

Классификация изображений зоопланктона на программно-аппаратном комплексе *FlowCam*

И. А. Минский^{1,2}, Д. А. Литвинюк^{1,2*}, В. П. Евстигнеев¹,
А. А. Пинаев¹, В. С. Муханов^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

² ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Россия

* d.litvinyuk@ibss-ras.ru

Аннотация

Многие годы программно-аппаратный комплекс *FlowCam* (*Yokogawa Fluid Imaging Inc.*, США) используется для исследования сообществ морских организмов – их видового состава, структуры и динамики, а также морфологических характеристик. Однако до сих пор не решена задача унификации протоколов применения такого типа приборов, относящихся к области визуализирующей цитометрии, для обработки планктонных проб. Цель работы заключается в разработке методики классификации изображений зоопланктона инструментами *VisualSpreadsheet* – программного продукта, управляющего работой комплекса. Впервые разработан алгоритм автоматического поиска фильтров значений (*value filters*) и проведена формализация порядка вкладок классов в окне классификации *VisualSpreadsheet*. Предложенная методика была применена на нативных пробах черноморского зоопланктона и позволила, при определенных условиях, корректно классифицировать 100 % личинок двустворчатых моллюсков (класс *mollusca*) и динофлагеллят *Noctiluca scintillans* (класс *noctiluca*), 82 % оболочников *Oikopleura dioica* (класс *oikopleura*), 71.2 % науплиальных стадий развития (класс *nauplius*) и до 70.2 % каланоидных и циклоподных копепод (класс *copepoda*). В целом описанный подход может быть использован для любых типов объектов, исследуемых на *FlowCam*, особенно со сложной морфологией.

Ключевые слова: *FlowCam*, *VisualSpreadsheet*, зоопланктон, классификация изображений, алгоритм классификации

Благодарности: исследование выполнено в рамках государственного задания Севастопольского государственного университета по теме «Комплексные морские междисциплинарные исследования на НИС «Пионер-М» в шельфовой зоне и континентальном склоне Черного моря в условиях антропогенного воздействия и климатических изменений» (FEFM-2024-0013); в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Трансформация структуры и функций экосистем морской пелагиали в условиях антропогенного воздействия и изменения климата» (№ гос. регистрации 124030400057-4).

© Минский И. А., Литвинюк Д. А., Евстигнеев В. П., Пинаев А. А.,
Муханов В. С., 2026



Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0
International (CC BY-NC 4.0)
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0
International (CC BY-NC 4.0) License

Для цитирования: Минский И. А., Литвинюк Д. А., Евстигнеев В. П., Пинаев А. А. и др. Классификация изображений зоопланктона на программно-аппаратном комплексе FlowCam // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон моря. 2026. № 2. С. 145–161. EDN WCIXSD.

Zooplankton Image Classification Using a FlowCam Flow Imaging Microscope

I. A. Minsky^{1,2}, D. A. Litvinyuk^{1,2*}, V. P. Evstigneev^{1,2},
A. A. Pinaev¹, V. S. Mukhanov^{1,2}

¹ Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

² A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia

* d.litvinyuk@ibss-ras.ru

Abstract

For many years, a FlowCam flow imaging microscope (Yokogawa Fluid Imaging Inc., USA) has been used to study communities of marine organisms – their species composition, structure, and dynamics, as well as morphological characteristics of individual organisms. However, the problem of standardizing protocols for using these types of instruments in the field of visualization cytometry for processing plankton samples remains unsolved. The aim of the study was to develop a methodology for zooplankton image classification using *VisualSpreadsheet tools* — the software that controls the system operation. For the first time, an algorithm for automatic search of value filters was developed, and the ordering of class tabs in the *VisualSpreadsheet* classification window was formalized. The proposed method was applied to native samples of Black Sea zooplankton and, under certain conditions, enabled the correct classification of 100% of bivalve larvae (class *mollusca*) and the dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (class *noctiluca*), 82% of the appendicularian *Oikopleura dioica* (class *oikopleura*), 71.2% of naupliar (larval) stages (class *nauplius*), and up to 70.2% of calanoid and cyclopod (class *copepoda*). Overall, the described approach can be used for any type of object studied with FlowCam, especially those with a complex morphology.

Key words: FlowCam, VisualSpreadsheet, zooplankton, images classification, classification algorithm

Acknowledgment: The study was carried out under the state assignment of Sevastopol State University on the topic “Comprehensive Marine Interdisciplinary Research on the Research Vessel 'Pioneer-M' in the Shelf Zone and Continental Slope of the Black Sea under Conditions of Anthropogenic Impact and Climate Change” (FEFM-2024-0013); and under IBSS state research assignment “Transformation of the structure and functions of marine pelagic ecosystems under the anthropogenic load and climate change” (No. 124030400057-4).

For citation: Minsky, I.A., Litvinyuk, D.A., Evstigneev, V.P., Pinaev, A.A. and Mukhanov, V.S., 2026. Zooplankton Image Classification Using a FlowCam Flow Imaging Microscope. *Ecological Safety of Coastal and Shelf Zones of Sea*, (2), pp. 145–161.

Введение

Зоопланктон является важнейшим звеном трофической цепи водных экосистем, от которого зависит эффективность передачи вещества и энергии от первичных продуцентов (фитопланктона) к консументам более высоких порядков (планктоноядным рыбам и беспозвоночным) [1, 2]. Экологический мониторинг морских акваторий включает отбор проб зоопланктона, обработка и анализ которых позволяют оценить структуру морских сообществ и их состояние [3, 4]. Однако обработка проб требует значительных временных затрат, а трудоемкость и монотонность этого вида работ сопровождаются эпизодическими ошибками разной степени воздействия на результат анализа [5, 6]. В настоящее время все большую актуальность приобретает задача автоматизации такой классической для гидробиологии операции, на решение которой направлены усилия многих исследователей по всему миру [7, 8]. Одним из существующих решений для обработки проб планктона является программно-аппаратный комплекс *FlowCam (FC)*, *Yokogawa Fluid Imaging Inc.*, США.

FC представляет собой комбинацию микроскопа, проточного цитометра и флуориметра. Исследуемая жидкость прогоняется через систему *FC*, где частицы фиксируются высокоскоростной камерой. В сочетании с программным продуктом *VisualSpreadsheet (VS)* *FC* позволяет кадрировать выявляемые в потоке жидкости объекты и анализировать их количественные и качественные характеристики. По полученным изображениям *VS* автоматически рассчитывает более 40 параметров, описывающих морфометрические и цветовые характеристики кадрированных объектов. Кроме того, прибор может регистрировать интенсивность их флуоресценции (в режиме с использованием лазера).

