

УДК 574.632:574.523:574.583

## НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ СКОРОСТИ РАВНОМЕРНОГО ДВИЖЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО СПИРАЛЬНОЙ ТРАЕКТОРИИ

© 2025 г. А. М. Лях<sup>®</sup>, Т. В. Рауэн

ФГБУН ФИЦ “Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН”,  
пр-т Нахимова, 2, Севастополь, 299011 Россия  
®E-mail: me@antonlyakh.ru; antonlyakh@gmail.com

Поступила в редакцию 17.09.2024 г.

После доработки 04.02.2025 г.

Принята к публикации 04.02.2025 г.

Анализ движения микроскопических организмов важен для понимания их поведения, внутреннего состояния и реакции на внешние условия. Многие свободноплавающие микроорганизмы двигаются в трехмерном пространстве по спиральной траектории. При анализе трехмерной траектории по кадрам видео она превращается в плоскую кривую. Это приводит к потере части данных о движении и, в частности, к ошибкам в оценках пройденного пути и истинной скорости. Мы предлагаем оценивать длину трехмерного спирального пути по максимальной длине проекции отрезка траектории. Анализ показал, что для прямолинейных спиральных траекторий, по которым организмы двигаются равномерно, этот метод во многих случаях позволяет правильно оценить пройденный путь и истинную скорость движения и выполнить корректное сравнение скоростей разных микроорганизмов.

**Ключевые слова:** траектория, движение по спирали, скорость движения, проекция пути, динофлагелляты, *Oxvrrhis marina*

**DOI:** 10.31857/S1026347025040128

Анализ движения микроскопических организмов важен для понимания их поведения, внутреннего состояния и реакции на внешние условия (Boakes *et al.*, 2011; Rauен *et al.*, 2024). Многочисленные наблюдения показывают, что многие свободноплавающие микроорганизмы, размером менее 0.5 мм (бактерии, динофлагелляты, инфузории), двигаются по спирали (Crenshaw, 1996; Fenchel, 2001; Roberts *et al.*, 2011). Спиральное движение помогает эффективно перемещаться в водной среде, снижая сопротивление и экономя энергию, избегать хищников и охватывать больший объем при поиске пищи. Поэтому описание и анализ характеристик спирального движения являются актуальными задачами для многих биолого-экологических исследований.

Данными для анализа спирального движения служит траектория микроорганизма. Ее строят специализированные программы трекинга по видеозаписи движения, такие как *Plankton Tracker* (Durante *et al.*, 2020), *LIM Tracker* (Aragaki *et al.*, 2022), *TrackMate* (Ershov *et al.*, 2022), *PhyTracker* (Yang *et al.*, 2024) и другие (Emami *et al.*, 2021). Программы определяют длину пройденного пути, скорость

и прочие характеристики траектории (Boakes *et al.*, 2011; Vestergaard *et al.*, 2015; Croze *et al.*, 2019; Durante *et al.*, 2020).

Спиральная траектория – это трехмерный объект, который на кадрах видео превращается в плоскую кривую. Это приводит к потере части данных о движении, так как мы не можем корректно оценить длину трехмерного пути по его единственной плоской проекции. Несмотря на это, исследователи либо игнорируют данный факт, либо пытаются восполнить недостающие данные с помощью трудоемких инструментальных или математических методов (Croze *et al.*, 2019; Drescher, 2009; Gurarie *et al.*, 2011).

При исследовании спиральных траекторий гетеротрофной динофлагелляты *Oxvrrhis marina* (Rauen *et al.*, 2024) мы разработали простой метод оценки истинной скорости организма по длине максимального сегмента проекции траектории. В настоящей работе мы описываем предложенный метод, оцениваем его погрешности и рассматриваем случаи, когда по вычисленному значению скорости невозможно однозначно определить реальную скорость движения организма.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения исходных данных мы имитировали движение микроорганизма по спиральной траектории с прямой центральной осью, постоянным диаметром витка  $D = 30$  и разной длиной витка  $C$ , пропорциональной диаметру:  $C = kD$ ,  $k = 1/4, 1/2, 3/4, 1, \dots, 5$ . Мы использовали условные единицы длины.

