 ± 1.25 ^a	4.33 ± 0.67 ^a	4.00 ± 1.00 ^a	6.67 ± 1.67 ^a
Looped tail / Cauda enrolada	2.67 ± 1.20 ^a	3.50 ± 0.96 ^a	6.00 ± 0.58 ^a	4.80 ± 1.59 ^a	6.67 ± 0.89 ^a
Coiled tail / Cauda espiralada	1.33 ± 0.33 ^a	5.00 ± 1.68 ^a	2.33 ± 1.45 ^a	3.00 ± 1.55 ^a	4.00 ± 1.00 ^a
Abnormal mid-piece / Parte central anormal	1.00 ± 0.58 ^a	1.50 ± 1.19 ^a	1.67 ± 0.89 ^a	1.80 ± 0.92 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
Rudimentary Tail / Cauda rudimentar	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a
Headless tail / Cauda sem cabeça	2.00 ± 1.00 ^a	3.25 ± 0.63 ^a	2.67 ± 0.33 ^a	3.80 ± 0.49 ^a	5.00 ± 0.00 ^a
Tailless head / Cabeça sem cauda	0.00 ± 0.00 ^a	0.25 ± 0.25 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	0.00 ± 0.00 ^a	1.67 ± 1.67 ^a
Total abnormal cell / Total de células anormais	10.33 ± 2.84 ^a	17.25 ± 1.38 ^a	17.00 ± 1.53 ^a	17.40 ± 2.54 ^a	24.00 ± 2.08 ^b
Percentage Abnormality % / Porcentagem de anomalia %	2.57 ± 0.72 ^a	4.20 ± 0.32 ^a	4.17 ± 0.38 ^a	4.22 ± 0.59 ^a	5.63 ± 0.46 ^b
Total cell count / Contagem total de células	405.70 ± 2.91 ^a	410.30 ± 3.12 ^a	411.70 ± 5.49 ^a	409.80 ± 3.20 ^a	424.00 ± 5.86 ^a

Values are reported as mean ± SEM; abc: Means in the same row with different superscript differ significantly (p<0.05) / Os valores são apresentados como média ± SEM; abc: As médias na mesma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p<0,05)

Sperm morphology abnormalities of the male albino rats treated with aqueous and methanolic seed extracts of Irvingia gabonensis on Day 14 post-treatment

The results presented in Table 2 show no statistically significant differences ($p > 0.05$) in most sperm morphology abnormalities, including bent, looped, and coiled tails, across the treatment groups compared to the control groups. Although Group F (400 mg/kg methanolic extract) showed a significant increase ($p < 0.05$) in total abnormal sperm cells compared to the control, all other observed variations in sperm morphology and total sperm cell count were not statistically significant and fall within the normal variability of the assay.

Testicular and Epididymal biometry of the male albino rats treated with aqueous and methanolic seed extracts of Irvingia gabonensis on Day 14 post-treatment

There were no statistically significant differences in mean body weight and epididymal biometric values across all groups. Observed variations, including increases in left testis length, right testis length, and

Anomalias morfológicas do esperma dos ratos albinos machos tratados com extratos aquosos e metanólicos de sementes de Irvingia gabonensis no 14.º dia após o tratamento

Os resultados apresentados na Tabela 2 não mostram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) na maioria das anomalias morfológicas do esperma, incluindo caudas dobradas, enroladas e em espiral, entre os grupos de tratamento em comparação com os grupos de controlo. Embora o Grupo F (400 mg/kg de extrato metanólico) tenha apresentado um aumento significativo ($p < 0,05$) no total de espermatozoides anormais em comparação com o controle, todas as outras variações observadas na morfologia espermática e na contagem total de espermatozoides não foram estatisticamente significativas e estão dentro da variabilidade normal do ensaio.

