

**Análisis de imágenes de cámara de profundidad para
estudios de comunidades mesopelágicas**

**Analysis of images of deep water cameras for studies
of mesopelagic communities**



Trabajo de Fin de Grado

Águeda Sobrino Martínez

Tutorizado por Alejandro Escáñez y Natacha Aguilar de Soto

Grado en Biología. Julio 2021

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a mis tutores, Alejandro y Natacha, por darme la posibilidad de hacer este Trabajo de Fin de Grado. También me gustaría agradecer a Alicia, que ha sido una parte indispensable para que este trabajo saliese adelante, estando ahí todo el rato con toda la paciencia del mundo y a Gloria, una gran amiga, por ayudarme con el inglés.

Por último, me gustaría dar las gracias a mis padres, en especial a mi madre, a quien le dedico este TFG. No ha podido verme entrar al Grado, pero siempre fue mi pilar fundamental y quien siempre luchó para que yo pudiese estudiar. Si hoy estoy entregando esto es más por ella que por mí.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción.....	3
Capas de dispersión acústica.....	4
Cómo se estudia la DSL	6
Estudios de la DSL en Canarias	10
Objetivos	13
Material y métodos	13
Resultados	18
Según la abundancia por taxones	19
Según la abundancia total	22
Discusión	23
Según la abundancia por taxones	23
Según la abundancia total	24
Conclusión.....	25
Conclusion.....	26
Bibliografía.....	27

Resumen

La capa de reflexión profunda (DSL) alberga la mayor biomasa del planeta y constituye un recurso trófico importante para muchas especies de depredadores marinos. Sin embargo, el gran desconocimiento sobre la DSL dificulta definir su papel ecológico. El presente estudio contribuye a su conocimiento con un estudio de abundancia y la diversidad de los organismos de la DSL de las aguas de Tenerife y El Hierro, utilizando un sistema de vídeo submarino de bajo coste largado hasta 600 m de profundidad desde el barco de 6m Punta Ballena de la ULL. Se realizaron 12 muestreos para obtener grabaciones antes del ocaso, durante la migración hacia la zona epipelágica de la DSL y después del ocaso. Las imágenes se analizaron con el software MotionMeerkat para la detección semi-automatizada de organismos, realizándose visualizaciones para calibrar falsos positivos y falsos negativos. Se detectaron 971 organismos de meso y macrofauna, de los que un 29'15% pudo ser identificado taxonómicamente. Se realizaron análisis estadísticos para investigar diferencias en la comunidad mesopelágica entre estaciones y periodo día/noche, que no resultaron significativas. Estos resultados concuerdan con los estudios de pescas anteriores y sugieren que es necesario continuar investigando métodos de muestreo más exhaustivos para caracterizar adecuadamente la DSL.

Palabras clave: DSL, DVM, cámara, mesopelágico, migración

Abstract

The Deep Scattering Layer (DSL) is the largest biomass of the planet and constitutes an important trophic resource for many species of marine predators. However, the scarcity of data about the DSL impedes defining its ecological role. This study contributes to the knowledge of the DSL performing a pilot study of the abundance and diversity of organisms of the DSL off Tenerife and El Hierro (Canary Islands). For this we used a low-cost video system deployed up to 600 m depth from a 6m boat, Punta Ballena, of ULL. We performed 12 samples before and after sunset, covering the circadian migration of the DSL. Images were analyzed with software MotionMeerkat for a semiautomatic detection of organisms, with visualizations to calibrate false positive and negative detections. We detected 971 organisms of meso and macrofauna, of which 29'15% could be identified taxonomically. Statistical tests did not show significant differences in the studied organisms of the mesopelagic community between seasons or between day and night periods. These results are consistent with previous results from fishing and suggest that is necessary to continue researching more exhaustive sampling methods to characterize adequately the DSL.

Keywords: DSL, DVM, camera, mesopelagic, migration

Introducción

Aproximadamente un 71% de la superficie de la Tierra lo ocupan los océanos, los cuales tienen una profundidad media de unos 3800 metros. El volumen total del medio marino proporciona unas 300 veces más espacio para la vida de lo que puede aportar la tierra y el agua dulce (Lalli & Parsons, 1993). Además, el océano profundo (definido como el que se encuentra por debajo de los 200 metros de profundidad) representa el 95% de la biosfera de este, convirtiéndose así en el bioma más grande del planeta (Snelgrove, 2016; Sweetman *et al.*, 2017; Chatzievangelou *et al.*, 2021). Es esta gran capacidad para albergar vida y el misterio y desconocimiento, así como los recursos, que nos ofrece el medio marino lo que ha hecho que el ser humano haya estado siempre interesado en conocer su funcionamiento.

En la columna de agua se puede encontrar el dominio epipelágico (hasta dónde llega la luz solar, de 0-200 m), el mesopelágico (de 200 a 1000 m de profundidad), el batipelágico (entre 1000-4000 m), el abisopelágico (de los 4000 a los 6000 m) y el hadopelágico que se encuentra por debajo de los 6000 m (Lalli & Parsons, 1993; Lincoln *et al.*, 1998; Castro & Huber, 2007; Kingsford, 2018). Si bien, la mayor parte de la biodiversidad y biomasa marina se encuentra comprendidas entre las capas epi- y mesopelágicas (Fig. 1). En el océano profundo se encuentran animales de diversos filos que suelen tener órganos emisores de luz (fotóforos) debido a que se encuentran en una zona donde apenas o directamente no llega esta, además de otras determinadas estructuras adaptadas a estas condiciones tales como bocas alargadas, aletas dorsales modificadas u ojos tubulares (Marshall, 1955, 1971; Helfman *et al.*, 2009). En lo que respecta a los animales mesopelágicos, son dominantes los crustáceos (krill, copépodos, carídeos, ostrácodos, anfípodos...), los cefalópodos, el zooplancton gelatinoso (medusas, ctenóforos, sifonóforos...) y peces comúnmente mictófidios y gonostomátidos (Castro & Huber, 2007; Cochran *et al.*, 2019).

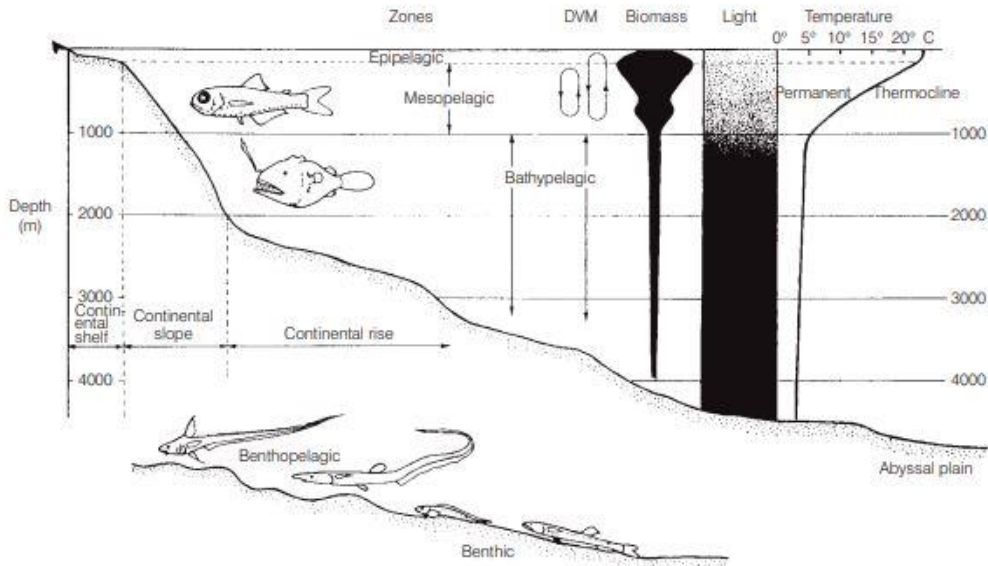


Figura 1. Zonación marina y distribución de los organismos marinos (Marshall, 1971).

Durante la II Guerra Mundial se empezó a usar el sónar en los buques. Este, que envía pulsos de ondas de sonido para que reboten y así identificar objetos, puso de manifiesto la existencia de una serie de “falsos fondos” o capas. Fue entonces cuando se descubrió la capa de dispersión acústica profunda y con ello, la migración vertical diaria de los animales mesopelágicos (Castro & Huber, 2007). Esto se debe a que las estructuras corporales de estos organismos marinos tienen densidades diferentes a la del agua, por lo que producen dispersión acústica (Kloser *et al.*, 2002; Ariza *et al.*, 2016). Estas estructuras resonantes son, en mayor parte, las vejigas natatorias, especialmente de los mictófidis, las cuales son altamente resonantes y al ser estos muy numerosos en el océano profundo, dificultan el estudio de la huella acústica de otros organismos (Godø *et al.*, 2009; Yasuma *et al.*, 2009). También los neumatóforos de los sifonóforos producen gran dispersión acústica (Silguero & Robison, 2000; Davison *et al.*, 2015) y otros órganos llenos de gas (Kloser *et al.*, 2002)

Capas de dispersión acústica

Se han encontrado principalmente dos capas de dispersión acústica en el océano. Por un lado, la capa de dispersión superficial (*shallow scattering layer*, conocida por sus siglas en inglés como SSL) que ocurre en el dominio epipelágico (0-200 m) y por otro lado, la capa de dispersión profunda (*deep scattering layer*, o por sus siglas en inglés DSL) que

ocurre en el dominio mesopelágico (200-1000 m) y la cual puede subdividirse en varias capas según la región del mundo (Ariza *et al.*, 2016). Los organismos que forman estas capas realizan un movimiento sincronizado hacia la superficie y capas más profundas de la columna de agua, constituyendo así lo que se ha definido como migración vertical diaria (*diel vertical migration*, DVM) (Brierley, 2014). Esta migración, producida por una gran variedad de especies de zooplancton y micronecton, se realiza al atardecer en ascenso, y al amanecer en descenso (Dietz, 1948; Eyring *et al.*, 1948) (Fig. 2). El por qué se produce el DVM ha sido ampliamente discutido desde que se conoce, llegando finalmente a unas tres hipótesis, todavía discutidas, pero aceptadas hasta el momento por la comunidad científica (Mehner, 2012). La primera de ellas se debería a la eficiencia bioenergética, “caza en caliente, reposa en frío”, ya que permanecer a más profundidad, es decir, en aguas más frías, disminuye el gasto metabólico. (Sims *et al.*, 2006). La segunda de ellas tendría que ver con las oportunidades de alimentación, ya que en diversos estudios en agua dulce (Janssen & Brandt, 1980; Eshenroder *et al.*, 1998) los depredadores siguen a sus presas que también migran entre capas. La tercera sería por la evitación de depredadores epipelágicos, ya que en las horas de luz es más fácil ser visto por ellos y por eso estos organismos se alimentarían en capas más superficiales en horas de oscuridad (Clark & Levy, 1988; Scheuerell & Schindler, 2003). Existen más hipótesis de por qué se produce esta migración, pero las tres mencionadas son las más aceptadas en la comunidad científica. También cabe destacar que los organismos se encuentran en diferentes profundidades según sus intereses lumínicos (Badcock, 1979) y reaccionan ante cambios atmosféricos que afecten a la intensidad de la luz como, por ejemplo, eclipses solares (Backus *et al.*, 1963; Blaxter & Currie, 1967).

