فصلنامه علوم تکثیر و آبزی‌پروری/ سال سوم/ شماره هشتم/ بهار ۹۵/ صفحات۳۶-۲۳

تعیین غلظت کشندگی متوسط (LC_{50} 96h) علف کش گلایفوزیت در بچه ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)

صفورا پشت‌پناه*[۱]، مهدی محمدعلیخانی[۲]، سلطنت نجار لشگری[۳]، سیدپژمان حسینی شکرابی[۲]

چکیده

در این تحقیق متوسط غلظت کشنده (LC_{50} 96h) گلایفوزیت که به مقدار زیادی در زمین‌های زراعی استفاده می گردد به منظور تعیین غلظت کشنده ۵۰ درص د از جمعیت ماهیان در ۹۶ ساعت بر روی ۱۸۰ قطعه بچه ماهی ۳ تا ۵ گرمی کپور معمولی*(Cyprinus carpio)* مطالعه شد. آزمایش‌ها به صورت ساکن و بر اساس روش استاندارد (O.E.C.D) به مدت ۴ شبانه روز (۹۶ساعت) انجام و پارامترهای مؤثر فیزیکی و شیمیایی آب از جمله pH، سختی کل، اکسیژن محلول و درجه حرارت اندازه گیری و کنترل گردید. رفتار و حرکات بچه ماهیان کپور معمولی نیز در طول مدت آزمایش به دقت بررسی شد. آزمایش‌های ابتدایی به منظور یافتن محدوده کشندگی با رهاسازی ۱۰ عدد بچه ماهی در هر آکواریوم ۲۰ لیتری با هوادهی مداوم انجام شد. سپس آزمایش‌های نهایی در ۵ تیمار (غلظت های ۶۵، ۶۹/۶۴، ۷۴/۶۱، ۷۹/۹۲ و ۸۴/۶۱ میلی گرم در لیتر) و ۳ تکرار صورت پذیرفت. میزان LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} با استفاده از آزمون Probit محاسبه گردید. سمیت حاد علف کش گلایفوزیت برای بچه ماهیان کپور معمولی ۶۸/۸۳ میلی گرم در لیتر محاسبه و بر اساس جدول استاندارد سطوح سمیت آفت کش‌ها در ردیف آفت کش‌های با سمیت کم درجه‌بندی گردید.

کلیدواژه: غلظت کشندگی متوسط (LC_{50})، علف کش، گلایفوزیت، کپور معمولی*(Cyprinus carpio)*.

۱. گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد لاهیجان، گیلان، ایران
۲. گروه شیلات، دانشگاه‌آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران(نویسنده مسؤول) hosseini@srbiau.ac.ir
۳. مرکز تحقیقات ماهیان سردابی، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تنکابن، ایران

۱- مقدمه

تخلیه پساب کشاورزی به آب غالباً واجد میزان زیادی از آفت کش‌ها و سموم بوده که این سموم از طریق آبیاری مزارع، شستشو، سرریز شدن یا بارندگی به داخل اکوسیستم‌های آبی راه پیدا کند (Ramesh and Saravanan, 2008; Ervnest, 2004). کاربرد روزافزون و بیش از حد آفت کش‌ها سلامت بشر را نیز به مخاطره انداخته و اثرات معکوسی بر موجودات غیر هدف (آبزیان) داشته و موجب آلودگی منابع آب و خاک می‌گردند (Kuliev, 1997). استفاده بی‌رویه از علف کش، بی‌دقتی در حمل نقل آنها، نشت تصادفی و کاربرد آنها جهت حذف عوامل مزاحم اثرات مضری بر جمعیت ماهی‌ها و اثرات طولانی مدت در محیط زیست با انباشت آنها در منابع آبی می‌تواند رقم بزند (Ayoola, 2008). در مطالعات سم شناسی محیط زیست آبی استفاده از به عنوان نشانگرهای زیستی به سرعت در حال گسترش است (Ervnest, 2004). اطلاعات مربوط به سمیت ناشی از استعمال آفت کش‌ها و تأثیر آنها روی موجودات غیرهدف مثل ماهی به عنوان مبنا و پایه‌ای برای سنجش و تعیین خطرات اکوتوکسیکولوژیکی آفت کش‌ها روی اکوسیستم‌های آبی مطرح می‌باشد (Gangolli, 1999).

