

Identifisering av laks på individnivå

Fase 2

Synnøve Helland





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 350 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1431 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5828 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølseng
NO-6600 Sunndalsøra

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140
E-post: post@nofima.no
Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835

Rapport

	ISBN: 978-82-8296-419-7 (trykt) ISBN: 978-82-8296-420-3 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Tittel:</i> Identifisering av laks på individnivå: Fase 2	<i>Rapportnr.:</i> 39/2016
	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Synnøve Helland	<i>Dato:</i> 3. oktober 2016
<i>Avdeling:</i> Forskningsstasjon for bærekraftig akvakultur	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 9
<i>Oppdragsgiver:</i> FHF Fiskeri – og havbruksnæringens forskningsfond	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> FHF 901144
<i>Stikkord:</i> Laks, irisskanning, fishID, individgjenkjenning, PIT-tag	<i>Prosjektnr.:</i> 11435
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i>	
<p>Identifisering av laks på individnivå, brukt blant annet i forskning og i avlsarbeid, benytter i dag PIT-tag. Dette er små merker som injiseres i bukhulen. I et forprosjekt finansiert av FHF ble irisskanning testet opp mot PIT-tag som metode for identifisering på individnivå. Med bakgrunn i forprosjektet ble flere faktorer forbedret. Fase 2 er neste steg i «proof of concept» for irisskanning som metode for identifisering av laks på individnivå, og består av to separate forsøk.</p> <p>Forsøk 1. Det ble etablert to databaser, en for PIT-tag og en for irisskanneren med samme ID på 104 fisker. Av disse ble to fisker ikke gjenkjent og 102 fikk rett ID. Det ble på bakgrunn av disse gode resultatene besluttet at prosjektet skulle gå videre og forsøk 2 skulle gjennomføres.</p> <p>Forsøk 2. Databaser ble etablert i november 2015, og fisken skulle testes for rett ID gjennom smoltifiseringsprosessen. ID ble testet etter mørket (lysstyringsperiode kort dag), etter kontinuerlig lys og etter seks uker i sjø. Test 1 (etter mørkefasen) viste rett ID på 81% av fisken, feil ID på 15% av fisken og usikker ID på 4% av fisken. Test 2 og Test 3 ble gjennomførte med andre kamera enn det databasene var etablert med og kan derfor ikke vurderes.</p> <p>Rapporten tar for seg flere forbedringsfaktorer som må på plass i eventuelt videre arbeid med «proof of concept».</p>	
<i>English summary/recommendation:</i>	
<p>Identification of salmon at the individual level, commonly used in research and breeding programs, currently uses PIT-tags. These small marks are injected into the abdominal cavity. In a pilot project funded by FHF iris scanning was tested against PIT-tag as a method for identification of individual salmon. Based on results from the pilot project several factors were improved. Phase 2 is the next step in the "proof of concept" for iris scanning as a method for identification of salmon at the individual level, and consists of two separate experiments.</p> <p>Experiment 1. Two databases were established, one for PIT tag and one for iris scanner with the same ID on 104 fishes. Of these, two fish were unrecognized and 102 fish got the correct ID. Based on these good results the project decided to go ahead and experiment 2 was to be performed.</p> <p>Experiment 2. Databases were established in November 2015, and the fish should be tested for ID through the salmon smoltification process. IDs were tested after dark (light controlled short day), after continuous light and after six weeks at sea. Test 1 (after the dark phase) showed correct ID of 81% of the fish, erroneous ID of 15% of the fish and insecure ID of 4% of the fish. Test 2 and Test 3 was conducted with other cameras than what the databases were established with and therefore cannot be considered.</p> <p>The report covers several improvement factors that must be in place in any future work on "proof of concept".</p>	

Forord

Takk til FHF for finansiering av prosjektet «Identifisering av laks på individnivå: Fase 2»

