

## Nematofauna principal asociada al frijol (*Phaseolus vulgaris*, L) en Las Tunas

## Main nematofauna associated with beans (*Phaseolus vulgaris*, L) in Las Tunas

Iliana Rogelia Martínez Guerra<sup>1</sup> ([nematologia@laprosav.ltu.minag.gob.cu](mailto:nematologia@laprosav.ltu.minag.gob.cu))  
(<https://orcid.org/0000-0002-8745-5694>)

### Resumen

Con el propósito de conocer las especies de nemátodos presentes, sus niveles poblacionales y frecuencia de aparición en el cultivo del frijol, en la provincia Las Tunas, se realizaron muestreos en campos sembrados en Manatí, Puerto Padre, Jesús Menéndez, Las Tunas y Jobabo, desde enero de 2015 hasta marzo de 2020. Las muestras de suelo y raíces se analizaron en la sección de Nematología del Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal por los procedimientos establecidos. Fueron identificadas con el uso de diferentes claves taxonómicas cinco especies de nemátodos: *Aphelenchus* sp., *Meloidogyne incognita* (Kofoid y White) Chitwood, *Meloidogyne* sp., *Tylenchus* sp. y *Xiphinema* sp. No se observaron nemátodos cistógenos, ni de interés cuarentenario para Cuba. *M. incognita* fue la especie con mayor frecuencia de aparición en suelo y raíces y la más abundante. *Xiphinema* sp., solo fue identificada en suelo del cultivar Velazco Largo. En el cultivar Delicia y Buenaventura fue donde se observó la mayor diversidad de especies de nemátodos y las mayores poblaciones de *M. incognita*.

**Palabras claves:** frijol, *meloidogyne incognita*, nemátodos

### Abstract

In order to know the species of nematodes present, their population levels and frequency of appearance in bean cultivation, in the province of Las Tunas, samplings were carried out in fields planted in Manatí, Puerto Padre, Jesús Menéndez, Las Tunas and Jobabo, from January 2015 to March 2020. The soil and root samples were analyzed in the Nematology section of the Provincial Plant Health Laboratory by the established procedures. Five species of nematodes were identified with the use of different taxonomic keys: *Aphelenchus* sp., *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood, *Meloidogyne* sp., *Tylenchus* sp., and *Xiphinema* sp. No cysthogenic, nematodes were observed, nor were they of quarantine interest for Cuba. *M. incognita* was the species with the highest frequency of appearance in soil and roots and the most abundant. *Xiphinema* sp., was only identified in the soil of the cultivar Velazco Largo. The cultivar Delicia and Buenaventura was where the greatest diversity of nematode species and the largest populations of *M. incognita* were observed.

**Key words:** beans, *Meloidogyne incognita*, nematodes

<sup>1</sup> Máster en Ciencias Agrícolas. Ingeniera Agrónoma. Especialista en Nematología Agrícola en el Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Las Tunas, Cuba.

## El cultivo del frijol. Reflexiones actuales

El frijol común (*Phaseolus vulgaris*, L.) representa una legumbre de importancia global como fuente nutricional y se proyecta que su demanda se incremente en los próximos años, debido a la tendencia actual de crecimiento de la población mundial y al aumento de su consumo (Bellucci y otros, 2014). Es relativamente fácil de producir, además, tiene buen sabor, es versátil en su preparación, excelente suministro de proteínas, vitaminas y hierro, libre de colesterol y su consumo previene ciertas enfermedades (Myers y Kmiecik, 2017).

Numerosas causas inciden en que los rendimientos en Cuba estén por debajo de las potencialidades de los cultivos, entre ellas están los factores climáticos, tecnológicos, uso ineficiente de las tierras e incidencia de plagas; dentro del conjunto de plagas, se encuentran los nemátodos parásitos de plantas, organismos que son, a menudo, subestimados por los agricultores y técnicos en el país (Hernández, Rodríguez y Holgado, 2018).

Por su densidad poblacional y hábitos alimentarios, las plagas en muchas ocasiones extraen del área de cultivo más energía que la que el hombre considera adecuado, por lo que resultan perjudiciales y se hace necesario combatirlas (Romero 2004, citado por Pérez, 2015).

