

## Nematodos fitoparásitos en viveros de olivo

P. CASTILLO, A. I. NICO, H. F. RAPOPORT, R. M. JIMÉNEZ-DÍAZ

Se ha estudiado la frecuencia y densidad de población de nematodos fitoparásitos en 259 muestras de suelo y raíces recogidas en 18 viveros de olivo en las provincias de Córdoba, Jaén y Sevilla. Las especies de mayor interés fitopatológico, en orden de frecuencia decreciente de infestación, fueron *Mesocriconema xenoplax* (39,0%), *Pratylenchus penetrans* (32,1%), *P. vulnus* (25,9%), *Meloidogyne incognita* (14,7%), *M. javanica* (11,2%) y *M. arenaria* (2,7%). En las plantas infectadas no se detectaron síntomas de enfermedad en la parte aérea. Sin embargo, en la mayoría de los viveros las densidades de población de *Pratylenchus* spp. y *Meloidogyne* spp. estuvieron en niveles potencialmente perjudiciales para su crecimiento. Los estudios histopatológicos de raíces de plántones de olivo naturalmente infectadas por *Meloidogyne* spp., mostraron una respuesta susceptible a nematodos noduladores de raíz. En la mayoría de los casos, las masas de huevos de *Meloidogyne* spp. se detectaron en el interior del tejido nodulado, lo que puede contribuir a que se produzcan infecciones secundarias. El parasitismo por estos nematodos indujo alteraciones celulares en el córtex, endodermis, periciclo y sistema vascular, incluyendo la formación de células gigantes y la alteración de los tejidos vasculares.

P. CASTILLO, A.I. NICO, H. F. RAPOPORT, R.M. JIMÉNEZ-DÍAZ: Instituto de Agricultura Sostenible, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IAS-CSIC), Apdo. 4084, 14080-Córdoba. E-mail: aglscscp@uco.es

R.M. JIMÉNEZ-DÍAZ: Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y Montes (ETSIAM), Universidad de Córdoba, Apdo. 3048, 14080 Córdoba.

**Palabras clave:** *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema xenoplax*, nematodos ectoparásitos migratorios, nematodos lesionadores de raíces, nematodos noduladores de raíces, *Olea europaea*, *Pratylenchus*, relación huésped-parásito.

## INTRODUCCIÓN

En la última década, el establecimiento de nuevas plantaciones de olivo se ha incrementado considerablemente, entre otros factores, por la innovación y mejora de las técnicas de propagación (i.e., enraizamiento de estaquillas semileñosas) que facilitan la pro-

ducción rápida y sistematizada de plántones homogéneos y de calidad (CABALLERO y DEL RÍO, 1999). El proceso de obtención de los plántones enraizados requiere un periodo de crianza de varios meses, en un sustrato de propagación constituido generalmente por suelo de diverso origen y textura areno-limoso. Con frecuencia, estos sustratos proceden

de suelos fértiles de cultivos o aluviales que pueden estar infestados por diversos agentes fitopatógenos, incluidos los nematodos fitoparásitos. Por su propia naturaleza, el material de propagación agámica utilizado para el establecimiento de especies leñosas presenta una gran capacidad de diseminación de agentes fitopatógenos. Por este motivo, la garantía sanitaria de que dicho material se encuentre libre de agentes fitopatógenos es esencial para minimizar sus efectos negativos. En el caso del olivar, el perjuicio potencial que pueden causar estas infecciones en la producción ha sido reconocido recientemente por legislaciones de la Comunidad Autónoma de Andalucía (BOJA, 1997), España (BOE, 1999) y la Unión Europea (OEPP, 1993).

Entre los nematodos fitoparásitos que han sido citados en olivo se incluyen algunos de amplia distribución, i.e., *Mesocriconema xenoplax*, *Helicotylenchus* spp., *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. (DIAB y EL-ERAKI, 1968; LAMBERTI y VOVLAS, 1993). Por el contrario, otras especies, como el nematodo de los cítricos (*Tylenchulus semipenetrans*), o el nematodo formador de quistes (*Heterodera mediterranea*), tienen una distribución muy limitada en olivo (INSERRA *et al.*, 1981; MCKENRY, 1994; CASTILLO *et al.*, 1999). Aún así, la información sobre los nematodos fitoparásitos en viveros de olivo en la Cuenca Mediterránea (VOVLAS *et al.*, 1975; INSERRA y VOVLAS, 1981) y sobre las relaciones huésped-parásito entre los nematodos noduladores de raíz y los plantones de olivo, es escasa y fragmentaria. En el presente trabajo se utilizan los términos *infección* e *infestación* con el siguiente significado que se especifica a continuación. La *infección* requiere el establecimiento de una relación parasítica continuada entre el parásito o patógeno con el huésped que le proporciona los nutrientes necesarios para su crecimiento. Sin embargo, la *infestación* se refiere a la contaminación de un sustrato abiótico por el organismo, o al contacto de éste con la superficie de una planta sin que se

establezca una relación interactiva entre ambos.