Исследования показали, что, по сравнению с традиционной ручной обработкой планктонных проб посредством световой микроскопии, системы визуализирующей цитометрии, такие как *FC*, занижают концентрацию объектов в объеме жидкости. Тем не менее эти системы дают корректные оценки относительной численности конкретного таксона, что в сочетании со скоростью открывает перспективу частичной автоматизации процедуры обработки проб [9].

Важной особенностью комплекса является функция полуавтоматической классификации изображений частиц в *VS* [10]. Ее суть заключается в создании фильтров, отсеивающих изображения по морфометрическим, цветовым или флуорометрическим характеристикам. Фильтр представляет собой набор пороговых ограничений значений параметров, который позволяет выделять объект среди множества других объектов за один прогон. В *VS* существует функция, позволяющая создать последовательность фильтров (классификатор), предназначенную для сортировки изображений прогона по заданным пользователем классам. Информационной основой для создания фильтров являются цифровые библиотеки – периодически пополняемые пользователем коллекции изображений объектов в классах. В итоге библиотеки охватывают весь диапазон значений дифференцирующих признаков.

Несмотря на случаи применения *FC* для анализа планктона, на сегодняшний день отсутствует четко сформулированная и воспроизводимая методология классификации изображений зоопланктона с помощью *VS*. В обзорной статье [11], посвященной опыту применения *FC* в исследованиях фитопланктона (более распространенного объекта для работы с *FC*), показано,

что только в чуть более 10 % публикаций обсуждается вопрос классификации изображений. При этом статьи, в которых упоминаются создание фильтров и процедура автоклассификации, за редким исключением [10, 12], не содержат подробного описания готовой к применению методологии создания фильтров и классификатора. Описание подбора фильтров для идентификации организмов зоопланктона и создания системы фильтров в классификаторе *VS* в этих публикациях вовсе отсутствует.

Цель работы состоит в разработке методики идентификации организмов зоопланктона в натуральных пробах инструментами, предоставляемыми *Visual-Spreadsheet*. Представлена информация о материалах, использованных в работе, и созданных на их основе библиотеках; описаны ключевые инструменты классификации *VS* и выбранный подход к созданию библиотек; сформулированы общие принципы создания фильтров и классификатора; описан алгоритм создания фильтров и расположения вкладок в окне классификации *VS*; приведен ход создания классификатора для выделенных классов объектов зоопланктона; наконец, представлен краткий обзор публикаций, где *FC* был использован для исследования зоопланктона, и на его основе проведено сравнение результатов с работами, в которых процедура классификации изображений изложена наиболее подробно.

Материалы и методы

Отбор проб и подготовка материала. Пробы зоопланктона отбирали планктонной сетью Джели ($\varnothing = 37$ см, ячей 150 мкм) тотальными ловами от дна до поверхности на выходе из Балаклавской бухты (Крым, Черное море) в дневное время в марте и апреле 2025 г. Пробы фиксировали 40%-ным формальдегидом до конечной концентрации 2 %. С помощью фильтра (100 мкм) удаляли частицы мелкого размера.

Настройка FlowCam. На *FlowCam* (модель 8400) устанавливали точную ячейку с диаметром входного отверстия 1000 мкм (*FOV1000*) и линзу двукратного увеличения. Согласно руководству по эксплуатации *FlowCam*^{1), 2)}, предварительно была проведена автоматическая фокусировка для получения изображений наилучшего качества (режим *Best Focus Image*). Пробы пропускали через систему *FC* в режиме *Autoimage Mode*, то есть без использования лазера. Программное обеспечение – *VisualSpreadsheet*, версия 4.

Выделение классов и создание библиотек. Объекты зоопланктона, подлежащие классификации, были разделены экспертом (с опытом обработки проб зоопланктона более 18 лет) на следующие классы: *nauplius* (науплиальные стадии веслоногих ракообразных), *cyclopoida* и *calanoida* (копеподидные стадии и половозрелые *Copepoda* отрядов *Cyclopoida* и *Calanoida*), *noctiluca* (живые клетки *Noctiluca scintillans* (Macartney) Kofoid & Swezy, 1921), *oikopleura* (оболочники *Oikopleura* (*Vexillaria*) *dioica* Fol, 1872), *mollusca* (личинки двусторчатых моллюсков).

¹⁾ VisualSpreadsheet 5 User Guide. Version A / Fluid Imaging Technologies Inc. 2020. URL: <https://www.fluidimaging.com/FlowCam-university/visp-5> (date of access: 10.05.2026).

²⁾ FlowCam 8000 Series. Dynamic Imaging Particle Analyzer. User Guide. Version C / Fluid Imaging Technologies Inc. Scarborough, Maine, 2020. 39 p.

Все изображения объектов, не относящихся к зоопланктону (частицы мусора неустановленной природы и детрит, обломки макрофитов, явно мертвые организмы зоопланктона, пустые карапаксы копепод, крупные клетки диатомовых и динофитовых водорослей и т. п.), были определены как класс *garbage*.

Для каждого класса была создана соответствующая библиотека изображений: *calanoida* – 1479 изображений, *cyclopoida* – 374, *garbage* – 4081, *mollusca* – 26, *nauplius* – 383, *noctiluca* – 539, *oikopleura* – 45.

Вычислительные эксперименты, имитирующие работу *VS*, проводили в среде статистического программирования *R*³⁾.

Принцип работы фильтров и классификатора *VS*

Принцип классификации изображений объектов в окне классификации *VS* заключается в их последовательной проверке на соответствие какому-либо классу. В окне классификации создается вкладка, куда помещается один или несколько фильтров. Если значения параметров изображения удовлетворяют требованиям фильтра(-ов), то объект зачисляется в соответствующий класс. Объекты подаются в классификатор в том порядке, в котором они были получены в ходе обработки пробы. Объект проверяется на соответствие требованиям фильтров в порядке, в котором были расположены вкладки классов. Объект зачисляется в первый же класс, фильтрам которого он удовлетворяет.