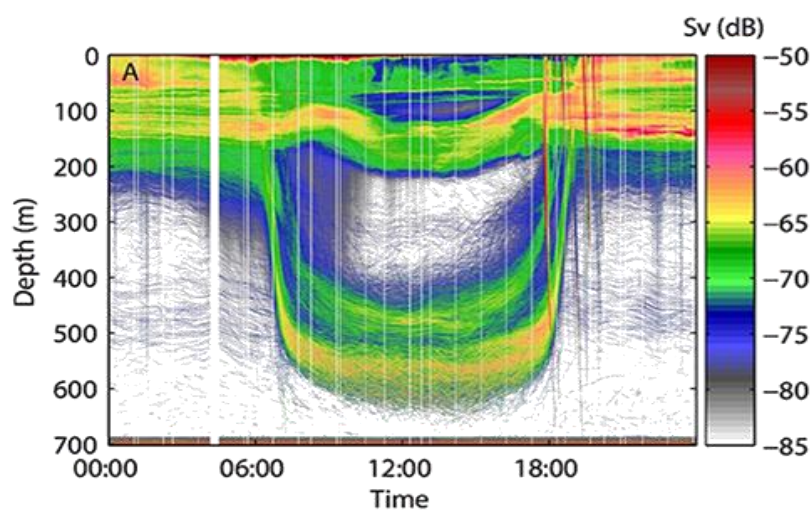


Figura 2. Datos acústicos de la migración vertical diaria (DVM) en el Mar Rojo (Calleja *et al.*, 2018).

Cómo se estudia la DSL

Como se mencionó con anterioridad, fue con el desarrollo de los sónares en los buques y gracias a los ecogramas obtenidos, con los que se descubrió la DSL (Castro & Huber, 2007). Pero solo con este registro acústico no se podía estudiar de la mejor forma posible ni la abundancia ni la diversidad de esta capa. Entonces, se empezaron a desarrollar diversas técnicas clásicas de muestreo directo. La primera red creada específicamente para el estudio de la DSL fue la llamada “red de Tucker”, se desarrolló en California (Tucker, 1951) y consistía en una red muy sencilla de boca rectangular con plomos en la parte inferior para hundirla. A la derecha, registrador de profundidad unido a ella (Fig. 3 y 4).

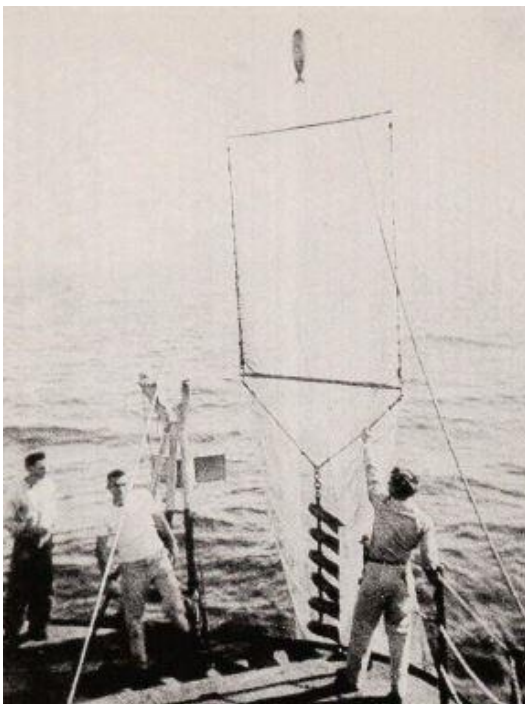


Figura 3 y 4. A la izquierda, red con registrador de profundidad en la parte superior y plomos en la parte inferior para hundirla. A la derecha, registrador de profundidad (Tucker, 1951).

Posteriormente se empezó a mejorar lo que había propuesto Tucker en 1951 y surgieron los sistemas de multired como la red MOCNESS (*Multiple Opening/Closing Net and Environmental Sensing System*) (Wiebe *et al.*, 1976, 1985) que es un sistema que es controlado remotamente desde el buque oceanográfico para abrir y cerrar diferentes redes a diferentes profundidades de muestreo. Con ella se pudo estudiar tanto el

macrozooplancton como el microzooplancton y el micronecton. Un sistema también muy parecido a este, de abertura y cierre, es MultiNet[®] (Hydro-Bios, Kiel, Germany) (Fig. 5).

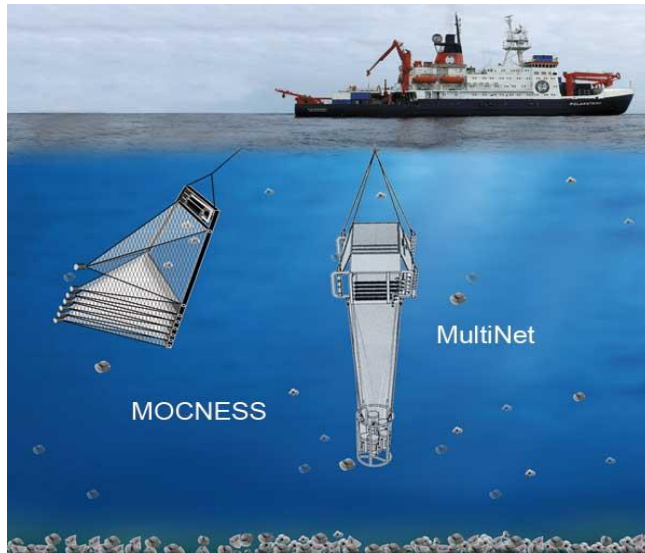


Figura 5. Sistema MOCNESS (Wiebe *et al.*, 1976, 1985) y MultiNet[®] (Hydro-Bios, Kiel, Germany).

(Graphics: Erika Mackay, photo of *Polarstern*: Peter Wiebe, WHOI)

Otra red muy empleada para la captura de organismos mesopelágicos que componen las capas de reflexión acústica es la llamada IKMT (Isaacs-Kit Midwater Trawl). Es la red más usada para grandes capturas de macrozooplancton y micronecton y su funcionamiento consiste en que un depresor mantiene la boca de la red abierta, que a la vez ayuda a que pueda mantenerse en grandes profundidades (Fig. 6).

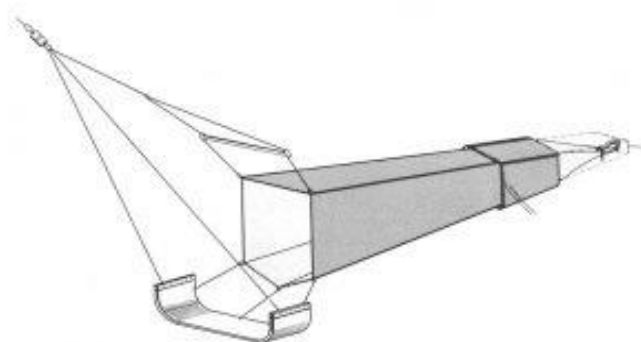


Figura 6. Red IKMT (Isaacs-Kit Midwater Trawl). En la imagen se puede observar el depresor que mantiene la boca de la red abierta.

Todos los métodos de muestreo con redes tienen sesgos en sus capturas, es decir, no capturan toda la diversidad presente en las capas muestreadas, debido a diferentes factores como la capacidad de evasión de los diferentes grupos y especies, sus capacidades visuales, entre otras. La velocidad de arrastre de las redes es un factor importante para evitar estas evasiones, si bien todos los sistemas de red son considerados lentos, al operar a pocos nudos de velocidad (3-5 knts). Es por ello por lo que en la actualidad además de sistemas de pesca con redes, se están utilizando otros tipos de sistemas o combinación de ellos, junto con las redes.

En la actualidad, se están desarrollando otros métodos más novedosos para el estudio de la diversidad y abundancia de los organismos que viven en profundidad *in situ*, como la toma de imágenes en vídeo o sistemas que combinan ecosondas y vídeos.

Un ejemplo de ello es el sistema Medusa (Ocean Research & Conservation Association, ORCA) (Widder, 2013). Con un sistema con cámara que puede operar hasta a 2000 metros de profundidad, y con un señuelo óptico llamado e-Jelly, se ha grabado por primera vez a un calamar gigante (Fig. 7).

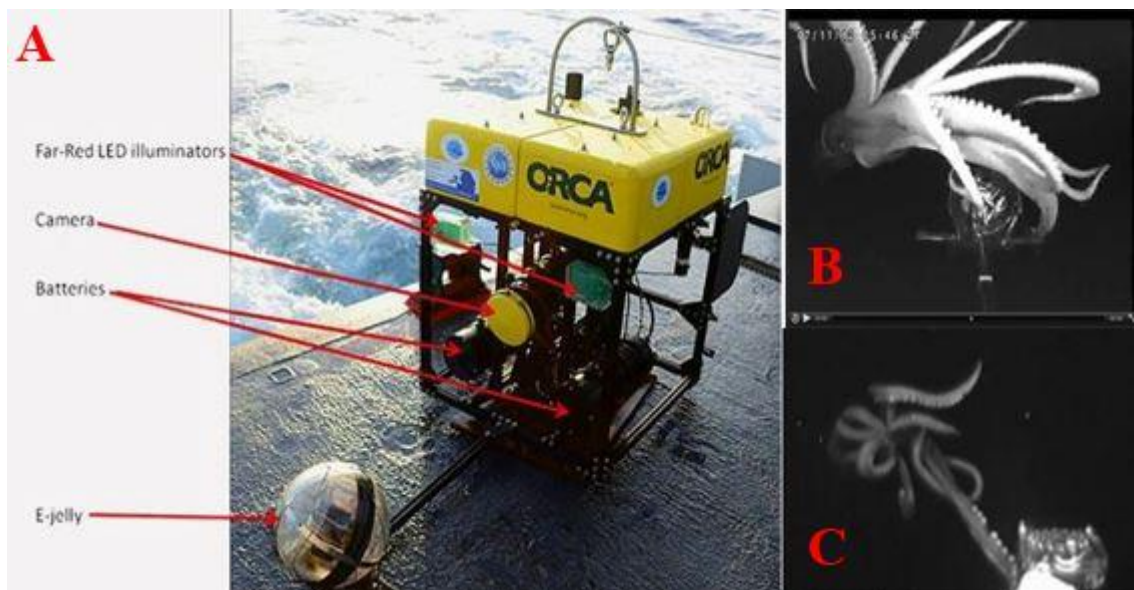


Figura 7. A: Sistema Medusa de ORCA (Widder, 2013). B y C: imágenes captadas en profundidad de un calamar gigante (*Architeuthis dux*) en aguas del golfo de México.