علف کش گلایفوزیت با نام تجاری رانداپ و فرمول شیمیایی $C_6H_{17}N_2O_5$ یکی از سموم پرمصرف ارگانوفسفره غیر انتخابی است که برای کنترل کلیه گیاهان پهن برگ و باریک برگ در زمین-های زراعی مورد استفاده قرار گرفته (Tu *et al*., 2001) و به دلیل کارایی عمومی آن مصرف جهانی آن نیز بسیار گسترش یافته است (Grube *et al*., 2011). استفاده مکرر از این علف کش برای کنترل علف‌های هرز در مزارع کشاورزی و در نتیجه ورود آن به منابع آبی از طریق رواناب‌ها یا شستشو سطح گیاهان یا خاک در نهایت باعث بروز آسیب‌های بیولوژیک در ماهیان و دیگر جانداران آبزی خواهد شد (WHO, 1994).

یکی از روش‌های تعیین میزان سمیت یک ماده شیمیایی از طریق آزمایش سنجش زیستی بوده که به وسیله آن غلظت لازم جهت ایجاد تلفات نیمی از موجودات زنده مورد آزمایش در یک دوره زمانی ۹۶ ساعته (LC_{50}) گزارش می‌شود (Altinok, 2004). ماهیان به عنوان یکی از مهمترین موجودات آبزی به دلیل محیط زندگی و شرایط فیزیولوژیک می‌تواند به عنوان نشانگر زیستی در تشخیص سطوح خطرات آلاینده‌ها مورد استفاده قرار بگیرد البته حساسیت گونه های مختلف به آلاینده ها متفاوت است (Barak *et al*., 1990). از این رو انجام آزمایش‌های سم‌شناسی برای ماهیان مختلف ضروری است. در همین راستا LC_{50} 96h علف کش پاراکوات برای بچه ماهی کپور بنی، ۱/۴۹ میلی گرم در لیتر محاسبه گردید (جادی و همکاران، ۱۳۹۳). همچنین LC_{50} 96h سم علف کش رانداپ برای بچه ماهی تیلاپیا ۱۳/۲۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Etien *et al*., 1991). Veeraiah و همکاران، (۲۰۱۵) میزان LC_{50} 96h گلایفوزیت را روی بچه ماهی ۸-۶ گرمی کپور هندی (*Catla catla*) در دو

سیستم آب جریان دار و ساکن به ترتیب ۵/۷۹ و ۵/۱۹ میلی‌گرم در لیتر بدست آوردند. در تحقیقی میزان LC50 96h روی ماهی انگشت قد تیلاپیا ۱/۰۵ میلی‌گرم در لیتر گزارش شد (Ayoola, 2008). Deepananda و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که LC_{50} 96h روی پاروپایان (*Phyllodiaptomus annae*) و میگو (*Caridina nilotica*) آب شیرین بالغ به ترتیب برابر ۱/۰۵ و ۶۰/۹۷ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد.

با توجه به ارزش اقتصادی کپور ماهیان، در این تحقیق سمیت حاد علف کش گلایفوزیت در بچه ماهیان کپور معمولی ۵-۳ گرمی با هدف تعیین متوسط غلظت کشنده این علف‌کش در ۹۶ ساعت و حداکثر غلظت مجاز آن مورد مطالعه قرار گرفته است.

