PROTOCOLO ILUSTRADO: UMA JORNADA ATÉ O DNA DE PLANTAS

Mikael de Paula Brandão, Roberto Henrique de Lima Ribeiro, Mayra Alejandra Rincón Rueda, Luziane Brandão Alves, Rebeca Almeida Gonçalves, Lucimara Cruz de Souza

Universidade Federal de Lavras, Trevo Rotatório Professor Edmir Sá Santos, s/n Caixa Postal 3037 - 37203-202 – Lavras – MG, Brasil, mikael.brandao1@estudante.ufla.br, roberto.ribeiro3@estudante.ufla.br, mayra.rueda2@estudante.ufla.br, luziane.alves@ufla.br, rebecaalmeidarag@hotmail.com, lucimaracruz@ufla.br

Resumo

O melhoramento genético de plantas integra conhecimentos de diferentes áreas, destacando-se o uso de técnicas de genética molecular na caracterização e seleção de genótipos superiores. Nesse contexto, o domínio de procedimentos laboratoriais, como a extração de DNA, é fundamental para a formação de estudantes e pesquisadores. Considerando a complexidade dessas atividades, recursos visuais podem auxiliar na organização e compreensão dos protocolos utilizados. Assim, este trabalho objetivou desenvolver um material visual e ilustrado para orientar a extração de DNA genômico vegetal. O material foi elaborado a partir do método do CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio), com modificações propostas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC). As etapas foram representadas graficamente no CorelDRAW, utilizando também inteligência artificial generativa na elaboração das ilustrações. O material desenvolvido apresenta potencial como recurso didático complementar para aulas práticas, treinamentos e atividades de iniciação científica, favorecendo a compreensão e a reprodução do protocolo inicial sem perda de rigor científico.

Palavras-chave: Genética molecular. Extração de DNA. Método do CTAB. Ensino de genética. Material didático.

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Genética

Introdução

O melhoramento genético de plantas é uma ciência interdisciplinar, que se beneficia dos avanços em diferentes áreas do conhecimento, dentre as quais se destaca a genética molecular (Shen *et al*., 2022). A incorporação de ferramentas e técnicas moleculares aos programas de melhoramento vegetal contribui para a otimização da caracterização e seleção de genótipos superiores, tornando o domínio de procedimentos laboratoriais uma habilidade relevante para a formação de pesquisadores e a condução de pesquisas nessa área.

A atuação em laboratórios de genética molecular requer competências que articulem conhecimentos teóricos e práticos, possibilitando a compreensão e a execução adequada de protocolos experimentais compostos por múltiplas etapas (Hearn; Arblaster, 2010). Essa rotina laboratorial envolve procedimentos sequenciais e interdependentes, como preparo de amostras, extração de DNA, amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e eletroforese. Essas atividades demandam atenção às condições experimentais, aos materiais, reagentes e equipamentos utilizados, além do cumprimento das normas de biossegurança necessárias de cada protocolo (Miranda *et al*., 2023).

Entre as práticas rotineiras, a extração de DNA constitui uma etapa primordial para o sucesso de análises moleculares subsequentes. Dentre os métodos empregados, destaca-se o protocolo baseado em CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio), proposto por Doyle e Doyle (1987) para o isolamento de DNA de pequenas quantidades de tecido foliar e posteriormente adaptado para outras condições (Doyle; Doyle, 1990). A utilização de protocolos derivados desse método está associada ao baixo custo e à possibilidade de adaptação às características bioquímicas e estruturais dos tecidos vegetais (Schenk et al., 2023). A composição desses tecidos, incluindo polissacarídeos, compostos fenólicos e outros metabólitos secundários, pode interferir na obtenção de DNA de qualidade, exigindo ajustes nas etapas de extração e purificação (Schenk *et al*., 2023).

A complexidade desses procedimentos evidencia a necessidade de organizar as informações presentes nos protocolos laboratoriais, especialmente durante o processo de ensino e aprendizagem da genética molecular, quando o contato inicial com procedimentos experimentais pode exigir a compreensão simultânea de diferentes etapas e informações técnicas (Kang *et al*., 2017). Esquemas, ilustrações e fluxogramas podem contribuir para essa sistematização ao dispor as informações espacialmente e facilitar sua identificação durante a atividade experimental, sem substituir a linguagem científica ou os parâmetros técnicos do procedimento (Cook, 2006). Juntamente, recursos visuais e digitais associados a atividades práticas têm sido amplamente empregados em propostas de ensino de genética e biologia molecular, incluindo experiências com simulações virtuais (Della Vedova; Denyer; Costabile, 2025).

