

Nachweisbarkeit von Rebvirenen mittels ELISA in Abhängigkeit vom Reborgan

HELMUT GANGL, CLAUDIA HACK und WOLFGANG TIEFENBRUNNER

Bundesamt für Weinbau
A-7000 Eisenstadt, Gölbeszeile 1
E-mail: H.Gangl@bawb.bmlfuw.gv.at

Verschiedene Organe viruskranker Reben weisen unterschiedliche Pathogenkonzentrationen auf, was die Nachweisbarkeit des Pathogens mittels DAS-ELISA entscheidend beeinflusst. Für fünf Virustypen (GLRaV I, GLRaV III, GFLV, ArMV und GFkV) wurde dieses Nachweisverfahren an zwölf Reborganen vergleichend angewandt. Reben, an denen ein positiver Pathogenbefund konstatiert wurde - egal an welchem Reborgan - wurden als erkrankt eingestuft. Häufigkeit und Verteilung der positiven Nachweise auf die Reborgane wurden erhoben. Dieses Datenmaterial wurde verwendet, um zu beschreiben, welche Reborgane sich bei den einzelnen Viren für einen Nachweis besonders eignen und wie die Quantität positiver Detektionen steigt, wenn man mehrere Reborgane analysiert. Weiters wurden Wiederholbarkeit und der Einfluss von Mehrfachinfektionen untersucht. Während bei GLRaV III und GFkV positive Nachweise häufig an sehr vielen Organen stattfinden, überwiegen bei GLRaV I und insbesondere bei ArMV positive Befunde an wenigen oder sogar an nur einem der Organe. Hier ist es besonders wichtig, mehrere Pflanzenteile zu testen, um ein realistisches Bild über die Verbreitung dieser Viren zu erhalten.

Schlagwörter: Reborgane, Viren, Nachweisbarkeit, DAS-ELISA, GLRaV I, GLRaV III, GFLV, ArMV, GFkV

Detectability of grape viroses by means of ELISA depending on specific grape organs. Different organs of virus infected grapevines show varying pathogen concentrations, which crucially affect the detectability of the pathogens by means of DAS-ELISA. For five virus types (GLRaV I, GLRaV III, GFLV, ArMV and GFkV) this detection procedure was comparatively used with twelve grape organs. Vines with a positive pathogen finding were classified as infected. Frequency of the positive findings and their distribution with respect to different grape organs were determined. These data were used to describe, which grape organs are particularly suited for the detection of specific viroses, and how the quantity of positive detections increases, if more than one grape organ is tested. Furthermore the repeatability and the influence of multiple infections were investigated. While with GLRaV III and GFkV positive detections occur frequently with very many organs, GLRaV I and ArMV are more often detected with few or even only with one vine organ. Here it is particularly important to test several parts of the plant in order to get a realistic pattern concerning the spreading of these viroses.

Keywords: grape organs, viroses, detectability, DAS-ELISA, GLRaV I, GLRaV III, GFLV, ArMV, GFkV

La détectabilité de viroses de la vigne par ELISA en fonction de l'organe de vigne. Différents organes de vignes atteints de virus présentent des concentrations différentes de pathogènes, ce qui a une influence décisive sur la détectabilité du pathogène par DAS-ELISA. Cette procédure de détection a été mise en œuvre pour cinq types de virus (GLRaV I, GLRaV III, GFLV, ArMV et GFkV) sur douze organes de vigne à titre de comparaison. Les vignes sur lesquelles on a constaté la présence de pathogènes - sur n'importe quel organe - ont été classées malades. La fréquence et la répartition des résultats positifs pour les organes de vigne ont été analysées. Ces données ont été utilisées pour décrire quels organes de vigne sont particulièrement appropriés à la détection des différentes viroses, et dans quelle mesure la quantité des détections positives augmente, lorsqu'on analyse plusieurs organes de vigne. En outre, on a fait des recherches sur la répétabilité et sur l'influence d'infections multiples. Tandis que les détections positives

se font souvent sur une multitude d'organes de GLRaV III et GFkV, les résultats positifs prédominent sur peu d'organes ou même sur un seul organe, en ce qui concerne GLRaV I et notamment ArMV. Il est donc particulièrement important de tester plusieurs parties de la plante afin d'obtenir une image réaliste de la répartition de ces virus.

