بهره‌برداری و پرورش آبزیان
جلد هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۹۷
http://japu.gau.ac.ir

تأثیر سم گلیفسات بر عوارض هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

*علیرضا کشیری[۱]، حسنی قلی‌پور[۲]، رحمان پاتیمار[۳] و محمد مازندرانی[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، [۲]استادیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، [۳]دانشیار گروه شیلات، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، [۴]استادیار گروه تکثیر و پرورش آبزیان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۳/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/٤/۲۵

چکیده

گلیفسات از جمله پرکاربردترین آفت‌کش‌های مورد استفاده در مزارع و باغات کشور می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سم گلیفسات بر هیستوپاتولوژی کلیه در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) انجام گرفت. به‌این منظور غلظت‌های مزمن گلیفسات در تیمارهای (گروه شاهد)، ٦، ۷ و ۸ میلی‌گرم در لیتر و هر تیمار با ۳ تکرار مورد آزمایش قرار گرفت. تعداد ۱۵۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۵±۳۰ گرم به‌صورت تصادفی در ۱۲ عدد آکواریوم ۸۰ لیتری با ٤۰ لیتر حجم آبگیری به‌طور تصادفی پخش شدند. در انتهای دوره ۷۰ روزه پرورش، برای بررسی هیستوپاتولوژی کلیه پس از بیهوشی ماهیان با پودر گل میخک نمونه‌برداری کلیه انجام شد. بین گروه شاهد با تیمارهای سمی از لحاظ رفتاری و مورفولوژیک، تغییرات قابل ملاحظه‌ای مشاهده گردید. نتایج بررسی هیستوپاتولوژی نشان داد که تغییرات قابل ملاحظه‌ای در بافت کلیه صورت گرفت. آغاز نکروز توبول های کلیوی، تجمع هموسیدرین و پرخونی، تخریب و نکروز سلول‌های پوششی لوله‌های ادراری، خونریزی و پرخونی در لوله‌های ادراری مشاهده شد. در مجموع نتایج نشان داد که غلظت‌های مزمن گلیفسات تأثیرات هیستوپاتولوژیک زیادی بر ماهی کپور معمولی می‌گذارد از جمله نکروز توبول‌های کلیوی، خونریزی و نکروز توبول‌های کلیوی و پرخونی لوله‌های ادراری، و از این تغییرات می‌توان به‌عنوان شاخص سنجش و ردیابی اثرات گلی فسات بر این ماهی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آبزی، آلودگی، آفت‌کش، کپور معمولی، هیستوپاتولوژی

مقدمه

استفاده از آفت‌کش‌ها در حال حاضر به میزان زیادی افزایش یافته است که یکی از عمده‌ترین مواد مسمومیت‌های ماهی به‌شمار می‌آیند. به صورتی‌که در غلظت کم تأثیر مستقیمی روی ماهی نداشته ولی در دراز مدت روی مراحل اولیه تکامل ماهی مؤثر هستند. علاوه‌بر اثرات مستقیم حاد و مزمن دارای اثر غیرمستقیم و مهمی نیز هستند. کاربرد حساب نشده غیرتخصصی علف‌کش‌ها یا آلگ کش‌ها نیز در آب یا

*مسئول مکاتبه: zalireza.kashiri1353@gmail.com

آلودگی آب‌های سطحی به مواد شیمیایی فوق ممکن است باعث مرگ گیاهان آبزی شود (آیولا، ۲۰۰۸).

آلاینده‌ها و سموم می‌توانند توانایی زنده ماندن و شاخص بافتی اندام‌های ایمنی در ماهیان را تحت تأثیر قرار دهند (آروند کومار و همکاران، ۲۰۰۰). قرار گرفتن موجودات آبزی در معرض آلاینده‌های مختلف موجب ایجاد تغییرات بافتی در بافت‌های مختلف آن‌ها می‌شود. بنابراین تغییرات هیستوپاتولوژیکی می‌توانند به‌عنوان شاخص‌هایی از اثرات آلاینده‌های مختلف بر موجودات و از جمله ماهیان مورد استفاده قرار گرفته و از آن‌ها جهت ارزیابی وضعیت سلامت ماهیان استفاده کرد (هینتون و لارن، ۱۹۹۰). نقش چند منظوره کلیه‌ها در ماهی، ترکیبی از عملکرد ریه‌ها، کلیه‌ها و روده در مهره‌داران است، که به‌وسیله ساختارهای پیچیده شامل انواع سلول‌های مختلف و یک سیستم عروقی پیچیده منعکس می‌گردد. از نظر تنظیم مواد معدنی، نقش اصلی کلیه‌ها در ماهیان آب شیرین دفع مقدار زیادی از آب اسمزی انباشته شده و حذف یون های اضافی استخراج شده از غذا به ویژه کلسیم، سولفات و فسفات است. در ماهیان آب شور، دفع یون‌های دو ظرفیتی جذب شده به‌وسیله نوشیدن، یکی از اعمال مهم کلیه‌ها می‌باشد. دفع آب تا آنجا که ممکن است در محیط‌های هایپراسموتیک کاهش می‌یابد و این به‌طور عمده بر کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی تأثیرگذار است (بین‌باک[1]، ۱۹۹۵).