Так как в природе организм может двигаться в любом направлении, то мы также постарались охватить разнообразие направлений траекторий, для чего создали спиральные пути, повернутые относительно плоскости наблюдения на угол  $\alpha$  от  $0^\circ$  до  $90^\circ$  с шагом  $3^\circ$ .

**Построение траектории.** Спиральное движение происходит за счет композиции двух движений: вращения вокруг оси и смещения в направлении оси (Crenshaw, 1996). У микроорганизмов вращение происходит по круговой орбите, которую описывает уравнение окружности:

$$x(t) = r \sin(ut), \quad y(t) = r \cos(ut),$$

где  $x, y$  – координаты центра объекта в момент времени  $t$ ;  $r$  – радиус витка,  $r = D/2$ ;  $u$  – угловая скорость вращения. Смещение по оси  $Z$  описывает формула

$$z(t) = t dz,$$

где  $dz$  – шаг смещение в момент времени  $t$ . Эти уравнения генерируют дискретную траекторию, которая состоит из вершин, соединенных друг с другом прямолинейными отрезками – сегментами. Такая траектория получается при съемке движения на камеру.

**Путь и скорость движения.** Мы имитировали равномерное движение организма, когда за одинаковое время он пробегает одинаковое расстояние, то есть движется с постоянной истинной скоростью  $V_a$ . При равномерном движении каждый сегмент траектории имеет одинаковую длину  $s$ . Для построения равномерной траектории мы ввели относительную скорость,  $V_c$ , равную количеству витков спирали, пробегаемых организмом за секунду. Тогда значения  $u$  и  $dz$ , которые обеспечивают построение траектории с одинаковыми длинами сегментов, выражаются формулами:

$$u = 2\pi V_c / f,$$

$$dz = C \cdot V_c / f,$$

где  $f$  скорость съемки видеокамеры (кадров в  $s^{-1}$ ).

На кадрах мы видим проекции сегментов,  $s \rightarrow \zeta_i$ , где длина проекции  $\zeta_i$  зависит от положения сегмента относительно плоскости кадра. Длины проекций получаются разными, но они не превосходят  $s$ :  $\zeta_i \leq s$ .

При равномерном движении путь организма, пройденный за секунду, состоит из  $f$  сегментов, так как именно такое число кадров уместается в секундный интервал. Отсюда истинная скорость движения (длина пути в  $s^{-1}$ ) равна  $V_a = fs$ . По проекции пути мы можем оценить проекционную скорость,  $V_p$ . Она равна длине проекции пути в  $s^{-1}$ ,  $V_p = f/F \sum \zeta_i$ , где  $F$  – количество кадров, содержащих траекторию, а  $\sum \zeta_i$  – сумма длин всех проекций сегментов траектории. Именно скорость  $V_p$  вычисляются перечисленные выше программы трекинга.

Выбрав из всех проекций сегментов траектории самую длинную,  $\zeta_{\max} = \max(\zeta_i)$ , введем максимальную проекционную скорость,  $V_m = f \zeta_{\max}$ , которая равна скорости движения по проекции траектории, состоящей из одинаковых сегментов длиной  $\zeta_{\max}$ .

**Различие значений.** Дальнейшая задача заключалась в оценке различий скоростей  $V_a, V_p, V_m$ . Эти скорости были вычислены для траекторий, которые имели фиксированный диаметр ( $D = 30$ ) и разные пропорции витка спирали ( $C/D = 1/4, 1/2, \dots, 5$ ), отличались углами поворота оси ( $\alpha = 0^\circ, 3^\circ, \dots, 90^\circ$ ), и были сгенерированы для разных значений относительных скоростей ( $V_c = 0.5, 1, \dots, 5$ ).