Innhold

1	Innledning	1
2	Bakgrunn	2
3	Material og metode	3
3.1	Forsøk 1. Identifisering av laks på individnivå	3
3.1.1	Fiskematerialet	3
3.1.2	Forsøksbeskrivelse.....	3
3.2	Forsøk 2. Testing av stabilitet i identifisering av laks på individnivå gjennom smoltifiseringen ved bruk av irisskanning	4
3.2.1	Fiskematerialet	4
3.2.2	Forsøksbeskrivelse.....	4
3.2.3	Salttest.....	4
4	Resultater.....	5
4.1	Forsøk 1. Identifisering av laks på individnivå	5
4.2	Forsøk 2. Testing av stabilitet i identifisering av laks på individnivå gjennom smoltifiseringen ved bruk av irisskanning	5
4.2.1	Identifisering ved hjelp av irisskanner.....	5
4.2.2	Resultater fra salttest	6
5	Diskusjon.....	7
6	Konklusjon.....	8

1 Innledning

FridTech A/S er en teknologibedrift fra Frøya. Selskapet ble etablert januar 2015 og bedriften har spesialisert seg på softwareutvikling innenfor informasjon og tilgangskontroll ved bruk av smartkort og biometri. Selskapet drives av Marco Krys (programmerer), Frank Jakobsen (prosjektleder) og Terje Svendsen (styreleder). FridTech har i hovedsak arbeidet sammen med internasjonale partnere. Selskapet har bl.a. stått for utviklingen av et internasjonalt helsekort - World Health Card. Som del av datasikkerheten i dette arbeidet har de implementert irisskanning for sikker ID av systemets brukere.

Basert på positive resultatene fra det FHF finansierte prosjektet «Identifisering av laks på individnivå: Forprosjekt» ble det besluttet gjennomført to forsøk i «Fase 2»,

1. Identifisering/gjennkjenning av fisk på individnivå
2. Testing av stabilitet i identifisering av laks på individnivå gjennom smoltifisering ved bruk av irisskanning.

2 Bakgrunn

Irisskanning er en metode som egner seg godt for biometrisk autentisering ettersom irisen er unik for hvert menneskelig individ. Øyets iris er en muskel som har som oppgave å innsnevre og utvide pupillen etter behov. Metoden går ut på å ta et bilde av iris med et spesielt kamera, med support ifra egnet software. Irisskanningen er en automatisert metode som fanger opp individets unike biologiske data. Metoden er anerkjent som en biometrisk identifiseringsmetode som bl.a. brukes på flyplasser, av myndigheter, av banker, osv.

Ved besøk på Nofimas forskningsstasjon på Sunndalsøra den 23. mars i 2015 ble tre smolt irisskannet og tillagt ID. Disse ble så testet og rett ID ble angitt. Videre ble en ny smolt testet og ble erklært som ukjent. Lite og ingenting er kjent hvorvidt iris er tilstrekkelig unik hos fisk til å kunne brukes som sikker biometrisk autentisering. Per i dag er den mest brukte metoden hos avlsselskap og forskning for sikker identifisering av enkeltindivid bruk av pit-tag (passive integrated transponder, PIT). Som et første steg i en «proof of concept» ble irisskanning versus pit-tag testet i et forprosjekt ved Nofima, finansiert av FHF (Nofima rapport K-23/2015). Konklusjonen fra forprosjektet var:

«Identifisering av laks på individnivå, brukt blant annet i forskning og i avlsarbeid, benytter i dag PIT-tag. Dette er små merker som injiseres i bukhulen. I dette forprosjektet ble irisskanning testet opp mot PIT-tag som metode for identifisering på individnivå. Irisskanning krever ikke inngrep i fisken og den etterlater ingen fremmedlegemer. Forprosjektet er et første steg i «proof of concept» for irisskanning som metode for identifisering av laks på individnivå.

Totalt 100 fisk ble identifisert med både PIT-tag og irisskanning, det vil si samme løpenummer. I tillegg var åtte fisk PIT-tagget men uten ID i irisdatabasen. Fisk ble deretter testet for gjenkjenning med irisskanneren med fasit i PIT-tag. Med unntak av en fisk som en gang ble identifisert feil (annet individnummer oppgitt) ble fisken enten korrekt identifisert eller identifisert som ukjent. Forprosjektet kan derfor ikke sies å være en ubetinget suksess. Metoden vurderes allikevel som lovende siden det er flere klare forbedringer i utstyr og bruken av dette som foreligger.

Rapporten tar for seg flere forbedringsfaktorer som må på plass i eventuelt videre arbeid med «proof of concept».

Med bakgrunn i forbedringer utført av FridTech ble «proof of concept» prosjektet igangsatt.