Otro ejemplo es Drifcam, una plataforma de cámara lagrangiana autónoma de bajo costo y muy fácilmente portátil que es controlada por computadoras integradas. Es capaz de sondear hasta profundidades de 1500 m, y en combinación con una ecosonda sirvió para estudiar *in situ* la fauna de las capas de dispersión acústica de la cuenca del Golfo de California, México (Berkenpas *et al.*, 2017) (Fig. 8).

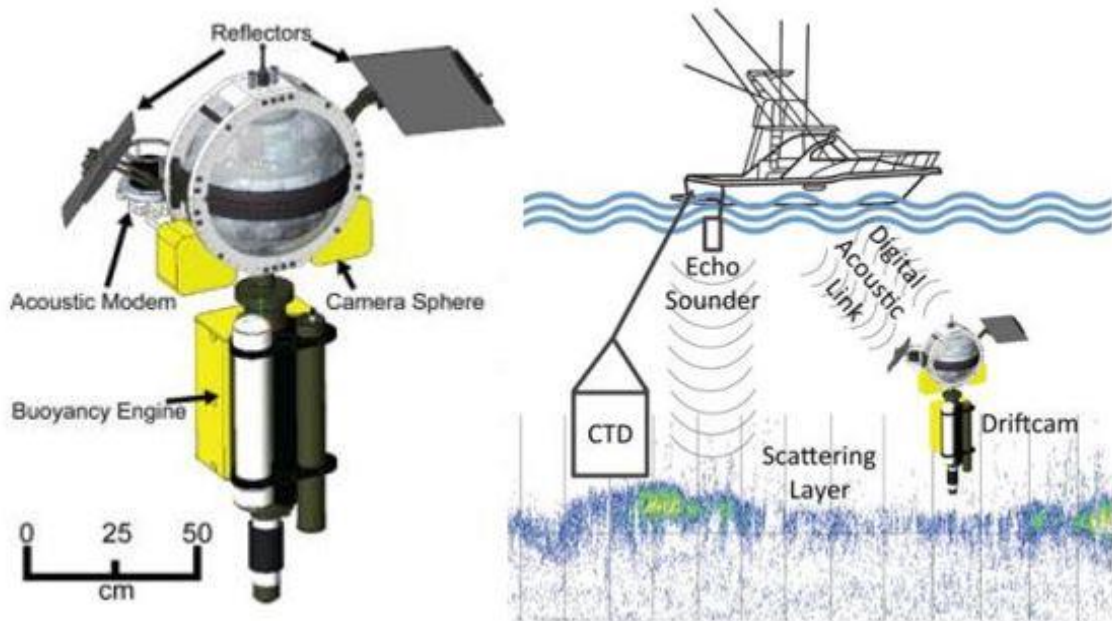


Figura 8. A la izquierda, diseño de Drifcam. Está conformada por una esfera de vidrio que alberga la cámara, las luces y la electrónica que la controla. Los reflectores proporcionan luz al campo de visión de la cámara. El módem acústico proporciona información digital a la superficie y el motor de flotabilidad ofrece locomoción vertical y estabilidad de profundidad. A la derecha, se puede observar el sistema desplegado con la información complementaria de la ecosonda y CTD para caracterizar las propiedades hidrográficas de la columna de agua (Berkenpas *et al.*, 2017).

Existen más ejemplos, pero por último se puede nombrar uno de los más modernos, MESOBOT (Yoerger *et al.*, 2018). MESOBOT es un vehículo robot submarino autónomo que es capaz de seguir a organismos mesopelágicos con movilidad lenta (Fig. 9). Para este seguimiento, porta cámaras estéreo además de una cámara de vídeo y fotografía de alta calidad y luces. Además, lleva propulsores y un sistema de flotabilidad variable (Fig. 10 y 11).

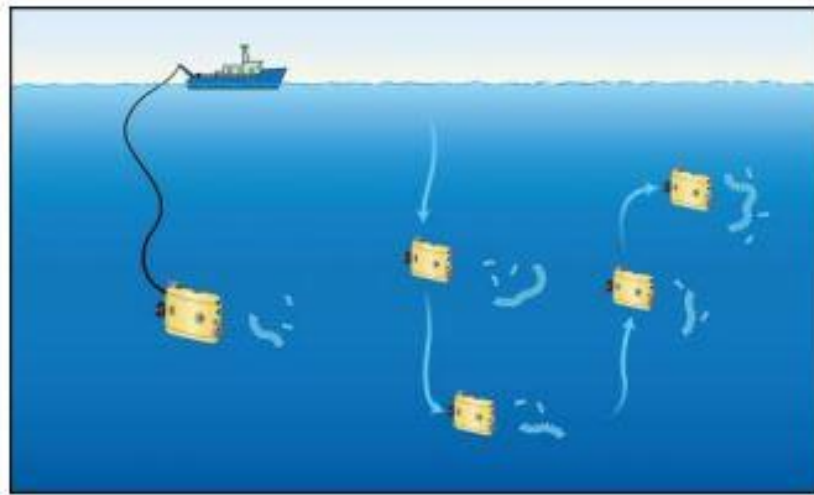


Figura 9. Despliegue de MESOBOT. Al principio es controlado desde el barco oceanográfico, hasta que encuentra un objetivo y empieza a operar de forma autónoma (Yoerger *et al.*, 2018)

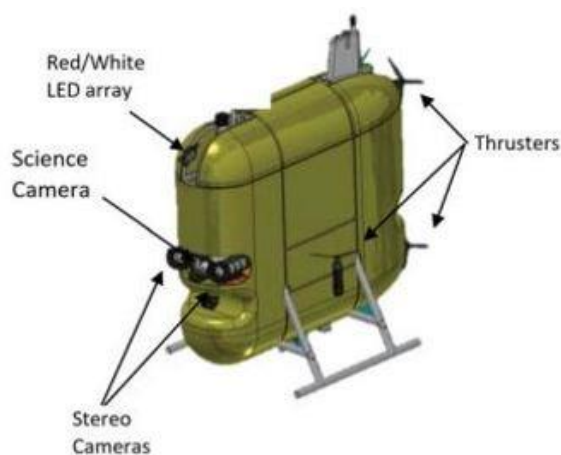


Figura 10 y 11. A la izquierda, esquema de MESOBOT con sus partes indicadas. A la derecha, MESOBOT real desplegado en el agua (Yoerger *et al.*, 2018).

Estudios de la DSL en Canarias

Los primeros estudios de la DSL y DVM en las Islas Canarias se llevaron a cabo durante la campaña oceanográfica SOND de 1965, que se realizó en aguas de la isla de Fuerteventura (Foxton, 1969; Currie *et al.*, 1969), lo que supuso entonces el mayor estudio de organismos migradores, como cefalópodos (Clarke, 1969), peces (Badcock, 1970) y crustáceos decápodos (Foxton, 1970a, 1970b) y eufausiáceos (Baker, 1970) hasta los 1000 m de profundidad. Más adelante, con la mejora de la tecnología tanto acústica como de muestreo directo, se pudieron llevar a cabo estudios más detallados. Durante

siete campañas entre 1997 y 2002, donde se realizaron pescas de arrastre con una red de media agua comercial en profundidades comprendidas entre 8 y 1035 m, Bordes *et al.* (2009) describió la composición de peces, cefalópodos y crustáceos que conformaban las diferentes capas acústicas detectadas. Así, determinó que dentro de los peces meso- y batipelágicos capturados, más de la mitad pertenecieron a la familia Gonostomidae y Myctophidae concretamente especies como *Cyclothone brauberi* (Gonostomidae), *Hygophum hygomii* y *Lobianchia dofleini* (Myctophidae) fueron las más abundantes. Por otro lado, dentro de los cefalópodos las familias con mayor número de ejemplares fueron Enoploteuthidae y Pyroteuthidae y en los crustáceos decápodos Oplophoridae dónde fueron dominantes la especie *Oplophorus spinosus* y la familia Sergestidae.

Posteriormente en 2012, con estudios acústicos más detallados empleando la combinación de ecosondas científicas operando a 18 kHz y 38 kHz, se observaron tres capas siendo dos de ellas muy densas, una entre 400 y 500 m (lo que se definió como DSL1) y otra entre 500 y 600 m (DSL2), situándose una capa de menor densidad en la franja de 600 a 800 m (DSL3) y observándose una cuarta capa muy débil en entre 800 y 1000 (DSL4) (Ariza *et al.*, 2016) (Fig. 12). En la DSL1 se encontró que el mayor responsable de la dispersión acústica de esta zona era *Vinciguerria* spp. y *Lobianchia dofleini* (Kloser *et al.*, 2002; Ariza *et al.*, 2016) y en la DSL2 el citado anteriormente *C. brauberi* y otros peces migradores (como *Hygophum hygomii*) y decápodos (como *Oplophorus spinosus*) (Badcock & Merret, 1976; Ariza *et al.*, 2016). De acuerdo con Badcock y Merret (1976), *C. brauberi* es una especie no migradora que siempre permanece en la misma profundidad, en este caso entre 500 y 600 m. A partir de los 600 m, en la DSL3 la reflexión acústica se reduce, pero se observa también DVM y las capturas evidenciaron que esta franja estaba dominada por *Cyclothone microdon* además de decápodos que no producen resonancia (como *Sergestes* spp.). Para la DSL4 (800-1000 m) apenas se registra dispersión acústica (Ariza *et al.*, 2016) y esto podría deberse a la atrofia de la vejiga natatoria de los peces que viven a dichas profundidades (Badcock & Merret, 1976; Kloser *et al.*, 2002). Por último, Ariza *et al.* (2016) concluyen que todas estas capas se encontraban en la zona epipelágica al anochecer.