Diante do exposto, materiais didáticos que organizam e orientam visualmente as etapas dos protocolos podem auxiliar na formação de estudantes e jovens pesquisadores, favorecendo a relação entre o conhecimento científico e a prática laboratorial cotidiana. Nesse contexto, o presente trabalho concentra-se no desenvolvimento de um material visual e ilustrado para orientação da extração de DNA vegetal.

Metodologia

O esquema ilustrado baseou-se no protocolo de extração de DNA genômico de Doyle e Doyle (1987), com modificações propostas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC), destinado à extração de DNA de tecidos vegetais ricos em polissacarídeos. O procedimento foi estruturado considerando três fases principais: lise celular e exposição do material nuclear; purificação e precipitação do DNA; ressuspensão e avaliação da concentração, pureza e integridade do material obtido.

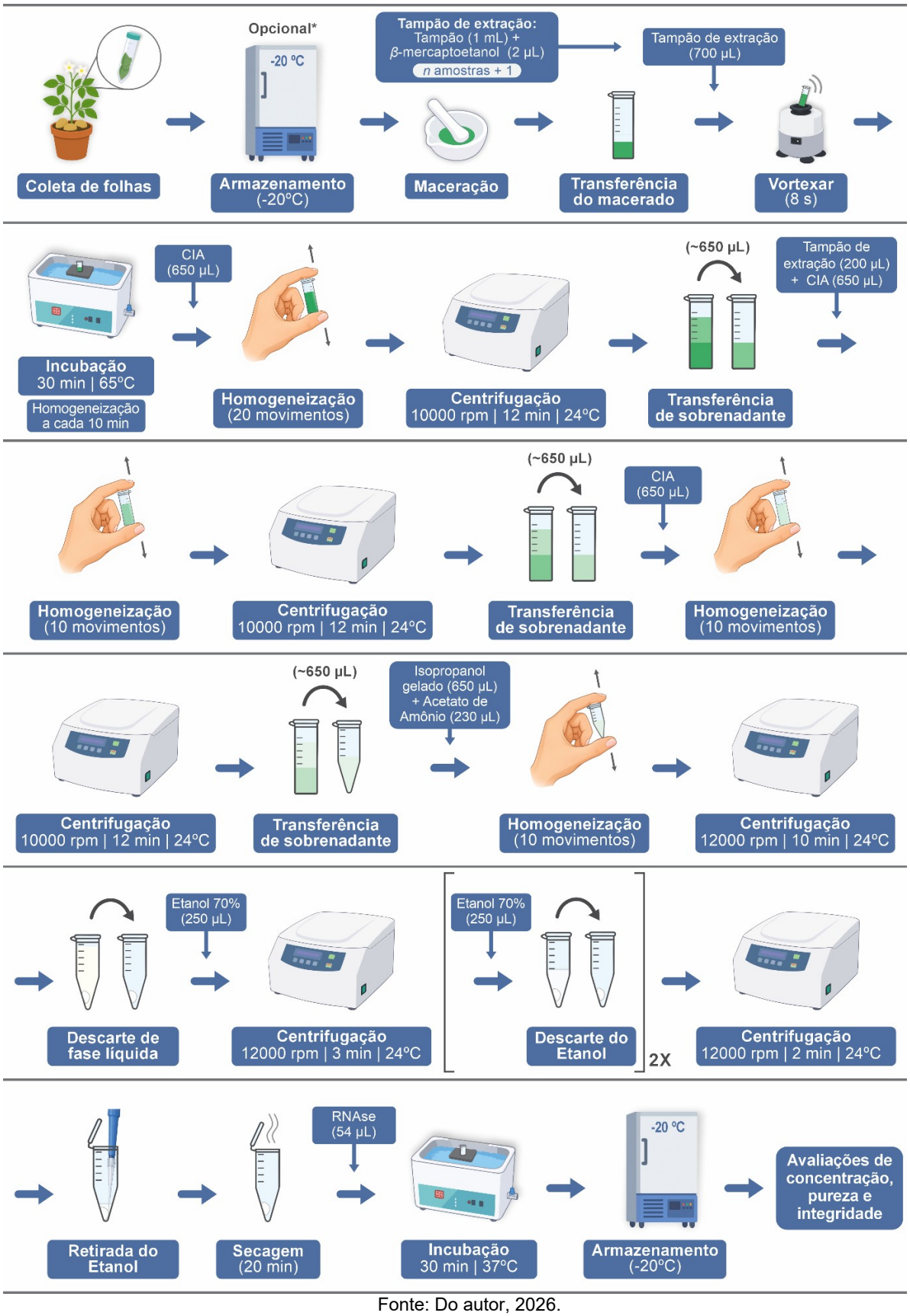
Antes do início da extração é necessária a preparação do ambiente de trabalho, dos equipamentos, dos microtubos e reagentes empregados no procedimento. Posteriormente, o tecido vegetal previamente macerado é submetido à lise celular em tampão de extração constituído por 2% de CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio), 100 mM de Tris-HCl (pH 8,0), 1,4 M de NaCl, 20 mM de EDTA (pH 8,0), 1% de PVP e 0,2% de *β*-mercaptoetanol. As amostras são então incubadas a 65 °C por 30 minutos, com homogeneização a cada 10 minutos. Em seguida, são realizadas três etapas de desproteinização com solução de clorofórmio: álcool isoamílico (CIA, 24:1) e retirada do sobrenadante. A etapa de *overnight* do protocolo original foi substituída pela adição de 1 volume de álcool isopropílico gelado e 1/3 do volume de acetato de amônio (7,5 M). Em sequência, são realizadas três lavagens com etanol 70% e, posteriormente, o *pellet* é mantido à temperatura ambiente para secagem. Após essa etapa, o precipitado é ressuspendido em 54 µL de água ultrapura contendo RNase (40 µg/mL), seguido de incubação a 37 °C por 30 minutos e armazenamento a −20 °C. Por fim, a concentração e a qualidade do DNA obtido são determinadas por espectrofotometria em NanoDrop, enquanto sua integridade é verificada por eletroforese em gel de agarose a 0,8%.

