

# Avaliação dos efeitos do extrato aquoso de *Turnera diffusa* na histologia testicular e ovariana e nos parâmetros reprodutivos de ratos Wistar

## Evaluation of effects of *Turnera diffusa* aqueous extract in the testicular and ovarian histology and reproductive parameters of Wistar rats

Renata Torres Bueno<sup>1</sup>, Amanda Cia Hetzl<sup>1</sup>, Isabel Cristina Cherici Camargo<sup>1\*</sup>,  
Juliano de Souza Gracioso<sup>1,3</sup>, Fernando Frei<sup>1</sup>, Suzana de Fátima Paccola Mesquita<sup>2</sup>

---

### Resumo

*Turnera diffusa* é amplamente utilizada como afrodisíaco. O objetivo do estudo foi avaliar a estrutura tecidual de testículos e ovários de ratos e ratas da linhagem Wistar, assim como o desempenho reprodutivo de progenitores tratados com o fitoterápico. Machos e fêmeas foram tratados com o extrato aquoso de *T. diffusa* (10 mL/Kg de peso vivo) ou solução fisiológica (grupo controle), 2 vezes ao dia, durante 15 dias consecutivos. Não houve influência significativa do tratamento no peso corpóreo e peso dos órgãos reprodutivos masculino e feminino, com exceção do peso epididimário. O tratamento fitoterápico promoveu alterações na histologia ovariana, mas não no tecido testicular. As taxas de fertilidade e gestação foram semelhantes nos grupos controle e tratado. O tamanho da ninhada foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) no grupo tratado com *T. diffusa*. Os resultados permitiram concluir que a fertilidade dos machos e fêmeas não foi afetada pelo tratamento fitoterápico, e os ovários responderam de forma diferente que os testículos à ação de *T. diffusa*.

**Palavras-chave:** *Turnera diffusa*, testículo, ovário, histologia.

### Abstract

*T. diffusa* is largely utilized as aphrodisiac. The goal of study was to evaluate the testicular and ovarian histological structure of Wistar lineage rats, and the reproductive performance of progenitors treated with phytotherapeutic. Male and female rats were treated

---

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista – UNESP. Faculdade de Ciências e Letras de Assis. Departamento de Ciências Biológicas.

<sup>2</sup> Universidade Estadual de Londrina – UEL. Departamento de Biologia Geral.

<sup>3</sup> Trabalho póstumo.

\* Endereço para correspondência: Departamento de Ciências Biológicas. Avenida Dom Antonio, 2100. Parque Universitário. Assis – SP. Cep: 19806-900. E-mail: camargo@assis.unesp.br. Telefone: (18) 3302-5848. Fax: (18) 3302-5849.

with *Turnera diffusa* aqueous extract (10 mL/Kg of weight body) or physiologic solution (control group), twice day, during 15 consecutive days. There was not significant influence of treatment in the body weight and masculine and feminine reproductive organs weight, except epididymis weight. The phytotherapeutic treatment promoted alterations in ovarian histology, but not in testicular tissue. The fertility and gestation rates were similar in the control and treated groups. The number of foetuses/litter was significantly reduced ( $p < 0,05$ ) in the *T. diffusa* group. The results permitted to conclude that the fertility of male and female was not affected by phytotherapeutic treatment, and the ovaries response of different manner that the testis to action of *T. diffusa*.

**Key words:** *Turnera diffusa*, testis, ovary, histology.

---

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais vêm sendo mundialmente utilizadas como recurso terapêutico. Diversos registros da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 82% da população faz uso de algum tipo de planta com finalidade terapêutica <sup>(1)</sup>.

Os estudos toxicológicos têm a finalidade de avaliar a idéia errônea de que produtos fitoterápicos, por serem naturais, são isentos de efeitos tóxicos ou adversos, e que o uso popular de plantas medicinais serve como validação da eficácia de tais medicamentos <sup>(2)</sup>.