В *VS* существуют фильтры двух типов: *value* (фильтр значений, ФЗ) и *statistical* (статистический фильтр, СФ). ФЗ задает интервалы допустимых значений одного или нескольких параметров объектов. Интервалы для конкретного класса могут быть заданы по данным его библиотеки (набора характерных изображений класса) либо вручную. Один из способов использования ФЗ – применить функцию *Like selected particles (Value) From (LVF)*. Функция *LVF* работает как ФЗ, в который были включены интервалы всех параметров, определенные библиотекой. На рис. 1, *a* схематично представлен принцип работы ФЗ.

В руководстве к *VS* отсутствует детальное описание работы СФ, за исключением того, что объект проверяется на соответствие классу с помощью базовых статистических метрик (среднего значения, стандартного отклонения, а также минимального и максимального значений параметра), рассчитанных по данным библиотек. Чем ближе объект по данному параметру к среднестатистическому (*ideal target particle*)⁴⁾, тем меньшее значение параметра *Filter Score (FS)* ему присваивается. Практика показывает, что значения *FS* могут варьировать от близких к единице (очень сильное соответствие) до нескольких сотен (очень сильное несоответствие). Схематическая интерпретация принципа работы СФ представлена на рис. 1, *b*.

³⁾ R: A language and environment for statistical computing / R Core Team ; R foundation for statistical computing. Vienna, Austria, 2021.

⁴⁾ *FlowCam* manual version 3.0 / Fluid Imaging Technologies Inc. 2011. 145 p. URL: <https://www.manualslib.com/manual/1628819/Fluid-Imaging-Technologies-FlowCam.html#manual> (date of access: 08.10.2025).

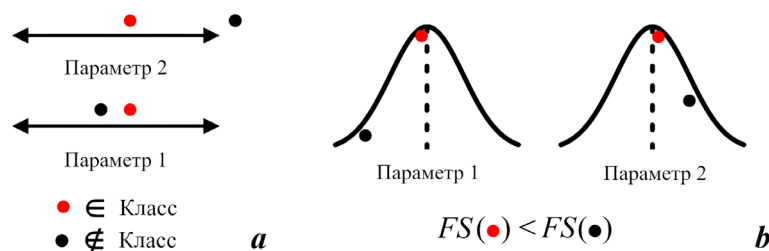


Рис. 1. Принцип работы ФЗ и СФ на примере двух параметров: *a* – красный объект зачисляется в класс, поскольку входит в заданные интервалы значений параметров; черный объект не зачисляется в класс, поскольку по второму параметру выходит за пределы заданного интервала; *b* – суммарное по двум параметрам отклонение от идеальной частицы (штриховая линия) красного объекта меньше, чем у черного, поэтому красный объект получает меньшее значение параметра *Filter Score (FS)*

Fig. 1. Principle of operation of value and statistical filters based on two parameters: *a* – the red object is assigned to the class because its parameter values fall within the specified intervals, whereas the black object is not assigned to the class because it exceeds the permissible range for the second parameter; *b* – the total deviation of the red object from the ideal particle (dashed line), calculated using two parameters, is smaller than that of the black object; therefore, the red object receives a lower *FS* value

Для СФ также могут выбираться один или несколько параметров, однако ручная регулировка метрик недоступна и, в отличие от ФЗ, они полностью определяются данными библиотеки. ФЗ и СФ могут быть объединены в рамках одного фильтра и задействовать одни и те же параметры.

Подход к определению принадлежности изображений зоопланктона к классам

При создании библиотек зоопланктона был использован подход, основанный на экспертной оценке принадлежности объектов к классам. Для каждого из выделенных классов зоопланктона была создана одна библиотека. В библиотеку включали только те изображения, которые отвечали следующим критериям: а) в кадре частицы мусора отсутствовали или присутствовали в незначительном количестве; б) согласно экспертной оценке на данном изображении присутствует конкретный объект зоопланктона в одном экземпляре; в) на момент отбора и фиксации пробы формальдегидом организм был жив; г) изображение объекта не обрезано или обрезано незначительно (это может случиться, если в момент фотофиксации объект находился на периферии поля зрения камеры). Визуальное представление перечисленных выше критериев отбора изображений в класс показано на примере *N. scintillans* (рис. 2).

Выделение объектов в отдельную библиотеку (класс) целесообразно при низкой вариабельности их формы и окраски. Для выборок параметров таких библиотек характерно отсутствие либо редкое появление экстремальных значений и небольшая дисперсия. Границы распределений разных выборок на осях параметров, как правило, оказываются достаточно узкими,

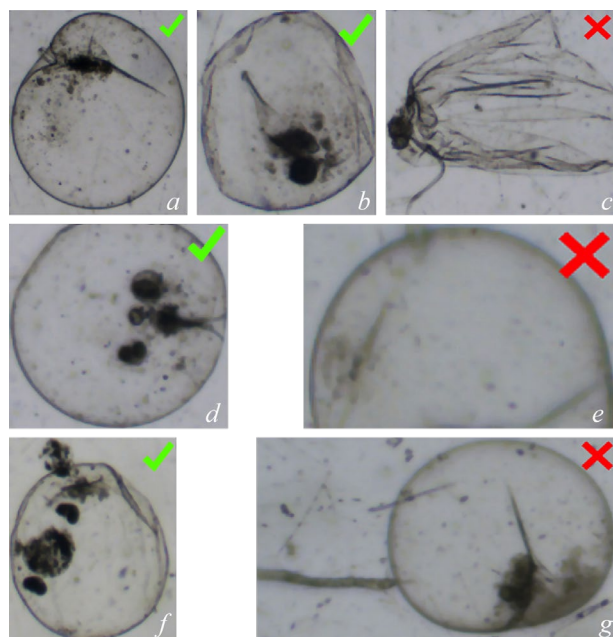


Рис. 2. Фотографии *N. scintillans*, полученные на FC: *a* – идеальное состояние объекта; *b* – умеренно деформированный объект; *c* – слишком деформированный объект (организм, вероятно, был мертв на момент фиксации пробы); *d* – изображение, умеренно обрезанное в верхней части; *e* – изображение, значительно обрезанное снизу; *f* – незначительное количество мусора; *g* – частица мусора, сопоставимая с объектом по размерам

Fig. 2. Images of *N. scintillans* obtained using FC: *a* – “ideal” state of the object; *b* – moderately deformed object; *c* – severely deformed object (the organism was most likely dead at the time of sample fixation); *d* – the image is moderately cropped at the top; *e* – the image is excessively cropped from below; *f* – a negligible amount of garbage; *g* – the garbage particle size is comparable in size to the object

что при комбинировании нескольких параметров в фильтрах обеспечивает высокую точность классификации изображений по классам.

