



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

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**Μορφομετρική ανάλυση φύλλων μερικών βελτιωμένων
και ξενικής προελεύσεως ποικιλιών της αμπέλου**

Χρήστος Σαλβάρης

ΑΜ: 718151082

**Επιβλέπων/-ουσα
Ονοματεπώνυμο:**

Καθ. Ηλίας Κόρκας

ΑΘΗΝΑ, Φεβρουάριος 2023



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

BACHELOR THESIS

**Morphometric analysis of leaves of some improved
and foreign origin varieties of grapevine**

CHRISTOS SALVARIS

Registration Number: 718151082

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

ATHENS, February 2023



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

ΔΗΛΩΣΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Οι υπογράφωντες δηλώνουμε ότι έχουμε εξετάσει τη διπλωματική εργασία με τίτλο:

**«Μορφομετρική ανάλυση φύλλων μερικών βελτιωμένων
και ξενικής προελεύσεως ποικιλιών της αμπέλου»
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 **Χρήστος Σαλβάρης** του **Ιωάννη**, με αριθμό μητρώου **718151082** 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 Δηλών



(Όνοματεπώνυμο & Υπογραφή)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στοιχεία της μορφολογίας ενός φύλλου της αμπέλου, όπως είναι το σχήμα και το μέγεθος του, η μορφή των οδόντων, των κόλπων, και των λοβών, παρέχουν πλήθος πληροφοριών για την ποικιλία της αμπέλου στην οποία ανήκει ένα φυτό. Στην παρούσα εργασία, παρουσιάζεται μία μέθοδος ανάλυσης της μορφολογίας μεμονωμένων φύλλων, η οποία ονομάζεται Μορφομετρική Ανάλυση Φύλλων (ΜΑΦ) και η οποία χρησιμοποιήθηκε για την ταξινόμηση φύλλων επτά βελτιωμένων (Chardonnay Ελλάς, Ευκλείδης, Ευτυχία, Μακεδόνας, Χαρά Λεωνιδών, Αργοναυτικό, Γεωργάκης) και τριών ξενικής προέλευσης (Chenin Blanc, Petit Manseng, Ugni Blanc) ποικιλιών αμπέλου. Στόχος της μελέτης ήταν η αξιολόγηση της ΜΑΦ για την διάκριση ποικιλιών αμπέλου με βάση ορισμένα μορφολογικά γνωρίσματα μεμονωμένων φύλλων. Για την ΜΑΦ, και συγκεκριμένα την Γεωμετρική Μορφομετρική Ανάλυση (ΓΜΑ), χρησιμοποιήθηκαν ψηφιακά μέσα καθώς και εξειδικευμένα λογισμικά. Η διαδικασία περιλάμβανε τη συλλογή φύλλων, τη σάρωση και τη λήψη εικόνων, την διόρθωση τους (IED - Imaging Edge Desktop), τη λήψη σημείων αναφοράς (Landmarks) στα φύλλα, τη Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση (GPA), και, τέλος, την Γραμμική Ανάλυση Διάκρισης (LDA). Η ορθότητα της ταξινόμησης μεμονωμένων φύλλων στην ποικιλία που ανήκουν ήταν αρκετά ψηλή αλλά διέφερε από ποικιλία σε ποικιλία.

Λέξεις κλειδιά: Μορφομετρική Ανάλυση Φύλλων, Γεωμετρική Μορφομετρική Ανάλυση, Σημεία Αναφοράς (Landmarks), Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση, Ανάλυση Γραμμικής Διάκρισης, ποικιλίες αμπέλου

ABSTRACT

Elements of the morphology of a vine leaf, such as its shape and size, the shape of teeth, sinuses, and lobes, provide a wealth of information about the variety of vine to which a plant belongs. In this thesis, a method of analysis of the morphology of individual leaves is presented, which is called Morphometric Analysis of Leaves, and which was used to classify leaves of seven improved (Chardonnay Hellas, Euclid, Eftychia, Macedonian, Chara Leonidon, Argonautic, Georgakis) and three foreign origin (Chenin Blanc, Petit Manseng, Ugni Blanc) grape varieties. The aim of the study was to evaluate Morphometric Analysis of Leaves to distinguish vine varieties based on certain morphological features of individual leaves. For this purpose, a special type of Morphometric Analysis of Leaves was applied and specifically the Geometric Morphometric Analysis (GMA). The process included collecting leaves, scanning, and capturing images, correcting them (IED - Imaging Edge Desktop), taking Landmarks on sheets, Generalized Procrustean Analysis (GPA), and finally Linear Discrimination Analysis (LDA). The correctness of the classification of individual leaves in the variety they belong to was quite high, but differed from variety to variety.

Keywords: Leaf Morphometric Analysis, Geometric Morphometric Analysis, Landmarks, Generalized Procrustes Analysis, Linear Discriminant Analysis, vine varieties

Ευχαριστίες

Με την περάτωση των σπουδών μου θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου κ. Κόρκα Ηλία, όπως και τον κ. Δρ. Τάσκο Δημήτριο για το θέμα διπλωματικής εργασίας που μου ανέθεσαν, αλλά και για όλη την καθοδήγηση τους με σκοπό την ολοκλήρωση της εργασίας μου, όπως και το τμήμα Επιστημών Οίνου, Αμπέλου και Ποτών για τις γνώσεις που έλαβα κατά την διάρκεια των σπουδών μου.

Πίνακας περιεχομένων

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
2	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	2
2.1	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΚΑΙ ΕΞΩΓΕΝΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ	2
2.2	ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	4
2.3	ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ LANDMARKS, PROCRUSTES ΚΑΙ PCA	11
3	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	13
3.1	ΣΥΛΛΟΓΗ ΦΥΛΛΩΝ, ΣΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΕΙΚΟΝΩΝ	13
3.2	ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΣΗΜΕΙΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (LANDMARKS) ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	17
3.3	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΣΗΜΕΙΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (LANDMARKS) ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΗΣ ΠΡΟΚΡΟΥΣΤΕΙΑΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	21
4	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ	22
4.1	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΗΣ ΠΡΟΚΡΟΥΣΤΕΙΑΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ (GPA) ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	22
4.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΔΙΑΚΡΙΣΗΣ (LDA) ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	23
5	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	25
6	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	26

Συντημήσεις, ακρωνύμια, σύμβολα και ορισμοί

LM, Landmarks

EFDs, Elliptical Fourier Descriptors

GPA, Generalized Procrustes Analysis

IED, Imaging Edge Desktop

PCA, Principal Component Analysis

LDA, Linear Discriminant Analysis

ΑΛ, Ακραίος λοβός

ΑΠΚ, Ανώτερος πλάγιος κόλπος

ΑΠΛ, Ανώτερος πλάγιος λοβός

ΚΠΚ, Κατώτερος πλάγιος κόλπος

ΚΠΛ, Κατώτερος πλάγιος λοβός

ΜΚ, Μισχικός κόλπος

ΜΑΦ, Μορφομετρική Ανάλυση Φύλλων

ΠΜΑ, Παραδοσιακή Μορφομετρική Ανάλυση

ΓΜΑ, Γεωμετρική Μορφομετρική Ανάλυση

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μελέτη της χρονικής και χωρικής διακύμανσης της μορφολογίας των φύλλων αποτελεί σημαντικό πεδίο ερευνών της βιοποικιλότητας των φυτών γιατί αντανακλά το γενετικό και αναπτυξιακό υπόβαθρο που ρυθμίζει την μορφολογία των φύλλων, ενώ μπορεί να έχει λειτουργική επίδραση στην πρόσληψη του φωτός, τις υδατικές σχέσεις και την ρύθμιση της θερμοκρασίας (Chitwood et al. 2015).

Μορφομετρική Ανάλυση Φύλλων (ΜΑΦ) είναι η διαδικασία αξιολόγησης των μορφολογικών χαρακτηριστικών μεμονωμένων φύλλων διαφόρων φυτικών ειδών, με την εφαρμογή διαφόρων χειρωνακτικών μετρήσεων ή ψηφιακών μεθόδων. Η ΜΑΦ χρησιμοποιείται σε διάφορα επιστημονικά πεδία όπως η συστηματική βοτανική, η μορφολογία φυτών και η γενετική βελτίωση γιατί η διακύμανση της μορφολογίας των φύλλων μπορεί, μεταξύ άλλων, να συμβάλλει στην διάκριση ειδών ή μεμονωμένων γενοτύπων ή να δώσει πληροφορίες για την υγεία των φυτικών οργανισμών (Klein and Svoboda 2017).

Ως ευρύτερη έννοια η **Μορφομετρική Ανάλυση** διακρίνεται σε δύο κατηγορίες αναλύσεων. Μία από αυτές τις κατηγορίες είναι η **Παραδοσιακή Μορφομετρική Ανάλυση (ΠΜΑ)**, η οποία χρησιμοποιεί φυσικές μεθόδους για την περιγραφή των χαρακτηριστικών κάποιου αντικειμένου. Η άλλη κατηγορία είναι αυτή της **Γεωμετρικής Μορφομετρικής Ανάλυσης (ΓΜΑ)**, η οποία χρησιμοποιεί ψηφιακές μεθόδους και εξειδικευμένα λογισμικά για προχωρημένες μαθηματικές αναλύσεις. Η ΓΜΑ περιλαμβάνει διάφορες μεθόδους, όπως η **ανάλυση εικόνας (Image analysis)**, η **ανάλυση περιγράμματος (Outline analysis)**, η **ανάλυση σημείων αναφοράς (Landmarks)**, η **Ελλειπτική Fourier Ανάλυση (EFA)** και η **Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση (GPA- Generalized Procrustes Analysis)** (Klein et al. 2017). Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήσαμε την μορφολογία μεμονωμένων κύριων φύλλων διαφόρων ποικιλιών της αμπέλου με δύο μεθόδους της ΓΜΑ, της ανάλυσης σημείων αναφοράς και της GPA με σκοπό να διαπιστώσουμε κατά πόσο η ΓΜΑ μεμονωμένων φύλλων μπορεί να συμβάλλει στην διάκριση ποικιλιών της αμπέλου. Για τον σκοπό αυτό επιλέξαμε βελτιωμένες, αλλά και ξενικής προέλευσης ποικιλίες αμπέλου οι οποίες διατηρούνται στην Εθνική Συλλογή Ποικιλιών της Αμπέλου στον αμπελώνα του Ινστιτούτου Αμπέλου στην Λυκόβρυση Αττικής.

2 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΚΑΙ ΕΞΩΓΕΝΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΑΜΠΕΛΟΥ

Η μορφολογία των φύλλων επηρεάζεται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες. Η χρονική μεταβολή του σχήματος των φύλλων είναι αποτέλεσμα της αλλομετρικής αύξησης (οι διαφορετικές περιοχές του φύλλου αυξάνονται με διαφορετικό ρυθμό) και του ρυθμού με το οποίο εμφανίζονται τα φύλλα στους κόμβους του βλαστού. Ταυτόχρονα με τη χρονική μεταβολή του σχήματος εκδηλώνονται επιδράσεις γενετικών παραγόντων οι οποίοι μπορεί να αλληλοεπιδρούν με παράγοντες του περιβάλλοντος προσδίδοντας την παρατηρούμενη πλαστικότητα του σχήματος (Chitwood et al. 2015).

