

池塘中亚硝酸盐对草鱼种的毒害及防治

王鸿泰 胡德高

(中国水产科学研究院长江水产研究所)

提 要 亚硝酸盐对草鱼种有很高的毒性,特别是水温超过 30°C 以上时。它主要是诱导草鱼血液中的血红蛋白转变为高铁血红蛋白,高铁血红蛋白超过血红蛋白总量的 23.0% 时,容易诱发草鱼出血病。随着草鱼血液中高铁血红蛋白的增高,红细胞数量和血红蛋白含量逐渐减少。池塘中亚硝酸盐氮含量到 0.090 ± 0.03 毫克/升时,草鱼会出现出血病。清除水中亚硝酸盐氮的方法是在池塘中施加次氯酸钠,亚硝酸盐氮超过 0.15 毫克/升时,最好在池塘中先施加熟石灰,然后施加次氯酸钠,且以分次施用,效果较好。

关键词 亚硝酸盐,高铁血红蛋白,次氯酸钠,草鱼,毒害,防治

养鱼池塘内,由于经常投饵、施肥及残渣分解,会产生大量的硝酸盐,尤其在夏季高密度养殖条件下,使厌氧菌将硝酸盐还原为亚硝酸盐。亚硝酸盐对鲑科 (Salmonidae)^[11-13,19]、鲟科 (Amiejuridae)^[10,22] 及其他鱼类的毒害^[14,16] 报道较多。但亚硝酸盐对草鱼 (*Otenopharyngodon idellus* C et V) 的毒害报道较少^[1]。本文旨在探讨亚硝酸盐对草鱼种的毒害及防治方法。

材 料 和 方 法

试验于 1981~1985 年在湖北省江陵县四新渔场、通山县柏树下渔场及本所试验场进行。

1. 池塘中亚硝酸盐氮含量的调查及它对草鱼种的毒性试验 1981~1985 年在江陵、沙市地区,采用常规水化学方法^[2]测定 46 个草鱼池中的亚硝酸盐氮证实,患出血病 (Hemorrhage disease) 池中的亚硝酸盐氮含量均高于未发病池。用于亚硝酸盐氮毒性试验的草鱼种来自江陵四新渔场,其重量为 24.5 ± 4.3 克,全长为 14.0 ± 3.1 厘米。7 个试验水池,每个 2M³,底部放 3~4 厘米厚的底泥,模拟池塘环塘;每池放鱼 30 尾,驯化三天后开始试验。试验用水来自长江所试验场鱼池,并测定其主要水质参数。先测定亚硝酸钠对草鱼种的 96 小时半致死浓度 (LC₅₀),然后测定亚硝酸钠对草鱼种的毒性。考虑到池塘中亚硝酸盐氮含量范围,其亚硝酸钠浓度分别定为 0.5、1.0 和 2.0 ppm;处理时间分别为 4 天和 8 天。断尾取血、肝素抗凝,分别测定血液中海铁血红蛋白 (MHb)^[19]、血红蛋白 (Hb)、红细胞数量 (RBC) 及碱性磷酸酶 (AKP) 的数量变化^[4]。

2. 次氯酸钠 (NaOCl) 与亚硝酸钠的反应试验 NaOCl 由湖北沙市印染厂提供,含氯量为 38~42%。试验在通山县柏树下渔场水族箱中进行,每个容积为 110 升,每个水族箱中放入少量尿素及一些捞取的浮游生物。36 小时后测定氧化一定的亚硝酸钠所需的 NaOCl 的量。

3. 次氯酸钠清除池塘中亚硝酸盐的试验 试验在江陵县及通山县进行,先在 14 口塘行大面积泼洒试验。试验塘均以放养草鱼为主,并搭配一定量的鲢、鳊。其深度为 1.6~2.0 米,最小面积为 667M²。

最大 2800M²。草鱼种规格: 重量 12.0~36.2 克, 全长 10.5~17.4 厘米。除溶解氧以 Horiba U-7 型水质分析仪测定外, 化学耗氧量、二氧化碳、亚硝酸盐氮均以常规水化学方法测定。

