



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Εφαρμογή ανάλυσης Fourier και Procrustes
για τον χαρακτηρισμό της μορφολογίας ελάσματος γηγενών
ποικιλιών της αμπέλου σε αντιδιαστολή με την κλασική
αμπελογραφική περιγραφή και την αμπελομετρία**

**Όνοματεπώνυμο
ΙΩΑΝΝΗΣ ΡΑΦΑΗΛΙΔΗΣ
Α.Μ.: 161090**

**Επιβλέπων/-ουσα
Όνοματεπώνυμο:**

Καθ. Ηλίας Κόρκας

ΑΘΗΝΑ, 2023



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA
SCHOOL OF FOOD SCIENCE
DEPARTMENT OF WINE, VINE AND BEVERAGE SCIENCES**

BACHELOR THESIS

**Application of Fourier and Procrustes analysis
for the characterization of the leaf lamina morphology of
grapevine native varieties in contrast to the classical
ampelographic description and ampelometry**

**Student name and surname
IOANNIS RAFAILIDIS
Registration Number: 161090**

**Supervisor
name and surname: Prof. Elias Korkas**

ATHENS, 2023



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΟΙΝΟΥ, ΑΜΠΕΛΟΥ ΚΑΙ ΠΟΤΩΝ**

ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Οι υπογράφοντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:
«Εφαρμογή ανάλυσης Fourier και Procrusters για τον χαρακτηρισμό της μορφολογίας
ελάσματος γηγενών ποικιλιών της αμπέλου σε αντιδιαστολή με την κλασική
αμπελογραφική περιγραφή και την αμπελομετρία»
και βεβαιώνουμε ότι γίνεται δεκτή.

Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα Καθηγητή (1^ο Μέλους Επιτροπής)	Καθ. Κόρκας Ηλίας
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (2^ο Μέλους Επιτροπής)	Δρ. Τάσκος Δημήτριος
Ψηφιακή Υπογραφή Καθηγητή (3^ο Μέλους Επιτροπής)	Αναπλ. Καθ. Μπανίλας Γεώργιος

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο κάτωθι υπογράφων Ραφαηλίδης Ιωάννης του Χρήστου, με αριθμό μητρώου 161090 φοιτητής του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της **Σχολής Επιστημών Τροφίμων του Τμήματος Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών** δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα
Ιωάννης Ραφαηλίδης



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το αμπέλι (*Vitis vinifera* L.) είναι μια από τις σημαντικότερες καλλιέργειες παγκοσμίως με περισσότερα από 7,3 εκατομμύρια εκτάρια. Μεταξύ των οργάνων του φυτού, τα φύλλα έχουν τα περισσότερα χαρακτηριστικά για τον χαρακτηρισμό των ποικιλιών.

Η ποικιλία των μορφολογιών των φύλλων αντανακλά την πολύπλευρη αλληλεπίδραση της γενετικής, της ανάπτυξης και του περιβάλλοντος. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το σχήμα των φύλλων αμπέλου μπορεί να ποσοτικοποιηθεί χρησιμοποιώντας ψηφιακές προσεγγίσεις που υποδεικνύουν φυλογενετικό σήμα στο σχήμα των φύλλων, ευδιάκριτα μοτίβα αναπτυξιακού πλαισίου μέσα σε μεμονωμένα φύλλα. Η ταυτοποίηση των ποικιλιών μπορεί να γίνει με διάφορες τεχνικές, όπως κατηγοριοποίηση βάση σχήματος, σχεδιασμός νευρώνων, μέτρηση τσαμπιού ή ράγας κ.ο.κ.

Σε αυτήν την εργασία εξετάστηκε μία μέθοδος, η οποία λειτουργεί με την τοποθέτηση ορόσημων στο κάτω μέρος του φύλλου, όπου βρίσκονται οι νευρώνες, η οποία εφαρμόστηκε σε εννέα γηγενείς ποικιλίες αμπέλου (Αθήρι, Ντεμπίνα, Κορινθιακή Λευκή, Μαλαμέζια, Πετρογούμαστος, Σαββατιανό, Σούρλα, Βλαχονικολής και Βρούσσα). Όλα τα φύλλα από έναν μόνο βλαστό συγκομίστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σαρωμένες εικόνες φύλλων για τη διεξαγωγή γενικευμένης ανάλυσης Procrustes και ελλειπτικής ανάλυσης Fourier.

Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι η ψηφιακή μορφομετρία είναι ένα ισχυρό εργαλείο για την αξιολόγηση της διακύμανσης του σχήματος των φύλλων μεταξύ των ποικιλιών αμπέλου, αλλά ταυτόχρονα εμφανίζονται περιορισμοί και σφάλματα.

Λέξεις κλειδιά: αμπέλι (*Vitis vinifera* L.), ταυτοποίηση ποικιλιών, φύλλα, σχήμα φύλλου, μορφολογία ελάσματος, μορφομετρία, ανάλυση Procrusters, ανάλυση Fourier, ορόσημα

ABSTRACT

Grapevine (*Vitis vinifera* L.) is one of the most important horticultural crops, cultivated worldwide on more than 7.3 million hectares. Among the organs, leaves have the most traits in the characterization of the varieties.

The diversity of leaf morphologies reflects the multifaceted interplay of genetics, development, and environment. Recent studies have demonstrated that grapevine leaf shape can be quantified using digital approaches which indicate phylogenetic signal in leaf shape, discernible patterns of developmental context within single leaves. There are a lot of identification methods of the grape varieties, such as categorization based on shape, neurons design, and bunch or berry measurement.

This work examined a method, which works by placing landmarks on the underside of the leaf, where the neurons are located, and applied it to nine native grape varieties (Athiri, Debina, White Corinthiki, Malamezia, Petrogoumastos, Savvatiano, Sourla, Vlahonikolis and Vroussa). All leaves from a single shoot were harvested and scanned leaf images were used to conduct generalized Procrustes analysis and elliptical Fourier analysis.

The results showed that digital morphometry is a powerful tool for evaluating leaf shape variation among grapevine varieties, but at the same time limitations and errors appear.

Keywords: grapevine (*Vitis vinifera* L.), variety identification, leaves, leaf shape, leaf lamina morphology, morphometrics, Procrustes analysis, Fourier analysis, landmark points

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	i
ABSTRACT	ii
1 Εισαγωγή και Σκοπός της Εργασίας	1
2 Μέθοδοι μετρήσεων και ταυτοποίησης φύλλων αμπελιού	3
2.1 Ψηφιακή μορφομετρία αμπελιών.....	4
2.2 Άλλα προγράμματα αναλύσεων.....	7
2.3 SuperAmpelo	8
2.4 Επικάλυψη Φύλλων	9
2.5 Αναλύσεις περιγράμματος σχήματος κουκουτσιών.....	10
2.6 Πυκνότητα τριχώματος φύλλων	11
3 Υλικά και Μέθοδοι	12
4 Αποτελέσματα & Συζήτηση	20
5 Συμπεράσματα	24
6 Βιβλιογραφία	26

1 Εισαγωγή και Σκοπός της Εργασίας

Το αμπέλι είναι ένα από τα πρώτα φυτά που καλλιεργήθηκαν με τόσο μεγάλη κατανάλωση του φρούτου, καθώς έχουμε την παραγωγή οίνου, επιτραπέζιων σταφυλιών, σταφίδας, μη αλκοολούχων ποτών, και αποσταγμάτων, με αποτέλεσμα να αποτελεί σημαντικό κριτήριο για την οικονομία και το εμπόριο. Ως ένα από τα σημαντικότερα φυτά, η μελέτη της αμπέλου αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την ποιότητα, ποσότητα και ανθεκτικότητα της πρώτης ύλης.

Στον κλάδο της αμπελομετρίας έχουν αναπτυχθεί αρκετοί μέθοδοι για την ταυτοποίηση των ποικιλιών της αμπέλου. Ως ταυτοποίηση ορίζεται η διαφοροποίηση και αναγνώριση ποικιλιών της αμπέλου βάση κοινών ή διαφορετικών χαρακτηριστικών. Μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους, κυρίως με την μέτρηση φύλλων, βλαστών, σταφυλιών ή γιγάρτων, μέσω αποστάσεων σημείων στο φύλλο (απόσταση νευρώνων ή γωνιών που σχηματίζονται στο φύλλο) με προγράμματα που λαμβάνουν ένα σύνολο μετρήσεων και που λήφθηκαν σε πραγματικό χρόνο με το ανθρώπινο μάτι (φωτογραφίες στον ηλεκτρονικό υπολογιστή) και επεξεργάζονται τα δεδομένα. Δύο από τις πιο κλασικές μεθόδους ταυτοποίησης αποτελούν οι αναλύσεις Fourier και Procrusters.

Η αμπελομετρία είχε και θα έχει μεγάλη χρησιμότητα στην σύγχρονη αμπελουργία και ειδικότερα στην αμπελουργία ακριβείας, καθώς μπορεί να εφαρμοστεί για την φύτευση σωστού υλικού (περίπτωση κλιματικής αλλαγής, για εδαφοκλιματικούς παράγοντες που επηρεάζουν διαφορετικά την κάθε ποικιλία και για την βελτίωση αντοχής ποικιλιών με τη σωστή διασφάλιση ειδών, ποικιλιών, υποκειμένων, ενάντια σε διάφορους παράγοντες (στρες και εχθρούς). Η σημασία της αμπελογραφίας αποδείχθηκε κατά τη διάρκεια της κρίσης της φυλλοξήρας στα τέλη του 19ου αιώνα στη Γαλλία. Τα πειράματα αναπαραγωγής και ο εμβολιασμός απαιτούσαν ακριβή γνώση της αμερικανικής και ευρωπαϊκής αμπέλου για να δημιουργηθούν τα υβριδικά αμπέλια. Φυσικά, η μοριακή γενετική δεν είχε ακόμη ανακαλυφθεί και τα φύλλα ήταν ένα εξέχον, διακριτικό φαινοτυπικό χαρακτηριστικό των αμπελιών.

Για την ταυτοποίηση ποικιλιών έχουμε επίσης, την μορφομετρία, που αποτελεί ένα σύνολο διαφορετικών μαθηματικών τεχνικών για τη μέτρηση της μορφολογίας. Οι κλασικές μορφομετρικές τεχνικές για τη μέτρηση του σχήματος είναι η αναλύσεις με ορόσημα. Τα ορόσημα είναι αντίστοιχα ομόλογα σημεία που βρίσκονται στα ίδια σημεία σε κάθε δείγμα και τα ψευδο-ορόσημα τοποθετούνται ανάμεσα σε αυτά τα ομόλογα σημεία για να δημιουργήσουν πιο συνεχείς αναπαραστάσεις καμπυλών και περιγραμμάτων (Chitwood et al,

2020). Εφόσον τα φύλλα της αμπέλου έχουν σταθερό αριθμό λοβών, κόλπων και άλλων αντίστοιχων σημείων, μπορούμε να εφαρμόσουμε αυτόν τον ισχυρό τύπο ανάλυσης. Η χρήση αναλύσεων που βασίζονται σε ορόσημα είναι προτιμότερη από άλλες μορφομετρικές τεχνικές, καθώς το κάθε σημείο αντιστοιχεί σε χαρακτηριστικό του κάθε φύλλου και μπορούν να αναγνωριστούν διαισθητικά και να ερμηνευτούν στο πλαίσιο του σχήματος του φύλλου.

Σκοπός της εργασίας είναι να κατηγοριοποιήσουμε τις γηγενείς ποικιλίες βάση φυλλώματος, να εξηγήσουμε τις δυσκολίες του πειράματος και να συμβάλλουμε στην εξέλιξη αυτών των τεχνικών μέσω των αποτελεσμάτων μας.

2 Μέθοδοι μετρήσεων και ταυτοποίησης φύλλων αμπελιού

Από πρόσφατες μελέτες έχουμε δει ότι το σχήμα των φύλλων της αμπέλου μπορεί να ποσοτικοποιηθεί χρησιμοποιώντας ψηφιακές προσεγγίσεις που υποδεικνύουν φυλογενετικό σήμα στο σχήμα φύλλου και ευδιάκριτα μοτίβα του αναπτυξιακού πλαισίου.

Κάθε φύλλο αμπέλου έχει έναν κεντρικό νευρώνα, δύο άνω νευρώνες, δύο κάτω νευρώνες και δύο προεξέχουσες νευρώνες που διακλαδίζονται από τους εγγύς νευρώνες που ονομάζονται μισχικοί, όπως φαίνεται παρακάτω σε ένα από τα φύλλα που φωτογράφησαμε (εικόνα 1).