گلیفسات با فرمول شیمیایی N-(phosphonomethyl)glycine از سموم ارگانوفسفره و جز خانواده علف‌کش‌هاست که گونه‌های هدف آن اغلب گیاهان یک ساله و دایمی هستند و عملکرد آن از طریق ممانعت از سنتز اسیدهای آمینه صورت می‌گیرد و نام تجاری آن راندآپ است. حلالیت آن در آب ۹۰۰ هزار میلی‌گرم در لیتر است. این سم شدیدا در ذرات خاک جذب شده و به‌وسیله متابولیسم‌های میکروبی تجزیه می‌شود اما به‌دلیل جذب بالا در خاک این فرایندهای میکروبی به کندی دنبال می‌شوند. گلیفسات در آب از طریق جذب توسط ذرات معلق و رسوبات به سرعت تجزیه می‌شود و نیمه عمر آن در آب ۱۲ روز تا ۱۰ هفته می‌باشد (گلداسبوروق و بران، ۱۹۹۳). بیشتر گلیفساتی که در داخل آب‌ها یافت می‌شود از طریق رواناب‌های سطح برگ علف‌ها و گیاهان و یا اسپری مستقیم به درون آب در طول دوره سم‌پاشی صورت می‌گیرد (فولمار و همکاران، ۱۹۷۹). ماهی کپور معمولی (*Cyyprinus carpio*) از خانواده کپور ماهیان (Cyprinidae) می‌باشد. با توجه به اهمیت بررسی تأثیرات سموم پر کاربرد نظیر گلیفسات بر اندام‌های حیاتی گونه‌های تجاری، هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات بافتی ناشی از مسمومیت مزمن با گلیفسات در ماهی کپور معمولی بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش در تابستان ۱۳۹۲ در سالن تحقیقات آبزی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی و آزمایشگاه ماهی‌شناسی دانشکده شیلات و محیط زیست واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تعداد ۱۵۰ عدد ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی ۵±۳۰ گرم از یکی از مراکز خصوصی واقع در استان گلستان خریداری و انتقال داده شدند. ماهیان قبل از انجام آزمایش اصلی جهت سازگاری با شرایط به‌مدت ۱۰ روز در آب با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در یک تانک نگهداری شدند و به میزان ۲ درصد وزن بدن ماهی غذادهی صورت می‌گرفت. بعد از این مدت ماهیان جهت انجام آزمایش به آکواریوم‌های حاوی ٤٠ لیتر آب منتقل شدند. غلظت تجاری سم

1- Beyenbach, (1995)

گلیفسات ٤١ درصد از شرکت شیماگرو یزد خریداری و پس از تعیین دوز مؤثر در تیمارهای مختلف مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش به‌صورت طرح کاملا تصادفی در ٤ تیمار و هر تیمار (٠، ٦، ٧ و ٨ میلی‌گرم بر لیتر) با ٣ تکرار انجام شد. یک تیمار شاهد که سمی به آن اضافه نشد و ٣ تیمار دیگر که در غلظت‌های مختلف سم قرار گرفتند. تیمارهای آزمایش بر اساس نتایج تحقیق نسکوویچ و همکاران (١٩٩٦) که بر روی سم گلیفسات در ماهی کپور و قزل آلای رنگین‌کمان به‌ترتیب ٦٢٠ و ٨٦ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمده بود.