*Turnera diffusa* é uma planta da família Turneraceae, conhecida popularmente como Damiana ou *Turnera afrodisíaca*. É encontrada em países de clima tropical e subtropical, sendo utilizada na medicina popular do México, Estados Unidos, Ilhas do Caribe e Brasil para o tratamento de diversas patologias.

Segundo o *British Herbal Pharmacopoeia* <sup>(3)</sup>, as indicações específicas para o uso de Damiana são a ansiedade associada com impotência, depressão, dispepsia nervosa, constipação e insuficiência coital.

Na crença popular, a Damiana é conhecida como afrodisíaco, e tem sido utilizada para estimular o desempenho sexual masculino e feminino <sup>(4)</sup>.

Kumar & Sharma <sup>(5)</sup> relataram que a infusão da folha da Damiana tem sido usada como remédio tradicional de doenças relacionadas com os sistemas gastrointestinal e respiratório, órgãos reprodutores e para o tratamento de gonorréia em sociedades latino-americanas.

Estudo realizado por Arletti e colaboradores <sup>(4)</sup> demonstrou que o extrato fluido de *Turnera diffusa* e *Pfaffia paniculata*, sozinho ou combinado, melhorou o desempenho copulatório de ratos sexualmente impotentes, sendo este efeito atribuído principalmente ao aumento da disposição noradrenérgica e dopaminérgica.

Segundo Nwafor e colaboradores <sup>(6)</sup> o extrato metanólico da raiz de *A. pubescens bak* possui atividade anti-implantacional, anticoncepcional e não-estrogênica em ratos e coelhos.

Ratos tratados com extrato aquoso bruto de *Kalanchoe gastonis bonnieri* apresentaram inibição da fertilidade, com recuperação de 100% da mesma 30 dias após o término do tratamento. A motilidade, viabilidade e densidade dos espermatozóides diminuíram significativamente <sup>(7)</sup>.

Apesar de estudos realizados com outras plantas medicinais demonstrarem efeitos sobre a reprodução, não foram obtidos relatos na literatura sobre o desempenho reprodutivo de modelos animais tratados com *Turnera diffusa*. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar a estrutura histológica das gônadas masculina e feminina de ratos e ratas submetidos ao tratamento com o extrato aquoso de *Turnera diffusa*, e avaliar os parâmetros reprodutivos de progenitores tratados com o fitoterápico.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As partes aéreas de *T. diffusa* (Damiana) foram obtidas através da Santos Flora Comércio de Ervas Ltda., que emitiu o Controle de Qualidade e Laudo Técnico e Identificativo, seguindo registro IBAMA: 35867, Licença de Funcionamento: 110101630003, Autorização ANVISA: 1.04.604-1, Registro CRF: 2-02635-0101 e Ref. Nº./Pedido: 2006006233.

O método de extração seguiu aquele descrito por Gracioso <sup>(8)</sup>, onde depois de secas e devidamente trituradas em moinho de faca, as partes aéreas passaram por um processo de extração em água fervente (100 °C) durante 15 minutos na proporção de 50 g de matéria prima

vegetal para 500 mL de água ou uma solução a 10%. Em seguida, após resfriamento em temperatura ambiente, o material foi filtrado e levado ao liofilizador. O rendimento do infuso liofilizado obtido de *T. diffusa* foi aproximadamente 4%. O produto final obtido foi denominado extrato aquoso liofilizado das partes aéreas de *T. diffusa*.

O experimento foi realizado com ratos machos e fêmeas da linhagem Wistar, sexualmente maduros, com peso médio de 250 gramas, obtidos do Biotério Central da UNESP – Botucatu, e posteriormente alojados no biotério da FCL/Assis – UNESP, sob condições adequadas de temperatura (22°C) e luminosidade (12h ciclo claro/escuro). Os animais receberam água e ração comercial *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCL/UNESP – Assis (Proc. 029/2006).