Значения проекционных скоростей,  $V_p$  и  $V_m$ , мы сравнивали с истинной скоростью  $V_a$ . Разницу между скоростями,  $\Delta_{ap}$  и  $\Delta_{am}$ , выражали в процентах и изображали на графиках. Также мы определяли долю случаев, когда разница между значениями была меньше заданной величины. Статистику случаев описывали медианой и межквартильным размахом. Моделирование траекторий, расчеты и построение графиков выполнены при помощи оригинальных скриптов на языке R.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Очевидно, что проекционная скорость движения по спирали всегда будет меньше абсолютной скорости движения:  $V_p < V_a$ . Также мы полагаем, что максимальная проекционная скорость в некоторых случаях будет незначительно отличаться от абсолютной скорости,  $V_m \sim V_a$ , то есть может служить для ее хорошей оценки. Для проверки этого предположения рассмотрим распределение отличий длин проекций сегментов  $\zeta_i$  от истинных длин сегментов  $s$ . Равенство  $\zeta_i = s$  выполняется в единственном случае – когда сегмент параллелен плоскости проекции. При остальных положениях сегмента длина проекции будет меньше,  $\zeta_i < s$ . Отсюда следует, что к истинной длине сегмента

может быть близка только наибольшая из длин проекций,  $\zeta_{max} = \max(\zeta_i)$ ,  $\zeta_{max} \sim s$ .

Оценим число случаев, когда разница между длинами сегментов не превышала 10%,  $|\zeta_{max} - s| < 10\%$ . Для этого проанализируем диаграммы отличий  $|\zeta_{max} - s|$  при разных углах поворота оси траектории,

разных пропорциях витка спирали и разных относительных скоростях движения организма (рис. 1). Из диаграмм следует, что  $|\zeta_{max} - s| < 1\%$  в 66.5% случаев и  $|\zeta_{max} - s| < 10\%$  в 69% случаев при всех значениях  $V_c$ . То есть примерно для 70% всех рассмотренных траекторий максимальная проекционная

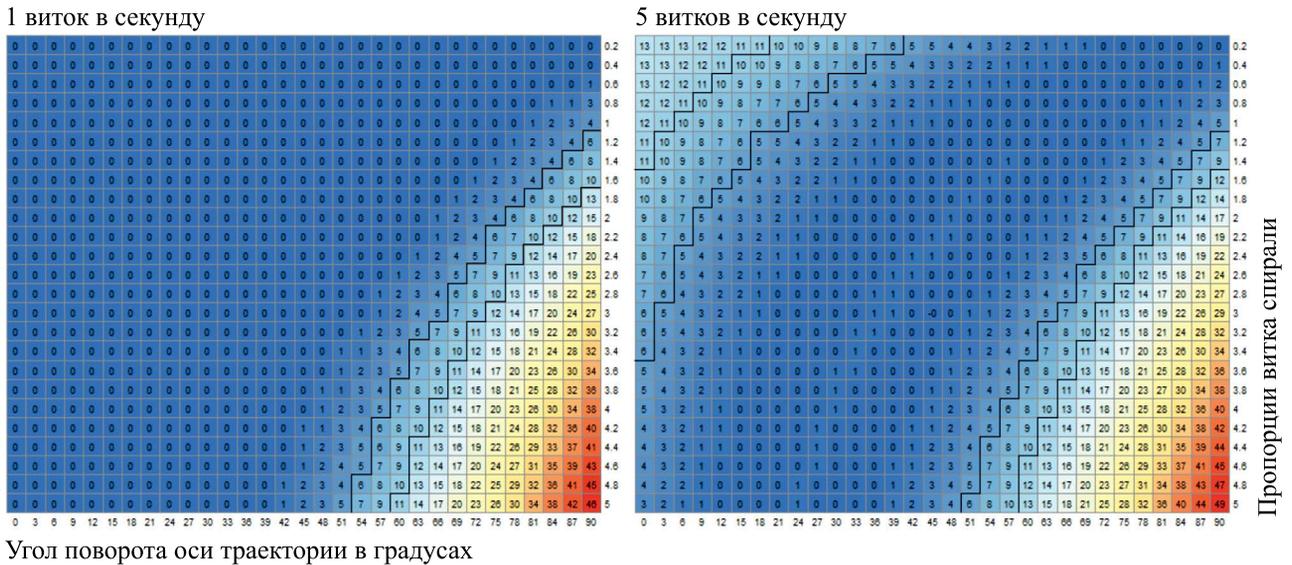


Рис. 1. Относительные погрешности между максимальной проекционной ( $\zeta_{max}$ ) и истинной длиной сегментов траекторий с разными характеристиками.