Os passos do protocolo foram sistematizados em uma ilustração elaborada no software CorelDRAW, com o objetivo de facilitar a compreensão, o acompanhamento e a reprodução do procedimento experimental. Para a composição do material, imagens de equipamentos, materiais e reagentes foram convertidas em elementos ilustrativos com o auxílio de inteligência artificial generativa, contribuindo para a padronização e a organização visual.

Resultados

O protocolo foi reestruturado em 34 passos, contendo as respectivas instruções e volumes utilizados em cada etapa, conforme apresentado na Figura 1. A padronização dos volumes foi realizada com base no procedimento adotado pelo Laboratório de Genética Molecular da Universidade Federal de Lavras (LABGEN-UFLA). Os procedimentos de limpeza e preparação do local de trabalho foram omitidos na ilustração.

Figura 1 – Esquema ilustrado de extração de DNA vegetal baseado no protocolo de Doyle e Doyle (1987), com modificações propostas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC).



Fonte: Do autor, 2026.

Discussão

A representação ilustrada do protocolo de extração de DNA vegetal possibilitou organizar as etapas de forma sequencial, favorecendo a visualização do procedimento e a identificação dos materiais, equipamentos, reagentes e condições necessárias à sua execução. A disposição espacial das informações pode auxiliar a compreensão de procedimentos complexos ao facilitar a integração entre diferentes elementos da atividade experimental (Newman *et al*., 2023).

Como recurso didático, o material pode complementar protocolos convencionais em aulas práticas, treinamentos laboratoriais e atividades de iniciação científica, aproximando conhecimentos teóricos da execução experimental. A combinação de informações textuais e representações visuais pode favorecer a compreensão e o envolvimento dos estudantes, especialmente em atividades práticas de Genética Molecular (Chowning *et al*., 2019; Susantini *et al*., 2017). Nesse contexto, recursos digitais e simulações também têm ampliado as possibilidades de abordagem de conteúdos experimentais (Della Vedova; Denyer; Costabile, 2025; Verity *et al*., 2022).