Mots clés : organes de vigne, viroses, détectabilité, DAS-ELISA, GLRaV I, GLRaV III, GFLV, ArMV, GFkV

Durch manche Pathogene (Viren und Bakterien) erkrankt offenbar nicht stets der ganze Rebstock, zumindest bleiben die Symptome auf einen Bereich der Pflanze beschränkt oder treten jedenfalls lokal in sehr unterschiedlicher Intensität auf. Insbesondere kann auch die Pathogenkonzentration je nach Reorgan beträchtlich schwanken (TZORTZAKAKIS et al., 2001), ein Faktum, das natürlich die Sicherheit eines Nachweises ganz entscheidend beeinflussen kann. Bei eigenen Untersuchungen an den sich weiträumig verzweigenden Aureben (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*) gelang der Pathogennachweis mittels ELISA (CLARK und ADAMS, 1977) oft nur an einzelnen Pflanzenteilen, nicht aber an der gesamten Pflanze (REGNER et al., 2004; TIEFENBRUNNER et al., 2005). BOUYAHIA et al. (2003) beschreiben die unterschiedliche GFLV-Infektionsrate in Blatteilen und in verschiedenen Höhen des Rebstocks, wobei der zeitliche Verlauf (die Probennahme erfolgte im Mai und Juni) berücksichtigt wurde. Des Weiteren analysierten sie die Nachweisbarkeitsrate in Abhängigkeit von der Anzahl der Blätter je Probe. ROWHANI et al. (1992) berichten über den Einfluss der Jahreszeit auf die Nachweisbarkeit von GFLV und TomRSV in einigen Reorganen. BRANDT (1994) untersuchte für mehrere Reorganen und Virustypen (GLRaV I, GFLV, ArMV) mittels ELISA die Nachweisbarkeit, wobei sie die photometrischen Absorptionswerte im jahreszeitlichen Verlauf erhob. IPACH et al. (2003) analysierten die Detektierbarkeit von CLRV mittels Elisa in verschiedenen Reorganen. Für GFLV untersuchten FRESNO und ARIAS (1993) die Viruskonzentration in einigen Organproben, die in wöchentlichem Abstand genommen wurden.

Im Gegensatz zu den meisten dieser Arbeiten beziehen sich unsere Ergebnisse auf Freilanduntersuchungen einer z. T. sehr großen Anzahl von Reben.

Material und Methoden

Im Laufe der Jahre 2002 und 2004 wurde die Nachweisbarkeit verschiedener Rebviroser an Rebstöcken in verschiedenen österreichischen Weinbauregionen untersucht, deren genaue Lokation durch das Geographical Positioning System (GPS; Garmin Corporation, USA, GPS 12 Personal Navigator) bestimmt wurde. Es wurden an möglichst vielen erkrankten Reben Proben

verschiedener Reborgane entnommen. Da manche Reborgane nur zu einer bestimmten Jahreszeit vorliegen, war eine zeitgleiche Probennahme für alle Organe nicht möglich. Als erkrankt galten alle Reben, an denen ein positiver Pathogenbefund, egal an welchem Reorgan, konstatiert wurde. Die Anzahl der für diese Untersuchung zur Verfügung stehenden Reben war je nach Häufigkeit der Rebvirose höchst unterschiedlich: Für GLRaV I (Grapevine Leafroll associated Virus I) standen uns 45 Reben zur Verfügung, für GLRaV III (Grapevine Leafroll associated Virus III) zwölf, für GFLV (Grapevine Fanleaf Virus) fünf, für ArMV (Arabis Mosaic Virus) 50 und für GFkV (Grapevine Fleck Virus) 15. Die genannten Virustypen sind in Österreich von besonderer Bedeutung. Folgende zwölf Reborgane wurden in die Analyse einbezogen: Basales, mediales und apikales Holz, Knospe, Geschein, Triebspitze, Blatt, Blattstiel, Ranken, grüner Trieb, Wurzel, Fruchtfleisch, Traubenkerne und Traubengerüst.

Das Virusvorkommen wurde in den unterschiedlichen Reorganen mittels DAS-ELISA (Double antibody sandwich enzyme-linked immuno sorbent assay) und direkter Auswertung der photometrischen Absorption analysiert (BRANDT, 1994). Gestützt auf langjährige Erfahrung wurden dann die Absorptionswerte als positiver bzw. negativer Pathogenbefund interpretiert. Die Verwendung von ELISA ist derzeit für die Virusdetektion die Standardmethode, obwohl im Vergleich dazu der PCR-Nachweis wesentlich sensibler, aber auch teurer und zeitintensiver ist.