4. 次氯酸钠对浮游植物的影响试验 NaOCl 是一种强氧化剂, 对池塘浮游植物有强烈的杀伤作用。试验其不同浓度对浮游植物的影响, 并于施药后第三天晨以定量法测定其生物量^[6]。

结 果

一、患病池的亚硝酸盐氮含量、毒性试验及毒性试验期间的主要水质参数

1. 对 46 个患出血病草鱼池的亚硝酸盐氮含量测定为 0.090 ± 0.030 毫克/升, 而不发病池均在 0.05 毫克/升以下, 或仅有痕量。

2. 试验池中毒性试验期间主要水质参数列于表 1。

表 1 毒性试验期间主要水质参数

Table 1 Summary of parameters of water quality during the toxic experiments

项 目	数 值
水温(°C)	28.5~33.4
pH	7.4~7.7
钙(mg/l)	43.0±6.2
氯(mg/l)	83.7±11.0
化学耗氧量(mg/l)	78.5±4.5
亚硝酸盐氮(mg/l)	痕量*

* 开始试验前的数值

表 2 亚硝酸盐诱导草鱼种高铁血红蛋白试验

Table 2 The experiment of nitrite-induced methemoglobin in juvenile grass carp

处理时间	高铁血红蛋白			
	总血红蛋白 (MHb + Hb)*			
	0.5ppm NaNO ₂ (NO ₂ -N 0.10mg/l)	1.0ppm NaNO ₂ (NO ₂ -N 0.20mg/l)	2.0ppm NaNO ₂ (NO ₂ -N 0.40mg/l)	对 照 组
96小时	1.13±0.09	1.33±0.10**	1.48±0.12**	0.90±0.2
	5.71±0.40 (16.5%) n=14	5.13±0.70 (22.0%) n=14	4.20±0.50 (26.3%) n=14	5.95±0.41 (15.38%) n=5
	1.24±0.12	1.43±0.20**	1.97±0.13**	1.00±0.14
192小时	5.61±0.6	4.70±0.63	3.8±0.44	5.95±0.40
	(18.1%) n=14	(23.3%) n=14	(34.10%) n=12	(14.38%) n=5

* MHb——高铁血红蛋白 Hb——血红蛋白

** 高铁血红蛋白的增加对各自对照组而言, 有显著性差异($p < 0.05$)

3. 试验得知,在平均水温 30°C时,亚硝酸盐氮对当年草鱼种的 96 小时 LC₅₀ 为 4.62 毫克/升。把草鱼放入不同浓度的亚硝酸钠溶液中(表 2、图 1),草鱼血液中高铁血红蛋白(MH_b)呈现增加趋势,特别以 0.40 毫克/升(NO₂-N)处理 96 小时和 192 小时时,草鱼血液中 MH_b 与对照组相比有明显增加(从 0.9~1.0 增加到 1.48~1.97),而血红蛋白与对照组相比则明显减少(从 5.95 减少到 4.20—3.80)。以 NO₂-N 0.10 毫克/升处理 96 小时和 192 小时,其血液中 MH_b 略有增加,当 NO₂-N 超过 0.20 毫克/升时,血液中 MH_b 的增加和 H_b 的减少才较明显。在亚硝酸氮环境中中毒死亡的草鱼,其血液中 MH_b 数量均超过总血红蛋白的 23.0%,死亡的表征是烂鳃、肌肉出血等,与患出血病死亡的草鱼类同^[7]。受亚硝酸盐毒害的草鱼血液中 MH_b 增加的同时,RBC 与血液碱性磷酸酶的数量则呈递减趋势(表 3,图 2、3)。MH_b 的增加与 RBC 的减少,在 NO₂-N 浓度为 0.10、0.20、0.40 毫克/升时呈负相关: $y = 4.7 - 0.0185x, r = 0.8843$ (图 4)。