Biometria testicular e epididimária de ratos albinos machos tratados com extratos aquosos e metanólicos de sementes de Irvingia gabonensis no 14.º dia após o tratamento

Não houve diferenças estatisticamente significativas na média do peso corporal e nos valores biométricos epididimários em todos os grupos. As variações observadas, incluindo aumentos no comprimento do

Table 3 - Testicular and epididymal biometry of the male albino rats treated with aqueous and methanol seed extracts of *Irvingia gabonensis* on Day 14 post-treatment.**Tabela 3** - Biometria testicular e epididimária dos ratos albinos machos tratados com extractos aquosos e metanólicos de sementes de *Irvingia gabonensis* no dia 14 pós-tratamento.

GROUP / GRUPO	GROUP A (control for aqueous)	GROUP C (200 mg/kg ASEIG)	GROUP D (400 mg/kg ASEIG)	GROUP B (control for methanol)	GROUP E (200 mg/kg MSEIG)	GROUP F (400 mg/kg MSEIG)
Body Weight (g) / Peso corporal (g)	276.70 ± 13.33	278.00 ± 11.58	262.50 ± 11.09	273.30 ± 8.82	256.00 ± 13.27	286.70 ± 6.67
Left Testis Weight (g) / Peso do testículo esquerdo (g)	1.38 ± 0.08	1.34 ± 0.08	1.36 ± 0.06	1.46 ± 0.03	1.31 ± 0.03	1.35 ± 0.01
Right Testis Weight (g) / Peso do testículo direito (g)	1.37 ± 0.06	1.33 ± 0.05	1.31 ± 0.05	1.40 ± 0.06	1.29 ± 0.07	1.44 ± 0.02
Left Testis Length (mm) / Comprimento do testículo esquerdo (mm)	16.21 ± 2.13	18.21 ± 0.36	18.34 ± 0.46	18.49 ± 0.22	18.87 ± 0.34	19.20 ± 0.41
Right Testis Length (mm) / Comprimento do testículo direito (mm)	16.93 ± 0.60 ^a	17.95 ± 0.36 ^a	18.13 ± 0.49 ^a	18.81 ± 0.23 ^a	18.77 ± 0.17 ^a	19.52 ± 0.28 ^b
Left Testis Diameter (mm) / Diâmetro do testículo esquerdo (mm)	9.28 ± 0.25	9.57 ± 0.47	9.35 ± 0.28	9.40 ± 0.21	10.01 ± 0.20	10.38 ± 0.48
Right Testis Diameter (mm) / Diâmetro do testículo direito (mm)	9.49 ± 0.29	9.31 ± 0.27	9.78 ± 0.16	9.45 ± 0.19	10.27 ± 0.24	10.44 ± 0.38
Epididymis Weight (g) / Peso do epidídimo (g)	0.52 ± 0.01	0.60 ± 0.08	0.65 ± 0.04	0.74 ± 0.01	0.69 ± 0.05	0.71 ± 0.05

Values are reported as mean ± SEM; abc: Means in the same row with different superscript differ significantly (p<0.05) / Os valores são apresentados como média ± SEM; abc: As médias na mesma linha com diferentes sobrescritos diferem significativamente (p<0,05)

left testis diameter in Groups C and D, were within assay variability and are not biologically meaningful.

A significant increase (p < 0.05) was observed only in the right testis length of Groups E and F compared to the control.

Testicular histology of the male albino rats treated with aqueous and methanolic seed extracts of Irvingia gabonensis on Day 14 post-treatment

The histology section of the testes and epididymis of the rats showed no observable lesions (Figure 3).

testículo esquerdo, comprimento do testículo direito e diâmetro do testículo esquerdo nos Grupos C e D, estavam dentro da variabilidade do ensaio e não são biologicamente significativas.

Um aumento significativo (p < 0,05) foi observado apenas no comprimento do testículo direito dos grupos E e F em comparação com o controle.

Histologia testicular de ratos albinos machos tratados com extratos aquosos e metanólicos de sementes de Irvingia gabonensis no 14.º dia após o tratamento

A secção histológica dos testículos e epidídimo dos ratos não apresentou lesões observáveis (Figura 3).

Histology sections of the testes of the rats (Figure 3) in the control groups (A and B) showed normal seminiferous tubules and interstices on Day 14 post-treatment.