Os animais (20 machos e 20 fêmeas) foram distribuídos casualmente em dois grupos experimentais: GRUPO A, constituído de machos e fêmeas controle; GRUPO B, constituído de machos e fêmeas tratados.

Os animais do grupo tratado receberam, via oral, em volume de 10mL/kg de peso vivo, 500 mg/kg do extrato de *T. diffusa*, dividido em duas administrações diárias, durante 15 dias consecutivos, conforme procedimento adotado por Araujo & Araujo<sup>(9)</sup>. Os animais do grupo controle receberam solução fisiológica 0,9%, no mesmo procedimento descrito para o grupo tratado.

Ao final do período de tratamento, cinco machos e cinco fêmeas de cada grupo foram sacrificados para obtenção dos registros de peso corpóreo e peso dos órgãos reprodutivos e para análise da histologia gonadal. Os testículos e ovários foram preparados através da rotina histológica usual, obtendo-se secções de 5 µm de espessura, incluídas em Paraplast (Labware Oxford – USA) e coradas com hematoxilina-eosina para avaliação em microscopia de luz.

Os machos e fêmeas restantes, pertencentes a cada grupo experimental foram submetidos ao acasalamento, na proporção de 1:1, permanecendo juntos na caixa durante 10 dias após o período de tratamento<sup>(10)</sup>. A gestação foi comprovada através da presença de

espermatozoides no esfregaço vaginal, realizado diariamente. As fêmeas com esfregaço vaginal positivo foram mantidas em caixas individuais e considerou-se como o primeiro dia de gestação.

No 19º dia de gestação, as ratas foram sacrificadas para obtenção dos seguintes dados: peso do útero gravídico, peso das placentas, número de implantes, peso e tamanho da ninhada, número de reabsorções e número de corpos lúteos gravídicos. Os índices de perda pré-implantação  $[(\text{n}^\circ \text{ de corpos lúteos} - \text{n}^\circ \text{ de implantes}) / \text{n}^\circ \text{ de corpos lúteos}] \times 100$ , e perda pós-implantação  $[(\text{n}^\circ \text{ de implantes} - \text{n}^\circ \text{ de fetos}) / \text{n}^\circ \text{ de implantes}] \times 100$ , foram calculados segundo Almeida e colaboradores<sup>(11)</sup>. Os índices de fertilidade  $(\text{n}^\circ \text{ de fêmeas com gametas no esfregaço} / \text{n}^\circ \text{ de fêmeas acasaladas}) \times 100$ , e de gestação  $(\text{n}^\circ \text{ de fêmeas com fetos viáveis} / \text{n}^\circ \text{ de fêmeas acasaladas}) \times 100$  foram calculados segundo Weidner & Sigwart<sup>(12)</sup>. A avaliação da fetotoxicidade foi realizada através da análise da morfologia externa fetal, sob estereomicroscópio TECNIVAL.

Os dados foram analisados através do emprego da análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis, complementada com o teste Dunn, no nível de 5% de significância. Os resultados foram apresentados com os valores de mediana  $\pm$  desvio interquartilico.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados biométricos de pesos obtidos de fêmeas e machos dos grupos controle e tratado são apresentados respectivamente nas Tabelas 1 e 2.

Os pesos corpóreo, uterino e ovariano não sofreram alteração significativa ( $p > 0,05$ ) em função do tratamento com o extrato de *T. diffusa* (Tabela 1). Este resultado é concordante com o obtido por Borges e colaboradores<sup>(13)</sup>, em estudo com *Hypericum perforatum*.

A Tabela 2 demonstra que os pesos corpóreo, testicular, prostático e de vesículas seminais não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) entre os ratos controles e tratados com *T. diffusa*. Em estudo realizado para avaliar a toxicidade reprodutiva do *Ginkgo biloba*, Castro e colaboradores<sup>(2)</sup>

demonstraram que a massa relativa dos órgãos internos (coração, baço, fígado, rins, testículos, epidídimos, próstata e vesículas seminais) não diferiu entre os grupos controle e tratado. Os mesmos resultados foram obtidos por Mello e colaboradores<sup>(14)</sup>, quando avaliaram os efeitos do *Pygeum africanum* rosaceae em ratos.