Nofimas leveranse:

- Gjennomføring av fiskeforsøk og godkjenning hos Mattilsynet
- Prosjektledelse
- PIT-tag leser med database og erfaren tekniker for oppfølging av database
- Personell til prøveuttak

FridTechs leveranse:

- Utstyr for irisskanning med egen database og software
- Personell for irisskanning

3 Material og metode

3.1 Forsøk 1. Identifisering av laks på individnivå

3.1.1 Fiskematerialet

Laksen som ble benyttet i forsøket var 21 gram i snitt, og ble merket med PIT-tag syv dager før forsøksstart. Fisken gikk i 1 m² kar, sjøvann på 7,5°C, og fôring ble stoppet 24 timer før forsøksstart. Fisken ble bedøvd med Finquel før hver håndtering. Ingen fisk døde under forsøket. Totalt ble 104 fisk merket med PIT-tag.

3.1.2 Forsøksbeskrivelse

Forsøket besto av to deler, en hvor fisken fikk samme løpenummer i PIT-tag databasen og i irisskanningsdatabasen. I den andre delen ble fisken først identifisert med irisskanneren og deretter kontrollert opp mot PIT-tag databasen.

Del 1, etablering av ID

Ett hundre og fire fisk ble tildelt samme ID i de to databasene, PIT-tag og iriskannedatabasen. Det tok om lag 2,5 time å etablere ID i begge databasene.

Del 2, gjenkjenning av ID

Laksen ble tilfeldig håvet ut av karet, bedøvd og PIT-tag ble lest (ikke synlig for andre enn en Nofima ansatt). Fisken ble deretter skannet med irisskanneren og operatørene fra FridTech oppga identitet. Denne identifiseringen ble deretter bekreftet eller avkreftet av ut i fra PIT-tag databasen. Svaret ble lagt inn i PIT-tag databasen registrert som samsvar, yes (Y), ikke samsvar, no (N), og ukjent ID, unknown (U). Det tok 2 timer og fire minutter å gjennomføre testen.



Figur 1 *Bilde som viser samtidig lesing av PIT-tag og irisskanning. Laksen ligger i et stativ (slede) med åpning for hodet/øyet*

3.2 Forsøk 2. Testing av stabilitet i identifisering av laks på individnivå gjennom smoltifiseringen ved bruk av irisskanning

3.2.1 Fiskematerialet

Laksen som ble benyttet i forsøket var 21 gram i snitt, og ble merket med PIT-tag syv dager før forsøksstart. Fisken gikk i 1 m² kar, sjøvann på 7,5°C, og fôring ble stoppet 24 timer før forsøksstart. Fisken ble bedøvd med Finquel før hver håndtering. Totalt ble 431 fisk merket med PIT-tag.

3.2.2 Forsøksbeskrivelse

Forsøket besto av to hoveddeler, en hvor fisken fikk samme løpenummer i PIT-tag databasen og i irisskanningsdatabasen. I den andre delen ble fisken først identifisert med irisskanneren og deretter kontrollert opp mot PIT-tag databasen.

Del 1, etablering av ID

12. november 2015. Firehundre og trettien fisk ble tildelt samme ID i de to databasene, PIT-tag og iriskannedatabasen.

Del 2, gjenkjenning av ID

Fisken ble etter etablering av databasen overført til mørke (12:12 L:M), deretter til kontinuerlig lys (24 L) i ferskvann, etterfulgt av overføring til sjøvann (24 L). Fisken skulle etter planen testes for identifisering etter mørkeperioden, etter kontinuerlig lys i ferskvann og etter overføring til sjøvann. 30 fisk ble i tre runder tatt ut for salttest (smoltifiseringstest).

6. januar 2016. Etter mørkefasen ble 431 fisk testet for identifisering med iris skanneren.

29. februar 2016. Etter kontinuerlig lys i ferskvannsperioden ble 100 fisk testet. Basert på resultatene ble det bestemt at de gjenværende fiskene, 297 stk ble etablert på nytt i ny irisdatabase.

12. april 2016. Etter vel seks uker i sjøvann ble 24 fisk fra ny database testet. Siden resultatet for gjenkjenning var lavt (se resultater) tok FridTech kontakt med prosjektoppfølger i FHF og det ble bestemt at minimum 30 fisk skulle fotograferes med nytt utstyr for ny test på et senere tidspunkt. Det ble tatt bilder av totalt 189 fisk.