در طول مدت آزمایش هوادهی روزانه کنترل و شرایط فیزیکو شیمیایی آب در حد ثابت نگهداری شد: اکسیژن محلول ١±٦/٥ میلی‌گرم در لیتر، دما ٢±٢٤، پی اچ معادل ٠/٢±٧/٨، سختی کل معادل ١٠±٢٨٠ میلی‌گرم در لیتر کربنات کلسیم، دما ١±٢٤/٨ درجه سانتی‌گراد. جهت خروج مواد دفعی ماهیان، آب آکواریوم‌ها هر روز سیفون می‌شد و به همان نسبت آب از دست رفته، میزان سم جایگزین می‌شد. در طول مدت انجام آزمایش ابتدا غلظت سم موردنظر را در مقداری آب در یک تشت کوچک از هر تکرار به‌مدت ٣ دقیقه خوب به هم زده و سپس آن را در آکواریوم‌ها ریخته تا ماهیان در معرض سم گلیفسات قرار گیرند (دی جیولیو و هینتون، ٢٠٠٨).

پس از پایان دوره ٧٠ روزه مواجهه ماهی، ٣ عدد از نمونه‌های ماهی را از تکرار به‌طور تصادفی برداشته و آن‌ها را با پودر گل میخک با دوز ١ گرم در لیتر بیهوش و سپس اقدام به نمونه‌برداری از بافت کلیه گردید. جهت جدا کردن این نمونه‌ها با اسکالپل و قیچی ماهی را شکافته و با دقت آن‌ها را جدا کرده، در فرمالین ١٠ درصد فیکس و جهت برش بافتی به آزمایشگاه انتقال داده شدند (گاد، ٢٠٠٧).

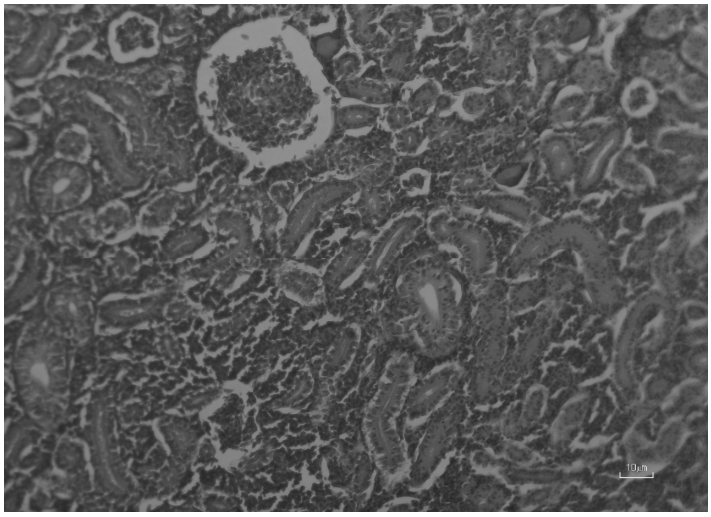
فیکساتور فرمالین پس از ٢٤ ساعت به الکل ٨٠ درصد منتقل شد. سپس آبگیری با سری افزایشی اتانل (٨٠، ٩٠، ٩٧ و ١٠٠ درصد جهت بررسی عوارض بافتی با میکروسکوپ نوری، بافت‌ها در الکل تثبیت شده و در ادامه در گزیلول و سپس پارافین وارد شدند. تمامی این مراحل توسط دستگاه پاساژ بافت (Tissue processor, Triangle biomedical sciences USA) تحت برنامه تعریف شده برای این کار انجام شد. بافت‌ها سپس با پارافین (دمای ذوب ٥٦-٥٨°C) بر روی قالب‌های tissue tech قالب‌گیری شد (فیگوردو و فرناندز[1]، ٢٠٠٧). از قالب‌های پارافینه با استفاده از دستگاه میکروتوم (Olympus CUT 4055E, USA) برش هایی با ضخامت ٥µm تهیه و پس از قرار دادن بر روی لام، به‌مدت ٠/٥ ساعت در آون (٦٠°C) قرار داده شد تا پارافین اضافه از روی بافت حذف شود. نمونه‌ها پس از پارافین زدایی و جایگزینی آن با گزیلول، به وسیله سری‌های کاهشی اتانل (١٠٠، ٩٠ و ٧٠ درصد) آبدهی مجدد و با استفاده از محلول‌های هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. بافت‌ها مجددا به آون منتقل شدند تا خشک شوند. تمامی مواد استفاده شده در این مراحل (اتانل، گزیلول، پارافین، هماتوکسیلین و ائوزین) محصول کمپانی Merck بودند. در نهایت لامل با استفاده از چسب هیستوفلوید روی لام‌ها چسبانده شد. پس از آن برش‌های بافتی توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت و عکس‌هایی از نمونه‌ها توسط فتومیکرو فتومیکروسکوپ تهیه شد.