O peso dos epidídimos foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) nos animais que receberam *T. diffusa* (Tabela 2). Provavelmente isso ocorreu devido a uma maior estocagem de espermatozoides na luz ductular dos animais tratados, quando no momento do sacrifício. Mazaro e colaboradores<sup>(15)</sup> avaliaram os efeitos do extrato hidrometanólico de *Austroplenckia populnea* e verificaram que apesar dos pesos absoluto e relativo da cauda dos epidídimos de ratos não diferirem entre os grupos controle e tratado, houve redução na concentração de espermatozoides estocados no órgão.

**Tabela 1.** Dados de pesos corpóreo e dos órgãos reprodutivos das fêmeas dos grupos controle e tratado.

PARÂMETROS	CONTROLE n = 5	TRATADO n = 5
Peso corpóreo (g)	250,00 ± 11,00 a*#	231,00 ± 8,00 a
Peso do útero (g)	0,37 ± 0,07 a	0,48 ± 0,09 a
Peso dos ovários (g)	0,15 ± 0,01 a	0,12 ± 0,01 a

\* letras iguais na mesma linha demonstram que os resultados não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ); # valores de mediana ± desvio interquartilico

**Tabela 2.** Dados de pesos corpóreo e dos órgãos reprodutivos dos machos dos grupos.

PARÂMETROS	CONTROLE n = 5	TRATADO n = 5
Peso corpóreo (g)	336,00 ± 13,00 a*#	360,00 ± 51,00 a
Peso dos testículos (g)	2,50 ± 0,20 a	2,90 ± 0,50 a
Peso dos epidídimos (g)	0,90 ± 0,09 a	1,30 ± 0,01 b
Peso da próstata (g)	0,70 ± 0,30 a	0,70 ± 0,20 a
Peso das vesículas seminais (g)	1,40 ± 0,20 a	1,40 ± 0,10 a

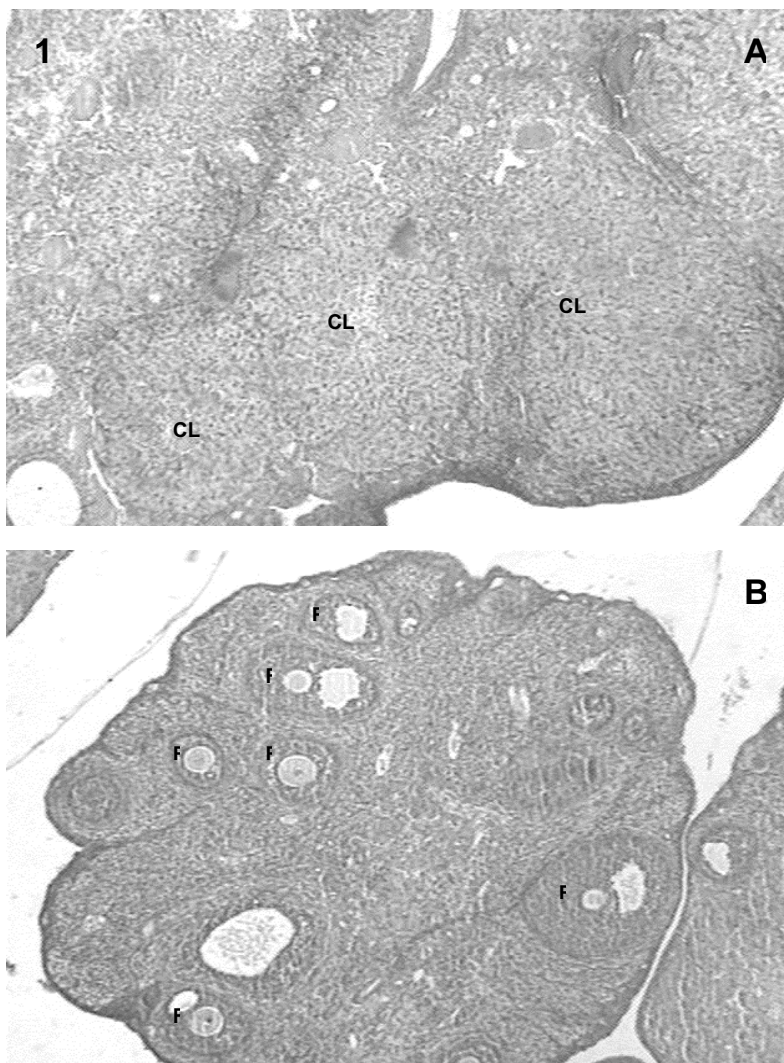
controle e tratado. \* letras iguais na mesma linha demonstram que os resultados não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). # valores de mediana ± desvio interquartilico