Los objetivos de este estudio fueron: 1) determinar la frecuencia y densidades de población de nematodos fitoparásitos en plantones de olivo en las provincias olivares más importantes de Andalucía; y 2) estudiar la relación del huésped-parásito en plantones de olivo naturalmente infectados por nematodos noduladores de raíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se muestrearon 18 viveros comerciales de olivo en las provincias de Córdoba, Jaén y Sevilla. Los viveros muestreados se seleccionaron en base a su importancia comercial, tipo de sustrato utilizado en la fase de crianza y distribución geográfica. En cada vivero se muestrearon plantones de 4-12 meses de edad de todos los cultivares propagados, con un tamaño muestral proporcional a la producción de éstos en el vivero. Se tomaron un total de 261 muestras con la siguiente composición de cultivares: Picual (104 muestras), Arbequina (63), Hojiblanca (39), Manzanilla (27), Cornicabra (21), Gordal (3), Ocal (3) y Picolimón (1). Cada muestra de estudio estuvo constituida por el suelo de la bolsa de crianza y el sistema radical completo del plantón.

La frecuencia de infestación para una especie de nematodo determinada se calculó globalmente para toda la prospección y para cada uno de los viveros estudiados como el porcentaje de muestras en las que se encontró dicha especie. La densidad de población de una especie nematológica en suelo se determinó en una submuestra de suelo de 100 cm<sup>3</sup> mediante el procedimiento de centrifugación-flotación (COOLEN, 1979). Además se extrajeron los nematodos del sistema radical completo de la planta mediante maceración-centrifugación de dicho tejido previamente lavado y pesado (COOLEN, 1979). Adicionalmente, cuando las raíces de las plantas muestreadas mostraban nódulos o agallas, la mitad del sistema radical se utilizó

para evaluar la densidad de población de huevos y juveniles de segunda edad (J2) de *Meloidogyne* spp., mediante el método del hipoclorito de sodio (HUSSEY y BARKER, 1973). Para su identificación, los nematodos extraídos de suelo y raíces se procesaron mediante el método de glicerina (SEINHORST, 1962). Asimismo, para la identificación de las especies de *Meloidogyne*, el inóculo extraído de las raíces se incrementó en cultivos puros en plantas de tomate cv. Roma susceptible. De estos cultivos puros se aislaron los patrones perineales necesarios para la identificación de las especies (HARTMAN y SASSER, 1985).

Para el estudio histopatológico se seleccionaron raíces noduladas de plántones de olivo infectados de modo natural de los cultivares Arbequina, Cornicabra, Hojiblanca, Manzanilla y Picual. Las raíces se lavaron y se seleccionaron nódulos individuales así como segmentos de la raíz no infectados. Dichos segmentos se fijaron en FAE (formalina: ácido acético: 60% etanol = 2:1:17 v/v) durante un mínimo de 48 h, se deshidrataron en una serie de alcohol butírico terciario (70-85-90-100%) y se incluyeron en parafina. Los tejidos incluidos en parafina se cortaron longitudinal y transversalmente con un microtomo en secciones de 10-12  $\mu\text{m}$  de grosor, se tiñeron con ácido tánico, safranina y fast green (JENSSEN, 1962) y se examinaron bajo el microscopio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante las prospecciones nematológicas identificamos 29 especies, entre las cuales deben destacarse especialmente por su importancia fitopatológica los nematodos noduladores: *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. lusitanica* y lesionadores de raíz: *Pratylenchus penetrans*, *P. vulnus* (Cuadro 1). Las especies de *Meloidogyne* se encontraron en suelo y raíces de los cultivares de olivo más importantes en la producción olivarera nacional (Arbequina, Cornicabra, Manzanilla y Picual), con densi-

dades de población entre 192 a 1.205 J2/100  $\text{cm}^3$  de suelo y entre 662 a 2.586 huevos + J2/g de raíz (Cuadro 1).