The morphology of the testes of the male rats that were given aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis* did not appear different from that of the control rats.

No pathological lesions were apparent in the seminiferous epithelia or the interstitial spaces of the testis (Figure 3) of the male rats that received different doses.

Discussion

The study was designed to assess the comparative effects of aqueous and methanolic seed extract of *Irvingia gabonensis* on reproductive parameters of the male albino Wistar rats. The findings demonstrate solvent- and dose-dependent effects on sperm quality, testicular morphology, and body weight, with implications for the pharmacological use of these extracts.

As secções histológicas dos testículos dos ratos (Figura 3) nos grupos de controlo (A e B) mostraram túbulos seminíferos e interstícios normais no dia 14 após o tratamento.

A morfologia dos testículos dos ratos machos que receberam extratos aquosos e metanólicos de sementes de *Irvingia gabonensis* não parecia diferente da dos ratos de controlo.

Não foram observadas lesões patológicas no epitélio seminífero ou nos espaços intersticiais dos testículos (Figura 3) dos ratos machos que receberam diferentes doses.

Discussão

O estudo foi concebido para avaliar os efeitos comparativos dos extratos aquoso e metanólico de sementes de *Irvingia gabonensis* nos parâmetros reprodutivos de ratos Wistar albinos machos. Os resultados demonstram efeitos dependentes do solvente e da dose na qualidade do esperma, morfologia testicular e peso corporal, com implicações para o uso farmacológico desses extratos.