۲- مواد و روش کار

جهت مشخص نمودن سمیت حاد علف کش گلایفوزیت، ۱۸۰ قطعه بچه ماهی ۳ تا ۵ گرمی بچه ماهیان کپور معمولی پرورشی به سالن مرکز تحقیقات علوم شیلاتی و فنون دریایی دکتر کیوان (لاهیجان، گیلان) منتقل شدند. بچه ماهیان برای سازگار شدن با شرایط محیطی به مدت ۷ روز نگهداری شدند و از غذای دستی استاندارد ماهی کپور معمولی تغذیه شدند. در طول این مدت پارامترهای فیزیکی و شیمیایی آب از جمله pH (۸/۲-۷)، سختی کل (۲۳۰)، اکسیژن محلول بیش از ۷ میلی گرم در لیتر و دما ۱±۲۲ نیز تحت کنترل بوده و در محدوده مناسب کپور معمولی حفظ گردید. سپس برای انجام آزمایش های تشخیص سمیت، ۱۰ قطعه بچه ماهی ۳ تا ۵ گرمی به درون هر آکواریوم با حجم ۲۰ لیتر آب رهاسازی شدند و در شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در شرایط آب ساکن (استاتیک) انجام شد. از سنگ هوا جهت هوادهی استفاده شد. بر اساس روش استاندارد O.E.C.D (۱۹۹۳) به منظور تعیین LC_{50} 96h این علف کش در بچه ماهیان (۲۴ ساعت قبل از شروع آزمون قطع غذا شده) با تیمارها و تکرارهای مختلف انجام شد و در طول آزمایش، حرکات و رفتار بچه ماهیان نیز به طور شبانه روزی مورد بررسی قرار گرفت. پس از انجام آزمایش های ابتدایی، غلظت کشنده علف کش گلایفوزیت در بچه ماهیان کپور معمولی ۵-۳ گرمی ۶۸/۸۳ میلی گرم در لیتر تعیین گردید و پس از انجام محاسبات لگاریتمی، آزمایش های نهایی با ۵ تیمار (غلظت های ۶۵، ۶۹/۶۴، ۷۴/۶۱، ۷۹/۹۲ و ۸۴/۶۱ میلی گرم در لیتر) و ۳ تکرار انجام و مقادیر LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} در زمان های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت با استفاده از نرم افزار SPSS (ورژن، ۲۰) و آزمون پرابیت در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و همچنین میزان حداکثر غلظت مجاز (LC_{50} 96h/10) و درجه سمیت مشخص گردید (OECD, 1993).

۳- نتایج

متوسط غلظت کشنده علف کش گلایفوزیت در مدت ۹۶ ساعت در بچه ماهیان ۳ تا ۵ گرمی کپور معمولی ۶۸/۸۳ میلی گرم در لیتر، حداکثر غلظت مجاز ۶/۸۸ میلی گرم در لیتر، حداکثر غلظت غیر مؤثر (NOEC) ۶/۸۸ میلی گرم در لیتر و حداقل غلظت مؤثر (LOEC) نیز ۶۶/۲۷ محاسبه شد (جدول ۱). همچنین ارتباط بین غلظت علف کش با تلفات بچه ماهی کپور معمولی بر اساس معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی پروبیت با لگاریتم علف کش در جدول ۲ نشان داده شده است. به طوری که ارتباط مستقیمی بین افزایش غلظت علف کش و مرگ و میر ماهیان با همبستگی بالا مشاهده شد.

جدول ۱- غلظت‌های کشنده علف کش گلایفوزیت طی ۹۶ ساعت در بچه ماهی کپور معمولی *(Cyprinus carpio)*

غلظت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
LC_{10}	۶۸/۷۶	۶۷/۵۴	۶۶/۶۵	۶۶/۲۷
LC_{50}	۷۴/۲۲	۷۰/۷۸	۶۹/۸۹	۶۸/۸۳
LC_{90}	۸۵/۰۹	۷۷/۰۵	۷۶/۲۰	۷۳/۷۳

جدول ۲- معادله خط رگرسیون و ضریب‌همبستگی با لگاریتم غلظت در بچه‌ماهی کپورمعمولی *(Cyprinus carpio)*

اطلاعات آماری	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۹۶ ساعت
معادله خط رگرسیون	y =۲۱/۵۸۷x+۳۵/۳۷۹	y =۳۴/۷۴۶+۵۹/۲۷۸	y =۳۴/۱۷۹x+۵۸/۰۴۲	y =۴۲/۹۱۴x+۷۳/۸۶۷
ضریب همبستگی (R^2)	۰/۹۵۵۱	۰/۸۰۰۷	۰/۸۳۶۳	۰/۸۷۰۷