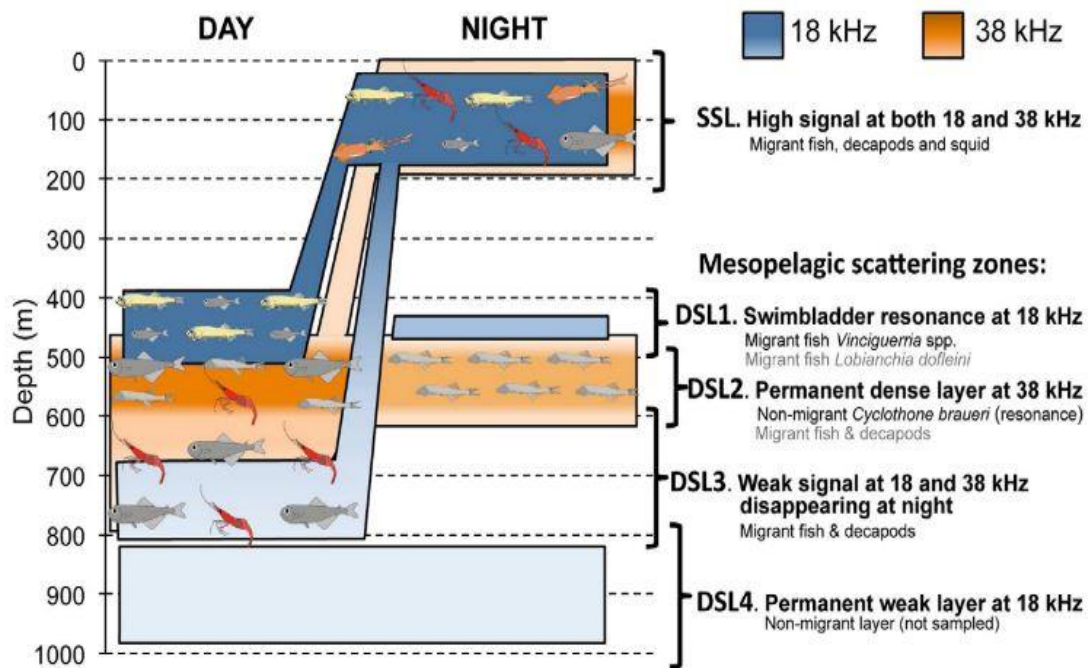


Figura 12. Distribución de los animales migradores en la SSL y DSL, con estudios acústicos a 18 y 38 kHz en aguas de Tenerife y La Palma. El azul (18 kHz) y el naranja (38kHz) se observan más intensos si se produjo mayor resonancia y menos intenso si fue más débil. Se muestran los organismos dominantes en negrita y en gris los secundarios (Ariza *et al.*, 2016).

Todos estos estudios tienen en común que son costosos en cuanto al precio de la propia tecnología y por requerir buques de un gran tamaño para el largado de grandes equipamientos, además de porque normalmente las aguas profundas se encuentran lejos de la costa. Sin embargo, Canarias constituye un lugar idóneo de estudio de la DSL desde barcos de menor eslora, por la cercanía de aguas profundas a la costa y la presencia de zonas profundas en aguas encalmadas durante gran parte del año. Esto fue clave para el proyecto del Plan Nacional concedido a la ULL, DeepCom: “Comunidades biológicas de aguas profundas mesopelágicas de Canarias”, en el que se enmarca el presente Trabajo de Fin de Grado. En este proyecto se pretendió estudiar la composición de especies micro y macronectónicas de las capas de reflexión acústica con un sistema novedoso y de bajo coste, basado en la grabación de videos en profundidad, con el objetivo de evaluar su eficiencia y seguir ampliando el conocimiento sobre los organismos que habitan en la DSL en las Islas Canarias.

Objetivos

El objetivo de este proyecto es testar la eficacia de un nuevo sistema de grabación baroresistente de bajo coste para contribuir a caracterizar la diversidad y abundancia de las comunidades biológicas (micro y macronectónicas) que habitan en la DSL en las aguas de Tenerife y El Hierro a partir de imágenes de vídeo. Como objetivos específicos se pretende:

- Estudiar las posibles diferencias en composición y abundancia de organismos micro/macronectónicos de la DSL entre las islas de El Hierro y Tenerife.
- Estudiar las posibles diferencias en composición y abundancia de organismos de la DSL entre los periodos antes y después del ocaso, previa a la migración diaria vertical (DVM) y posterior a la finalización de la DVM.
- Estudiar las posibles diferencias en composición y abundancia de organismos de la DSL durante diferentes estaciones del año.

Material y métodos

Para el proyecto DEEPCOM se utilizó el barco PUNTA BALLENA de 6 metros de eslora, propiedad de la ULL, para estudiar las aguas profundas de Tenerife y El Hierro. Más concretamente, en Tenerife se estudió la zona comprendida entre Los Cristianos y Los Gigantes y en El Hierro el Mar de Las Calmas. Para la realización del estudio de las comunidades biológicas de la DSL se utilizó el sistema Delphis, creado por los investigadores del proyecto DEEPCOM y colaboradores de la Universidad de Auckland (Nueva Zelanda).

El sistema Delphis consta de un sistema automático de encendido y apagado tanto de la cámara de vídeo como del sistema de iluminación. Estos intervalos de encendido y apagado se programaron con un intervalo de 10 minutos de duración. El sistema de iluminación fue compuesto por dos focos laterales equipados con 3 luces LED blancas de 1200 lúmenes de potencia. Por otro lado, la cámara es de alta definición SONY RX0 instalada en el interior de una carcasa que es baroresistente a 1000 metros de profundidad, con una ventana frontal. También cabe destacar que el sistema Delphis fue equipado en su parte superior con una mini-ecosonda, Sonar-Tag de 1.5 MHz y 3.5° ángulo de salida de haz (Johnson & Tyack, 2003) para registrar datos acústicos in situ de los organismos

próximos al sistema (7 m) (Estos datos no fueron analizados en este TFG). Además, el sistema fue equipado con estabilizadores para mantener una dirección fija respecto a la corriente dominante una vez desplegado en la columna de agua (Fig. 13).

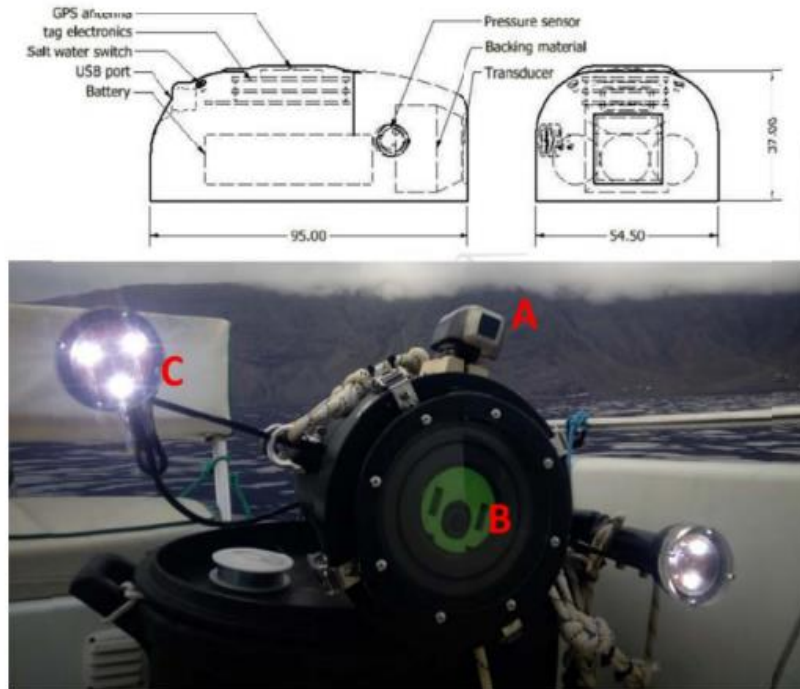


Figura 13: Prototipo del sistema Delphis. A: Mini-ecosonda Sonar-Tag (Johnson & Tyack, 2003). B: Lente y ventana de la cámara de vídeo. C: Sistema de iluminación con tres leds blancos.

El sistema también cuenta con dos sistemas de grabación autónomos tipo SoundTrap 300, que graban el sonido ambiente, situados a una profundidad de 50 y 600 m respectivamente. Estos se encuentran en el mismo cable que sujeta al sistema Delphis (Fig. 14) (Datos no analizados en este TFG). Simultáneamente desde la embarcación se registró la presencia de las principales capas de reflexión acústica profundas presentes en las zonas de estudio mediante una ecosonda científica portátil SIMRAD EK80 equipada con transductores de 18 y 200 kHz operando a 500 μ s de intervalo de pin (Fig. 15). Durante el muestreo del sistema Delphis e hidroacústico se registró la posición del barco mediante un GPS integrado en la ecosonda. Para bajar y subir a profundidad el sistema Delphis se utilizó un virador eléctrico Northlift 300H (Fig. 16).

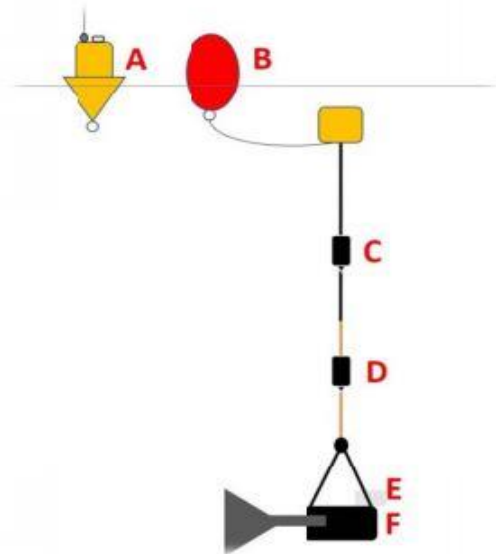


Figura 14. Esquema del despliegue del sistema Delphis. A: Boya con radiobaliza VHF y sistema de GPS. B: Boya de sujeción. C: Hidrófono Soundtrap a 50 m de profundidad. D: Hidrófono Soundtrap a 600 m de profundidad. E: Mini-ecosonda Sonar-Tag (Johnson y Tyack, 2003). F: Carca baro-resistente con cámara HD.