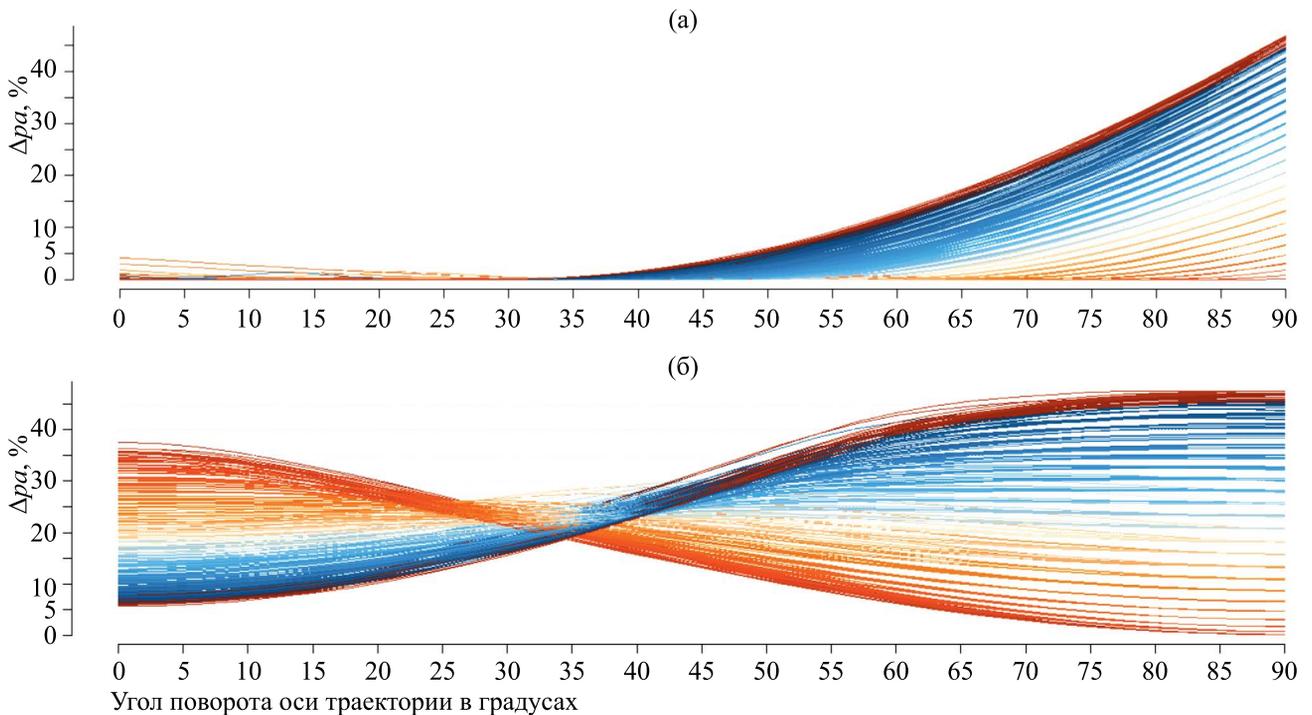


Рис. 2. Относительная разница,  $\Delta_{va}$ , между истинной скоростью движения,  $V_a$  и (а) максимальной проекционной скоростью  $V_t$  или (б) обычной проекционной скоростью  $V_p$  для траекторий с разными характеристиками: разными пропорциями витка и разными углами поворота. Одинаковым цветом отмечены  $\Delta_{va}$ , вычисленные для совпадающих пропорций витков спирали, но разных  $V_c$ .

скорость будет очень хорошо соответствовать истинной скорости движения:  $V_m \sim V_a$ .