*M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica* estuvieron ampliamente representadas, llegando a alcanzar, en la totalidad de las muestras, una frecuencia de 2.7-14.7% (Cuadro 1). Entre los noduladores, *M. incognita* fue la especie más extendida, infestando 9 de los 18 viveros estudiados, con frecuencias que en algunos casos superaron el 30% (Cuadro 2). Sin embargo, *M. arenaria* y *M. javanica* sólo se detectaron en 3 viveros de las provincias de Sevilla y Córdoba, respectivamente (Cuadro 2). No obstante, la frecuencia de las infestaciones de *M. javanica* fue = 50% en dos de estos viveros (Cuadro 2). Finalmente, *M. lusitanica* sólo se encontró en una única muestra de suelo y raíz del cv. Picual (Cuadro 1).

*P. penetrans* y *P. vulnus* también se encontraron en suelo y raíces de los cultivares más importantes, con frecuencias que oscilaron entre 20.5-33.3% y 11.8-40.0%, respectivamente (Cuadro 1). Ambas especies, se detectaron en 13 y 8 viveros, respectivamente, con frecuencias que en varios viveros superaron el 50% (Cuadro 2). Todas las especies mencionadas de nematodos se han demostrado patogénicas sobre frutales y en algunos casos también en olivo (LAMBERTI y BAINES, 1969b; LAMBERTI y VOVLAS, 1993; NYCZEPIR y HALBRENDT, 1993; DOUCET *et al.*, 1997; NICO *et al.*, 2003). Estudios de patogenicidad en condiciones controladas han demostrado que poblaciones moderadas o elevadas de *M. incognita* y *M. javanica* (1.000-10.000 J2/planta), o de *P. vulnus* (1.000-5.000 nematodos/planta) reducen el crecimiento de plántones de olivo de diversos cultivares ampliamente difundidos en España e Italia (LAMBERTI y BAINES, 1969a; 1969b, SASANELLI *et al.*, 1997). Asimismo, estas reducciones de vigor han sido demostradas en plántones de olivo cvs. Arbequina y Picual inoculadas artificialmente con *Meloidogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. (NICO *et al.*, 2003). Estos antecedentes muestran que las densidades de población de *Meloi-*

Cuadro 1. Nematodos fitoparásitos en viveros comerciales de olivo

Nematodos	Frecuencia (%)	<u>Nematodos/100 cm<sup>3</sup> suelo</u>	<u>Nematodos/g raíz</u>
		Media ± DE	Media ± DE
<b><u>Noduladores</u></b>			
<i>Meloidogyne incognita</i>	14,7	248,0 ± 78,2	1367,2 ± 642,0 <sup>a</sup>
<i>M. javanica</i>	11,2	191,6 ± 29,7	708,5 ± 181,7 <sup>a</sup>
<i>M. arenaria</i>	2,7	1205,2 ± 1062,7	661,9 ± 519,3 <sup>a</sup>
<i>M. lusitanica</i>	0,4	643,0	2856,0 <sup>a</sup>
<b><u>Lesionadores</u></b>			
<i>Pratylenchus penetrans</i>	32,1	93,6 ± 11,6	11,5 ± 2,4
<i>P. vulnus</i>	25,5	66,3 ± 6,6	10,3 ± 3,0
<i>P. thornei</i>	22,8	36,7 ± 4,8	5,7 ± 2,2
<i>P. neglectus</i>	4,2	104,8 ± 14,5	8,4 ± 2,8
<i>P. fallax</i>	2,7	86,7 ± 19,9	1,5 ± 0,5
<i>Zygotylenchus guevarai</i>	3,9	21,9 ± 3,4	4,5 ± 1,9
<i>Pratylenchoides ritteri</i>	0,8	14,5 ± 6,5	-
<b><u>Posibles Transmisores de virus</u></b>			
<i>Paratrichodorus teres</i>	20,1	47,7 ± 5,6	-
<i>P. minor</i>	7,3	37,2 ± 7,5	-
<i>Xiphinema pachtaicum</i>	5,4	11,8 ± 3,1	-
<i>Longidorus</i> sp.	1,9	6,2 ± 1,2	-
<i>Trichodorus giennensis</i>	1,2	28,3 ± 19,3	-
<b><u>Ectoparásitos migratorios</u></b>			
<i>Mesocriconema xenoplax</i>	39,0	396,5 ± 84,3	9,2 ± 3,2
<i>Tylenchorhynchus clarus</i>	39,0	79,1 ± 7,8	-
<i>Helicotylenchus pseudorobustus</i>	34,0	59,0 ± 6,2	-
<i>Paratylenchus microdorus</i>	27,4	70,5 ± 25,5	2,6 ± 1,6
<i>P. arculatus</i>	13,5	240,3 ± 73,8	47,9 ± 24,2
<i>Helicotylenchus digonicus</i>	13,1	100,6 ± 35,8	-
<i>Tylenchorhynchus dubius</i>	12,7	94,8 ± 23,6	-
<i>Tylenchorhynchus</i> sp.	12,0	87,3 ± 19,7	-
<i>T. huesingi</i>	5,8	110,1 ± 25,2	-
<i>T. aduncus</i>	4,6	69,4 ± 31,9	-
<i>Helicotylenchus vulgaris</i>	3,9	154,1 ± 134,5	1,4
<i>Tylenchorhynchus mamillatus</i>	3,5	57,0 ± 13,7	-
<i>Amplimerlinius paraglobigerus</i>	1,9	22,2 ± 6,2	-
<i>Criconemoides informis</i>	1,2	21,3 ± 5,5	-
<i>Helicotylenchus dihystra</i>	1,2	779,0 ± 668,7	-
<i>Hemicycliophora</i> sp.	1,2	7,0 ± 2,5	-
<i>Rotylenchus</i> sp.	0,4	8,0	-