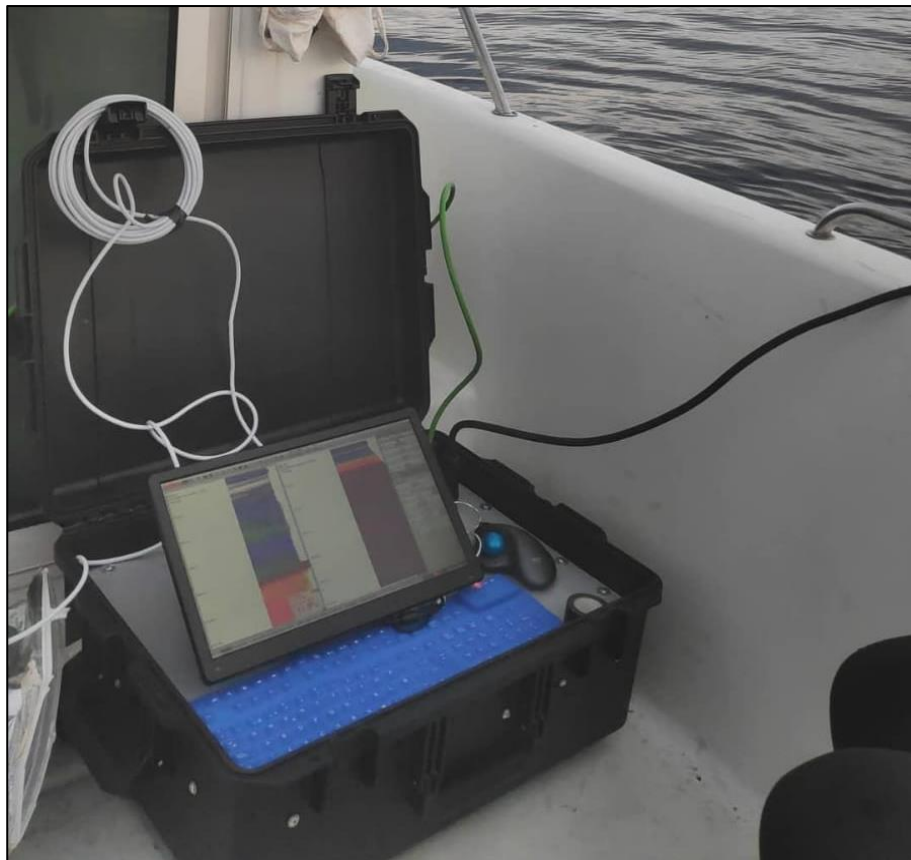


Figura 15. Ecosonda portátil SIMRAD EK80 en funcionamiento en una campaña.

Las campañas se realizaron al atardecer y en la misma fase de la luna siempre que fue posible (menguante) o bien al amanecer en luna creciente, siempre garantizando que la luna no estaba sobre el horizonte durante el muestreo, y así eliminar el efecto de su iluminación. Se realizó un diario de barco para registrar los participantes en la campaña, los datos relativos a lugar (y coordenadas), fecha, hora (salida y llegada a puerto, hora de inicio y final de cada parte del sistema, además de la hora en la que atardecía) y ambiente y apuntes de circunstancias que ocurriesen en el momento y que pudieran afectar al estudio.



Figura 16. Virador eléctrico Northlift 300H para bajar y subir el sistema Delphis.

Por otro lado, fue necesario hacer las campañas en diferentes estaciones del año y antes y después del atardecer para poder obtener datos grabados de la migración de la DSL. También para comprobar la variación y la abundancia de esta capa se hicieron lances a 50 metros de profundidad (somero) y a 600 metros (profundo). Además, como el estudio se realizó en aguas de Tenerife y El Hierro, también se hizo una comparativa entre estas.

Una vez fueron recogidos los datos en campo se analizaron los vídeos con distintos programas. Con el software de MotionMeerkat (Weinstein, B. G., 2015), se obtuvieron imágenes de los organismos en el tiempo de encendido de la cámara de grabación (10 minutos encendido, 10 minutos apagado) ya que este detecta movimiento (Figura 17 y 18). Todos los vídeos fueron ajustados con los mismos parámetros en el programa.

Estos parámetros eran: el movimiento del organismo, en el que dependiendo de la velocidad de los animales que se vayan a estudiar había que ponerlo más alto o bajo (valores de 0 a 5, donde 0 es para organismos más lentos y 5 para más rápidos) y en este caso se concordó poner un valor de 2. El mismo valor se puso para el parámetro superior, que hacía referencia a cuántas imágenes ofrece el programa del evento ocurrido, a mayor valor el programa es menos sensible al movimiento por lo que da menos fotogramas y viceversa. Por tanto, se puso este valor porque se relaciona con el movimiento del organismo. Se marcó un valor de 0.1 como tamaño mínimo del recuadro de color rojo.

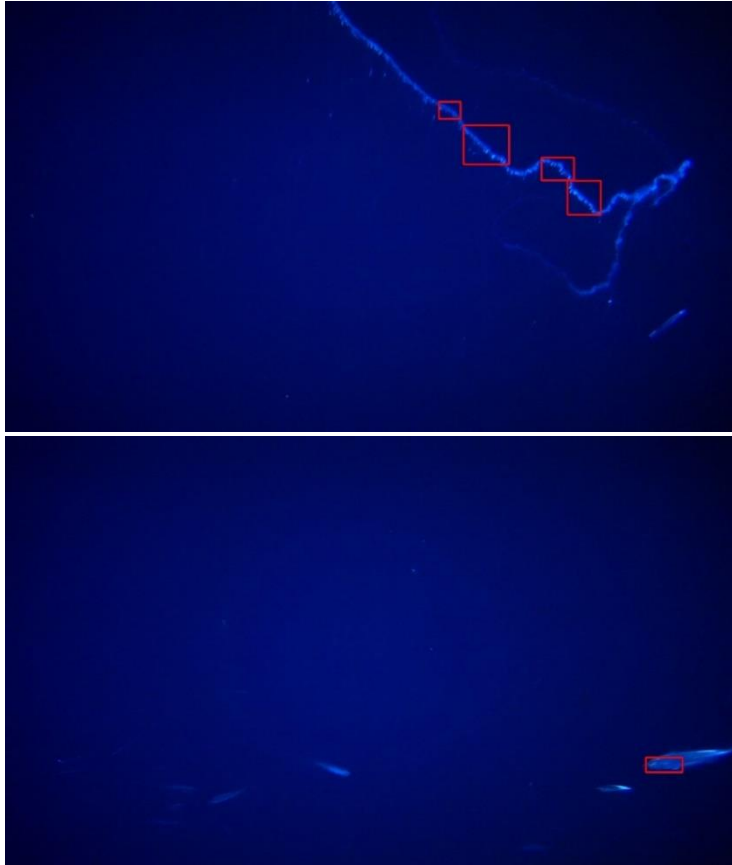


Figura 17 y 18: Sifonóforo (arriba) y banco de peces (abajo) en grabaciones de diferentes campañas. Imágenes obtenidas de los análisis con MotionMeerkat (Weinstein, B. G., 2015).

Por otro lado, se marcó la opción MOG ya que esta opción era la más precisa y ofrecía resultados más consistentes, al dar menos falsos positivos en organismos detectados que ACC. La casilla de Adapt, que hacía referencia a la relación de fotogramas que se espera que tengan eventos de movimiento para un promedio adaptativo, se seleccionó aunque se ha comprobado que si no se marcaba no existían diferencias. Draw Motion Objects resultó muy útil ya que situaba el recuadro rojo antes nombrado en los organismos detectados. La opción de Delay se fue modificando según el vídeo ya que tenía la función de eliminar los primeros minutos de vídeo, los cuales, usualmente, eran desde el barco mientras se ajustaba la cámara. Tanto a Scan Video como a Remove Singles se les asignó un valor de 0, ya que el primero servía para saltar imágenes y el segundo para eliminar los fotogramas con objetos de movimiento transitorio. Por último, se puso la opción de Frames, para que diera las imágenes del evento en el vídeo.

Además, este programa ofreció un Excel con el minuto en el que se encuentra cada imagen en el vídeo, el nombre de esta y las coordenadas. Con todo esto, se realizó otro Excel recogiendo estos datos, determinando el evento (ya que solían ser varias imágenes del movimiento del organismo detectado) y el taxón del animal, en caso de que pudiera

ser identificable, a nivel de filo u otro en la medida de lo posible, además de la hora en la que se grabó en el mar. Esto último sirvió para determinar qué organismos son de antes del atardecer o de después. También este archivo contuvo datos del vídeo tales como los parámetros ajustados en el programa, las imágenes analizadas, los eventos contabilizados, etc.

De las imágenes así analizadas se extrajo el número de organismos por minuto observado para cada vídeo. Estos se clasificaron en función del periodo del muestreo en que se realizaron, antes del ocaso o después, así como por la estación del año, la isla y la profundidad de muestreo (600 m o 50 m), aunque finalmente solo se estudiaron los factores referidos a la estación y antes o después del atardecer. Para explorar las posibles diferencias en la abundancia relativa de organismos observados o en la composición de organismos (taxones) se realizaron análisis multivariantes de ordenación como nMDS y cluster, así como también se analizaron análisis de similitud (ANOSIM) para testear posibles agrupaciones de las muestras (vídeos) en función de parámetros como el periodo de muestreo (antes o después del ocaso), estación del año e isla de muestreo. Para el análisis de la existencia de diferencias en la abundancia relativa de organismos totales entre los periodos antes y después del ocaso se procedió a realizar una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis a un nivel de significación $p=0,05$. Para los análisis estadísticos multivariantes se utilizó el programa PRIMER-e (Clarke & Gorley, 2006) y para la prueba de U de Mann-Whitney (Mann & Whitney, 1947) y la de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) se utilizó el programa SPSS (IMB Corp, 2017).

Resultados

Con un total de 12 muestreos ocurridos durante el atardecer que se dividieron según fueron antes o después del ocaso, quedando en total 21 análisis y cuyos factores eran lugar (19 análisis de Tenerife y 2 de El Hierro), antes o después del atardecer (10 antes, 11 después), estación (9 en verano, 7 en otoño, 2 en invierno y 3 en primavera) y profundidad (19 profundo, 2 somero) se realizaron dos matrices. En la primera de ellas, se agrupó la cantidad de organismos detectados según su clase taxonómica y se dividió entre el tiempo de duración del tramo del análisis, y en la segunda se utilizó el total de organismos detectados (incluidos los que no se pudieron taxar y quedaron como indefinidos) y se dividió entre el tiempo de duración del tramo del análisis.

En total se contabilizaron 971 organismos, de los cuales 283 pudieron taxarse, lo que supone un 29'15% de organismos clasificados en los taxones antes nombrados.

Según la abundancia por taxones

Se pudo a llegar a nivel de clase en el análisis de las imágenes proporcionadas por MotionMeerkat (Weinstein, B. G., 2015). Se encontraron un total de 5 clases: Actinopterygii, Scyphozoa, Hydrozoa, Malacostraca y Cephalopoda y se dejó un grupo en subfillo como “Otros crustáceos” que no eran malacostráceos pero no se pudo determinar de qué clase eran.