Según Lezaun (2016):

...se conocen 4 105 especies de nemátodos fitoparásitos, y solo unos pocos están involucrados en el parasitismo de plantas; sin embargo, afectan una amplia variedad de cultivos, desde temporales hasta árboles frutales y establecen en muchos casos relaciones biotróficas de gran interés científico, superadas únicamente por la simbiosis. (párr.5)

Hernández, Rodríguez y Holgado (2018), revelaron que:

...no hay estudios publicados en Cuba acerca de las pérdidas que provocan los nemátodos en el frijol y que en encuesta realizada a productores líderes indicaron que el 100 % de los entrevistados no consideraron a los fitonemátodos como plagas o amenaza potencial para el frijol común, lo que conlleva a que no presten atención a su manejo ni consideren que pueden afectar los cultivos que le acompañan en secuencias de rotación. (pp. 1-16)

Fernández, Gandarilla, Casanueva, Draguiche y Jiménez (2015), expresan que:

... entre los métodos de manejo más importantes se encuentran la introducción de la biofumigación, agentes de control biológico como *Tsukamurella paurometabola*, *Pochonyia chlamydosporia*, *Trichoderma virides*, *Bacillus thuringiensis*, las tecnologías de bandejas flotantes y el injerto sobre patrones resistentes, las plantas trampas y variedades resistentes, entre otras. No obstante, estos sistemas de manejo deben tener la flexibilidad necesaria para enfrentar los retos que significan el cambio climático, los problemas de la degradación de los suelos, la aparición en los escenarios productivos de un nuevo tipo de productor, los cambios en el modelo económico, la necesidad de incrementar la protección del ambiente, así como la aparición de novedosas sustancias

nematicidas en el mercado y la posible aparición de nuevas especies en los territorios o incluso la reemergencia de otras. (pp.117-118)

Determinar el comportamiento poblacional de las principales especies de fitonemátodos en el cultivo del frijol, para contribuir al manejo de la plaga fue el objetivo del trabajo.

### **Determinación de las especies de nemátodos presentes en frijol, su abundancia y frecuencia de aparición en Las Tunas**

Para conocer la fauna de fitonemátodos asociada al cultivo del frijol, se realizaron desde enero del año 2015 hasta marzo del año 2020 muestreos, por interés de los productores, en las unidades productoras que se relacionan en la Tabla 1.

Tabla 1: Unidades productoras donde se realizaron los muestreos

<b>Municipio</b>	<b>Unidad Productora</b>
Manatí	UBPC Luis Augusto Turcios Lima
Puerto Padre	CCS Cosme Torres
	UEB IA Gayol, Vázquez
Jesús Menéndez	CCS José M. Rodríguez
	CCS Pedro Lantigua
Las Tunas	CPA 24 de febrero
	CCS 35 Aniversario ANAP
Jobabo	CCS Antonio Maceo

Se colectaron 41 muestras de campos sembrados de los cultivares Buenaventura, CUL 156, Delicia, Liliانا y Velazco Largo.

Para determinar las especies de fitonemátodos presentes y su densidad poblacional se colectaron raíces mezcladas con el suelo a una profundidad de 5 cm a 30 cm (Neval, 2019). Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas debidamente identificadas y enviadas al Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Las Tunas, para su proceso.

En el laboratorio se registró individualmente cada muestra y se procesaron en la Sección de Nematología Agrícola. Para la extracción de los fitonemátodos se separó el suelo y las raíces de cada una de las muestras.

Las muestras de suelo fueron divididas en dos porciones, una de ellas se procesó por el método Fenwick modificado, para la detección de nemátodos cistógenos y la otra se

analizó por el método Embudo Baermann, para la extracción de nemátodos vermiformes (Procesos Normalizativos de Operaciones, PNO, 2017a, 2017b).

Las muestras de raíces se lavaron cuidadosamente, primero se observaron al microscopio estereoscopio para detectar la presencia de nemátodos formadores de agallas, cistógenos o semiendoparásitos.

Luego las raíces fueron fraccionadas en segmentos de 1 cm aproximadamente y se procesaron por el método Embudo Baermann, para coleccionar los fitonemátodos vermiformes (PNO, 2017b).