<sup>a</sup> Número de huevos + J2

Cuadro 2. Frecuencia (%) de las principales especies de nematodos fitoparásitos en los viveros prospectados

Provincia	Vivero (Nº de referencia)	Nº de muestras	<i>M. arenaria</i>	<i>M. incognita</i>	<i>M. javanica</i>	<i>P. penetrans</i>	<i>P. vulnus</i>
Córdoba	101	24	-	54,2	8,3	9,2	0,1
	102	27	-	-	59,3	59,3	-
	103	24	-	-	50,0	-	54,2
	104	18	-	55,5	-	5,6	50,0
	105	15	-	20,0	-	-	-
	107	12	-	25,0	-	75,0	-
	110	6	-	-	-	100	-
	111	6	-	33,3	-	50,0	-
	113	18	-	-	-	22,2	5,6
Sevilla	201	19	5,3	-	-	78,9	-
	202	24	8,3	-	-	100	-
	203	21	19,1	-	-	-	57,1
Jaén	301	20	-	10,0	-	35,8	40,0
	302	3	-	-	-	-	-
	303	6	-	16,7	-	33,3	-
	304	6	-	33,3	-	-	-
	305	6	-	-	-	50,0	50,0
	306	6	-	16,7	-	66,7	16,7

(-) = no detectado.

*dogyne* spp. y *Pratylenchus* spp. encontradas en nuestro estudio constituyen un riesgo potencial para el crecimiento de estos plantones en el vivero o en las nuevas plantaciones que se establezcan con ellos.

Además de *P. penetrans* y *P. vulnus*, entre los nematodos lesionadores de raíz también se encontraron poblaciones elevadas en suelo de otras especies, como *Pratylenchoides ritteri*, *Pratylenchus fallax*, *P. neglectus*, *P. thornei* y *Zygotylenchus guevarai* (Cuadro 1). Sin embargo, los datos en la literatura nematológica demuestran que estas últimas especies no parasitan árboles frutales (VERDEJO y PINOCHET, 1991; PINOCHET *et al.*, 1992), por lo cual deben ser considerados como parásitos ocasionales de los plantones

de olivo como consecuencia de infestar los sustratos viverísticos.