Ergebnisse und Diskussion

Wiederholbarkeit

Im Rahmen dieser Studie wurde die Wiederholbarkeit des positiven Nachweises nach zwei Jahren am Rebholz getestet, wobei aber im Fall von GFLV wegen der letalen Auswirkung des Pathogens nur mehr zwei Reben von fünf zur Verfügung standen. Tabelle 1 zeigt das Ergebnis dieser Untersuchungen; es ist ersichtlich, dass nach zwei Jahren ein positiver Nachweis bei GFkV nur mehr in 39% der Fälle möglich gewesen ist. Ob das an einer nachhaltigen Genesung der Reben liegt oder an einer Latenzerscheinung entzieht sich unserer

Kenntnis. Auch bei anderen Virose führt die Erkrankung keineswegs stets zu einer im Laufe der Zeit immer ausgeprägteren Symptomatik. Die Reben können sich also mit ihren Pathogenen bis zu einem gewissen Grad „arrangieren“.

Tab. 1: Nachweisbestätigung nach zwei Jahren in Prozent

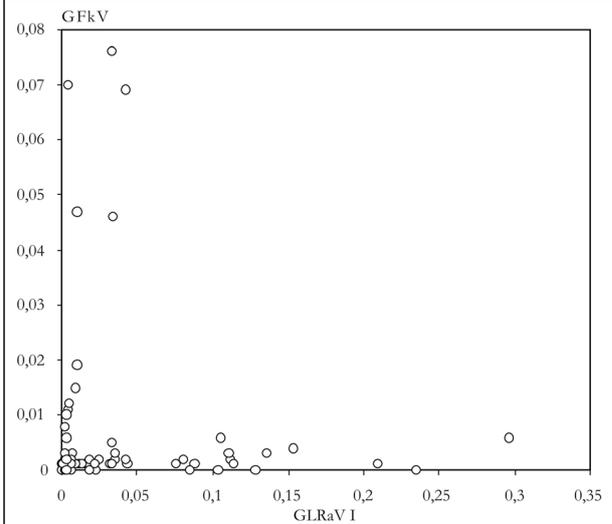
	n	Nachweis an Holz (%)
GLRaV I	33	66,7
GLRaV III	8	62,5
GFLV	2	100
ArMV	8	87,5
GFkV	23	39,1

Mehrfachinfektion

Einige Reben waren mehrfach erkrankt, womit die Möglichkeit einer gegenseitigen Beeinflussung gegeben war. Denkbar wäre z. B., dass eine bereits an einer Virose erkrankte Rebe geschwächt ist und leichter auch an anderen Virose erkrankt. Aber auch durch ein Pathogen ausgelöste physiologische Prozesse, die eine Neuerkrankung mit einem anderen Pathogen erschweren, sind vorstellbar. Derartige Wechselwirkungen zwischen den Pathogenen könnten natürlich auch die Nachweisbarkeit beeinflussen. Weiters ist es möglich, dass Nachweismethoden wenig selektiv sind und auf mehrere Virustypen ansprechen. Es wurde daher der Pearson'sche Korrelationskoeffizient zwischen den photometrischen Absorptionswerten bei den verschiedenen Virustypen und den unterschiedlichen Reborganen berechnet. Bei fünf Virustypen ergeben sich somit zehn Korrelationswerte für jedes der 14 Organe bzw. Suborgane, insgesamt also 140 Korrelationskoeffizienten. In Abbildung 1 wird das Resultat dieser Analyse zusammengefasst. Demnach liegen die meisten Korrelationswerte nahe bei Null (beispielhaft zeigt das Abb. 1, Teil A für das Reborgan Blatt), es gibt also keine Korrelation bzw. Beeinflussung zwischen dem Nachweis von zwei Virustypen. Stellt man die Messwerte für zwei Virustypen dar, liegen sie hauptsächlich entlang der beiden Achsen (Abb. 1, Teil B, die Korrelation dazu wird in Abb. 1, Teil A im grauen Feld angezeigt). Fasst man die „Ausreißer“ zusammen (hier willkürlich definiert als Werte < -0,15 bzw. > 0,15), verteilen sie sich auf sieben der zehn möglichen Kombinationen zweier Virustypen. Einige Kombinationen weisen nur einen einzelnen Ausreißer auf, andere Kombinationen haben sowohl negative als auch positive Korrelationen. Bei beiden dürfte es sich daher um zufällige Abweichungen