Εικόνα 1: Συλλεγμένο φύλλο από τον αμπελώνα του Ινστιτούτου

Χρησιμοποιώντας το διατεταγμένο μοτίβο διακλάδωσης που απλώνεται από τους πρωτεύον νευρώνες που ορίζουν κάθε λοβό, μπορεί να οριστεί μια ιεραρχία καταμήκος του φύλλου. Χάρη την χωρική αντιστοιχία μεταξύ όλων των φύλλων αμπέλου επιτρέπονται εξελιγμένες μορφομετρικές προσεγγίσεις (Li et al, 2018). Αυτές οι προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί ιστορικά για τη διάκριση ειδών και ποικιλιών αμπέλου.

Για την δικιά μας εργασία, χρησιμοποιήσαμε δυο από τις πιο γνωστές μεθόδους ανάλυσης φύλλων, την Procrusters και την Fourier. Όμως, για την ταυτοποίηση ποικιλιών της

αμπέλου, έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι που αναλύουν και άλλα μέρη του αμπελιού, πέρα από τα φύλλα. Αλλά, ας ξεκινήσουμε με αυτές που χρησιμοποιήσαμε εμείς.

Μέθοδος Προκρούστη (Procrusters): αποτελεί μια μέθοδο σύγκρισης σχημάτων. Εφαρμόζεται σε δεδομένα ορόσημων που αντιπροσωπεύουν συγκεκριμένα παρόμοια σημεία του σχήματος, σε αυτήν την περίπτωση τους νευρώνες στο κάτω μέρος των φύλλων αμπέλου.

Μέθοδος Fourier: η χρήση ελλειπτικών περιγραφών Fourier (EFD), μετρά το σχήμα ως συνεχές κλειστό περίγραμμα και μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί όταν απουσιάζουν ομόλογα χαρακτηριστικά. Η ανάλυση EFD ξεκινά με μια μέθοδο συμπίεσης δεδομένων χωρίς απώλειες που ονομάζεται chain code, στην οποία η επάνω, κάτω, αριστερή, δεξιά και διαγώνια σχέση κάθε διαδοχικού pixel με το επόμενο καταγράφεται ως αλυσίδα αριθμών, 0-7, έτσι ώστε από αυτήν την αλυσίδα το κλειστό περίγραμμα μπορεί να αναπαραχθεί πιστά. Ο αλυσιδωτός κώδικας αποσυντίθεται με μια ανάλυση Fourier σε μια αρμονική σειρά που χρησιμοποιείται για να ποσοτικοποιήσει μια κατά προσέγγιση ανακατασκευή του σχήματος.

2.1 Ψηφιακή μορφομετρία αμπελιών

Στην παρακάτω εργασία χρησιμοποιήθηκε η ίδια μεθοδολογία που πραγματοποιήσαμε και εμείς για την ταυτοποίηση των φύλλων. Όλα τα φύλλα από έναν μόνο βλαστό συγκομίστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σαρωμένες εικόνες φύλλων για τη διεξαγωγή γενικευμένης ανάλυσης Procrustes, ανάλυσης γραμμικής διάκρισης (linear discriminant analysis) και ελλειπτικής (elliptical) ανάλυσης Fourier.

Τα σχόλια της μέτρησης ήταν ότι τα σχήματα των φύλλων εμφάνιζαν ειδικές για τον γονότυπο συνιστώσες και διακρίσεις ειδών σύμφωνα με τις ταξινομήσεις. Υπήρχε το πρόβλημα της διακύμανσης του σχήματος των φύλλων στους γονότυπους και μεταξύ των κλώνων εξ' αιτίας των τραυματισμών των φύλλων που προκαλείται από παράσιτα και παθογόνους που αλλάζουν τη μορφολογία των φύλλων. Οι σημαντικές τάσεις στη βλάβη των φύλλων που προκλήθηκαν από ασθένεια και προσβολή ήταν μη τυχαίες σε σχέση με τη θέση των φύλλων στο βλαστό.

Οι διεργασίες που ακολουθήθηκαν για να προσδιοριστεί η διακύμανση του σχήματος των φύλλων, είναι αρχικά η γενικευμένη ανάλυση Procrustes (GPA), μια μέθοδος σύγκρισης σχημάτων που κλιμακώνει εξίσου τα δεδομένα, δηλαδή τροποποιεί τα μεγέθη των φύλλων που πρόκειται να συγκριθούν, για να εξαλειφθούν οι επιπτώσεις διαφορετικών μεγεθών αντικειμένων, με αποτέλεσμα μια ανάλυση που εξετάζει τις διαφορές μόνο μεταξύ των σχημάτων.

Η ανάλυση προκρούστη εφαρμόζεται σε δεδομένα ορόσημα που αντιπροσωπεύουν ομόλογα σημεία σχήματος, σε αυτήν την περίπτωση σημαντικά χαρακτηριστικά των φύλλων αμπέλου. Εφαρμόστηκαν 17 σημεία ορόσημα σε κάθε φύλλο για να καταγραφούν λεπτομέρειες του περιγράμματος των φύλλων, όπως λοβοί και κόλποι (12 "εξωτερικά ορόσημα") και διάταξη φλεβών (5 "εσωτερικά ορόσημα"). Περισσότερα θα αναλυθούν αργότερα στην δική μας μέθοδο.

Στη συνέχεια, μέσω των ορόσημων, δημιουργήθηκαν βαθμολογίες (scores) 34 βασικών παραγόντων (PC principal component) για κάθε φύλλο και ποσοστιαία διακύμανση που εξηγείται από κάθε βασικό παράγοντα (principal component). Τα φύλλα στην συνέχεια οπτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τη «συνάρτηση shaperca». Η απεικόνιση των μέσων περιγραμμάτων σχήματος που εξήχθησαν από τις συντεταγμένες Procrustes για κάθε γονότυπο σχεδιάστηκαν χρησιμοποιώντας προσαρμοσμένα σενάρια R και στο πακέτο R ggplot2.

Προκειμένου να διερευνηθούν περαιτέρω οι διαφορές στο σχήμα των φύλλων εντός των γονότυπων, μεταξύ κλώνων των γονότυπων και μεταξύ των ειδών, πραγματοποιήθηκε ανάλυση γραμμικών διακρίσεων (LDA Linear Discriminants analysis) στα δεδομένα ορόσημα χρησιμοποιώντας το R. Το LDA είναι μια μέθοδος στατιστικής ταξινόμησης που χρησιμοποιείται για την αναγνώριση δυο ή περισσότερων κατηγοριών αντικειμένων από μια βάση δεδομένων.

Μια δεύτερη προσέγγιση που χρησιμοποιεί ελλειπτικούς περιγραφείς Fourier (EFDs) χρησιμοποιήθηκε για να εξετάσει τις διαφορές στο συνολικό σχήμα-περίγραμμα των φύλλων εντός και μεταξύ των γονότυπων και των ειδών.

Η ανάλυση Fourier ξεκινάει με την δημιουργία μιας κωδικής αλυσίδας κατά μήκος της περιμέτρου κάθε φύλλου για να δημιουργηθεί μια αρμονική σειρά.

Τα μεμονωμένα σαρωμένα φύλλα μετατράπηκαν σε δυαδικές εικόνες (δηλαδή, εικόνα μαύρου φύλλου σε λευκό φόντο) χρησιμοποιώντας προσαρμοσμένες μακροεντολές στο ImageJ για κωδικοποίηση αλυσίδας. Ορισμένα φύλλα ήταν κατεστραμμένα ή άρρωστα, με αποτέλεσμα να παραμορφώνονται τα σχήματα των φύλλων. Αυτά τα φύλλα αφαιρέθηκαν από το σύνολο δεδομένων EFD. Κάθε δυαδική εικόνα μετατράπηκε σε αλυσιδωτό κώδικα χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SHAPE v1.3.

Τα περιγράμματα κωδικών αλυσίδας μετατράπηκαν σε κανονικοποιημένα EFD για ανάλυση Fourier. Στο πακέτο R Momocs, η συνάρτηση «nef2coe» χρησιμοποιήθηκε για τη μετατροπή κανονικοποιημένων EFD σε αρμονικούς συντελεστές ή αντικείμενα «coe». Τα αντικείμενα «coe» αναλύθηκαν για διαφορές στο περίγραμμα του σχήματος των φύλλων

χρησιμοποιώντας PCA και οπτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τη συνάρτηση «dudi.plot». Για κάθε γονότυπο υπολογίστηκε ένα μέσο σχήμα περιγράμματος χρησιμοποιώντας τα «μέσα σχήματα».

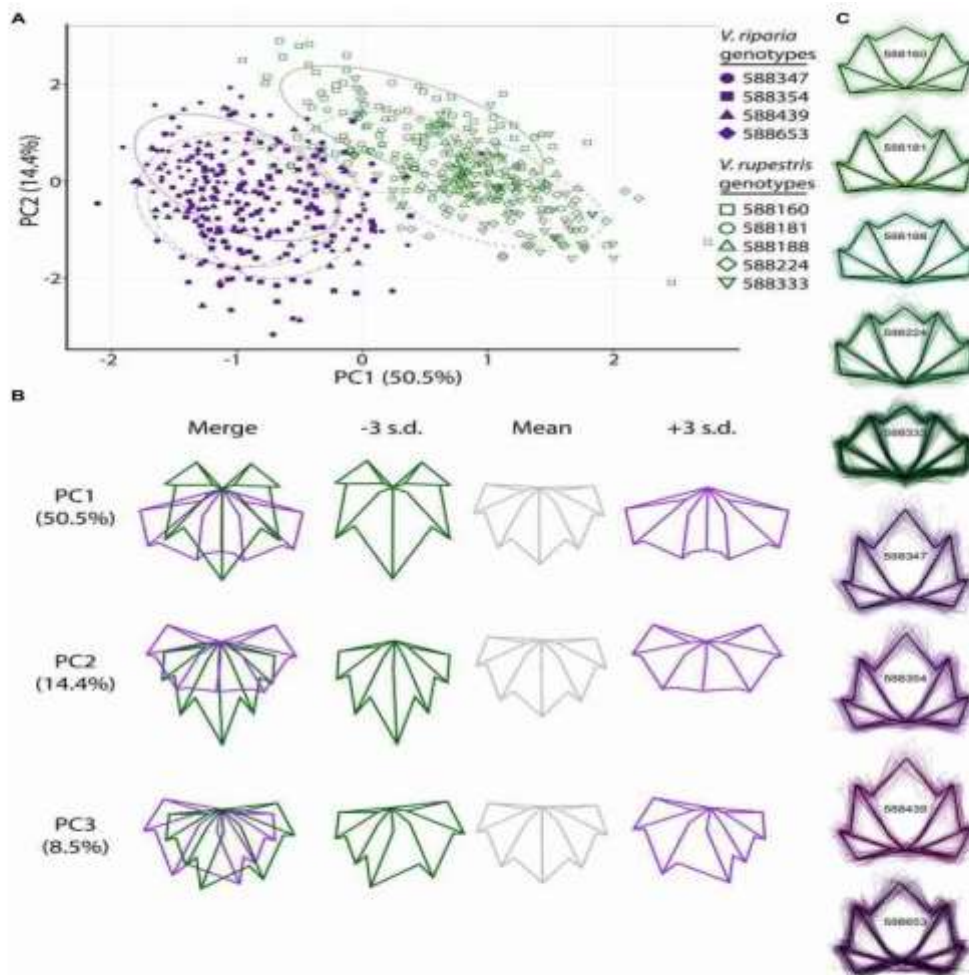


FIGURE 2 | Generalized Procrustes analysis (GPA) of 17 landmark points applied to leaves harvested from the MBG common garden principal components (PC) morphospace. **(A)** PCs 1 and 2 of *V. riparia* (purple, filled) and *V. rupestris* (green, open) leaves. Different shapes represent genotypes (see legend). The 95% confidence ellipses drawn around each genotype are designated by different dashed patterns for each genotype. **(B)** 'Egenleaves' display differences among mean leaf morphologies in PCs 1–3 at ± 3 SD and percent shape variance for each. **(C)** Black outline represents the average shape outline of each *V. riparia* and *V. rupestris* genotype, with all outlines superimposed beneath in purple and green, respectively.