También merecen una especial atención las cinco especies de posibles nematodos transmisores de virus (*Longidorus* sp., *Paratrichodorus minor*, *P. teres*, *Trichodorus giennensis* y *Xiphinema pachtaicum*) diagnosticadas en las prospecciones, que presentan una frecuencia y densidad de población medias o bajas, a excepción de *P. teres* (Cuadro 1). No obstante, la información disponible hasta el momento indica que ninguna de ellas es un vector conocido del virus del mosaico de *Arabis* (AMV) y virus del moteado latente de la fresa (SLRV) que infectan olivo (TAYLOR y BROWN, 1997). Estos dos virus son transmitidos por *X. diversicaudatum*

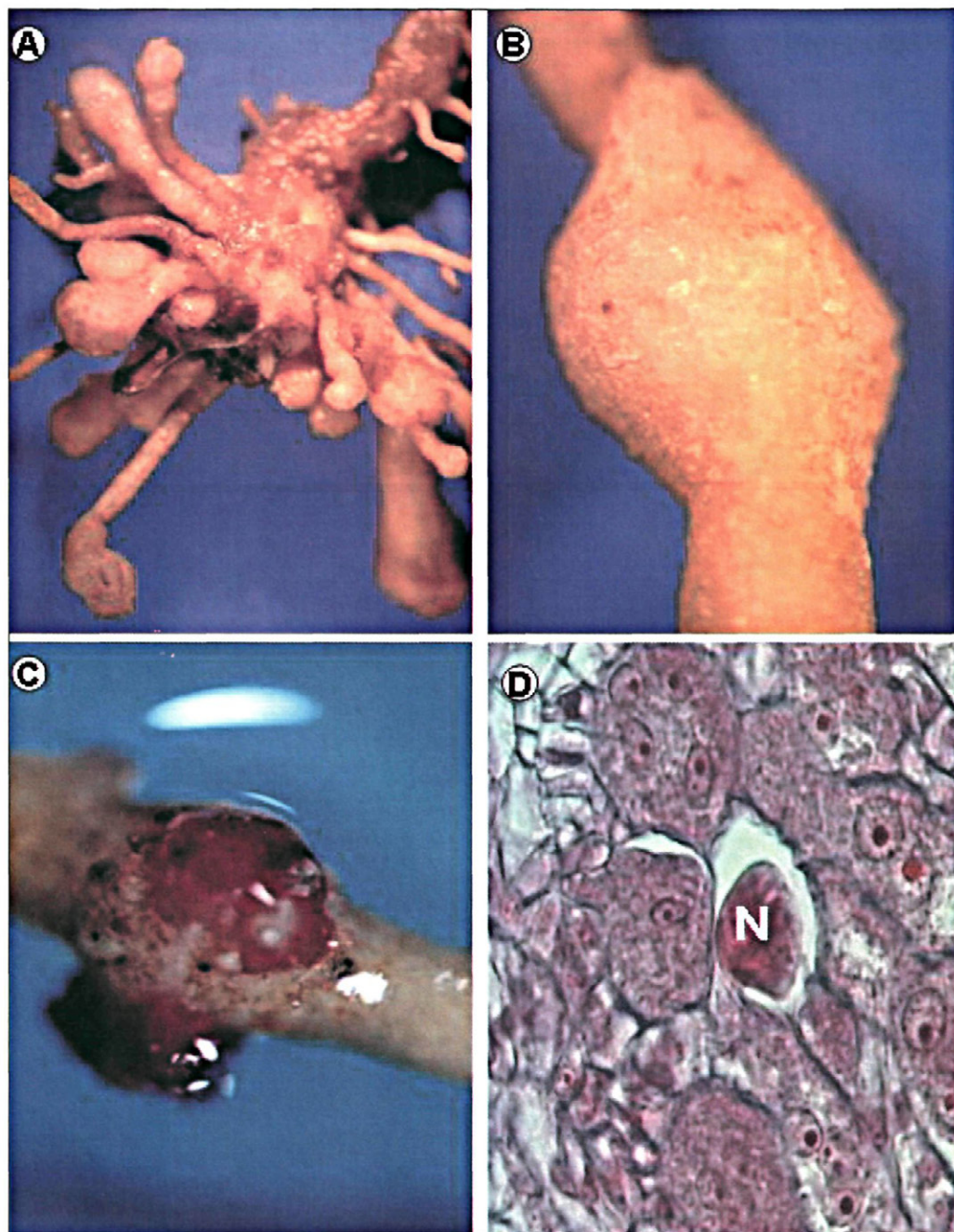


Figura 1. Síntomas desarrollados en raíces de plántones de olivo infectadas por *Meloidogyne* spp. (A-B) Nódulos o agallas (C) Masas de huevos superficiales y teñidas. (D) Raíz de 'Hojiblanca' infectada por *M. incognita* (N= hembra adulta del nematodo).