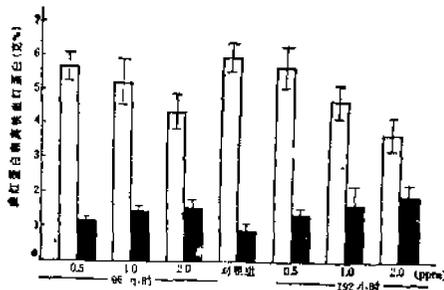


图 1 在不同浓度的亚硝酸钠溶液中草鱼血液中血红蛋白与高铁血红蛋白含量的变化

Fig. 1 Change of MHb and Hb level in juvenile grass carp blood at different concentrations of nitrite

□ 血红蛋白 ■ 高铁血红蛋白

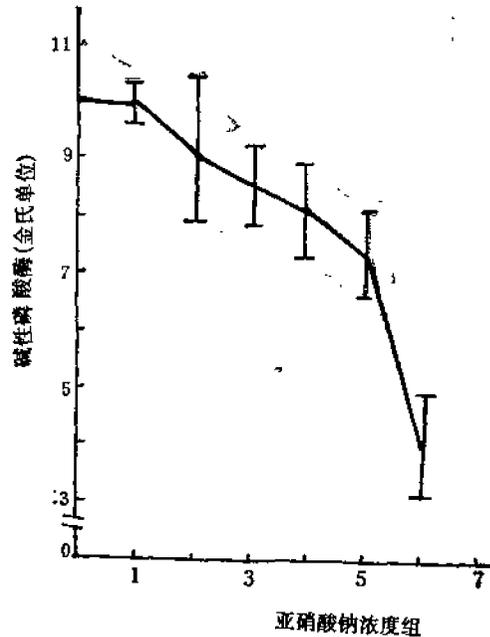


图 2 在不同浓度亚硝酸钠溶液中草鱼血液碱性磷酸酶的变化

Fig. 2 Change of AKP(alkaline phosphoric enzyme) level in juvenile grass carp blood at different concentrations of nitrite

- | | |
|---|------------|
| 1. 不含亚硝酸盐的水 | 10.0 ± 0.3 |
| 2. 对照组(池塘水) | 9.0 ± 1.2 |
| 3. 用 0.5 ppm 的 NaNO ₂ 处理 8 天 | 8.6 ± 0.7 |
| 4. 用 1.0 ppm 的 NaNO ₂ 处理 8 天 | 8.1 ± 0.8 |
| 5. 用 2.0 ppm 的 NaNO ₂ 处理 8 天 | 7.4 ± 0.8 |
| 6. 患出血病接近死亡的草鱼 | 4.0 ± 0.9 |
- 金氏单位(n=14)

表3 在不同浓度的亚硝酸钠溶液中草鱼血液红细胞(RBC)数量变化
Table 3 Change of RBC level in juvenile grass carp blood at different concentrations of nitrite

处理时间	红细胞数量(万/立方毫升)		
	0.5ppm NaON ₂ (NO ₂ -N 0.1mg/l)	1.0ppm NaON ₂ (NO ₂ -N 0.20mg/l)	2.0ppm NaON ₂ (NO ₂ -N 0.40mg/l)
96小时(h)	196.8 ± 29.5 (n=14)	188.5 ± 36.4 (n=14)	166.4 ± 41.5 (n=14)
192小时(h)	190.9 ± 30.2 (n=19)	178.7 ± 36.2 (n=17)	158.1 ± 40.5 (n=14)

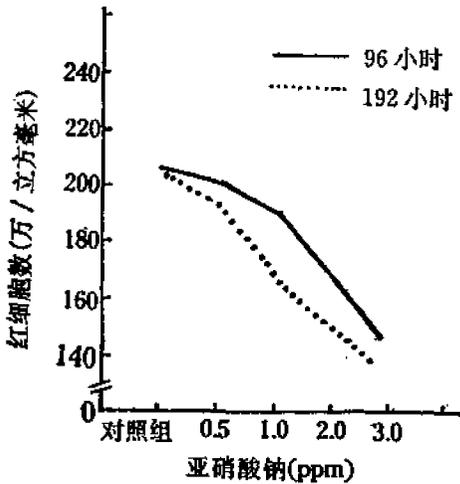


图3 在不同浓度的亚硝酸钠溶液中红细胞的数量变化

Fig. 3 Change of erythrocytes (RBC) number in juvenile grass carp at different concentrations of nitrite