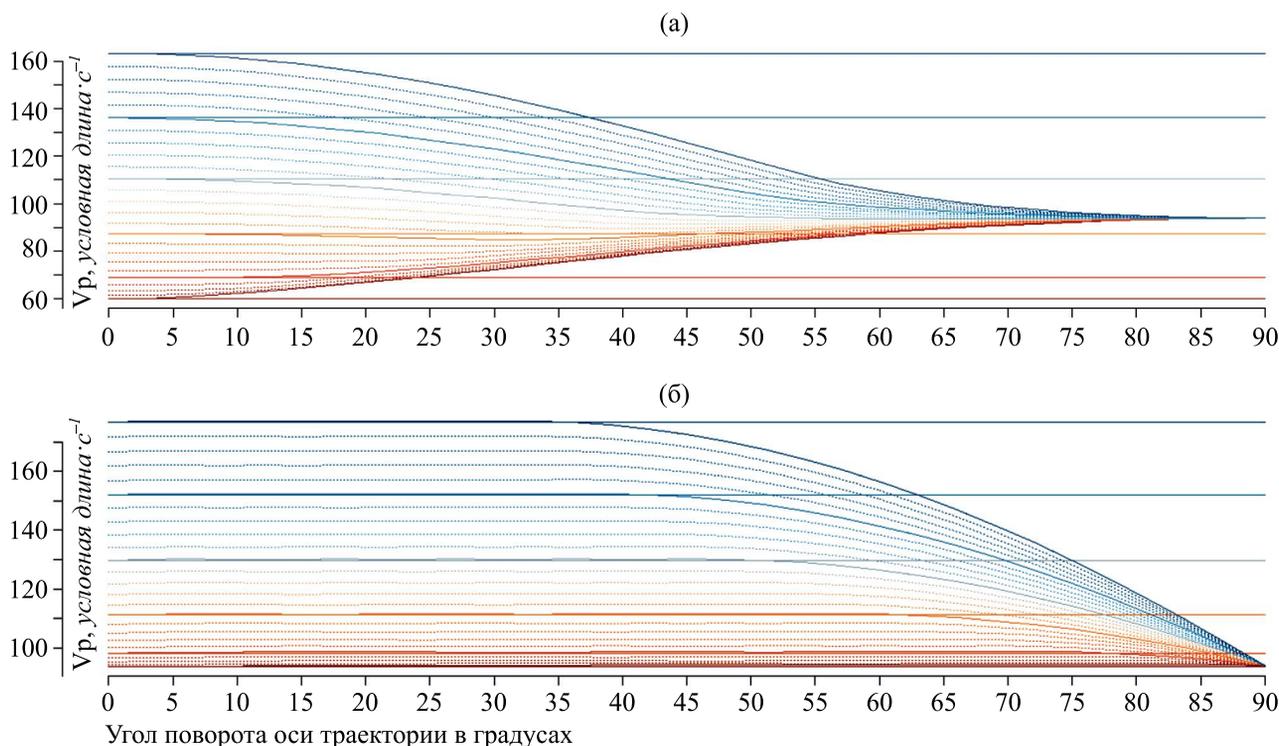
Данный факт подтверждают графики относительной разницы между скоростями  $\Delta_{ma}$  (рис. 2а):  $\Delta_{ma} \leq 10\%$  для всех траекторий с углом поворота до  $56^\circ$ , что равно 70% всех траекторий. В целом медиана всех значений  $\Delta_{ma}$  очень низкая: 0.01 (0.0–3.9)%.

К иным результатам приводит сравнение значений проекционной и истинной скорости (рис. 2б). В этом случае варибельность различий  $\Delta_{pa}$  очень высокая и сильно зависит от характеристик траектории. Медиана всех значений  $\Delta_{pa}$  достигает 22.5% (14.9–29.0)%. То есть, по сути, при такой высокой варибельности мы не можем сказать, на сколько процентов мы занижим истинную скорость, используя вместо нее проекционную скорость.

Это приводит к ситуации, когда проекционные скорости движения организмов совпадают, тогда как на самом деле организмы двигались с разными скоростями. Она возникает из-за проекционных искажений истинной длины траекторий: разные по длине траектории после проецирования становятся равными, что и приводит к ошибочным оценкам длин траекторий и значений скоростей.