26. april 2016. Etter vel åtte uker i sjø, og to uker etter siste test ble 30 fisk selektert på bakgrunn av gode bilder fra 12. april sortert ut av karet og fotografert på nytt. Bildene ble så lastet over i PC og ID ble bestemt ved gjenkjenning fra database etablert 12. april.

3.2.3 Salttest

For å teste om fisken var klar til å bli overført til sjøvann ble 10 fisk i tre etterfølgende runder, totalt 30 fisk overført til saltvann. Etter tre døgn ble testen avsluttet og blodprøve ble tatt av hvert individ. Blodplasma analyseres på lab samme dag for klorioner. Normale verdier er omkring 155 til 165 mM.

4 Resultater

4.1 Forsøk 1. Identifisering av laks på individnivå

Av totalt 104 fisk med irisskannet ID ble 102 fisk riktig identifisert og to fisk ble ikke gjenkjent. Ingen fisk ble gitt feil ID.

Tabell 1 Resultater etter gjennomgang av ID

Resultat av avlesning	Antall
Antall testet	104
Korrekt ID (Y)	102 (98%)
Feil ID (N)	0 (0%)
Usikker ID (U)	2 (2%)

4.2 Forsøk 2. Testing av stabilitet i identifisering av laks på individnivå gjennom smoltifiseringen ved bruk av irisskanning

4.2.1 Identifisering ved hjelp av irisskanner

12. november 2015. Etablering av databaser for PIT-tag og irisskanning for hver av de 431 fiskene.

6. januar 2016. Test 1. Etter mørkefasen ble 431 fisk testet for identifisering med iris skanneren. Av disse ble 348 korrekt identifisert, 64 feil identifisert og 19 som var usikre (tabell 2)

29. februar 2016. Test 2. Etter kontinuerlig lys i ferskvannsperioden ble 100 fisk testet. Av disse ble 19 korrekt identifisert, 2 feil identifisert og 78 som var usikre (tabell 2). Basert på resultatene ble det bestemt at de gjenværende fiskene, 297 stk ble etablert på nytt i ny irisdatabase.

12. april 2016. Test 3. Etter vel seks uker i sjøvann ble 24 fisk fra ny database testet. Av disse ble 1 korrekt identifisert, 0 feil identifisert og 23 som var usikre (tabell 2). Siden resultatet for gjenkjenning var lavt (se resultater) tok FridTech kontakt med FHF og det ble bestemt at minimum 30 fisk skulle fotograferes med nytt utstyr for ny test på et senere tidspunkt. Det ble tatt bilder av totalt 189 fisk.

26. april 2016. Ekstratest. Etter vel åtte uker i sjø, og to uker etter siste test ble 30 fisk selektert på bakgrunn av gode bilder fra 12. april sortert ut av karet og fotografert på nytt. Bildene ble så lastet over i PC og ID ble bestemt ved gjenkjenning fra database etablert 12. april. Av disse ble alle 30 korrekt identifisert (tabell 2).

Tabell 2 Resultater etter gjennomgang av ID og etableringer av nye databaser

Database etablert	Test 1	Test 2	Test 3	Ekstratest
12. november 2015	6. januar 2016	29. februar 2016	12. april 2016	26. april 2016
20g	Etter mørke	Etter kontinuerlig lys	Etter seks uker i sjø	Etter åtte uker i sjø
Kamera 1	36 g	51 g	94 g	
	Kamera 1	Kamera 2	Kamera 1	Kamera 3
Original database etablert 12. november 2015, Kamera 1				
Antall testet	431	100		
Korrekt ID (Y)	348 (81%)	19 (19%)		
Feil ID (N)	64 (15%)	2 (2%)		
Usikker ID (U)	19 (4%)	78 (78%)		
Mistet PIT tag		1 (1%)		
Etablering av ny database med 297 fisk, benyttet Kamera 2				
Antall testet			24	
Korrekt ID (Y)			1 (4%)	
Feil ID (N)			0 (0%)	
Usikker ID (U)			23 (96%)	
Fotografering med Kamera 3				
Antall testet				30
Korrekt ID (Y)				30 (100%)
Feil ID (N)				0 (0%)
Usikker ID (U)				0 (0%)

4.2.2 Resultater fra salttest

Dataene fra kloridmålingene viser at laksen var smoltifisert ved overgang til sjøvann (tabell 3). Det var heller ikke registrert dødelighet under salttestene.