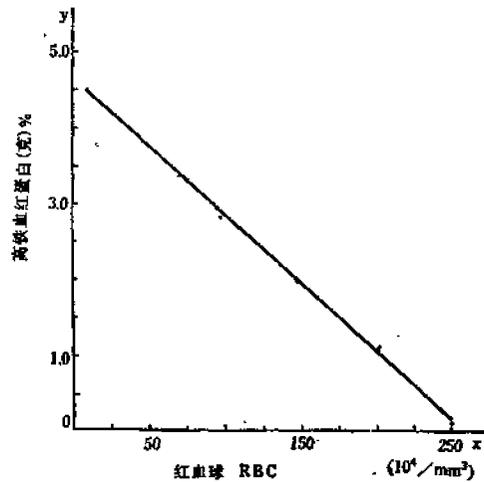


图4 在不同浓度的亚硝酸盐溶液中Mhb和RBC相关图

Fig. 4 The relation between Mhb and RBC of juvenile grass carp at the different concentration of nitrite

表4 次氯酸钠与亚硝酸钠之间的氧化还原反应试验
Table. 4 The experiment of redox reaction between sodium hypochlorite and sodium nitrite

NaOCl(ppm)	NaNO ₂ (ppm)		
	0.5ppm (NO ₂ -N 0.10mg/l)	1.0ppm (NO ₂ -N 0.20mg/l)	2.0ppm (NO ₂ -N 0.40mg/l)
理论值	0.5395	1.0790	2.1580
实际值	1.25	≥2.50	≥4.90

二、次氯酸钠与亚硝酸钠的氧化还原反应

次氯酸钠与亚硝酸钠之间的氧化还原反应理论值和实际反应值列于表4。夏季水族

箱中,平均水温经常在 30°C 以上,特别是在 32°C 以上时,次氯酸钠清除水中亚硝酸盐氮的效果较好,平均水温在 25°C 以下效果不够理想。试验得知,清除亚硝酸盐氮的实际有效次氯酸钠的用量要比理论值大 2~3 倍。

三、次氯酸钠清除亚硝酸盐的大田试验

试验池塘 14 个,现将通山县柏树下渔场三个草鱼塘用 1.0ppm 的 NaOCl (含氯量 38.0%) 清除水体中亚硝酸盐后,水化因子变化列表 5。

表 5 三个草鱼塘应用次氯酸钠后水化因子及浮游植物的变化
Table 5 Change of hydrochemical factors and phytoplankton
in three ponds after addition of 1.0 ppm of NaOCl

塘 号	1		2		3	
面 积(米 ²)	1200.6		667.0		2068.2	
	试验前	试验后	试验前	试验后	试验前	试验后
溶 解 氧 (DO, mg/l)	3.30±1.0	1.8±0.3	2.7±0.7	2.4±0.3	3.63±0.5	2.37±0.2
二 氧 化 碳 (CO ₂ , mg/l)	11.2±2.0	12.4±2.5	8.3±1.1	9.5±1.9	7.4±1.2	10.5±2.1
化 学 耗 氧 量 (COD, mg/l)	79.5±3.1	62.8±4.0	83.0±1.7	78.0±2.3	82.5±2.9	77.4±1.8
亚 硝 酸 盐 氮 (NO ₂ -N, mg/l)	0.052	痕 量	0.095	痕 量	0.050	痕 量
水 温(°C)	82.0±3.1					
浮 游 植 物 量 (mg/l)	46.0±7.4	37.2±4.6	57.5±6.9	44.5±5.6	61.9±7.8	45.7±9.5

从表 5 看出,施用 1.0 ppm 的 NaOCl 后,二氧化碳含量略有上升,溶解氧、化学耗氧量呈下降趋势,亚硝酸盐的含量则明显减少。在其他塘的试验中发现,对藻类多(生物量超过 65.0 毫克/升)、悬浮物多、透明度低的塘,清除亚硝酸盐的效果就差。如增加 NaOCl 用量对浮游生物影响太大,在亚硝酸盐氮超过 0.15 毫克/升时,必须采用分次施用 NaOCl 的方法。