۴- بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده متوسط غلظت کشنده علف کش گلایفوزیت در بچه ماهیان ۳ تا ۵ گرمی کپور معمولی ۶۸/۸۳ میلی گرم در لیتر، حداکثر غلظت مجاز ۶/۸۸ میلی گرم در لیتر، حداکثر غلظت غیر مؤثر (NOEC) ۶/۸۸ میلی گرم در لیتر و حداقل غلظت مؤثر (LOEC) نیز ۶۶/۲۷ محاسبه شد. بر خلاف نتایج این مطالعه محمدنژاد شموشکی و همکاران (۱۳۸۹) اثر سمیت بسیار پایینی را در مقابل علف کش گلایفوزیت گزارش کردند بطوریکه مقدار LC_{50} 96h این علف کش در بچه ماهیان ۱ تا ۳ گرمی سفید ۵۱۸۹ میلی گرم در لیتر، در بچه ماهیان ۱ تا ۳ گرمی کلمه ۷۷۲۸ و در بچه ماهیان ۱ تا ۳ گرمی کپور دریایی ۷۷۱۶ میلی گرم در لیتر بیان شد. غلامی سیدکلایی و همکاران (۱۳۹۲) نشادن دادند که LC_{50} ۹۶ ساعته مالاتیون و کاربارل در بچه ماهیان کپور معمولی به ترتیب ۱/۳ و ۱۲/۶۷ میلی گرم

در لیتر است که نسبت به گلایفوزیت دارای سمیت بیشتری می باشند. مقدار LC_{50} 96h کاربارِیل در کپور معمولی ۷/۸۵ میلی گرم در لیتر و در ماهی حوض ۱۳/۹ میلی گرم در لیتر گزارش شده است (De Mel and Pathiratne, 2005) که نشان دهنده اثر سمیت بیشتر این حشره کش نسبت به گلایفوزیت است. همچنین LC_{50} 96h گلایفوزیت برای بچه ماهی تیلاپیا و کپور هندی به ترتیب ۱۳/۲۵ و ۵/۱۹ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Etien *et al*., 1991; Veeraiah *et al*., 2015) که این نتیجه بیانگر حساسیت بیشتر بچه ماهی تیلاپیا و کپور هندی (*Catla catla*) به این علف کش نسبت به بچه ماهی کپور است.

دراین مطالعه مشخص شد که با افزایش زمان از ۲۴ به ۹۶ ساعت از غلظت LC_{10}، LC_{50} و LC_{90} کاسته شده یعنی در زمان ۲۴ ساعت نسبت به ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت مقادیر بیشتری از سم لازم است تا اثرات کشنده خود را آشکار سازد. به عبارت دیگر با افزایش ساعات آزمایش میزان غلظت کمتری از سم لازم است تا ۵۰ درصد از جمعیت ماهیان تلف شوند و مقدار LC_{50} در ۲۴ ساعت اولیه آزمایش همواره بیشتر از مقدار آن در پایان ۹۶ ساعت می باشد. زیرا هنگامی که ماهی در معرض غلظت ثابتی از سم باشد به مرور زمان هم مقاومت ماهی تحلیل می رود و هم فرصت بیشتری برای تأثیرگذاری روی ماهی دارد (Ervnest, 2004). علاوه بر این، در مواردی تجمع سم در بافت های ماهی نیز باعث ایجاد غلظت های فزاینده ای می شود که خود به مرور زمان موجب پایین آمدن LC_{50} می شود.

مقدار LC_{50} 96h کاربارِیل در کپور معمولی ۷/۸۵ میلی گرم در لیتر و در ماهی حوض ۱۳/۹ میلی گرم در لیتر گزارش شده است (De Mel and Pathiratne, 2005).

همچنین با توجه به جدول سطوح سمیت آفت کش ها، علف کش گلایفوزیت در بچه ماهیان ۳ تا ۵ گرمی کپور معمولی با غلظت کشنده ۶۸/۸۳ در ردیف آفت‌کش‌های با سمیت کم درجه‌بندی گردید (جدول ۳).