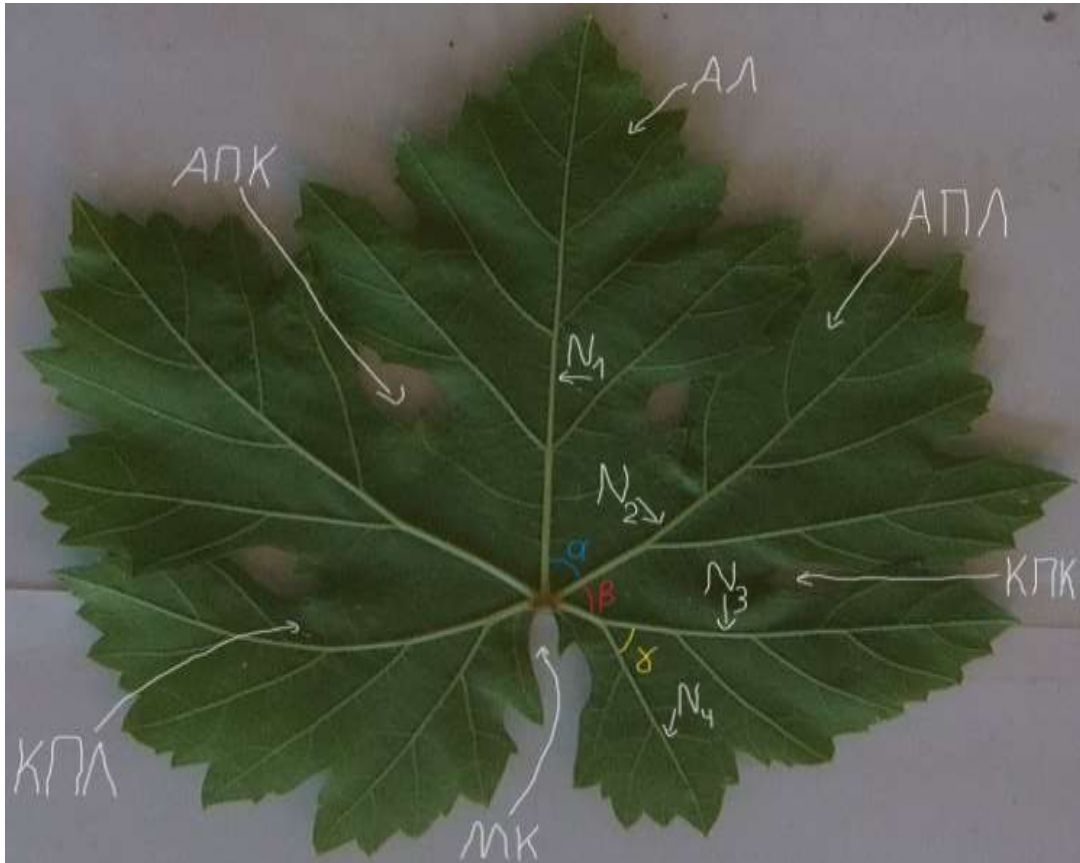
Είναι γεγονός ότι διάφορα παθογόνα, όπως οι μύκητες, οι ιοί, κ.α., ή διαφόρων ειδών τροφοπενίες μπορούν να επηρεάσουν σε μικρότερο ή σε μεγαλύτερο βαθμό τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φύλλων της αμπέλου (νευρώσεις, λοβοί, κόλποι, κλπ.) προκαλώντας μεταβολές που πολλές φορές δεν είναι εύκολα αντιληπτές με γυμνό μάτι. Τέτοιες αλλοιώσεις έχουν ως συνέπεια την τροποποίηση της μορφολογίας των φύλλων που γίνεται αντιληπτή κυρίως ως τροποποίηση του σχήματος αυτών. Ως χαρακτηριστικό παράδειγμα τέτοιας επίδρασης, μπορούμε να αναφέρουμε τις αλλοιώσεις που μπορεί να προκαλέσει στην μορφολογία των φύλλων ο Μολυσματικός Εκφυλισμός, μία από τις ευρέως διαδεδομένες ιολογικές ασθένειες της αμπέλου (ΡΟΥΜΠΟΣ 2016). Μερικές από τις επιδράσεις αυτής της ασθένειας στα φύλλα είναι ότι:

1. συχνά μπορεί να παρατηρηθεί αύξηση του αριθμού των νευρώσεων, με αποτέλεσμα το έλασμα να φαίνεται διπλό
2. αυξάνεται το άνοιγμα του μισχικού κόλπου
3. παρατηρείται μη ομαλή ανάπτυξη των νευρώσεων.

Έτσι, για παράδειγμα, βρέθηκε ότι κάποιες από τις μορφολογικές διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ φυτών διαφορετικών κλώνων της ποικιλίας Nebbiolo, οφείλονταν σε προσβολές από τον Μολυσματικό εκφυλισμό και όχι σε γενετικές διαφορές των κλώνων (Botta et al. 2000). Αυτού του είδους οι βιοτικές επιδράσεις στην μορφολογία των μεμονωμένων φύλλων της αμπέλου μπορούν να ανιχνευθούν και να μελετηθούν με την ΓΜΑ των φύλλων (Klein et al. 2017).

Τα μορφολογικά γνωρίσματα των ανεπτυγμένων φύλλων της αμπέλου είναι ιδιαίτερης σημασίας για την ταυτοποίηση και διάκριση των ποικιλιών της αμπέλου, ζητήματα με τα

οποία ασχολείται η Αμπελογραφία. Κάθε φύλλο της αμπέλου, όπως και οποιοδήποτε φύλλο του φυτικού είδους, έχει μία βασική μορφολογική υπόσταση που καθορίζεται από τα δομικά μέρη του φύλλου. Στην παρακάτω εικόνα (Εικ.1, λήψη εικόνας από την κάμερα υψηλής ευκρίνειας) διακρίνονται τα δομικά μέρη ενός ανεπτυγμένου φύλλου αμπέλου.

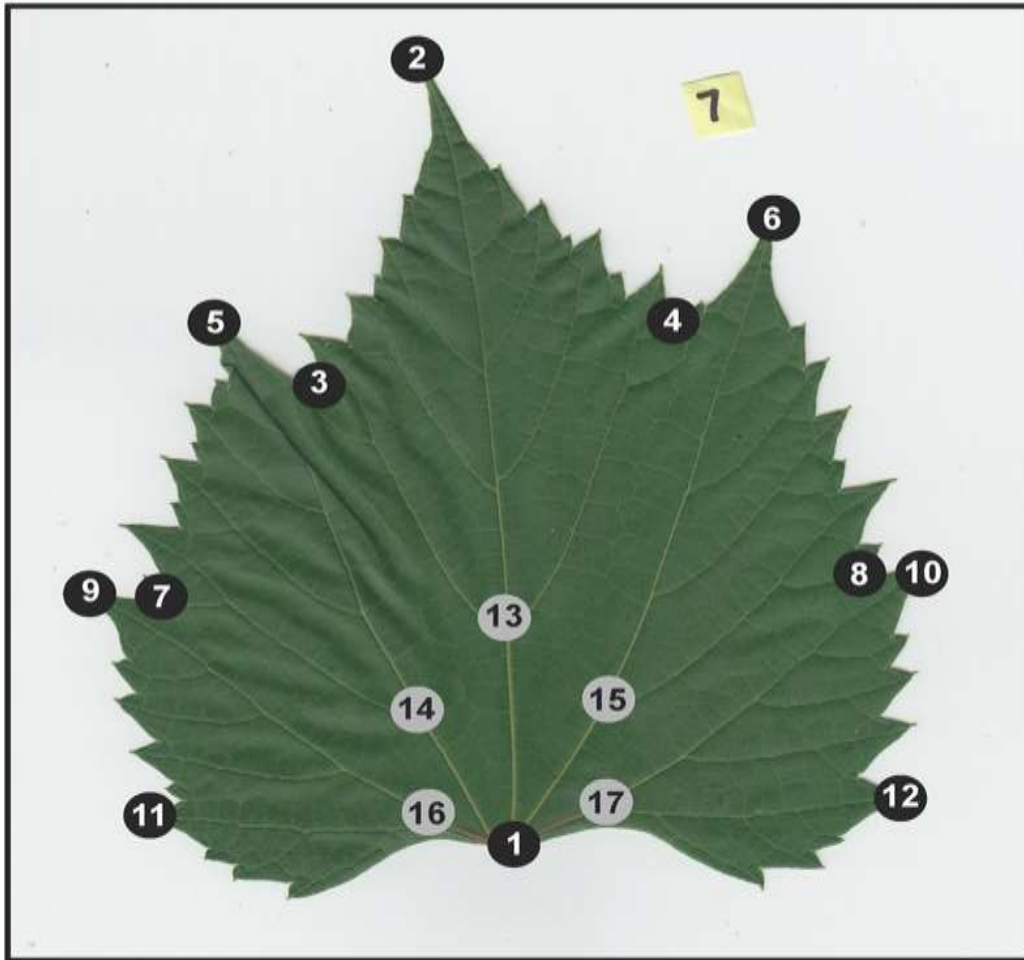


Εικόνα 1 Μορφολογική δομή φύλλου αμπέλου.

Συγκεκριμένα: α , β , γ είναι οι γωνίες που σχηματίζονται μεταξύ των νευρώσεων, N_1 , N_2 , N_3 , οι οποίες αποτελούν τις κύριες νευρώσεις, N_4 είναι η δευτερεύουσα ή μισχική νευρώση. Όσο αφορά τις γωνίες α , β , γ , η α σχηματίζεται μεταξύ των νευρώσεων N_1 και N_2 , η β μεταξύ των νευρώσεων N_2 και N_3 και η γωνία γ σχηματίζεται μεταξύ των νευρώσεων N_3 και N_4 . Τα υπόλοιπα μέρη αφορούν τους κόλπους και λοβούς που διαθέτει κάθε φύλλο. Οι λοβοί χωρίζονται σε ακραίους, ανώτερους και κατώτερους πλάγιους λοβούς, ενώ οι κόλποι διακρίνονται σε ανώτερους και κατώτερους πλάγιους, καθώς και τον μισχικό κόλπο (ΣΤΑΥΡΑΚΑΣ, 2011).

2.2 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Η **μορφομετρική ανάλυση** είναι μία κλασσική μέθοδος με την οποία πραγματοποιείται σύγκριση και ταξινόμηση δειγμάτων από διάφορες κατηγορίες φυτών με βάση τα μορφολογικά τους γνωρίσματα. Το αντικείμενο της διαδικασίας αυτής βασίζεται κυρίως στην ανάλυση στοιχείων της μορφολογίας των φυτών, επομένως και του σχήματος των φύλλων. Για την εκτέλεση αυτής της ανάλυσης χρησιμοποιείται επαρκές δείγμα μεμονωμένων φύλλων ή άλλων οργάνων των φυτών. Γενικά ως μεθοδολογία η μορφομετρική ανάλυση βρίσκει εφαρμογή σε αρκετούς και ποικίλους τομείς που σχετίζονται με την βιολογία των φυτών. Και οι δύο μεγάλες κατηγορίες της μορφομετρίας, η παραδοσιακή και η γεωμετρική μορφομετρία, έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Συγκεκριμένα η **παραδοσιακή μορφομετρία** παρέχει σημαντικές πληροφορίες μέσω ειδικών συστημάτων περιγραφής στα οποία όμως σημαντικό ρόλο παίζει η εμπειρία του παρατηρητή ενώ απαιτείται σημαντική δαπάνη χρόνου. Αντίθετα η **γεωμετρική μορφομετρία** βασίζεται στην ποσοτική αναπαράσταση του σχήματος με την χρήση σημείων αναφοράς (**Εικ.2**). Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιούνται ψηφιακές εικόνες επί των οποίων τοποθετούνται συγκεκριμένα σημεία αναφοράς που στη συνέχεια χρησιμοποιούνται ως βάση για ανάλυση. Το πλεονέκτημα που προκύπτει, μέσω αυτού του τρόπου, είναι η δυνατότητα άντλησης μεγάλου αριθμού μορφολογικών χαρακτηριστικών τα οποία είναι πιθανό να μην είναι άμεσα εμφανή ή να μην διακρίνονται με εύκολο τρόπο με την παραδοσιακή μορφομετρία. Δεδομένου ότι το σχήμα των φύλλων έχει δυναμικό χαρακτήρα, ένα ακόμη πλεονέκτημα της γεωμετρικής μορφομετρίας είναι η μεγάλη ποικιλία αναλύσεων που μπορεί να γίνει ανάλογα με τον σκοπό της μελέτης με την χρήση διαφορετικών λογισμικών που τρέχουν σε διάφορες πλατφόρμες (**Chuanromanee et al. 2019**). Έτσι, είναι εφικτές χρήσιμες αναλύσεις της μορφολογίας των φύλλων όπως η ανάλυση του περιγράμματος των φύλλων (Ελλειπτική ανάλυση Fourier - Elliptical Fourier Descriptor Analysis – EFDs) ή η ανάλυση του σχήματος με την χρήση σημείων αναφοράς (Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση - Generalized Procrustes Analysis – GPA) (**Klein et al. 2017**). Ένα σημαντικό πλεονέκτημα των αναλύσεων που προαναφέρθηκαν είναι ότι ο χαρακτηρισμός του σχήματος των φύλλων είναι ανεξάρτητος από το μέγεθος αυτών, δίνοντας έτσι την δυνατότητα εντοπισμού διαφορών μεταξύ φύλλων που οφείλονται αποκλειστικά στο σχήμα τους και όχι στο μέγεθος (**Klein et al. 2017**). Σε κάθε περίπτωση τα διάφορα είδη της γεωμετρικής μορφομετρικής ανάλυσης προσφέρουν την δυνατότητα ταχέως χαρακτηρισμού του σχήματος των φύλλων σε μεγάλα δείγματα (**Min et al. 2018**).



Εικόνα 2 Στο παραπάνω σχήμα παρουσιάζεται ένα παράδειγμα χρήσης σαρωτή σε φύλλο ξενικής ποικιλίας αμπέλου του είδους *Vitis riparia*, στο οποίο έχουν τοποθετηθεί και εφαρμοστεί 17 σε αριθμό σημεία αναφοράς (landmarks). Από αυτά τα σημεία αναφοράς διακρίνονται αυτά με τις μαύρες και γκριζες κουκκίδες. Τα σημεία με την μαύρη ένδειξη αποτελούν τα εξωτερικά, όπως χαρακτηρίζονται, σημεία αναφοράς και περιλαμβάνουν το περίγραμμα των φύλλων, όπως και το σύνολο των λοβών και των κόλπων. Από την άλλη πλευρά τα σημεία με τη γκριζα ένδειξη αποτελούν τα εσωτερικά, όπως αυτά επίσης χαρακτηρίζονται, σημεία αναφοράς και παρουσιάζουν την αρχιτεκτονική των φλεβών του φύλλου.

Η ΜΑΦ μπορεί να εφαρμοστεί σε νωπά δείγματα ακέραιων φύλλων, σε δείγματα φυτολογίου ή και σε απολιθωμένα δείγματα στα οποία η μορφή των φύλλων είναι ευκρινής.