四、次氯酸钠对池塘浮游植物的影响

在施用 NaOCl 清除池塘中亚硝酸盐氮时,受影响最大的是浮游植物,从表 5 浮游植物的变化看出,施 1.0ppm 的 NaOCl,在平均水温 30°C 以上时,浮游植物死亡率 20.0~26.0%。个别池塘施 2.0ppm 的 NaOCl 后,其死亡率达 40.0% 左右。浮游植物死亡多少要看其量的多少、有机物含量而定。浮游植物在 50.0 毫克/升左右,施用 1.0ppm 的 NaOCl,死亡率约为 20.0%。浮游植物量为 80.0 毫克/升或更多时,其死亡率略呈下降趋势,即低于 20.0%。

讨 论

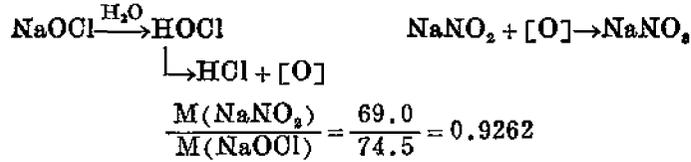
试验证明,夏季池塘中亚硝酸盐含量过高,可引起草鱼种的高铁血红蛋白(MH_b)症,在其含量超过23.0%时,容易诱发草鱼出血病。血红蛋白(H_b)是生物运送氧气的主要载体,一旦亚硝酸盐与H_b相结合,而形成亚硝基血红蛋白(Nitrosohemoglobin),使血液中H_b的铁由二价态变成三价态,H_b转变为MH_b,而失去携带氧气的机能^[20],造成组织缺氧,不但削弱其体质,影响其生长,也为草鱼呼肠孤病毒(Reovirus)入侵创造条件。因之,改善池塘生态条件,减少池塘中亚硝酸盐氮的含量成为一个不可忽视的问题。

从表2看出,当年草鱼种血液中MH_b的含量为0.9—1.0克%,占血液总血红蛋白(MH_b+H_b)的15.0%左右,这可能是养鱼池塘中或多或少总存在一定量亚硝酸盐的缘故。试验中可以看到,随亚硝酸盐浓度增大而MH_b也逐渐增多,但重要的是MH_b增加的同时,正常H_b也在逐渐减少。显然,在同一试验组(96小时或192小时组)的MH_b绝对值增加的同时(1.48-1.13=0.35;1.97-1.20=0.77),使MH_b在血液中的比例也随之增大。96小时组0.5、2.0(NaNO₂)ppm浓度组分别从16.5%增至26.3%;192小时组从18.1%增加到34.1%。在受亚硝酸盐毒害致死草鱼的MH_b为2.75克%,占总血红蛋白的百分率 $\left(\frac{MH_b}{MH_b+H_b}\right)$ 为39.7%(仅做过一次,结果中未列入)。

试验中发现,草鱼MH_b最高含量占总血红蛋白(MH_b+H_b)量的34.1%,并不像Almendras, J. M. E.^[9]指出的那样,虱目鱼(*Chanos Chanos*)在高浓度亚硝酸盐溶液中处理后,MH_b可达到75.72%。而Brown, D. A. and D. J. Mcleay^[11]认为亚硝酸盐氮(NO₂-N)200~300微克/升时,虹鳟的MH_b最高可达到3.9克%,占整个血红蛋白的60%以上。

如何清除水中的亚硝酸盐,我们采取隔日施加0.5ppm的NaOCl(含有效氯40%),使水体中测不到亚硝酸盐的存在或只有痕量。NaOCl是一种漂白剂,它在水中释放出新生态氧[O],[O]具有强烈地氧化能力,浓度高时可破坏细胞色素及杀伤生物组织。我们泼洒0.5ppm的NaOCl不但对池塘浮游生物影响甚微,多次施用具有清除水中亚硝酸盐的作用。另外,还有提高鱼类新陈代谢的作用。众所周知,鱼鳃不但是气体交换的场所,也是离子交换和某些物质代谢的地方。Smith^[16]证实,有些氨和尿素形成后,从鳃表面排泄出去,并认为鲤鱼和金鱼从鳃排泄的氮比肾脏多10倍。同样,亚硝酸盐引起虹鳟等鱼的MH_b也是通过鳃膜而实现的^[15,16]。因此,我们在养鱼池塘中经常施用低浓度的NaOCl,除清除亚硝酸盐的作用外,[O]还有杀菌功能。也许它对鱼鳃表皮细胞的刺激作用及氧化功能,加强了体内代谢物质的排出与内外环境间的离子交换。因为血液中碱性磷酸酶的升高,正是鱼体新陈代谢向旺盛方面转化的标志。从图2看出,碱性磷酸酶在亚硝酸盐环境中同红细胞一样,也随其含量增加而减少。