جدول ۳- سطوح سمیت آفت‌کش‌ها (UN,2009)

LC_{50} 96h (میلی گرم در لیتر)	درجه سمیت
>۱۰۰	تقریباً غیر سمی
۱۰-۱۰۰	سمیت کم
۱-۱۰	سمیت متوسط
۰/۱-۱	سمیت زیاد
<۰/۱	سمیت خیلی زیاد

معادله خط رگرسیون و ضریب همبستگی با لگاریتم غلظت در بچه ماهیان کپور معمولی نشان داد که ضریب همبستگی در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت از دقت بالایی برخوردار است و دلیل آن

نزدیک بودن ضریب همبستگی به عدد یک می باشد که بیانگر ارتباط مستقیم و قوی بین لگاریتم غلظت علف کش با درصد تلفات می باشد که این نتایج همسو با نتایج سایر محققین است (Etien *et al*., 1991; Deepananda *et al*., 2011; Veeraiah *et al*., 2015).

مطالعه تغییرات رفتاری ماهیان برای ارزیابی استرس‌ها و عوامل محیطی کاربرد فرآوانی دارد (Mohammed *et al*., 2012). از لحاظ رفتارشناسی ماهیانی که تحت تأثیر مختلف علف‌کش گلایفوزیت متفاوت بوده به طوری‌که در برابر غلظت‌های بالا به سرعت عکس‌العمل نشان داده و با حرکات تند و سریع دائماً در حال جنبش بوده تا جایی که خسته شده و بی حال بر کف آکواریوم می-افتادند در حالی که عکس‌العملشان در ساعات اولیه محسوس نبود و به تدریج دچار سستی شدند. اختلال در سیستم مغز و اعصاب که از اساسی‌ترین اثر سموم ارگانوفسفره می‌باشد در این تحقیق با عدم تعادل و شنای مارپیچی بچه ماهیان مشهود بود و انحنای ستون فقرات، بیرون‌زدگی حدقه چشم و خونریزی در ناحیه آبشش و سینه‌ای نیز از علائم ظاهری ایجاد شده در بچه ماهیان بودند که در ماهیان آمور و فیتوفاگ نیز گزارش شده است (زمینی، ۱۳۷۵). رفتارهای غیرطبیعی مشاهده شده در ماهی کاراس (*Carassius auratus*) در معرض غلظت کشنده سم دیازینون، بی‌تابی شدید، اضطراب، افزایش عکس‌العمل به محرک‌های بیرونی، از دست دادن توانایی جهت یابی در آب، شنای نیم دایره‌ای و تیرگی سطح بدن بود (ترخانی و هدایتی، ۱۳۹۲) که با علائم اشاره شده در گزارش (Svoboda *et al*., 2001) مشابه بود.

فهرست منابع

۱. **ترخانی، ر.، هدایتی، س.ع.، (۱۳۹۲).** تعیین غلظت کشنده سموم دیازینون و دلتامترین در ماهی کاراس طلایی (*Carassius auratus*). بهره‌برداری و پرورش آبزیان. دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۱۳۱-۱۲۱.

۲. **جادی، ی.، صفاهیه، ع.، سلیقه‌زاده، ر.، (۱۳۹۳).** تعیین محدوده کشندگی و غلظت میانه کشنده (LC_{50} 96h) علف کش پاراکوات بر بچه ماهی بنی (*Mesopotamichthys sharpeyi*). آبزیان و شیلات. دوره ۵، شماره ۱۷، صفحات ۲۱-۳۱.

۳. **زمینی، ع. ع.، (۱۳۷۵).** تعیین غلظت کشنده LC_{50} 96h فلزات سنگین سرب و کادمیوم روی دو گونه کپور ماهیان چینی آمور و فیتوفاک. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد واحد لاهیجان. ۵۲ صفحه.

