

AN EFFICIENT METHOD OF DNA EXTRACTION FROM *Theobroma cacao* AND *Cola nitida* LEAVES

*Anuradha Sane**, *Anuradha Upadhyay*, *R.Manimekalai* and *V.A. Parthasarathy*

Central Plantation Crops Research Institute, Regional Station,
Vittal, 574 243, Karnataka

An efficient procedure for DNA extraction from recently matured green leaves of *Theobroma cacao* L. and *Cola nitida* is described. The procedure has been successfully used for extraction of good quality genomic DNA from cocoa accessions and the related genus, *Cola nitida*. It is a modified CTAB procedure, which includes use of high concentration of hexadecyltrimethyl ammonium bromide, (CTAB) (4%), and PVP in the extraction buffer to remove polysaccharides and polyphenols respectively. Addition of 5M NaCl during DNA precipitation with isopropanol, use of buffer in higher proportion in the extraction buffer, additional centrifugation steps during chloroform: isoamyl extractions, extended RNase treatment, additional phenol: chloroform: isoamyl extractions and profuse additional washes of DNA pellet with ethanol to eliminate salt residues further helped in eliminating residual viscous substances and enhancing DNA recovery. The isolated DNA is of good quality and amenable to Polymerase Chain Reaction analysis.

Key words: CTAB, PCR, RAPD, DNA

Método eficaz para extração de DNA de folhas de *Theobroma cacao* e *Cola nitida*. É descrito um procedimento para extração de DNA de folhas de *Theobroma cacao* e *Cola nitida* em início de maturação. O processo tem sido usado com sucesso para extração de DNA genômico de boa qualidade de acessos de cacau e de cola. Trata-se do processo CTAB modificado, o qual inclui o uso de altas concentrações de bromohexadecil trimetil amônio (CTAB) a 4% e, PVP no tampão da extração para remover polissacarídeos e polifenóis, respectivamente. Adição de NaCl 5M com isopropanol durante a precipitação do DNA, uso de tampão em grande quantidade durante a extração do tampão, centrifugações adicionais durante a extração do clorofórmio: isoamil, extensão do tratamento com RNase, adição de fenol: isoamil e lavados adicionais do "pellet" de DNA com etanol para eliminar os resíduos salinos, ao tempo que eliminam as substâncias viscosas residuais, facilitando a recuperação do DNA. O DNA isolado é de boa qualidade e apropriado para a análise de PCR.

Palavras-chave: cacaueiro, CTAB, PCR, RAPD, DNA