对于施用NaOCl所存在的问题也做了探讨。湖北地区夏季池塘中平均水温经常在30°C以上,含氯量40.0%的NaOCl在池塘中是处于全解离状态:



还原一克分子 NaNO_2 ，大体需要一克分子的 NaOCl (有效浓度)。由于水环境中存在大量藻类、有机物质、鱼类等，故清除亚硝酸盐的实际用量要比理论值大 2~3 倍或更多。

亚硝酸盐氮在池塘中含量为 0.15 毫克/升时， NaOCl (含氯量为 40.0%) 的施加浓度也不宜超过 1.0ppm，因它对藻类有强烈地杀伤作用，施药后 36 小时，即第三次凌晨，死亡藻类分解耗氧，造成鱼类严重浮头。如浓度再大，又遇阴雨闷热天况，极易致死鱼类。主养草鱼搭配鲢、鳙的鱼塘，渔民一般不主张多用次氯酸钠、漂白粉等氧化剂处理水质。从表 5 看出，平均水温在 30°C 以上时，1.0ppm 的 NaOCl 可杀死 20% 左右的藻类，施 2.0ppm 的 NaOCl 藻类死亡率可达 40% 左右。如像无锡一带鱼池浮游植物生物量常在 60 毫克/升以上^[6]，亩平均水深按 2.0M 计，施 NaOCl 1.0ppm 死亡藻类可达 15 公斤多，其分解耗氧之多可以想象。还发现施 1.0ppm 的 NaOCl 对绿藻 (团藻目占优势) 杀灭作用，要比对蓝藻 (项圈藻占优势)、硅藻大，对鞭毛藻则没有明显的致害作用。这可能在强光照的夏季，叶绿素占主导地位的绿藻，要比既含叶绿素又含类胡萝卜素、藻蓝素的蓝藻更易受到破坏的缘故。

如水的透明度低，化学耗氧量超过 100 毫克/升时。最好先以熟石灰 $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ 泼洒，每亩 30 公斤，次日再以 NaOCl 清除水体中的亚硝酸态氮。

能释放新生态氧 $[\text{O}]$ 的一类物质，如次氯酸钠、过氧化钙等已在水产业上广泛应用，三十年前，我国就以漂白粉治疗烂鳃病^[8]。Robert, C. W. et al^[17] 和 Sutterlin, A. M. et al.^[21] 利用臭氧处理循环水，Иванова Н. С. ^[22] 将臭氧用于饵料保鲜和治疗鱼病。低浓度的 $[\text{O}]$ 重复应用，看来不仅能氧化水中的亚硝酸盐、改善水质，而对促进鱼类新陈代谢、防治疾病都是有益的，有些象水中维生素的作用。

参 考 文 献

- [1] 王鸿泰, 1982. 对草鱼出血病某些生态生理因子的研究. 水产科技情报, (5): 10—13.
- [2] 中国医学科学院卫生研究所, 1972. 水质分析法, 78—159. 人民卫生出版社.
- [3] 倪达书, 1955. 一九五三年鱼病防治工作报告. 水生生物学集刊, (1): 7—24.
- [4] 朱忠勇等, 1978. 临床医学检验, 330—331. 上海科技出版社.
- [5] 何志辉, 1979. 淡水浮游生物的生物量. 动物学杂志, (4): 53—56.
- [6] —, 1985. 从“看水”经验论养鱼水质的生物指标. 水生生物学报, 9(1): 89—98.
- [7] 郑德崇等, 1986. 草鱼出血病的组织病理研究. 水产学报, 10(2): 151—159.
- [8] 黄淑祯等, 1979. 血红蛋白分析技术. 上海医学, (2): 959.
- [9] Almendras, J. M. E., 1987. Acute nitrite toxicity and methemoglobinemia in juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal). *Aquaculture*, 61: 33—40.
- [10] Bowser, P. R. et al., 1983. Methemoglobinemia in channel catfish: methods of prevention. *Prog. Fish-Cult.* 45(3): 154—158.
- [11] Brown, D. A. and D. J. Mcleay., 1975. Effect of nitrite on methemoglobin and total hemoglobin of juvenil rainbow trout. *ibid*, 37(1): 33—36.