1- Figueiredo-Fernandes

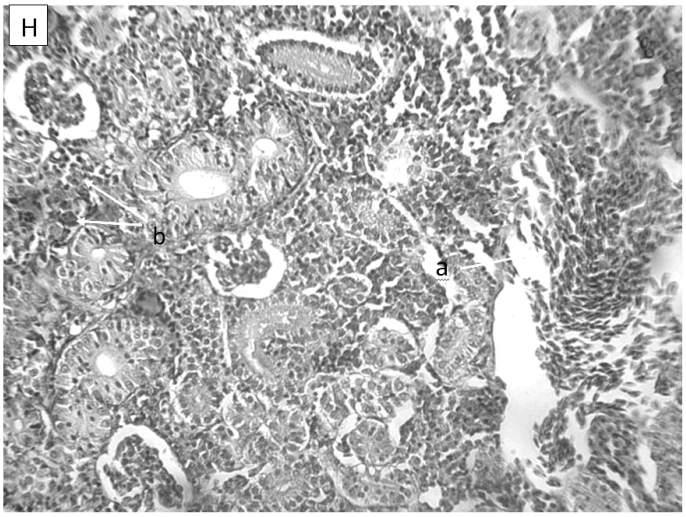
نتایج

بین گروه شاهد با تیمارهای سمی از لحاظ رفتاری و مورفولوژیک، تغییرات قابل ملاحظه‌ای مشاهده گردید. این تغییرات و واکنش‌های رفتاری که شامل بی‌قراری و شنای سریع در لحظه‌های ابتدایی افزودن سم و در دراز مدت باعث بی‌اشتهایی، شنا در سطح آب، شنای نا منظم، عدم تعادل در شنا، کاهش میدان دید، و بی‌حالی بود. تغییرات مورفولوژیک مشاهده شده در تیمارهای سمی، شامل افزایش ترشح موکوس، تیرگی رنگ بدن و آبشش‌ها، جدا شدن پولک‌ها و زخم شدن خونریزی سطح بدن (شکل ۲ و ۳) و اطراف سرپوش آبششی بود. به‌علاوه انحنای ستون فقرات، اگزوفتالمی، تیرگی بر روی ناحیه پشتی ساقه دمی، نقاط خونریزی بر روی قاعده باله پشتی و سینه‌ای. در تیمار شاهد تغییراتی مشاهده نشد. تیمارهای در معرض سم تغییراتی را نشان دادند نظیر: آغاز روند نکروز توبول‌های کلیوی، تجمع هموسیدرین و پرخونی، آتروفی گلومرول کلیوی، نکروز گسترده بافت بینابینی، تخریب و نکروز سلول‌های پوششی لوله‌های ادراری، خونریزی و پرخونی در لوله‌های ادراری. (شکل ۱ تا ٤ و جدول ۱)

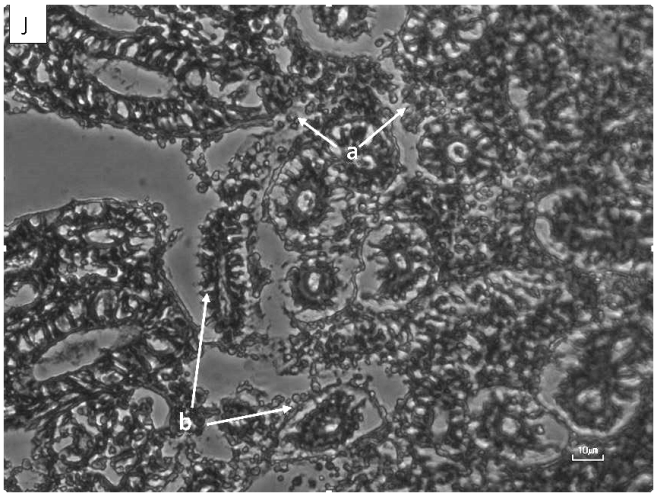
آغازروند نکروز کپسول بومن a، نکروز گسترده در توبول‌های کلیوی به‌همراه تجمع اکسودا در فضای لومن b، تجمع اکسودا در فضای بینابینی به‌همراه نکروز بافت اینتراستیسیال c، در کلیه ماهی کپور معمولی در مواجهه با ۸ ppm سم گلیفوسات.