(MARTELLI TAYLOR, 1989) especie que no se ha encontrado en nuestro estudio, aunque debe ser tenida en cuenta puesto que se ha citado en el centro y norte de España (NAVAS *et al.*, 1988).

Los nematodos ectoparásitos migratorios identificados en las prospecciones constituyen el grupo cualitativamente más numeroso (17 especies) y con una frecuencia de aparición más elevada (Cuadro 1). En este grupo debe destacarse *M. xenoplax*, tanto por su elevada frecuencia (39.0%), como por su presencia en suelo y raíces de los cultivares Arbequina, Manzanilla y Picual (Cuadro 1). La densidad de población de *M. xenoplax* fue de 343-517 nematodos/100 cm<sup>3</sup> de suelo y de 6-23 nematodos/g de peso fresco de raíz (Cuadro 1). En algunos viveros la frecuencia de este nematodo alcanzó valores superiores al 90 % (Cuadro 2). La capacidad de *M. xenoplax* de causar perjuicio en plantones de olivo está por determinar, aunque este nematodo es considerado como un patógeno importante de frutales del género *Prunus*, siendo el principal factor biótico responsable de "la vida corta del melocotonero" (PTSL o "peach tree short life") (NYCZEPER y HALBRENDT, 1993). En este grupo trófico de nematodos también han presentado una elevada frecuencia y densidades de población en suelo varias especies de los géneros *Helicotylenchus* spp., *Tylenchorhynchus* spp. y *Paratylenchus* spp. (Cuadros 1 y 2). Si embargo y de acuerdo con los datos existentes en la literatura nematológica (DIAB y EL-ERAKI, 1968; LAMBERTI y VOVLAS, 1993), los niveles de población encontrados en nuestro estudio no parecen constituir amenaza para el crecimiento de los plantones de olivo.

En el curso de las prospecciones, no se observó ningún síntoma de enfermedad en los tallos u hojas de los plantones infectados por nematodos respecto de los no infectados. Sin embargo, plantas que estaban infectadas por nematodos noduladores mostraron raíces secundarias deformadas y nódulos o agallas de tamaño grande (6-8 mm) a moderado (2-3 mm) (Fig. 1). Dichos nódulos se encontra-

ban distribuidos de forma discreta o individual, o formando grupos en la raíz (Fig. 1). Los estudios histopatológicos demostraron que los nódulos inducidos por *Meloidogyne* spp. en las raíces de plantones de olivo variaban en tamaño y situación. Generalmente, los nódulos eran más o menos irregulares y estaban localizados en los ápices radicales, pero también estuvieron presentes a lo largo del eje de la raíz (Fig. 1). En muchos casos se encontraron hasta ocho hembras maduras globosas asociadas con dichos nódulos (i.e., *M. arenaria* en 'Cornicabra'). En raras ocasiones se encontró una masa de huevos en la superficie de la raíz; por el contrario, en la mayoría de los casos las masas de huevos se observaron dentro de los tejidos corticales de la raíz, independiente de la edad del sistema radical. Las raíces infectadas por *Meloidogyne* spp. mostraron alteraciones celulares en tejidos corticales, endodermis, periciclo y parénquima vascular (Fig. 1); y en los sitios de alimentación permanente el nematodo indujo la formación de células gigantes multinucleadas (Fig. 1); que dio lugar a la distorsión y aplastamiento de los tejidos vasculares (Fig. 1). Estas células gigantes mostraron un citoplasma denso y un número variable de núcleos, con nucleolos hipertrofiados (Fig. 1). Adicionalmente, los tejidos adyacentes a las células gigantes tenían un acentuado desarrollo hiperplásico que contribuyó a la formación del nódulo o agalla radical (Fig. 1).

Las modificaciones histológicas descritas anteriormente indican que los plantones de olivo de los cvs. Arbequina, Cornicabra, Hojiblanca, Manzanilla y Picual tienen una reacción susceptible típica a la infección por *M. arenaria*, *M. incognita* y *M. javanica*. El desarrollo y el hábito parasítico de *Meloidogyne* spp. observado en este estudio es similar al encontrado por otros investigadores en Argentina (DOUCET *et al.*, 1997), Italia y Portugal (ABRANTES *et al.*, 1992). Sin embargo, un hallazgo adicional en nuestro estudio es la presencia de numerosas masas de huevos dentro de los tejidos de la raíz, lo que podría contribuir a que se establezcan

infecciones secundarias con mayor facilidad en los plantones en su etapa de vivero o en la plantación definitiva.