Blatt	GLRaV I	GLRaV III	GFLV	ArMV	GFkV
GLRaV I		0,04	-0,10	-0,08	-0,08
GLRaV III			-0,03	-0,06	0,06
GFLV				0,08	0,02
ArMV					-0,02
GFkV					

A: Korrelation der photometrischen Werte für die 5 Virustypen bei Messungen am Blatt (n = 74 Reben)



B: Photometrische Werte für GLRaV I und GFkV bei Messungen am Blatt

GLRaV I	GLRaV III	Holz basal	0,38
		Holz apikal	0,38
		Geschein	0,17
		grüner Trieb	-0,16
GLRaV I	ArMV	Holz basal	-0,21
		Holz medial	-0,21
		Triebspitze	0,34
GLRaV I	GFkV	Holz basal	-0,22
		Holz medial	-0,26
		grüner Trieb	-0,22
		Fruchtfleisch	0,20
		Traubenkerne	0,30
GLRaV III	ArMV	Ranken	-0,15
		Triebspitze	0,27
GLRaV III	GFkV	Ranken	0,21
		grüner Trieb	0,20
		Knospe	0,36
GFLV	GFkV	Geschein	0,25
		Wurzel	0,32
		Fruchtfleisch	0,35
		Geschein	0,18

C: Korrelationskoeffizienten, die den Wert 0,15 über -, bzw. -0,15 unterschreiten (22 aus 140)

Abb. 1: Nähere Erläuterung siehe Text

Tab. 2 a - d: Anzahl der Nachweise in Prozent für jedes Organ und bei Kombination zweier Reborgane. Reben gelten als erkrankt, sobald in wenigstens einem Organ ein positiver Nachweis erfolgt ist. GLFV ist wegen der zu geringen Nachweisanzahl nicht dargestellt.

GLRaV I	Nachweise %	Holz basal	Holz medial	Holz apikal	Knospe	Geschein	Triebspitze	Blatt	Blattstiel	Ranken	Grüner Trieb	Wurzel	Fruchtfleisch	Traubenkerne	Traubengertist
Holz basal	37,78	60,00	46,67	64,44	62,22	40,00	77,78	71,11	57,78	62,22	46,67	46,67	46,67	40,00	84,44
Holz medial	60,00	60,00	60,00	75,56	77,78	60,00	82,22	77,78	71,11	71,11	66,67	66,67	64,44	60,00	91,11
Holz apikal	33,33			60,00	60,00	35,56	75,56	73,33	48,89	55,56	40,00	40,00	40,00	35,56	77,78
Knospe	48,89				68,89	51,11	84,44	77,78	62,22	73,33	51,11	51,11	55,56	51,11	82,22
Geschein	40,00					40,00	77,78	75,56	57,78	66,67	46,67	46,67	48,89	42,22	84,44
Triebspitze	4,44						71,11	64,44	37,78	48,89	13,33	20,00	20,00	6,67	77,78
Blatt	71,11							80,00	77,78	75,56	71,11	77,78	71,11	71,11	91,11
Blattstiel	64,44								73,33	75,56	64,44	71,11	71,11	64,44	91,11
Ranken	33,33									60,00	37,78	40,00	40,00	35,56	82,22
Grüner Trieb	46,67										51,11	48,89	48,89	46,67	82,22
Wurzel	8,89											22,22	22,22	11,11	80,00
Fruchtfleisch	15,56													15,56	77,78
Traubenkerne	2,22														77,78
Traubengertist	77,78														77,78
GLRaV III															
Holz basal	75,00	75,00	75,00	75,00	100,00	75,00	83,33	91,67	91,67	91,67	83,33	83,33	91,67	75,00	91,67
Holz medial	75,00	75,00	75,00	75,00	100,00	75,00	83,33	91,67	91,67	91,67	83,33	83,33	91,67	75,00	91,67
Holz apikal	75,00			75,00	100,00	75,00	83,33	91,67	91,67	91,67	83,33	83,33	91,67	75,00	91,67
Knospe	8,33				91,67	25,00	50,00	75,00	75,00	75,00	66,67	33,33	83,33	8,33	83,33
Geschein	91,67						91,67	91,67	91,67	91,67	91,67	91,67	91,67	91,67	91,67
Triebspitze	16,67						41,67	83,33	75,00	75,00	41,67	83,33	83,33	16,67	83,33
Blatt	41,67							83,33	75,00	75,00	66,67	66,67	83,33	41,67	83,33
Blattstiel	75,00								83,33	83,33	75,00	75,00	83,33	75,00	83,33
Ranken	75,00									83,33	83,33	83,33	83,33	75,00	83,33
Grüner Trieb	66,67										75,00	83,33	83,33	75,00	83,33
Wurzel	25,00										75,00	83,33	83,33	66,67	83,33
Fruchtfleisch	83,33											83,33	83,33	25,00	83,33
Traubenkerne	0,00													83,33	83,33
Traubengertist	83,33														83,33