Зоопланктон, за редкими исключениями, представляет собой объекты очень сложной формы, в отличие, например, от неколонийных клеток множества видов фитопланктона, морфология которых может быть сведена к простейшим геометрическим фигурам [12]. Присутствие в библиотеках изображений объектов с экстремальными значениями параметров, а также мультимодальность и выраженная асимметрия распределений параметров приводят к наложению классов на числовых осях, что затрудняет использование простейших фильтров значений (рис. 3). Отдельную сложность создают объекты класса *garbage* (например, детрит в поле зрения), количество и разнообразие которых ставит под сомнение возможность полностью исключить попадание мусора во вкладки классов зоопланктона (рис. 3). Применение функции *LVF* в таких условиях приводит к многочисленным ошибкам классификации.

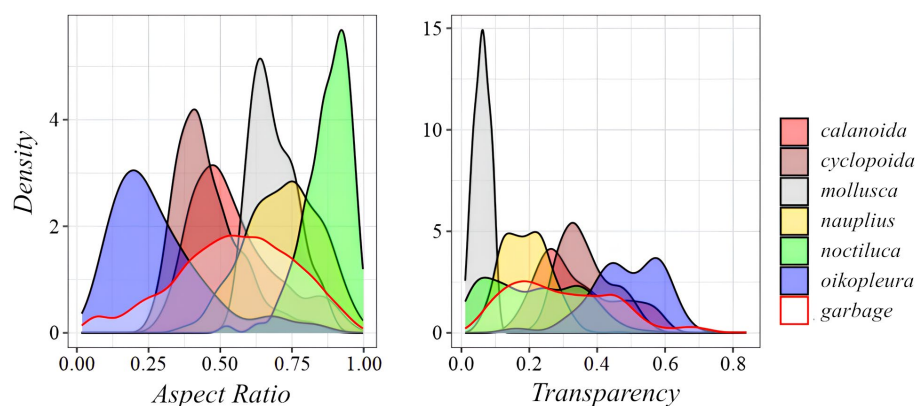


Рис. 3. Примеры функций плотности распределения параметров выделенных классов зоопланктона. Параметр *Aspect Ratio* рассчитывается как отношение длины большей стороны объекта к длине меньшей; параметр *Transparency* обозначает степень прозрачности объекта

Fig. 3. Examples of probability density functions of parameters for selected zooplankton classes. The *Aspect Ratio* parameter is calculated as the ratio of the object's side lengths; The *Transparency* parameter indicates the degree of transparency of the object

Предлагаемым решением для задачи классификации могло бы стать дополнительное введение в классификаторе подклассов, отражающих наиболее характерные варианты пространственного расположения объектов зоопланктона в поле зрения камеры *FC*. В качестве примера может быть приведена классовая дифференциация копепод в зависимости от их ориентации в кадре: а) вентральная или дорсальная ориентация; б) латеральная ориентация объекта (рис. 4). Однако такая подклассовая детализация, по всей видимости, не приведет к существенному повышению точности классификации. Это обусловлено огромным разнообразием положений антенн и конечностей (либо

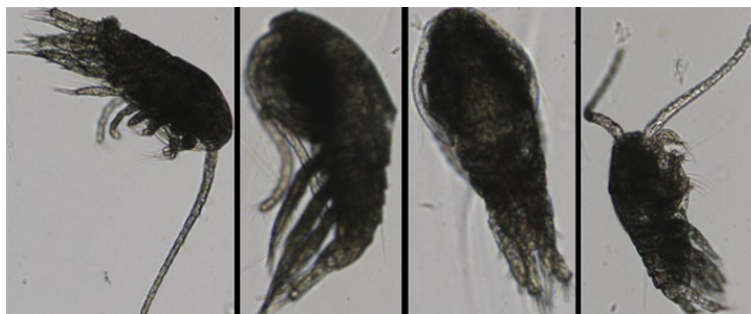


Рис. 4. Вариативность пространственных ориентаций копепод на изображениях, полученных с помощью *FlowCam*

Fig. 4. Variability of spatial orientations of copepods in images obtained using a *FlowCam*

их отсутствием вследствие механического повреждения), а также вероятностью попадания в поле зрения частиц антропогенного или природного мусора. Тем не менее идентификация всех возможных пространственных ориентаций (то есть «поз») организмов зоопланктона различных таксономических классов и формирование на их основе специализированных библиотек изображений представляет собой трудоемкую задачу, что может нивелировать преимущества использования классификатора VS (рис. 4).

Принципы создания фильтров и классификатора

С учетом статистических свойств выборок параметров объектов и особенностей инструментария классификации VS были сформулированы следующие принципы создания фильтров и построения классификатора:

1. При создании фильтров не используются классические методы описательной статистики для выявления лучших параметров, поскольку логика классификации в VS основана на последовательном применении пороговых фильтров, а не на статистической оптимизации параметров. При этом распределения параметров отдельных классов часто являются перекрывающимися и многомодальными (см. рис. 3).

2. В связи с огромным разнообразием частиц мусора и невозможности их классификации без применения статистических методов, допустимо ошибочное зачисление объектов мусора в классы зоопланктона, но не в больших количествах.

3. Ввиду высокой вариабельности признаков объектов внутри классов, выраженной асимметрии их распределений, а также отсутствия формализованного описания алгоритма расчета FS , при построении классификатора используются только ФЗ.

4. Количество вкладок классов в окне классификации должно быть по возможности минимальным – одна вкладка для одного класса.

Методика создания фильтров и установления порядка вкладок классов в классификаторе

Для использования в ФЗ доступно 32 параметра. В основу разработки методики была положена гипотеза о том, что в парах классифицирующих признаков можно выявить достаточное количество уникальных для каждого класса сочетаний интервалов значений. Предполагается, что при их совместном использовании в виде набора фильтров значений, каждый из которых содержит два параметра, возможно выявление большей части объектов соответствующих классов. Всего существует $C^2_{32} = 496$ пар параметров, подлежащих рассмотрению.