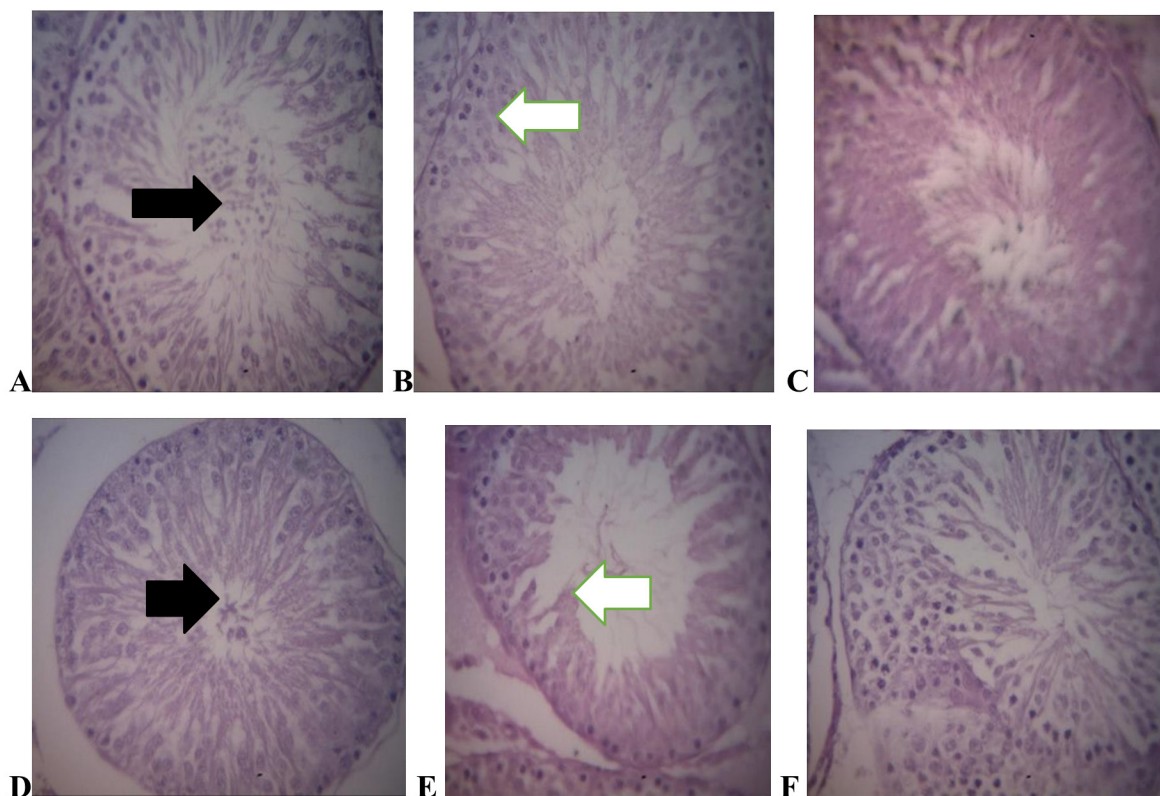


Figure 3 - Testicular histology of the male albino rats treated with aqueous and methanolic seed extracts of *Irvingia gabonensis* on Day 14 post-treatment. Black arrow - seminiferous tubule; White arrow - sperm cells.
Figura 3 - Histologia testicular de ratos machos albinos tratados com extratos aquosos e metanólicos de sementes de *Irvingia gabonensis* ao 14.º dia após o tratamento. Seta preta – túbulo seminífero; Seta branca – espermatozoides

Phytochemical analysis of aqueous and methanolic seed extract of *Irvingia gabonensis* revealed the presence of flavonoids, tannins, anthraquinones, terpenoids, saponins, and phenol. Cardiac glycosides and alkaloids were not detected in the aqueous seed extract and the steroids were not detected in either seed extract. This differs from previously published phytochemical analyses (18). This can be a result of changes in geographical location and the season when the seed was collected. (24,25). Flavonoids, abundant in *I. gabonensis*, are well-documented antioxidants with anti-inflammatory and anti-aging properties that may contribute to fertility enhancement by protecting reproductive cells from oxidative damage (25,26). These properties align with the antioxidant activities observed in aqueous and ethanolic extracts of *I. gabonensis* (26,27).

No significant changes in sperm motility, viability, or concentration were observed in treated groups compared to controls at Day 14 post-treatment. These findings are consistent with studies on other plant extracts rich in flavonoids and saponins, which maintain sperm viability without adverse effects (28).

A significant increase in sperm abnormalities was noted in the 400 mg/kg MSEIG group, exceeding the 20% threshold considered normal (29). This indicates potential reproductive toxicity at higher methanolic extract doses, possibly due to toxic metabolites or oxidative imbalance.

MSEIG-treated groups exhibited significant weight loss on Day 1, consistent with known weight-reducing effects of *I. gabonensis* linked to its high soluble fiber and phytochemical content (26,28). By Day 14, body weight had stabilized, suggesting metabolic adaptation. Testicular histology showed no lesions in treated groups, contrasting with reports of ethanolic seed extract-induced testicular damage (16). This difference may be due to solvent-dependent extraction of bioactive compounds.

Notably, right testis length increased significantly in methanolic extract groups, correlating with sperm count trends, though not significantly. This may indicate compensatory hypertrophy or transient fluid retention.

A análise fitoquímica do extrato aquoso e metanólico das sementes de *Irvingia gabonensis* revelou a presença de flavonóides, taninos, antraquinonas, terpenóides, saponinas e fenol. Glicosídeos cardíacos e alcalóides não foram detectados no extrato aquoso das sementes e os esteróides não foram detectados em nenhum dos extratos das sementes. Isso difere das análises fitoquímicas publicadas anteriormente (18). Isto pode ser resultado de mudanças na localização geográfica e na estação do ano em que a semente foi colhida. (24,25). Os flavonóides, abundantes em *I. gabonensis*, são antioxidantes bem documentados com propriedades anti-inflamatórias e antienvelhecimento que podem contribuir para o aumento da fertilidade, protegendo as células reprodutivas dos danos oxidativos (25,26). Estas propriedades estão em consonância com as atividades antioxidantes observadas nos extratos aquosos e etanólicos de *I. gabonensis* (26,27).

Não foram observadas alterações significativas na motilidade, viabilidade ou concentração do esperma nos grupos tratados em comparação com os controles no 14.º dia após o tratamento. Esses resultados são consistentes com estudos sobre outros extratos vegetais ricos em flavonóides e saponinas, que mantêm a viabilidade do esperma sem efeitos adversos (28).