Η εκτεταμένη πλαστικότητα της μορφολογίας των φύλλων της αμπέλου και των παραγόντων που την καθορίζουν αποτέλεσε αντικείμενο σημαντικού αριθμού μελετών. Οι (Chitwood et al. 2015), πραγματοποίησαν ψηφιακή μορφομετρική ανάλυση (Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση) χρησιμοποιώντας 17 σημεία αναφοράς σε σαρωμένες εικόνες περισσότερων από 3000 φύλλων που προέρχονταν από 270 φυτά διαφορετικών ειδών της αμπέλου. Τα αποτελέσματα της ΜΑΦ έδειξαν ότι εξελικτικοί και αναπτυξιακοί παράγοντες, δρώντας ανεξάρτητα, συμβάλλουν στην παρουσία λανθανόντων μορφών σχήματος που συνδυαζόμενες προσδίδουν στα φύλλα της αμπέλου την εξαιρετικά σύνθετη μορφολογία τους.

Σε άλλη έρευνα του σχήματος των φύλλων έγινε χρήση της μεθόδου ανάλυσης των σημείων αναφοράς για το σχήμα τους μέσω πολυγωνικού προσδιορισμού. Η έρευνα αυτή είχε ως στόχο την μελέτη 7 κατηγοριών σχημάτων φύλλου. Στην προσπάθεια ανάλυσης του σχήματος του φύλλου έχει διαπιστωθεί ότι η ανάλυση αυτή αποτελεί ορισμένες φορές πολύπλοκο ζήτημα της αντίληψης, αλλά και της όρασης. Επίσης, η μέθοδος της ανάλυσης σημείων αναφοράς του σχήματος των φύλλων, αλλά και σε ευρύτερη εφαρμογή της μεθόδου αυτής σε διάφορων ειδών κλάδους και επιστήμες αποτελεί πυλώνα της Γεωμετρικής Μορφομετρικής Ανάλυσης. Όμως έχει εμφανίσει κάποια μειονεκτήματα όπως σε πρώτη παρατήρηση ότι δεν υπάρχει εξαρχής αντιστοίχιση των σημείων αναφοράς ανάμεσα στα σχήματα, παρόλο που τα σχήματα προβάλλουν εύκαμπτες παραλλαγές σε ένα είδος, με αποτέλεσμα η εύρεση σε αντιστοιχίες ανάμεσα στα σχήματα να είναι ακόμη πιο πολύπλοκη. Σε δεύτερη παρατήρηση ότι αυτοί οι μέθοδοι που αφορούν τα σημεία αναφοράς έχουν την ιδιότητα να πραγματοποιηθούν, μέσω κάποιας αρχικής επεξεργασίας χωρίς να αλλοιωθούν κατά την μετάθεση, περιστροφή, αλλά και την κλίμακα τους. Επιπλέον δεν παρουσιάζουν αλλοίωση όσο αφορά την λήψη παραμέτρων στα σχήματα. Σε τρίτη παρατήρηση οι μέθοδοι των σημείων αναφοράς χρησιμοποιούν ως υπόθεση ότι τα σχήματα που δρομολογούνται για ανάλυση αποτελούν σημεία του ευκλείδειου χωρίου και ότι εφαρμόζεται σε αυτά η κατανομή Gauss, με αποτέλεσμα τον περιορισμό της στατιστικής ανάλυσης λόγω χρήσης αυτής της κατανομής (Firmansyah et al. 2016).

Ακόμη, η διαδικασία της μορφομετρικής ανάλυσης εφαρμόστηκε σε μελέτη που αφορούσε συνολικά 20 ποικιλίες αμπέλου της Αρμενίας εκ των οποίων οι 10 οινοποιήσιμες και 10 επιτραπέζιες. Στόχος αυτής της μελέτης ήταν μέσω διάφορων αναλύσεων, όπως και της μορφομετρικής ανάλυσης, να γίνει προσδιορισμός του φαινοτύπου σε αρμένικα αμπέλια συγκρίνοντας αυτόν τον αριθμό των δύο ειδών ποικιλιών. Από τα αποτελέσματα της μορφομετρικής ανάλυσης των δειγμάτων μούρων που χρησιμοποιήθηκαν προέκυψε το συμπέρασμα ότι τα σταφύλια των επιτραπέζιων ποικιλιών είχαν μεγαλύτερη μορφολογία, σχήμα και μέγεθος, όπως και υψηλότερο βάρος από τα σταφύλια των οινοποιήσιμων ποικιλιών (Aroutiounian et al. 2015).

Το σχήμα των φύλλων από κάθε φυτικό είδος αποτελεί βασικό κριτήριο για τον κλάδο της βιολογίας, καθώς βοηθάει στην μεταξύ διάκριση τους, την ανίχνευση για ενδεχόμενη προσβολή τους από ασθένειες, στην ανάλυση των σχετικών προτύπων ανάπτυξης τους, όπως και στην κατανόηση των συσχετισμών ανάμεσα στα διάφορα είδη. Το μεγαλύτερο πλήθος μεθόδων που έχουν εφαρμοστεί παλαιότερα έχουν ως επίκεντρο την σύγκριση του σχήματος ανάμεσα σε μεμονωμένα φύλλα κάνοντας χρήση περιγραφικών ή πλήθος πεπερασμένων

σημείων αναφοράς. Όμως, οι αναπαραστάσεις που στηρίζονται σε περιγραφείς, δεν παρουσιάζουν αντιστρεψιμότητα με αποτέλεσμα την δυσκολία της απεικόνισης της μεταβλητότητας των περιγραφέων σε μεταβλητότητα του σχήματος. Αντίθετα, το πλήθος των τεχνικών που στηρίζονται σε σημεία αναφοράς απαιτεί την ανίχνευση αυτόματα, όπως και καταγραφή σημείων αναφοράς, το οποίο είναι αρκετά δύσκολο σε φύλλα φυτών που έχουν μεγάλο βαθμό παραλλακτικότητα εντός και γενικά, ανάμεσα στα είδη (Laga et al. 2014). Επίσης, η διαδικασία της μορφομετρικής ανάλυσης έχει αξιοποιηθεί σε έρευνα που αφορούσε την μελέτη ποικιλιών λευκής μουριάς (*Morus alba* L.). Συγκεκριμένα στόχος της έρευνας αυτής ήταν από την χρήση της ανάλυσης της εικόνας και της ανάλυσης δεδομένων πολλαπλών μεταβλητών να γίνει προσδιορισμός από μορφομετρικά χαρακτηριστικά φύλλων και σπόρων για την διάκριση των ποικιλιών λευκής μουριάς. Το αποτέλεσμα της έρευνας αυτής από την χρήση της μορφομετρικής ανάλυσης, αλλά και των υπόλοιπων αναλύσεων έδειξε ότι ο συνδυασμός αυτών των αναλύσεων αποτελεί σημαντικό εργαλείο κατηγοριοποίησης, αλλά και χαρακτηρισμού (Lo Bianco et al. 2018).

Μία σε μεγάλο βαθμό πρόκληση που παρουσιάζεται στην μορφομετρία είναι η ανάλυση στα βιολογικά πολύπλοκα σχήματα τα οποία δημιουργούνται από δομές σε ανόμοιες κλίμακες. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα που διακρίνει αυτού του είδους την πρόκληση είναι τα φύλλα, επειδή συνδυάζουν διαφορές στην συνολική μορφή του σχήματος τους με πιο μικρές παραλλαγές του σχήματος στο περιθώριο τους, με αποτέλεσμα να οδηγούν είτε σε λοβούς είτε σε οδόντες. Οι κύριες μέθοδοι που στηρίζονται είτε στην ανάλυση του περιγράμματος είτε στην ανάλυση σημείων αναφοράς φέρουν επιτυχία στην ποσοτικοποίηση στο συνολική μορφή του σχήματος των φύλλων ή στην διαίρεση των περιθωρίων των φύλλων, όμως δεν φέρουν αποτέλεσμα όταν συνδυάζονται μεταξύ τους. Ακόμη, η μορφομετρία στηρίζεται πιο συχνά στην ανάλυση του περιγράμματος ενός αντικειμένου βιολογικής προέλευσης ή σε σημεία αναφοράς βιολογικής προέλευσης. Αναλυτικότερα, τα σημεία αναφοράς βιολογικής προέλευσης φέρουν αναγνώριση αυτόματα και η χρήση τους εφαρμόζεται για την αναπαραμέτρηση του περιγράμματος, που έχει ως πλεονέκτημα να επιτρέπει την τοποθέτηση ομόλογων σημείων πριν ληφθεί η μέση τιμή του περιγράμματος σε αρκετά αντικείμενα. Αυτού του είδους η επαναπαραμετροποίηση είναι σημαντική για τη λήψη μέσων σχημάτων, τα οποία αντιπροσωπεύουν τα μεμονωμένα φύλλα. Επίσης, η προσθήκη ενός λιγότερου σημείου αναφοράς, όπως στην κορυφή του φύλλου, αυξάνει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα της μέσης τιμής. Ακόμη, η αυτοματοποίηση ανίχνευσης σημείου αναφοράς λαμβάνει χώρα στην αναπαραγωγιμότητα των αποτελεσμάτων, θέτοντας περιορισμό στις διακυμάνσεις, οι οποίες οφείλονται σε τοποθέτηση από αυτούς που τις

χειρίζονται. Με αυτή την νέα προσέγγιση παρέχεται ποσοτικοποίηση που σχετίζεται με σχήμα, μέγεθος, θέση και αριθμό από ποικίλες δομές που βρίσκονται στο αντικείμενο και μία πιστή αναπαράσταση από το μέσο σχήμα του αντικειμένου.

Τα δύο αυτά αποτελέσματα είναι συμπληρωματικά, καθώς οι ποσοτικοποιήσεις δίνουν την δυνατότητα ανάλυσης πιστών χαρακτηριστικών χωρίς να είναι συγκεκριμένη η δομή του αντικειμένου που σχετίζεται με τα σημεία αναφοράς, ενώ μέσω του μέσου σχήματος υπάρχει δυνατότητα καλύτερης αποτύπωσης της πολυπλοκότητας του αντικειμένου βιολογικής προέλευσης στο σύνολο του, μαζί με περιοχές που δεν συνδέονται άμεσα με ένα συγκεκριμένο σημείο αναφοράς (Biot et al. 2016).

Από τις πλέον πρακτικές μεθόδους της ΜΑΦ που παρουσιάζουν διεξοδικά τα χαρακτηριστικά και γενικά τη συνολική εικόνα του σχήματος και του μεγέθους σε κάθε φύλλο είναι οι ελλειπτικοί περιγραφείς Fourier, καθώς μέσω αυτών αποδίδεται συνολικά η ανάλυση του περιγράμματος των φύλλων όπως και η Προκρούστεια ανάλυση (Chitwood et al. 2014). Ακόμη, οι Ελλειπτικοί περιγραφείς Fourier, ως μέθοδος της Γεωμετρικής Μορφομετρικής ανάλυσης, έχουν χρησιμοποιηθεί σε έρευνα που είχε ως αντικείμενο την μελέτη γιγάρτων (κουκουτσιών) σε σταφύλια της Αρχαίας Ελλάδας και ως στόχο την μελέτη της μορφολογίας των γιγάρτων για την διάκριση διαφόρων ποικιλιών αμπέλου. Σε αυτή την μελέτη έγινε αξιολόγηση του μεγέθους και του σχήματος των γιγάρτων του αρχαίου με το σύγχρονο διαθέσιμο υλικό, χρήση 40 μεταβλητών/γίγαρτο. 197 κουκούτσια ποικιλιών αρχαιολογικής προέλευσης συλλέχθηκαν από την περιοχή της Σάμου και έγινε σύγκριση αυτών με 269 ποικιλίες αναφοράς σύγχρονης προέλευσης, μαζί με 83 πληθυσμούς άγριας μορφής. Τα δείγματα από τα σχήματα των γιγάρτων διερευνήθηκαν με την ανάλυση περιγράμματος, η οποία στηρίζεται στην μέθοδο των αναλύσεων Fourier. Επιπλέον, μέσω του προγράμματος R, στο οποίο βασίστηκε η μέθοδος Fourier, προέκυψε ένας αριθμός συντεταγμένων σημείων ανά περίγραμμα που είχαν τοποθετηθεί σε χρησιμοποιούμενο σύστημα ανάλυσης εικόνας. Ακόμη μέσω της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (PCA) έγινε εκτίμηση του αριθμού των γιγάρτων που θα λάμβαναν χώρα για την καλύτερη δυνατή αξιολόγηση που αφορούσε το σχήμα ως προς την διακύμανση του σε ατομικό επίπεδο (Pagnoux et al. 2014). Η μορφολογία αποτελεί σε μεγάλο βαθμό ένα από τα πιο καθοριστικά κριτήρια αξιολόγησης των χαρακτηριστικών σε αρκετά φυτικά όργανα και για τους κλάδους που αφορούν την βιολογία των φυτών, την καλλιέργεια, αλλά και τα φυτώρια αποτελεί σημαντικό εργαλείο. Σε έρευνα που είχε ως στόχο την διάκριση 20 ποικιλιών αμπέλου εφαρμόστηκαν ευρέως γνώστες μέθοδοι, οι οποίες στηρίζονται στην μορφολογική δομή που διαθέτουν τα φυτικά είδη. Μερικές από αυτές τις μεθόδους που έλαβαν χώρα ήταν η ανάλυση