Суть подхода по созданию фильтров класса заключается в обнаружении и аппроксимации прямоугольниками тех участков пространства двух классифицирующих признаков, которые занимают объекты (точки) исключительно одного класса. Прямоугольники должны иметь стороны, параллельные осям параметров. В этом случае координаты проекций длины и ширины прямоугольника на соответствующие оси определяют интервалы значений двух параметров одного фильтра. Остальным параметрам фильтра задаются интервалы, определенные библиотекой класса, для снижения вероятности ошибки классификации при работе уже с тестовыми выборками. Количество фильтров,

полученных для класса на базе двух параметров, равно количеству прямоугольников, на которые будет разбит участок, занимаемый этим классом. Во вкладках будущих классов устанавливается режим *OR*, следовательно, для зачисления в класс изображение объекта должно удовлетворять требованиям любого из фильтров в соответствующей вкладке.

Алгоритм поиска и создания таких ФЗ был реализован в среде *R* с помощью библиотеки *sf* [13]. Алгоритмом предусмотрено три основных шага:

Шаг 1. В рамках одной пары параметров формируется n ситуаций (n – количество классов), в каждой из которых создаются два полигона (рис. 5): полигон *A* – на основе выпуклой оболочки облака точек данного класса, полигон *B* – на основе выпуклой оболочки, образованной точками остальных классов. Если существует участок полигона *A*, лежащий вне границ полигона *B*, то из такого участка формируется полигон *C* (область зеленого цвета на рис. 5).

Шаг 2. Для полигона *C* строится прямоугольная рамка (*bounding box*), которая заполняется регулярной сеткой (рис. 5). Регулярная сетка, созданная с помощью инструментария библиотеки *sf*, представляет собой массив прямоугольных полигонов со сторонами, параллельными осям координат. Независимо от класса и площади полигона *C* сетка имеет размер 20×20 полигонов. Полигоны, имеющие общие участки с полигоном *A* или с полигоном *C* (или с обоими), удаляются из сетки. Оставшиеся полигоны решетки объединяются в единый полигон *D* (рис. 5).

Шаг 3. Полигон *D* разбивается на прямоугольные полигоны по следующему алгоритму:

(*i*) выбирается левая нижняя вершина полигона *D*, затем – вершина, расположенная справа от нее, и вершина над ней. По трем вершинам строится прямоугольный полигон D_i ;

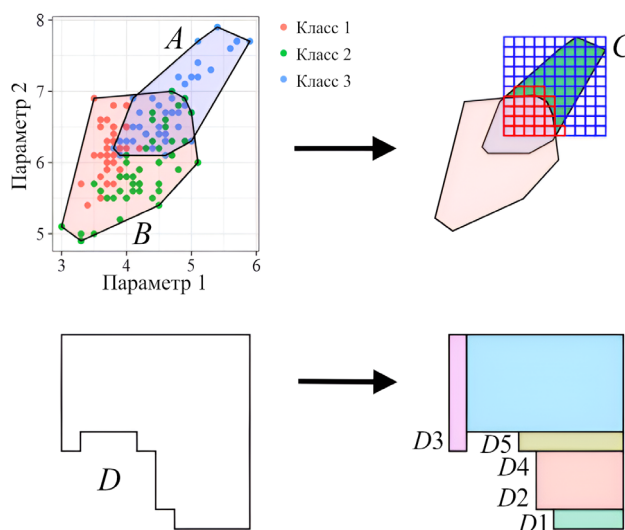


Рис. 5. Алгоритм создания ФЗ в пространстве двух параметров

Fig. 5. The value filter creation algorithm in a two-parameter space

(ii) если полигон D_i не выходит за пределы полигона D , то D_i отсекается от D . Действие (i) повторяется для усеченного D , и так до тех пор, пока он не будет полностью разбит на прямоугольники (рис. 5);

(iii) Если полигон D_i выходит за пределы полигона D , то происходит поворот полигона D на 90° . Действие (iii) и затем действие (i) повторяются до тех пор, пока не будет удовлетворено условие (ii). Если за три итерации условие (ii) не выполнено, то дальнейшие попытки разбить полигон D (как целый, так и полученные из него части $D_n, i = 1, 2, \dots, n$) прекращаются.

В случае с примером на рис. 5 участок C класса 3 был разбит на D_n прямоугольников ($n = 5$). Координаты оси параметра 1 каждой длины и координаты оси параметра 2 каждой ширины являются интервалами двух параметров, которые задаются в отдельные фильтры. Таким образом, на базе двух параметров для идентификации объектов класса 3 было создано пять фильтров.

Описанный алгоритм может применяться итеративно в зависимости от выбранного порядка вкладок классов в окне классификатора и заданной пользователем допустимой величины ошибки. Например, если полученный набор фильтров позволил однозначно выявить объекты класса(-ов), то имеет смысл повторить поиск фильтров для остальных классов, исключив распознанные классы из набора данных. Очевидно, что вкладки с такой высокой эффективностью фильтров целесообразно расположить на первых местах. Кроме того, если процент ошибочного зачисления объектов сторонних классов или процент невыявленных объектов данного класса мал, этим допустимо пренебречь в пользу повышения эффективности работы следующих вкладок классификатора.

Результаты

Создание классификатора и его результативность. Первый запуск алгоритма поиска ФЗ проводился на массиве данных, включающем все семь классов (таблица). Как и ожидалось, наибольшее количество участков вне границ других классов (рис. 5) было выявлено для *garbage* – 700. Вследствие высокой плотности объектов класса *garbage* в пространстве пар параметров, для остальных классов количество было существенно меньше (*mollusca* – 112, *noctiluca* – 185, *oikopleura* – 7, *nauplius* – 8, *calanoida* – 223, *cyclopoida* – 0), что в некоторых случаях привело к низкой или нулевой выявляемости (таблица). Поскольку дальнейшее увеличение эффективности выявления (68.9 %) объектов *garbage* оказалось невозможным, вкладка *garbage* с ФЗ, полученными при первом запуске алгоритма, была размещена первой в классификаторе.

Второй запуск алгоритма проводился после удаления всех объектов *garbage* из массива. Использование полученных наборов ФЗ позволило увеличить долю обнаруженных объектов всех классов. Выявляемость классов *mollusca* и *noctiluca* составила 100 %, поэтому были созданы следующие вкладки этих классов с новыми для них наборами ФЗ.