A avaliação da morfologia gonadal permitiu verificar que nas fêmeas do grupo controle (Figura 1A), os ovários apresentaram corpos lúteos bem desenvolvidos, enquanto que nas fêmeas tratadas com o extrato (Figura 1B) predominaram folículos em diversos estágios de maturação. Neste grupo, em 20% das ratas houve ausência de corpos lúteos nos ovários e nas demais estas estruturas se apresentaram de tamanho reduzido. Os resultados indicaram que o fitoterápico promoveu efeito negativo na formação e maturação do corpo lúteo, sem, contudo afetar a foliculogênese.

Estudos com outros fitoterápicos demonstraram que ratas tratadas com baixas doses de *Genistein* apresentaram aumento no número de corpos lúteos, enquanto que o tratamento com altas doses reduziu o número destes <sup>(16)</sup>. Thakur e colaboradores <sup>(17)</sup> analisaram os efeitos da planta *Kamala*, utilizada popularmente como afrodisíaco, e verificaram que houve redução no desenvolvimento folicular, aumento de folículos atresícos e redução significativa no número de corpos lúteos.

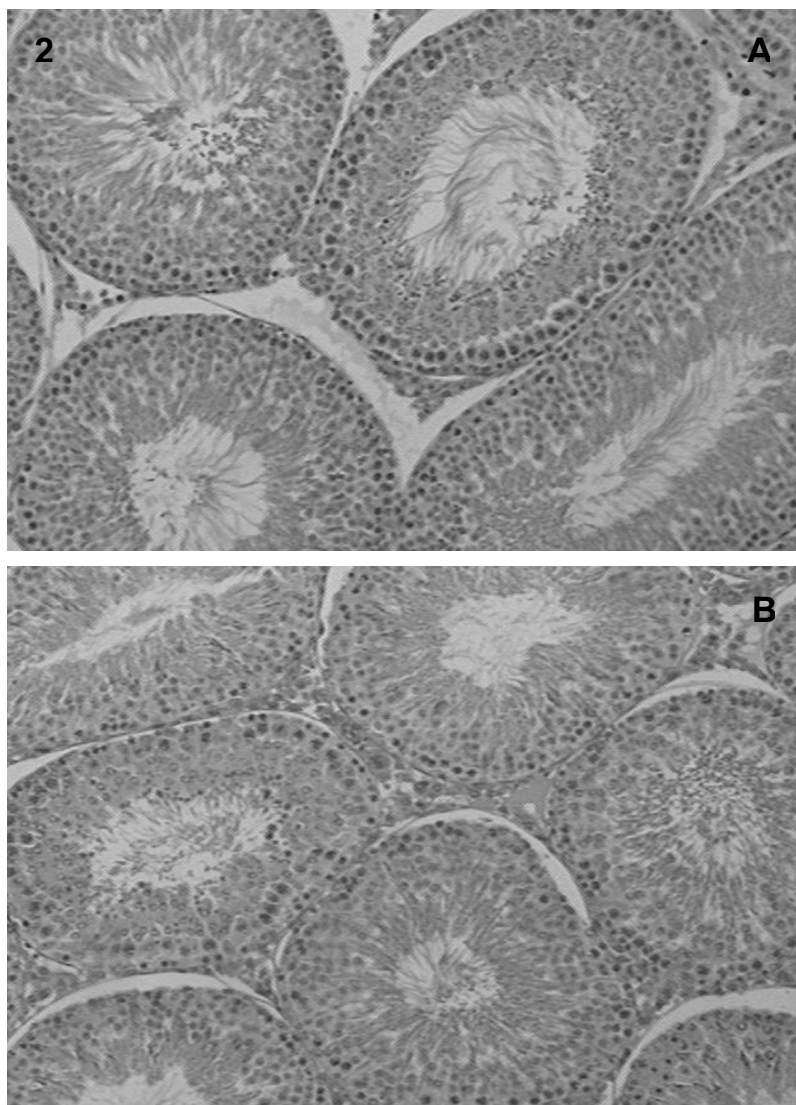
A morfologia dos testículos foi semelhante nos ratos do grupo controle (Figura 2A) e tratado com *T. diffusa* (Figura 2B). Mello e colaboradores <sup>(14)</sup> e Castro e colaboradores <sup>(2)</sup> avaliaram, respectivamente, os efeitos do *Pygeum africanum* rosaceae e do *Ginkgo biloba* e verificaram que a espermatogênese dos ratos manteve-se inalterada. Entretanto, Sharma e colaboradores <sup>(18)</sup> demonstraram que a administração do extrato etanólico das frutas de *Semecarpus anacardium* em ratos albinos resultou na suspensão da espermatogênese.