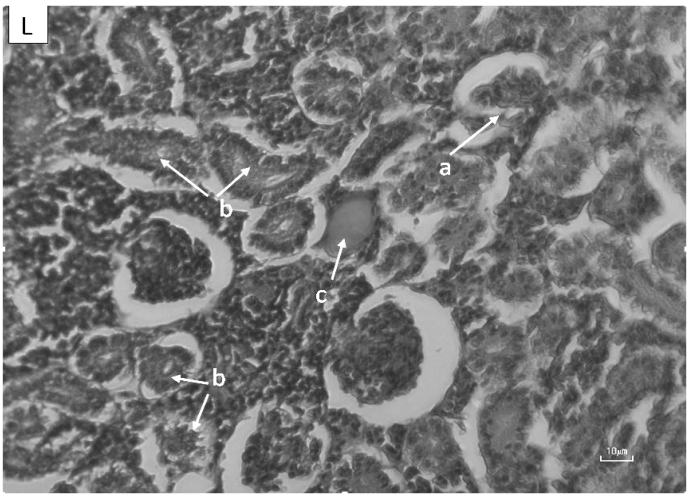
شکل ۱- تصویر نمونه شاهد (بزرگنمایی × ۲۰۰) در بافت کلیه ماهی کپور معمولی.



شکل ۲- پرخونی و Congestion و خونریزی در بافت کلیه کپور معمولی در مواجهه با ٦ ppm سم گلیفوسات a، تجمع هموسیدرین و ملانوماکروفاژها b (بزرگنمایی × ۲۰۰) در کلیه.



شکل ۳- نکروز گسترده بافت بینابینی a، نکروز توبول‌های کلیوی b، (بزرگنمایی × ۲۰۰) در کلیه ماهی کپور معمولی در مواجهه با ۸ ppm سم گلیفوسات.



شکل ٤- تغییرات هیستوپاتولوژیک کلیه ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های مزمن سم گلیفسات.

جدول ۱- تغییرات بافت کلیه در غلظت‌های مختلف از سم گلیفسات در مدت ۳۰ روز.

تغییرات بافت آبشش	۰ppm	٦ppm	۷ppm	۸ppm
نکروز توبول‌های کلیوی	-	++	+++	+++
تجمع هموسیدرین و پرخونی	-	+	++	++
آتروفی گلومرول کلیوی	-	-	++	++
نکروز گسترده بافت بینابینی	-	+	++	+++
تخریب و نکروز سلول‌های پوششی لوله‌های ادراری	-	+	++	++
خونریزی و پرخونی لوله‌های ادراری	-	+	++	+++

عدم مشاهده عارضه (-)، خفیف (+)، متوسط (++)، شدید (+++)

بحث

کلیه اندام هدف در بسیاری از بیماری‌هاست، مخصوصا در اغلب گونه‌های پرورشی و گونه‌هایی که دارای ارزش اقتصادی هستند. دلیل این امر اهمیت این اندام را در سیکل حرکت آنتوژن‌های مختلف نشان می‌دهد. کلیه اندام هدف بسیاری از آلاینده‌های آب است و در بسیاری از گونه‌های در معرض سموم کشاورزی، رشد نفرون‌ها در این بخش کم می‌شود و به‌جای آن بافت‌های لنفاوی در این قسمت رشد می‌کنند. بافت‌های لنفاوی کلیه در اطراف شاخه‌های سیاهرگ خلفی رشد می‌نمایند. بافت‌های لنفاوی متشکل از شبکه ظریف سلول‌های رتیکولر و مملو از سلول‌های بالغ و نابالغ خونی بوده و سلول‌های خونی پس از بلوغ، از طریق دیواره‌های رگی وارد گردش خون می‌شوند. واکنش ایمنی توسط ماکروفاژها و لنفوسیت‌های T و B در این قسمت انجام می‌شود. کلیه درماهیان علاوه‌بر فعالیت خونسازی نقش مهمی در برداشتن سلول‌های تخریب شده داشته و در ایمنی شرکت می‌کنند (گاد، ۲۰۰۷).