La frecuencia y densidades de población de nematodos encontrados en suelo y raíces de plantones de olivo en este estudio, así como las alteraciones anatómicas observadas en las raíces infectadas por *Meloidogyne* spp., sugieren que el parasitismo de raíces de plantones de olivo por nematodos noduladores y lesionadores tienen la capacidad potencial de causar perjuicio al crecimiento de los mismos en el vivero o en la plantación definitiva. En consecuencia, para evitar los riesgos señalados en los viveros de olivo, los sustratos deberían ser desinfectados mediante diversas estrategias de control (solariza-

ción, enmiendas orgánicas, etc.), en las cuales está trabajando nuestro grupo de investigación. Estas prácticas de saneamiento de sustratos proporcionarán al sector viverístico del olivo una tecnología que permitirá la producción de plantones con un alto estándar de calidad fitosanitaria.

## AGRADECIMIENTOS

Investigación subvencionada por los Proyectos CAO-99-010-C3-01 (INIA) y 1FD97-1322-C04-02 (CICYT). Se agradece la colaboración técnica de Ester García Cuevas y Jorge Martín Barbarroja.

## ABSTRACT

CASTILLO P., A. I. NICO, H. F. RAPOPORT, R.M. JIMÉNEZ-DÍAZ. 2003. Plant-parasitic nematodes in olive nurseries. *Bol. San. Veg. Plagas*, **29**: 255-263.

Nematode population densities were determined in 259 soil and root samples collected from 18 olive nurseries in Córdoba, Jaén, and Sevilla provinces (southern Spain). The most important plant-parasitic nematodes detected, in order of decreasing frequency of infestation, were, *Mesocriconema xenoplax* (39.0 %), *Pratylenchus penetrans* (32.1 %), *P. vulnus* (25.9 %), *Meloidogyne incognita* (14.7 %), *M. javanica* (11.2 %), and *M. arenaria* (2.7 %). No disease symptoms were noted on above-ground organs of infected plants. However, population densities of *Pratylenchus* spp. and *Meloidogyne* spp. were at potentially damaging levels in most of olive nurseries surveyed. Histopathological studies of galled roots from the naturally-infected olive planting stocks showed a susceptible response to root-knot nematode infection. Large numbers of egg masses were present within the galled root tissues that might contribute to secondary infections. Feeding by root-knot nematodes induced the expected cellular alterations in the cortex, endodermis, pericycle and vascular system, including giant-cell formation and the alteration of vascular tissues.

**Key words:** *Helicotylenchus*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema xenoplax*, migratory ectoparasite nematodes, root-lesion nematodes, root-knot nematodes, *Olea europaea*, *Pratylenchus*, host-parasite relationship.