Em estudo realizado com extrato metanólico da vagem de *Albizia lebbek* (L.), Gupta e colaboradores <sup>(19)</sup> demonstraram que os ratos apresentaram redução significativa no número de espermátocitos primários, espermátocitos secundários e espermátides.



**Figura 1.** Seção histológica do ovário de rata do grupo controle (A) e tratado com *T. diffusa* (B). Observar em A, corpos lúteos (CL) bem desenvolvidos e em B, a predominância de folículos (F) em diversos estágios de maturação. H.E., 40X.





**Figura 2.** Secção histológica de testículos de rato do grupo controle (A) e tratado com *T. diffusa* (B). Observar a integridade da citoarquitetura tubular seminífera em ambos os grupos. H.E., 100X.

A histologia e o peso dos órgãos sexuais são evidências do potencial toxicológico de um agente sobre o sistema reprodutivo masculino <sup>(15)</sup>. Os resultados do presente estudo permitiram concluir que o fitoterápico não apresentou efeito tóxico sobre a gônada masculina.

A Tabela 3 demonstra os parâmetros reprodutivos obtidos entre os acasalamentos de machos e fêmeas controles e tratados com o fitoterápico. Em ambos os grupos experimentais as taxas de fertilidade e gestação foram de 100%. Os parâmetros de peso materno inicial e final, ganho de peso materno, peso do útero gravídico, peso das placentas e peso da ninhada não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) entre os dois grupos experimentais.

Borges e colaboradores <sup>(13)</sup> demonstraram que a administração de *Hypericum perforatum* não alterou significativamente o peso das placentas, o peso corpóreo materno e o número de implantes.

O tamanho da ninhada foi significativamente menor ( $p<0,05$ ) no grupo tratado com *T. diffusa*. Embora numericamente o valor da mediana da perda pré-implantação tenha sido maior no grupo onde ambos os progenitores foram tratados com o fitoterápico, não houve diferença estatística entre os dois grupos experimentais, provavelmente devido à variação no valor do desvio interquartilico. No entanto, os resultados sugerem que a redução no tamanho da ninhada foi devido às perdas pré-implantacionais ocorridas nas matrizes tratadas e acasaladas com machos também tratados com *T. diffusa*. O índice de perda pós-implantação foi semelhante em ambos os grupos.