کلیه در ماهیان اندام لنفوئیدی (لنفاوی) و هماتوپویتیک اصلی بوده که لنفوسیت‌ها را در بر داشته و در تولید آنتی‌بادی نیز دخالت دارد. نقش کلیه به‌عنوان مکان اصلی تولید سلول‌های اریتروئیدی، لنفوئیدی و میلوئیدی ثابت شده است (گاد، ۲۰۰۷).

در تحقیق حاضر، نتایج حاصل از بررسی عوارض هیستوپاتولوژیک بافت کلیه ماهیان کپور معمولی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف گلیفسات در بازه زمانی ۳۰ و ٦۰ روز بررسی شد. در بافت کلیه ماهیان گروه شاهد ضایعه پاتولوژیکی مشاهده نشد. از جمله ضایعات بافتی ایجاد شده می توان به خونریزی و پرخونی لوله‌های ادراری، نکروز توبول‌های کلیوی، تجمع هموسیدرین و پرخونیف آتروفی گلومرول کلیوی، نکروز گسترده بافت بینابینی، تخریب و نکروز سلول های پوششی لوله‌های ادراری اشاره کرد.

آلتونیک و کاپکین (۲۰۰۸)، در مطالعه هیستوپاتولوژی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تیمار شده با اندوسولفان گزارش نمودند که افزایش غلظت‌های اندوسولفان از تحت کشنده به حاد تعداد مراکز ملانوماکروفاژی در سراسر تنه و کلیه را افزایش می‌دهد که به‌دلیل تحریک سیستم ایمنی و افزایش ماکروفاژها جهت هضم و حذف سموم وارد شده به بدن می‌باشد. با بررسی تغییرات هیستوپاتولوژی کلیه خامه ماهی (*Channa punctatus*) تیمار شده با سوخت‌های فسیلی توسط کاکار و همکاران (۲۰۱۱) بیان گردید که افزایش تراکم مراکز ملانوماکروفاژی احتمالا دلالت بر اختلالات متابولیسمی و فقدان تغذیه‌ای در پاسخ به آلاینده‌ها دارد. آن‌ها همچنین خونریزی در بافت را نتیجه اختلال عروق خونی و

نشانه‌ای از آسیب فیزیکی شدید حاصل از تأثیر آلاینده معرفی نمودند.

آگیس و روبرت (۲۰۰۳)، تغییرات در تجمعات هموسیدرین با افزایش در جمعیت مراکز ملانوماکروفاژی در کلیه ماهیان تیمار شده با گلیفسات را نشان داد. این مراکز ملانوماکروفاژی در به دام انداختن آنتی‌ژن‌ها و معرفی آن‌ها به لنفوسیت‌ها و جداسازی محصولات تجزیه سلولی عمل می‌کنند. بنابراین افزایش مراکز ملانوماکروفاژی به‌عنوان شاخص استرس محیطی مورد توجه قرار گرفته است.

مطالعه صورت گرفته در باره اثرات سم گلیفسات بر روی هیستوپاتولوژی ماهیان جوان تیلاپیای نیل (*Orechromis niloticus*) به وزن ۱±۱۵ گرم در غلظت‌های متفاوت ۳۱۰، ۹۷، ۳۰، ۹، ۰ میلی‌گرم در لیتر در مدت ۹۶ ساعت نشان داد که در طی این مدت تغییراتی در کلیه ماهی‌ها مشاهده شد (آیولا، ۲۰۰۸) که این عوارض شامل زخم و ایجاد قطرات روشن در سلول‌های لوله‌ای اپیتلیال بود. در مطالعه‌ای دیگر سمیت حاد گلیفسات راندآپ بر روی هیستوپاتولوژی ماهی تیلاپیای نیل در مراحل جوانی و بلوغ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ماهیان بالغ دامنه تحمل بالاتری نسبت به ماهیان جوان در مقابل این سم دارند. در بررسی هیستوپاتولوژی بر روی بافت کلیه در تیلاپیای بالغ اثرات این سم مشاهده شد که شامل زخم و جراحات متعدد، اختلال در فضای بومن و انباشتگی قطرات شفاف در سلول‌های لوله‌ای اپیتلیال بود (گاد، ۲۰۰۷).