REFERENCIAS

- ABRANTES, I. M., VOVLAS, N. and SANTOS, M. S. N. 1992. Host-parasite relationships of *Meloidogyne javanica* and *M. lusitanica* with *Olea europaea*. *Nematologica* 38: 320-327.
- BOE, 1999. *Modificación del reglamento técnico de control y certificación de plantas de vivero de frutales*. Nº 276: 40077-40079.
- BOJA, 1997. *Reglamento Específico de Producción Integrada del Olivar*. Nº 100: 10543-10555.
- CABALLERO, J. M. y DEL RÍO, C. 1999. Métodos de multiplicación. En: D. BARRANCO, R. FERNÁNDEZ-ESCOBAR y L. Rallo (Eds.). *El Cultivo del Olivo*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 3ª Edición, 91-115.
- CASTILLO, P., VOVLAS, N., NICO, A. I. and JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. 1999. Infection of olive trees by *Heterodera mediterranea* in orchards in southern Spain. *Plant Dis.* 83: 710-713.
- COOLEN, W. A. 1979. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. En: F. LAMBERTI and C. E. TAYLOR, (Eds.) *Root-knot Nematodes (Meloidogyne species) Systematics, Biology and Control*. Academic Press, London, UK, 319-329.
- DIAB, K. A. and EL-ERAKI, S. 1968. Plant-parasitic nematodes associated with olive decline in the United Arab Republic. *Plant Dis. Repr.* 52: 150-154.
- DOUCET, M. E., PONCE DE LEÓN, E. L. y POLONI, N. 1997. Alteraciones histológicas inducidas por *Meloidogyne incognita* en raíces de olivo en Catamarca, Argentina. *Nematol. medit.* 25: 275-277.
- HARTMAN, K. M. and SASSER, J. N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: K. R. BARKER, C. C. CARTER and J. N. SASSER, (Eds.) *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. 2. *Methodology*. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 69-77.
- HUSSEY, R. S. and BARKER, K. R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Dis. Report.* 57: 1025-1028.
- INSERRA, R. N. and VOVLAS, N. 1981. Indagine sulla distribuzione geografica dei nematodi parassiti dell'olivo in Italia. *Informatore fitopatol.* 1: 117-119.
- INSERRA, R. N., VOVLAS, N., FONTANAZZA, G. and LACASTA, G. 1981. Comportamento di alcune cultivar di olivo alle infestazioni di quattro specie di nematodi. *Riv. Ortoflorofrutt. It.* 65: 143-148.
- JENSEN, W. A. 1962. *Botanical Histochemistry*. W.H. Freeman and Co., San Francisco. 408 pp.
- LAMBERTI, F. and BAINES, R. C. 1969a. Pathogenicity of four species of *Meloidogyne* on three varieties of olive trees. *J. Nematol.* 1: 111-115.
- LAMBERTI, F. and BAINES, R. C. 1969b. Effect of *Pratylenchus vulnus* on the growth of "Ascolano" and "Manzanillo" olive trees in a glasshouse. *Plant Dis. Rep.* 53: 557-558.
- LAMBERTI, F. and VOVLAS, N. 1993. Plant parasitic nematodes associated with olive. *EPPO Bull.* 23: 481-488.
- MARTELLI, G. and TAYLOR, C. E. 1989. Distribution of viruses and their nematode vectors. En: G. MARTELLI (Ed.) *Advances in Disease Vector Research*. Springer-Verlag, New York, 151-189.
- MCKENRY, M. V. 1994. Nematodes of Olive. En: L. FERGUSON, G. S. SIBETT and G. C. MARTIN (Eds.) *Olive Production Manual*. University of California. Publ. 3353, 97-99.
- NAVAS, A., BELLO, A. and ARIAS, M. 1988. Ecology and potential distribution of *Xiphinema diversicaudatum* and *X. pachtaicum* (Nematoda: Longidoridae) in continental Spain. *Nematologica* 34: 314-330.
- NICO, A. I., JIMÉNEZ-DÍAZ, R. M. and CASTILLO, P. 2003. Host suitability of the olive cultivars Arbequina and Picual for plant parasitic nematodes. *J. Nematol.* 35, 29-34.
- NYCZEPIR, A. P. and HALBRENDT, J. M. 1993. Nematode pest of deciduous fruit and nut trees. En: K. EVANS, D. L. TRUDGILL and J. M. WEBSTER (Eds.) *Plant-parasitic Nematode in Temperate Agriculture*. CAB International, Cambridge, UK, 381-425.
- OEPP/EPPO 1993. Certification schemes. No. 7. Nursery requirements- recommended requirements for establishments participating in certification of fruit or ornamental crops. *EPPO Bull.* 23: 249-252.
- PINOCHET, J., BELLO, A. y RODRÍGUEZ-KABANA, R. 1992. Nematodos en viveros frutales y cítricos, su introducción, dispersión y control. *Fruticultura Profesional* 44: 55-61.
- SASANELLI, N., FONTANAZZA, G., LAMBERTI, F., D'ADDABO, T., PATUMI, M. and VERGARI G. 1997. Reaction of olive cultivars to *Meloidogyne* species. *Nematol. medit.* 25:183-190.
- SEINHORST, J. W. 1962. On the killing, fixation and transferring to glycerine of the nematodes. *Nematologica* 8: 29-32.
- TAYLOR, C. E. and BROWN, D. J. F. 1997. *Nematode Vectors of Plant Viruses*. CAB International. Cambridge, UK. 286 pp.
- VERDEJO, S. y PINOCHET, J. 1991. Nematodos asociados a plantones de frutales y cítricos en viveros comerciales. *Invest. Agr.: Prod. Veg.* 6: 379-385.
- VOVLAS, N., INSERRA, R. and LAMBERTI, F. 1975. Risanamento di piantoni di arancio amaro, olivo e vite infestati da nematodi. *Att. Giorn. Fitopatol.:* 271-277.

(Recepción: 3 julio 2002)

(Aceptación: 5 diciembre 2002)