Такие ситуации изображают графики (рис. 3), где каждое пересечение горизонтальной линии с изогнутыми говорит о том, что заданной длине проекции траектории организма, по которой организм перемещался с заданной скоростью (горизонтальная линия), соответствует множество проекций иных траекторий, по которым организмы двигались с иными скоростями (изогнутые линии). Другими словами, разные траектории образуют проекционный след одинаковой длины, что и приводит к ошибочной оценке пройденного пути и скорости движения.

При использовании проекционных скоростей  $V_p$  описанная неоднозначная ситуация возникает постоянно (рис. 3а). При использовании максимальных проекционных скоростей  $V_m$  она появляется в меньшем числе случаев (рис. 3б). Здесь наблюдается такая закономерность: чем меньше пропорции витка, тем в меньшем числе случаев возникает совпадение проекционных значений отличающихся истинных скоростей. Отсюда следует, что максимальные проекционные скорости позволяют с большей достоверностью выявить различие истинных скоростей движения организмов.



**Рис. 3.** Ситуации, при которых одной абсолютной скорости движения соответствует множество проекционных скоростей – обычных (а) и максимальных (б), равных иным абсолютным скоростям. Каждая горизонтальная линия показывает фиксированное значение абсолютной скорости (или истинный путь, пройденный организмом за секунду). Каждая изогнутая линия показывает динамику изменения проекционной скорости (проекционного пути, пройденного за секунду), вычисленной для траекторий с разными характеристиками. Пересечение горизонтально линии с изогнутыми говорит о совпадении значений скоростей, которые изначально различаются, то есть сигнализирует об ошибке. Для удобства мы изобразили только случаи, когда  $V_c = 1$ ; для других значений  $V_c$  графики аналогичны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы предложили определять длину прямолинейного спирального пути, пройденного микроорганизмом, по единственному значению максимальной проекции сегментов траектории,  $\zeta_{max}$ . В большинстве рассмотренных случаев такой метод позволяет правильно оценить истинную скорость движения организма, а также выполнить корректное сравнение скоростей разных объектов. В естественных условиях микроорганизмы редко двигаются по прямолинейному спиральному пути. Обычно траектория движения имеет более сложный, запутанный вид, включающий прямолинейные спиральные участки. Это существенно затрудняет оценку истинных характеристик движения. Тем не менее, если организм двигался равномерно, то есть за единицу времени проходил одинаковые по длине участки  $s$ , то для точной оценки скорости можно использовать описанный метод. При этом чем длиннее анализируемая траектория и чем чаще она меняет свое направление, тем больше вероятность того, что один из сегментов траектории будет (почти) параллелен плоскости кадра. Следовательно, максимальная длина проекций сегментов траектории,  $\zeta_{max}$ , будет близка к истинной длине сегмента,  $\zeta_{max} \sim s$ . Это позволит достаточно точно оценить истинную скорость движения организма,  $V_a \sim V_m = f \zeta_{max}$ , даже если спиральная траектория имеет сложную форму.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственных заданий ФИЦ ИнБЮМ “Трансформация структуры и функций экосистем морской пелагиали в условиях антропогенного воздействия и изменения климата” (рег. номер 124030400057-4) и “Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов” (рег. номер 124022400152-1).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ  
ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Aragaki H., Ogoh K., Kondo Y., Aoki K.* LIM Tracker: a software package for cell tracking and analysis with advanced interactivity // *Sci. Rep.* 2022. V. 12. 2702.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-06269-6>
- Boakes D.E., Codling E.A., Thorn G.J., Steinke M.* Analysis and modelling of swimming behaviour in *Oxyrrhis marina* // *J. Plank. Res.* 2011. V. 33. № 4. P. 641–649.  
<https://doi.org/10.1093/plankt/fbq136>
- Crenshaw H.C.* A new look at locomotion in microorganisms: Rotating and translating // *American Zoologist.* 1996. V. 36. № 6. P. 608–618.  
<https://doi.org/10.1093/icb/36.6.608>
- Croze O.A., Martinez V.A., Jakuszeit T., Dell’Arciprete D., Poon W.C.K., Bees M.A.* Helical and oscillatory microswimmer motility statistics from differential dynamic microscopy // *New J. Phys.* 2019. V. 21. 063012.  
<https://doi.org/10.1088/1367-2630/ab241f>
- Durante G., Roselli L., De Nunzio G., Piemontese U., Marsella G., Basset A.* Plankton Tracker: A novel integrated system to investigate the dynamic sinking behavior in phytoplankton // *Ecological Informatic.* 2020. V. 60. 101166.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2020.101166>
- Drescher K, Leptos K.C., Goldstein R.E.* How to track protists in three dimensions // *Rev. Sci. Instrum.* 2009. V. 80. 014301.  
<https://doi.org/10.1063/1.3053242>
- Emami N., Sedaei Z., Ferdousi R.* Computerized cell tracking: Current methods, tools and challenges // *Visual Informatics.* 2021. V. 5. № 1. P. 1–13.  
<https://doi.org/10.1016/j.visinf.2020.11.003>
- Ershov D., Phan M.-S., Pylvanainen J.W., Rigaud S.U., Le Blanc L., Charles-Orszag A., Conway J.R.W., Laine R.F., Roy N.H., Bonazzi D., Dumenil G., Jacquemet G., Tinevez J.-Y.* TrackMate 7: integrating state-of-the-art segmentation algorithms into tracking pipelines // *Nat. Methods.* 2002. V. 19. P. 829–832.  
<https://doi.org/10.1038/s41592-022-01507-1>
- Fenchel T.* How dinoflagellates swim // *Protist.* 2001. V. 152. № 4. P. 329–338.  
<https://doi.org/10.1078/1434-4610-00071>
- Gurarie E., Grunbawm D., Nishizaki M.T.* Estimating 3D movements from 2D observations using a continuous model of helical swimming // *Bull. Math. Biol.* 2011. V. 73. P. 1358–1377.  
<https://doi.org/10.1007/s11538-010-9575-7>
- Rauen T.V., Mukhanov V.S., Baiandina I.S., Lyakh A.M.* Influence of microplastics on the nutritional and locomotive activity of dinoflagellate *Oxyrrhis marina* under experimental conditions // *Inland Water Biology.* 2024. V. 17. № 2. P. 316–326.  
<https://doi.org/10.1134/S1995082924020135>
- Roberts E.C., Wootton E.C., Davidson K., Jeong H.J., Lowe C.D., Montagnes D.J.C.* Feeding in the