En las raíces que se observó la presencia de nemátodos del género *Meloidogyne*, las hembras adultas (que poseían ootecas) fueron extraídas de las raíces con el auxilio de agujas de disección y transferidas a una gota de glicerina en una placa de celuloide, inmediatamente, se realizó un corte en la parte media del cuerpo, se desechó el extremo anterior y con un pelo de pescar se procedió a limpiar la parte posterior y se presionó ligeramente sobre la placa de celuloide para extraer el contenido del cuerpo. Una vez limpia el área, con un bisturí, se realizaron varios cortes a la cutícula adyacente a la región perineal, las hembras preparadas se transfirieron a una gota de glicerina en un portaobjeto de vidrio y se llevaron al microscopio óptico y con lente 15 x, objetivo 40 se realizó la determinación taxonómica de la especie coleccionada (Protocolo de Diagnóstico, PD, 2017a).

La suspensión coleccionada de las muestras de suelo y raíces se vertieron en placas de petri de forma independiente y se llevaron al microscopio estereoscopio donde se realizó el conteo y se pescaron los nemátodos, colocándolos en portaobjetos sobre una gota de formalina al 2 %, luego se llevaron al microscopio óptico y con lente 15 x, objetivo 40, y según PD (2017b), se determinaron las especies.

Las poblaciones se determinaron en 100 g de suelo y 100 g de raíces.

Para determinar la abundancia relativa y la frecuencia de aparición de los fitonemátodos, se utilizaron las fórmulas indicadas por Norton (1978, citado por Cruz, 2018, p. 48), enunciadas de la forma siguiente:

$$\text{Abundancia Relativa} = \frac{\text{Número de individuos de cada especie}}{\text{Total de individuos de todas las especies}} \times 100$$

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{Número de muestras que contiene una especie}}{\text{Número de muestras analizadas}} \times 100$$

La evaluación de los valores de abundancia relativa y de frecuencia de aparición se realizó mediante la escala de Masson y Bryssnt (1974, citados por Cruz, 2018).

<b>Indicador de Abundancia</b>	<b>Valor</b>	<b>Indicador de Frecuencia</b>	<b>Valor</b>
Muy Abundante	AR > 30	Muy Frecuente	Fi > 30
Abundante	$\geq 10$ AR $\leq 29$	Frecuente	$\geq 10$ Fi $\leq 29$
Poco Abundante	AR < 10	Poco Frecuente	Fi < 10

### **Especies de nemátodos presentes en frijol, su abundancia y frecuencia de aparición en Las Tunas**

En los exámenes realizados se determinó en 23 muestras de raíces y 18 muestras de suelo la presencia de fitonemátodos. El potencial patógeno de fitonemátodos en frijol en las áreas analizadas, es considerable, ya que fueron registrados nemátodos fitoparásitos en el 87% de los campos muestreados y en el 57% de las muestras analizadas.

Esta cantidad de muestras con la presencia de fitonemátodos debe ser motivo de alerta para los productores de las unidades donde se encuentra el cultivo y el servicio de protección de plantas, ante el riesgo de continuar su diseminación a través de los implementos para la preparación de los suelos y otras atenciones culturales al cultivo. En los campos se observaron plantas con clorosis, reducción del crecimiento, pérdida de turgencia en las hojas, marchitamiento y síntomas de estrés hídrico, síntomas distribuidos en el campo en forma de parches.

En las muestras de raíces se observaron los síntomas típicos del ataque de *Meloidogyne* sp., como agallas, engrosamientos y escaso número de raíces secundarias.

Según Romero y otros (2019)

...cuando la infestación es severa, las raíces se convierten en una masa de agallas y su principal síntoma en las plantas, es la generación de numerosas agallas en las raíces, impidiendo la absorción y transporte de agua y nutrientes hacia el follaje, lo que se traduce en amarillamiento de hojas, retraso en el crecimiento y posteriormente la muerte de la planta. (pp. 337-349)

Este género según Zeng y otros (2017), provoca pérdidas de 20% a 50% en la producción.

En los análisis realizados en el laboratorio fueron determinadas cuatro familias, cuatro géneros y cinco especies de fitonemátodos como se observa en la tabla 2. No se

observaron nemátodos cistógenos, semiendoparásitos ni de interés cuarentenario para Cuba.