**Tabela 3.** Parâmetros reprodutivos nos grupos controle e tratado.

PARÂMETROS	MC X FC	MT X FT
Fêmeas/grupo	5	5
Fêmeas prenhes	5	5
Taxa de fertilidade (%)	100	100
Taxa de gestação (%)	100	100
Peso materno inicial (g)	220,00 ± 20,00 a*#	223,00 ± 14,00 a
Peso materno final (g)	326,00 ± 1,00 a	302,00 ± 5,00 a
Ganho de peso materno (g)	108,00 ± 5,00 a	93,00 ± 17,00 a
Peso do útero gravídico (g)	29,0923 ± 5,8345 a	19,5660 ± 7,1937 a
Peso placentário (g)	4,6371 ± 0,4788 a	3,4235 ± 0,2395 a
Número de fetos/ninhada	12,00 ± 1,00 a	8,00 ± 2,00 b
Peso da ninhada (g)	11,0274 ± 1,6180 a	7,3609 ± 2,7318 a
Perda pré-implantação (%)	8,33 ± 8,33 a	20,00 ± 42,10 a
Perda pós-implantação (%)	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a

\* letras iguais na mesma linha demonstram que os resultados não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

# mediana ± desvio interquartilico

MC X FC: acasalamento de machos e fêmeas não tratados (controles)

MT X FT: acasalamento de machos e fêmeas tratados com *T. diffusa*

Estudo realizado por Elbetieha e colaboradores<sup>(10)</sup> com o extrato de *S. fruticosa* em ratas grávidas demonstrou que houve redução no número de fetos viáveis e aumento no número de reabsorções.

Em outro trabalho, Elbetieha e colaboradores<sup>(20)</sup> avaliaram o efeito tóxico da *Globularia arábica* e *G. alypum* e verificaram que a ingestão de ambos os extratos aumentou o número de reabsorções e somente *G. alypum* causou redução significativa no número de fetos viáveis.

No presente estudo, não foram observadas alterações na morfologia externa fetal, corroborando com resultados obtidos por Fuad e colaboradores<sup>(21)</sup> quando avaliaram o potencial teratogênico do extrato aquoso de *Labisia pumila* var. *alata* em ratos.

Embora não tenham sido obtidos relatos a respeito da avaliação de aspectos reprodutivos de modelos animais tratados com *Turnera diffusa*, os resultados do presente estudo vêm a colaborar com estudos realizados com outros fitoterápicos, que demonstraram ausência ou presença de efeitos tóxicos na reprodução.

Com base na metodologia empregada e condições experimentais, os resultados permitiram concluir que a estrutura tecidual ovariana apresentou diferente padrão de resposta ao tratamento com *T. diffusa*, em comparação à estrutura testicular e a fertilidade dos animais não foi afetada.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à técnica do laboratório de Histologia e Embriologia, Maria Isabel de Oliveira, pelos serviços prestados. Agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo auxílio financeiro em parte do estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cirqueira RT, Alves MJQF. Efeitos hipotensivo e diurético dos extratos aquosos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e jambolão (*Eugenia jambolana* L.) em ratos normotensos anestesiados. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 7: 86-91, 2005.
2. Castro AP, Mello FB, Mello JRB. Avaliação toxicológica do *Ginkgo biloba* sobre a fertilidade e reprodução de ratos Wistar. Acta Scientiae Veterinariae, 33: 265-269, 2005.
3. British Herbal Pharmacopoeia. West Yorks, UK: British Herbal Medicine Association, 1983. Disponível em: < [http://www.phytotherapies.org/monograph\\_detail.cfm?id=222](http://www.phytotherapies.org/monograph_detail.cfm?id=222)>. Acesso em: 12 jun 2008.