Primero se realizó un cluster de similitudes mediante matriz de distancia de Bray Curtis para observar la similitud en abundancia de organismos por taxón en los 21 análisis de vídeo según el factor Before/After y Estación:

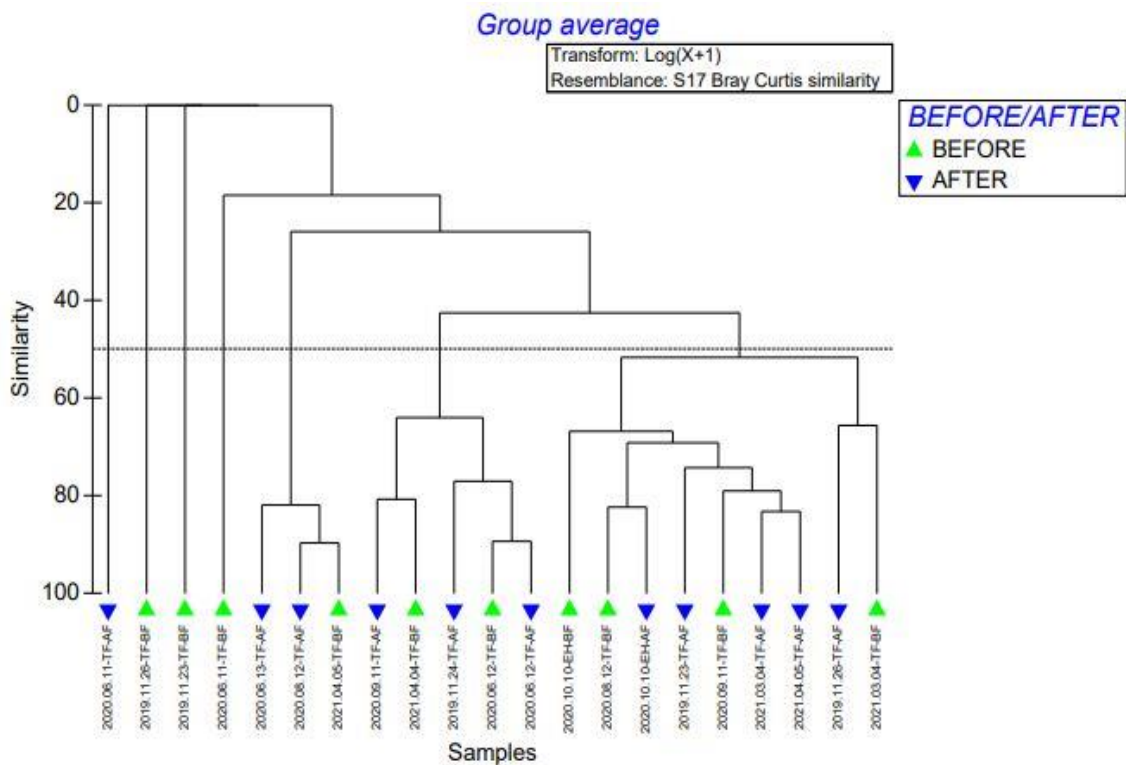


Figura 19.1. Cluster de similitudes mediante matriz de distancia de Bray Curtis cuyos datos previamente fueron transformados en un Log(X+1) según el factor Before/After (antes o después del atardecer).

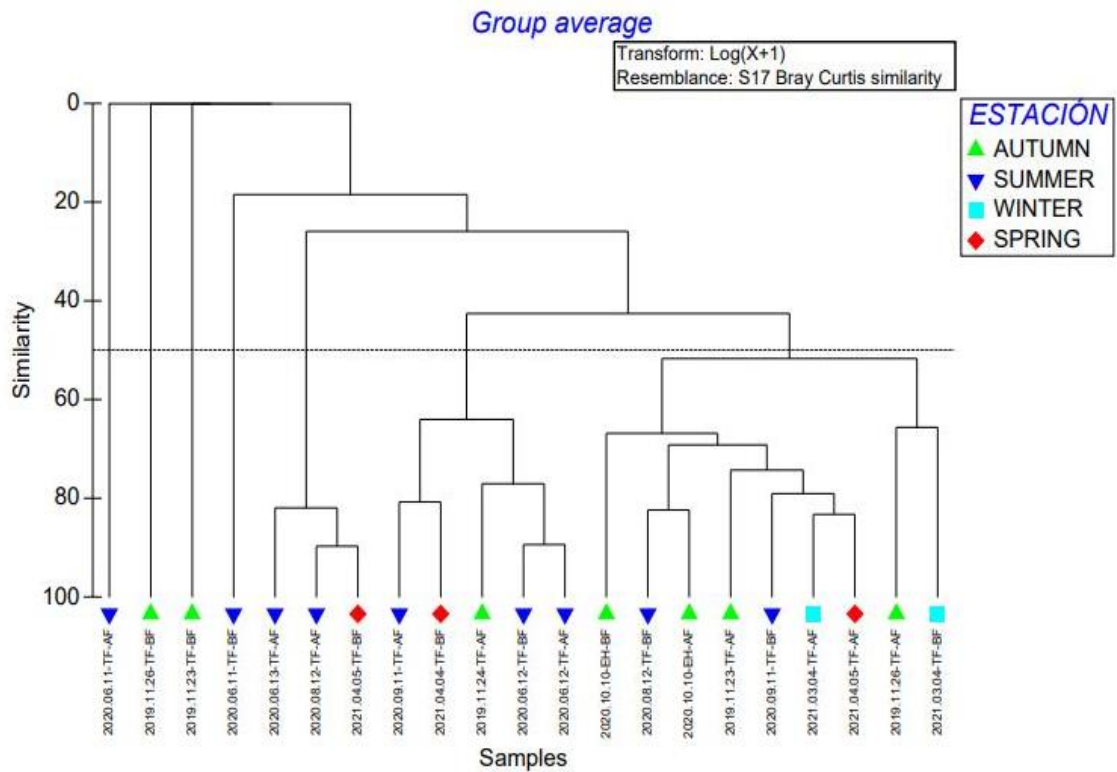


Figura 19.2. Mismo análisis pero para el factor Estación.

También se realizó un análisis multivariante MDS para observar cómo se agrupaban los vídeos:

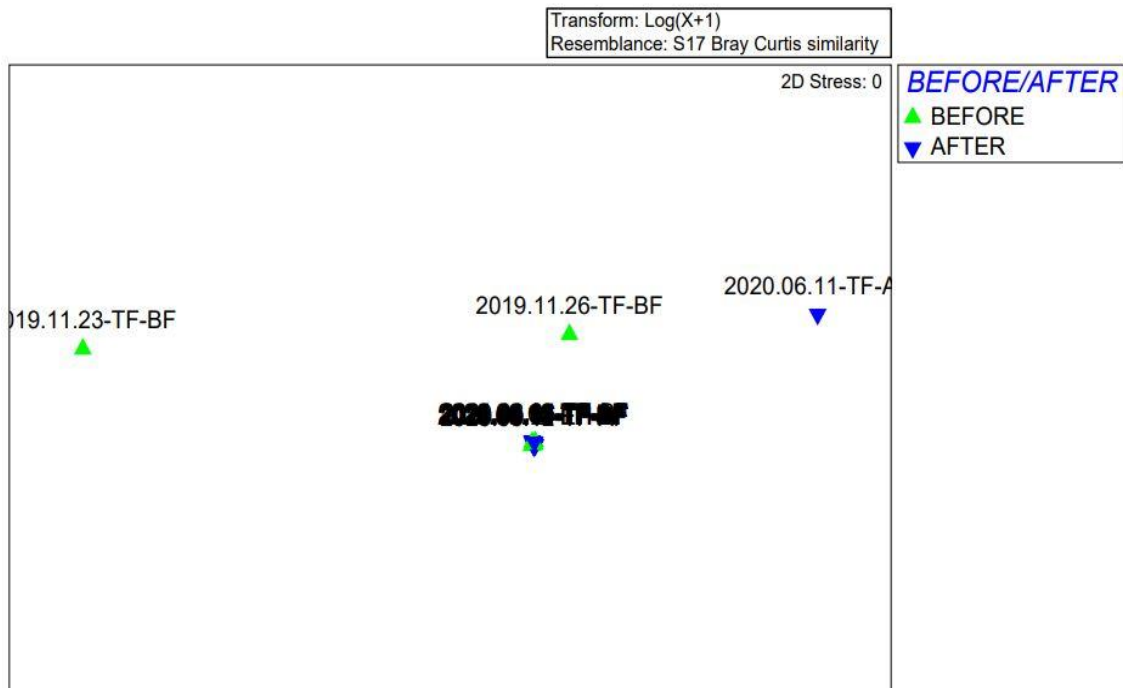


Figura 20.1. Análisis multivariante MDS en el que se observan las similitudes de los vídeos según el factor Before/After.

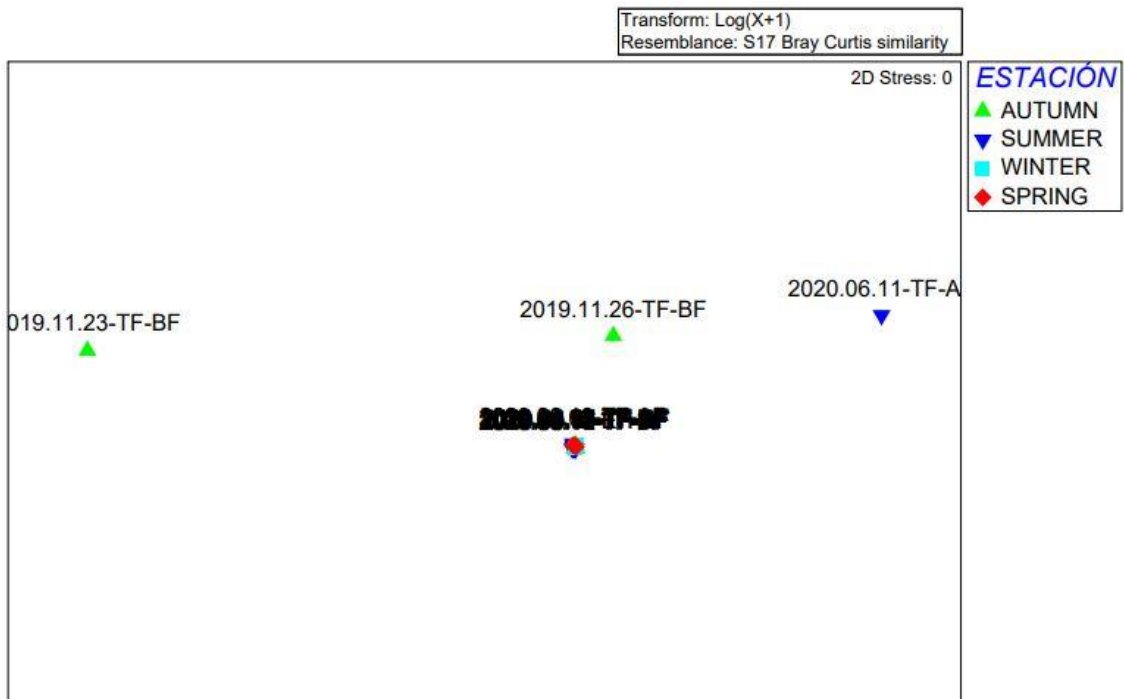


Figura 20.2. Mismo análisis MDS para el factor Estación.