επεξεργασίας εικόνας με σκοπό την κατηγοριοποίηση των ποικιλιών. Επίσης, μέσω της ανάλυσης κύριων συνιστωσών προέκυψε το συμπέρασμα ότι τα χαρακτηριστικά της διάστασης των ποικιλιών αποτελούν βασική προέλευση της κύμανσης, η οποία διέκρινε τις ποικιλίες αυτές. Μία ακόμη μέθοδος μορφομετρικής ανάλυσης που συμμετείχε στην διαδικασία ήταν η Ελλειπτική ανάλυση Fourier. Από τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου εξάχθηκε συμπέρασμα σχετικά με τη μορφολογική δομή που διαθέτει το σταφύλι. Σε αρκετές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι η Ελλειπτική ανάλυση Fourier έχει παραπάνω βαρύτητα ως ανάλυση λόγω εξέλιξης της τεχνολογίας των υπολογιστών παράλληλα με την εξοικονόμηση κέρδους που προκύπτει από το εκάστοτε υλικό και την πρόοδο των ψηφιακών προγραμμάτων εικόνας. Για το λόγο αυτό η μέθοδος αυτή αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την εφαρμογή της στην ορθή επεξεργασία της εικόνας, όταν αυτή βρίσκεται σε ψηφιακή μορφή, για αναλύσεις μορφολογικού περιεχομένου σε κλάδους του πρωτογενή τομέα όπως είναι η γεωργία. Συγκεκριμένα η ανάλυση Fourier διαπιστώθηκε από μελέτες ότι είναι βασικό εργαλείο ώστε να γίνει διάκριση σε σχήματα από είδη γεωργίας. Αυτό που διακρίνει την μέθοδο της ανάλυσης Fourier είναι ότι επιτυγχάνεται μεγάλου βαθμού προσέγγιση της πολυπλοκότητας του σχήματος είτε είναι καρποί, είτε φύλλα. Στην μέθοδο αυτή πρέπει να περιλαμβάνεται ένας αριθμός συντεταγμένων με συγκεκριμένες τιμές ή κάποιο σύνολο από στοιχεία με περιγραφική δομή ώστε να μπορέσει να λάβει χώρα ως ανάλυση. Μέσω αυτής της μεθόδου προσδιορίζεται συνολικά το σχήμα χρησιμοποιώντας δεδομένα εικόνας με αρχικό μετασχηματισμό των στοιχείων των συντεταγμένων, τα οποία σχετίζονται με τον αριθμό των περιγραμμάτων της εικόνας, σε Ελλειπτικές περιγραφείς Fourier με μετέπειτα σύνοψη αυτών με χρήση της ανάλυσης κύριων συνιστωσών (Kupe et al. 2021).

Σε άλλη μελέτη με αντικείμενο την μοριακή ανάλυση των γιγάρτων σε ποικιλίες αμπέλου από την περιοχή της Σαρδηνίας έγινε χρήση της μορφομετρικής μεθόδου των Ελλειπτικών περιγραφών Fourier και της ανάλυσης εικόνας, μαζί με άλλων ειδών αναλύσεις. Βασικός στόχος αυτής της μελέτης ήταν η σύγκριση μεταξύ αναρτημένων δεδομένων 40 ποικιλιών με αυτοφυή προέλευση από την περιοχή της Σαρδηνίας με εξαχθέντα αποτελέσματα του βλαστικού πλάσματος από χαρακτηρισμό φαινοτύπου έχοντας ως βάση τα χαρακτηριστικά μορφομετρίας και χρώματος και μέσω της ανάλυσης της εικόνας τα χαρακτηριστικά της Ελλειπτικής Ανάλυσης Fourier (Orrù et al. 2012).

Ακόμη η ανάλυση Fourier όσο αφορά τα σχήματα σε σχέση με άλλες τεχνικές ανάλυσης παρέχει τη δυνατότητα της περιγραφής σε σχήματα υψηλού βαθμού πολυπλοκότητας, χωρίς την ανάγκη ύπαρξης προκαθορισμένου μαθηματικού κεντροειδούς, όπως και να μην ισαπέχουν τα σημεία του περιγράμματος και να έχει το προνόμιο να περιέχει

κανονικοποιήσεις απλής μορφής σε θέση, μέγεθος, κ.α. Επιπλέον η ανάλυση Fourier παρέχει την δυνατότητα σε ένα περίγραμμα την αντιστροφή του μετασχηματισμού και της ανακατασκευής του σε σχέση με ένα αριθμό από παραμέτρους Fourier (Mancuso et al. 2001). Επίσης, η ελλειπτική Fourier ανάλυση έλαβε χώρα σε μελέτη που είχε ως αντικείμενο και στόχο την ταυτοποίηση σε φυτικά είδη μέσω της ανάλυσης αυτής σε σχήματα φύλλων. Συγκεκριμένα έγινε ταυτοποίηση σε 4 είδη φυτών, έχοντας ως βάση το σχήμα των φύλλων, όπως της νεαρής σόγιας (*Glycine max* (L.) merrill), του ηλίανθου (*Helianthus pumilus*), του κοκκινόριζου γουρουνόχορτου (*Amaranthus retroflexus*), αλλά και του βελούδου (*Abutilon theophrasti* Medicus). Στην διαδικασία της μελέτης αυτής χρησιμοποιήθηκαν διαδοχικές, ελλειπτικές συναρτήσεις Fourier, οι οποίες βασίστηκαν ανάλογα με τα όρια που διέθετε κάθε φύλλο. Ακόμη έγινε υπολογισμός σε δείκτη πολυπλοκότητας που αφορούσε το σχήμα των φύλλων με αξιοποίηση της διακύμανσης ανάμεσα στις συνεχόμενες ελλειπτικές συναρτήσεις Fourier. Έπειτα εφαρμόστηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών ώστε να γίνει επιλογή των Fourier συντελεστών με σκοπό την καλύτερη ικανότητα διάκρισης (Camargo Neto et al. 2005).

2.3 ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ LANDMARKS, PROCRUSTES ΚΑΙ PCA

Από έρευνες και μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχει σύνδεση ανάμεσα στις Γεωμετρικές Μορφομετρικές Αναλύσεις. Συγκεκριμένα σε μελέτη που έκανε χρήση μοριακών δεικτών, αλλά και μορφομετρικών αναλύσεων για τον χαρακτηρισμό του σχήματος σε φύλλα ποικιλιών αμπέλου οι οποίες αναπτύχθηκαν στην περιοχή του Καζακστάν και έγινε σύγκριση αυτών με ποικιλίες προέλευσης από την Ευρώπη και την Ασία. Σε αυτά τα φύλλα λήφθηκε ένας αριθμός 17 σημείων αναφοράς μέσω του προγράμματος ImageJ. Αυτά τα σημεία αναφοράς που είχαν την ιδιότητα της περιγραφής του σχήματος των φύλλων της αμπέλου αναλύθηκαν περαιτέρω με χρήση της Γενικευμένης Προκρούστειας Ανάλυσης, αλλά και της Ανάλυσης Κυρίων Συνιστωσών (PCA) με σκοπό την αξιολόγηση της διακύμανσης του σχήματος που υπήρχε ανάμεσα στις ποικιλίες. Τα αποτελέσματα της PCA έδειξαν την πολυπλοκότητα που υπάρχει στην παραλλαγή του σχήματος ανάμεσα στα φύλλα της αμπέλου και ότι φαίνεται σε μεγάλο βαθμό η διαφορά στην επίδραση μεταξύ των σημείων αναφοράς στα φύλλα όσο αφορά την διακύμανση του σχήματος τους (Pozharskiy et al. 2020).

Ακόμη, οι μέθοδοι αυτές (της ΜΑΦ) χρησιμοποιήθηκαν σε άλλη έρευνα με αντικείμενο την μορφολογία σε φύλλα της αμπέλου. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε σε αριθμό 200, αλλά και παραπάνω, αμπελιών (*Vitis* spp.) μέτρηση της μορφολογίας των φύλλων τους σε διάστημα 4 χρόνων και έγινε μοντελοποίηση σχετικά με την αλλαγή που παρατηρείται στο σχήμα κάθε φύλλου κατά μήκος του βλαστού με αποτέλεσμα τον προσδιορισμό για το αν είναι εφικτό οποιασδήποτε μορφής πολύπλοκο σχήμα φύλλου που περιέχει όλο τον αριθμό φύλλων που περιλαμβάνονται σε ένα βλαστό να έχει τη δυνατότητα καλύτερης σύλληψης της διακύμανσης και την πρόβλεψη τους είδους σε σχέση με τα μεμονωμένα φύλλα. Στην απαξονική πλευρά κάθε φύλλου αμπέλου έγινε λήψη 21 σημείων αναφοράς διαδοχικά μέσω του προγράμματος Imagej, όπου κάθε σημείο αναφοράς περιείχε ένα ζεύγος συντεταγμένων x,y. Στη περαιτέρω διαδικασία της μελέτης αυτής έλαβαν χώρα η Γενικευμένη Προκρούστεια ανάλυση με δημιουργία συντεταγμένων αυτής που χρησιμοποιήθηκαν σε άλλες αναλύσεις (μέσω R) και η ανάλυση PCA, από την οποία εξηγήθηκε σε μεγάλο βαθμό η διακύμανση του συνόλου δεδομένων που προέκυψαν στην διαδικασία των αναλύσεων (Bryson et al. 2020).

Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι της ΜΑΦ σε άλλη έρευνα, στην οποία πραγματοποιήθηκε μελέτη σε φύλλα του είδους *Passiflora*. Συγκεκριμένα, έγινε κατά μήκος της αμπέλου διαδοχικά συλλογή φύλλων από σύνολο 40 διαφορετικών *Passiflora* ειδών. Οι

τρόποι με τους οποίους πραγματοποιήθηκε η μέτρηση σε κάθε φύλλο ήταν δύο. Στον πρώτο τρόπο έγινε χρήση 15 ομόλογων σημείων αναφοράς τα οποία είχαν προσαρμοστεί με Προκρούστεια ανάλυση στο αγγειακό σύστημα, στους κόλπους και στους λοβούς.

Στον δεύτερο τρόπο έγινε χρήση ελλειπτικών Fourier περιγραφών (EFD), μέσω των οποίων πραγματοποιείται η ποσοτικοποίηση του περιγράμματος του φύλλου. Το πλεονέκτημα που διαθέτουν τα σημεία αναφοράς, οι ελλειπτικοί Fourier περιγραφείς, όπως και ο συνδυασμός αυτών των δύο συνόλων δεδομένων, τα οποία και συγκρίνονται για τον προσδιορισμό του πλεονεκτήματος, αλλά και της ικανότητάς τους, ως αναλύσεις, να εκτιμούν σε μεγάλο βαθμό το είδος, αλλά και τη θέση εντός της αμπέλου. Ο συνδυασμός της κατά ζεύγη σύνδεσης ανάμεσα στις συντεταγμένες x και y των σημείων αναφοράς, όπως και των EFD αρμονικών συντελεστών δείχνει παρόμοιες συσχετίσεις ανάμεσα στα χαρακτηριστικά και στοιχεία σχετιζόμενα με τη σύνδεση που υπάρχει μεταξύ του αγγειακού συστήματος και της διαμόρφωσης του φύλλου. Μέσω των σημείων αναφοράς, που αντικατοπτρίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό το αγγειακό σύστημα, όπως και μέσω των ελλειπτικών Fourier περιγραφών, που αντικατοπτρίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό το περίγραμμα του πτερυγίου, περιγράφονται τόσο με όμοιο τρόπο όσο και με διαφορετικό τρόπο χαρακτηριστικά που αφορούν την μορφολογία των φύλλων.

Η διαφορά μεταξύ των EFD και των σημείων αναφοράς παρουσιάζεται στην εκτίμηση του είδους ως προς την ταυτότητα του και της θέσης που κατέχει ο κόμβος στην άμπελο και εμφανίζουν μία δομή σύνδεσης, εντός των χαρακτηριστικών είτε σημείου αναφοράς είτε EFD και είτε ανάμεσα στα δύο είδη δεδομένων, με αποτέλεσμα να προκύπτουν περιορισμοί ανάμεσα στο αγγειακό και στο σχήμα της λεπίδας τα οποία ρυθμίζουν την κανονική παραλλαγή της μορφολογίας των φύλλων ανάμεσα στα είδη *Passiflora*. Ακόμη, για την ανάλυση στις βασικές πηγές της διακύμανσης του σχήματος στις τιμές σημείου αναφοράς, οι οποίες ήταν προσαρμοσμένες κατά Προκρούστεια ανάλυση, όπως και των αρμονικών σειρών από την ανάλυση του EFD, πραγματοποιήθηκε η ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) με σκοπό την ελάττωση της διαστατικότητας σε κάθε σύνολο δεδομένων (Chitwood and Otoni 2017).