Εικόνα 2: Αποτελέσματα από ανάλυση προκρούστη

Στην εικόνα 2, οι υψηλές τιμές των PC1 περιγράφουν εκείνα τα φύλλα που είναι πιο φαρδιά, με πιο ρηχούς μισχικούς κόλπους, κάτι που είναι αντιπροσωπευτικό της μορφολογίας των φύλλων *V. rupestris*. Εξίσου με το PC1, οι χαμηλές βαθμολογίες των PC2 είναι αντιπροσωπευτικές των φύλλων με καρδιακό σχήμα, αλλά ο μισχικός κόλπος σε μεγάλο βαθμό απουσιάζει. Οι υψηλές βαθμολογίες PC1 και PC2 ανιχνεύουν επίσης ευρύτερες από τις λεπίδες των μακριών φύλλων, αλλά με ρηχούς και βαθύτερους λοβούς του μισχικού κόλπου που χαρακτηρίζουν υψηλές βαθμολογίες PC2 (Klein et al. 2017).

2.2 Άλλα προγράμματα αναλύσεων

Ανάλογα με το σύνολο δεδομένων που χρησιμοποιούνται, η μορφομετρία έχει γίνει χρησιμοποιώντας τρεις μεθόδους:

1. παραδοσιακής μορφομετρίας
2. μορφομετρία με βάση το περίγραμμα και
3. μορφομετρία που βασίζεται σε ορόσημα.

Η παραδοσιακή μορφομετρία δίνει βάση κυρίως σε μετρήσεις όπως το μήκος και τις γωνίες, η μορφομετρία με βάση το περίγραμμα μετρά το περίγραμμα του σχήματος χωρίς τα ορόσημα, ενώ η μορφομετρία που βασίζεται σε ορόσημα μετρά το σχήμα με βάση τα ορόσημα. Ωστόσο, η γεωμετρική μορφομετρία συνδυάζει ανάλυση στα ορόσημα και στο περίγραμμα, στη μελέτη της ποικιλότητας και της διαφοροποίησης του σχήματος εντός των ειδών. Η γεωμετρική μορφομετρία επιτρέπει την απεικόνιση του μορφοχώρου στον οποίο ανήκει το σχήμα των φύλλων του κάθε ξεχωριστού είδους. Υπάρχουν αρκετά προγράμματα για την μελέτη της γεωμετρικής μορφομετρίας των φύλλων, όπως το geomorph, tpsUtil, tpsDig2, MorphoJ, ImageJ (που χρησιμοποιήσαμε εμείς), Morpholeaf (θα αναλυθεί παρακάτω) και άλλα, για την ανάλυση ορόσημων.

Η παρούσα μελέτη χρησιμοποιεί το MorphoLeaf για να ενσωματώσει όλα τα βασικά βήματα της ανάλυσης γεωμετρικής μορφομετρίας με μια μέθοδο διατήρησης του περιγράμματος και της ακεραιότητας του φύλλου και εξαγωγής όλων των σημαντικών λεπτομερειών των φύλλων για ανάλυση πολλαπλών κλιμάκων.

Σε αυτό το πείραμα με το Morpholeaf, δημιουργήθηκαν μορφομετρικά δεδομένα από 140 δείγματα φύλλων, από επτά είδη Cucurbitaceae μέσω σάρωσης φύλλων, λήψης ορόσημων, εξαγωγής δεδομένων, έκφραση και κανονικοποίησης του περιγράμματος των φύλλων. Η ανάλυση PCA έδειξε ότι η περιοχή της λεπίδας, η περίμετρος της λεπίδας, η περιοχή των δοντιών, η περίμετρος των δοντιών, το ύψος δοντιού από την άκρη και το ύψος κάθε δοντιού από τη βάση είναι σημαντικά ορόσημα που συμβάλλουν στην διακύμανση εντός του είδους που μελετήθηκε.

Τα αποτελέσματά αυτής της μελέτης αποδεικνύουν ότι το MorphoLeaf μπορεί ποσοτικά να παρακολουθήσει την ποικιλομορφία σε δείγματα φύλλων και μπορεί να εφαρμοστεί για να ενσωματώσει λειτουργικά τη μορφομετρία και την οπτικοποίηση σχήματος στην ψηφιακή ταυτοποίηση των φυτών. (Oso 2020)

2.3 SuperAmpelo

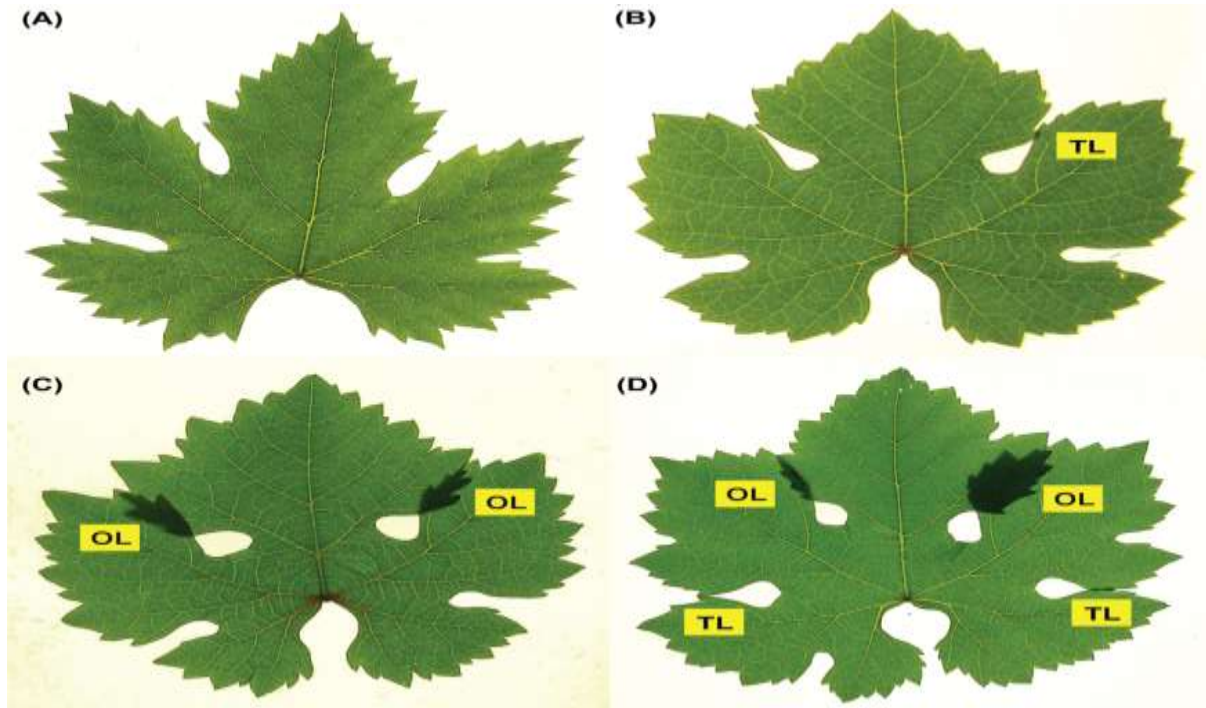
Το SuperAmpelo είναι ένα πρόγραμμα που έχει σχεδιαστεί για να βοηθήσει την κατηγοριοποίηση των Vitis. Επιτρέπει τη μέτρηση των φύλλων, των τσαμπιών, των ραγών και των σπόρων και την καταγραφή των κύριων περιγραφικών αμπελογραφικών χαρακτήρων. Οι συντεταγμένες των σημείων του φύλλου παίρνονται από διαφορετικές πηγές (σαρωτής, ψηφιακή κάμερα). Με τα σημεία που λαμβάνει το σύστημα, επιτρέπεται η δημιουργία ενός τυπικού προφίλ φύλλου ποικιλίας μέσω του υπολογισμού των μέσων συντεταγμένων των φύλλων για κάθε προσχώρηση και η αυτόματη μεταγλώττιση των βιομετρικών περιγραφών OIV. Το πρόγραμμα εμφανίζει την πιο συχνή τιμή μεταξύ αυτών που καταγράφονται στα διαφορετικά φύλλα κάθε προσχώρησης και περιλαμβάνει επίσης ένα σύστημα αναγνώρισης σχήματος φύλλου με βάση το μέγεθος του φύλλου.

Μέσω των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν από δείγματα 1.100 φύλλων, έδειξαν ότι το πρόγραμμα είχε 81% επιτυχία για τη σωστή αντιστοίχιση του σχήματος του φύλλου.

Προκειμένου να αξιολογηθούν τα σχήματα των φύλλων, δημιουργήθηκαν δυο κατηγορίες ταξινόμησης: το πρώτο ταξινομούσε τα φύλλα με βάση τα πέντε κύρια σχήματα φύλλων (κορδοειδή, σφηνοειδές, πενταγωνικό, κυκλικό και νεφρόσχημα) που περιλαμβάνονται στους περιγραφείς OIV και GenRes. Το δεύτερο επίπεδο αφορά περαιτέρω ταξινόμηση επτά μικτών σχημάτων φύλλων, μερικά από τα οποία (σφηνοειδή-κορδοειδή, πεντάγωνο-καρδοειδή, σφηνοειδή-πενταγωνικά και κυκλικά-νεφρικά). Τα αποτελέσματα της ταξινόμησης των φύλλων που προέκυψαν από την οπτική ταξινόμηση ενός ειδικού αμπελογράφου, επαλήθευσαν την ορθότητα της αντιστοίχισης των φύλλων σε μικτά και κύρια σχήματα καθώς, η μέθοδος ταξινόμησε σωστά το 81% από τα 1.100 φύλλα, το 11% ταξινομήθηκε λανθασμένα και το 8% δεν μπόρεσε να ταξινομηθεί. Εν κατακλείδι, η συγκεκριμένη ταξινόμηση έχει ένα καλό ποσοστό αξιοπιστίας, εφόσον υπήρξε ένα μέσο λάθος μόλις 12,2%. (Soldavini et al. 2009).

2.4 Επικάλυψη Φύλλων

Η κάθε ποικιλία αμπέλου έχει διαφορετικό φύλλωμα, το οποίο μπορεί να έχει μέρη (συνήθως οι λοβοί) που επικαλύπτονται. Δηλαδή κατά την επίπεδη τοποθέτησή τους, έχουμε σημεία που δεν φαίνονται στις φωτογραφίες, όπως βλέπουμε στην εικόνα 3.



Εικόνα 3: Φύλλα με επικαλυπτόμενα μέρη

Σε αυτήν την εργασία γίνεται η προσπάθεια να λυθεί το πρόβλημα όπου τα φύλλα αναπτύσσουν μεγάλους λοβούς και έρχονται σε επαφή ή αλληλοεπικαλύπτονται, καθώς στην συνέχεια υπάρχουν μέρη του περιγράμματος των φύλλων που δεν φαίνονται, όπου αποκλείει την εφαρμογή αυτόματων μεθόδων και αναγκάζει το περίγραμμα του φύλλου να εντοπιστεί χειρονακτικά. Με λίγα λόγια, για να αποφύγουμε τον σχεδιασμό στο χέρι, όχι μόνο για να γλιτώσουμε χρόνο, αλλά και για να μην υπάρχουν πιθανότητες σφαλμάτων, εάν ο σχεδιασμός των καλυμμένων τμημάτων γίνεται κατ'εκτίμηση.

Η μέθοδος περιλαμβάνει τρία βήματα:

1. την απεικόνιση των φύλλων με μηχάνημα σκάνερ,
2. μια τμηματοποίηση εικόνας δύο επιπέδων επιτρέποντας σε όλα τα μέρη του φύλλου (λεπίδα, επικαλυπτόμενους λοβούς και κλειστούς κόλπους) να αναπαρασταθούν σε μια ενιαία διπλή εικόνα και
3. το περίγραμμα και συνένωση όλων των δυαδικών περιγραμμάτων σε ένα ενιαίο, αυτοτεμνόμενο κλειστό περίγραμμα που αναπαράγει με ακρίβεια το σχήμα του φύλλου.

Τα φύλλα πρέπει να είναι σωστά τοποθετημένα και να πιέζονται επαρκώς στο κρεβάτι σάρωσης για να διασφαλιστεί ότι όλα τα μέρη έχουν εστιαστεί και φαίνονται καθαρά στο ίδιο ύψος. Επιπλέον, τα φύλλα δεν πρέπει να είναι χτυπημένα ή αλλοιωμένα και γενικά να είναι πλήρως ανεπτυγμένα. Ωστόσο, το κριτήριο της επιλογής των φύλλων μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το στόχο της μελέτης (ταξονομικό, αναπτυξιακό, εξελικτικό, γονιδίωμα/σχετικό με το τρανς σενάριο, κ.λπ.). Τέλος, ο αριθμός των φύλλων εξαρτάται από το επίπεδο ακρίβειας και το περιθώριο σφάλματος που απαιτείται, το οποίο με τη σειρά του εξαρτάται από τη φυσική μεταβλητότητα του σχήματος των φύλλων, που μεταβάλλεται από είδος σε είδος (Diaz 2017).