Um aumento significativo nas anomalias espermáticas foi observado no grupo que recebeu 400 mg/kg de EMSIG, excedendo o limite de 20% considerado normal (29). Isso indica uma potencial toxicidade reprodutiva em doses mais elevadas do extrato metanólico, possivelmente devido a metabolitos tóxicos ou desequilíbrio oxidativo.

Os grupos tratados com EMSIG apresentaram perda de peso significativa no dia 1, consistente com os efeitos conhecidos de redução de peso da *I. gabonensis*, associados ao seu alto teor de fibra solúvel e fitoquímicos (26,28). No dia 14, o peso corporal estabilizou, sugerindo adaptação metabólica. A histologia testicular não mostrou lesões nos grupos tratados, contrastando com relatos de danos testiculares induzidos pelo extrato etanólico de sementes (16). Esta diferença pode ser devida ao fato da extração de bioativos ser dependente do solvente.

Notavelmente, o comprimento do testículo direito aumentou significativamente nos grupos tratados com extrato metanólico, correlacionando-se com as tendências da contagem de espermatozoides, embora não de forma significativa. Isso pode indicar hipertrofia compensatória ou retenção transitória de líquidos.

Limitations

The study focuses exclusively on male rats, and the potential reproductive effects in females were not explored. Future studies should investigate whether similar effects occur in female reproductive physiology, particularly regarding ovarian function, hormone regulation, and fertility outcomes.

Conclusion

Aqueous extracts (single administration) of *Irvingia gabonensis* seeds appear to be safe for the male reproductive system. The methanolic extracts of *I. gabonensis* seeds here studied exhibited dose-dependent adverse effects on male reproductive parameters, with high-dose methanolic extracts inducing sperm abnormalities.

Acknowledgements

This study was supported with monetary assistance by supervisors in University of Ibadan and family.

Authors' contributions

M. O. Oyeyemi was the project leader. M. O. Olukowi was responsible for the experimental design of the project and carried out most of the experiments.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no financial or personal relationships which may have inappropriately influenced them in writing this article.

Limitações

O estudo concentra-se exclusivamente em ratos machos, e os potenciais efeitos reprodutivos em fêmeas não foram explorados. Estudos futuros devem investigar se efeitos semelhantes ocorrem na fisiologia reprodutiva feminina, particularmente no que diz respeito à função ovárica, regulação hormonal e resultados de fertilidade.

Conclusão

Os extratos aquosos (administração única) das sementes de *Irvingia gabonensis* parecem ser seguros para o sistema reprodutor masculino. Os extratos metanólicos das sementes de *I. gabonensis* aqui estudados exibiram efeitos adversos dependentes da dose nos parâmetros reprodutivos masculinos, com extratos metanólicos em altas doses induzindo anomalias espermáticas.

Agradecimentos

Este estudo contou com o apoio monetário dos supervisores da Universidade de Ibadan e da família.

Contribuição dos autores

M. O. Oyeyemi foi o líder do projeto. M. O. Olukowi foi responsável pela concepção experimental do projeto e realizou a maior parte das experiências.

Conflitos de interesses

Os autores declaram não ter relações financeiras ou pessoais que possam ter influenciado indevidamente a redação deste artigo.

