

第六章 由水消毒及洗卵之健康管理建立 石斑魚病毒之防除策略

周信佑^{1、2}

¹ 國立臺灣海洋大學水產養殖學系、² 水產生物科技頂尖研究中心

一、前言

石斑魚類 (*Epinephelus* spp.) 是亞太地區重要的高經濟海水養殖魚類，但由於活魚運輸貿易的快速拓展，加劇了疫病傳播的風險。各種新興傳染症無疑是目前限制石斑魚產業發展的重大瓶頸。而病害中，又以無法用藥物治療的病毒性疾病，如病毒性神經壞死症 (viral nervous necrosis, VNN) 和虹彩病毒感染症 (iridovirus infection) 等最具威脅。魚類的病害防治和家畜類最大的不同，在於養殖漁業是將多數個體集中在一個共同 (或許密閉) 的水體空間，因此疫情爆發時，針對的不僅是個體魚隻，而是整池魚的「個體集團」，除了病原體和寄主間的關係，兩者所存在的水體環境也扮演著左右傳染症發生的重要角色。尤其是海水魚貝類的陸上養殖，都是由沿岸抽取海水，海水中原本就存有的病原微生物進入養殖池中，對養殖生物造成危害。此外，許多病原以水為感染途徑，在病原存在的環境下，加上高密度養殖的緊迫影響，極容易爆發疾病。一旦疾病發生，大量病原微生物增生，如果沒有經過妥善殺菌就將養殖廢水排出，污染的環境水源又被抽去作為養殖用水，如此一來，惡性循環的結果，將導致病原因此藉機四處傳播，

因而爆發更嚴重的疫情。建立病害防除對策是突破目前困境、幫助產業復甦的重要工作，尤其「預防重於治療」，除了種魚的健康狀態以及是否帶原的檢測外，卵的消毒、飼育用水的殺菌、飼育設施消毒的施行等防除病原體入侵的對策，都是其中相當重要的課題。

二、養殖用、排水之消毒處理

養殖飼育用水的殺菌處理法中，最常見的是紫外線、臭氧等殺菌裝置，但是紫外線的效果會因水中懸濁粒子所造成的照射障礙而降低。而臭氧因為和海水中的溴化物反應產生具殺菌能力的氧化物，但副產品的溴酸鹽對養殖生物具有強毒性，必須先以活性炭去除後才可進一步作為飼育用水。除了以上問題點之外，紫外線和臭氧殺菌裝置都無法處理大量水體，因此不適合用來作為飼育排放水殺菌之用 (吉水 & 笠井, 2002)。考慮養殖用水處理的需求，日本方面嘗試導入海水電解裝置並開始評估應用的可行性 (村山, 1999; 笠井等, 2000)。目前，海水電解殺菌裝置已逐漸取代臭氧，廣泛使用於日本各地的海水養殖設施。以下針對紫外線、臭氧及電解海水殺菌裝置之使用做簡單說明。

(一) 紫外線殺菌

紫外線的殺菌功效在 19 世紀被發現，到了 20 世紀，發展出人工紫外線照射裝置，用於手術室以改善空氣媒介的污染情形。紫外線可依波長分為三類，簡稱為 UVA (400 – 320 nm)、UVB (320 – 280 nm) 及 UVC (280 – 230 nm)，目前市售九成的殺菌燈管，放出的是具最大殺菌效力的 253.7 nm 波長。微生物的核酸 (DNA 或 RNA) 會吸收紫外線，導致核酸缺損或者發生交互鍵結，進而喪失原有功能。然而，紫外線的殺菌功效，受到微生物本身構造、數量、生長階段及核苷酸的修復機制等影響。1989 年 Watanabe 的實驗結果證明病毒對紫外線感受性依其結構而有差異，不具被膜的病毒對紫外線抗性比具被膜的病毒來得高。同樣，魚類病毒對紫外線也可分為高感受群，如：傳染性造血器壞死症病毒 (infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV)、比目魚砲彈病毒 (hirame rhabdovirus, HIRRV)、櫻鱒疱疹病毒 (oncorhynchus masou virus, OMV)、淋巴囊腫症病毒 (lymphocystis disease virus, LCDV) 等；和較具抗性的低感受群，如：傳染性胰臟壞死症病毒 (infectious pancreatic necrosis virus, IPNV)、水產呼腸孤病毒 (aquareovirus)、神經壞死症病毒 (japanese flounder nervous necrosis virus, JFNNV；barfin flounder nervous necrosis virus, BFNNV) 等 (Yoshimizu, 2009)。實驗結果也證實，台灣石斑虹彩病毒 (grouper iridovirus of Taiwan, TGIV) 對紫外線敏感，而石斑魚神經壞死症病毒 (grouper nervous necrosis virus, GNNV) 則對紫外線照射有較高的抗