در تحقیق مشابه دیگری اثر سم گلیفسات بر روی هیستوپاتولوژی کلیه گربه ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) در غلظت‌های ۱۹ و ۴۲ میلی‌گرم در لیتر به‌مدت ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفت که شامل نکروز، دژنره شدن توبول‌های کلیوی، تورم همراه با تخریب هسته‌ای. در مغز: التهاب و دژنره شدن نرون‌ها، التهاب و اسفنجی شدن شدید نرون‌ها بود (آیولا، ۲۰۰۸). با جمع‌بندی نتایج آنالیزهای هیستوپاتولوژیک کلیه ماهی کپور معمولی در تحقیق حاضر با سایر سموم ارگانوفسفره در گونه‌های مشابه می‌توان دریافت که سم گلی فسات عوارض هیستوپاتولوژیک بازگشت‌ناپذیری بر بافت کلیه ماهی کپور معمولی می‌گذارد که در مقایسه با سایر سموم مورد بررسی دارای عوارض نسبتا مشابهی بودند.

بررسی شاخص‌های هیستوپاتولوژیک ماهی کپور معمولی در مواجهه با غلظت‌های مختلف گلیفسات در تحقیق حاضر نشان داد که ماهی کپور معمولی تحت تأثیر مستقیم گلیفسات بوده و علاوه‌بر آن پاسخ‌های ثانویه‌ای نیز تحت استرس نشان می‌دهد. مقایسه نتایج نشان داد که علاوه‌بر تغییرات گسترده رفتاری و مورفولوژیک ماهیان مواجهه شده با عوارض شدید بافتی به‌خصوص در کلیه ماهیان رخ می‌دهد. جمع‌بندی کلی نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های مزمن گلیفسات تأثیرات فیزیولوژیک زیادی بر ماهی کپور معمولی می‌گذارد، از جمله نکروز توبول‌های کلیوی، خونریزی و نکروز توبول‌های کلیوی و پرخونی لوله‌های ادراری و از این تغییرات می‌توان به‌عنوان بیومارکرهای سنجش و ردیابی اثرات گلی فسات بر این ماهی استفاده کرد.

منابع

1. Agius, C., and Roberts, R.J. 2003. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. Journal of Fish Disease, 26: 499–509.
2. Altinok, I., and Capkin, E. 2008. Histopathology of *Rainbow Trout* Exposed to Sublethal Concentrations of Methiocarb or Endosulfan. Review Aquatic Science, 4: 210–223.
3. Arunkumar, R.I., Rajasekaran, P., and Michael, R.D. 2000. Differential effect of chromium compounds on the immune response of the African mouth breeder *Oreochromismossambicus* (Peters). Fish and Shellfish Immunology, 10: 667–676.
4. Ayoola, S.O. 2008. Histopathological effects of Glyphosate on juvenile African catfish (*clarias goriepis*). American- Eurasian, J. Agric. And Enuiron. Sci., vol. 4(3): 362-367.
5. Beyenbach, K.W. 1995. Secretory electrolyte transport in renal proximal tubules of fish. In Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation, Wood, C.M., and Shuttleworth, T.J., Eds., Academic Press, New York, Pp: 85–103.
6. Di Giulio, R.T., and Hinton, D.E. 2008. The Toxicology of FishesS. Taylor and Francis Group. 1101p.
7. Figueiredo-Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J.V., Garcia-Santos, S., Monteiro, S.M., Carrola, J., Matos, P., Fontainhas-Fernandes, A., 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. Pesqui. Vet. Bras. 27(3): 103–109.
8. Folmar, L.C., Sanders, H.O., and Julin, A.M. 1979. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates .Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 8: 269-278.
9. Gad, S.C. 2007. Animal Models in Toxicology. CRC Press. 950p.
10. Gold Sborough, L.G., and Brown, D.J. 1993. Dissipation of glyphosate and amino methyl phonic acid in water and sediments of boreal forest ponds environment toxicology and chemistry, 12: 1139-1147.
11. Hinton, D.E., and Laurén, D.J. 1990. Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potentioal biomarkers of exposure. Pp. 51-65. In: McCarthy, J.F., and L.R., Shugart (Eds.).
12. Kakkar, K.G. 2011. Water soluble fraction of diesel fuel induced histopathological alterations in the liver of *Channa punctatus*. Fish and Shellfish Immunology, 18: 14-16.
13. Neskovic, N.K., Poleksic, V., Elezovic, I., Karan, V., Budimit, M. 1995. Biochemical and Histopathological effect of Glyphosate on carp, cyprinuscarpiol: Environmental contamination and toxicology. 56: 295-302.