References / Referências

1. Ayuk, E. T., Duguma, B., Franzel, S., Kengue, J., Mollet, M., Tiki-Manga, T., & Zenkeng, P. (1999). Uses, management and economic potential of *Irvingia gabonensis* in the humid lowlands of Cameroon. *Forest ecology and management*, 113(1), 1-9. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(98\)00323-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(98)00323-5)
2. Ndjouenekeu, R., Goycoolea, F.M. and Morris, E.R., Aking bala JO (1996). Rheology of Okra (*Hibiscus esculentus*) and dika nut (*Irvingia gabonensis*) polysaccharides. *Carbohydrate Polymer*, 29, pp.263-269. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00118-5](https://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00118-5)
3. Ngondi, J. L., Fossouo, Z., Djitsa, E. J., & Oben, J. (2006). Glycaemic variations after administration of *Irvingia gabonensis* seeds fractions in normoglycemic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 3(4), 94-101. <https://journals.athmsi.org/index.php/ajtcam/article/view/132/139>
4. Okolo, C. O., Johnson, P. B., Abdurahman, E. M., Abdu-Aguye, I., & Hussaini, I. M. (1995). Analgesic effect of *Irvingia gabonensis* stem bark extract. *Journal of ethnopharmacology*, 45(2), 125-129. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)01199-a](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)01199-a)
5. Agbor, G.A., Oben, J.E., Ngogang, J.Y., Xinxing, C. and Vinson, J.A., (2005). Antioxidant capacity of some herbs/spices from Cameroon: a comparative study of two methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6819-6824. <https://doi.org/10.1021/jf050695z>
6. Ngondi, J.L., Oben, J.E. and Minka, S.R., (2005). The effect of *Irvingia gabonensis* seeds on body weight and blood lipids of obese subjects in Cameroon. *Lipids in Health and Disease*, 4, 1-4. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-4-12>
7. Hassan YR, El-Shiekh RA, El Hefnawy HM, Michael CG. (2024) *Irvingia gabonensis* Baill. (African Mango): A comprehensive review of its ethnopharmacological significance, unveiling its long-standing history and therapeutic potential. *Journal of Ethnopharmacology* 326, 117942. doi:10.1016/j.jep.2024.117942
8. Ngondi, J.L., Etoundi, B.C., Nyangono, C.B., Mbofung, C.M. and Oben, J.E., (2009). IGOB131, a novel seed extract of the West African plant *Irvingia gabonensis*, significantly reduces body weight and improves metabolic parameters in overweight humans in a randomized, double-blind, placebo-controlled investigation. *Lipids in Health and Disease*, 8(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-8-7>
9. Mahunu G. K., Quansah L., Tahir H. E., Mariod A. A. (2009) *Irvingia gabonensis*: phytochemical constituents, bioactive compounds, traditional and medicinal uses. In *Wild Fruits: Composition, Nutritional Value and Products*, pp. 253-270. Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-31885-7_21
10. Mateus-Reguengo, L., Barbosa-Pereira, L., Rembangouet, W., Bertolino, M., Giordano, M., Rojo-Poveda, O., Zeppa, G. (2020) Food applications of *Irvingia gabonensis* (Aubry-Lecomte ex. O'Rorke) Baill., the 'bush mango': A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(14), 2446-59. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1646704>
11. Onimawo, I. A., Oteno, F., Orokpo, G., Akubor, P.I. (2003) Physicochemical and nutrient evaluation of African bush mango (*Irvingia gabonensis*) seeds and pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1-6. <https://doi.org/10.1023/B:QUAL.0000040320.33549>
12. Allan, J. J., Pore, M. P., Deepak, M., Murali, B., Mayachari, A. S., & Agarwal, A. (2009). Reproductive and fertility effects of an extract of *Andrographis paniculata* in male Wistar rats. *International journal of toxicology*, 28(4), 308-317. <https://doi.org/10.1177/1091581809339631>
13. Akinloye, A.K., Abatan, M.O., Alaka, O.O. and Oke, B.O., (2002). Histomorphometric and histopathological studies on the effect of *Calotropis procera* (giant milkweed) on the male reproductive organs of Wistar rats. *African Journal of Biomedical Research*, 5(1-2), 57-61. <https://doi.org/10.4314/ajbr.v5i1-2.53977>