3 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΦΥΛΛΩΝ, ΣΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΕΙΚΟΝΩΝ

Για την λήψη των μορφομετρικών δεδομένων, συλλέχθηκαν φύλλα ορισμένων βελτιωμένων ποικιλιών της αμπέλου όπως και φύλλα ορισμένων μη βελτιωμένων ποικιλιών ξενικής (**Πίνακας 1**) προέλευσης που διατηρούνται στην Εθνική Συλλογή ποικιλιών της αμπέλου στην Λυκόβρυση Αττικής.

Πίνακας 1 Απεικόνιση του πλήθους και του είδους των ποικιλιών της αμπέλου.

Ποικιλία	Είδος
CHARDONNAY ΕΛΛΑΣ (CHH)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
ΕΥΚΛΕΙΔΗΣ (EUK)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
ΕΥΤΥΧΙΑ (EUT)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
ΜΑΚΕΔΟΝΑΣ (ΜΑΚ)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
ΧΑΡΑ ΛΕΩΝΙΔΩΝ (CLE)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
ΑΡΓΟΝΑΥΤΙΚΟ (ARG)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
ΓΕΩΡΓΑΚΗΣ (GEO)	ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΗ
CHENIN BLANC (CBL)	ΞΕΝΙΚΗ
PETIT MANSENG (PTM)	ΞΕΝΙΚΗ
UGNI BLANC (UNB)	ΞΕΝΙΚΗ

Η συλλογή των φύλλων και η λήψη των παρατηρήσεων πραγματοποιήθηκε από το τέλος Μαΐου ως τα μέσα Ιουνίου του 2021, δηλαδή από το στάδιο της άνθησης ως και μία εβδομάδα μετά την καρπόδεση για τις ποικιλίες που μελετήθηκαν. Η επιλογή των ποικιλιών από τις δύο κατηγορίες (βελτιωμένες και μη) έγινε τυχαία.

Για την συλλογή των φύλλων και την λήψη των παρατηρήσεων χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

1. διαφανή φύλλα plexiglass (πλάκες) με διαστάσεις, πάχος 0,70 εκ, μήκος 0,90 εκ, πλάτος 0,30 εκ, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την τοποθέτηση και φωτογράφιση των φύλλων,
2. κλίμακα μέτρησης μήκους για σαρωτή (30 cm) και για φύλλα plexiglass (100 cm) ,
3. φορητό ψυγείο,
4. πλαστικές σακούλες αποθήκευσης,
5. πάγος,
6. χάρτινα καρτελάκια για την καταγραφή των στοιχείων της εκάστοτε ποικιλίας,
7. ψαλίδι για την αποκοπή των μίσχων από το έλασμα
8. κάμερα υψηλής ευκρίνειας (DSC – RX10M3 SONY) για την λήψη των εικόνων,

9. σαρωτής (Canon MF440) για την απόκτηση φωτογραφιών των φύλλων της κορυφής των βλαστών που είχαν μικρό μέγεθος (1° ως 5° φύλλο από την κορυφή), ώστε να είναι διακριτά τα χαρακτηριστικά σημεία του ελάσματος που ενδιέφεραν την έρευνα και που, λόγω του μεγέθους, δεν θα ήταν εύκολα διακριτά στις φωτογραφίες εάν λαμβάνονταν με την κάμερα που προαναφέρθηκε

10. Η/Υ για την αποθήκευση των εικόνων

Πριν από την έναρξη της συλλογής των φύλλων επιλέγονταν τρία φυτά από κάθε ποικιλία τα οποία είχαν επαρκή ευρωστία και γενικότερα βρίσκονταν στην καλύτερη δυνατή κατάσταση. Από κάθε φυτό επιλέγονταν τρεις κύριοι βλαστοί οι οποίοι είχαν κανονική ανάπτυξη και τα φύλλα τους έφεραν τις λιγότερες δυνατές παραμορφώσεις. Κατ' αυτόν τον τρόπο συλλέγονταν όλα τα φύλλα από συνολικά εννιά κύριους βλαστούς από κάθε ποικιλία.

Η διαδικασία συλλογής άρχιζε με την αποτύπωση σε χάρτινα καρτελάκια των εξής πληροφοριών:

(α) το όνομα της ποικιλίας,

(β) ο αριθμός φυτού,

(γ) ο αριθμός βλαστού.

Ακολουθώντας, και για κάθε ένα από τα τρία φυτά κάθε ποικιλίας, γινόταν αποκοπή των φύλλων από κάθε βλαστό. Από κάθε φύλλο αποκόπτονταν ο μίσχος στο σημείο της πρόσφυσης του στον μισχικό κόλπο κι απορρίπτονταν. Ο λόγος που γινόταν αυτό ήταν για είναι αργότερα δυνατή η τοποθέτηση των ελασμάτων μεταξύ των πλακών plexiglass προκειμένου να φωτογραφηθούν. Η αποκοπή των φύλλων ξεκινούσε από την βάση των βλαστών με κατεύθυνση προς την κορυφή και τοποθετούνταν σε μικρούς σωρούς κατά τρόπο που να διατηρείται η σειρά με την οποία προσφύονταν στον βλαστό. Η τοποθέτηση των ελασμάτων σε κάθε σωρό ξεκινούσε από τα φύλλα της βάσης του αντίστοιχου βλαστού και προχωρούσε διαδοχικά προς τα ελάσματα των φύλλων της κορυφής. Στην περίπτωση που σε κάποιον κόμβο δεν υπήρχε φύλλο ή ήταν παραμορφωμένο, τοποθετούνταν στην θέση του συγκεκριμένου φύλλου χάρτινη ετικέτα με τον αριθμό του κόμβου από τον οποίο έλλειπε το φύλλο. Από τον επόμενο κόμβο, η τοποθέτηση των φύλλων στο σωρό και η αρίθμηση τους συνεχιζόταν κανονικά. Μετά την συλλογή τους, οι σωροί των φύλλων κάθε βλαστού από τα τρία φυτά κάθε ποικιλίας τοποθετούνταν σε σακούλες κι ακολουθώντας στο φορητό ψυγείο που περιείχε τον πάγο ώστε να διατηρήσουν την σπαργή και το σχήμα τους.

Μετά την συλλογή των φύλλων ακολουθούσε η λήψη εικόνων τους είτε με σάρωση είτε με φωτογράφιση. Για τα φύλλα (1° - 5°) ή (1° - 6°) χρησιμοποιήθηκε σαρωτής (**Εικ.4**) για να διευκολύνει τον ακριβή εντοπισμό των σημείων αναφοράς που ακολουθούσε στα μικρού

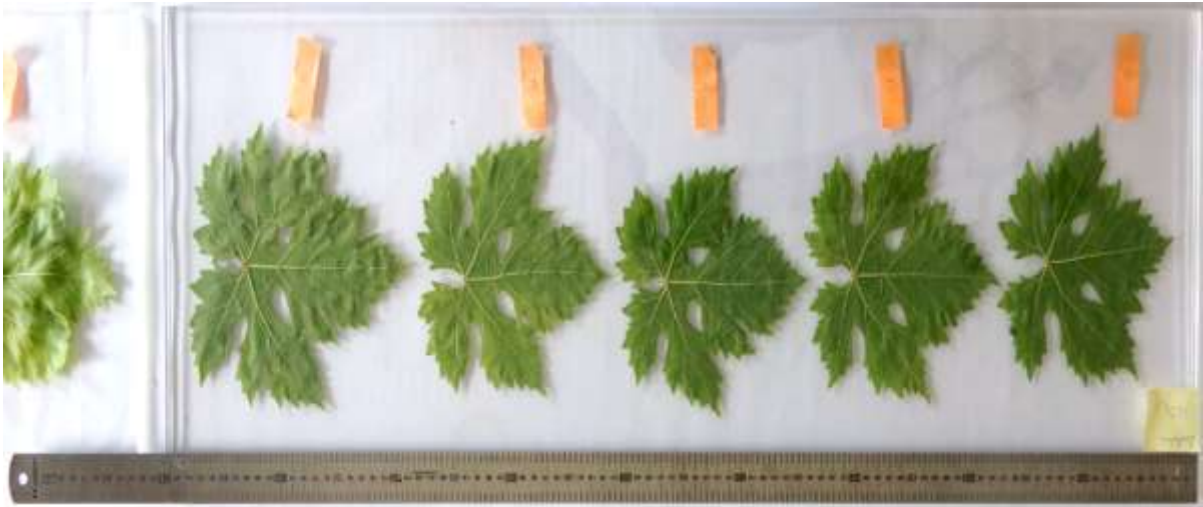
μεγέθους φύλλα της κορυφής του βλαστού. Επίσης στον σαρωτή είχε τοποθετηθεί κλίμακα , καρτελάκι με τον αριθμό του κάθε φύλλου και η ετικέτα που αναφέρει τα στοιχεία:

- (α) φυτό,
- (β) βλαστός,
- (γ) ποικιλία.

Οι εικόνες που λήφθηκαν από το σαρωτή είχαν μορφή αρχείου αποθήκευσης εικόνων **JPG**, ενώ της κάμερας είχαν μορφή αρχείου αποθήκευσης εικόνων **ARW**, για να διασφαλιστεί η διατήρηση της οπτικής πληροφορίας κατά την μετέπειτα επεξεργασία των εικόνων. Για την φωτογράφιση χρησιμοποιούνταν διαφανή φύλλα plexiglass πάχους 0,70 εκ, πλάτους 0,30 εκ και μήκους 0,90 εκ. Τα φύλλα από τις θέσεις 6 ή 7 του βλαστού και κάτω, τοποθετούνταν σε ομάδες ανάμεσα σε δύο φύλλα plexiglass με την κάτω πλευρά του ελάσματος προς τα επάνω και με την σειρά που συλλέγονταν από τον βλαστό. Δίπλα σε κάθε φύλλο τοποθετούνταν ετικέτα με την θέση του φύλλου στον βλαστό. Αυτό γίνονταν και για τις περιπτώσεις όπου κάποιο φύλλο έλλειπε από το βλαστό. Η τοποθέτηση με την κάτω πλευρά του ελάσματος προς τα πάνω, δηλαδή προς την πλευρά λήψης των φωτογραφιών, αποσκοπούσε στην διευκόλυνση της επισήμανσης των σημείων αναφοράς (**landmarks**) καθώς οι νευρώσεις στην κάτω πλευρά του ελάσματος είναι περισσότερο ευδιάκριτες. Χρησιμοποιήθηκαν 17 σημεία αναφοράς ([Klein et al. 2017](#)) τα οποία ορίζονταν από συγκεκριμένες θέσεις επί των νευρώσεων, των κόλπων και των λοβών (**Εικ.5 και 6**). Μετά την τοποθέτηση των φύλλων μεταξύ των φύλλων plexiglass και πριν την φωτογράφιση, τοποθετούνταν και ετικέτα με τα στοιχεία της ποικιλίας, του φυτού, του βλαστού και του εύρους των θέσεων πάνω στον βλαστό από όπου προέρχονταν τα συγκεκριμένα φύλλα. Αυτό γίνονταν με κατάλληλη κωδικοποίηση για να είναι εφικτή η επεξεργασία των εικόνων στην συνέχεια. Επιπρόσθετα, στο εξωτερικό του φύλλου plexiglass προς την πλευρά της κάμερας τοποθετούνταν μεταλλικός χάρακας μήκους 100 εκ. που χρησίμευε ως κλίμακα βαθμονόμησης κατά την αποτύπωση των σημείων αναφοράς στην συνέχεια. Η λήψη των εικόνων για τα φύλλα που αναφέρθηκαν γινόταν με κάμερα υψηλής ευκρίνειας(**DSC – RX10M3 SONY**) (**Εικ.3**).

Μετά το πέρας της συλλογής των φύλλων αμπέλου και της λήψης των εικόνων ακολουθούσε διόρθωση της παραμόρφωσης κάθε εικόνας με το λογισμικό **Imaging Edge Desktop - IED (Remote/Viewer/Edit) 3.3.02**. Κάθε λήψη της κάμερας ήταν διπλή, οπότε επιλεγόταν η εικόνα με την καλύτερη ανάλυση. Οι διορθωμένες εικόνες αποθηκεύονταν σε μορφή αρχείου **TIF** το όνομα του οποίου περιείχε την σύνθετη κωδικοποίηση του δείγματος. Για παράδειγμα, στο όνομα **Chard. Ελλάδας.3.2.6-11**, το 3, δήλωνε τον αριθμό του φυτού

της ποικιλίας, το 2 τον αριθμό του βλαστού και το 6-11, οι θέσεις των φύλλων επί του βλαστού.



Εικόνα 3 Χρήση της κάμερας υψηλής ευκρίνειας για τα φύλλα (12°-16°). Στην δεξιά πλευρά της εικόνας φαίνεται η κλίμακα. Τα διαφανή φύλλα plexiglass(πλάκες) στα οποία τοποθετήθηκαν τα φύλλα. Η ετικέτα με την αρίθμηση για κάθε φύλλο και το καρτελάκι της ποικιλίας: ονομασία ποικιλίας, φυτό και βλαστός (Ευκλείδης, V₁S₂).