Fortsetzung Tab. 2 a - d: Anzahl der Nachweise in Prozent für jedes Organ und bei Kombination zweier Reborgane. Reben gelten als erkrankt, sobald in wenigstens einem Organ ein positiver Nachweis erfolgt ist. GFLV ist wegen der zu geringen Nachweisanzahl nicht dargestellt.

ARMV	Nachweise %	Holz basal	Holz medial	Holz apikal	Knospe	Geschein	Triebspitze	Blatt	Blattstiel	Ranken	Grüner Trieb	Wurzel	Fruchtfleisch	Traubenkerne	Traubengerüst
Holz basal	16	16	16	16	20	48	66	38	20	18	16	16	20	16	20
Holz medial	14		14		20	48	64	36	18	16	14	14	18	14	20
Holz apikal	8			16		44	62	30	12	10	8	8	14	8	14
Knospe	16				16	44	66	36	18	18	16	16	18	16	18
Geschein	44						88	60	44	46	44	44	46	44	46
Triebspitze	62							66	64	62	62	62	64	62	68
Blatt	30								32	30	30	30	34	30	36
Blattstiel	6									8	8	8	12	6	14
Ranken	4										6	6	12	4	12
Grüner Trieb	4										6	6	12	4	12
Wurzel	2											6	12	4	12
Fruchtfleisch	8												8	2	10
Traubenkerne	0													8	14
Traubengerüst	8													8	8
GfKV															
Holz basal	80,00	80,00	80,00	80,00	86,67	93,33	86,67	86,67	93,33	93,33	93,33	86,67	80,00	80,00	80,00
Holz medial	80,00		80,00		86,67	93,33	86,67	86,67	93,33	93,33	93,33	86,67	80,00	80,00	80,00
Holz apikal	80,00				86,67	93,33	86,67	86,67	93,33	93,33	93,33	86,67	80,00	80,00	80,00
Knospe	80,00					93,33	80,00	80,00	86,67	86,67	86,67	86,67	80,00	80,00	80,00
Geschein	86,67						93,33	93,33	100,00	100,00	100,00	93,33	86,67	86,67	86,67
Triebspitze	53,33							53,33	66,67	80,00	73,33	66,67	66,67	53,33	66,67
Blatt	40,00								66,67	80,00	73,33	53,33	66,67	40,00	66,67
Blattstiel	66,67									80,00	73,33	73,33	73,33	66,67	73,33
Ranken	80,00										80,00	80,00	80,00	80,00	80,00
Grüner Trieb	66,67											73,33	66,67	66,67	66,67
Wurzel	13,33											73,33	73,33	13,33	60,00
Fruchtfleisch	46,67											73,33	66,67	66,67	46,67
Traubenkerne	0,00												60,00	46,67	46,67
Traubengerüst	46,67													46,67	46,67