Tabell 3 Resultater fra salttest

	11. februar 2016	15. februar 2016	22. februar 2016
Cl (mM)	154 ± 9	139 ± 4	142 ± 6
Salinitet under testen (‰)	31,0	34,0	34,1

5 Diskusjon

Kriteriene for suksess var: Dokumentering av riktig ID vil være suksess. Det er også en delvis suksess om iris-skanningen ikke gir feil ID, men eventuelt ukjent ID.

Forsøk 1, identifisering av laks på individnivå

Siden all fisk enten fikk rett eller usikker ID må forsøk 1 karakteriseres som en suksess. Det vil si at forbedringene i fra forprosjektet forbedret resultatene.

Forsøk 2, identifisering av laks gjennom smoltifisering

Resultatene fra test 1, etter mørke, er negative med at 15% av fisken ble gitt feil ID. Samtidig er dette resultatet delvis positivt ved at 81% fikk rett ID. Fra bilder tatt under registreringene utført november 2015 ble det meldt til Nofima at det var mistanke om fremmedlegemer på øynene. Nofima gjennomførte flere tester men kunne ikke finne noen fremmedlegemer på fisken. Under registreringene utført 11 april ble årsaken funnet. Det viste seg at det var refleksjoner av lysrørene i taket. Det er sannsynlig at dette har negativt påvirket resultatet. Løsningen må her være å sørge for skjerming av eksterne lyskilder og lyssette iris på en måte som ikke negativt påvirker identifiseringen. Det er også sannsynlig at resultatet blir påvirket av det faktum at selve øyet vokser fra registreringen i november og frem til januar. Softwaren som ble benyttet tar ikke hensyn til dette.

Ved etablering av irisdatabase i november 2015 ble det benyttet et kamera (kamera 1). Ved testing av gjenkjenning i januar 2016 (Test 1) ble det samme kameraet benyttet. Derimot ble et annet kamera (kamera 2) benyttet i februar 2016 (Test 2). Kamera 2 hadde en annen innstilling (format, skalering og antall piksel). Dette påvirket helt klart resultatene i en negativ retning hvor kun 19% av fisken fikk rett ID. Dette skal ifølge FridTech nå være løst ved at FridTech har lagt inn en ny applikasjon i deres software.

Det ble så etablert en ny database den 29. februar 2016 (Test 2) og til dette ble kamera 2 benyttet. Ved testen den 12. april (Test 3) hvor kun én av de 24 testede fiskene ble gjenkjent ble kamera 1 benyttet.

Disse byttene av kamera er sannsynlig forklaring til hvorfor så få fisk ble gjenkjent under Test 2 og Test 3. Vi kan derfor ikke konkludere om iris er tilstrekkelig stabil under smoltifisering til å kunne benyttes som metode for identifisering av laks på individnivå. Samtidig stilles det spørsmål om metoden kan benyttes for fisk som vokser slik softwaren er bygd opp per i dag. Dette siden det var en betydelig nedgang i gjenkjenning fra etablering av databasen til Test 1 (samme kamera).

6 Konklusjon

Kriteriet for suksess ble nådd i Forsøk 1.

Irisskanning benyttet på fisk som **ikke har vokst** gir sikker ID.

Kriteriet for suksess ble **ikke** nådd i Forsøk 2.

Irisskanning benyttet på fisk som **har vokst** gir **ikke** sikker ID.

Irisskanning som metode har to umiddelbare fordeler fremfor PIT-tag; den krever ikke inngrep i fisken og den etterlater ikke et fremmedlegeme i fisken. Det er klare behov og muligheter til fortsatt forbedring av metoden, og den vurderes derfor fortsatt som lovende. I løpet av prosjektet er det fremskaffet kunnskap som FridTech vurderer som meget verdifullt i sitt videre arbeid.



ISBN 978-82-8296-419-7 (trykt)
ISBN 978-82-8296-420-3 (pdf)
ISSN 1890-579X