性，必須用 $6.1 \times 10^5 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 以上的照射量才能有效不活化病毒。一般而言， $10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 程度的照射可以不活化高感受性病毒群和革蘭氏陰性菌，而抗性強的病毒、革蘭氏陽性菌、真菌以及寄生蟲的殺菌，則需要 $10^6 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 的照射才能有成效。另外，外在環境因素，如：空氣的灰塵、溼度與有機物質的存等也都會影響紫外線的殺菌效力。因此，利用紫外線作為養殖水消毒裝置時，必須考慮紫外線在水中的穿透率，以及水中懸浮大型粒子的影響，最好以病原體對紫外線的感受性為基準，使用十倍照射劑量才能確保有良好效果。以日本北海道鮭鱒資源管理中心的殺菌裝置為例，養殖用水先以砂槽濾過懸濁物，飼育排水則先以凝集沉澱處理除去殘餌與糞便後，再以流水式中壓紫外線裝置進行殺菌處理，紫外線的照射量則是設定為 $1.0 \times 10^5 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ 以上來確保殺菌效果 (吉水 & 笠井, 2008)。

(二) 臭氧殺菌

臭氧 (Ozone) 是由一個氧分子 (O_2) 攜帶一個氧原子 (O) 所組成，單個氧原子具有很強的氧化活性，能直接作用於細菌、病毒等病原體微生物，達到殺菌的功效；同時也能夠氧化氨和亞硝酸，兼具水質淨化的效果。因此臭氧是目前水產養殖中最廣泛被使用的魚病對策裝置。但是，臭氧在海水中會和各種微量鹵元素反應，形成通稱為總殘餘氧化物 (total residual oxidants, TROs) 的有毒副產物，其中溴酸根 (BrO_3^-)、亞溴酸根 (BrO^-) 具有強大的殺菌力。只是這些具殺菌力的 TROs 對魚體也有毒性，必須先通過活性炭槽除去後才可以作為飼育用水。伊藤等

(1997) 測試人工海水中低濃度氧化物對魚類病原微生物的殺菌效果，建議以 0.5 mg/L 的 TROs 處理 5 分鐘，並通過活性炭處理後再作為飼育使用。近年來日本學者們更發現，透過微氣泡生成器 (microbubble generator) 可以提高臭氧在水中的溶解度，同時隨著氣泡微細度的增加，TROs 的生成效率會提高，而臭氧的殺菌效果也會跟著提升。試想如果 TROs 生成效率提高 10 倍，臭氧發生裝置的出力只要原有的 1/10 就可以得到相同的效果，或者同規模的裝置就可以處理 10 倍的水量，這對產業在成本面考量的貢獻相當值得期待。

(三) 海水電解殺菌

海水電解殺菌裝置是利用電解水中氯化鈉 (NaCl) 等鹽類，產生次氯酸 (HOCl)、氯 (Cl_2)、次氯酸鈉 (NaOCl) 與次氯酸根 (OCl^-) 等遊離有效氯 (free available chlorine)，藉由破壞病原微生物的細胞膜，進而分解蛋白質與核酸，達到快速殺菌的功效。由於電解水具有良好殺菌效果、殘留量低、使用方便、價格低廉等優勢，1997 年，日本厚生省正式批准電解水作為醫療方面的殺菌洗滌用水，2002 年更批准為食品及農產品的加工殺菌用水。目前三洋電機、森永乳業、松下電器等都紛紛開發相關的產品，相關專利高達近 1,500 件。近年來，海水電解裝置被推廣用來維持水產品的新鮮及環境的衛生，另外也應用於處理養殖用水與排水消毒 (Kasai et al., 2002)。