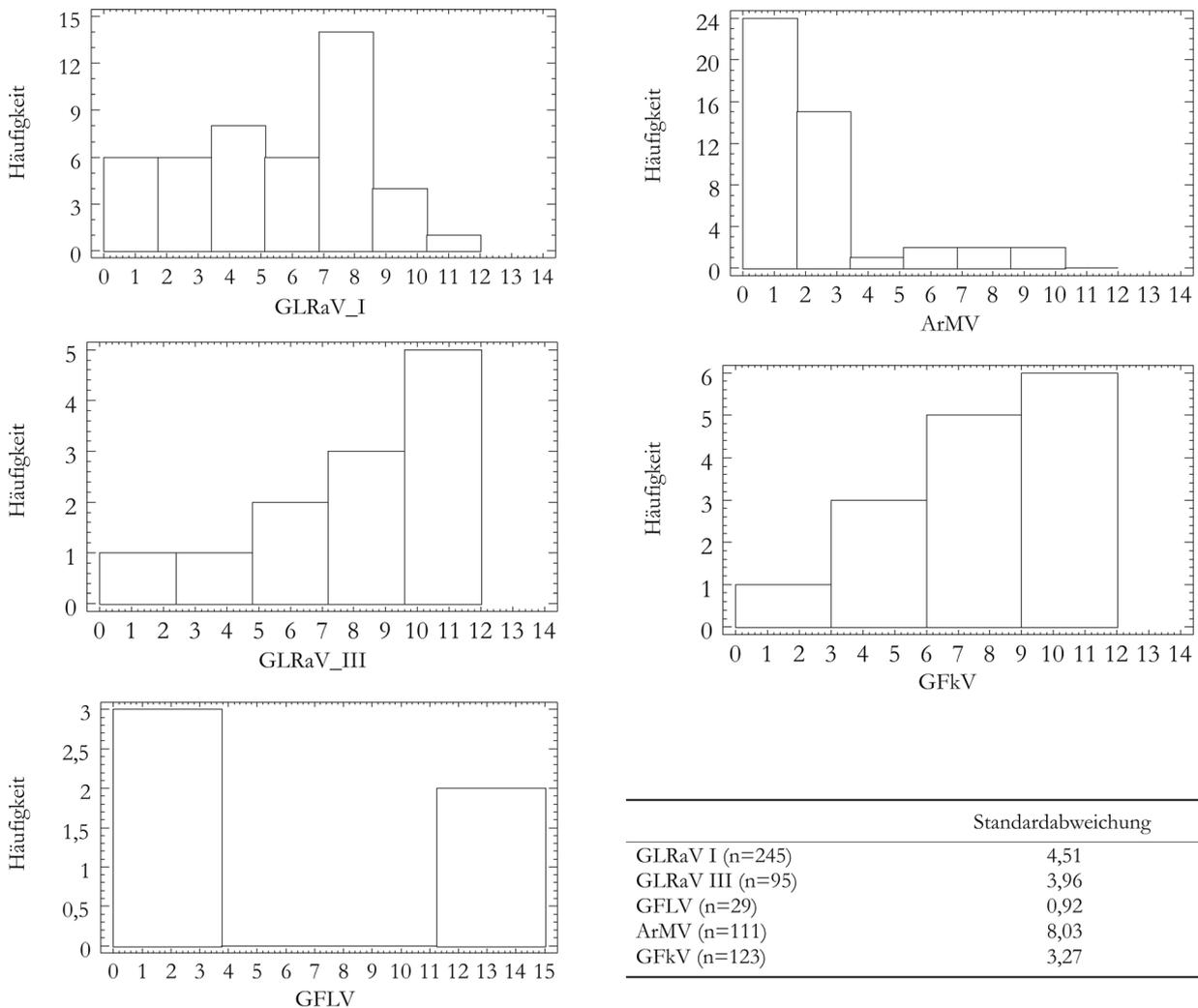


Abb. 2: Histogramm über die Anzahl der positiven Nachweise pro Rebe (maximal 14). Die Tabelle rechts unten zeigt für jeden Virustyp die Standardabweichung für die relative Nachweisanzahl pro Reborgang (der dazugehörige Mittelwert ist 100/14, da 14 Reborgane und -suborgane untersucht worden sind). Bei ArMV ist die Nachweishäufigkeit offensichtlich besonders unharmonisch auf die Reborgane verteilt (siehe auch Abb. 3).

handeln. Bei zwei Kombinationen - GLRaV III und GFkV bzw. GFLV und GFkV - sind die Abweichungen, die hier als „Ausreißer“ definiert sind, alle positiv. Im Falle GLRaV III und GFkV könnte das tatsächlich für einen Zusammenhang sprechen, der durch eine Interaktion zwischen den beiden Virustypen verursacht wird. Bei GFLV und GFkV ist das aber deshalb unmöglich, weil GFLV nur in fünf von 74 untersuchten Reben nachgewiesen wurde. Die einzig mögliche Interpretation, wenn es sich nicht um einen unwahrscheinlichen Zufall handelt, ist hier, dass das Nachweisverfahren für GFLV in geringem Ausmaß auch auf GFkV anspricht.