2.5 Αναλύσεις περιγράμματος σχήματος κουκουτσιών

Σε αυτή τη μελέτη πραγματοποιήθηκαν μορφομετρικές αναλύσεις σε 1.102 ολόκληρα απανθρακωμένα κουκούτσια σταφυλιού, προκειμένου να διερευνηθεί η ενδοειδική ποικιλομορφία του παρελθόντος. Επιλέχθηκαν δείγματα με 30 ή περισσότερους σπόρους, για να ληφθεί ένα στατιστικά αντιπροσωπευτικό αποτέλεσμα και να μεγιστοποιηθεί η παρουσία καλοδιατηρημένων ακόμα σπόρων, που εμφανίζουν λίγες έως καθόλου παραμορφώσεις. Τα σχήματα των σπόρων περιγράφηκαν με τη χρήση ανάλυσης περιγράμματος Elliptic Fourier (EFT), όπως αναπτύχθηκε και βελτιώθηκε από προηγούμενες μελέτες.

Οι αρχαιολογικοί σπόροι φωτογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας κάμερα Leica IC80 HD σε στερεοσκοπικό μικροσκόπιο Leica M80.

Το EFT υπολογίστηκε ξεχωριστά για κάθε προβολή και στη συνέχεια συνδυάστηκε στον ίδιο πίνακα. Ο κάθε σπόρος περιγράφηκε με 48 συντελεστές (24 ο καθένας για ραχιαία και πλάγια όψη) που χρησιμοποιήθηκαν ως ποσοτικές μεταβλητές στις στατιστικές αναλύσεις. Για τη σύγκριση των αρχαιολογικών δειγμάτων, υπολογίστηκε η ανάλυση κύριου συστατικού (PCA) χρησιμοποιώντας τους συντελεστές των 1.102 κουκουτσιών που ελήφθησαν υπόψη στη μορφομετρική ανάλυση. Επιπρόσθετα, στις διαφορές μεταξύ τους δόθηκε ένας μη παραμετρικός έλεγχος, ο οποίος πραγματοποιήθηκε με τη βαθμολογία των αρχαιολογικών ατόμων στην πρώτη κύρια συνιστώσα. Αυτά τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν από την PCA με τους περιγραφείς σχήματος δύο άλλων μεγάλων συνόλων κουκουτσιών από άλλη μελέτη, από την περιοχή της Μακεδονίας που δημιουργήθηκαν από τον C. Pagnoux (2016). Οι αρχαιολογικοί σπόροι συγκρίθηκαν επίσης με μια σύγχρονη συλλογή αναφοράς από κουκούτσια σταφυλιού, προκειμένου να αντιστοιχιστούν σε μια προκαθορισμένη ομάδα (άγρια ή εξημερωμένα).

Η ανάλυση βασικών συνιστωσών (PCA) και τα αποτελέσματα της μη παραμετρικής δοκιμής, έδειξαν πως δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στη μορφολογία των κουκουτσιών, μεταξύ των 13 δειγμάτων.

Μεταξύ των 1.102 κουκουτσιών που μελετήθηκαν για τη μορφή τους, 998 έχουν κατανεμηθεί στην άγρια μορφή, 22 στην εξημερωμένη μορφή, ενώ 82 κουκούτσια δεν μπορούσαν να κατανεμηθούν σε καμία ομάδα. (Valamoti et al, 2020).

2.6 Πυκνότητα τριχώματος φύλλων

Η πυκνότητα τριχώματος στην κάτω πλευρά των φύλλων της αμπέλου έχει χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση των *Vitis* και τον προσδιορισμό των ποικιλιών αμπέλου (*Vitis vinifera* L.). Τα τρίχωμα των φύλλων αμπέλου, ωστόσο, είναι δύο τύπων και λίγες μελέτες έχουν εξετάσει τη μικροανατομία και τη σχετική χωρική κατανομή τους. Αυτή η μελέτη ασχολείται με αυτές τις πτυχές, εξετάζοντας 8 καλλιεργούμενες ποικιλίες αμπέλου, σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης.

Τα φύλλα αυτά εξετάστικαν στερεομικροσκοπικά και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρξε ένα μεγάλο εύρος πυκνότητας τριχωμάτων των φύλλων. Ωστόσο, μόνο δυο τύποι τριχώματος βρέθηκαν, τα όρθια και τα επίπεδα καθισμένα και τα γενικά χαρακτηριστικά κάθε τύπου τριχώματος ήταν παρόμοια σε όλες τις ποικιλίες, επομένως οι εικόνες που παρουσιάζονται τονίζουν καλύτερα αυτά τα χαρακτηριστικά ανεξαρτήτως ποικιλίας. (Gago et al, 2016).

3 Υλικά και Μέθοδοι

Η ανάλυση για την ταυτοποίηση των γηγενών ποικιλιών, έγινε στα αμπέλια του πειραματικού αμπελώνα του Ινστιτούτου αμπέλου της Λυκόβρυσης στην Αττική. Οι ποικιλίες στις οποίες έγινε η δειγματοληψία είναι 80 (ογδόντα) σε αριθμό, και φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (εικόνα 5).

ID	Όνομα	Τεμάχια	Σειρά/Θέση	V1	V2	V3	φωτογραφία	γεγονικό
576	Ντιμπόνα	κλώνοι	3	sealed A2514167	sealed A2514168	sealed A2514169	vs1	vs1
272	Ατυκή	κλώνοι	6	sealed A2514170	sealed A2514171	sealed A2514172	vs1	vs1
215	Αθήρι	σταυρές	46	sealed A2514016	sealed A2514017	sealed A2514018	vs1	vs1
275	Αυγουστιάτης	σταυρές	7β	sealed A2514019	sealed A2514020	sealed A2514021	vs1	vs1
530	Μοσχάτο Άσπρο	2010-2011	1ε	sealed A2514347	sealed A2514348	sealed A2514349	vs1	vs1
383	Κονιάρια	2010-2011	10β	sealed A2514472	sealed A2514473	sealed A2514474	vs1	vs1
503	Μασουρόσανου	Δικτυοκλήμα	3-4γ	sealed A2514591	sealed A2514592	sealed A2514593	vs1	vs1
493	Μουραδάφνη	Δικτυοκλήμα	66	sealed A2514184	sealed A2514185	sealed A2514186	vs1	vs1
566	Ροδίτης Κόκκινος	Δικτυοκλήμα	15β	sealed A2514724	sealed A2514725	sealed A2514726	vs1	vs1
670	Ρομπόλα	Δικτυοκλήμα	11α	sealed A2514662	sealed A2514663		vs1	vs1
421	Κουτσούρα Λευκή	Δικτυοκλήμα	6α	sealed A2514022	sealed A2514023	sealed A2514024	vs1	vs1
626	Πλυτό	Δικτυοκλήμα	12α	sealed A2514659	sealed A2514660	sealed A2514661	vs1	vs1
696	Σκαδάπουλα	Αχλαδία	3α	sealed A2514155	sealed A2514156	sealed A2514157	vs1	vs1
405	Black of Korinth	Αχλαδία	145	sealed A2514066	sealed A2514067	sealed A2514068	vs1	vs1
209	Αηδώνι	Αχλαδία	1β	sealed A2514054	sealed A2514055	sealed A2514056	vs1	vs1
285	Βερτάμι	Αχλαδία	7γ	sealed A2514161	sealed A2514162	sealed A2514163	vs1	vs1
268	Βουσιάνο	Αχλαδία	3β	sealed A2514057	sealed A2514058	sealed A2514059	vs1	vs1
415	Κοσιφάλα	Αχλαδία	7β	sealed A2514060	sealed A2514061	sealed A2514062	vs1	vs1
473	Μανθέρμα	Αχλαδία	7α	sealed A2514158	sealed A2514159	sealed A2514160	vs1	vs1
545	Μοσχολίερο	Αχλαδία	12γ	sealed A2514063	sealed A2514064	sealed A2514065	vs1	vs1
753	Ταουλιανήδες	Μετερολογικός Σ.	1α	sealed A2514101	sealed A2514102	sealed A2514103	vs1	vs1
68	Gold	Μετερολογικός Σ.	1β	sealed A2514104	sealed A2514105	sealed A2514106	vs1	vs1
757	Φηγιά	Μετερολογικός Σ.	1-2γ	sealed A2514107	sealed A2514108	sealed A2514109	vs1	vs1
483	Μαύρο Κύπρου	Μετερολογικός Σ.	2α	sealed A2514110	sealed A2514111	sealed A2514112	vs1	vs1
79	Gros Colman	Μετερολογικός Σ.	2β	sealed A2514113	sealed A2514114	sealed A2514115	vs1	vs1
453	Λευκό Κύπρου	Μετερολογικός Σ.	3α	sealed A2514116	sealed A2514117	sealed A2514118	vs1	vs1
654	Ραζαί Ουγγαρίας	Μετερολογικός Σ.	3β	sealed A2514119	sealed A2514120	sealed A2514121	vs1	vs1
365	Roupen	Μετερολογικός Σ.	3-4γ	sealed A2514152	sealed A2514153	sealed A2514154	vs1	vs1
28	Selgar	Μετερολογικός Σ.	4α	sealed A2514122	sealed A2514123	sealed A2514124	vs1	vs1
657	Ροζακή Σουφλιού	Μετερολογικός Σ.	4β	sealed A2514125	sealed A2514126	sealed A2514127	vs1	vs1
319	Γλυκερήρα	Μετερολογικός Σ.	5α	sealed A2514128	sealed A2514129	sealed A2514130	vs1	vs1
346	Renette	Μετερολογικός Σ.	5β	sealed A2514131	sealed A2514132	sealed A2514133	vs1	vs1
155	Primus No7	Μετερολογικός Σ.	5-6γ	sealed A2514134	sealed A2514135	sealed A2514136	vs1	vs1
772	Κασία Ομαρά	Μετερολογικός Σ.	6α	sealed A2514137	sealed A2514138	sealed A2514139	vs1	vs1
784	Χουρμυδιές	Μετερολογικός Σ.	6β	sealed A2514272	sealed A2514273	sealed A2514274	vs1	vs1
774	Κασομυ Κακί	Μετερολογικός Σ.	7α	sealed A2514140	sealed A2514141	sealed A2514142	vs1	vs1
638	Προβάτινα	Μετερολογικός Σ.	7β	sealed A2514143	sealed A2514144	sealed A2514145	vs1	vs1
697	Εκλόβα	Μετερολογικός Σ.	7-8γ	sealed A2514146	sealed A2514147	sealed A2514148	vs1	vs1
274	Αυγουστιάδα	Μετερολογικός Σ.	8α	sealed A2514149	sealed A2514150	sealed A2514151	vs1	vs1
406	Κορυμβική Λευκή	Μετερολογικός Σ.	8β	sealed A2514028	sealed A2514029	sealed A2514030	vs1	vs1
428	Κορφάκι	Μετερολογικός Σ.	9α	sealed A2514262	sealed A2514263	sealed A2514264	vs1	vs1
220	Αλκυονάρα	Μετερολογικός Σ.	10α	sealed A2514256	sealed A2514257	sealed A2514258	vs1	vs1
560	Μηρίσινα	Μετερολογικός Σ.	16α	sealed A2514222	sealed A2514223	sealed A2514224	vs1	vs1
291	Πλαγυνταλής	Μετερολογικός Σ.	16-17γ	sealed A2514219	sealed A2514220	sealed A2514221	vs1	vs1
619	Πετροπούμαστος	Μετερολογικός Σ.	17β	sealed A2514216	sealed A2514217	sealed A2514218	vs1	vs1
471	Μολαμίζα/Μελαμίζα	Μετερολογικός Σ.	18α	sealed A2514213	sealed A2514214	sealed A2514215	vs1	vs1
712	Σούρικα	Μετερολογικός Σ.	19α	sealed A2514207	sealed A2514208	sealed A2514209	vs1	vs1
554	Μπισοτοράδασι	Μετερολογικός Σ.	19β	sealed A2514210	sealed A2514211	sealed A2514212	vs1	vs1
519	Μελισσοφάγι	Μετερολογικός Σ.	20α	sealed A2514201	sealed A2514202	sealed A2514203	vs1	vs1
306	Βρούσα	Μετερολογικός Σ.	20β	sealed A2514204	sealed A2514205	sealed A2514206	vs1	vs1
11	Ευκλείδης	Βελτωμένες	1	sealed A2514179	sealed A2514180	sealed A2514181	vs1	vs1
52	Chiodonay Ελλάς	Βελτωμένες	1	sealed A2514173	sealed A2514174	sealed A2514175	vs1	vs1
12	Αργοναυτικό	Βελτωμένες	1	sealed A2514194	sealed A2514195	sealed A2514196	vs1	vs1
13	Ισπαρίτης	Βελτωμένες	1				vs1	vs1
14	Χαρά Λευνίδων	Βελτωμένες	2	sealed A2514182	sealed A2514183	sealed A2514184	vs1	vs1
15	Συρτόκι	Βελτωμένες	4	sealed A2514188	sealed A2514189	sealed A2514190	vs1	vs1
16	Ευτυχία	Βελτωμένες	4	sealed A2514185	sealed A2514186	sealed A2514187	vs1	vs1
17	Μούσα	Βελτωμένες	5	sealed A2514191	sealed A2514192	sealed A2514193	vs1	vs1
18	Βορέας	Βελτωμένες	7				vs1	vs1
19	Φλόρινα	Βελτωμένες	7				vs1	vs1
20	Γεωργιάδης	Βελτωμένες	7	sealed A2514197	sealed A2514198	sealed A2514199	vs1	vs1
21	Μακκδόνας	Βελτωμένες	7	sealed A2514176	sealed A2514177	sealed A2514178	vs1	vs1
22	Λιέρτης	Βελτωμένες	11				vs1	vs1
23	Πρωτό ΕΛΓΟ	Βελτωμένες	12				vs1	vs1
24	Χρυσή Ειρήνη	Βελτωμένες	14				vs1	vs1
25	Θάμνος	Βελτωμένες	5				vs1	vs1
26	Αμβροσία	Βελτωμένες	5				vs1	vs1
27	Βενιαμίν Καρολίδης	Βελτωμένες	5				vs1	vs1
28	Καθηγητής Ν. Γκουζόντ	Βελτωμένες	9				vs1	vs1
29	Λυκόβρυση	Βελτωμένες	12				vs1	vs1
30	Petit Manseng	1983		sealed A2512661	sealed A2512662	sealed A2512663	vs1	vs1
31	Cenin Blanc	1983		sealed A2512664	sealed A2512665	sealed A2512666	vs1	vs1
32	Ugni Blanc	1983		sealed A2512667	sealed A2512668	sealed A2512669	vs1	vs1
33	Coupage	1983		sealed A2512670	sealed A2512671	sealed A2512672	vs1	vs1
34	Negrette	1983		sealed A2512673	sealed A2512674	sealed A2512675	vs1	vs1
35	Got	1983		sealed A2512676	sealed A2512677	sealed A2512678	vs1	vs1
36	Vignar	1983		sealed A2512679	sealed A2512680	sealed A2512681	vs1	δηλ.
37	Marsanne	1983		sealed A2512682	sealed A2512683	sealed A2512684	vs1	δηλ.
38	Cabernet Sauvignon	1983		sealed A2512685	sealed A2512686	sealed A2512687	vs1	δηλ.
39	Melviaia Candida	1983		sealed A2512688	sealed A2512689	sealed A2512690	vs1	δηλ.