Tabla 2: Familias, géneros y especies de fitonemátodos diagnosticados en unidades productoras de frijol en Las Tunas

Familias	Géneros	Especies
Aphelenchidae Skarbilovich	<i>Aphelenchus</i> Bastian	<i>Aphelenchus</i> sp
Longidoridae Thorne	<i>Xiphinema</i> Cobb	<i>Xiphinema</i> sp
Tylenchidae Örley	<i>Tylenchus</i> Bastian	<i>Tylenchus</i> sp
Meloidogynidae Skarbilovich (Wouts)	<i>Meloidogyne</i> Goeldi	<i>Meloidogyne incognita</i> (Kofoid y White) Chitwood
		<i>Meloidogyne</i> sp

Los resultados de este estudio son afines con el informe realizado por Hernández, Rodríguez y Holgado (2018), quienes informan al género *Meloidogyne* como factor limitante de la producción de frijol en Latinoamérica.

La tabla 3 muestra la densidad poblacional de cada uno de las especies de nemátodos identificadas en las unidades productoras de frijol.

Tabla 3: Especies de fitonemátodos diagnosticadas y poblaciones cuantificadas en frijol en Las Tunas

Nemátodos	Poblaciones de nemátodos		Total	Valor (AR) %	Evaluación valores de AR
	Raíz	Suelo			
<i>Aphelenchus</i> sp	71	23	94	0,56	PA
<i>Meloidogyne incognita</i>	15 598	1 925	17 523	99,11	MA
<i>Meloidogyne</i> sp	15	2	17	0,09	PA
<i>Tylenchus</i> sp	24	6	30	0,16	PA
<i>Xiphinema</i> sp	0	15	15	0,08	PA
<b>Total</b>	<b>15 708</b>	<b>1 971</b>	<b>17 679</b>		

Del total de especies de fitonemátodos identificados, *M. incognita* fue la que presentó las mayores poblaciones con 15 598 ejemplares en raíces y 1 925 en suelo y se encontró en cuatro de las cinco unidades muestreadas. En todas las unidades donde se identificó fue evaluada como muy abundante.

Los datos de abundancia obtenidos, con poblaciones sobre los 150 individuos/100 g de raíz, evidencian la susceptibilidad a *Meloidogyne* de los cultivares muestreados, en estos las raíces presentaban un fuerte agallamiento y necrosis de las raíces.

El género *Meloidogyne* está entre los informados por Fernández y otros (2015); como el más peligroso para el cultivo en Cuba por los daños que ocasionan por lo que se debe prestar la atención necesaria.

*Aphelenchus* sp., fue poco abundante, este género de fitonemátodo es un micohelminto cuya patogenicidad no ha sido demostrada. Forma parte de la nematofauna de más de 70 cultivos en la provincia de Las Tunas (Laprosav, 2019).

Según Casanueva, Fernández y Gandarilla (2015)

...el género *Xiphinema*, es ectoparásito, el que se caracteriza por tener un estilete largo, se alimenta de células corticales y mantiene el cuerpo fuera del tejido, pone los huevos individualmente en el suelo o en la rizosfera y todos sus estados de desarrollo son parasíticos. Comprende numerosas especies, ocho de las cuales han sido informadas en Cuba asociadas a diversos cultivos. Son de gran importancia en los trópicos y subtropicos, especialmente *Xiphinema basiri* Siddigi. (pp. 65-68)

Solo fue identificado en suelo y evaluado como poco abundante y aunque no se observaron daños visibles en las plantas, su presencia constituye una alerta desde el punto de vista fitosanitario al encontrarse presente en suelos del productor Danner de la Cruz de la CCS Cosme Torres, de Puerto Padre.

El fitonemátodo más frecuentes en raíces y suelo fue *M. incognita*, con 44% de frecuencia de aparición, seguido por *Aphelenchus* sp., con una frecuencia de aparición de 30% en raíces y 28% en suelo. *Xiphinema* sp., fue poco frecuente con 6%, y solo fue colectado en suelo en el cultivar Velazco Largo.