Εικόνα 4 Χρήση σαρωτή για τα φύλλα (1°-6°). Στην δεξιά πλευρά της εικόνας είναι τοποθετημένη η κλίμακα (μαύρη ζώνη). Η ετικέτα με την αρίθμηση για κάθε φύλλο και το καρτελάκι της ποικιλίας: ονομασία ποικιλίας, φυτό και βλαστός (Petit Manseng, V₂S₃).

3.2 ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΣΗΜΕΙΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (LANDMARKS) ΚΑΙ ΛΗΨΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

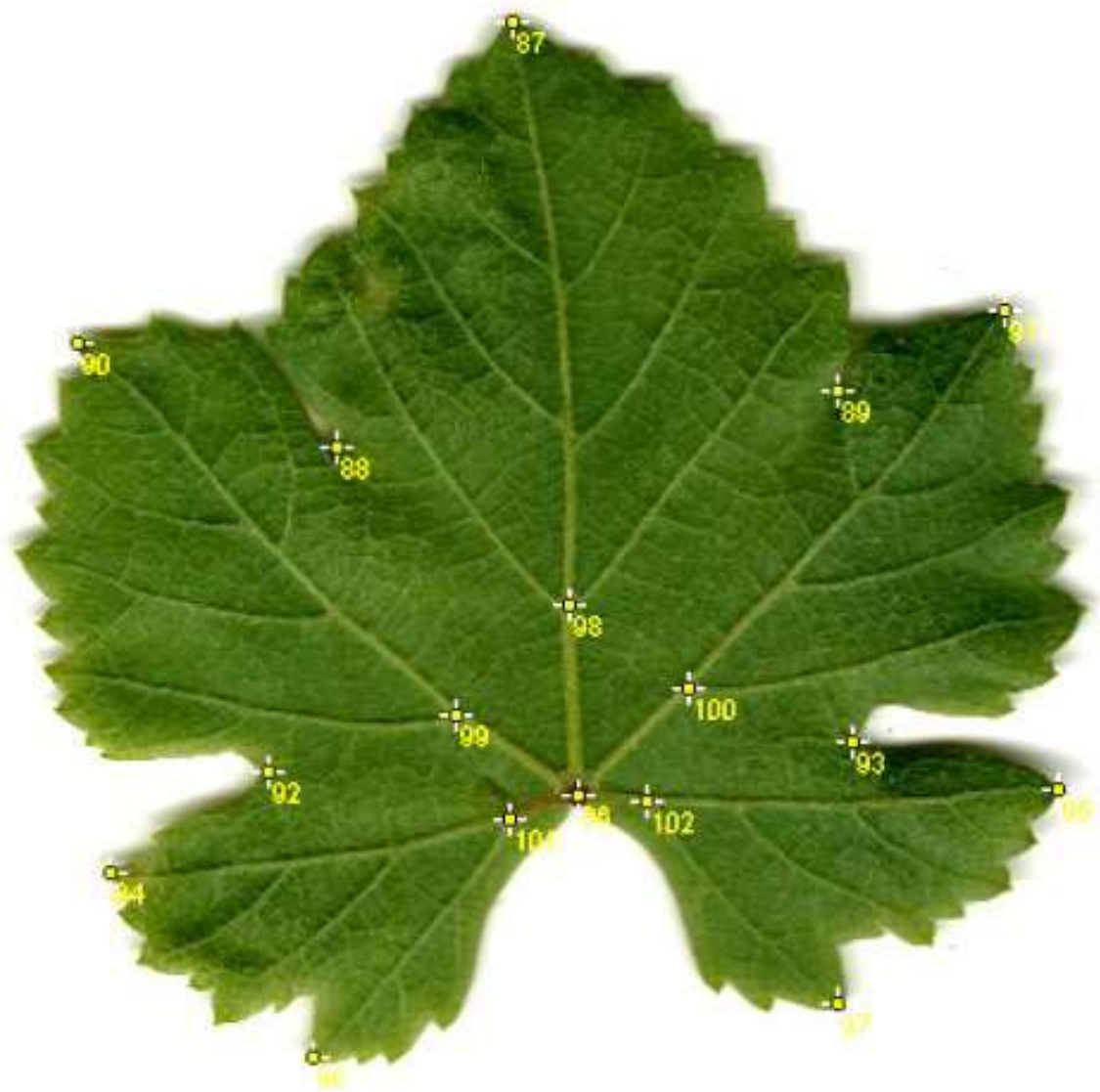
Μετά την διόρθωση των εικόνων πραγματοποιήθηκε η λήψη των σημείων αναφοράς (**Landmarks**) των φύλλων. Από τα 17 σημεία αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν, τα 12 εντοπίζονταν στην βάση των ανώτερων και των πλάγιων κόλπων και στα σημεία απόληξης των κύριων νευρώσεων. Τα υπόλοιπα 5 σημεία εντοπίζονταν στην πρώτη διακλάδωση των κύριων νευρώσεων (4) και στο σημείο πρόσφυσης του μίσχου στο έλασμα (1) (**Εικ.5 και 6**). Για τον εντοπισμό των σημείων αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν φύλλα με κανονική μορφολογία, ενώ απορρίπτονταν όσα παρουσίαζαν ανωμαλίες στο σχήμα τους λόγω παραμορφώσεων ή τραυματισμών (**Εικ.7 και 8**). Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την τοποθέτηση των σημείων αναφοράς ήταν το **ImageJ** (Abramoff et al. 2004). Για να είναι εφικτή η ανάλυση των δεδομένων των σημείων αναφοράς, πριν από την επισήμανση τους σε κάθε εικόνα γίνονταν αναφορά της εικόνας σε μονάδες μήκους. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνταν η κλίμακα μήκους που είχε τοποθετηθεί στο περιθώριο των φύλλων plexiglass και του σαρωτή κατά την λήψη των εικόνων. Συγκεκριμένα, και για κάθε εικόνα ξεχωριστά, με την εντολή **Set Scale** του **ImageJ**, λαμβάνονταν μία στοιχειώδης ευθεία γραμμή (εικονίδιο **tool**, επιλογή **straight line**) μήκους 100 mm επί της κλίμακας που είχε τοποθετηθεί στα φύλλα plexiglass. Στη συνέχεια επιλεγόταν ο πίνακας συμπλήρωσης στοιχείων του **Set scale** (known distance = 100, unit of length = mm) που εμφανιζόταν. Έπειτα επιλεγόταν το εικονίδιο με τους **αστερίσκους**. Ανάλογη ήταν και η διαδικασία για την τοποθέτηση των σημείων αναφοράς στις σαρωμένες εικόνες αλλά με την παράμετρο known distance στα 20 mm. Τελικά, οι συντεταγμένες των σημείων αναφοράς εκφράζονταν σε mm. Η τοποθέτηση των σημείων αναφοράς γίνονταν με την εντολή **Point Selection Tool**.

Οι μετρήσεις που προέκυπταν από την τοποθέτηση των σημείων αναφοράς σε κάθε φύλλο αποθηκεύονταν σε υπολογιστικό φύλλο του **Excel**. Οι μετρήσεις αυτές περιλάμβαναν τα εξής στοιχεία: **1)** τον αριθμό (**Order**) των σημείων αναφοράς από κάθε μη παραμορφωμένο φύλλο, **2)** τα στοιχεία (**Label**) του αρχείου της εκάστοτε μετρούμενης εικόνας (**TIF**) και **3)** τις συντεταγμένες (**X,Y**) κάθε σημείου αναφοράς σε mm.

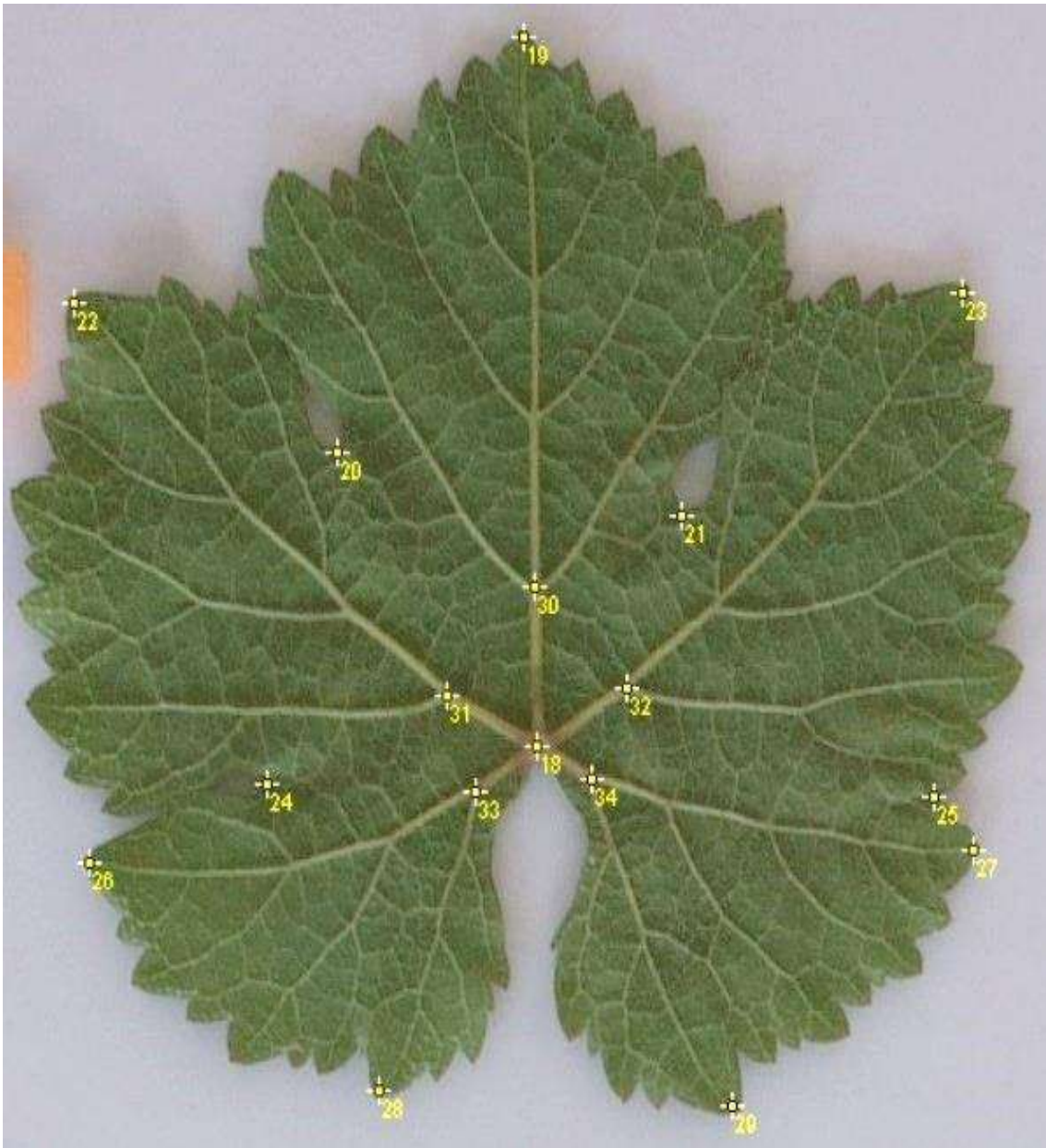
Η διαδικασία που προαναφέρθηκε επαναλαμβάνονταν για κάθε αρχείο εικόνας και για όλα τα φύλλα σε κάθε εικόνα. Την επισήμανση των σημείων αναφοράς για όλα τα φύλλα των ποικιλιών που μελετήθηκαν, ακολούθησε η εξαγωγή των δεδομένων από το αρχείο Excel σε αρχείο κειμένου (*.txt). Ακολούθησε επεξεργασία του αρχείου κειμένου στο περιβάλλον της R σύμφωνα με τα αναφερόμενα από τους (Klein and Svoboda 2017). Ο κώδικας της R που

χρησιμοποιήθηκε παρέχεται από τους [Klein and Svoboda \(2017\)](#) και είναι αποθηκευμένος στο αποθετήριο [GitHub](#).

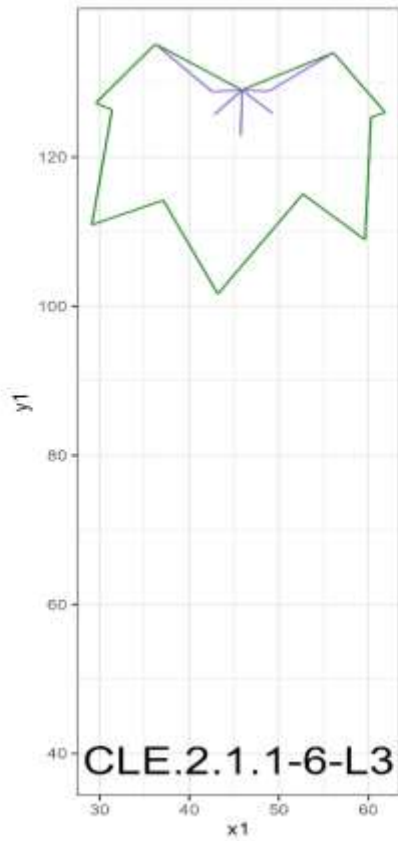
Πριν από την Προκρούστεια Γενικευμένη Ανάλυση προηγήθηκε έλεγχος των δεδομένων για την ορθή λήψη των σημείων αναφοράς. Για τον σκοπό αυτό έγινε απεικόνιση των σημείων αναφοράς κάθε μεμονωμένου φύλλου (Εικ. 7, 8) με το πακέτο κώδικα της R **ggplot2** ([Wickham, 2009](#)). Κάθε φορά που υπήρχε κάποιο ευδιάκριτο σφάλμα στην λήψη των σημείων αναφοράς, γινόταν επανάληψη της διαδικασίας που προαναφέρθηκε για τον ορθό εντοπισμό των σημείων αναφοράς και αντίστοιχη διόρθωση στο αρχείο δεδομένων Excel.