Следующий запуск алгоритма состоялся после удаления из массива упомянутых выше классов. Новые наборы ФЗ позволили заметно увеличить долю выявленных объектов *nauplius* (71.2 %), что особенно важно в контексте сложности различения науплиальных и взрослых стадий веслоногих.

Для класса *oikopleura* улучшения выявляемости не было отмечено. Небольшой рост доли выявленных был достигнут для объектов *calanoida* – на 5.1 % (до 51.9 %). При заметном росте числа выявленных *cyclopoida* их доля оставалась низкой (таблица).

Для окончательного решения о создании последних трех вкладок классификатора был проведен четвертый запуск алгоритма на массиве без *oikopleura*. Новые ФЗ не привели к заметному росту эффективности классификации, поэтому вкладки *nauplius*, *calanoida* и *cyclopoida* были наполнены наборами ФЗ, полученными после предыдущего запуска.

Поскольку выявить объекты класса *cyclopoida* на уровне других классов не удалось, была проведена отдельная попытка поиска ФЗ после объединения *calanoida* и *cyclopoida* в единый класс *copepoda* (таблица, номер запуска III.I).

Результаты последовательного применения наборов фильтров в окне классификации *VisualSpreadsheet*

Results of sequential application of filter sets in the *VisualSpreadsheet* classification window

Номер запуска алгоритма / Algorithm run number	Изменения в составе классов / Variations in classes composition	Число выявленных объектов / общее число изображений класса (<i>выявляемость</i> , %) / Number of identified objects / total number of class images (<i>identification rate</i> , %)						
		<i>garbage</i>	<i>mollusca</i>	<i>noctiluca</i>	<i>oikopleura</i>	<i>nauplius</i>	<i>calanoida</i>	<i>cyclopoida</i>
I	Все классы / All classes	2815/4081 (68.9)	19/26 (73.1)	376/539 (69.8)	5/45 (11.1)	4/383 (1.04)	111/1479 (7.5)	0/374 (0)
II	– <i>garbage</i>	–	(100)	(100)	(82)	(56.9)	(46.8)	(3.5)
III	– <i>noctiluca</i> , <i>mollusca</i>	–	–	–	(82)	(71.2)	(51.9)	(7.75)
IV	– <i>oikopleura</i>	–	–	–	–	(71.2)	(55.4)	(9.6)
III.I	+ <i>oikopleura</i> , <i>calanoida</i> + + <i>cyclopoida</i> = = <i>copepoda</i>	–	–	–	(82)	(69.5)	1301/1853 (70.2)	

Примечание. Символ «–» означает, что данные о параметрах классов не были задействованы при очередном запуске алгоритма поиска фильтров, а результат (процент выявлений) для класса остается таким же, как и при предыдущей конфигурации фильтров; порядок классов соответствует порядку вкладок в окне классификации *VS*.

Note: “–” indicates that the class parameter data was not used during the subsequent run of the filter search algorithm, and the result (% of identifications) for the class remains the same as in the previous filter configuration; the order of classes corresponds to the order of tabs in the *VS* classification window.

Всего был выявлен 1301 объект, из которых 1079 относились к *calanoida*, 222 – к *cyclopoidea*. Таким образом, удалось повысить количество выявленных объектов до 72.8 и 59.3 % соответственно, однако уже в рамках одного класса.

Обсуждение

Большинство исследований, где упоминается обработка проб зоопланктона на *FC*, посвящено сравнению размерных характеристик организмов, полученных с помощью световой микроскопии и *VS*, а также расчету на их основе биомассы, биообъема и других показателей [2, 14–16], определению структуры сообщества, идентификации и подсчету малочисленных видов [5, 17]. В некоторых работах можно встретить применение *FC* для подсчета частиц, количество которых дает косвенную информацию о жизнедеятельности зоопланктона и среде его обитания [18, 19]. Проведенный анализ литературы выявил отсутствие публикаций с подробным описанием подбора параметров для сортировки изображений зоопланктона или в целом посвященных разработке классификатора в *VS*.

Причины отсутствия таких работ мы видим в тех сложностях, которые сопровождают работу с этим материалом. Наиболее распространенные модели *FC* имеют недостаточную ширину капилляров проточных ячеек, что ограничивает возможность работы с нижней границей размерного спектра мезозоопланктона [15, 20]. В случае Черного моря на *FlowCam 8400* невозможна обработка проб, в которых присутствуют крупные экземпляры (более 1–1.5 мм) каланоидных копепод и сагитт. Длина сагитт достигает 3 мм и более. Дополнительное препятствие в работе могут создавать частицы детрита и агрегаты копепод, имеющие свойство закупоривать проточный капилляр ячейки. Если стоит цель обработать пробу со всем зоопланктоном в ней (от науплиальных стадий до взрослых копепод), то дополнительно необходим *FlowCam* модели *Macro* или *ZOOSCAN* [21–23]. С учетом указанных трудностей и того, что изображения зоопланктона плохо поддаются обработке инструментарием *VS*, целесообразнее использовать преимущественно ручную классификацию или *ML*-библиотеки⁵⁾ [24, 25]. Стоит отметить, что повышение эффективности классификации каланоидных и циклопоидных копепод (классы *calanoida* и *cyclopoidea*) после объединения в единый класс *copepoda* связано, вероятно, с морфологическим сходством организмов этих групп.

В ранее упомянутой работе [12] авторы описывают подход к созданию СФ для идентификации изображений клеток микроводорослей. Им удалось добиться хороших результатов (критерий точности фильтров приближался к максимальному значению – единице) для девяти классов фитопланктона. При этом классы были выделены с гораздо большей таксономической глубиной (до рода и в отдельных случаях до вида) по сравнению с нашим исследованием. Однако авторы не упоминают о посторонних частицах, которые, несомненно, должны были присутствовать в пробах, учитывая сетный способ их отбора. Стоит отметить, что точность фильтров снижалась по мере морфологического усложнения формы клеток. Эти результаты позволяют прийти

⁵⁾ Grosjean P., Denis K., Wacquet G. ZooImage: analysis of numerical plankton images // R package version. 2018. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/zooimage/zooimage.pdf> (дата обращения: 31.05.2026).

к выводу, что использование СФ для задач нашего исследования ограничено. Неоднородность выборок (см. рис. 3) приводит к некорректному расчету выборочного среднего и стандартного отклонения, что, по-видимому, влечет за собой большое количество ошибок.