dinoflagellate *Oxyrrhis marina*: linking behaviour with mechanisms // J. Plankt. Res. 2011. V. 33. № 4. P. 603–614.  
<https://doi.org/10.1093/PLANKT%2FFBQ118>  
*Vestergaard C.L., Pedersen J.N., Mortensen K.I., Flyvbjerg H.* Estimation of motility parameters from

trajectory data // Eur. Phys. J. Spec. Top. 2015. V. 224. P. 1151–1168.  
<https://doi.org/10.1140/epjst/e2015-02452-5>  
*Yang Y., Qingxuan L., Yuezun L., Zhiqiang W., Junyu D.* PhyTracker: an online tracker for phytoplankton // arXiv. 2024. arXiv:2407.00352.

## **A new approach to estimating speed of microorganisms uniform movement along a helical trajectory**

**A. M. Lyakh<sup>#</sup>, T. V. Rauen**

*Kovalevskii Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, 299011 Russia*  
<sup>#</sup>*e-mail: me@antonlyakh.ru, antonlyakh@gmail.com*

Analysis of the motion of microscopic organisms is important for understanding their behavior, intrinsic state, and response to external conditions. Many free-swimming microorganisms move in three-dimensional space along a helical trajectory. When a three-dimensional trajectory is analyzed from video frames, it is transformed into a flat curve. This leads to loss of some of the motion data and, in particular, to errors in the estimates of the traveled path and true speed. We propose to estimate the length of a three-dimensional spiral path using the maximum length of the projection of the trajectory segment. The analysis showed that for rectilinear spiral trajectories, along which organisms move uniformly, this method in many cases allows us to correctly estimate the traveled path and true speed of movement, and to perform a correct comparison of the speeds of different microorganisms.

*Keywords:* trajectory, helical movement, movement speed, path projection, dinoflagellate, *Oxyrrhis marina*