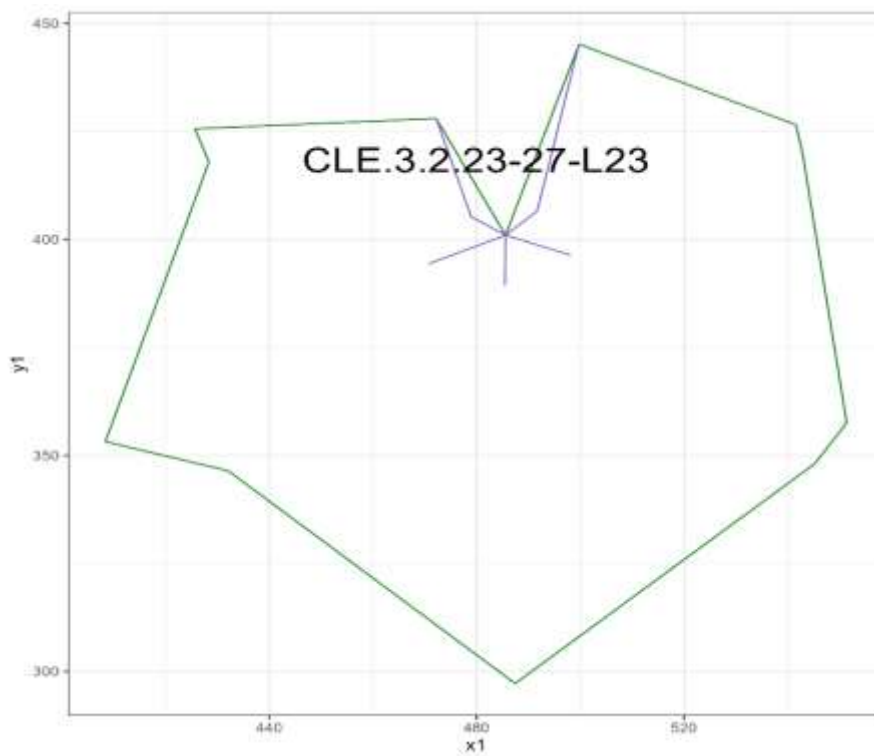
Εικόνα 5 Αποτύπωση 17 σημείων αναφοράς σε φύλλο του σαρωτή. Ενδεικτικά: Τα 5 εσωτερικά σημεία αναφοράς (αριθμοί 98-102) αποτελούν την δομή των φλεβών και τα 12 εξωτερικά σημεία αναφοράς (αριθμοί 86-97) αποτελούν το σύνολο των λοβών και των κόλπων.



Εικόνα 6 Αποτύπωση 17 σημεία αναφοράς σε φύλλο της κάμερας.
Ενδεικτικά: Τα 5 εσωτερικά σημεία αναφοράς (αριθμοί 30-34) αποτελούν την δομή των φλεβών και τα 12 εξωτερικά σημεία αναφοράς (αριθμοί 18-29) αποτελούν το σύνολο των λοβών και των κόλπων.



Εικόνα 7 Απεικόνιση σχήματος φύλλου στο καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων μετά την λήψη των σημείων αναφοράς το οποίο διαθέτει σε μεγάλο βαθμό φυσιολογική μορφολογία.



Εικόνα 8 Απεικόνιση σχήματος φύλλου στο καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων μετά την λήψη των σημείων αναφοράς το οποίο διαθέτει σε μεγάλο βαθμό υψηλή παραμόρφωση.

3.3 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΣΗΜΕΙΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (LANDMARKS) ΜΕΣΩ ΤΗΣ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΗΣ ΠΡΟΚΡΟΥΣΤΕΙΑΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

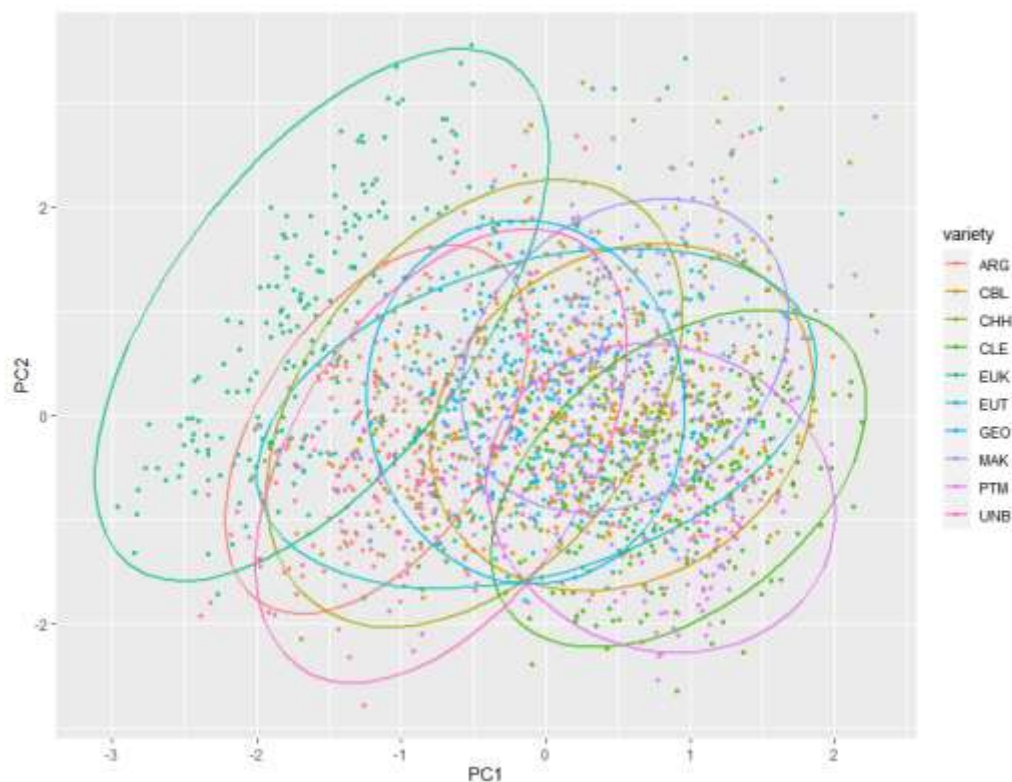
Μετά την λήψη των σημείων αναφοράς και την αποσφαλμάτωση των δεδομένων που προαναφέρθηκαν, ακολούθησε η κύρια ανάλυση των δεδομένων με την μέθοδο της Γενικευμένης Προκρούστειας Ανάλυσης (GPA). Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε στην R η ρουτίνα κώδικα `procGPA` του πακέτου μορφομετρικής ανάλυσης [Shapes](#). Με την GPA οι συντεταγμένες των σημείων αναφοράς μετασχηματίστηκαν σε Προκρούστειες συντεταγμένες οι οποίες δεν επηρεάζονται από διαφορές στο μέγεθος και τον προσανατολισμό των φύλλων. Με αυτόν τον τρόπο είναι εφικτή η σύγκριση του σχήματος των φύλλων χωρίς τις επιδράσεις του μεγέθους και του προσανατολισμού των φύλλων στις εικόνες ([Dijksterhuis and Gower, 1991](#)). Με την ρουτίνα `procGPA` υπολογίστηκαν επίσης Προκρούστειες κύριες συνιστώσες και τα ποσοστά της διακύμανσης που εξηγούνται από τις συνιστώσες αυτές ([Klein and Svoboda 2017](#)).

Για τον έλεγχο της δυνατότητας διάκρισης των ποικιλιών που μελετήθηκαν με βάση το σχήμα των κύριων φύλλων τους, όπως αυτό αποτυπώθηκε με τις Προκρούστειες συντεταγμένες των σημείων αναφοράς, έγινε Γραμμική Ανάλυση Διάκρισης (LDA). Για την LDA χρησιμοποιήθηκαν οι Προκρούστειες συντεταγμένες και η ρουτίνα `lda` του πακέτου **MASS** της R ([Venables and Ripley 2002](#)). Για αξιολόγηση την ορθότητας της ταξινόμησης των μεμονωμένων φύλλων στην ποικιλία που ανήκουν, χρησιμοποιήθηκε η ρουτίνα `predict` της R.

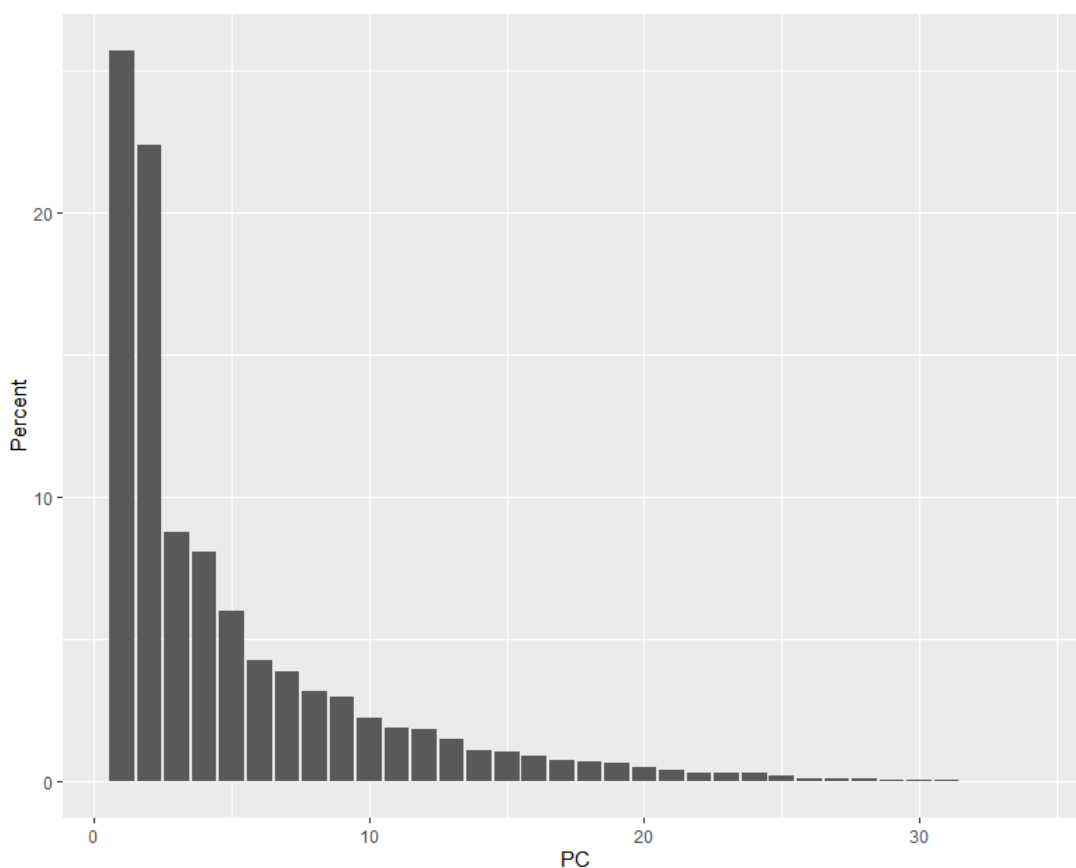
4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΕΝΙΚΕΥΜΕΝΗΣ ΠΡΟΚΡΟΥΣΤΕΙΑΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ (GRA) ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Η αξιολόγηση της διακύμανσης του σχήματος των φύλλων που συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν από τις βελτιωμένες, αλλά και από τις ξενικές ποικιλίες αμπέλου που προέρχονταν από την Εθνική Συλλογή ποικιλιών της Αμπέλου της Λυκόβρυσσης Αττικής περιλάμβανε φύλλα με κανονική μορφολογία. Η Προκρούστεια Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών έδειξε ότι υπήρξε σημαντική διακύμανση του σχήματος των φύλλων (Σχήμα 1, 2). Το 48,1 % της συνολικής διακύμανσης του σχήματος των φύλλων που αποτυπώθηκε με την Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση, εξηγείται από τις πρώτες δύο κύριες συνιστώσες PC1 25,7% και PC2 22,4%. Δεδομένου ότι κάθε κύρια συνιστώσα αντιπροσωπεύει μία ξεχωριστή πηγή διακύμανσης του σχήματος των φύλλων, μπορεί να συσχετισθεί με στοιχεία του σχήματος των φύλλων που αναλύθηκαν. Έτσι, οι χαμηλές τιμές της PC1 υποδηλώνουν (Σχήμα.1) μακρύτερο έλασμα και βαθύτερο μισχικό κόλπο όπως στα φύλλα των ποικιλιών Αργοναυτικό και Chardonnay Ελλάς. Αντίθετα, οι υψηλότερες τιμές της PC1 φαίνεται ότι σχετίζονται με πλατύτερα ελάσματα, όπως στις ποικιλίες Μακεδόνας και Χαρά Λεωνίδων.



Σχήμα 1 Απεικόνιση των τιμών PC1 (άξονας X, 25,7%) και PC2 (άξονας Y, 22,4 %) των φύλλων από τις 10 ποικιλίες αμπέλου, οι οποίες εξήχθησαν από την Γενικευμένη Προκρούστεια Ανάλυση.



Σχήμα 2 Ποσοστό της διακύμανσης που παρουσιάζεται από κάθε PC, το οποίο επίσης προέκυψε από την εφαρμογή της γενικευμένης Προκρούστειας ανάλυσης.

4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΔΙΑΚΡΙΣΗΣ (LDA) ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Τα αποτελέσματα της Γραμμικής Ανάλυσης Διάκρισης των Προκρούστειων συντεταγμένων 1972 κύριων φύλλων, παρατίθενται στους **Πίνακες 1** και **2**. Στον **Πίνακα 1** αναφέρεται ο αριθμός των φύλλων κάθε ποικιλίας που ταξινομήθηκε ορθά ή εσφαλμένα ως φύλλων των υπόλοιπων ποικιλιών. Συγκεκριμένα:

- 1) **Αργοναυτικό:** Από τα **131** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 45 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 86 ορθά.
- 2) **Chardonnay Ελλάς:** Από τα **182** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 65 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 117 ορθά.
- 3) **Ευκλείδης:** Από τα **186** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 24 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 162 ορθά.
- 4) **Χαρά Λεωνίδων:** Από τα **236** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 49 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 187 ορθά.
- 5) **Ευτυχία:** Από τα **228** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 79 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 149 ορθά.
- 6) **Γεωργάκης:** Από τα **154** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 53 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 101 ορθά.

- 7) **Μακεδόνας:** Από τα **209** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 22 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 187 ορθά.
- 8) **Chenin Blanc:** Από τα **271** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 72 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 199 ορθά.
- 9) **Petit Manseng:** Από τα **199** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 48 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 151 ορθά.
- 10) **Ugni Blanc:** Από τα **176** φύλλα της ποικιλίας αυτής, τα 46 ταξινομήθηκαν εσφαλμένα και τα 130 ορθά.

Η αποτελεσματικότητα ορθής ταξινόμησης των φύλλων σύμφωνα με το ποσοστό των φύλλων που ταξινομήθηκαν σωστά (Πίνακας 3) ήταν: **Αργοναυτικό:** 56,6%, **Petit Manseng:** 66,5% , **Γεωργάκης:** 67,3% , **Chardonnay Ελλάς:** 69,6% , **Ευτυχία:** 73,4%, **Chenin Blanc:** 76%, **Μακεδόνας:** 78,9%, **Ugni Blanc:** 79,3% , **Χαρά Λεωνίδων:** 80,3% και **Ευκλείδης:** 92%.

Πίνακας 2 Απεικόνιση της ταξινόμησης των φύλλων αμπέλου μέσω της ανάλυσης γραμμικής διάκρισης (LDA).

	ARG	CBL	CHH	CLE	EUK	EUT	GEO	MAK	PTM	UNB
ARG	86	0	18	1	4	12	4	2	0	3
CBL	1	199	2	20	0	1	11	4	27	6
CHH	22	4	117	0	4	11	11	4	3	6
CLE	0	15	1	187	0	1	1	7	24	0
EUK	5	0	6	0	162	6	1	0	1	5
EUT	30	1	10	1	1	149	5	17	10	4
GEO	1	13	7	5	0	4	101	6	9	8
MAK	0	4	2	1	0	12	3	187	0	0
PTM	1	12	2	17	0	4	6	5	151	2
UNB	6	14	3	1	5	3	7	5	2	130
ΦΥΛΛΑ	152	262	168	233	176	203	150	237	227	164

Πίνακας 3 Ποσοστό διάκρισης κάθε ποικιλίας μέσω της ταξινόμησης των φύλλων.

	ARG	CBL	CHH	CLE	EUK	EUT	GEO	MAK	PTM	UNB
ARG	56,6	0,0	10,7	0,4	2,3	5,9	2,7	0,8	0,0	1,8
CBL	0,7	76,0	1,2	8,6	0,0	0,5	7,3	1,7	11,9	3,7
CHH	14,5	1,5	69,6	0,0	2,3	5,4	7,3	1,7	1,3	3,7
CLE	0,0	5,7	0,6	80,3	0,0	0,5	0,7	3,0	10,6	0,0
EUK	3,3	0,0	3,6	0,0	92,0	3,0	0,7	0,0	0,4	3,0
EUT	19,7	0,4	6,0	0,4	0,6	73,4	3,3	7,2	4,4	2,4
GEO	0,7	5,0	4,2	2,1	0,0	2,0	67,3	2,5	4,0	4,9
MAK	0,0	1,5	1,2	0,4	0,0	5,9	2,0	78,9	0,0	0,0
PTM	0,7	4,6	1,2	7,3	0,0	2,0	4,0	2,1	66,5	1,2
UNB	3,9	5,3	1,8	0,4	2,8	1,5	4,7	2,1	0,9	79,3
(%)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η Μορφομετρική Ανάλυση μεμονωμένων φύλλων έδειξε ότι ήταν εφικτή η διάκριση των ποικιλιών που μελετήθηκαν σε σημαντικά ποσοστά. Ωστόσο, τα ποσοστά ορθής ταξινόμησης των φύλλων διέφεραν από ποικιλία σε ποικιλία.

Τα χαμηλότερα ποσοστά ορθής ταξινόμησης σε ορισμένες από τις 10 ποικιλίες είναι πιθανό να οφείλονται σε ιδιαιτερότητες της μορφολογίας των φύλλων αυτών των ποικιλιών που δεν ήταν εφικτό να αποτυπωθούν με τα 17 σημεία αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση.

Συνεπώς είναι πιθανό να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα ορθής ταξινόμησης με την χρήση περισσότερων και κατάλληλα επιλεγμένων σημείων αναφοράς.

6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abramoff, M.D.; Magalhães, Paulo J.; Ram, Sunanda J. (2004). Image processing with ImageJ. *Biophotonics international*, volume 11, issue 7, pp. 36 – 42.
- Aroutiounian, Rouben & Nebish, Anna & Margaryan, Kristine & Melyan, Gagik. (2015). Armenian grapevines: Cytoembryological, morphological and chemical analysis. *Vitis - Geilweilerhof*. 54. 139-142.
- Biot E, Cortizo M, Burguet J, Kiss A, Oughou M, Maugarny-Calès A, Gonçalves B, Adroher B, Andrey P, Boudaoud A, Laufs P. (2016) Multiscale quantification of morphodynamics: MorphoLeaf software for 2D shape analysis. *Development*. 143(18):3417-28.
- Botta, Roberto & Schneider, Anna & Akkak, Aziz & Scott, N.S. & Thomas, Manvel Raj. (2000). WITHIN CULTIVAR GRAPEVINE VARIABILITY STUDIED BY MORPHOMETRICAL AND MOLECULAR MARKER BASED TECHNIQUES. *Acta Horticulturae*. 91-96. 10.17660/ActaHortic.2000.528.10.
- Bryson AE, Wilson Brown M, Mullins J, Dong W, Bahmani K, Bornowski N, Chiu C, Engelgau P, Gettings B, Gomezcano F, Gregory LM, Haber AC, Hoh D, Jennings EE, Ji Z, Kaur P, Kenchanmane Raju SK, Long Y, Lotreck SG, Mathieu DT, Ranaweera T, Ritter EJ, Sadohara R, Shrote RZ, Smith KE, Teresi SJ, Venegas J, Wang H, Wilson ML, Tarrant AR, Frank MH, Migicovsky Z, Kumar J, VanBuren R, Londo JP, Chitwood DH. (2020). Composite modeling of leaf shape along shoots discriminates *Vitis* species better than individual leaves. *Appl Plant Sci*. 8(12):e11404.
- Camargo Neto, Joao & Meyer, George & Jones, David & Samal, Ashok. (2006). Plant species identification using Elliptic Fourier leaf shape analysis. *Computers and Electronics in Agriculture*. 50. 121-134.
- Chitwood DH, Ranjan A, Martinez CC, Headland LR, Thiem T, Kumar R, Covington MF, Hatcher T, Naylor DT, Zimmerman S, Downs N, Raymundo N, Buckler ES, Maloof JN, Aradhya M, Prins B, Li L, Myles S, Sinha NR. (2014) A modern ampelography: a genetic basis for leaf shape and venation patterning in grape. *Plant Physiol*. 164(1):259-72.
- Chitwood DH, Klein LL, O'Hanlon R, Chacko S, Greg M, Kitchen C, Miller AJ, Londo JP. (2016). Latent developmental and evolutionary shapes embedded within the grapevine leaf. *New Phytol*. 210(1):343-55.
- Chitwood DH, Otoni WC. (2017) Morphometric analysis of Passiflora leaves: the relationship between landmarks of the vasculature and elliptical Fourier descriptors of the blade. *Gigascience*. 6(1):1-13.
- Chuanromanee TS, Cohen JI, Ryan GL. (2019) Morphological Analysis of Size and Shape (MASS): An integrative software program for morphometric analyses of leaves. *Appl Plant Sci*. 7(9):e11288.
- Dijksterhuis G.B., J.C. Gower (1991) The interpretation of Generalized Procrustes Analysis and allied methods, *Food Quality and Preference*, Volume 3, Issue 2, Pages 67-87.
- Hamid Laga, Sebastian Kurtek, Anuj Srivastava, Stanley J. Miklavcic, (2014) Landmark-free statistical analysis of the shape of plant leaves, *Journal of Theoretical Biology*, Volume 363, Pages 41-52, ISSN 0022-5193.

- Klein LL, Caito M, Chapnick C, Kitchen C, O'Hanlon R, Chitwood DH, 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.
- Klein LL, Svoboda HT. (2017) Comprehensive Methods for Leaf Geometric Morphometric Analyses. *Bio Protoc.* 7(9):e2269.
- Kupe M, Sayıncı B, Demir B, Ercisli S, Baron M, Sochor J. (2021) Morphological Characteristics of Grapevine Cultivars and Closed Contour Analysis with Elliptic Fourier Descriptors. *Plants* (Basel). 10(7):1350.
- Lo Bianco, R.; Mirabella, F. (2018) Use of Leaf and Fruit Morphometric Analysis to Identify and Classify White Mulberry (*Morus alba* L.) Genotypes. *Agriculture*, 8, 157.
- Mancuso, Stefano & Boselli, Maurizio & Masi, Elisa. (2001). Distinction of " Sangiovese " clones and grapevine varieties using Elliptic Fourier Analysis (EFA), neural networks and fractal analysis. *Advances in Horticultural Science.* 15. 61-65.
- Orrù, Martino & Oscar, Grillo & Venora, Gianfranco & Bacchetta, Gianluigi. (2012). Computer vision as a complementary to molecular analysis: grapevines cultivars case study. *Comptes Rendus Biologies.* 335, 602-615.
- Pagnoux, Clémence & Bouby, Laurent & S., Ivorra & Petit, Christophe & Valamoti, Soultana & Pastor, Thierry & Picq, Sandrine & Terral, Jean-Frédéric. (2014). Inferring the agrobiodiversity of *Vitis vinifera* L. (grapevine) in ancient Greece by comparative shape analysis of archaeological and modern seeds. *Vegetation History and Archaeobotany.* 10.1007/s00334-014-0482-y.
- Pozharskiy A.S., K.P. Aubakirova, D.A. Gritsenko, N.I. Tlevlesov, N.Z. Karimov, N.N. Galiakparov, N.A. Ryabushkina (2020). Genotyping and morphometric analysis of Kazakhstani grapevine cultivars versus Asian and European cultivars. *Genet. Mol. Res.* 19(1): GMR18482.
- Venables, W. N., B. D. Ripley (2002) *Modern Applied Statistics with S*, Springer New York, NY.
- Wickham, H. (2009). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis (Use R!)* Νέα Υόρκη: Springer New York, NY
- Zakhi Firmansyah, Yeni Herdiyeni, Bib Paruhum Silalahi, Stéphane Douady (2016) Landmark Analysis Of Leaf Shape Using Polygonal Approximation . *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, pp. 1-8.
- Zhuo Min, Ruolan Li, Xianfang Zhao, Runyu Li, Yang Zhang, Min Liu, Xiaofeng Wei, Yulin Fang, Shuxia Chen (2018) Morphological variability in leaves of Chinese wild *Vitis* species, *Scientia Horticulturae*, Volume 238, Pages 138-146, ISSN 0304-4238.
- ΡΟΥΜΠΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ (2016). Ασθένειες & Εχθροί της Αμπέλου ΣΤ' Έκδοση . ΑΘΗΝΑ: ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΣΤΑΜΟΥΛΗ Α.Ε.
- ΣΤΑΥΡΑΚΑΣ, Δ. Ε. (2011). ΑΜΠΕΛΟΓΡΑΦΙΑ. Αθήνα, Εκδόσεις Ζήτη.