В исследовании [10] при решении задачи идентификации родов и видов колониальных цианобактерий и других микроводорослей авторы, напротив, сосредоточились на подборе ФЗ. Минимальное количество наиболее полезных параметров для двух фильтров выбиралось методом ручного подбора на базе 25 и 50 характерных изображений классов объектов. Для повышения точности классификации создавался третий фильтр с теми же параметрами, но с диапазонами значений, образованными пересечениями диапазонов параметров исходных фильтров. В исследовании [10] авторы сообщают, что предложенный ими подход позволил добиться почти стопроцентной (99.8 %) точности идентификации объектов по родам; при этом точность при разделении морфовидов варьировала от 42.6 до 93.7 %. Как и в работе [12], авторы не касаются вопроса о посторонних частицах и не описывают предобработку массива изображений.

В отличие от работ [10, 12], где фильтры создавали интуитивно в ручном режиме, в нашем исследовании мы попытались автоматизировать подбор фильтров и формализовать размещение вкладок классов в окне классификации *VS*.

В версии 6 *VS* впервые появился ИИ-инструмент для работы с агрегатами белков. Однако до тех пор, пока в *VS* не будет встроен функционал, позволяющий пользователям настраивать и обучать нейросети самостоятельно, предложенный алгоритм может стать альтернативой ручному подбору параметров. Предположительно, алгоритм может быть более результативен при работе с пробами фитопланктона и его эффективность можно повысить, если перейти от пар параметров к тройкам и т. д. Иными словами, повышение размерности рассматриваемых пространств параметров должно привести к выявлению большего количества фильтров с уникальными для классов интервалами значений и росту выявляемости принадлежащих им объектов.

Выводы

В настоящей работе впервые разработана методика классификации изображений зоопланктона, полученных с помощью комплекса *FlowCam*, с использованием инструментария программного обеспечения *VisualSpreadsheet*. В рамках предложенного подхода реализован алгоритм автоматического формирования фильтров значений, что позволило, при определенных условиях, обеспечить 100%-ную выявляемость для классов *mollusca* и *noctiluca*, 82 % – для *oikopleura*, 71.2 % – для *nauplius* и 70.2 % – для *copepoda* (после объединения *cyclopoidea* и *calanoida*).

Поскольку алгоритм не требует предварительного анализа распределений параметров, методика может быть применена при исследовании широкого спектра объектов, регистрируемых с помощью *FlowCam*. Наиболее целесообразным является использование разработанной методики при работе с объектами, обладающими сложной морфологией, в частности с зоопланктоном.

В перспективе планируется реализовать алгоритм поиска фильтров значений в пространствах параметров большей размерности и протестировать его как на объектах зоопланктона, так и на других компонентах морского планктона, включая фитопланктон.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пионтковский С. А., Минский И. А., Мегер Я. В. Многолетняя изменчивость биомассы океанического зоопланктона // Водные биоресурсы и среда обитания. 2023. Т. 6, № 3. С. 52–65. EDN НАЕНСЕ. https://doi.org/10.47921/2619-1024_2023_6_3_52
2. Karnan C., Jyothibabu R., Manoj Kumar T. M., Jagadeesan L. et al. On the accuracy of assessing copepod size and biovolume using *FlowCam* and traditional microscopy // Indian Journal of Geo Marine Systems. 2017. Vol. 46. P. 1261–1264.
3. Chiba S., Batten S., Martin C. S., Ivory S. et al. Zooplankton monitoring to contribute towards addressing global biodiversity conservation challenges // Journal of Plankton Research. 2018. Vol. 40, iss. 5. P. 509–518. <https://doi.org/10.1093/plankt/fby030>
4. Ratnarajah L., Abu-Alhaija R., Atkinson A., Batten S. et al. Monitoring and modelling marine zooplankton in a changing climate // Nature Communications. 2023. Vol. 14. 564. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36241-5>
5. Detmer T. M., Broadway K. J., Potter C. G., Collins S. F. et al. Comparison of microscopy to a semi-automated method (*FlowCam*®) for characterization of individual-, population-, and community-level measurements of zooplankton // Hydrobiologia. 2019. Vol. 838. P. 99–110. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-03980-w>
6. Culverhouse P. F., Williams R., Reguera B., Herry V. et al. Do experts make mistakes? A comparison of human and machine identification of dinoflagellates // Marine Ecology Progress Series. 2003. Vol. 247. P. 17–25. <https://doi.org/10.3354/meps247017>
7. Zhang W., Bi H., Wang D., Cheng X. et al. Automated zooplankton size measurement using deep learning: Overcoming the limitations of traditional methods // Frontiers in Marine Science. 2024. Vol. 11. 1341191. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1341191>
8. Drago L., Panaitis T., Irisson J.-O., Babin M. et al. Global distribution of zooplankton biomass estimated by in situ imaging and machine learning // Frontiers in Marine Science. 2022. Vol. 9. 894372. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.894372>
9. Kydd J., Rajakaruna H., Briski E., Bailey S. Examination of a high-resolution laser optical plankton counter and *FlowCam* for measuring plankton concentration and size // Journal of Sea Research. 2017. Vol. 133. P. 2–10. <http://doi.org/10.1016/j.seares.2017.01.003>
10. Mirasbekov Y., Zhumakhanova A., Zhantuyakova A., Sarkytbayev K. et al. Semi-automated classification of colonial *Microcystis* by *FlowCAM* imaging flow cytometry in mesocosm experiment reveals high heterogeneity during seasonal bloom // Scientific Reports. 2021. Vol. 11. 9377. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88661-2>
11. Owen B. M., Hallett C. S., Cosgrove J. J., Tweedley J. R. et al. Reporting of methods for automated devices: A systematic review and recommendation for studies using *FlowCam* for phytoplankton // Limnology and Oceanography: Methods. 2022. Vol. 20, iss. 7. P. 400–427. <https://doi.org/10.1002/lom3.10496>
12. Camoying M. G., Yñiguez A. T. *FlowCam* optimization: Attaining good quality images for higher taxonomic classification resolution of natural phytoplankton samples // Limnology and Oceanography: Methods. 2016. Vol. 14, iss. 5. P. 305–314. <https://doi.org/10.1002/lom3.10090>

