

**ANEXO 1**

**PRUEBA DE ELISA**

**POR LORCKHART B.**

January 20, 1999  
MEMORANDUM

TO: Juan Aguirre M.  
Exportadora Bananera Noboa S.A.  
Guayaquil, Ecuador

FROM: B.E. Lockhart *Bon Lockhart*  
University of Minnesota

SUBJECT: Indexing of plantain leaf samples by ISEM

Dear Sr. Aguirre:

As mentioned in my previous message living the results of the ELISA indexing of the 44 plantain leaf samples, I decided to re-check 12 samples which had suspiciously high ELISA readings. These samples were indexed by ISEM using partially-purified extracts. The results are as follows.

Samples lasting positive for BSV by ISEM

MAR 9, MAR 8, MAR 11, MAR 12, MAR 101, MAR 105, MAR 320, MAR 321

Samples lasting negative for BSV by ISEM

MAR 322, CLE 4, CLE 10, CLE 11

Jan 15, 1999. TAS-ELISA indexing of plantain leaf samples from Exportadora Bananera Noboa S.A.,

Guayaquil, Ecuador. Absorbance values (A405) represent the average of 4 replicate wells per sample.

Sample #	Designation	Absorbance (A405)		ELISA Result	Sample #	Designation	Absorbance (A405)		ELISA Result
		1 st Reading	2nd Reading				1 st Reading	2nd Reading	
1	AL-1	0,043	0,083	-	24	MAR-314	0,032	0,064	-
2	AL-2	0,029	0,059	-	25	MAR-15	0,038	0,076	-
3	AL-3	0,036	0,069	-	26	MAR-16	0,036	0,075	-
4	AL-4	0,031	0,064	-	27	MAR-312	0,029	0,065	-
5	AL-5	0,038	0,065	-	28	MAR-318	0,025	0,061	-
6	AL-6	0,028	0,057	-	29	MAR-319	0,043	0,085	-
7	AL-7	0,041	0,072	-	30	MAR-320	0,063	0,105	?
8	AL-8	0,044	0,08	-	31	MAR-321	0,06	0,11	?
9	AL-9	0,04	0,071	-	32	MAR-322	0,093	0,177	?
10	AL-10	0,024	0,052	-	33	CLE-1	0,039	0,07	-
11	MAR-101	0,073	0,142	?	34	CLE-2	0,047	0,09	-
12	MAR-102	0,03	0,062	-	35	CLE-3	0,038	0,077	-
13	MAR-103	0,045	0,084	-	36	CLE-4	0,048	0,094	?
14	MAR-104	0,163	0,319	+	37	CLE-5	0,024	0,051	-
15	MAR-105	0,078	0,149	?	38	CLE-6	0,028	0,052	-
16	MAR-106	0,041	0,08	-	39	CLE-7	0,027	0,05	-
17	MAR-27	0,039	0,065	-	40	CLE-8	0,023	0,052	-
18	MAR-8	0,058	0,112	?	41	CLE-9	0,028	0,046	-
19	MAR-9	0,051	0,105	?	42	CLE-10	0,043	0,087	-
20	MAR-10	0,038	0,068	-	43	CLE-11	0,069	0,111	?
21	MAR-11	0,06	0,101	?	44	CLE-12	0,034	0,073	-
22	MAR-12	0,068	0,138	?	45	Healthy Control	0,03	0,064	-
23	MAR-313	0,035	0,063	-	46	BSV Control	0,318	0,0542	+

**ANEXO 2****DATOS METEOROLOGICOS (PROMEDIOS)****1959-1999****ESTACION BABAHOYO**

<b>D A T O S</b>	<b>ANUAL</b>
Temperatura máxima. (° C)	36.6
Temperatura mínima. (° C)	16.0
Humedad relativa media	82.0
Precipitación (mm)	1710.9
Precipitación máxima (mm)	5172.2
Heliofania (horas /año)	965.6
Viento velocidad media (m/s)	1.0

### **ANEXO 3**

Propagación in vitro de plantas sanas e infectadas

#### **EQUIPOS**

- Hijuelos
- Fundas
- Bandeja
- Flujo laminar
- Bisturí
- Pomos
- Papel de aluminio
- Papel crac
- Bioestilador a 400 D
- Refrigeradora
- Vasos de precipitación
- Agitador (termalyne)
- Peachimetro, meter 320 (corning)
- Conductimetro, Suntex SC-170
- Diques
- Autoclave Market Forge STME
- Balanza técnica: Scartories Bp 1200g d: 0.01g
- Balanza analítica. AB104 máx. 101g mín. 10mg
- Aire acondicionado y fitotrom

#### **REACTIVOS**

- Vitavax.
- Substracto (cachaza, arena, tamo: 2:1:1).
- Basamid.
- Nitrato de potasio 3g/L
- Sulfato de amonio 1.5 g/L.
- Polyfeed 3g/L
- Cloroformo 4%
- Inositol
- Acido ascórbico
- Sacarosa
- Agar
- Agua biestilada
- Polietilen glicol
- BAP (Bencilaminopurina)
- Identificar nombre A, B, C, D, E, G, I y J (macroelementos, microelementos, vitaminas)

## ANEXO 4

### PURIFICACION DEL BSV

#### EQUIPOS

- Vasos
- Agitador
- Embudos
- Membrana de diálisis
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Micropipetas
- Tijera
- Funda
- Guantes
- Balanza (M1-300. CAP. MAX. 310g, Marca chyo).
- Licuadora (Oster).
- Agitador (Mag-Mixer, type MH-61, máx 300, Tokio, Japón).
- Estufa (THELCO Scientific).
- Centrifuga (automatic High Speed refrigerated centrifuge HITACHI SCR 208, ROTOR RPR9-260, RPM=8500)
- Ultracentrifuga (Automatic Preparative Ultracentrifuge, HITACHI SSP-72, ROTOR, RP 65T-627, RPM=65000).
- Refrigerador (Sanyo Medicoool MPR-311DR).
- Peachimetro (Modelo 15 accumet).

#### REACTIVOS

- Triton x-100
- Cloroformo
- Acido citrico
- Tris 0.05M
- Mercaptaetanol 0.01M
- Polivinilpirrolidona 1%
- Agua bidestilada





