*Aphelenchus* sp., y *Tylenchus* sp., son clasificados por Guzmán, Castaño y Villegas (2012), como nemátodos ectoparásitos migratorios del sistema radical porque se mantienen en la rizosfera de la planta y se alimentan sin penetrar las raíces, esto explica su comportamiento como especies frecuentes en suelo.

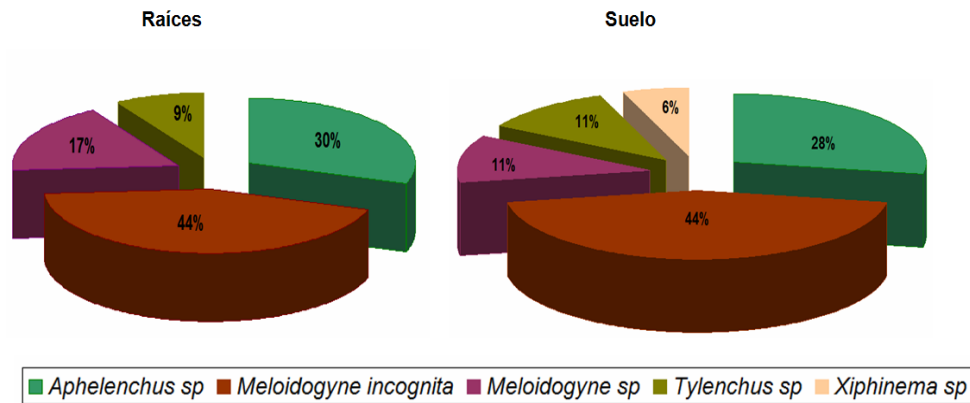


Figura 1: Frecuencia de aparición de las especies de nemátodos en frijol, en raíces y suelo en Las Tunas

Es de destacar que *Aphelenchus sp.*, y *Tylenchus sp.*, representan el 48 % de frecuencia de aparición en raíces y 39 % en suelo, géneros que no producen efecto parasítico.

Pero, Gandarilla y Fernández (2002), indicaron que

no debe desestimarse la incidencia de *Aphelenchus sp.*, y *Tylenchus sp.*, ya que donde cohabitan diversas especies de nemátodos, ocurre un proceso interactivo complejo, dentro del cual se incluye la competencia física por espacio o colonización del nicho y la acumulación de Dióxido de Carbono, aspectos que pueden provocar cierta inhibición o limitación de la actividad de las especies más nocivas, y por tanto atenuar los daños en las plantas cuando están presentes en altas densidades poblacionales. (pp. 9-27)

En la figura 2 se observa el comportamiento de las especies de fitonemátodos identificadas en raíces por cultivares. En el cultivar Delicias 364 se identificaron las cuatro especies identificadas en las raíces y fue junto al cultivar Buenaventura donde *M. incognita* tuvo las mayores frecuencias de aparición y las poblaciones más abundantes.

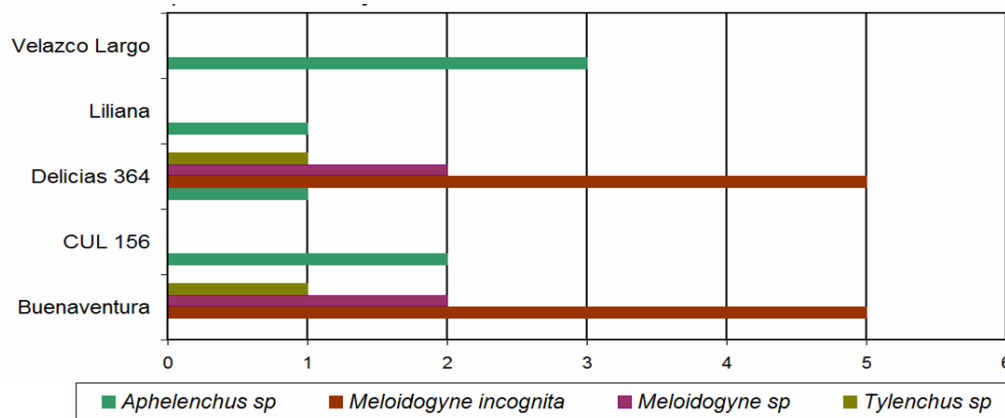


Figura 2: Cantidad de veces que fueron interceptadas las especies de nemátodos en raíces de cultivares de frijol en Las Tunas



Los resultados obtenidos permitieron orientar acciones de control para el manejo de los fitonemátodos determinados:

#### Control legal:

- Análisis al suelo y sustrato que se vaya a utilizar para lograr que esté libre de *Meloidogyne* spp.
- Análisis fitosanitario de la semilla
- Monitoreo periódico a las plantaciones.