4. Arletti R, Benelli A, Cavazzuti E, Scarpetta G, Bertolini A. Stimulating property of *Turnera diffusa* and *Pfaffia paniculata* extracts on the sexual behavior of male rats. *Psychopharmacology*, 143: 15-19, 1999.
5. Kumar S, Sharma A. Anti-anxiety activity studies on homoeopathic formulations of *Turnera aphrodisiaca* Ward. *Journal of Herbal Pharmacotherapy*, 5: 13-21, 2005.
6. Nwafor PA, Okwuasaba SK, Onoruvwe OO. Contraceptive and non-estrogenic effects of methanolic extract of *Asparagus pubescens* root in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 62: 117-122, 1998.
7. Miranda-Beltrán ML, Puebla-Pérez AM, Guzmán-Sánchez A, Ruiz LH. Male rat infertility induction/spermatozoa and epididymal plasma abnormalities alter oral administration of *Kalanchoe gastonis bonnieri* natural juice. *Phytotherapy Research*, 17: 315-319, 2003.
8. Gracioso J. Atividade de *Turnera diffusa* Willd. E *Turnera ulmifolia* L. fornece suporte a indicação de flavonóides como nova fonte de moléculas farmacologicamente ativas para o tratamento de úlceras gastrointestinais. 2002. 145p. Dissertação (Doutorado – Área de Concentração em Farmacologia) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
9. Araújo LCL, Araújo CEP. Farmacologia – Roteiro de aulas práticas e estudos dirigidos. Piracicaba: Unimep, pp. 119, 1994.
10. Elbetieha A, Al-Hamood MH, Alkofahi A, Bataineh H. Reproductive toxicity potentials of *Salvia fruticosa* (Labiatae) in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 61: 67-74, 1998.
11. Almeida SA, Kempinas WG, Lamano TLC. Sexual behavior and fertility of male rats submitted to prolonged immobilization – induced stress. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33: 1105-1109, 2000.
12. Weidner MS, Sigwart K. Investigation of the teratogenic potential of a *Zingiber officinale* extract in the rat. *Reproductive Toxicology*, 15: 75-80, 2001.
13. Borges LV, Carmo JC, Peters VM, Casas LL, Guerra MO. A toxicidade do *Hypericum perforatum* administrado a ratas prenhes. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 51: 206-208, 2005.

14. Mello JRB, Maia JZ, Castro AP, Mello FB. Avaliação dos efeitos do *Pygeum africanum rosaceae* sobre a fertilidade de ratos. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32: 103-110, 2004.
15. Mazaro R, Di Stasi LC, Kempinas WG. Effects of the hydromethanolic extract of *Austroplenckia populnea* (Celastraceae) on reproductive parameters of male rats. *Contraception*, 66: 205-209, 2002.
16. Jefferson WN, Padilla-Banks E, Newbold RR. Adverse effects on female development and reproduction in CD-1 mice following neonatal exposure to the phytoestrogen *Genistein* at environmentally. **Biology of Reproduction**, 73: 798-806, 2005.
17. Thakur SC, Thakur SS, Chaube SK, Singh SP. An ethereal extract of *Kamala* (*Mallotus philippinensis* (Moll. Arg) Lam) seed induce adverse effects on reproductive parameters of female rats. *Reproductive Toxicology*, 20: 149-156, 2005.
18. Sharma A, Verma PK, Dixit VP. Effect of *Semecarpus anacardium* fruits on reproductive function of male albino rats. *Asian Journal Andrology*, 5: 121-124, 2003.
19. Gupta RS, Kachhawa JBS, Chaudhary R. Antifertility effects of methanolic pod extract of *Albizia lebeck* Benth in male rats. *Asian Journal Andrology*, 6: 155-159, 2004.
20. Elbetieha A, Oran AS, Alkofahi A, Darmani H, Raies AM. Fetotoxic potentials of *Globularia Arabica* and *Globularia alypum* (*Globulariaceae*) in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 72: 215-219, 2000.
21. Fuad WEM, Sulaiman SA, Islam MN, Wahab MSA, Jamalullail SMS. Evaluation of the teratogenicity of aqueous extract of *Labisia pumila* var. *alata* in rat. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 12: 13-21, 2005.