Die generell niedrigen Korrelationen veranlassten uns, auch mehrfach infizierte Reben für die anschließenden Analysen zu verwenden.

Verteilung von Mehrfachnachweisen

Im Idealfall gäbe es eine vollständige Korrelation der positiven oder negativen Virusnachweise in allen Reborganen, d.h. entweder einen positiven Befund in allen, oder aber in keinem Organ. Dass dem nicht so ist, zeigt Abbildung 2.

Wie man sieht, überwiegen insbesondere bei ArMV (Anzahl positiver Nachweise: 111) Einzelnachweise oder positive Nachweise nur in zwei oder drei Orga-

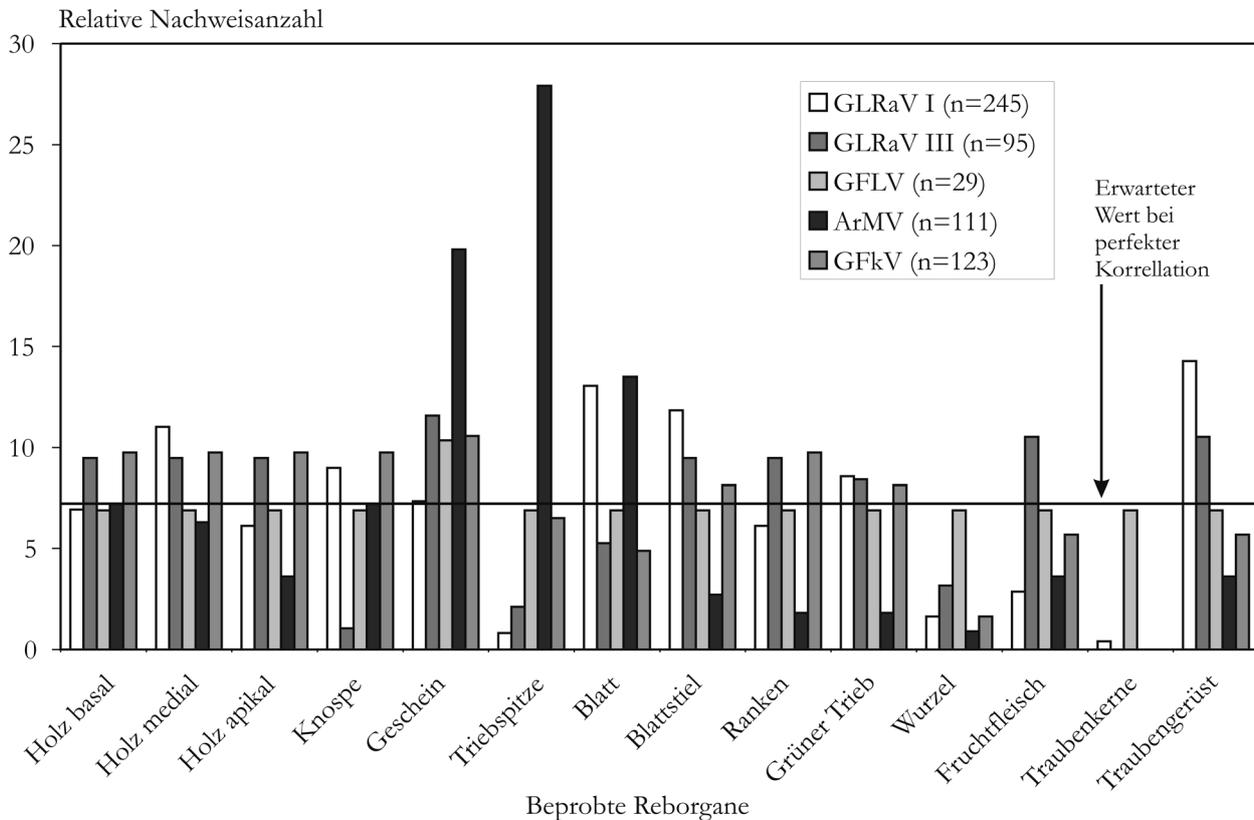


Abb. 3: Relative Nachweisanzahl pro Organ und Virustyp

nen pro Rebe. Bei GLRaV I ist die Nachweissituation nur geringfügig besser (245 positive Befunde), während bei GLRaV III und GFkV meist positive Nachweise in vielen Organen einer Rebe gelingen, bei GFLV war die Anzahl der untersuchten Reben für eine eindeutige Aussage zu gering. Wie Abbildung 3 deutlich macht, ist die Nachweisbarkeit der untersuchten Viren in den verschiedenen Reborganen nicht einheitlich.