Se observa que los vídeos analizados son similares en cuanto a su composición faunística y solo tres de ellos parecen diferenciarse del grupo, por lo que se realiza un análisis PCA para ver por qué organismos son los que marcan esta diferencia en estos vídeos.

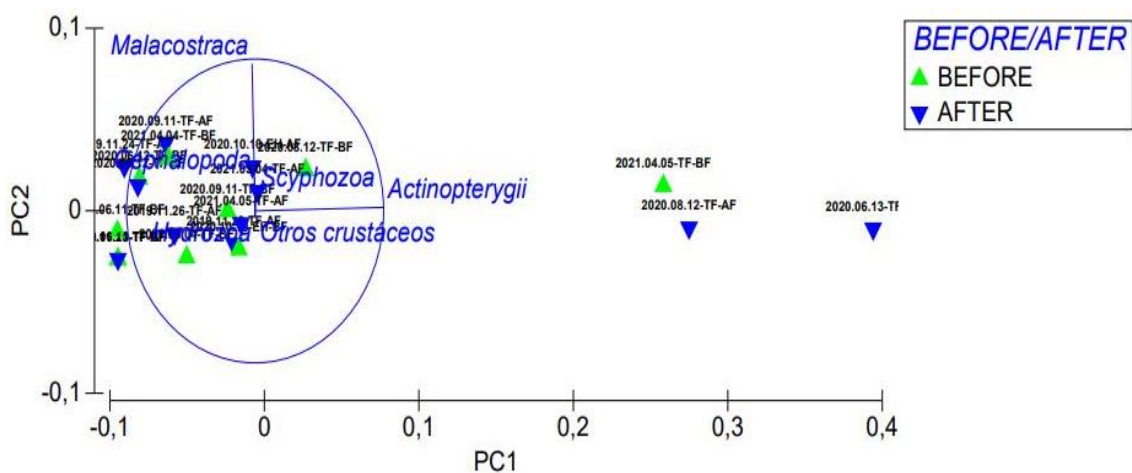


Figura 21.1. Gráfica PCA para los vídeos analizados teniendo en cuenta el factor Before/After.

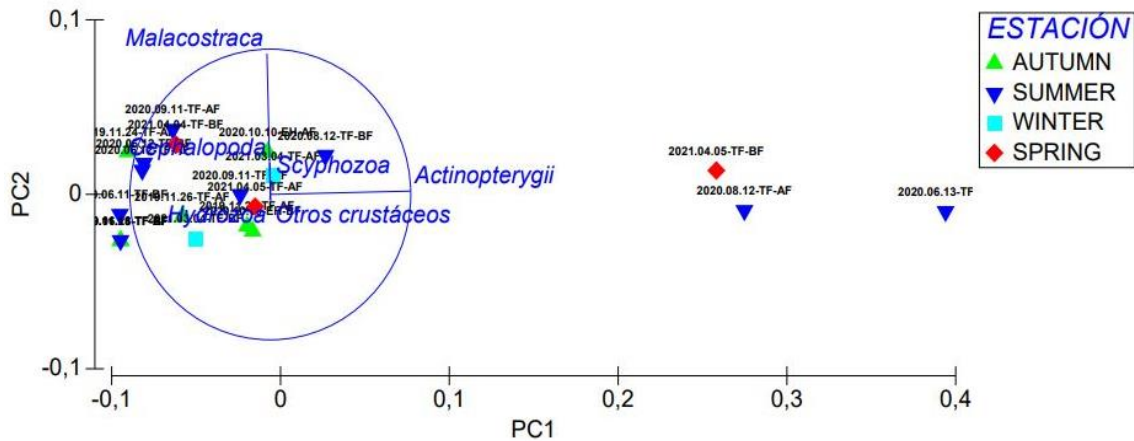


Figura 21.2. Gráfica PCA para los vídeos analizados con factor Estación.

En el análisis de principales componentes, los vídeos quedan explicados en un 96'6% por Actinopterygii (PC1) seguido de Malocostraca en un 2'3% (PC2).

Tabla 1.1 ANOSIM para comprobar diferencias en el factor Before/After. Two-Way Nested Analysis

TESTS FOR DIFFERENCES BETWEEN BEFORE/AFTER GROUPS (across all ESTACIÓN groups)
Sample statistic (Global R): 0,046
Significance level of sample statistic: 31,6%
Number of permutations: 999 (Random sample from 13230)
Number of permuted statistics greater than or equal to Global R: 315

Tabla 1.2. ANOSIM para comprobar diferencias en el factor Estación. Two-Way Nested Analysis.

TESTS FOR DIFFERENCES BETWEEN ESTACIÓN GROUPS (using BEFORE/AFTER groups as samples)
Sample statistic (Global R): 0,188
Significance level of sample statistic: 21,9%
Number of permutations: 105 (All possible permutations)
Number of permuted statistics greater than or equal to Global R: 23

Según la abundancia total

Para la abundancia total se realizó una prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney (Mann & Whitney, 1947) para comprobar las medias según el factor Before/After y una

prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) para el factor Estación.

Para el factor Before/After se obtuvo:

Tabla 2.1 Se muestra significaciones asintóticas. Valor de significación de 0,05.

Hip. nula	Prueba	Sig.	Decisión
La distribución de abundancia de organismos es la misma entre las categorías de Before/After	Prueba de U Mann-Whitney para muestras independientes	1,000	Retener la hipótesis nula

Para el factor Estación:

Tabla 2.2. Se muestran significaciones asintóticas. Nivel de significación de 0,05.

Hip. nula	Prueba	Sig.	Decisión
La distribución de abundancia de organismos es la misma entre las categorías de Estación	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	0,112	Retener la hipótesis nula

Discusión

Según los datos obtenidos en abundancia por taxones y total:

Según la abundancia por taxones

Para el cluster de similitudes mediante matriz de Bray Curtis se obtuvo que todos los vídeos eran similares excepto los tres primeros que aparecen en la gráfica, tanto para el factor Before/After como para el factor Estación. Estos vídeos ocurren en diferentes días de muestreo y uno se corresponde al factor After y dos a Before, y en el resto de los vídeos no se observa diferencias si es ocurrido antes o después del atardecer. Ocurre lo mismo con el factor Estación, siendo los 3 mismos vídeos los que se diferencian del resto y sin mostrar un patrón diferencial entre estaciones.

El análisis multivariante MDS reafirma lo obtenido en los clusters antes mencionados, donde se forma un grupo, para ambos factores, y se diferencian los tres mismos vídeos.

En el análisis de componentes principales (PCA) se puede observar por qué organismos queda mejor explicado cada vídeo. En un 96,6% quedan explicados por Actinopterygii, seguido de Malacostraca con un 2,3%, que sumado explicaría un 98,9% de las grabaciones obtenidas.

Según la abundancia total

Para el factor Before/After se realizó una prueba U de Mann-Whitney (Mann & Whitney, 1947) para comprobar la heterogeneidad de las dos muestras. Con un valor de significancia máximo (1,000), se retuvo la hipótesis nula, por lo que se concluyó que no existen diferencias significativas entre la abundancia de organismos de las grabaciones obtenidas antes y de las grabaciones obtenidas después del ocaso.

Por otro lado, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) para probar si existía diferencia entre la abundancia en los muestreos ocurridos en verano, otoño, invierno y primavera. La prueba concluyó en retener la hipótesis nula, por lo que no existen diferencias significativas entre la abundancia de animales en las distintas estaciones del año.

Se observa que el sistema Delphis presenta mejores resultados en el estudio de la macrofauna. Para el estudio de especies más pequeñas, resulta complicado determinar incluso la clase del animal, y esto se debe no solo a su tamaño, si no a la rapidez del movimiento y al propio movimiento del agua. Si se compara con sistemas de bajo coste como el propuesto por *Berkenpas et al.* (2017), parece que el sistema Delphis se encuentra un escalón por debajo, ya que Driftcam obtiene imágenes en mejor calidad. Por otro lado, Driftcam (*Berkenpas et al.*, 2017) y MESOBOT (*Yoerger et al.*, 2018) son sistemas autónomos que circulan en la verticalidad de la columna de agua, lo que puede ser más interesante para estudiar la DVM. También respecto al sistema lumínico, podría ser una opción utilizar algún atrayente como *Widder* (2013) u optar por unos reflectores como *Berkenpas et al.* (2017) que solo iluminen el campo de visión de la cámara, ya que esto puede ser un factor que haga que no se estén acercando muchos organismos.

Conclusión

No se observan diferencias entre los organismos detectados antes y después del amanecer ni tampoco en las distintas estaciones del año. Por otro lado, que en el análisis de componentes principales se haya concluido que en casi su totalidad los vídeos recogidos se explican con la presencia de peces, no parece algo concluyente. Muchos organismos quedaron como indeterminados, puesto que la calidad del vídeo no era del todo buena y no se podía llegar a taxar ni siquiera a nivel de clase. Los organismos de pequeño tamaño suponían un reto aún mayor, por ello es probable que los peces, con un movimiento característico y de mayor tamaño, sean más fáciles de taxar con lo que propone el sistema Delphis, por lo que puede ser un sesgo más que una realidad, si bien es cierto que Ariza et al. (2016) con estudios acústicos registra que la DSL2 (500-600 m) está dominada por *C. brauberi* (entre 3 y 4 cm de tamaño) y la DSL3 (600-800) no existen datos suficientes de resonancia, pero por capturas parece que domina *C. microdon* (7-8 cm).

Por tanto, para seguir estudiando la DSL en Canarias con un sistema de grabación como este, sería interesante seguir mejorando el sistema Delphis y realizar más campañas a lo largo del año, también en la isla de El Hierro, que no se pudo poner como factor, al igual que el de profundidad, debido a los pocos datos que había. Sería interesante aplicar algunas mejoras en el sistema de iluminación así como la cámara de vídeo.