Juntamente, a inteligência artificial generativa foi empregada como ferramenta auxiliar na transformação de imagens de equipamentos laboratoriais em elementos ilustrativos, contribuindo para a padronização visual e otimização para elaboração do material. O uso de ferramentas de IA tem ampliado as possibilidades de produção de recursos educacionais e materiais multimodais, embora sua aplicação deva ser acompanhada de avaliação crítica e revisão humana para assegurar a adequação pedagógica e a precisão das informações (Almasri, 2024).

Conclusão

O protocolo ilustrado desenvolvido constitui um recurso didático complementar para a orientação da extração de DNA vegetal. O material apresenta potencial para auxiliar estudantes e pesquisadores em formação na compreensão e no acompanhamento do procedimento experimental, mantendo as informações necessárias à sua reprodução. A avaliação futura por usuários e estudantes permitirá verificar sua efetividade como ferramenta de apoio ao ensino e identificar possíveis necessidades de ajustes.

Referências

ALMASRI, F. Exploring the impact of artificial intelligence in teaching and learning of science: a systematic review of empirical research. **Research in Science Education**, v. 54, p. 977–997, 2024.

CHOWNING, J. T.; WU, R.; BRINKEMA, C.; CROCKER, W. D.; BASS, K.; LAZERTE, D. A new twist on DNA extraction: collaborative argumentation and student protocol design. **The Science Teacher**, v. 86, n. 6, p. 20–27, 2019.

COOK, M. P. Visual representations in science education: the influence of prior knowledge and cognitive load theory on instructional design principles. **Science Education**, v. 90, n. 6, p. 1073–1091, 2006.

DELLA VEDOVA, C.; DENYER, G.; COSTABILE, M. Combining face-to-face laboratory sessions and a computer simulation effectively teaches gene editing and DNA sequencing to undergraduate genetics students. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 53, n. 3, p. 286–296, 2025.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11–15, 1987.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13–15, 1990.

HEARN, R. P.; ARBLASTER, K. E. DNA extraction techniques for use in education. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 38, n. 3, p. 161–166, 2010.

KANG, H. W.; KEMPTON, C. E.; WEBER, K. S.; JOHNSON, S. M. Method to increase undergraduate laboratory student confidence in performing independent research. **Journal of Microbiology & Biology Education**, v. 18, n. 1, 2017.

MIRANDA, R. J.; WARREN, C.; MCDOUGAL, K.; KIMBLE, S.; SANCHEZ, J.; NORMAN, L.; ANDERSON, V.; HEMM, M. Identifying new small proteins through a molecular biology course-based undergraduate research experience laboratory class. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 51, n. 5, p. 574–585, 2023.

NEWMAN, D. L.; SPECTOR, H.; NEUENSCHWANDER, A.; MILLER, A. J.; TRUMPORE, L.; WRIGHT, L. K. Visual literacy of molecular biology revealed through a card-sorting task. **Journal of Microbiology & Biology Education**, v. 24, n. 1, e00198-22, 2023.

SCHENK, J. J.; BECKLUND, L. E.; CAREY, S. J.; FABRE, P. P. What is the “modified” CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol. **Applications in Plant Sciences**, v. 11, n. 3, e11517, 2023.

SHEN, Y.; ZHOW, G.; LIANG, C.; TIAN, Z. Omics-based interdisciplinarity is accelerating plant breeding. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 66, p. 102167, 2022.

SUSANTINI, E.; LISDIANA, L.; ISNAWATI; AL HAQ, A. T.; TRIMULYONO, G. Designing easy DNA extraction: teaching creativity through laboratory practice. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 45, n. 3, p. 216–225, 2017.

VERITY, N.; ULM, B.; PHAM, K.; EVANGELISTA, B.; BORGON, R. Demonstrating core molecular biology principles using GST-GFP in a semester-long laboratory course. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 50, p. 55–64, 2022.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES, FAPEMIG, CNPq, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PPGGM-UFLA) e Grupo de Pesquisa em Genética Molecular de Plantas (GMOL-UFLA).