- [12] Deborah, T. Westin., 1974. Nitrite toxicity to salmonoid fishes. *ibid*, 36(2): 86-90.
- [13] Eady, F. B. *et al.*, 1983. Uptake and loss of nitrite from blood of rainbow trout, *salmo salar*, in fresh water and in dilute sea water. *J. Fish. Biol.*, 23(1): 105-116.
- [14] Hilmy, A. M. *et al.*, 1987. Acute and chronic toxicity of nitrite to *Clarias lazera*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86(2): 247-254.
- [15] Meade, T. L. and S. J. Perrone., 1980. Effect of chloride ion concentration and pH on the transport of nitrite across the gill epithelia of coho salmon. *Prog. Fish-Cult.* 42(2): 71-73.
- [16] Palachek, R. M. *et al.*, 1984. Toxicity of nitrite to channel catfish (*Ictalurus punctatus*), Tilapia (*Tilapia aurea*), and Largemouth Bass (*Micropterus Salmoides*): Evidence for a nitrite Exclusion Mechanism. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 41: 1739-1744.
- [17] Robert, C. W. *et al.*, 1982. Use of ozone in a water reuse system for salmonids. *Prog. Fish-Cult.*, 44(2): 239-244.
- [18] Smith, H. W., 1929. The excretion of ammonia and urea by the gills of fish. *J. Biol. Chem.*, 81: 727-742. (see Brown, M. E., 1957. *The Physiology of Fishes*, New York 3, 170.).
- [19] Smith, C. E. and W. G. Williams., 1974. Experimental nitrite toxicity in rainbow trout and chinook salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 103: 389-390.
- [20] Steven, R. Krous. *et al.*, 1982. Effect of acclimation time on nitrite movement across the gill epithelia of rainbow trout: therole of "chloride cells". *Prog. Fish-Cult.*, 44(2): 126-130.
- [21] Sutterlin, A. M. *et al.*, 1984. A recirculation system using ozone for the culture of atlantic salmon. *ibid*, 46(2): 239-244.
- [22] Tomasso, J. R. *et al.*, 1980. Inhibition of nitrite-induced toxicity in channel catfish by calcium chloride and sodium chlortide. *ibid*, 42(3): 144-146.
- [23] Иванова Н. С., 1984. Опыт использования озона в профилактике и терапии болезней рыб. Рыбхоз испол. вузг. вод., (10): 1-8.

TOXICITY OF NITRITE TO GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*) IN PONDS AND ITS WAY OF PREVENTION

Wang Hongtai and Hu Degao

(Changjiang Fisheries Research Institute)

ABSTRACT Nitrite has been shown to be highly toxic to grass carp. It can induce hemoglobin (Hb) to become methemoglobin (MHb). If methemoglobin is over 23.0% of total Hb, the grass carp will easily get hemorrhage disease. The experiment shows that 96-h LC_{50} values of NO_2-N was 4.62mg/L at the average water temperature 30°C, especially over 32°C. As the number of methemoglobin increases in the blood of grass carp, the number of erythrocyte and total hemoglobin gradually decrease. The way to remove nitrite-nitrogen from water is by adding sodium hypochlorite. When the concentration of NO_2-N is over 0.15 mg/L, at first calcium hydroxide [$Ca(OH)_2$] is added before the addition of sodium hypochlorite.

KEYWORDS Nitrite, methemoglobin, sodium hypochlorite, grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*, toxicity, prevention