In Abbildung 3 wird vergleichend für die untersuchten Virustypen angegeben, wie viele der Nachweise (in %) auf ein bestimmtes Organ entfallen sind (der zu erwartende Wert pro Organ ist daher 100/14, da Nachweise in 14 Reborganen und -suborganen erfolgt sind). Damit wird gezeigt, welche Organe sich für den Nachweis eines bestimmten Virustyps eignen. Beispielsweise ist die Nachweishäufigkeit im Traubengerüst bei den beiden GLRaV-Typen weit über dem Erwartungswert, bei GFkV hingegen deutlich darunter.

Ob die Nachweisqualität erhöht werden kann, indem man mehr als ein Organ pro Pflanze untersucht,

hängt nicht nur von der relativen Nachweishäufigkeit pro Organ ab, sondern auch davon, wie die Nachweishäufigkeit bei den Organen korreliert ist. Wie sich die Nachweisqualität ändern würde, wenn man zwei Organe anstelle von nur einem untersucht, wird für die einzelnen Virose in den folgenden Matrizen (Tab. 2a bis 2d) dargestellt. Bei GLRaV I erfolgt beispielsweise bei kombinierter Analyse von Blatt und Blattstiel in 80% aller jener Reben, bei denen in irgendeinem Organ ein positiver Befund festgestellt wurde, ein positiver Nachweis, während bei Einzelanalysen hingegen nur in 71% (Blätter) bzw. 64% (Blattstielen) eine positive Detektion gelingt. Von besonderer großer Bedeutung wäre eine derartige Analysenkombination aber bei ArMV, wo die Analyseergebnisse bei den einzelnen Organen generell wenig korrelieren. Beispielsweise bewirkt die kombinierte Analyse von Geschein und Triebspitze einen Anstieg der Nachweishäufigkeit auf 88% gegenüber 44% bei der Einzelanalyse von Gescheinen bzw. 62% bei der Einzelanalyse von Triebspitzen.

Literatur

- BRANDT, S. (1994): Molekularbiologische Diagnose und Analyse von Rebviren. - Wien: Diss. Univ. Bodenkultur, 1994
- BOUYAHIA, H., POTERE, O. and BOSCIA, D. (2003): Sampling methodology for the detection of Grapevine Fanleaf Virus by ELISA. 14th ICVG Conference, pp. 204-205. - Locorotondo, 2003
- CLARK, M.F. and ADAMS, A. 1977: Characteristics of the microplate of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen. Virol. 34: 475-483
- FRESNO, J. and ARIAS, M. (1993): Detection of grapevine fanleaf virus (GFLV) in vineyards along the whole year and in its vector nematode *Xiphinema* index. 11th Meeting ICVG, pp. 148-149. - Monteuix 1993
- IPACH, U., KLING, L. and LESEMANN, D. (2003): First record of cherry leafroll virus on grapevine in Germany. 14th ICVG Conference, pp. 17-18. - Locorotondo, 2003
- REGNER, F., HACK, R., GANGL, H., LEITNER, G., MANDL, K. and TIEFENBRUNNER, W. 2004: Genetic variability and incidence of systemic diseases in wild vines (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*) along the Danube. *Vitis* 43(2): 123-130
- ROWHANI, A., WALKER, M.A. and ROKNI, S. 1992: Sampling strategies for the detection of grapevine fanleaf virus and the grapevine strain of tomato ringspot virus. *Vitis* 31: 35-44
- TIEFENBRUNNER, W., REGNER, F., MANDL, K., LEITNER, G. and GANGL, H. 2005: The wild vine (*Vitis vinifera* ssp. *silvestris*) in the riparian forests of Donau and March (Austria): evaluation of genetic divergence, presence of grape viruses, bacteria and soil-borne vectors. *Plant Genetic Resources Newsletter* 141: 26-32
- TZORTZAKAKIS, E.A., PENEVA, V., TERZAKIS, M., NEILSON, R. and BROWN, D.J.F. 2001: *Longidorus cretensis* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) from a vineyard infected with a foliar 'yellow mosaic' on Crete, Greece. *Systematic Parasitology* 48(2): 131-139

Manuskript eingelangt am 17. Februar 2006