Conclusion

There are no differences between the organism detected before and after dawn, nor at the different seasons of the year. On the other hand, even if the analysis of major components has concluded that almost entirely the collected videos are explained with the presence of fish, it does not seem to be conclusive. Many organism were left as unspecified, since the quality of the video was not too good and they could not be deciphered even at the class level. The smallest organism were an even greater challenge therefore fish, with a characteristic movement and bigger size, are likely to be easier to identify with the Delphis system, so it can be a bias rather than a reality, although it is true that Ariza *et al.* (2016) with acoustic studies registers that DSL2 (500-600 m) is dominated by *C. brauveri* (size 3-4 cm) and DSL3 (600-800 m), there is not enough resonance data but by catches it seems that *C. microdon* (size 7-8 cm) dominates.

Accordingly, to continue studying DSL in the Canary Islands with a recording System like this, it would be interesting to continue improving the Delphis System and carry out more campaigns throughout the year, also on the island of El Hierro, that could not be put as a factor as well as the depth because of the limited data. It would be interesting to apply some improvements to the lighting system as well as a video camera.

Bibliografía

- Ariza, A., Landeira, J. M., Escáñez, A., Wienerroither, R., Aguilar de Soto, N., Røstad, A., ... Hernández-León, S. (2016). Vertical distribution, composition and migratory patterns of acoustic scattering layers in the Canary Islands. *Journal of Marine Systems*, 157, 82–91.
- Backus, R., Clark, R. & Wing, A. (1963). Behaviour of Certain Marine Organisms During the Solar Eclipse of July 20. *Nature* 205, 989–991 (1965).
- Badcock, J. (1970). The vertical distribution of mesopelagic fishes collected on the SOND cruise. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 50(4), 1001-1044.
- Badcock, J. (1979). The hatchetfish genus *sternoptyx* (Pisces, Stomiadoidei). *Fishery Bulletin*, 77(4), 803.
- Badcock, J., & Merrett, N. R. (1976). Midwater fishes in the eastern North Atlantic—I. Vertical distribution and associated biology in 30 N, 23 W, with developmental notes on certain myctophids. *Progress in Oceanography*, 7(1), 3-58.
- Baker, A. D. C. (1970). The vertical distribution of euphausiids near Fuerteventura, Canary Islands ('Discovery' SOND cruise, 1965). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 50(2), 301-342.
- Berkenpas, E. J., Henning, B. S., Shepard, C. M., Turchik, A. J., Robinson, C. J., Portner, E. J., ... & Gilly, W. F. (2017). A buoyancy-controlled lagrangian camera platform for in situ imaging of marine organisms in midwater scattering layers. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*, 43(3), 595-607.
- Blaxter, J. H. S., & Currie, R. I. (1967). The effect of artificial lights on acoustic scattering layers in the ocean. In *Symposia of the Zoological Society of London* (Vol. 19, pp. 1-14).
- Bordes, F., Wienerroither, R., Uiblein, F., Moreno, T., Bordes, I., Hernández, V., & Caballero, C. (2009). Catálogo de especies meso y batipelágicas. Peces, moluscos y crustáceos. Colectadas con arrastre en las Islas Canarias durante las campañas realizadas a bordo del B/E "La Bocaina". *Instituto Canario de Ciencias Marinas*.
- Brierley, A. S. (2014). Diel vertical migration. *Current Biology*, 24(22), R1074-R1076.
- Calleja, M. L., Ansari, M. I., Røstad, A., Silva, L., Kaartvedt, S., Irigoien, X., & Morán, X. A. G. (2018). The mesopelagic scattering layer: a hotspot for heterotrophic prokaryotes in the Red Sea twilight zone. *Frontiers in Marine Science*, 5, 259.
- Castro, P. y Huber, M. (2007). *Biología Marina*. McGraw-Hill. Interamericana.
- Chatzievangelou, D., Bahamon, N., Martini, S., del Rio Fernandez, J., Riccobene, G., Tangherlini, M., ... & Aguzzi, J. (2021). Integrating diel vertical migrations of bioluminescent deep scattering layers into monitoring programs. *Frontiers in Marine Science*, 8, 615.
- Clark, C. W., & Levy, D. A. (1988). Diel vertical migrations by juvenile sockeye salmon and the antipredation window. *The American Naturalist*, 131(2), 271-290.
- Clarke, M. R. (1969). Cephalopoda collected on the SOND cruise. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 49(4), 961-976.
- Clarke, K. R., & Gorley, R. N. (2006). Primer. *PRIMER-e, Plymouth*.
- Cochran, J. K., Bokuniewicz, H. J., & Yager, P. L. (2019). *Encyclopedia of Ocean Sciences*. Academic Press.
- Currie, R. I., Boden, B. P., & Kampa, E. M. (1969). An investigation on sonic-scattering layers: the RRS 'Discovery' SOND Cruise, 1965. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 49(2), 489-514.
- Davison, P. C., Koslow, J. A., & Kloser, R. J. (2015). Marine science. *Nature*, 278(5699), 97.

- Dietz, R. S. (1948). Deep scattering layer in the Pacific and Antarctic Oceans. *Journal of marine research*, 7:430-442.
- Eshenroder, R. L., Argyle, R. L., & TeWinkel, L. M. (1998). Evidence for buoyancy regulation as a speciation mechanism in Great Lakes ciscoes.
- Eyring, C. F., Christensen, R. J., & Raitt, R. W. (1948). Reverberation in the sea. *The Journal of The Acoustical Society of America*, 20(4), 462-475.
- Foxton, P. (1969). SOND cruise 1965 biological sampling methods and procedures. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 49(3), 603-620.
- Foxton, P. (1970). The vertical distribution of pelagic decapods [Crustacea: Natantia] collected on the Sond Cruise 1965 I. The Caridea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 50(4), 939-960.
- Foxton, P. (1970). The Vertical Distribution of Pelagic Decapods [Crustacea: Natantia] Collected on the Sond Cruise 1965 II. The Penaeidea and General Discussion. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 50(4), 961-1000.
- Godø, O. R., Patel, R., & Pedersen, G. (2009). Diel migration and swimbladder resonance of small fish: some implications for analyses of multifrequency echo data. *ICES Journal of Marine Science*, 66(6), 1143-1148.
- Helfman, G., Collette, B. B., Facey, D. E., & Bowen, B. W. (2009). The diversity of fishes: biology, evolution, and ecology. *John Wiley & Sons*.
- IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp
- Janssen, J., & Brandt, S. B. (1980). Feeding ecology and vertical migration of adult alewives (*Alosa pseudoharengus*) in Lake Michigan. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(2), 177-184.
- Johnson, M. P., & Tyack, P. L. (2003). A digital acoustic recording tag for measuring the response of wild marine mammals to sound. *IEEE journal of oceanic engineering*, 28(1), 3-12.
- Kingsford, M. John (2018, November 12). *Marine ecosystem*. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/marine-ecosystem>
- Kloser, R. J., Ryan, T., Sakov, P., Williams, A., & Koslow, J. A. (2002). Species identification in deep water using multiple acoustic frequencies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(6), 1065-1077.
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association*, 47(260), 583-621.
- Lalli, C., & Parsons, T. R. (1997). *Biological oceanography: an introduction*. Elsevier.
- Lincoln, R., G. Boxshall & P. Clark (1998): A dictionary of ecology, evolution and systematics. 2nd edition. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Mann, H. B., & Whitney, D. R. (1947). On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*, 50-60.
- Marshall, N. B. (1955). *Aspects of Deep-Sea Biology* by N. B. Marshall Published by Hutchinson's Scientific and Technical Publications, London. Pp. 380. Illustrated by Olga Marshall; with 5 coloured plates, and many black and white illustrations. Price 35\$. 1954. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 34(03), 652.
- Marshall NB. 1971. *Explorations in the life of fishes*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Mehner, T. (2012). *Diel vertical migration of freshwater fishes - proximate triggers, ultimate causes and research perspectives*. *Freshwater Biology*, 57(7), 1342-1359.
- Scheuerell, M. D., & Schindler, D. E. (2003). Diel vertical migration by juvenile sockeye salmon: empirical evidence for the antipredation window. *Ecology*, 84(7), 1713-1720.

- Silguero, J. M. B., & Robison, B. H. (2000). Seasonal abundance and vertical distribution of mesopelagic calycothoran siphonophores in Monterey Bay, CA. *Journal of Plankton Research*, 22(6), 1139-1153.
- Sims, D. W., Wearmouth, V. J., Southall, E. J., Hill, J. M., Moore, P., Rawlinson, K., ... & Morritt, D. (2006). Hunt warm, rest cool: bioenergetic strategy underlying diel vertical migration of a benthic shark. *Journal of Animal Ecology*, 75(1), 176-190.
- Snelgrove, P. V. (2016). An ocean of discovery: Biodiversity beyond the census of marine life. *Planta medica*, 82(09/10), 790-799.
- Sweetman, A. K., Thurber, A. R., Smith, C. R., Levin, L. A., Mora, C., Wei, C. L., ... & Thomsen, L. (2017). Major impacts of climate change on deep-sea benthic ecosystems. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 5.
- Tucker, G. H. (1951). Relation of fishes and other organisms to the scattering of under-water sound. *J. mar. Res.*, 10, 215-238.
- Weinstein, B. G. (2015). Motion M eerkat: integrating motion video detection and ecological monitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(3), 357-362.
- Widder, E. (2013). The Kraken Revealed The Technology Behind the First Video Recordings of Live Giant Squid. *Sea Technology*, 54(8), 47-54
- Wiebe, P. H., Burt, K. H., Boyd, S. H., & Morton, A. W. (1976). A multiple opening/closing net and environmental sensing system for sampling zooplankton. *J. mar. Res.*, 34(3), 313-326.
- Wiebe, P. H., Morton, A. W., Bradley, A. M., Backus, R. H., Craddock, J. E., Barber, V., ... & Flierl, G. D. 1. (1985). New development in the MOCNESS, an apparatus for sampling zooplankton and micronekton. *Marine Biology*, 87(3), 313-323.
- Yasuma, H., Sawada, K., Takao, Y., Miyashita, K., & Aoki, I. (2010). Swimbladder condition and target strength of myctophid fish in the temperate zone of the Northwest Pacific. *ICES Journal of Marine Science*, 67(1), 135-144.
- Yoerger, D. R., Curran, M., Fujii, J., German, C. R., Gomez-Ibanez, D., Govindarajan, A. F., ... & Breier, J. A. (2018, November). Mesobot: an autonomous underwater vehicle for tracking and sampling midwater targets. In *2018 IEEE/OES Autonomous Underwater Vehicle Workshop (AUV)* (pp. 1-7). IEEE.