由於病原微生物對遊離有效氯的感受性不同，日本北海道大學吉水守團隊將數種重要魚類病原微生物 (鰻弧菌、癰瘍病原菌、

兩段核醣核酸病毒、砲彈病毒以及野田病毒)，懸浮於 3% 食鹽水，測試電解對殺菌與病毒不活化的效果。結果發現，伴隨著時間以及生成有效氯濃度的增加，殺菌率會跟著上升。細菌部分，有效氯為 0.07 – 0.14 mg/L 濃度處理 1 分鐘；而病毒則是 0.23 – 1.30 mg/L 處理 1 分鐘，可以達到 99.9% 以上的殺菌與不活化率。針對石斑魚兩種重要病原病毒 (TGIV 及 GNNV)，我們自行組裝簡易海水電解裝置，並與行政院農業委員會水產試驗所合作，共同探討簡易海水電解裝置、市售二氧化氯 A&B 劑、以及水試所自行開發煨燒牡蠣殼粉等三種水處理模組之防治效能。結果除了二氧化氯之外，另外兩種水處理模組都有不錯的效果。水中添加 1 : 0.002 殼粉的處理水，以及電解海水中有效游離氯濃度為 5.2 mg/L 作用 1 – 5 分鐘，可使水中 90% 以上 TGIV 和 GNNV 失去感染力。只是石斑虹彩病毒對以上處理的抗性高於神經壞死症病毒，作用時間必須由 1 分鐘延長為 5 分鐘。而我們的結果中，可以有效不活化病毒的有效游離氯濃度遠高於日本方面的數據，這與我們自行組裝海水電解裝置的電極板以及有效氯的分析方法有關。

然而海水電解裝置與前兩種裝置最大的差別，在於可以處理大量水體，因此日本水產總合研究中心厚岸事業場 (元日本栽培漁業協會)，針對斑紋星鰈、太平洋鰱以及毛蟹養殖的排水消毒，進行殺菌效果評估並與紫外線和臭氧做比較。結果發現三者有同樣的殺菌效果，只是實際現場使用時，臭氧殺菌必須使用輔助器具讓臭氧氣體可以和排水充分接觸，而紫外線則必須先去除排水中的

懸濁物，相對之下，電解海水裝置則具有簡便的優點。另外，比較三種裝置的價格與維持費用，紫外線必須經常性的更換燈管，而臭氧裝置本身就屬高價儀器，海水電解裝置雖需要特殊電極板，但電極板可使用數年至十年之久，因此三者中海水電解裝置仍是耗費最低的一種。以厚岸事業場為例，簡單說明實際將海水電解裝置作為大量飼育排水殺菌的作法。針對每小時 $18.5 \text{ m}^3/\text{h}$ 流量的排水，將其中 $2.0 \text{ m}^3/\text{h}$ 的排水通過海水電解裝置 (H-100 型機，荏原製作所)，再與剩餘的 $16.5 \text{ m}^3/\text{h}$ 排水混合，結果混合水中的殘留有效氯濃度為 0.50 mg/L ，殺菌率可達 99%。由於該裝置的電流量為 100A，次氯酸鈉生成量每小時可達 100 g/h ，依照先前結果，殘留有效氯濃度為 0.50 mg/L ，作用時間 1 分鐘計算，該裝置每小時可以處理 $200 \text{ m}^3/\text{h}$ 的排水量。而厚岸事業場每小時的取水量只有 $100 \text{ m}^3/\text{h}$ ，一台海水電解裝置已經足夠應付對該場的飼育排水消毒。另外，為了避免含殘氯的排放水對環境造成影響，建議電解後的排水必須先經過中和處理或是曝氣，讓氯降低到一般用水的氯濃度 (0.2 mg/L) 才可排放 (吉水 & 笠井，2008)。這些年來海水電解殺菌裝置已逐漸取代臭氧，廣泛使用於日本各地的海水養殖設施。

為了評估海水電解裝置現場應用的可行性，農委會水產試驗所加工組由電費、機械耗損、電極耗損以及流水馬達電費進行費用估算，結果一分地養殖用 1,000 噸水殺菌處理所需費用只需要 310.7 元。由使用簡便性、效果與成本等方面考量，海水電解裝置確實是養殖用、排水消毒的理想對策。只是，目

前國內沒有生產海水電解裝置的廠商，而由國外進口的費用昂貴。期望台灣業者能盡快開發出符合市場需求的海水電解機組，未將來魚病防治對策做準備。

三、洗卵之健康管理

哺乳動物部分，垂直感染必須是母體將病原傳至子宮內的胎兒才稱之。但是在魚類方面，病原體存在卵內或是附著卵表面的判定困難，因此採用較廣義的解釋，也就是只要是透過卵傳播到孵化仔魚的感染都可稱為垂直傳播，所以卵消毒的效果是值得期待的防治重點。針對神經壞死症病毒的防除，日本已廣泛實施卵消毒的對策，而最近利用臭氧處理過海水來消毒大西洋比目魚卵的有效性也有報導。除了傳統用碘、氯 (50 ppm 、 10 min) 以及臭氧 (0.1 ppm 、 2.5 min) 進行卵消毒外，評估用海水電解殺菌裝置來除去病毒，達到預防止疫情的效果。奄美栽培漁業中心用以上對策 (濃度 $0.3 - 0.5 \text{ mg/L}$ 處理黑鮪受精卵 1 分鐘)，成功克服了神經壞死病毒症。