#### Control agrotécnico:

- Preparación del suelo: Los suelos contaminados se prepararán con un período óptimo de 75 a 90 días para lograr reducciones apreciables o llevar a niveles no detectables las poblaciones de nemátodos.
- Fertilización y riego según el instructivo técnico del cultivo.
- Lavar los implementos agrícolas que se utilicen en áreas infestadas por nemátodos, antes de trabajar con ellos otra área.
- Evitar que pasen corrientes de agua de lluvia o riego que puedan traer suelo contaminado por nemátodos.
- Sembrar plantas de cobertura: crotalaria (*Crotalaria juncea*, L), flor de muerto (*Tagetes patula*, Lin), canavalia (*Canavalia ensiformis*, L).
- Rotación de cultivos con pangola (*Digitaria decumbens*, Stewt.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*, L), cebolla (*Allium cepa*, L), ajo (*Allium sativum*, L).
- Sembrar cultivos trampas como lechuga (*Lactuca sativa*, L), de trasplante.
- Biofumigación: Incorporar al suelo restos sanos de col (*Brassica oleracea*, L), calabaza (*Cucurbita moschata*, Duch), tomate (*Solanum lycopersicum* Mill), pimiento (*Capsicum annun*, L), zanahoria (*Daucus carota*, L).
- Extractos acuosos de semillas y hojas del árbol del nim (*Azadirachta indica*, A. Juss).

#### Control biológico:

- Pueden aplicar a la dosis que el CREE recomiende *Trichoderma harzianum* (Rifai), cepa A - 34, *T. viride* Pers TS – 3, *Bacillus thuringiensis* (Berliner) cepa LBT 3.

#### Precisiones finales

En general se puede concluir que:

- Fueron identificadas cinco especies de fitonemátodos *Aphelenchus* sp., *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne* sp., *Tylenchus* sp., y *Xiphinema* sp. No se

identificaron fitonemátodos cistógenos, semiendoparásitos, ni de interés cuarentenario para Cuba.

- *M. incognita* fue la especie con mayor frecuencia de aparición en suelo y raíces y la más abundante. *Xiphinema* sp., solo fue identificada en suelo del cultivar Velazco Largo. En el cultivar Delicia y Buenaventura fue donde se observó la mayor diversidad de especies de fitonemátodos y las mayores poblaciones de *M. incognita*.

## Referencias

- Bellucci, E., Bitocchi, E., Rau, D., Rodríguez, M., Biagetti, E., Giardini, A., Atiene, G., Nanni, L. y Papa, R. (2014). Genomics of Origin, Domestication and Evolution of *Phaseolus vulgaris*. En colectivo de autores *Genomics of Plant Genetic Resources*, pp. 483-507. Dordrecht: Springer. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/259176997\\_Genomics\\_of\\_Origin\\_Domestication\\_and\\_Evolution\\_of\\_Phaseolus\\_vulgaris](https://www.researchgate.net/publication/259176997_Genomics_of_Origin_Domestication_and_Evolution_of_Phaseolus_vulgaris).
- Casanueva, K. M., Fernández, E. G. y Gandarilla, H. B. (2015). *Xiphinema basirii* Siddigi, un peligro potencial para el cultivo del tomate en sistema de cultivo protegido. *Fitosanidad*, 19(1), 65 – 68.
- Cruz, L. R. (2018). *Nematofauna principal asociada al cultivo de la piña (Ananas comusus, (L) Merr) en áreas productoras del municipio de Jobabo, Las Tunas* (tesis de diploma inédita). Universidad de Las Tunas, Cuba.
- Fernández, E. G., Gandarilla, H. B., Casanueva, K. J., Draguiche, M. y Jiménez, E. (2015). Situación del manejo de los nemátodos fitoparásitos en Cuba. Retos actuales y futuros. *Fitosanidad*, 19(2), 117-118. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209149784012>
- Gandarilla, H. B. y Fernández, E. G. (2002). Registro actualizado de fitonemátodos en plantas ornamentales de Cuba. *Fitosanidad*, 6(3), 9 – 27.
- Guzmán, O., Castaño, J. y Villegas, B. (2012). Principales nemátodos fitoparásitos y síntomas ocasionados en cultivos de importancia económica. *Agron*, 20(1), 38 – 50.
- Hernández, D. O., Rodríguez, M. H. y Holgado, R. (2018). Nemátodos parásitos que afectan *Phaseolus vulgaris* L. en Latinoamérica y Cuba: especies, daños y tácticas evaluadas para su manejo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3). Recuperado de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522018000300008&lang=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000300008&lang=es).
- Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal (Laprosav, 2020). *Intercepciones de Fitonemátodos desde 1978 hasta marzo de 2020. Modelo 10 – 04, Sección de Nematología*. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Las Tunas, Cuba.