Εικόνα 4: Πίνακας πληροφοριών για τις δειγματοληψίες των αμπελόφυλλων

Από αυτές τις ογδόντα ποικιλίες που λάβαμε τα δείγματα, λόγω του μεγάλου όγκου εργασίας, αναλύσαμε έως τέλος εννέα γηγενείς, εκ των οποίων είναι:

1. Αθήρι
2. Ντεμπίνα
3. Κορινθιακή Λευκή
4. Μαλαμέζια
5. Πετρογούμαστος
6. Σαββατιανό
7. Σούρλα
8. Βλαχονικολης
9. Βρούσσα

Για την δειγματοληψία των φύλλων υπήρχε συγκεκριμένο πρόγραμμα και τρόπος συλλογής. Η ώρα δειγματοληψίας ξεκινούσε νωρίς το πρωί πριν την ανατολή του ήλιου και τελείωνε κοντά στις 11 το πρωί για να ακολουθήσει η επεξεργασία των φύλλων στο ινστιτούτο.

Για κάθε ποικιλία σταφυλιού λαμβάναμε δείγματα από τρία φυτά, έτσι ώστε να υπήρχαν αρκετά φύλλα προς ανάλυση. Για κάθε φυτό ακολουθούσαμε το ίδιο μοτίβο συλλογής φύλλων, το οποίο αποτελούταν από την λήψη όλων των φύλλων, από την αρχή του κάθε βλαστού μέχρι την κορυφή του (συνήθως ο αριθμός των φύλλων ήταν από 22 έως 35 φύλλα στο μέγιστο ανά βλαστό). Αυτό το κάναμε για 3 βλαστούς από κάθε φυτό, οπότε είχαμε ένα σύνολο 9 διαφορετικών βλαστών ανά ποικιλία, από 28 φύλλα μέσο όρο ανά βλαστό, οπότε συλλέγαμε περίπου 250 φύλλα στην κάθε ποικιλία.

Για την μεταφορά των φύλλων από το αμπέλι προς το ινστιτούτο όπου θα τραβήξουμε τις φωτογραφίες, έπρεπε εφόσον κοπούν τα φύλλα, να τυλιχτούν σε πλαστική μεμβράνη και να τοποθετηθούν σε φορητό ψυγείο, έτσι ώστε να μην υπάρχει απώλεια νερού από τα φύλλα και να διατηρούνται στην σωστή θερμοκρασία καθώς μετά τις 10:00 το πρωί η θερμοκρασία ανέβαινε κοντά στους 30 βαθμούς κελσίου.

Μετά την συλλογή των φύλλων, γινόταν η μεταφορά τους στον χώρο του ινστιτούτου, όπου αφαιρούσαμε τις πλαστικές μεμβράνες και τοποθετούσαμε τα φύλλα γυρισμένα, σε αύξουσα σειρά, από τα πρώτα μικρότερα, έως το τελευταίο μεγαλύτερο μεταξύ διάφανων πλακών, όπου τα φύλλα θα πατηθούν με τέτοιο τρόπο ώστε να φαίνονται όλοι οι νευρώνες, τα δόντια και οι λεπτομέρειες του κάθε φύλλου, προσπαθώντας να μην καλύπτονται τα φύλλα. Ωστόσο συνέχεια παρατηρούσαμε προβλήματα κατά την τοποθέτηση φύλλων, καθώς

αρκετές ποικιλίες είχαν φύλλα που επικαλύπτονταν κατά την τοποθέτησή τους μεταξύ των πλακών. Επίσης υπήρχαν κομμένα ή χτυπημένα φύλλα πάνω στον βλαστό.



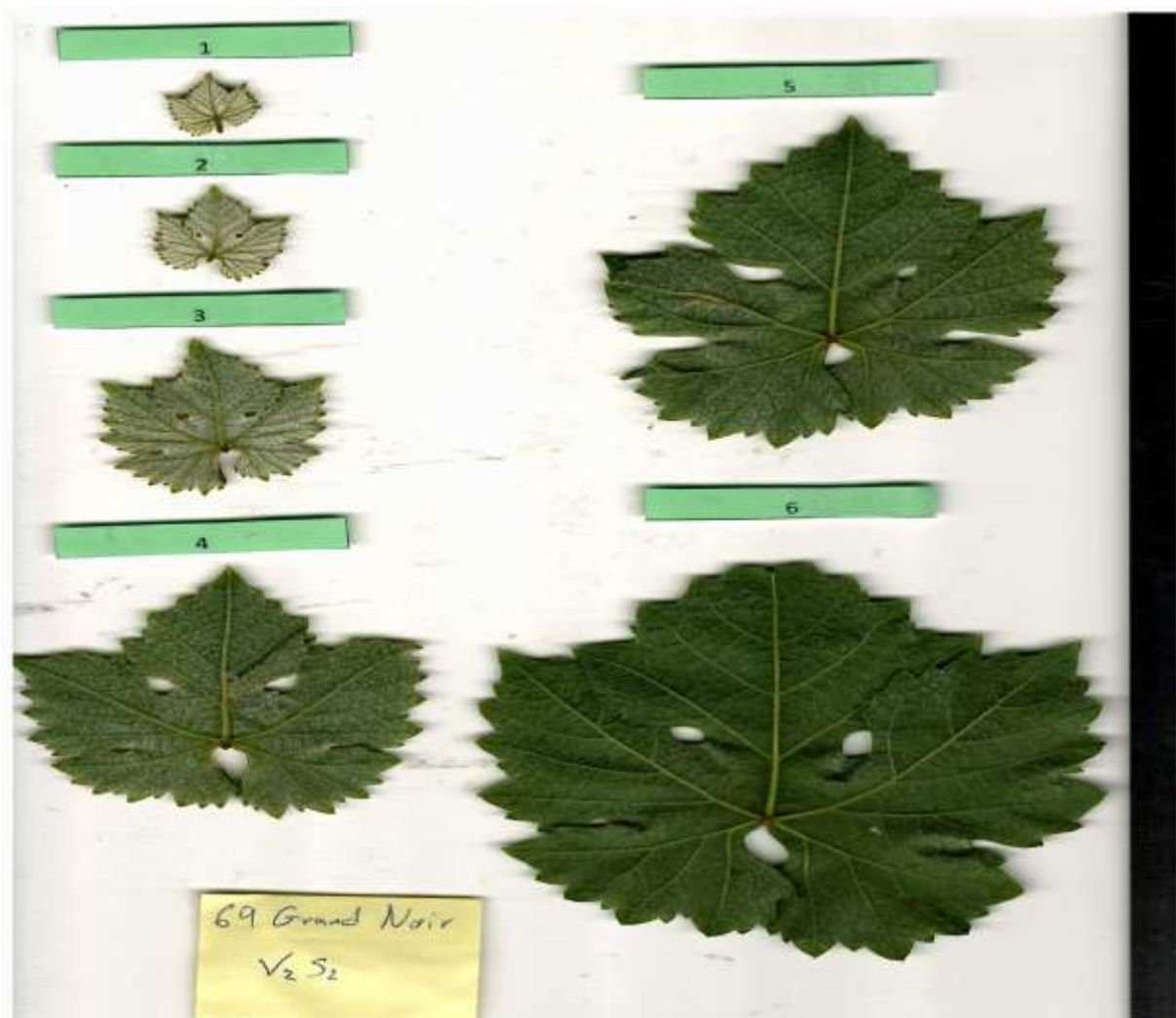
Εικόνα 5: Παράδειγμα τοποθέτησης φύλλων μεταξύ των πλακών

Οι πλάκες χωρούσαν από 3 έως 7 φύλλα (ανάλογα το μέγεθος των φύλλων) και έπρεπε να λαμβάνονται οι φωτογραφίες το συντομότερο δυνατόν για την καλύτερη συντήρηση των φύλλων. Δίπλα στις διάφανες πλάκες, τοποθετούσαμε έναν μεταλλικό χάρακα, προκειμένου να μπορούμε να ξέρουμε τις πραγματικές αποστάσεις σε εκατοστά και να περαστούν στο πρόγραμμα αναλύσεων. Επίσης τοποθετούσαμε ένα χάρτινο σημείωμα των πληροφοριών των φύλλων. Για παράδειγμα το σημείωμα έγραφε τον κωδικό της ποικιλίας, το φυτό, αριθμό βλαστού και τα φύλλα που υπάρχουν μεταξύ των πλακών. Για παράδειγμα, '375.1.3.10-14', όπου 375 ο κωδικός της ποικιλίας, 1 ο αριθμός του φυτού (1ο φυτό), 3 ο 3ος βλαστός του πρώτου φυτού και 10 έως 14 τα φύλλα του βλαστού που είναι μέσα στις πλάκες.



Εικόνα 6: Δεύτερο παράδειγμα τοποθέτησης φύλλων μεταξύ των πλακών

Τα περισσότερα από τα πρώτα φύλλα, κυρίως μέχρι το 6^ο φύλλο, χωρούσαν στον σαρωτή, όπου πάλι, τοποθετούσαμε έναν χάρακα, για να γνωρίζουμε τις αποστάσεις και τις πληροφορίες των φύλλων σε χαρτί όπως φαίνεται στην εικόνα 7.



Εικόνα 7: Φύλλα της αμπέλου που τοποθετήθηκαν στον σαρωτή

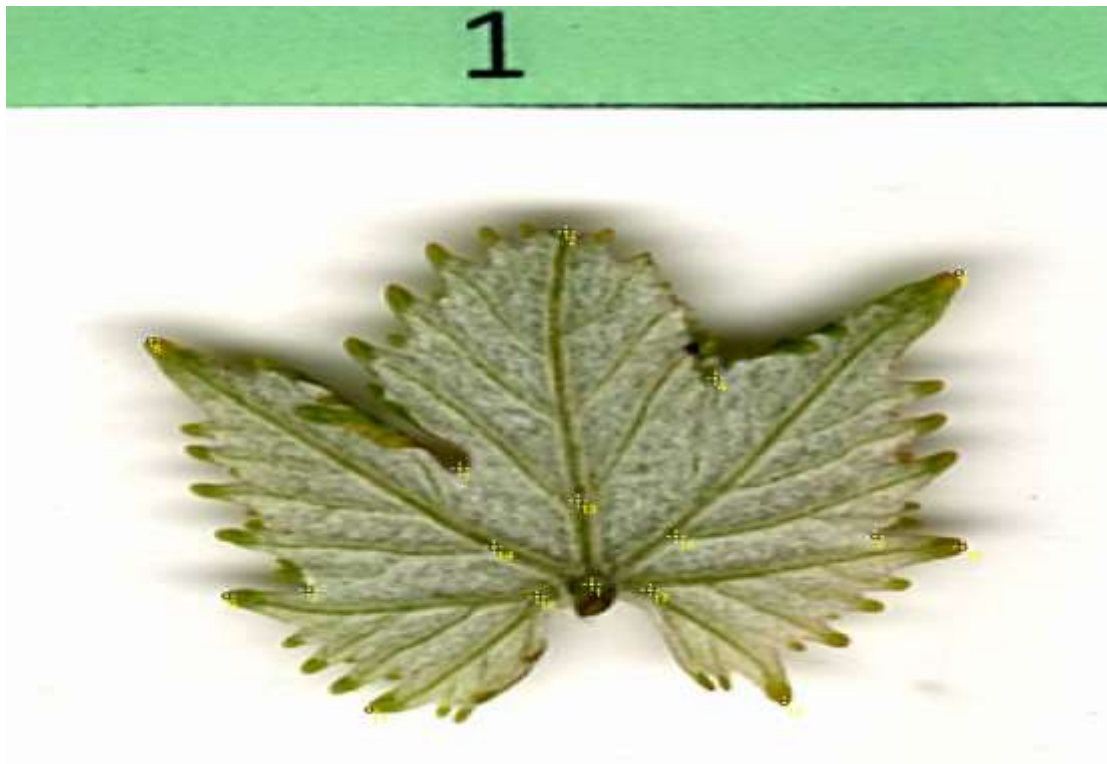
Για την λήψη των φωτογραφιών, χρησιμοποιούσαμε την κάμερα DSC- RX10M3 Sony, υψηλής ευκρίνειας, η οποία ήταν ρυθμισμένη να τραβάει 2 φωτογραφίες σε κάθε λήψη προκειμένου να αποφύγουμε τη περίπτωση κουνημένης, θολής ή μη σωστά εστιασμένης φωτογραφίας. Μετά την λήψη, έπρεπε να αλλάζουμε τα φύλλα μεταξύ των πλακών και να τοποθετούμε τα επόμενα. Αυτές οι φωτογραφίες στην συνέχεια περάστηκαν στον ηλεκτρονικό υπολογιστή, όπου για κάθε διπλή φωτογραφία, έπρεπε να επιλεγεί η πιο ευδιάκριτη, για να γίνει καλύτερη και ευκολότερη επεξεργασία αργότερα.

Επόμενη βήμα ήταν η μετατροπή των φωτογραφιών στην σωστή μορφή ως αρχείο, επειδή στην αρχική μορφή (Jpg) παρατηρήσαμε παραμόρφωση, οπότε θα είχαμε λανθασμένες αποστάσεις και συνεπώς αποτελέσματα. Για την μετατροπή των φωτογραφιών χρησιμοποιήσαμε το πρόγραμμα της Sony για την επεξεργασία φωτογραφιών (Imaging Edge Desktop), όπου σε κάθε φωτογραφία ξεχωριστά δώσαμε το όνομα που υπήρχε στο σημείωμα και αποθηκεύονταν υπό την μορφή "TIF". Για τα φύλλα που τοποθετήθηκαν στο σκάνερ, δεν

χρειάστηκε μετατροπή καθώς τα αρχεία περνούσαν απευθείας στον υπολογιστή χωρίς καμία παραμόρφωση.

Μετά την αλλαγή της μορφής των φωτογραφιών από JPG προς TIF για να αφαιρέσουμε την παραμόρφωση, στο πρόγραμμα του ImageJ τραβούσαμε μια ευθεία γραμμή πάνω στον χάρακα (συγκεκριμένης απόστασης κάθε φορά) σε κάθε φωτογραφία, μέσω του υπολογιστή, έτσι ώστε να περαστούν στο πρόγραμμα οι πραγματικές διαστάσεις της φωτογραφίας και να μπορεί το πρόγραμμα να αντιληφθεί τις αποστάσεις. Όταν βάζαμε την ευθεία λαμβάναμε δυο τιμές, μία x και μια y, τις οποίες στην συνέχεια τις μεταφέραμε στο Excel. Όταν βρίσκαμε τα ορόσημα των φύλλων, δημιουργούσαμε αντίγραφα των φωτογραφιών που επεξεργαστήκαμε με τα ορόσημα, προκειμένου να μπορούμε να ανατρέξουμε στις φωτογραφίες σε περίπτωση σφάλματος ή μεγάλης απόκλισης.

Επόμενο και από τα σημαντικότερα βήματα, αποτελεί η τοποθέτηση των ορόσημων πάνω στα φύλλα, τα οποία τοποθετήθηκαν με το πρόγραμμα ImageJ. Για τις δικές μας αναλύσεις αποφασίσαμε να χρησιμοποιήσουμε 17 ορόσημα για κάθε φύλλο, όπως φαίνεται στην εικόνα 8.

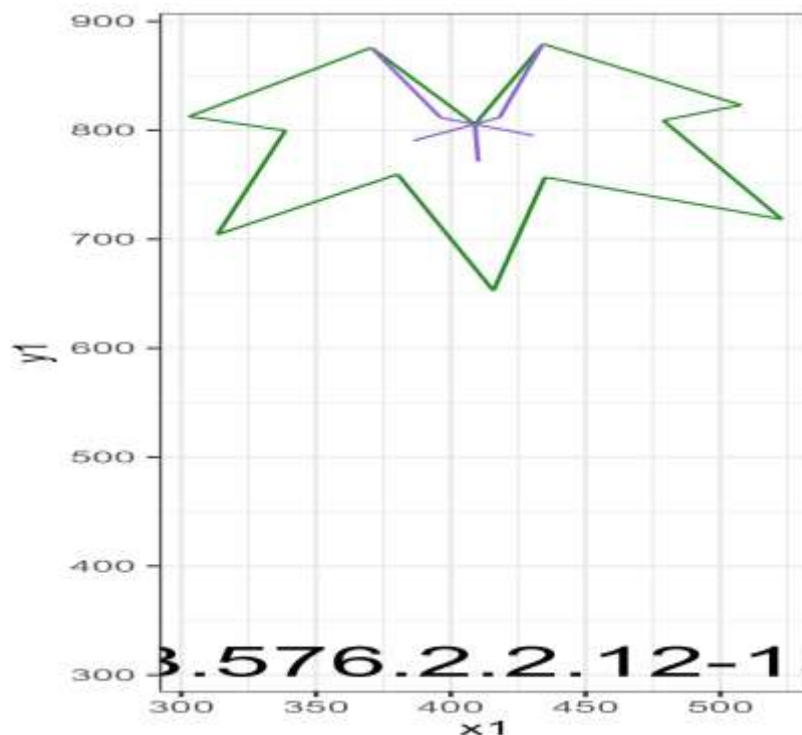


Εικόνα 8: Φύλλο με τοποθετημένα τα 17 ορόσημα

Η τεχνική με τα ορόσημα στα φύλλα βασίζεται στο γεγονός ότι όλα τα φύλλα έχουν έναν κεντρικό νευρώνα (πάντα υπάρχουν εξαιρέσεις), ο οποίος διακλαδίζεται σε συνήθως σε

τέσσερις ακόμα δευτερεύοντες νευρώνες, που μας δίνουν συγκεκριμένα μοτίβα. Οπότε το πρώτο σημείο ήταν πάντα το κέντρο του μίσχου, δεύτερο η κορυφή του κύριου νευρώνα, το τρίτο και τέταρτο σημείο είναι στους δυο πάνω κόλπους, πέμπτο και έκτο σημείο στις άκρες των δευτερεύοντων κύριων νευρώνων, έβδομο και όγδο σημεία στους δεύτερους κόλπους, ένατο και δέκατο σημείο στις άκρες των τρίτων κεντρικών νευρώσεων, ενδέκατο και δωδέκατο σημεία στις άκρες των πρώτων κύριων νευρώνων που διακλαδίζονται από του τρίτους κεντρικούς νευρώνες και τα τελευταία πέντε σημεία είναι στις πρώτες διακλαδώσεις των των πέντε κύριων νευρώσεων.

Κατ'αυτόν τον τρόπο υπάρχουν πάντα τα ίδια σημεία σε κάθε φύλλο, οπότε έχουμε ένα καλό τρόπο σύγκρισης, εφόσον έχουμε τόσα σημεία. Στις περιπτώσεις που υπήρχαν κομμένα κομμάτια από τα φύλλα, σταβά τοποθετημένα μεταξύ των πλακών φύλλα ή οποιοδήποτε άλλο μη φυσιολογικό φύλλο, τοποθετήσαμε όλα τα σημεία και εκεί που θεωρήσαμε μη φυσιολογικά, αφήναμε μια σημείωση και βάζαμε σχόλιο δίπλα από τα κελιά του Excel το αντίστοιχο για κάθε περίπτωση.



Εικόνα 9: Περίγραμμα οπτικοποιημένου φύλλου

Το επόμενο στάδιο που ακολούθησε για τα φύλλα ήταν προς επεξεργασία των φωτογραφιών. Αρχικό στάδιο στην επεξεργασία των ορόσημων, είναι να βγάλουμε τις κύριες συνιστώσες από τις αναλύσεις προκρούστη. Σε αυτή τη μέθοδο σύγκρισης σχημάτων,

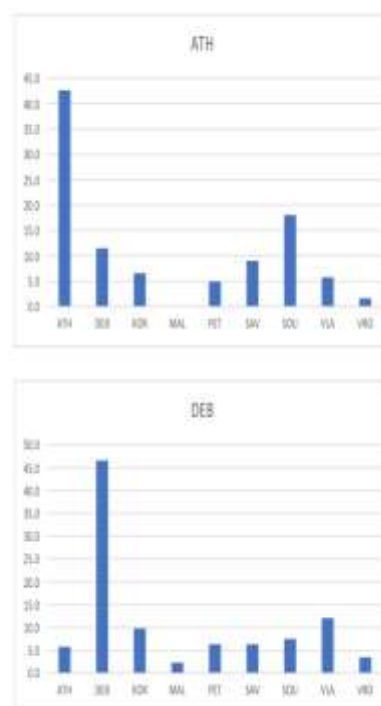
κλιμακώνει (αυξομειώνει) τις πληροφορίες ομοιόμορφα για να μπορούμε να συγκρίνουμε τα φύλλα διαφορετικών μεγεθών, κρίνοντας μόνο από το σχήμα. Το πρόγραμμα προκρούστη εφαρμόζεται στα ορόσημα που βάλουμε σε κάθε φύλλο (17 ορόσημα). Το πρόγραμμα δημιούργησε 34 βασικές συνιστώσες (Principal components) για κάθε φύλλο και ποσοστό διαφοροποίησης που εξηγείται από κάθε βασική συνιστώσα. Τα περιγράμματα των φύλλων οπτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τη «συνάρτηση shaperca» (εικόνα 9).

Έπειτα, προκειμένου να διερευνήσουμε περαιτέρω τις διαφορές στο σχήμα των φύλλων μέσα στους γονότυπους μεταξύ των κλώνων, μεταξύ των γονότυπων και μεταξύ των ειδών, πραγματοποιήσαμε ανάλυση γραμμικής διάκρισης (LDA) στις προκρούστιες συντεταγμένες μας. Το LDA είναι μια μέθοδος στατιστικής ταξινόμησης που αποτελείται από μηχανοποιημένη αντίχνευση προτύπων που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάκριση δύο ή περισσότερων κατηγοριών αντικειμένων σε ένα σύνολο δεδομένων. Επόμενη ανάλυση αποτελεί η Fourier, για να συγκρίνουμε τις διαφορές στο ολικό σχήμα (περίγραμμα) των φύλλων.

4 Αποτελέσματα & Συζήτηση

Σε αυτό το πείραμα της εργασίας έγινε η δοκιμή ταυτοποίησης γηγενών ποικιλιών μέσω του φυλλώματος της αμπέλου και κατά τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν όπως περιγράφηκαν, λάβαμε διάφορα αποτελέσματα για τις ποικιλίες όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (εικόνα 11)

	ATH	DEB	KOR	MAL	PET	SAV	SOU	VIA	VRO
ATH	52	10	31	4	5	6	30	7	2
DEB	14	81	20	9	11	12	7	23	6
KOR	8	17	85	4	9	13	9	5	13
MAL	0	4	2	107	31	3	11	4	19
PET	6	11	11	19	76	1	30	3	4
SAV	17	11	20	2	2	96	4	15	23
SOU	22	13	9	13	4	4	73	7	4
VIA	7	21	13	10	1	20	4	54	7
VRO	2	6	8	7	9	34	2	1	117
Total leaves/harvest	122	174	199	175	142	141	170	119	156
	ATH	DEB	KOR	MAL	PET	SAV	SOU	VIA	VRO
ATH	42.1	5.7	15.6	2.3	3.5	4.3	17.5	5.9	1.0
DEB	11.5	46.6	10.1	5.1	7.7	8.5	4.1	19.3	3.3
KOR	6.6	9.8	42.7	2.3	6.3	9.2	5.3	4.2	6.7
MAL	0.0	2.3	1.0	61.1	21.8	2.1	6.5	3.4	9.7
PET	4.9	6.3	5.5	10.9	53.5	0.7	17.6	2.5	2.1
SAV	9.0	6.3	10.1	1.1	1.4	46.8	2.4	12.6	11.8
SOU	18.0	7.5	4.5	7.4	2.8	2.8	41.9	5.9	2.1
VIA	5.7	12.1	6.5	5.7	0.7	15.6	2.4	45.4	3.6
VRO	1.6	3.4	4.0	4.0	2.1	9.9	1.2	0.8	60.0
	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0



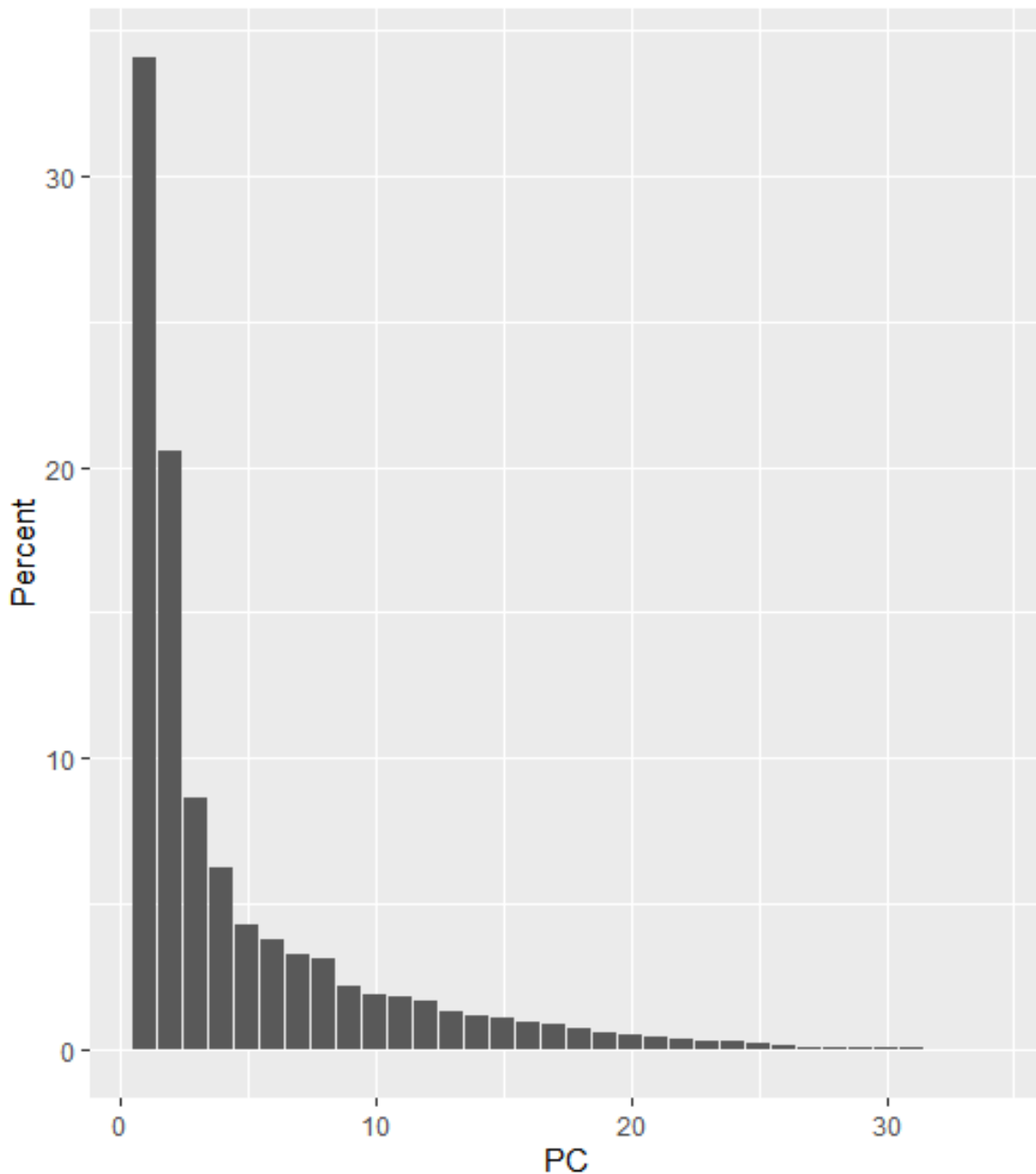
Εικόνα 10: Αποτελέσματα των αναλύσεων

Στην κίτρινη διαγώνιο όπου συναντιώνται τα ονόματα των ποικιλιών, φαίνεται το ποσοστό σωστής ταυτοποίησης της κάθε ποικιλίας.

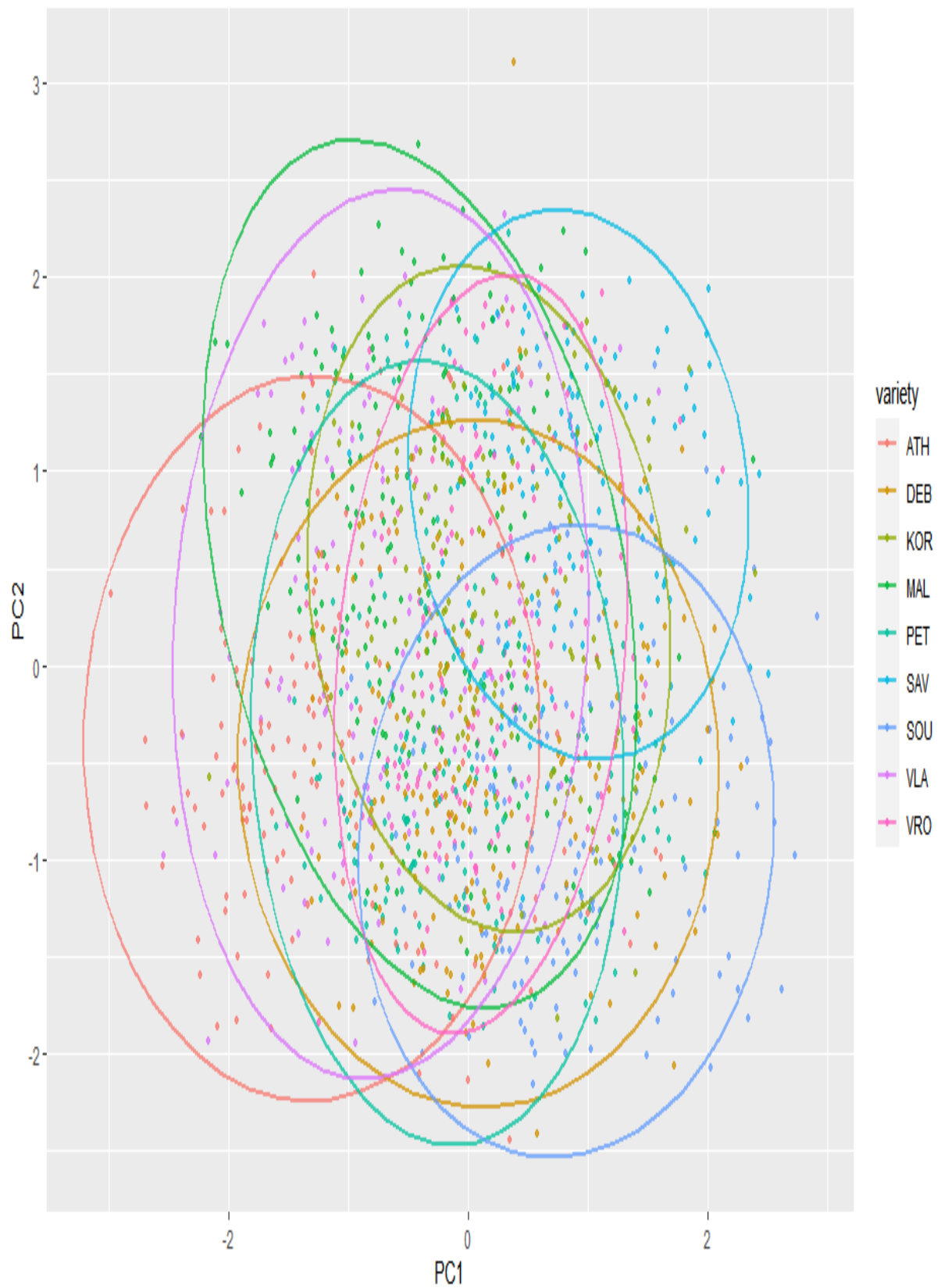
Από τους πίνακες των αποτελεσμάτων, είχαμε μέτρια αποτελέσματα, καθώς δεν είχαμε ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά ορθής ταυτοποίησης των ποικιλιών. Αρχικά φαίνεται ότι σε κάθε ποικιλία είναι μειωμένος ο αριθμός των ολικών φύλλων προς ανάλυση, π.χ. η Ντεμπίνα 174 φύλλα προς ανάλυση, Βλαχονικολής μόλις 110, καθώς αυτή η εργασία έχει συγκεκριμένους περιορισμούς (φύλλα αδύνατον να τοποθετηθούν χωρίς να καλύπτονται σε σημεία, χτυπημένα φύλλα, τυχόν ανακρίβεια στην τοποθέτηση οροσήμων).

Πιο συγκεκριμένα, για την ποικιλία αθήρι, απο τα 122 φύλλα που αναλύσαμε, τα 52 μπόρεσαν να ταυτοποιηθούν, δίνοντάς μας το ποσοστό του 42,6%. Βλέποντας και τις υπόλοιπες ποικιλίες έχουμε ένα μέσο όρο ταυτοποίησης στο 49%, με μεγαλύτερο ποσοστό την Μαλαμέζια, με ταυτοποίηση 61,1%. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων μπορούμε να πούμε ότι μας δίνουν μια καλή εικόνα ταυτοποίησης των ποικιλιών, αλλά όχι αρκετά υψηλό ποσοστό καθώς έχουμε μέσο όρο 50% σφάλματος.

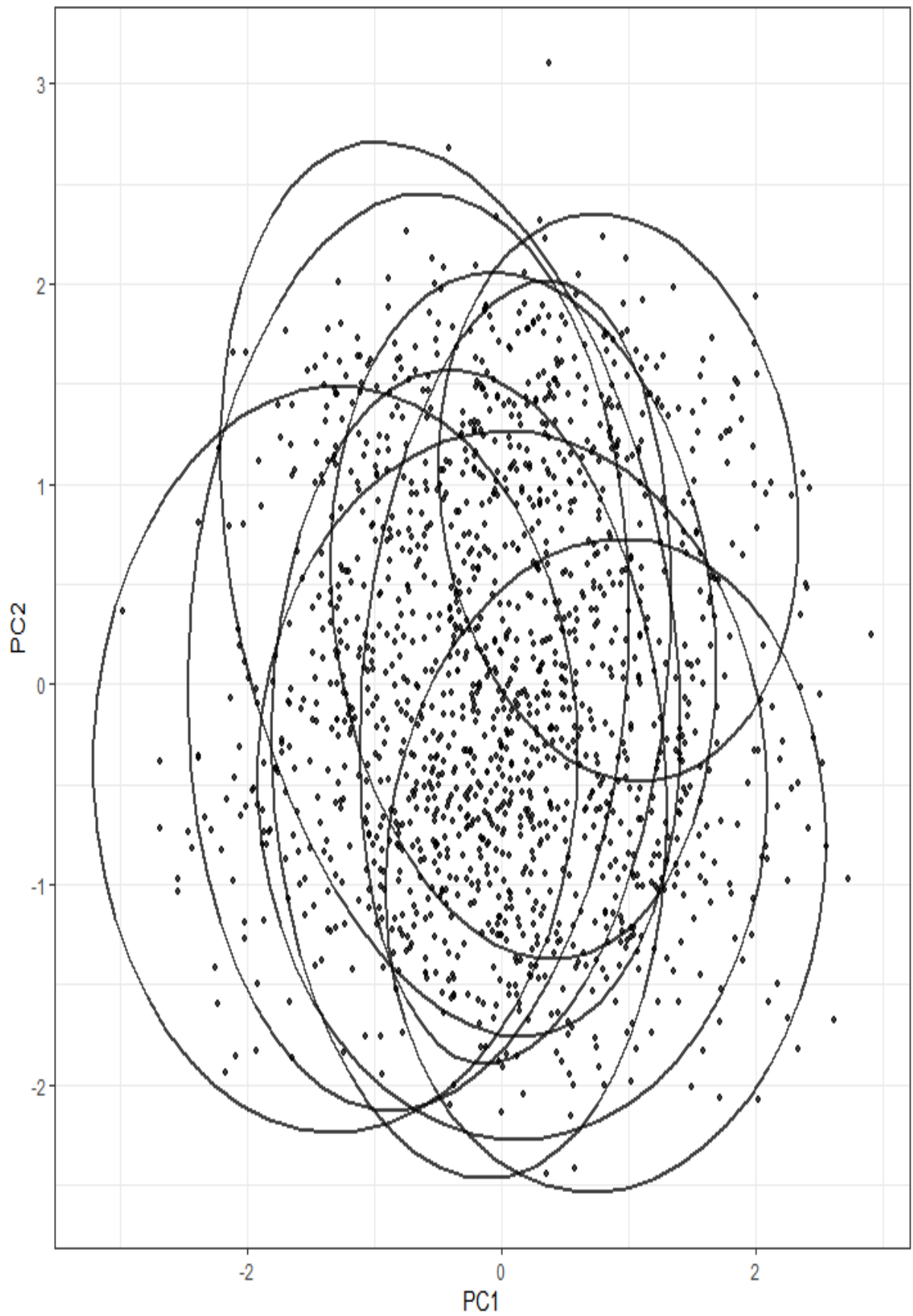
Έφόσον δεν έχουμε αρκετά υψηλά ποσοστά σωστής ταυτοποίησης με την μέθοδο προκρούστη, θεωρήσαμε σωστό να μην εφαρμόσουμε την μέθοδο Fourier στα δείγματά μας.



Εικόνα 11: Ποσοστιαίο γράφημα αποτελεσμάτων ανάλυσης προκρούστη



Εικόνα 12: Αποτελέσματα σωστών ταυτοποιήσεων βάση της ανάλυσης προκρούστη



Εικόνα 13: Αποτελέσματα σωστών ταυτοποιήσεων βάση της ανάλυσης προκρούστη

5 Συμπεράσματα

Η ταυτοποίηση γηγενών ποικιλιών την αμπέλου με την ανάλυση φύλλων, αποτελεί μια χρήσιμη μέθοδο για το μέλλον της αμπελοκαλλιέργειας και η χρήση του στο παρελθόν ήταν πολύτιμη. Οι εννέα γηγενείς ποικιλίες που αναλύθηκαν στο Ινστιτούτο Αμπέλου είχαν ως στόχο να αναλυθούν με τέτοιο τρόπο ώστε τα αποτελέσματα της ανάλυσης να μας έδιναν καλά αποτελέσματα ποσοστιαίας ταυτοποίησης. Κατά την διάρκεια αυτών των χρονοβόρων διεργασιών για την ανάλυση των φύλλων, αντιμετωπίστηκαν αρκετά προβλήματα και δυσκολίες. Πρώτο βήμα ήταν η δειγματοληψία των φύλλων κατά την περίοδο του καλοκαιριού, νωρίς το πρωί καθώς οι θερμοκρασίες ήταν αρκετά υψηλές. Στη συνέχεια, κατά την εισαγωγή των φύλλων στον χώρο όπου θα βγάzaμε τις φωτογραφίες, έπρεπε να τοποθετηθούν τα φύλλα μεταξύ των πλακών όπου υπήρχε συνέχεια το πρόβλημα επικάλυψης σημείων των φύλλων ή αρκετά μεγάλα μέρη του φύλλου που δεν μας επέτρεπαν να τα τοποθετήσουμε και να φαίνονται όλα τα σημεία, καθώς επίσης, υπήρχαν και αρκετά φύλλα με κομμένα τμήματα, πράγμα που παρεμπόδιζε επίσης τις μετρήσεις.

Έπειτα τα φύλλα έπρεπε να περαστούν σε ηλεκτρονική μορφή στον υπολογιστή, όπου ακολούθησε η επεξεργασία των φωτογραφιών, δηλαδή επιλογή της καλύτερης λήψης του κάθε φύλλου, σωστή μορφή αρχείων φωτογραφίας και στη συνέχεια τοποθετήσαμε τα ορόσημα στους νευρώνες στη κάτω μεριά των φύλλων. Τα ορόσημα αποτέλεσαν μια διαδικασία με μεγάλο κίνδυνο σφάλματος, καθώς το κάθε ορόσημο από τα δεκαεφτά για κάθε φύλλο ξεχωριστά έπρεπε να είναι σωστά τοποθετημένο με ακρίβεια. Κατά τη τοποθέτηση ορόσημων στα φύλλα, κρίθηκε αναγκαίος ο σχολιασμός σχεδόν κάθε φύλλου για τυχόν αλλοιώσεις των φύλλων, στραβών φύλλων κ.ο.κ. καθώς τέτοια φύλλα παρεμπόδιζαν τα σωστά αποτελέσματα των φύλλων (γι' αυτό βλέπουμε ότι δεν έχουμε ίδιο αριθμό αναλυμένων φύλλων σε κάθε ποικιλία). Στη συνέχεια ακολούθησαν οι αναλύσεις των φύλλων μέσω των προγραμμάτων Procrustes και LDA, όπου λάβαμε τα αποτελέσματα ταυτοποίησης των φύλλων. Σε τελική φάση η ανάλυση Fourier δεν εφαρμόστηκε.

Οι αναλύσεις ταυτοποίησης των γηγενών ποικιλιών μας έδωσαν ένα μέσο ποσοστιαίο όρο του πενήντα τις εκατό, που σημαίνει ότι είχαμε πενήντα τις εκατό πιθανότητα σφάλματος ταυτοποίησης κάθε φύλλου με την σωστή ποικιλία, καλό σαν αποτέλεσμα, αλλά όχι αρκετά υψηλό. Πιθανότητες σφαλμάτων μπορούμε να θεωρήσουμε το ανθρώπινο σφάλμα, δηλαδή να μην τοποθετήσαμε σωστά τα φύλλα μεταξύ των πλακών, να μην βάλουμε ακριβώς τα ορόσημα σε κάθε φύλλο ή να μην θεωρήσαμε ακριβείς αποστάσεις στο πρόγραμμα ImageJ.

Επόμενο σφάλμα θα μπορούσε να θεωρηθεί η δισμορφία κάποιων φύλλων, όπως στραβοί νευρώνεις, καμπυλωμένο φύλλο ή γενικά μερικές από τις ποικιλίες μας να μην έχουν φύλλα που μπορούν να ταυτοποιηθούν με τις δικές μας μεθόδους. Επίσης θα μπορούσαμε να πούμε ότι οι ποικιλίες που αναλύσαμε έχουν παρόμοια φύλλα, κάνοντας δυσκολότερη τη μέθοδο ταυτοποίησης για το πρόγραμμα. Σε τελική ανάλυση όσες περισσότερες ποικιλίες είναι προς ανάλυση, τόσο πιο δύσκολη γίνεται η διάκριση των ποικιλιών, καθώς θα ήταν πολύ πιο εύκολη διαδικασία να αναλύσουμε δυο ποικιλίες με τελείως διαφορετικό φύλλωμα σε σχέση με πολλαπλές ποικιλίες με κοινό φύλλωμα.

Εν κατακλείδι, η διαδικασία που ακολουθήσαμε μέσω των αναλύσεων προκρούστη, αποτέλεσε μια αρκετά δύσκολη και μακρόχρονη διαδικασία, που θα μπορούσε να αποδώσει ίσως καλύτερα αποτελέσματα σε ένα άλλο περιβάλλον με λιγότερες και επιλεγμένες ποικιλίες.

6 Βιβλιογραφία

- Chitwood, Daniel. (2020): The shapes of wine and table grape leaves: An ampelometric study inspired by the methods of Pierre Galet. *PLANTS, PEOPLE, PLANET*. 3. 10.1002/ppp3.10157.
- Diaz G (2017): Contour recognition of complex leaf shapes. *PLoS ONE* 12(12): e0189427. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189427>
- Gago, Pilar & Conéjéro, Geneviève & Martínez, María-Carmen & S., Boso & This, Patrice & Verdeil, Jean-Luc. (2016): Microanatomy of leaf trichomes: opportunities for improved ampelographic discrimination of grapevine (*Vitis vinifera* L.) cultivars: Grapevine leaf trichomes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 22. 10.1111/ajgw.12226.
- Klein LL, Caito M, Chapnick C, Kitchen C, O'Hanlon R, Chitwood DH and Miller AJ (2017): Digital Morphometrics of Two North American Grapevines (*Vitis*: Vitaceae) Quantifies Leaf Variation between Species, within Species, and among Individuals. *Front. Plant Sci.* 8:373. doi: 10.3389/fpls.2017.00373
- Li M, An H, Angelovici R, Bagaza C, Batushansky A, Clark L, Coneva V, Donoghue MJ, Edwards E, Fajardo D, Fang H, Frank MH, Gallaher T, Gebken S, Hill T, Jansky S, Kaur B, Klahs PC, Klein LL, Kuraparthi V, Londo J, Migicovsky Z, Miller A, Mohn R, Myles S, Otoni WC, Pires JC, Rieffer E, Schmerler S, Spriggs E, Topp CN, Van Deynze A, Zhang K, Zhu L, Zink BM, Chitwood DH. (2018): Topological Data Analysis as a Morphometric Method: Using Persistent Homology to Demarcate a Leaf Morphospace. *Front Plant Sci.*9:553. doi: 10.3389/fpls.2018.00553. PMID: 29922307; PMCID: PMC5996898.
- Oso, Oluwatobi & Jayeola, Adeniyi. (2020): Botanical Digitization: Application of MorphoLeaf in 2D Shape Visualization, Digital Morphometrics, and Species Delimitation, using Homologous Landmarks of Cucurbitaceae Leaves as a Model. 10.1101/2020.11.16.384230.
- Soldavini, C. & Stefanini, Marco & Dallaserra, M. & Policarpo, Maria & Schneider, A. (2009): Super ampelo, a software for ampelometric and ampelographic descriptions in vitis. *Acta Horticulturae*. 827. 253-258. 10.17660/ActaHortic.2009.827.43.
- Valamoti, Soultana & Pagnoux, Clémence & Ntinou, Maria & Bouby, Laurent & Bonhomme, Vincent & Terral, Jean-Frédéric. (2020): More than meets the eye: new archaeobotanical evidence on Bronze Age viticulture and wine making in the Peloponnese, Greece. *Vegetation History and Archaeobotany*. 29. 10.1007/s00334-019-00733-6.