13. *Pebesma E., Bivand R.* Spatial Data Science: With Applications in R. New York : Chapman and Hall/CRC, 2023. 314 p. <https://doi.org/10.1201/9780429459016>
14. *Wong E., Sastri A. R., Lin F.-S., Hsieh C.-h.* Modified *FlowCam* procedure for quantifying size distribution of zooplankton with sample recycling capacity // *PLoS ONE*. 2017. Vol. 12, iss. 4. e0175235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175235>
15. *Albini D., Ransome E., Dumbrell A. J., Pawar S. et al.* Warming alters plankton body-size distributions in a large field experiment // *Communications Biology*. 2025. Vol. 8. 162. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-07380-2>
16. *Lovecchio E., Henson S., Carvalho F., Briggs N. et al.* Mesopelagic particle layers in the dynamic hypoxic northern Benguela are shaped by zooplankton activity // *Journal of Geophysical Research: Oceans*. 2025. Vol. 130, iss. 3. e2024JC021039. <https://doi.org/10.1029/2024JC021039>
17. *Wang Y., Castillo-Keller M., Eustance E., Sommerfeld M.* Early detection and quantification of zooplankton grazers in algal cultures by *FlowCam* // *Algal Research*. 2017. Vol. 21. P. 98–102. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.012>
18. *Ide K., Takahashi K., Kuwata A., Nakamachi M. et al.* A rapid analysis of copepod feeding using *FlowCam* // *Journal of Plankton Research*. 2008. Vol. 30, iss. 3. P. 275–281. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbm108>
19. *Minguez L., Sperfeld E., Berger S. A., Nejstgaard J. C. et al.* Changes in food characteristics reveal indirect effects of lake browning on zooplankton performance // *Limnology and Oceanography*. 2020. Vol. 65, iss. 5. P. 1028–1040. <https://doi.org/10.1002/lno.11367>
20. *Lombard F., Boss E., Waite A. M., Vogt M. et al.* Globally consistent quantitative observations of planktonic ecosystems // *Frontiers in Marine Science*. 2019. Vol. 6. 196. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00196>
21. *Gorsky G., Ohman M. D., Picheral M., Gasparini S. et al.* Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system // *Journal of Plankton Research*. 2010. Vol. 32, iss. 3. P. 285–303. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbp124>
22. *Feliú G., Pagano M., Hidalgo P., Carlotti F.* Structure and function of epipelagic mesozooplankton and their response to dust deposition events during the spring PEACE-TIME cruise in the Mediterranean Sea // *Biogeosciences*. 2020. Vol. 17, iss. 21. P. 5417–5441. <https://doi.org/10.5194/bg-17-5417-2020>
23. *Fierro-González P., Pagano M., Guilloux L., Makhlof N. et al.* Zooplankton biomass, size structure, and associated metabolic fluxes with focus on its roles at the chlorophyll maximum layer during the plankton-contaminant MERITE-HIPPOCAMPE cruise // *Marine Pollution Bulletin*. 2023. Vol. 193. 115056. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115056>
24. *Ershova E. A., Berge T., Aguirre G. E., Reeve M. J. et al.* Latitudinal gradients in zooplankton communities in Norwegian fjords resolved by an integrated morphological and molecular approach // *ICES Journal of Marine Science*. 2025. Vol. 82, iss. 6. fsae147. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsae147>
25. *Conradt J., Börner G., López-Urrutia Á., Möllmann C. et al.* Automated plankton classification with a dynamic optimization and adaptation cycle // *Frontiers in Marine Science*. 2022. Vol. 9. 868420. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.868420>

Поступила 26.11.2025 г.; одобрена после рецензирования 04.02.2026 г.; принята к публикации 19.03.2026 г.; опубликована 30.06.2026 г.

Об авторах:

Минский Иван Александрович, младший научный сотрудник, научно-исследовательская лаборатория «Морские экосистемы», Институт перспективных исследований, ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет (299053, Россия, г. Севастополь, ул. Университетская, д. 33); ведущий инженер, ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН» (299011, Россия, г. Севастополь, пр-т Нахимова, д. 2), **SPIN-код: 8847-8660, ORCID ID: 0009-0009-6539-303X, Scopus Author ID: 58168623600, ivansimfer@yandex.ru**

Литвинюк Дарья Анатольевна, старший научный сотрудник, ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН» (299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2), кандидат биологических наук, **SPIN-код: 8391-5721, ORCID ID: 0000-0002-9732-1219, Scopus Author ID: 57195425970, ResearcherID: ABB-1684-2021, d.litvinyuk@ibss-ras.ru**

Евстигнеев Владислав Павлович, ведущий научный сотрудник, ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет (299053, Россия, г. Севастополь, ул. Университетская, д. 33), кандидат физико-математических наук, доцент, **SPIN-код: 8739-5204, ORCID ID: 0000-0003-3064-2613, ResearcherID: G-1894-2014, Scopus Author ID: 12544785600, vald_e@rambler.ru**

Пинаев Андрей Андреевич, магистр, ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет (299053, Россия, г. Севастополь, ул. Университетская, д. 33), **ResearchIDs: rid125302, mrsend@mail.ru**

Муханов Владимир Сергеевич, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом планктона ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН» (299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2), кандидат биологических наук, **SPIN-код: 3241-9675, Scopus Author ID: 7004040853, ORCID ID: 0000-0002-5324-045X, ResearcherID: H-4760-2014, v.s.mukhanov@ibss-ras.ru**

Заявленный вклад авторов:

Минский Иван Александрович – формулировка и постановка задачи, разработка методики, проведение вычислительных экспериментов, обзор литературы по теме исследования, получение натуральных данных, обсуждение результатов работы, подготовка и обслуживание оборудования, выполнение работ на оборудовании, подготовка текста статьи, формулирование выводов

Литвинюк Дарья Анатольевна – разработка методики, обзор литературы по теме исследования, получение натуральных данных, качественный анализ натуральных данных, обсуждение результатов работы, подготовка текста статьи, доработка текста

Евстигнеев Владислав Павлович – разработка методики, обзор литературы по теме исследования, обсуждение результатов работы, доработка текста

Пинаев Андрей Андреевич – проведение вычислительных экспериментов, получение натуральных данных, подготовка и обслуживание оборудования, выполнение работ на оборудовании, обсуждение результатов работы, оформление рисунков

Муханов Владимир Сергеевич – обсуждение результатов работы, формулирование выводов, доработка текста статьи

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.