۴. **سیدکلایی، س.غ.، شیری، ن.، میرواقفی، ع.، رفیعی، غ.، مخدومی، چ.، (۱۳۹۲).** ارزیابی سمیت مالاتیون، کاربارل و گلایفوزیت در بچه ماهیان کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). تحقیقات

دامپزشکی. دوره ۶۸، شماره ۳، صفحات ۲۵۷-۲۶۷.

5. **Altinok, I., (2004).** Toxicity and therapeutic effects of chloramine-T for treating *Flavobacterium columnare* infection of goldfish. Aquaculture, 239(1): 47-56.
6. **Ayoola, S.O., (2008).** Toxicity of glyphosate herbicide on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile. African Journal of Agricultural Research, 3(12): 825-834.
7. **Barak, N.A.E., Mason, C.E., (1990).** Mercury, Cadmium and lead concentration in five species of freshwater fish from eastern England. Science of the Total Environment, 92: 257-264.
8. **De Mel, G.T.M., Pathiratne, A., (2005).** Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields. Journal of Applied Ichthyology, 21(2): 146-150.
9. **Deepananda, K.A., Gajamange, D., De Silva, W.A., Wegiriya, H.C.E., (2011).** Acute toxicity of a glyphosate herbicide, Roundup®, to two freshwater crustaceans. Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka, 39(2): 169-173.
10. **Ervnest, H., (2004).** A Textbook of modern toxicology. John Wiley and sons Hoboken, New Jersey. 557pp.
11. **Etien, N.D., Kaba, N., Amon-Kothias, J.B., (1991).** Glyphosate and 2, 4 –D efficacious doses for the chemical control of water lettuce (*pistia stratiotes*, Linn) and Toxicity of Glyphosate against Tilapias (*Sarotherodon melanotheron*). Journal Ivoirien d'Oceanologie et de Limnologie, 1(2): 111 -118.
12. **Gangolli, E.D., (1999).** The dictionary of toxic substances and their effects. Edition, Royal Society of Chemistry, Cambridge. 3: 351-354.
13. **Grube, A., Donaldson, D., Kiely, T., Wu, L., (2011).** Pesticides industry sales and usage. US EPA, Washington, DC. 33 P.
14. **Kuliev, Z.M., (1997).** Carps and perches of the southern and middle Caspian (structure of the population, Ecology, distribution and measures for population restocking). Author abstract of the dissertation for the Ph.D. Baku. 6-14 pp.
15. **Mohammadnezhad, M., Osareh, R., Samadian, M., Pazhand, Z., (2010).** Determination the lethal concentration (LC_{50} 96h) of Diazinon herbicide on *Rutilus frisii kutum*, *Rutilus rutilus caspius* and *Cyprinus carpio*. Journal of Biological Sciences Branch of Lahijan, 4(1): 79-86.
16. **Mohammed, V.S.N., Sheriff, A.M., Mohideen, S.A., Azmathullah, M.N., (2012).** Toxicity of formalin on behaviour and respiration in *Danio rerio*. International Journal of Environmental Science, 2(4): 1904.
17. **OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). (1993).** OECD Guidelines for Testing of Chemicals OECD, Organization for Economic. Paris.1-39.
18. **Ramesh, M., Saravanan, M., (2008).** Hematological and biochemical responses in a Freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to Chlorpyrifos. International Journal of Integrative Biology, 3(1): 80-83.
19. **Svoboda, M., Luskova, V., Drastichova, J., Zlabek, V., (2001).** The effect of Diazinon on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*). Acta

Veterinaria Brno, 70: 457-465.
20. **Tu, M., Hurd, C., Randall, J.M., (2001).** Weed control methods Handbook: tools and techniques for use in Natural areas. The Nature Conservancy, Washington, D. C., USA. 220 P.
21. **UN (United Nations). (2009).** Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). United Nations Publications.
22. **Veeraiah, K., Padmaja, B., Ch, V., (2015).** Impact of glyphosate on biochemical constituents of the freshwater fish, *Catla catla*. International Journal of Bioassays, 4(7): 4139-4144.
23. **WHO (World Health Organization). (1994).** Glyphosate. Environmental Health Criteria, Publication NO. 159, Geneva, Switzerland.