然而，石斑魚卵在孵化階段對外界干擾敏感，因此我們和行政院農業委員會水產試驗所海水繁養殖研究中心合作，先測試了不同孵化時期石斑魚卵對洗卵操作之耐受試驗。結果顯示，前期的囊胚與原腸期對人為操作的耐受性低，孵化率不到五成，之後的眼胞期、胚體形成後期及胚體抽動三期的孵化率則可維持在 85% 以上，建議如果要進行洗卵消毒，最好選擇在眼胞期之後開始施行。而在消毒方法的選擇上，評估過二氧化

氯、煅燒牡蠣殼粉處理水 (1 : 0.002)，電解海水 (0.5 mg/L)，5 分鐘洗卵的孵化率，顯示二氧化氯對魚卵的毒性最強，洗卵處理後魚卵的孵化率不到 60%，而煅燒牡蠣殼粉處理水 (1 : 0.002) 以及電解海水 (0.5 ppm 有效氯) 兩種處理水不僅對魚卵沒有傷害，且可以提高孵化 6 天仔魚的活存率。進一步評估洗卵對石斑虹彩病毒與神經壞死症病毒的防治效能。兩種石斑病毒感染後，不做處理的組別，不僅魚卵孵化率下降，孵化後仔魚也只能活存 3 天。但是，單純用一般海水洗卵，或是使用煅燒牡蠣殼粉處理水和電解海水洗卵，都有優於未處理病毒感染組的孵化率和仔魚活存率結果，顯示，此兩種病毒可能是附著於卵表面，透過洗卵操作，可以降低病毒的感染情形。然而，石斑魚卵相當脆弱、敏感，不當或過度的人為操作都可以影響孵化，甚至導致畸型的發生。因此，洗卵消毒的操作需作更詳細的實驗與評估，並建立標準作業流程 (standard operating procedure, SOP)，以提供業者們現場應用。

四、結論

養殖用排水的消毒及洗卵之健康管理都是魚病防治上相當重要的環節，尤其是養殖排放水的處理與基準，如果沒有嚴格地限制和把關，將導致病害四處傳播，進而危害到整個產業。目前台灣的石斑魚養殖所面臨病害威脅的困境，跟養殖排放水的沒有管制，應該有部分的因果關聯。台灣的石斑魚養殖，雖憑藉著養殖技術與經驗的優勢，在國際市場佔有一席之地，但官產學界對此產業的未

來都感到憂心，建構一個完整的疾病防疫系統、強化養殖戶自主的防疫觀念，透過良好的健康管理與防除對策，降低病害損失，育成無用藥的高品質魚貨，是未來的潮流。近年來，台灣的傳統水產養殖已在科技協助下逐漸轉型，優質種苗生產對擁有技術但地小人稠的台灣而言，將會是最適合發展的水產養殖產業。

五、參考文獻

1. 伊藤慎悟、吉水 守、絵面良男 (1997) 人工海水中における低濃度オキシダントの魚類病原微生物に対する殺菌・不活化効果。日水誌，63: 97-102。
2. 吉水 守、笠井久会 (2002) 総説：設種苗生産施設における用水および排水の殺菌。工業用水，523: 13-26。
3. 村山智正 (1999) 電気殺菌の海生生物付着防止への応用、「電気殺菌による微生物制御」、エヌ・ティー・エス，東京，65-94。
4. 笠井久会、石川麻美、堀 友花、渡辺研一、吉水 守 (2000) 流水式海水電解装置の魚類病原細菌およびウイルスに対する殺菌効果。日水誌，66(6): 1020-1025。
5. 笠井久会、吉水 守 (2008) 飼育排水の殺菌について、工業用水、研究発表会講演抄録，63-66。
6. Kasai, H., M. Yoshimizu and Y. Ezura (2002) Disinfection of water for aquaculture. Fisheries Science, 68: 821-824.
7. Yoshimizu, M. (2009) Control strategy for viral diseases of salmonid fish, flounders and shrimp at hatchery and seed production facility in Japan. Fish Pathology, 44(1): 9-13.

備註：

本文中日本方面的研究成果與現況，主要參考日本北海道大學吉水守教授研究團隊所發表的一系列論文。