14. Oyeyemi, M., Leigh, O., Ajala, O., Badejo, A. and Emikpe, B., (2008). The effects of the aqueous extract of "ugu" (*Telfairia occidentalis*) leaves on the testis and spermatozoa Characteristics in the male albino rat. *Folia Veterinaria*, 52(2), 102-105. <https://sciendo.com/journal/FV>
15. D'cruz, S. C., Vaithinathan, S., Jubendradass, R., & Mathur, P. P. (2010). Effects of plants and plant products on the testis. *Asian Journal of Andrology*, 12(4), 468. <https://doi.org/10.1038/aja.2010.43>
16. Etta, H. E., Olisaeke, C. C., & Iboh, C. I. (2014). Effect of *Irvingia gabonensis* (Aubry-Lecomte ex O'Rorke) seeds on the liver and gonads of male albino rats. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(1), 10-15. <https://iiste.org/Journals/index.php/JBAH>
17. Oyeyemi, M.O. and Fayomi, A.P., (2011). Reproductive Potential of Male Wistar Rat Treated for Short-Term with Graded Concentration of *Talinum Triangulare* (Water Leaf) Crude Extract. *Global Veterinaria*, 7(2), 188-191
18. Mgbemena, N.M., Ilchukwu, I., Okwunodolu, F.U., Chukwurah, J.V.O. and Lucky, I.B., (2019). Chemical composition, proximate and phytochemical analysis of *Irvingia gabonensis* and *Irvingia wombolu* peels, seed coat, leaves, and seeds. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 30(1), 65-69.
19. Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African journal of biotechnology*, 4(7), 685-688.
20. Litskas, V. D., Karamanlis, X. N., Prousalis, S. P., & Koveos, D. S. (2018). Effects of the antibiotic amoxicillin on key species of the terrestrial environment. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 100(4), 509-515.
21. Efe, A. E., & Igbo, O. E. (2023). Histomorphological Effects of Oral Nicotine Administration on the Testes of Adult Wistar Rats. *Journal of Chemical Health Risks*, 13(2); 291-298.
22. Oyeyemi, M. O., & Ajani, O. S. (2014). Spermatozoa Characteristics, Serum Biochemistry and Hematological Profile of Male Albino Rats (Wistar Strain) Treated with *Momordica charantia*. *International Journal of Applied Agricultural Research*, 9(1), 41-52.
23. Oyeyemi, M.O., Olukole, S.G., Taiwo, B. and Adeniji, D.A., (2009). Motilidad y Viabilidad Espermática en Carneros Enanos del Oeste Africano Tratados con *Euphorbia hirta*. *International Journal of Morphology*, 27(2), 459-462.
24. Nguena-Dongue, B. N., Pone Kamdem, B., Lunga, P. K., & Fekam Boyom, F. (2023). Ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacological activity of the *Irvingia* species. *Drugs and Drug Candidates*, 2(4), 827-864.
25. Ewere, E. G., Uka, E., & Usunobun, U. (2016). Phytochemical composition, in vitro antioxidant activity and acute toxicity of *Irvingia gabonensis* (O'Rorke) baill ethanolic leaf extract. *International Journal of Biological Research*, 4, 36-41. <https://doi.org/10.14419/IJBR.V4I1.5939>
26. Atanu, F. O., Ikeojukwu, A., Owolabi, P. A., & Avwioroko, O. J. (2022). Evaluation of chemical composition, in vitro antioxidant, and antidiabetic activities of solvent extracts of *Irvingia gabonensis* leaves. *Heliyon*, 8(7); e09922

27. Saba, A. B., Oridupa, O. A., Oyeyemi, M. O., & Osanyigbe, O. D. (2009). Spermatozoa morphology and characteristics of male wistar rats administered with ethanolic extract of *Lagenaria Breviflora* Roberts. *African Journal of Biotechnology*, 8(7), 1170-1175.
28. Akano, O. P., Akinsomisoye, O. S., & Ayoka, A. O. (2024). Antioxidant and Phytochemical Profile of Crude Ethanol Extract and Fractions of *Irvingia gabonensis* (Aubry-Lecomte ex O'Rorke) Baill Seed. *Ajayi Crowther Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1), 13-21. 10.56534/acjpas.2024.04.01.13
29. Oyeyemi, M. O., Oke, A. O., Ajala, O. O., & Idehen, C. O. (2002). Differences in testicular parameters and morphological characteristics of spermatozoa as related to age of West of African dwarf bucks. *Nigerian Journal of Animal Science*, 5(1), 99-107.