- Lezaun, J. (2016). *Nemátodos fitoparásitos: una plaga mundial. Crop Life Latinoamérica*. Recuperado de <https://www.croplifela.org/es/plagas/listado-de-plagas/nemátodos-fitoparasitos>
- Myers, J. R. y Kmiecik, K. (2017). Common Bean: Economic Importance and Relevance to Biological Science Research. The Common Bean Genome. En colectivo de autores *Compendium of Plant Genomes*. Springer, Cham. Recuperado de <https://doi.org/10.1007/978-3-319-63526-2-1>
- Neval (2019). *Cómo tomar muestras para análisis de nemátodos. Laboratorio I+D agrícola y con servicios de diagnóstico fitopatológico de nemátodos e insectos*. Valencia, España. Recuperado de <https://www.ne-val.com/como-tomar-muestras-analisis-nemátodos/>
- Pérez, V. V. (2015). *Nematofauna principal asociada al cultivo de la piña (Ananas comusus, (L) Merr) en la CPA "Calixto Sarduy" de Las Tunas* (tesis de diploma inédita). Universidad de Las Tunas, Cuba. 68 pp.
- Procedimiento Normalizativo de Operaciones (PNO, 2017a). *Extracción de nemátodos cistógenos en suelo seco por el método aparato de Fenwick*. SCG. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Las Tunas.
- Procedimiento Normalizativo de Operaciones (PNO, 2017b). *Extracción de nemátodos de suelos y tejido vegetal por el método Embudo Baermann*. SCG. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Las Tunas.
- Protocolo de Diagnóstico (PD, 2017a). *Diagnóstico de Meloidogyne arenaria (Neal) Chitwood, Meloidogyne incognita (Kofoid y White) Chitwood, Meloidogyne javanica (Treub) Chitwood, Meloidogyne hapla Chitwood*. SCG. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Las Tunas.
- Protocolo de Diagnóstico (PD, 2017 b). *Diagnóstico de las especies de nemátodos vermiformes*. SCG. Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal, Las Tunas.
- Romero, M. B., Macías, G. C., Carrillo, A. F., Rojas, M. C., Hernández, J. R. y Duarte, J. O. (2019). Identificación y distribución de especies de *Meloidogyne* en Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(2), 337 - 349.
- Zeng, J., Zhang, Z., Li, M., Wu, X., Zeng, Y. y Li, Y. (2017). Distribution and molecular identification of *Meloidogyne* spp. parasiting Flue-cured Tobacco in Yunnan, China. *Plant Protect. Sci*, 1-7. Recuperado de [https://scholar.google.com/cu/scholar?q=Distribution+and+molecular+identificatio+n+of+Meloidogyne+spp.+parasiting+Flue-cured+Tobacco+in+Yunnan,+China&hl=es&as\\_sdt=0&as\\_vis=1&oi=scholart](https://scholar.google.com/cu/scholar?q=Distribution+and+molecular+identificatio+n+of+Meloidogyne+spp.+parasiting+Flue-cured+Tobacco+in+Yunnan,+China&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholart)