



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo

LAYS PAULINO LEONEL

**IMPACTO DO REÚSO AGRÍCOLA DE EFLUENTE
DOMÉSTICO TRATADO E DESINFETADO NAS
PROPRIEDADES DO SOLO E NA PRODUTIVIDADE
DE UMA CULTURA DE TRIGO**

CAMPINAS

2022

LAYS PAULINO LEONEL

**IMPACTO DO REÚSO AGRÍCOLA DE EFLUENTE
DOMÉSTICO TRATADO E DESINFETADO NAS
PROPRIEDADES DO SOLO E NA PRODUTIVIDADE DE UMA
CULTURA DE TRIGO**

Tese de Doutorado apresentada a Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo da Unicamp, para obtenção do título de Doutora em Engenharia Civil, na área de Saneamento e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Luiz Tonetti

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA LAYS PAULINO LEONEL E ORIENTADA PELO PROF. DR. ADRIANO LUIZ TONETTI.

ASSINATURA DO ORIENTADOR



CAMPINAS

2022

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

L553i Leonel, Lays Paulino, 1987-
Impacto do reúso agrícola de efluente tratado e desinfetado nas propriedades do solo e na produtividade de uma cultura de trigo / Lays Paulino Leonel. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Adriano Luiz Tonetti.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo.

1. Água - Reuso. 2. Produtividade agrícola. 3. Patógenos. 4. Desinfecção. 5. Microbiota do solo. I. Tonetti, Adriano Luiz, 1973-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Impact of agricultural reuse of treated and disinfected wastewater on soil properties and wheat crop yield

Palavras-chave em inglês:

Water reuse

Agricultural yield

Pathogens

Disinfection

Soil microbiome

Área de concentração: Saneamento e Ambiente

Titulação: Doutora em Engenharia Civil

Banca examinadora:

Adriano Luiz Tonetti [Orientador]

Valéria Maia Merzel

José Roberto Guimarães

André Bezerra dos Santos

Maria Inês Zanoli Sato

Data de defesa: 15-03-2022

Programa de Pós-Graduação: Engenharia Civil

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-1529-0488>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0550005311951966>

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA CIVIL, ARQUITETURA E
URBANISMO**

**IMPACTO DO REÚSO AGRÍCOLA DE EFLUENTE
DOMÉSTICO TRATADO E DESINFETADO NAS
PROPRIEDADES DO SOLO E NA PRODUTIVIDADE DE UMA
CULTURA DE TRIGO**

Lays Paulino Leonel

Tese de Doutorado aprovada pela Banca Examinadora, constituída por:

**Prof. Dr. Prof. Dr. Adriano Luiz Tonetti
Presidente e Orientador/ FECFAU/ UNICAMP**

**Profa. Dra. Valeria Maia Merzel
CPQBA/ UNICAMP**

**Prof. Dr. José Roberto Guimarães
FECFAU/ UNICAMP**

**Prof. Dr. André Bezerra dos Santos
UFC – Universidade Federal do Ceará**

**Dr. Maria Inês Zanolli Sato
Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Campinas, 15 de março de 2022

Dedico aos meus pais, José Agilson e Zizi, minha fonte inesgotável de inspiração.

“Quando a educação não é libertadora o sonho do oprimido é ser opressor”

Paulo Freire

Agradecimentos

Aos meus pais, que sempre acreditaram na educação como ferramenta de transformação e não mediram esforços para que eu tivesse acesso a uma educação de qualidade. O primeiro passo da longa caminhada que me trouxe até aqui foi dado por vocês, Muito Obrigada!

À minha irmã, Lethícia, minha grande parceira de vida. Obrigada por ser presença constante mesmo com os muitos quilômetros que nos separam.

Ao Marcelo, meu companheiro e maior incentivador, que topou deixar sua vida em *stand-by* para que eu pudesse viver o sonho do intercâmbio. Obrigada por acolher todas as crises existenciais que me arrebataram ao longo do doutorado. Sem você teria sido ainda mais difícil.

À Gabriela dos Reis, minha querida amiga da pós-graduação e da vida. Obrigada pelas conversas, pelos longuíssimos áudios no *WhatsApp*, por sempre ouvir minhas ideias e angústias e dividir comigo as suas.

Ao Wilson Venâncio, meu companheiro de café, pão de queijo, brownies, longas conversas na cantina e desabafos no laboratório. Obrigada por ter deixado a jornada do doutorado menos solitária.

Ao Professor Adriano Tonetti, meu orientador, que confiou em mim antes mesmo de me conhecer e sempre me incentivou a ir além do que eu poderia imaginar ser capaz. Obrigada pelas oportunidades e confiança ao longo desses 10 anos de trabalho conjunto, a cientista que me tornei tem muito de você.

À Dra. Ariane Bize, minha supervisora do intercâmbio, que me deu a grande oportunidade de trabalhar em um time multicultural e contribuiu imensamente para meu crescimento profissional. *Merci pour l'opportunité, la confiance, l'excellent accueil et pour toute votre aide, cela fait une grande différence dans mon travail de thèse et dans ma vie !*

À Dra. Jerusa Schneider, que contribuiu imensamente desde a elaboração do projeto até a montagem e condução do experimento casa de vegetação, que sanou inúmeras dúvidas e esteve disposta a me ajudar até o fim. Obrigada pelo seu tempo, parceria e amizade.

Aos colegas do grupo de pesquisa em “Tratamento de efluentes e recuperação de recursos” por toda experiência trocada. Principalmente à Dra. Noely Bochi, por toda ajuda na fase inicial da pesquisa.

Aos colegas do INRAE, Antony-PROSE laboratoire. Merci pour les échanges, académiques et culturels, pour les moments de détente, pour les déjeuners ludiques à la cafétéria. Je me suis tellement amusé !

Ao Dr. Thiago Palladino, pela grande ajuda no planejamento das análises moleculares, pelos conhecimentos trocados e por ter me apresentado o INRAE para o desenvolvimento do estágio no exterior.

Ao Professor Antônio Camargo e ao Túlio Assunção Pires Ribeiro, do laboratório de irrigação da Faculdade de Engenharia Agrícola da Unicamp, por possibilitarem o desenvolvimento do experimento na casa de vegetação e pela ajuda na montagem do sistema de irrigação.

Ao Dr. Nilson Branco, do laboratório de parasitologia do Instituto de Biologia da Unicamp, que possibilitou o uso do microscópio de fluorescência.

À SANASA, especialmente à equipe da ETE Barão Geraldo, que tornou possível a coleta das amostras de efluente para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos Professores José Roberto Guimarães e Valéria Maia de Oliveira, pelas valiosas contribuições no exame de qualificação.

À equipe do INRAE- Antony, especialmente à gestora de recursos humanos Nathalie Camus, à diretora do instituto Dr. Nathalie Touze e ao chefe do PROSE laboratoire Dr. Théodore Bouchez, por permitirem a realização do intercâmbio.

Aos responsáveis técnicos pelo laboratório de Saneamento da FECFAU, Daniel Camargo e Fernando Pena e ao ex-técnico, hoje professor da UFMG, Dr. Thiago Neves por toda ajuda durante o desenvolvimento da etapa laboratorial da pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de doutorado (Processo 2017/12157-2) e pela bolsa de estágio de pesquisa no exterior (Processo 2018/25451-9).

A todos meu sincero OBRIGADA!

RESUMO

Um grande consumidor da água disponível na Terra é a agricultura, estima-se que 70% de seu uso global seja destinado a essa atividade. Deste modo, o reúso de efluentes sanitários aparece como uma alternativa viável para suprir a demanda do setor agrícola, no entanto uma das dificuldades encontradas para viabilizar o reúso seguro é determinar um sistema de desinfecção eficiente na inativação de cistos de *Giardia* spp. Este protozoário é patógeno mais identificado nos exames de fezes ao redor do mundo. Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar os impactos causados pelo reúso agrícola de efluente doméstico tratado e desinfetado, a um nível considerado seguro em relação a presença de cistos de *Giardia*, nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo. Para tal, primeiramente foram avaliadas a performance de diferentes dosagens dos agentes desinfetantes escolhidos (cloro, ácido peracético, radiação ultravioleta e associação entre peróxido de hidrogênio e radiação ultravioleta) para a inativação de cistos de *Giardia* inoculados artificialmente no efluente proveniente da ETE “Barão Geraldo”, na cidade de Campinas-SP. E então, para avaliar os efeitos do uso de efluente desinfetado no solo, foi realizado um experimento em casa de vegetação, no qual uma cultura de trigo foi irrigada com efluente tratado com as dosagens dos desinfetantes que apresentaram melhor performance de inativação dos cistos. A irrigação com efluente não desinfetado e com água da torneira foram utilizadas como controle. Ao final de um ciclo de cultivo do trigo, foram avaliados o pH, a condutividade elétrica, a matéria orgânica, concentração de nitrogênio e fósforo e a composição microbiana do solo, bem como o número de grãos de trigo produzidos pelas plantas irrigadas com os diferentes tratamentos. Os tratamentos de desinfecção não impactaram as características físico-químicas do solo nem o rendimento do trigo, porém desempenharam um papel importante na estrutura da comunidade microbiana.

Palavras-chave: Reúso agrícola; patógenos; desinfecção; diversidade microbiana; características do solo; produtividade agrícola.

ABSTRACT

The major consumer of available water on Earth is agriculture, it is estimated that 70% of its global use is destined for this activity. In this way, the wastewater reuse appears as a viable alternative to supply the demand of the agricultural sector, however, one of the difficulties encountered to enable safe reuse is to determine an efficient disinfection system in the inactivation of *Giardia lamblia* cysts. This protozoan is the most identified pathogen in stool exams around the world. Thus, the present study aims to evaluate the impacts caused by the agricultural reuse of treated and disinfected domestic wastewater, at a level considered safe about the presence of *Giardia* cysts, on the physicochemical and microbiological properties of the soil and on crop yield. For this, firstly, the performance of different dosages of the chosen disinfecting agents (chlorine, peracetic acid, ultraviolet radiation, and association between hydrogen peroxide and ultraviolet radiation) was evaluated, for the inactivation of *Giardia* cysts in wastewater samples. Then, to evaluate the effects of the use of disinfected wastewater on the soil, an experiment was carried out in a greenhouse, in which a wheat crop was irrigated with wastewater treated with the dosages of disinfectants that presented the best cyst inactivation performance. Irrigation with non-disinfected effluent and tap water were used as controls. At the end of a wheat crop cycle, pH, electrical conductivity, organic matter, nitrogen and phosphorus concentration, and soil microbial composition were evaluated, as well as the number of wheat grains produced by plants irrigated with the different treatments. Disinfection treatments did not impact soil physicochemical characteristics or wheat yield but played an important role in microbial community structure.

Keywords: Agricultural reuse; pathogens; disinfection; microbial diversity; soil characteristics; crop yield

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-1: Fluxograma das etapas de execução do projeto de doutorado	20
Figura 3-1: Fluxograma da ETE Barão Geraldo, em vermelho o ponto de coleta das amostras.....	73
Figura 3-2: Incidência de radiação UV sobre a placa de Petri.....	75
Figura 3-3: Cistos de <i>Giardia</i> spp. visualizados no microscópio de fluorescência. ...	79
Figura 4-1: Experimento na casa de vegetação	98
Figura 4-2: Diferenças fenotípicas entre as plantas irrigadas com (a) FW e (b) WW	108
Figura 4-3: Número de sequências por amostra, pós controle de qualidade	110
Figura 4-4: Curvas de rarefação indicando os números observados de OTU por tratamento, de acordo com o número de sequências obtidas por re-amostragem aleatória	111
Figura 4-5: Índices de riqueza e diversidade alfa por tratamento.....	112
Figura 4-6: Abundância relativa dos 10 filos principais filos por amostra.	113
Figura 4-7: Biplot da PCA ilustrando a composição microbiana do solo baseada no tratamento de desinfecção. Em azul, parâmetros físico-químicos do solo, como variáveis suplementares; OM: Matéria orgânica; EC: Condutividade elétrica; P: fósforo; pH: potencial hidrogeniônico; NH ₃ : Amônia, NO ₃ : Nitrato. Para esta análise, as amostras do tratamento FW foram removidas. Apenas as 20 OTU mais abundantes foram plotadas e suas afiliações taxonômicas mais explicativas são apresentadas. As formas maiores indicam o baricentro de cada grupo correspondente.	114
Figura 4-8: Abundância relativa de OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$), com base na distribuição binomial negativa. (a) Comparação entre solo irrigado com WW e solo irrigado com FW; (b) Comparação entre solo irrigado com AOP e solo irrigado com WW; (c) Comparação entre o solo irrigado com HYP e o solo irrigado com WW; (d) Comparação entre solo irrigado com PAA e solo irrigado com WW; (e) Comparação entre solo irrigado com UV e solo irrigado com WW.....	116
Figura 4-9: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com WW e em solo irrigado com FW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de <i>log</i> 2 <i>fold change</i> correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW	

e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com FW.....	121
Figura 4-10: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com HYP e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de <i>log 2 fold change</i> correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com HYP e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW.....	122
Figura 4-11: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com PAA e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de <i>log 2 fold change</i> correspondem às OTU diferencialmente mais abundantes no solo irrigado com PAA e os valores negativos às OTU diferencialmente mais abundantes no solo irrigado com WW.....	123
Figura 4-12: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com AOP e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de <i>log 2 fold change</i> correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com AOP e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW.....	125
Figura 4-13: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com UV e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de <i>log 2 fold change</i> correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com UV e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW.....	127
Figura 4-14: Diagrama de Venn para resumir as OTU diferencialmente abundantes, únicas e compartilhadas entre os solos irrigados com efluente submetido aos diferentes desinfetantes	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 2-1: Porcentagem do efluente total produzido destinado à irrigação agrícola pelo mundo.....	27
Tabela 2-2: Impacto da irrigação com efluente tratado na produtividade de diferentes culturas agrícolas	31
Tabela 2-3: Impactos do reúso agrícola nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo	33
Tabela 2-4: Concentração de cistos de <i>Giardia</i> em amostras de esgoto bruto ao redor do mundo	42
Tabela 2-5: Eficiência de ETE na remoção de cistos de <i>Giardia</i>	46
Tabela 2-6: Padrões de qualidade para o reúso de efluente para irrigação agrícola de acordo com os principais guias e legislações disponíveis.....	63
Tabela 3-1: Métodos utilizados para padronização dos desinfetantes químicos.....	74
Tabela 3-2: Características dos LED que compõe a câmara de radiação	75
Tabela 3-3: Características do efluente da ETE Barão Geraldo.....	76
Tabela 3-4: Agentes desinfetantes e respectivas dosagens avaliadas	77
Tabela 3-5: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com diferentes concentrações de cloro.....	82
Tabela 3-6: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com diferentes concentrações de ácido peracético e eficiência de inativação de cada tratamento	84
Tabela 3-7: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com diferentes comprimentos de onda	86
Tabela 3-8: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com POA H ₂ O/UV-LED	90
Tabela 4-1: Características físico-químicas do solo antes da irrigação.....	97
Tabela 4-2: Características físico-químicas das águas utilizadas para irrigação (n=5)	99
Tabela 4-3: Condições dos processos de desinfecção	100
Tabela 4-4: Características do solo após a irrigação	103
Tabela 4-5: Rendimento médio da cultura de trigo por tratamento de irrigação	107

SUMÁRIO

Capítulo 1: Contextualização geral do Trabalho.....	16
1.1. Introdução	16
1.2. Objetivos	19
1.2.1. Objetivos Específicos	19
1.3. Apresentação da tese	20
Capítulo 2: Revisão da Literatura	22
2.1. Introdução	22
2.2. Reúso agrícola de efluentes.....	23
2.3. Reúso agrícola e a produtividade das culturas	27
2.4. Impacto do reúso agrícola no solo	32
2.5. Reúso agrícola e doenças gastrointestinais.....	39
2.6. Tratamento de efluente para reúso agrícola seguro	44
2.6.1. Cloro	47
2.6.2. Ácido peracético	50
2.6.3. Radiação ultravioleta	52
2.6.4. Processos Oxidativos Avançados.....	56
2.7. Diretrizes e regulamentações.....	58
2.8. Conclusão	68
Capítulo 3: Avaliação da ação de cloro, ácido peracético, radiação UV-LED e processo oxidativo avançado sobre cistos de <i>Giardia lamblia</i>	69
3.1. Introdução	70
3.2. Metodologia.....	73
3.2.1. Origem do Efluente.....	73
3.2.2. Agentes desinfetantes	74
3.2.3. Ensaio de Desinfecção	76
3.2.4. Detecção dos cistos de <i>Giardia</i> nas amostras.....	78
3.2.5. Avaliação da viabilidade dos cistos	79
3.2.6. Experimento controle da metodologia de recuperação de cistos	80

3.2.7. Análises dos resultados	80
3.3. Resultados e Discussão	81
3.3.1. Eficiência do Cloro	81
3.3.2. Eficiência do Ácido Peracético	84
3.3.3. Eficiência da Radiação Ultravioleta	86
3.3.4. Eficiência do Processo Oxidativo Avançado H ₂ O ₂ /UV-LED	89
3.3.5. Limitações da metodologia empregada	90
3.4. Conclusões	91
Capítulo 4: Impactos da irrigação com efluente desinfetado nas características do solo e na produtividade agrícola	93
4.2. Introdução	93
4.3. Metodologia	96
4.3.1. Condições experimentais	96
4.3.2. Características das águas utilizadas para irrigação	99
4.3.3. Caracterização da comunidade microbiana do solo	100
4.3.4. Análise estatística	101
4.4. Resultados e Discussão	102
4.4.1. Características físico-químicas do solo	102
4.4.2. Impacto na produção de trigo	107
4.4.3. Caracterização da comunidade microbiana do solo	110
4.5. Conclusões	129
Capítulo 5: Considerações finais	131
5.1. Discussão Geral	131
5.2. Conclusões	137
5.3. Sugestões para estudos futuros	139
Referências	140

CAPÍTULO 1: CONTEXTUALIZAÇÃO GERAL DO TRABALHO

1.1. INTRODUÇÃO

Fatores como o crescimento populacional, diretamente relacionado ao aumento da demanda por alimentos, o desenvolvimento econômico e as alterações dos padrões de consumo, somados às mudanças climáticas, têm feito com que a escassez de água e grandes períodos de seca não sejam mais problemas exclusivos das regiões áridas e semiáridas do Planeta, mas também das regiões onde a água doce sempre foi abundante, como no sudeste do Brasil (BECERRA-CASTRO et al., 2015; BIXIO et al., 2006; COUTINHO; KRAENKEL; PRADO, 2015; NOBRE et al., 2016).

O setor agrícola é o principal consumidor da parcela disponível de água da Terra, cerca de 70% do uso global da água é destinado a essa atividade (WWAP, 2019). O reúso de efluentes para a irrigação de culturas é uma alternativa viável para suprir a demanda hídrica da agricultura e, sua adoção tem sido apontada pela Organização das Nações Unidas (ONU) como ferramenta fundamental para alcançar os objetivos do desenvolvimento sustentável estabelecidos pela Agenda 2030 (WWAP, 2019).

O uso de efluentes para irrigação agrícola além de diminuir a demanda por água doce, também reduz a degradação dos ecossistemas aquáticos pela descarga de efluentes (BECERRA-CASTRO et al., 2015; BIXIO et al., 2006; TOZE, 2006). Outra vantagem é a transformação do efluente de rejeito em recurso de valor, uma vez que, além de água, também fornece minerais, matéria orgânica e nutrientes como nitrogênio e fósforo para a plantação.

Apesar dos inúmeros benefícios, a adoção sustentável do reúso agrícola requer considerações a respeito de impactos na produtividade da cultura, nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo, bem como na saúde pública (IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018).

Patógenos de veiculação hídrica, eliminados via fezes ou urina dos hospedeiros, estão presentes em grande número no esgoto. Dessa forma, como medida protetiva, guias e legislações exigem um certo grau de qualidade ao efluente destinado a irrigação agrícola, recomendando a implementação de uma etapa de

desinfecção ao final do processo de tratamento (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH, 2012; EUROPEAN COMMISSION, 2018; USEPA, 2012a; WHO, 2006a).

No entanto, enquanto a maioria dos sistemas de tratamento e desinfecção são eficientes na remoção de bactérias utilizadas como indicadores de qualidade microbiológica da água, organismos patogênicos mais resistentes, como vírus, protozoários e helmintos sobrevivem aos processos convencionalmente aplicados nas estações de tratamento de efluentes (ETE) (FLETCHER et al., 2012; GONZALES-GUSTAVSON et al., 2019; PETTERSON; ASHBOLT; SHARMA, 2001). Como é o caso da forma infectante do protozoário *Giardia* spp., que tem sido frequentemente detectada em amostras de esgoto tratado de diversos países (CACCIÒ et al., 2003; HACHICH et al., 2013; LEONEL et al., 2016; NASSER et al., 2012; REINOSO et al., 2011).

A *Giardia lamblia* (sinonímia *Giardia duodenalis* e *Giardia intestinalis*), agente etiológico da giardíase, é um dos parasitas intestinais mais prevalentes no mundo (CAPEWELL et al., 2021). Os cistos, forma infectante do protozoário, são eliminados em altas concentrações nas fezes dos hospedeiros, sobrevivem por meses em ambientes aquáticos ou no solo, mesmo sob condições ambientais adversas, e apresentam baixa dose infectante, tornando sua presença na água de reúso uma ameaça à saúde dos agricultores, seus familiares e consumidores de vegetais irrigados (SPANAKOS et al., 2015). De fato, alguns casos de giardíase têm sido associados ao uso de efluentes sem tratamento adequado para irrigação de culturas (AMAHMID; ASMAMA; BOUHOUM, 1999; AMORÓS; ALONSO; CUESTA, 2010; CIFUENTES et al., 2000; KOUAMÉ et al., 2017; NGUYEN et al., 2016; SRIKANTH; NAIK, 2004).

Assim, é importante que a escolha do agente desinfetante a ser empregado na produção de água de reúso leve em consideração a inativação de patógenos resistentes.

O cloro é o desinfetante mais utilizado em estações de tratamento de água e esgoto, devido ao seu amplo espectro de ação e baixo custo. Entretanto, estudos têm chamado atenção para sua baixa eficiência na inativação de (oo)cistos de protozoários, nas concentrações normalmente utilizadas nas estações de tratamento. Além do mais, a formação de subprodutos nocivos têm estimulado o uso de outros desinfetantes, principalmente quando o reúso agrícola é a destinação final

do efluente (ADEYEMO et al., 2019; BRIANCESCO et al., 2005; CACCIÒ et al., 2003; CREBELLI et al., 2005; FERNANDO, 2009; HAAS; HELLER, 1990; JARROLL; BINGHAM; MEYER, 1981; RICE; HOFF; SCHAEFER, 1982). Na Itália, por exemplo a substituição do cloro pelo ácido peracético têm sido incentivada, devido ao seu amplo espectro de ação e a não formação de subprodutos tóxicos (ANTONELLI et al., 2013; CACCIÒ et al., 2003).

Por sua vez, a radiação ultravioleta (UV) é a principal opção ao uso de desinfetantes químicos, sendo amplamente utilizada em ETE, se mostrando bastante eficaz na inativação de formas de resistência de patógenos (ADEYEMO et al., 2019; CAMPBELL; WALLIS, 2002; CANTUSIO NETO; SANTOS; FRANCO, 2006; EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015; LI et al., 2009; LINDEN et al., 2002). Outra alternativa que vem ganhando destaque na inativação de cistos de *Giardia spp.* são os processos oxidativos avançados (POA), como a associação do peróxido de hidrogênio à radiação ultravioleta (H_2O_2/UV) (GUADAGNINI et al., 2013; GUIMARÃES et al., 2014). Para essas técnicas, uma alternativa à lâmpada de mercúrio tradicionalmente utilizada são os LED (sigla em inglês para *Light Emitting Diode*, diodos emissores de luz) para emissão de radiação UV (UV-LED), que além de serem compactos, resistentes ao choque, consumirem pouca energia e possuírem alta durabilidade (100.000 horas), também produzem com maior eficiência comprimentos de onda específicos, permitindo projetar um sistema de desinfecção em função do patógeno a ser inativado (CHEVREMONT et al., 2012b).

Ao ser empregada a prática do reúso agrícola, além da eficácia na inativação de patógenos, a toxicidade do desinfetante também deve ser avaliada. Quando o residual é persistente, como é o caso do cloro ou do ácido peracético, ele permanece no efluente juntamente com os subprodutos da desinfecção. No caso da inativação da forma infectante de protozoários esta questão é ainda mais preocupante, uma vez que altas doses destes desinfetantes são requeridas (CACCIÒ et al., 2003). Ainda há poucos trabalhos que tenham avaliado os impactos do reúso agrícola de efluente desinfetado nas propriedades físico-químicas e na composição da comunidade microbiana do solo, na produtividade das culturas e no sistema solo-planta. Há uma preocupação preponderante com a destruição de patógenos e uma inexistência de atenção aos malefícios que os agentes desinfetantes e seus subprodutos possam acarretar ao solo e seu ecossistema. O risco de infecção humana por microrganismos patogênicos deve ser priorizado, mas

os impactos ambientais causados pela desinfecção também devem ser considerados.

1.2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo avaliar os impactos causados pelo reúso agrícola de efluente doméstico desinfetado nas propriedades físico-químicas e na composição da comunidade microbiana do solo, e na produtividade de uma cultura de trigo a curto prazo.

1.2.1. Objetivos Específicos

- a) Avaliar a ação dos agentes desinfetantes: cloro (na forma de hipoclorito de cálcio), ácido peracético, radiação ultravioleta por LED (UV-LED) e o processo oxidativo avançado peróxido de hidrogênio associado a radiação UV-LED ($H_2O_2/UV-LED$) sobre cistos de *Giardia lamblia*.
- b) Identificar as alterações nas propriedades químicas e físicas do solo devido à aplicação de efluente desinfetado com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio), ácido peracético, radiação UV-LED, e o processo oxidativo avançado $H_2O_2/UV-LED$, em comparação com tratamento controle (efluente não desinfetado).
- c) Identificar os impactos ocasionados à composição da comunidade bacteriana do solo devido à aplicação de efluente desinfetado com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio), ácido peracético, radiação UV-LED e o processo oxidativo avançado $H_2O_2/UV-LED$, em comparação com tratamento controle (efluente não desinfetado).
- d) Avaliar a produtividade da cultura de trigo irrigada com efluente desinfetado com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio), ácido peracético, radiação UV-LED e o processo oxidativo avançado $H_2O_2/UV-LED$, em comparação com tratamento controle (efluente não desinfetado).
- e) Indicar o tratamento que apresentou melhor performance frente aos pontos avaliados: inativação de cistos de *Giardia*, baixo impacto nas propriedades físico-química e microbiológicas do solo e influência positiva na produtividade da cultura.

1.3. APRESENTAÇÃO DA TESE

A execução do projeto de doutorado que originou essa tese se deu em 3 etapas, conforme esquematizado na Figura 1-1. Dessa forma, o presente trabalho foi estruturado em 5 capítulos, três dos quais discutem os resultados das etapas da pesquisa, além de um capítulo introdutório e um capítulo para discussão e conclusões gerais, e sugestões para estudos futuros, conforme será apresentado a seguir.

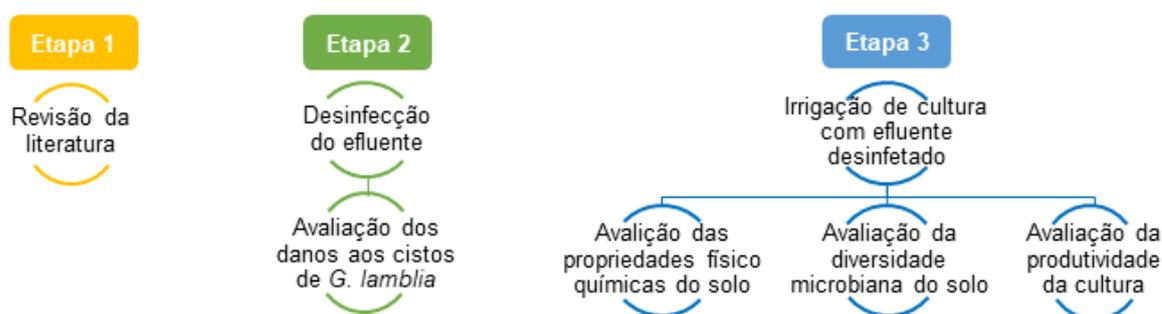


Figura 1-1: Fluxograma das etapas de execução do projeto de doutorado

O Capítulo 1 apresenta uma introdução ao trabalho e ao contexto no qual se insere, sua justificativa, os objetivos da pesquisa e a estrutura geral da tese.

O Capítulo 2 traz uma revisão da literatura, a fim de apresentar a fundamentação teórica utilizada para o desenvolvimento da pesquisa. O capítulo é uma adaptação do artigo de revisão publicado na revista *Science of The Total Environment*, intitulado *Wastewater reuse for crop irrigation: Crop yield, soil and human health implications based on giardiasis epidemiology* (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145833>), e aborda o reúso de efluentes na irrigação agrícola ao redor do mundo, os riscos associados a prática para a produtividade agrícola, propriedades do solo e saúde pública, bem como discute a ação do cloro, ácido peracético, radiação ultravioleta e processos oxidativos avançados na desinfecção de efluentes potencialmente usados na agricultura. A discussão em saúde pública foi focada no protozoário de veiculação hídrica *Giardia lamblia*, dada sua importância epidemiológica, principalmente em países em desenvolvimento. Por fim, o capítulo apresenta uma compilação de diretrizes e regulamentos para irrigação agrícola com efluentes em vigor em diferentes países.

No Capítulo 3 são apresentados a metodologia empregada, os resultados e as conclusões obtidas na Etapa 2 da pesquisa, na qual foi avaliado o desempenho dos agentes desinfetantes na inativação de cistos de *Giardia* (Figura 1-1), bem como uma rápida introdução para contextualização do tópico abordado e as limitações dessa etapa da pesquisa.

O Capítulo 4 refere-se a Etapa 3 da pesquisa, onde foram avaliados os efeitos da aplicação do efluente submetido aos diferentes tratamentos nas propriedades do solo e na produtividade de uma cultura de trigo. As análises de bioestatística e bioinformática da Etapa 3 foram desenvolvidas durante o Estágio de Pesquisa no Exterior realizado no instituto de pesquisa francês INRAE - Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement, sob supervisão da Dr. Ariane Bize.

Por fim, o Capítulo 5 apresenta as considerações finais do trabalho, contando com uma discussão geral dos resultados observados, conclusões finais da pesquisa e sugestões para trabalhos futuros.

CAPÍTULO 2: REVISÃO DA LITERATURA

RESUMO

O setor agrícola é o maior consumidor de água do Planeta, estima-se que 70% de seu uso global seja destinado a essa atividade. Assim, o reúso de efluentes aparece como uma alternativa viável para suprir a demanda hídrica do setor. Apesar de ser uma prática comum desde os tempos antigos, principalmente em regiões áridas e semiáridas, o uso de águas residuais para irrigação agrícola ainda é incipiente em algumas regiões devido à ilusão de abundância de recursos hídricos ou à falta de infraestrutura e investimentos. Nesta revisão, discutiremos o reúso de efluentes na irrigação agrícola em todo o mundo, seu risco associado à produção agrícola, ao solo e à saúde pública, e os processos de desinfecção mais utilizados para tratar o efluente para irrigação de culturas. Focamos a discussão em saúde pública no protozoário transmitido pela água *Giardia lamblia*, dada à sua importância epidemiológica, principalmente nos países em desenvolvimento.

Palavras-chave: Água de reúso; Reúso de efluentes; Irrigação; Microbiota do solo; *Giardia*; Saúde pública; Produtividade agrícola.

2.1. INTRODUÇÃO

Frente à crise hídrica que assola a população mundial, estima-se que 4,0 bilhões de pessoas enfrentam situações de estresse hídrico severo por pelo menos 1 mês ao ano no mundo todo (MEKONNEN; HOEKSTRA, 2016). A ONU, através da Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, têm pressionado a adoção mundial da prática do reúso como ferramenta fundamental para atingir os Objetivos para o Desenvolvimento Sustentável (Sustainable Development Goals) (UNITED NATIONS, 2016). E o setor agrícola, como o principal consumidor da porção de água disponível na Terra, desempenha um papel importante no plano de gestão integrada dos recursos hídricos (WWAP, 2019).

A adoção sustentável do reúso agrícola requer considerações sobre impactos na produtividade da cultura, nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo, bem como na saúde pública (IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018). Estratégias de manejo precisas, incluindo a aplicação de níveis

adequados de tratamento, monitoramento periódico do solo e das plantas, assim como, práticas adequadas de irrigação, cultivo e colheita são fundamentais para minimizar os riscos ao homem e ao meio ambiente, garantindo uma prática segura, sustentável e lucrativa (MAASS; GRUNDMANN, 2016; PEDRERO et al., 2010).

Dessa forma, o objetivo dessa revisão é discutir o uso de efluentes na irrigação de culturas em diversos países do mundo, os riscos associados para a produtividade agrícola, para o solo e para saúde pública, assim como os processos de desinfecção mais comuns para tratar água de reúso destinada a irrigação de culturas. Concentramos a discussão de saúde pública no protozoário de veiculação hídrica *Giardia lamblia*, dada sua importância epidemiológica, principalmente em países em desenvolvimento, onde ocorrem cerca de 200 milhões de casos de giardíase anualmente, alguns relacionados à irrigação com água de reúso (CIFUENTES et al., 2000; KOUAMÉ et al., 2017; NGUYEN et al., 2016; SRIKANTH; NAIK, 2004). Por fim, apresentamos uma compilação de diretrizes e regulamentos para o reúso de efluentes na irrigação agrícola em vigor em diferentes países.

2.2. REÚSO AGRÍCOLA DE EFLUENTES

Nos últimos 30 anos muita coisa mudou na esfera do reúso de efluentes. Uma das principais mudanças ocorreu em 2017, com a publicação do Relatório sobre o Desenvolvimento Mundial da Água das Nações Unidas (*World Water Development Report 2017*), intitulado *Wastewater: The Untapped Resource*, que reconheceu as águas residuárias como fonte de recurso (WWAP, 2017). A inclusão das águas de reúso dentro do plano integrado de gerenciamento hídrico, como uma fonte alternativa e confiável para diversos usos, inclusive o potável, nos mais variados ambientes, é essencial para atender à crescente demanda hídrica ao redor do mundo, apoiar a economia circular e as metas de desenvolvimento sustentável (RICART; RICO, 2019).

Apesar da popularização da prática do reúso para diversas finalidades, a irrigação agrícola ainda é a sua aplicação mais comum. Em regiões do planeta onde a escassez hídrica é uma questão geográfica, o uso de esgoto doméstico, tratado ou não, na agricultura é um fato histórico. Há indícios que a prática tenha se iniciado na Idade do Bronze (3200 a 1100 a.C.) por civilizações desenvolvidas como a Minoica,

na Ilha de Creta, e a do Vale do Indo, região que atualmente corresponde ao Paquistão (ANGELAKIS et al., 2018).

Israel é referência mundial na prática bem-sucedida do reúso agrícola de efluentes. O reúso de 86% do esgoto fornece 50% da água de irrigação do país, e é o segundo componente idiossincrático na estratégia de Israel para superar a escassez de água e manter a agricultura em uma região seca (TAL, 2016). No norte da África, a Tunísia foi um dos primeiros países da Orla Mediterrânea a ter estabelecido e implementado uma política de reúso de água na década de 1980, utilizando 25% do total do efluente produzido para irrigação agrícola (AIT-MOUHEB et al., 2018). No Egito, cerca de 42.000 hectares (ha) são irrigados com efluente tratado ou esgoto bruto diluído (CHEN; NGO; GUO, 2013).

No Sul da Europa, a prática do reúso também é comum, 44% do efluente municipal é destinado à irrigação agrícola (RICART; RICO, 2019). Na Espanha, por exemplo, estima-se que 77% do volume total da água de reúso do país é usada para irrigação agrícola de vinhedos e oliveiras. Em regiões como Ilhas Canárias, Valência e Múrcia, o reúso do efluente desempenha um papel fundamental para atender às necessidades hídricas da região (PARANYCHIANAKIS et al., 2015). Na Itália, a água de reúso é utilizada para irrigação agrícola em uma área superior a 4.000 ha (AIT-MOUHEB et al., 2018). Na França, o maior esquema de irrigação de água de reúso está localizado na cidade de Clermont-Ferrand, centro do país, onde 700 ha de milho, beterraba e trigo são irrigados com água de reúso (1 milhão de m³ por ano), desde 1996 (PARANYCHIANAKIS et al., 2015).

Nos Estados Unidos (EUA), as regiões áridas e semiáridas como os estados do Texas, Arizona, Flórida e Califórnia também usam água de reúso para irrigar culturas de algodão, frutas cítricas, trigo, grãos e até vegetais como brócolis, alcachofra e couve-flor (DERY et al., 2019). A Austrália, uma das regiões de maior estresse hídrico do mundo, possui 270 diferentes esquemas de irrigação agrícola em todo o seu território. O país utiliza 106 milhões de m³ de água de reúso por ano, irrigando principalmente culturas de algodão e grãos (CHEN; NGO; GUO, 2013).

Hoje em dia, a irrigação agrícola com efluente não é mais uma realidade apenas nas regiões áridas e semiáridas. Devido ao rápido crescimento populacional, à conseqüente urbanização e ao aumento da demanda por alimentos, projetos de

reúso de água já estão sendo implementados mundialmente (PERRY; PRASKIEVICZ, 2017). De acordo com o relatório ONU, pelo menos 50 países usam águas residuais para irrigação (WWAP, 2017). Cerca de 15 milhões de m³ de água de reúso são usados todos os dias para fins de irrigação no mundo, irrigando 10% do total de áreas irrigadas do Planeta (ELGALLAL; FLETCHER; EVANS, 2016). O Japão, por exemplo, já aloca 7% de seu efluente tratado para irrigação de plantações, como estratégia para economizar água para usos urbanos (HARA et al., 2016). Na China, a região de Pequim é pioneira na promoção do reúso, aumentando a produção de água de reúso de 205 milhões de toneladas em 2003 para 800 milhões de toneladas em 2013, correspondendo a 22% de seu abastecimento total anual de água (LYU et al., 2016).

Embora o reúso do efluente seja atualmente implementado em muitos países, com um aumento da capacidade global estimado de 33,7 milhões de m³ por dia em 2010 para 54,5 milhões de m³ por dia em 2015, com o maior crescimento na China, Estados Unidos, Oriente Médio, Norte da África, Europa Ocidental e Sul da Ásia (CHEN; NGO; GUO, 2013; VOULVOULIS, 2018), seu potencial ainda não é explorado em muitas regiões. O que pode ser explicado pela ilusão da abundância de recursos hídricos, como no norte da Europa, onde até agora, mesmo considerando os impactos das mudanças climáticas projetadas, os países não investiram pesadamente no planejamento de reúso de água. Como exceção, vale mencionar o Reino Unido, onde apesar de haver água suficiente para atender à demanda, após alguns eventos recentes de seca, o reúso da água deve expandir-se levando em conta a pressão imposta por fatores públicos, políticos e climáticos (PARANYCHIANAKIS et al., 2015). Assim como a Alemanha, onde, embora apenas 25,8% dos recursos hídricos disponíveis sejam utilizados, há alguns casos de aplicação de água de reúso na agricultura em regiões de solo arenoso, onde a produção agrícola só é possível com irrigação (PARANYCHIANAKIS et al., 2015). Na cidade de Braunschweig, por exemplo, o efluente secundário é usado para a irrigação de aproximadamente 3.000 ha de plantações agrícolas (PARANYCHIANAKIS et al., 2015).

Em outros casos, como na América Latina e Caribe (LAC), os esforços para a implementação das práticas de reúso são muito limitados, dada a defasagem de infraestrutura e a falta de regulamentações (GALVIS et al., 2018). Mesmo concentrando 30% dos recursos hídricos do mundo, algumas regiões da LAC sofrem

com a escassez de água (HERNÁNDEZ-PADILLA et al., 2017). Nas regiões semiáridas de Mendoza, na Argentina e Cochabamba, na Bolívia, o efluente sem tratamento adequado tem sido utilizada para irrigação de culturas (VÉLEZ; FASCIOLO; BERTRANOU, 2002; ZABALAGA; AMY; VON MÜNCH, 2007). No México, quase todo o esgoto não tratado da Cidade do México, uma das maiores cidades do mundo, é usado para irrigação agrícola no Vale do Mezquital (CONTRERAS et al., 2017). O esgoto é enviado ao Vale por canais, em um sistema que opera há mais de 100 anos (CONTRERAS et al., 2017).

No Brasil, a prática do reúso é mais comum no semiárido da região Nordeste, envolvendo principalmente agricultura familiar e culturas para alimentação de animais (FERREIRA et al., 2019). Por exemplo, no Ceará, um projeto financiado pelo Banco Mundial, ajudou 15 famílias a aumentar a produção de frutas, hortaliças e leguminosas em suas fazendas reutilizando as águas residuárias de suas casas (por exemplo, águas do banho e da cozinha) para irrigação (WORLD BANK, 2020). De acordo com a ONU, apenas 0,1% do efluente gerado no Brasil é oficialmente destinada à irrigação agrícola (WWAP, 2017).

A Tabela 2-1 apresenta um compilado de práticas de reúso agrícola em todo o mundo. A maior parte das informações desta tabela foram extraídas do AQUASTAT, o sistema global de informações da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) sobre recursos hídricos e gestão da água agrícola. É importante ressaltar que o número de países com informações disponíveis sobre o reúso de efluentes para irrigação de culturas é limitado. Em alguns casos, as informações existem, mas os governos dificultam o acesso, devido a possíveis impactos econômicos na exportação das culturas, em virtude de preocupações internacionais quanto à segurança alimentar e às medidas fitossanitárias. Em outros casos, as atividades agrícolas permanecem informais e não estão nas estatísticas oficiais (QADIR et al., 2010).

Tabela 2-1: Porcentagem do efluente total produzido destinado à irrigação agrícola pelo mundo

País	Porcentagem de efluente usada na agricultura (%)	Ano
Argélia ¹	1,2	2012
Australia ²	14,0	2010
Brasil ¹	0,1	2008
China ¹	2,7	2012
Egito ¹	4,1	2011
Estados Unidos ⁹		
Califórnia	46,0	2012
Flórida	44,0	2012
Irã ¹	9,3	2010
Iraque ¹	0,9	2012
Israel ⁴	86,0	2016
Japão ⁵	7,0	2017
Kuwait ¹	63,0	2016
Líbano ¹	1,0	2011
Marrocos ¹	2,0	2010
México ¹	5,4	2010
Peru ¹	11,5	2011
Paquistão ¹	44,0	2006
África do Sul	0,2	2009
Espanha ⁶	22,0	2018
Arábia Saudita ¹	34,6	2010
Senegal ¹	3,0	2010
Tunísia ⁷	25,0	2008
Reino Unido	0,1	2009

¹FAO (2019); ²United Nations Environment Program (2015); ³Ait-Mouheb et al. (2018); ⁴Tal (2016); ⁵Hara et al. (2017); ⁶Navarro (2018); ⁷Kellis et al. (2013); ⁸United Kingdom Environment Agency (2009); ⁹USEPA (2012).

2.3. REÚSO AGRÍCOLA E A PRODUTIVIDADE DAS CULTURAS

Normalmente, os efluentes secundários de ETE contém de 10 a 50 mg L⁻¹ de nitrogênio (N) total e 10 mg L⁻¹ de fósforo (P) total (CHEN et al., 2013; HANJRA et al., 2012; PEDRERO et al., 2010). Embora a presença desses nutrientes seja um problema para o descarte de efluentes em corpos d'água, ela é muito interessante

do ponto de vista agrônômico. N e P são elementos fundamentais para a fertilidade do solo, o crescimento das plantas e conseqüentemente, para a produção agrícola. O uso de efluente secundário para a irrigação de culturas, além de fornecer água, contribui para a diminuição do uso de fertilizantes minerais, diminuindo o custo da produção (LYU et al., 2016).

Em Pequim, por exemplo, a irrigação com água de reúso economizou cerca de 4.000 toneladas de nitrogênio e 500 toneladas de fósforo em 2010, reduzindo a aplicação de fertilizantes nas lavouras irrigadas (CHEN; NGO; GUO, 2013; YI et al., 2011). Na Califórnia, uma fazenda (>2000 ha) tem usado efluente secundário para irrigação de culturas por mais de 80 anos, e a quantidade anual de nitrogênio (aproximadamente 350 kg ha⁻¹) fornecida pela irrigação atende à demanda de nitrogênio da maioria das culturas cultivadas na região (WANG et al., 2003). No sul da Itália, Pedrero et al. (2018) estimou que a água de reúso forneceu 4 kg de nitrato (NO₃⁻), 44 kg de fosfato (PO₄⁻³), 84 kg de potássio (K), 300 kg de cálcio (Ca), 60 kg de magnésio (Mg) e 360 kg de sulfato (SO₄⁻²) por hectare em um ano.

Com relação a produtividade e à qualidade das culturas produzidas com água de reúso, um estudo realizado na Austrália não mostrou diferença significativa no rendimento da cultura ou perda de qualidade, quando o efluente secundário foi utilizado para irrigação (MOK et al., 2014). Os autores compararam o uso do efluente e água superficial, com ou sem fertilizantes minerais, para irrigar uma cultura de milho (*Zea mays* L). O estudo demonstrou que, quando comparado à água superficial, ambos sem adição de fertilizantes, o efluente proporcionou uma melhora no número de espigas de milho produzidas por hectare, e não foi observada diferença entre o número de espigas de milho produzidas por plantas irrigadas com efluente sem adição de fertilizantes e por plantas irrigadas com água superficial com adição de fertilizantes (MOK et al., 2014).

Outros pesquisadores relataram um aumento de rendimento usando efluente para irrigação de diversas culturas, em comparação com água de fontes convencionais, em diferentes regiões do mundo. Cirelli et al. (2012), na Sicília Oriental, Itália, aumentaram 20% da produção de tomates (*Lycopersicon esculentum*), utilizando para irrigação o efluente de um sistema que usa uma *Wetland* construída como tratamento terciário. E Gatta et al. (2016) obtiveram frutos de tomate com bons parâmetros morfo-qualitativos (*i.e.*, teor de matéria seca, pH,

teor de sólidos solúveis e parâmetros de cor), utilizando efluente agroindustrial para irrigação.

Na cidade de Almeria, Espanha, uma plantação de melão (*Pepino melo* L.) irrigada com efluente terciário, proveniente de um sistema de lodos ativados seguido de ozonização, apresentou uma boa produção de frutas (MARTÍNEZ; PÉREZ-PARRA; SUAY, 2011). Os autores também relataram que, enquanto as águas subterrâneas cobriam, respectivamente 20% e 7% das necessidades de N e K da cultura, o efluente contribuiu com 63% do N e 21% do K necessários para o desenvolvimento dos melões (MARTÍNEZ; PÉREZ-PARRA; SUAY, 2011).

Na região Centro-Oriental da Tunísia, um estudo de 21 meses demonstrou um aumento de rendimento e crescimento de oliveiras (*Olea europea* L.), utilizando efluente tratado para irrigação, em comparação com águas subterrâneas. A produção de azeitonas foi significativamente maior para o efluente, com 154 kg por árvore, em comparação com 90 kg por árvore, quando foi utilizada a água subterrânea para irrigação (BEDBABIS et al., 2010). De acordo com Erel et al., (2019), o efluente secundário de um sistema de lodos ativados foi capaz de fornecer 55% da dose total de N e 58% da dose total de K recomendadas para o desenvolvimento de uma plantação de oliveira, o estudo foi desenvolvido na planície costeira de Israel.

As oliveiras são geralmente cultivadas em regiões áridas e semiáridas, e por se tratarem de plantas “moderadamente tolerantes” à salinidade, a irrigação com efluente tratado para seu cultivo é uma prática comum nessas regiões (BEDBABIS et al., 2010; DE LAS HERAS; MAÑAS, 2020; EREL et al., 2019; PEDRERO et al., 2020; SEGAL et al., 2011).

Outra cultura geralmente cultivada em regiões áridas e semiáridas é a alcachofra (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) e, o total de cabeças produzidas (parte comestível) foram significativamente maiores em termos de peso por hectare, quando o efluente secundário de um sistema de lodos ativados foi usado para irrigação, com um aumento de até 25%, em relação à irrigação com a água normalmente utilizada pelos fazendeiros da região (GATTA et al., 2016).

No Brasil, no interior do estado de São Paulo, a irrigação com efluente de uma lagoa facultativa, levou a um aumento de 83% no volume de madeira produzida por hectare em uma plantação de eucalipto (*Eucalyptus grandis*) (MARINHO et al., 2014). Em outra pesquisa desenvolvida pela mesma equipe, a produção de botões

de rosa (*Rosa hybrida cv 'Ambiente'*), irrigados com efluente de um sistema que combina filtro anaeróbico e filtros de areia intermitente, atingiu um valor 31,8% maior do que a cultura irrigada com água da torneira (MARINHO et al., 2013).

Apesar dos bons resultados apresentados acima, o monitoramento periódico é necessário para evitar desequilíbrio na oferta de nutrientes, uma vez que a quantidade de nitrogênio e fósforo presente no efluente pode variar de acordo com a origem e tratamento aplicados, bem como a demanda por nutrientes é diferente para cada cultura (PEDRERO et al., 2010).

Como as taxas de irrigação geralmente correspondem à demanda de água das plantas, e o efluente contém uma concentração de nutrientes maior do que as fontes de água tradicionais, há o risco de excesso de oferta de nutrientes, o que pode impactar negativamente o desenvolvimento da cultura (CHEN; NGO; GUO, 2013). Efeitos adversos como o crescimento vegetativo excessivo e atrasos na maturação têm sido associados ao excesso de oferta de nutrientes (CHEN; NGO; GUO, 2013; LAURENSEN et al., 2012; MUSAZURA et al., 2019).

De acordo com Laurenson et al. (2012), quando o efluente doméstico tratado é usado para irrigação a oferta de N e P é geralmente maior do que a demanda nutricional da videira, o que pode incentivar o crescimento vegetativo prolífico e gerar frutos pálidos e manchados. Musazura et al. (2019) associaram a floração atrasada e errática em uma plantação de bananas (*Musa parasidiaca*) com a alta concentração de N no efluente tratado usado para irrigação.

Uma maneira fácil e eficaz de gerenciar a demanda de nutrientes e água da cultura é misturar a água com efluente, de modo que a irrigação forneça uma quantidade adequada de água sem exceder a quantidade segura de nutrientes.

Além do teor de nutrientes, pesquisadores têm demonstrado que o efeito da água de reúso no desenvolvimento das culturas depende das características específicas dos vegetais e do ambiente, bem como de outros parâmetros do efluente, como a concentração de sais. Em um estudo desenvolvido em Múrcia, Espanha, os autores observaram uma redução de 23% no rendimento de uma plantação de pêssegos (*Prunus persica*), devido aos altos valores de condutividade elétrica ($<5 \text{ dS m}^{-1}$), diretamente relacionados ao teor de sal, do efluente tratado utilizado para irrigação (MAESTRE-VALERO et al., 2019). Em outro experimento realizado em Múrcia, o crescimento vegetativo e o rendimento de tangerinas (*Citrus clementina cv. 'Orogrande'*) foram influenciados negativamente pelo alto teor de sal

da água de reúso (PEDRERO et al., 2014). Por outro lado, em um estudo desenvolvido em El Paso, Texas, EUA, mesmo com o aumento da salinidade do solo causada pela irrigação com efluente tratado, os pesquisadores não observaram impacto negativo na produção de biomassa de sorgo (CHAGANTI et al., 2020), demonstrando a importância de conhecer o efluente, o solo e as características do vegetal quando a prática do reúso é adotada. Cada sistema solo-planta tem características e demandas específicas, conhecê-las é fundamental para a irrigação sustentável com água de reúso.

A Tabela 2-2 traz um compilado sobre a produtividade de culturas irrigadas com efluente, em comparação com fontes convencionais de água (água superficial, água da torneira ou águas subterrâneas).

Tabela 2-2: Impacto da irrigação com efluente tratado na produtividade de diferentes culturas agrícolas

Cultura	Produtividade		Tratamento do efluente	País	Referência
	Efluente	Água de fonte convencional			
Milho	61 x 10 ³ espigas/ha	40 x 10 ³ espigas/ha	Lagoas de estabilização	Austrália	Mok el al, (2014)
Tomate	79 x 10 ³ kg/ha	67 x 10 ³ kg/ha	Lodos ativados + <i>Wetland</i> construídas	Espanha	Cirelli et al. (2012)
Melão	7 kg/planta	6 kg/planta	*Efluente secundário desinfetado com ozônio	Espanha	Martínez et al (2013)
Azeitona	154 kg/árvore	90 kg/árvore	*Efluente secundário	Tunísia	Bedbabis et al. (2010)
Azeitona	20 tons/ha	16 tons/ha	Lodos Ativados	Israel	Erel et al. (2019)
Azeitona	16 kg/árvore	18 kg/árvore	Lodos Ativados	Israel	Segal et al. (2011)
Alcachofra	88 x 10 ³ cabeças/ha	78 x 10 ³ cabeças/ha	Lodos ativados + cloração	Espanha	Gatta et al. (2016)
Eucalipto	752 m ³ /ha	411 m ³ /ha	Lagoa Facultativa	Brasil	Marinho et al. (2014)

*Tratamento não especificado pelos autores

2.4. IMPACTO DO REÚSO AGRÍCOLA NO SOLO

A prática do reúso agrícola não está livre de reações adversas ao meio ambiente, especialmente no solo. A irrigação com efluente, mesmo tratado, pode alterar as propriedades físicas, químicas e microbiológicas do solo, bem como introduzir diferentes tipos de contaminantes. Diversos estudos têm demonstrado modificações nas características do solo por longos e curtos períodos de prática do reúso agrícola de efluentes (ADROVER et al., 2012; BASTIDA et al., 2017; BECERRA-CASTRO et al., 2015; BROZAT et al., 2014; CHEVREMONT et al., 2013a, 2013b; FARHADKHANI et al., 2018; GALVIS et al., 2018; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; JARAMILLO; RESTREPO, 2017; MORUGÁN-CORONADO et al., 2013; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; URBANO et al., 2017; WAFULA et al., 2015; ZOLTI et al., 2019). Alterações no pH, salinidade, quantidade de matéria orgânica e nutrientes influenciam fatores bióticos e abióticos do solo, que estão diretamente relacionados à fertilidade e conseqüentemente à produtividade do solo (ELIFANTZ et al., 2011).

A Tabela 2-3 apresenta os principais impactos às propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo, que podem estar associadas ao reúso agrícola de efluentes.

Tabela 2-3: Impactos do reúso agrícola nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo

Parâmetro	Impacto associado	
	Propriedades físico-químicas	Propriedades Microbiológicas
pH	Aumento da disponibilidade de nutrientes e metais Mineralização da matéria orgânica Aumento da capacidade de troca catiônica (CEC)	Variações na riqueza e diversidade da comunidade microbiana
Matéria orgânica	Estabilização da estrutura do solo Formação de agregados Retenção de água Aumento da quantidade de nutrientes Capacidade de tamponamento CEC Atividade enzimática Aumento do carbono orgânico total (TOC) Aumento da disponibilidade de contaminantes	Seleção de populações específicas e de micro-habitats no solo
Nutrientes	Aumento na matéria orgânica do solo Retenção de água Lixiviamento para o lençol freático Aumento da disponibilidade de nutrientes para as plantas Risco de eutrofização de corpos hídricos	Perturbação da atividade metabólica da comunidade microbiana
Salinidade	Salinização ou sodificação do solo Diminuição da estabilidade das formas agregadas do solo Modificações na estrutura do solo a longo prazo Permeabilidade e retenção de água Compactação do solo Variação do pH Impacto negativo na fertilidade Lixiviamento de metais pesados	Alterações nos micro-habitat do solo Variações na riqueza e diversidade da comunidade microbiana
Contaminantes	Toxicidade do solo Acumulação no solo Impacto negativo na fertilidade do solo Potencial contaminação na cadeia alimentícia Mineralização da matéria orgânica	Aumento da tolerância dos microrganismos a contaminantes Resistência a antibióticos Redução da biomassa e alterações na estrutura microbiana

Fonte: BECERRA-CASTRO et al., 2015; JARAMILLO; RESTREPO, 2017 (adaptado)

O aumento da salinidade é a alteração mais reportada em estudos que avaliam o impacto da irrigação com efluente nas propriedades do solo (CHAGANTI et al., 2020; DE LAS HERAS; MAÑAS, 2020; EL MOUSSAOUI et al., 2019; EREL et

al., 2019; FARHADKHANI et al., 2018; MUYEN; MOORE; WRIGLEY, 2011; PEDRERO et al., 2020; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; ZOLTI et al., 2019). O acúmulo contínuo de sal pode afetar negativamente a permeabilidade, a estrutura, a condutividade hidráulica e a atividade microbiana do solo, refletindo negativamente na sua produtividade, além de ser tóxico para as plantas, podendo afetar a germinação de sementes, o crescimento da planta e, conseqüentemente, a produtividade da cultura (MOHAMMAD; MAZAHREH, 2003; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007).

O acúmulo de sal é mais comum em solos de regiões áridas e semiáridas, onde a demanda evaporativa é alta e a precipitação natural é baixa (MUYEN; MOORE; WRIGLEY, 2011). O volume de precipitação desempenha um papel fundamental na quantidade de sais do solo, um estudo de longo prazo desenvolvido por Erel et al. (2019), em Israel, demonstrou um aumento sazonal da salinidade do solo durante o período de irrigação, que foi eliminado a cada ano na estação chuvosa (inverno) por lixiviação. Conseqüentemente, os autores observaram que em anos com alta precipitação a salinidade do solo na primavera foi a mesma nos solos irrigados com água superficial e com efluente tratado por um sistema de lodos ativados, em contraste, em anos com baixo volume de precipitação, a concentração de sal na primavera foi maior para o solo irrigado com o efluente (EREL et al., 2019).

Diante da importância da irrigação com água de reúso para a agricultura em regiões secas, algumas medidas "em campo" podem evitar os impactos deletérios do efluente salino no solo, como a seleção de métodos de irrigação que reduzam a exposição da cultura ao sal; aplicação de uma carga de efluente além da necessidade de água da cultura para lixiviar o excesso de sais da zona da raiz; irrigação com efluente juntamente com água, misturados ou intercalados; aplicação de cálcio para mitigar os efeitos do sódio nos solos (MUYEN; MOORE; WRIGLEY, 2011).

Alterações no pH do solo também têm sido associadas à irrigação com efluentes (ADROVER et al., 2012; MOHAMMAD; MAZAHREH, 2003; ZOLTI et al., 2019). Adrover et al. (2012) e Zolti et al. (2019) observaram um aumento do pH do solo, que pode ser explicado pela entrada adicional de cátions trocáveis, principalmente sódio, devido à aplicação da água de reúso. Já Mohammad e Mazahreh (2003) atribuíram a diminuição do pH do solo, reportada em seu estudo, ao alto teor de amônia do efluente. Segundo os autores, a nitrificação da amônia

acumulada no solo serviu como fonte de íons hidrogênio, levando à diminuição do pH do solo que foi irrigado com efluente (MOHAMMAD; MAZAHREH, 2003). Por um lado, a diminuição do pH do solo pode aumentar a solubilidade e a disponibilidade de macro e micronutrientes como P, Fe, Mn e Zn, contribuindo positivamente para a fertilidade do solo (MOHAMMAD; MAZAHREH, 2003). Por outro lado, o aumento do pH pode diminuir a disponibilidade desses nutrientes e afetar a estrutura do solo, comprometendo o crescimento das culturas (KAMRAN et al., 2020).

O aumento da concentração de matéria orgânica do solo geralmente é mais pronunciado quando um efluente de baixa qualidade é usado para irrigação (ADROVER et al., 2012; BASTIDA et al., 2017; DANG et al., 2019; EL MOUSSAOUI et al., 2019; ORLOFSKY et al., 2016; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; ZOLTI et al., 2019). Esse aumento tem dois lados: enquanto a matéria orgânica pode reter nutrientes necessários para o crescimento da planta e liberá-los ao longo do tempo, à medida que o material é oxidado, e pode imobilizar metais presentes no efluente, devido à sua alta capacidade adsortiva, reduzindo disponibilidade desses para a absorção pelas plantas (PEDRERO et al., 2020). O crescimento de bactérias estimulado pela matéria orgânica e nutrientes pode levar à formação de biofilmes e, conseqüentemente, ao entupimento de espaços porosos entre partículas do solo, impactando sua condutividade hidráulica (SPARLING et al., 1999). (ADROVER et al., 2012; BASTIDA et al., 2017; DANG et al., 2019; EL MOUSSAOUI et al., 2019; ORLOFSKY et al., 2016; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; ZOLTI et al., 2019),

Vários estudos têm relatado o acúmulo de nutrientes, principalmente P e N, em solos irrigados com água de reúso (ADROVER et al., 2012; EL MOUSSAOUI et al., 2019; EREL et al., 2019; ORLOFSKY et al., 2016; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; SEGAL et al., 2011; URBANO et al., 2017). O fósforo é um elemento essencial para o desenvolvimento das culturas e sua limitação pode impactar a produção agrícola (WIERZBOWSKA et al., 2020; ZOHAR et al., 2010). No entanto, quando presente no solo em quantidades excessivas pode causar um desequilíbrio ecológico. A irrigação com efluentes pode levar ao acúmulo de fósforo nas camadas superficiais do solo, causando a eutrofização dos corpos d'água circundantes por lixiviação e/ou escoamento (ZOHAR et al., 2010).

O nitrogênio desempenha um papel fundamental no equilíbrio do ecossistema, e as respostas microbianas ao aumento da deposição de N, devido à

irrigação com água de reúso, podem ter sérias consequências para o ciclo global de carbono e nitrogênio, contaminação ambiental, fertilidade do solo e até mesmo para as mudanças climáticas (WANG et al., 2018). Alguns trabalhos observaram maior abundância de bactérias relacionadas ao ciclo do nitrogênio em solos irrigados com efluente (BECERRA-CASTRO et al., 2015; FRENK; HADAR; MINZ, 2014; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; OVED et al., 2001; TSIKNIA; TZANAKAKIS; PARANYCHIANAKIS, 2013). Tsiknia, Tzanakakis e Paranychianakis (2013) relataram correlação entre a taxa de aplicação de efluentes e a população de bactérias oxidantes de amônia (AOB) no solo. De acordo com os autores, a baixa taxa de aplicação de efluentes e, portanto, baixa carga de amônia depositada (NH_3) resultou na diminuição da população de AOB. Crecchio et al. (2004) e Elifantz et al. (2011) observaram uma taxa de nitrificação mais elevada em solos irrigados com efluente tratado.

A alta concentração de nitrato (NO_3^-) nos solos pode ser benéfica para as culturas, mas em excesso pode levar a contaminação do solo e das águas subterrâneas. Como foi observado por Xi et al. (2021), que relataram um acúmulo significativo de nitrito (NO_2^-) e nitrato em solos mais profundos que receberam aplicação de efluentes. Outra preocupação relacionada ao ciclo do nitrogênio é a desnitrificação, um processo mediado por microrganismos no qual o NO_3^- é reduzido sequencialmente, produzindo gás nitrogênio (N_2). Essa é uma das principais causas da perda de nitrogênio dos solos agrícolas, além disso, o processo também tem o potencial de produzir óxido nitroso (N_2O), um potente gás causador do efeito estufa (WAFULA et al., 2015; ZHOU et al., 2011). A presença dos genes bacterianos envolvidos nesse processo já foi identificada em solos irrigados com efluente tratado (WAFULA et al., 2015; ZHOU et al., 2011).

As mudanças nas características físico-químicas do solo afetam a comunidade microbiana, que se estabelece com base em uma complexa rede interrelacionada de fatores bióticos e abióticos. Uma comunidade microbiana estável é fundamental para os sistemas agrícolas, uma vez que microrganismos desempenham papéis essenciais no ecossistema do solo, em processos como decomposição de matéria orgânica, ciclagem de nutrientes e disponibilização de nutrientes para as culturas (FRENK; HADAR; MINZ, 2014; TIEDJE et al., 1999; TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

O aumento da biomassa microbiana e das atividades enzimáticas no solo irrigado com água de reúso, em comparação com o solo irrigado com água de fontes convencionais, devido à adição de matéria orgânica e nutrientes, tem sido amplamente relatado (ADROVER et al., 2012; BASTIDA et al., 2017; CHEN et al., 2008; CHEVREMONT et al., 2013a; ELIFANTZ et al., 2011; PEZZOLLA et al., 2015; WAFULA et al., 2015).

O aumento nas atividades de enzimas envolvidas no ciclo do nitrogênio, fósforo, carbono (C) e enxofre (S) foi observado por Chen et al. (2008), em solos irrigados com água de reúso. O aumento da atividade das enzimas catalase, responsável pela quebra do peróxido de hidrogênio, formando água e oxigênio molecular no solo; e desidrogenase, que pode estar relacionado a atividade oxidativa dos microrganismos do solo também foi observado no mesmo estudo (CHEN et al., 2008). Elifantz et al. (2011) observaram maior respiração e atividades oxidativas da microflora de solo irrigado com efluente, em comparação com o solo irrigado com água superficial, provavelmente induzidas pela adição de carbono orgânico dissolvido via irrigação com efluente.

Apesar da estimulação de microrganismos envolvidos no equilíbrio bioquímico de elementos como C, N e P poder aumentar a fertilidade do solo, Becerra-Castro et al. (2015) chamam a atenção para o fato de que estimulação da atividade microbiana pode não ser necessariamente benéfica, uma vez que já foi relatado na literatura que o aumento do crescimento bacteriano estimulado pela irrigação com efluente levou à formação de biofilmes, e conseqüentemente, ao entupimento dos espaços porosos entre as partículas do solo, impactando na condutividade hidráulica (SPARLING et al., 1999).

A composição e a diversidade microbiana do solo também podem ser modificadas pela irrigação com efluente. Métodos moleculares independentes de cultivo, baseados em técnicas de PCR ou sequenciamento de *amplicons* têm sido usados para avaliar a diversidade taxonômica da comunidade microbiana do solo irrigado com águas residuárias.

Uma observação comum em solos irrigados por efluentes tratados, em comparação com solos irrigados com água de fontes convencionais, é o aumento da abundância de bactérias copiotróficas, como alguns gêneros de Proteobacteria e Bacteroidetes, e a diminuição da abundância das oligotróficas, como alguns membros dos filos Actinobacteria e Acidobacteria, provavelmente devido ao

aumento de matéria orgânica do solo, proporcionada pela irrigação com a água de reúso (BASTIDA et al., 2017; BECERRA-CASTRO et al., 2015; DANG et al., 2019; FRENK; HADAR; MINZ, 2014; WAFULA et al., 2015). A diminuição de alguns grupos de Acidobacteria também pode ser associado ao aumento do pH do solo ocasionado pela irrigação com efluente (WAFULA et al., 2015).

O aumento de bactérias resistentes à salinidade, como os gêneros *Salinimicrobium* e *Haloplasma*, também foi observado em solo irrigado com efluente com alto teor de sais (BASTIDA et al., 2017). Assim como uma maior abundância de bactérias potencialmente patogênicas comumente encontradas no esgoto, reforçando a necessidade de uma etapa de desinfecção no tratamento do efluente destinado à irrigação agrícola (IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; WAFULA et al., 2015; ZOLTI et al., 2019).

A comunidade microbiana do solo pode sofrer impacto de metais pesados, principalmente quando efluentes industriais sem tratamento adequado são usados para irrigação. Os metais pesados podem reduzir a biomassa microbiana e/ou alterar a estrutura da comunidade, impactando algumas funções como a mineralização C e N e a atividade enzimática (BECERRA-CASTRO et al., 2015; CHEN et al., 2008; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007).

Outra preocupação relacionada ao reúso de águas residuárias na agricultura é o potencial acúmulo de contaminantes emergentes, especialmente fármacos, disruptores endócrinos e produtos para cuidados pessoais, no ambiente edáfico, sua percolação e, conseqüentemente, a contaminação de águas subterrâneas (BIEL-MAESO; CORADA-FERNÁNDEZ; LARA-MARTÍN, 2018; WU et al., 2014). Além disso, os contaminantes emergentes, uma vez no solo, podem ser absorvidos pelas raízes das plantas e se acumularem nas partes comestíveis das culturas alimentares e forragens, resultando em sua entrada na cadeia alimentar humana, representando um risco potencial à saúde (CHRISTOU et al., 2014).

O destino e o efeito desses compostos nos solos e nas culturas dependem de fatores-chave, como as propriedades específicas de cada composto e as características do solo e das plantas (BECERRA-CASTRO et al., 2015). Por exemplo, compostos antimicrobianos, como ciprofloxacina e sulfametoxazol, geralmente detectados em efluentes domésticos tratados (BIEL-MAESO; CORADA-FERNÁNDEZ; LARA-MARTÍN, 2018; CHRISTOU et al., 2014; WU et al., 2014), podem perturbar a estrutura e a atividade das comunidades microbianas

(BECERRA-CASTRO et al., 2015). Além do mais, as interações composto-solo-planta aumentam a retenção e/ou persistência desses contaminantes nos solos (BIEL-MAESO; CORADA-FERNÁNDEZ; LARA-MARTÍN, 2018).

A discussão sobre a qualidade adequada da água de reúso para irrigação está longe de acabar, componentes não detectados anteriormente continuam a aparecer em águas residuais com frequência, devido a melhorias das metodologias de detecção (PEDRERO et al., 2020).

É importante ressaltar que todas as mudanças nas características físico-químicas e microbiológicas do solo aqui relatadas estão diretamente relacionadas a outras características dos sistemas avaliados pelos pesquisadores citados acima, como tipo de solo, clima, origem de águas residuais, características da cultura, regime de irrigação etc. O solo é um ecossistema muito complexo e estabelecer uma relação causa-efeito não é simples. Assim, é altamente recomendável que todos esses fatores sejam considerados para determinar a taxa de aplicação do efluente. Cada sistema água-solo-planta tem suas próprias necessidades e características, portanto, estabelecer o volume de aplicação por ano ou a qualidade mínima da água não é uma tarefa fácil, demonstrando o papel fundamental das regulamentações e diretrizes para garantir o uso sustentável da água de reúso para irrigação agrícola.

2.5. REÚSO AGRÍCOLA E DOENÇAS GASTROINTESTINAIS

Uma das maiores preocupações com o reúso agrícola de efluentes é a saúde pública. Vários patógenos humanos são excretados através das fezes e urina dos hospedeiros, transformando o esgoto em uma importante fonte de transmissão de parasitas gastrointestinais (CRAUN et al., 1998; MEDEMA; SCHIJVEN, 2001).

Surtos de doenças como shigelose, cólera, febre tifoide e diarreia têm sido associados ao consumo de vegetais *in natura*, irrigados com esgoto não tratado (WHO, 2006a). Parasitas gastrointestinais são frequentemente identificados em vegetais frescos, principalmente em países em desenvolvimento, onde a irrigação com efluente não tratado adequadamente é comum (FALLAH et al., 2012; GUPTA; KHAN; SANTRA, 2009; MELLOUL; HASSANI; RAFOUK, 2001; SHUVAL; YEKUTIEL; FATTAL, 1985). No Irã, um estudo para determinar a prevalência de parasitas intestinais em vegetais consumidos crus, na cidade de Shahrekord, identificou uma taxa de contaminação parasitária igual a 55%, quando o esgoto

bruto foi usado para irrigação (FALLAH et al., 2012). Os parasitas detectados em amostras de vegetais não lavados incluíam ovos de *Ascaris lumbricoides* (14,1%), ovos de *Taenia* spp. (9,2%), ovos de *Toxocara* spp. (3,3%), ovos de *Trichostrongylus* spp. (4,3%) e cistos *Giardia* spp. (8,2%) (FALLAH et al., 2012). Na Índia, 42% dos vegetais de uma área irrigada por águas residuais, na cidade, de Titagarh, foram positivos para ovos de helmintos (GUPTA; KHAN; SANTRA, 2009). A área de estudo recebe o efluente tratado de um sistema de lodos ativados, mas o esgoto bruto é frequentemente liberado pelos operadores da ETE devido à demanda dos agricultores da região (GUPTA; KHAN; SANTRA, 2009). Em Israel, evidências epidemiológicas do surto de cólera de 1970 em Jerusalém indicam que os vegetais irrigados com esgoto não tratado foram a principal rota de infecção secundária (SHUVAL; YEKUTIEL; FATTAL, 1985). Na cidade de Marrakesh, Marrocos, diferentes sorogrupos de *Salmonella* foram identificados em alfaces irrigadas com esgoto bruto (MELLOUL; HASSANI; RAFOUK, 2001). Na região onde o estudo foi desenvolvido, o esgoto bruto tem sido utilizado para irrigação há várias décadas, apesar dessa prática ser proibida pelas autoridades (MELLOUL; HASSANI; RAFOUK, 2001).

Embora o consumo de hortaliças e cereais seja a rota de contaminação mais relatada na literatura, uma série de outras vias de exposição a patógenos estão associadas à prática de reúso agrícola (DICKIN et al., 2016). O risco de contaminação por parte dos agricultores e suas famílias é significativamente maior devido ao número de possíveis rotas, frequência e duração da exposição. Diversos estudos epidemiológicos têm demonstrado a alta prevalência de doenças gastrointestinais, como ancilostomose, ascaridíase e giardíase em agricultores que utilizam efluentes não tratados ou parcialmente tratados para irrigação, bem como em suas famílias (WHO, 2006a). O tipo de irrigação e o comportamento individual dos agricultores estão diretamente relacionados ao nível de exposição, variando de exposição direta ao efluente, passando por práticas como plantio, capina, colheita e rega manual, até a inalação de aerossóis, quando se utiliza a irrigação por aspersão (ADEGOKE et al., 2018; CARLANDER; SCHÖNNING; STENSTRÖM, 2009; DICKIN et al., 2016; RUTKOWSKI; RASCHID-SALLY; BUECHLER, 2007).

Estudos desenvolvidos em Gana, no México, na França, no Vietnã, em Uganda, no Paquistão e em Israel mostraram que entre adultos envolvidos no cultivo de plantações irrigadas por águas residuárias, pessoas que estavam em contato

direto com o efluente tinham um risco maior de apresentarem diarreias do que aqueles que não estavam (AMOAHA et al., 2016; BLUMENTHAL et al., 2001; DEVAUX et al., 2001; ENSINK et al., 2005; FUHRIMANN et al., 2016; KATZENELSON; BUIUM; SHUVAL, 1976). Amostras de fezes de agricultores e seus filhos de Malamulele, África do Sul, onde a irrigação em pequena escala com esgoto não tratado é comum, indicaram infecções comuns com vermes e *Giardia lamblia* (GUMBO et al., 2010). O número de infectados por Ancilostomídeos foi maior (42%) entre o grupo exposto, em comparação com o grupo controle (27%) (GUMBO et al., 2010).

Um estudo observacional sobre o padrão comportamental dos agricultores em Gana apontou o solo como uma importante rota de contaminação para os trabalhadores rurais (ANTWI-AGYEI et al., 2016). Segundo os pesquisadores, 93% dos agricultores trabalham descalços, 86% manuseiam o solo contaminado com as mãos, sem equipamento de proteção e 53% levam mãos sujas à boca (contaminação solo-boca) (ANTWI-AGYEI et al., 2016). A capacidade do solo de retenção de microrganismos em locais irrigados por águas residuárias foi demonstrada em um estudo desenvolvido no México (LANDA-CANSIGNO; DURÁN-ÁLVAREZ; JIMÉNEZ-CISNEROS, 2013).

Ademais, pessoas que vivem ou se deslocam próximo a áreas irrigadas com água de reúso também podem ser expostas através da contaminação de águas subterrâneas e inalação/ingestão de aerossóis. Quando a irrigação por aspersão é utilizada, microrganismos patogênicos presentes em aerossóis podem ser inalados ou espalhados por alimentos, afetando toda a população ao redor da propriedade onde o reúso é praticado (ADEGOKE et al., 2018). Por exemplo, em uma área rural no México, Balderrama-Carmona et al. (2014) identificaram cistos de *Giardia* em partículas de ar em torno de um local onde o reúso de efluentes é utilizado para irrigação.

A exposição a parasitas pela ingestão do solo é um sério risco para a saúde das crianças que vivem em locais de irrigação com efluentes e muitas vezes brincam fora de casa, em áreas eventualmente contaminadas, e deliberadamente colocam as mãos na boca, ingerindo, em média, entre 5 e 8 g de solo por dia (BALDERRAMA-CARMONA et al., 2014). De acordo com um estudo epidemiológico, que incluiu entrevistas e exames de fezes, realizados no México, crianças de domicílios agrícolas que utilizam esgoto não tratado para irrigação têm maior risco

de infecção com *Ascaris lumbricoides*, do que aquelas que vivem em propriedades onde o reúso agrícola não é praticado (BLUMENTHAL et al., 2001).

2.4.1 Reúso agrícola e giardíases

O risco que determinado patógeno oferece à saúde pública depende de fatores como dose infectante, persistência no ambiente, virulência e habilidade em induzir a imunidade humana (WHO, 2006a). Assim, patógenos com longa persistência no ambiente, baixa dose infectante, que incitam baixa resposta imunológica humana têm maior probabilidade de causar infecção, como é o caso do protozoário *Giardia lamblia*, agente etiológico da giardíase.

A *Giardia lamblia* é o parasita intestinal mais identificado nos exames de fezes em todo mundo, estima-se que 10% da população mundial esteja infectada (EFSTRATIOU; ONGERTH; KARANIS, 2017). Nos países em desenvolvimento, segundo o CDC (Centro Americano de Controle de Doenças), 30% da população já teve giardíases (CDC, 2019). Desta forma, não é difícil compreender a alta concentração de cistos, forma infectante do protozoário eliminada nas fezes do hospedeiro, frequentemente encontrada em amostras de esgoto ao redor do mundo (Tabela 2-4).

Tabela 2-4: Concentração de cistos de *Giardia* em amostras de esgoto bruto ao redor do mundo

País	Concentração média (cistos L ⁻¹)	Amostras positivas (%)	Referência
Canadá	9,9x10 ³	100	Guy et al. (2003)
China	3,6x10 ³	100	Fu et al. (2010)
França	4,3x10 ³	100	Bertrand et al. (2004)
Itália	1,3x10 ³	100	De Sanctis et al. (2017)
Japão	3,9x10 ³	100	Oda et al. (2005)
Noruega	1,3x10 ⁴	93	Robertson et al. (2006)
África do Sul	4,5x10 ³	78	Dungeni e Momba (2010)
Espanha	3,2x10 ³	100	Ramo et al. (2017)
EUA	5,6x10 ³	100	Huffman et al. (2006)
Brasil	5,7x10 ⁴	100	Leonel et al. (2016)

Os estudos utilizaram reação de imunofluorescência direta (IFA) para quantificar os cistos presentes nas amostras.

A concentração de cistos de *Giardia* detectada no esgoto é afetada pelo número de contribuintes (*i.e.*, número de humanos e animais infectados na comunidade atendida pela ETE), a intensidade da infecção e a diluição por outros resíduos descarregados na ETE (ROBERTSON et al., 2000).

A alta concentração de cistos de *Giardia* no esgoto resulta na associação de casos de giardíase ao reúso agrícola de efluentes que não receberam o tratamento adequado. Uma pesquisa realizada na Eritreia, revelou que a prevalência de giardíase entre agricultores que realizam irrigação com efluente era de 45% (SRIKANTH; NAIK, 2004). Usando dados hospitalares, os pesquisadores observaram que a prevalência de giardíase era de 7% entre os moradores da comunidade que consumiam apenas vegetais cultivados com águas residuais não tratadas, em comparação, em residentes de cidades semelhantes na Eritreia que não adotam a prática do reúso agrícola, a prevalência era de 1% (SRIKANTH; NAIK, 2004). Em Yamoussoukro, capital política da Costa do Marfim, o risco anual de infecção por *G. Lamblia*, devido à irrigação com esgoto bruto, é estimado em 10^{-2} por pessoa por ano (pppy), superior ao padrão tolerável de risco de 10^{-4} pppy definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (KOUAMÉ et al., 2017). No México, 11% dos trabalhadores e seus familiares, expostos a efluente parcialmente tratado, apresentavam giardíase, enquanto a prevalência da parasitose era de 8% em trabalhadores rurais não expostos à água de reúso não tratada (CIFUENTES et al., 2000).

Como dito anteriormente, cistos de *Giardia* têm sido observados em vegetais irrigados com água de reúso contaminada. Na Espanha, os cistos foram encontrados em alface e repolho, e no Vietnã em espinafre, alface e coentro irrigados com água contaminada (AMORÓS; ALONSO; CUESTA, 2010; NGUYEN et al., 2016). Na cidade de Marrakesh, Marrocos, os cistos foram detectados em diferentes vegetais nas seguintes concentrações: 5 cistos kg^{-1} de batata, 254 cistos kg^{-1} de coentro, 96 cistos kg^{-1} de hortelã, 155 cistos kg^{-1} de cenoura e 59 cistos kg^{-1} de rabanete, quando efluente não tratado foi usado para irrigação (AMAHMID; ASMAMA; BOUHOUM, 1999).

Nos casos descritos acima, os agricultores utilizaram o efluente diluído, não tratado ou parcialmente tratado para irrigação. Estes dados demonstram a necessidade de sistemas de tratamentos de efluentes e adoção de medidas

protetivas que sejam eficazes na diminuição do risco de infecção da população potencialmente exposta à água de reúso.

Muitos estudos, baseados apenas na concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal, indicam que a irrigação com efluente tratado não apresenta um risco maior do que a irrigação com águas de fontes convencionais (ALDERSON; DOS SANTOS; MOTA FILHO, 2015; CHRISTOU et al., 2014; MARTÍNEZ; PÉREZ-PARRA; SUAY, 2011; ORLOFSKY et al., 2016; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; VIVALDI et al., 2013), negligenciando a presença de patógenos resistentes como *Giardia* ou outros protozoários, helmintos e vírus. Um estudo recente desenvolvido na Espanha, considerando as possibilidades de reúso de efluentes e lodo, indicou que entre as cinco ETE avaliadas, o efluente de quatro carregavam pelo menos um dos patógenos estudados (*Cryptosporidium* spp., *G. lamblia*, *Entamoeba* spp. ou ovos de helmintos) e que, portanto, seu reúso poderia representar um risco à saúde (BENITO et al., 2020).

2.6. TRATAMENTO DE EFLUENTE PARA REÚSO AGRÍCOLA SEGURO

A escolha do melhor método para o tratamento da água de reúso não é tarefa fácil, deve haver um equilíbrio entre efetividade na remoção ou inativação de patógenos, custo e produção de água com qualidade adequada para irrigação (BECERRA-CASTRO et al., 2015).

O tratamento de efluentes consiste em um conjunto de estágios, que geralmente envolvem uma combinação de processos físicos, biológicos e químicos. As ETE, em sua grande maioria, são projetadas para diminuir a matéria orgânica, desconsiderando a remoção específica de patógenos. Na Holanda, por exemplo, patógenos só são monitorados, caso o efluente seja despejado em balneários públicos (NORTON-BRANDÃO; SCHERRENBURG; VAN LIER, 2013). No Brasil, a legislação vigente para lançamento de efluente em corpos hídricos não faz referência a parâmetros microbiológicos (BRASIL, 2011).

Embora a remoção de patógenos não seja o principal objetivo das ETE, todas as etapas e processos envolvidos nos sistemas de tratamento diminuem a concentração desses organismos do esgoto. Contudo, um número considerável de patógenos, especialmente os mais resistentes, como os cistos de *Giardia*, podem permanecer no efluente. A Tabela 2-5 tem um compilado da eficiência de ETE na

remoção de cistos *Giardia*. É importante destacar que mesmo a maioria das concentrações observadas sendo baixas, a presença de cistos no efluente é alarmante devido à baixa dose infectante deste protozoário, seres humanos podem ser infectados ingerindo apenas dez cistos (DUNN; JUERGENS, 2020).

A eficiência de uma ETE na remoção de cistos *de Giardia* depende do sistema de tratamento e da concentração de cistos no esgoto, relacionado ao número de pessoas infectadas na comunidade atendida pela ETE e à intensidade das infecções. No estudo desenvolvido por Kistemann et al. (2008), comparando 6 ETE, os resultados refletiram a complexidade dos sistemas de tratamento. As plantas maiores com tratamento terciário apresentaram eficiências de remoção mais significativas ($\geq 3 \log_{10}$), seguidas pelas plantas menores, com tratamento secundário aprimorado e, finalmente, as com tratamento secundário convencional (Tabela 2-5). Geralmente, ETE com tratamento terciário, como filtração ou desinfecção, atingem valores mais altos de remoção de cistos *Giardia*. Por exemplo, um sistema anaeróbico-anóxico-óxico seguido pela ultrafiltração por membrana atingiu mais de 4 log de remoção, e nenhum cisto *de Giardia* foi detectado em seu efluente, uma vez que o tamanho dos poros da membrana utilizada nesta ETE foi de 0,02 μm , enquanto o tamanho do cisto é entre 8-18 μm (FU et al., 2010) (Tabela-2-5). No entanto, um sistema simplificado, associação de lagoa facultativa e *Wetland* construídas, usado para tratar o esgoto de uma pequena aldeia (150 habitantes) na província de León (noroeste da Espanha) também produziu um efluente com menos de 1 cisto L^{-1} , graças à baixa concentração de cistos no esgoto bruto, apenas 280 cisto L^{-1} (REINOSO; TORRES; BÉCARES, 2008) (Tabela 2-5).

Tabela 2-5: Eficiência de ETE na remoção de cistos de *Giardia*

Tratamento	Remoção de cistos (%)	Concentração de cistos no efluente (cistos L ⁻¹)	Referência
Lodos ativados + filtro de areia	99.9	< 1.0	
Lodos ativados + decantador + filtro biológico	99.9	< 1.0	Kistemann et al. (2008)
Lodos ativados + decantador	86.9	2.0	
Lodos ativados + decantador + Filtro de areia + UV	99.9	1.5	Domenech et al. (2018)
Lodos ativados + cloração	97.0	1.5 x 10 ²	Briancesco et al. (2005)
Lodos ativados + ácido peracético	96.5	4.9 x 10 ²	
Lodos ativados + cloração	98.0	91	
Lodos ativados + microfiltração + UV	97.0	49	Ramo et al. (2017)
Sedimentação + Lodos ativados + microfiltração	99.0	97	
Lodos ativados + peneira de filtração + filtro de areia-antracito + filtração em membrana (1µm) + cloração	98.2	18	Hachich et al., (2013)
UASB + MBR + coagulação terciária com cloreto férrico + sedimentação + cloração	99.7	6	
UASB + lagoas estabilizadoras em série	70.0	73.3	Verbyla et al. (2013)
Lagoa facultativa + lagoas de maturação estabilizadoras	85.6	22.8	
Oxidação com O ₂ + sedimentação	94.5	10 ^{2*}	
Lodos ativados + sedimentação + cloração	87.0	2.5 x 10 ^{3*}	Cacciò et al. (2003)
Lodos ativados + sedimentação + filtração + PAA (4 ppm)	98.4	670*	
Digestão anaeróbica + sedimentação + filtro de areia + UV	99.9	1.0	Rodriguez-Manzano et al. (2012)
Sistema anaeróbico-anóxico-óxico + ultrafiltração em membrana	100	Não detectado	Fu et al. (2010)
Lagoa facultativa + <i>Wetland</i> de fluxo superficial + <i>Wetland</i> de fluxo subsuperficial	99.9	< 1.0	Reinoso; Torres; Bécares (2008)
Filtro anaeróbico + Filtro de areia	99.8	92.0	Leonel et al. (2016)

Em todos os estudos o método de detecção de cistos foi a microscopia de fluorescência

UASB: Reator anaeróbico de manta de lodo; MBR: biorreator de membrana

*Calculado de acordo com as informações fornecidas pelos autores

A maioria dos países aproveita o fluxo das ETE convencionais para produção de água de reúso não potável, adicionando uma separação líquido-sólido como pré-tratamento, para evitar entupimento, e uma etapa de desinfecção, como pós-tratamento (DENG et al., 2019). Devido ao custo relativamente baixo e aplicação conveniente, a cloração é o método de desinfecção mais aplicado para o tratamento efluentes e produção de água de reúso.

No entanto, devido à formação de subprodutos, principalmente nas concentrações necessárias para inativar patógenos resistentes, as regulamentações para o reúso agrícola restringiram o uso de cloro, e desinfetantes alternativos, como ácido peracético a radiação UV e, na última década, os processos oxidativos avançados têm sido utilizados (AGULLÓ-BARCELÓ et al., 2013; ANTONELLI et al., 2013; CANTUSIO NETO et al., 2010; CHO et al., 2011; GUADAGNINI et al., 2013; GUIMARÃES et al., 2014; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999; LIBERTI; NOTARNICOLA; LOPEZ, 2000; MARTÍNEZ; PÉREZ-PARRA; SUAY, 2011; MIKLOS et al., 2018; NAKADA et al., 2019; NAKADA; SANTOS; GUIMARÃES, 2020; RIZZO et al., 2019; RYU et al., 2007; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020).

Nos próximos itens serão discutidos os tratamentos de desinfecção citados acima, focando apenas em sua ação sobre os cistos de *Giardia*, e as preocupações sobre seu uso para tratar efluentes para irrigação agrícola.

2.6.1. Cloro

O cloro é o agente desinfetante mais usado para o tratamento de água e efluente em todo o mundo, graças a suas propriedades bactericidas e bacteriostática e ao seu baixo custo (LONIGRO et al., 2016; NORTON-BRANDÃO; SCHERRENBURG; VAN LIER, 2013). Ao longo dos anos, desde que o primeiro sistema de desinfecção foi montado na Bélgica, em 1902, contribuiu significativamente para a redução do número de pessoas acometidas com gastroenterites em todo mundo (USEPA, 2012).

O cloro em contato com a água se dissocia em ácido hipocloroso (HOCl) e ácido clorídrico (HCl), conforme a Equação 1.



O ácido hipocloroso (HClO) também pode dissociar-se formando o íon hipoclorito (ClO⁻) (Equação 2).

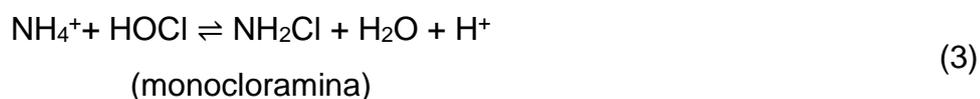


O equilíbrio dessas reações e, portanto, as proporções de HOCl e ClO⁻ em solução são dependentes do pH e da temperatura do meio. Em pH entre 5 e 8, o ácido hipocloroso domina enquanto em pH alto (valores acima de 8) o íon hipoclorito é dominante (USEPA, 2011).

A eficácia do cloro como desinfetante depende da dominância do ácido hipocloroso (HOCl) sobre o íon hipoclorito (ClO⁻), em solução aquosa. O HOCl é muito mais reativo que o íon ClO⁻, conseqüentemente a desinfecção é mais eficaz numa faixa de pH entre neutro e ácido (USEPA, 2011).

Com o valor de pH abaixo de 4, o cloro existe em solução na sua forma molecular Cl₂. A soma das concentrações de cloro molecular, ácido hipocloroso e íon hipoclorito corresponde à concentração de cloro livre. No entanto, na prática, a faixa de pH do efluente tratado não permite a existência de Cl₂, assim o cloro livre corresponde apenas à somatória do HClO e ClO⁻ (USEPA, 2011).

O cloro reage facilmente com a amônia presente no efluente. Em efluentes com pH próximo a neutralidade a reação entre cloro e amônia é praticamente instantânea (Equações 3, 4 e 5), com a formação de cloraminas e a conseqüente diminuição do cloro livre disponível. Apesar das cloraminas (cloro residual combinado) apresentarem potencial desinfetante, seu poder de oxidação é inferior ao cloro nas suas formas livres (USEPA, 2011).



O cloro age principalmente nas membranas celulares, alterando a permeabilidade, promovendo a precipitação de proteínas, hidrólise e finalmente a ruptura da célula (MEDEIROS; DANIEL, 2015). E mesmo que a ruptura não ocorra,

danos irreversíveis aos constituintes vitais da célula podem levar a sua inativação (LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004).

A ação do cloro sobre cistos de *Giardia* foi demonstrada por Li, Smith e Belosovic (2004), de acordo com os autores, o sucesso da inativação química de protozoários que formam cistos, como *G. lamblia*, é a superação da barreira da parede do cisto. Analisando os cistos expostos a diversas doses de cloro livre, a 25 ° C e pH 6, em microscópicos de transmissão eletrônica, os autores observaram que a ação do cloro segue a seguinte progressão: i) danos à parede externa do cisto; ii) desintegração da membrana plasmática; iii) acesso ao citoplasma e ao núcleo, comprometendo as funções vitais dos cistos; um ponto importante da pesquisa é que maiores dosagens provocaram maiores danos aos cistos (LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004).

Alguns estudos demonstraram que o *Ct* (concentração de cloro x tempo de contato) necessário para a inativação de cistos de *Giardia* é maior do que os normalmente utilizados em estações de tratamento de água e efluentes, suficientes para a inativação de bactérias indicadoras de contaminação fecal (ADEYEMO et al., 2019; BRIANCESCO et al., 2005; FERNANDO, 2009; HAAS; HELLER, 1990; HUFFMAN et al., 2006; JARROLL; BINGHAM; MEYER, 1981; KIM; HONG; LEE, 2001; MANOLI et al., 2019).

Cistos viáveis de *Giardia* foram identificados em efluentes de uma ETE (tratamento por lodos ativados e filtração de leito raso) na Flórida, que usa cloração ($1,8 - 5 \text{ mg Cl}_2 \text{ L}^{-1}$) como desinfetante (HUFFMAN et al., 2006). Cacciò et al. (2003) identificaram 10^3 cistos L^{-1} no efluente de uma ETE na Itália, que usa lodos ativados como tratamento secundário e cloração ($0,05 - 1 \text{ mg Cl}_2 \text{ L}^{-1}$) para desinfecção. E mesmo quando uma alta dose de cloro foi aplicada (90 mg min L^{-1}), 10^2 cisto L^{-1} foram recuperados no efluente de outra ETE na Itália que utiliza lodos ativados como tratamento secundário (BRIANCESCO et al., 2005).

Entretanto, o uso de baixas doses de cloro são incentivadas globalmente, devido aos efeitos colaterais dos subprodutos de desinfecção (DBP), que são dose-dependentes. Durante a desinfecção, o cloro reage também com a matéria orgânica presente no efluente, gerando os DBP, muitos com atividades mutagênicas ou carcinogênicas (CREBELLI et al., 2005).

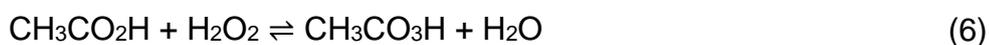
Há uma emergente preocupação com a presença de DBP na água de reúso usada para irrigação agrícola, uma vez que eles podem ser absorvidos pelas

plantas. O acúmulo de clorato, um importante DBP inorgânico, geralmente encontrado em efluentes desinfetados com cloro, foi relatado em alfaces e espinafres irrigados com água de reúso clorada (GARRIDO et al., 2020; LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 2018). O estudo desenvolvido por Lonigro, Montemurro, Laera (2017), mostrou que o acúmulo de compostos organoalogenados no solo, raízes e folhas está diretamente relacionado à concentração de cloro na água de irrigação. Concentrações de cloro livre superiores a 10 mg L⁻¹ prejudicaram o desenvolvimento de pés de alface (LONIGRO; MONTEMURRO; LAERA, 2017). Demonstrando que doses mais altas como a necessária para inativar cistos de *Giardia* podem ser mais danosas ao sistema solo-planta.

Dessa forma, algumas regulamentações para o reúso agrícola de efluentes restringiram o uso de cloro, como a legislação italiana, que, ao limitar o total de trialometanos a 0,03 mg L⁻¹, praticamente excluiu a cloração como alternativa para desinfecção da água de reúso (ANTONELLI et al., 2013). Na Alemanha, a desinfecção de efluentes com cloro foi interrompida na década de 1990 devido ao impacto tóxico dos DBP na flora aquática e na saúde humana (KISTEMANN et al., 2008), deixando claro a necessidade de desinfetantes alternativos viáveis para a inativação de patógenos resistentes.

2.6.2. Ácido peracético

O ácido peracético (CH₃CO₃H) é um forte agente desinfetante. Disponível comercialmente na forma de uma mistura de equilíbrio quaternário contendo ácido acético (CH₃CO₂H), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), ácido peracético (CH₃CO₂H) e água (GEHR et al., 2003; KITIS, 2004), como mostrado na Equação 6.



O ácido peracético combina as características do oxigênio ativo de um peróxido, dentro de uma molécula de ácido acético e pertence à classe de peróxidos orgânicos, que são produtos químicos artificiais (KITIS, 2004). O ácido não dissociado (*i.e.*, CH₃CO₃H) é considerado a forma biocida, a qual é predominante em pH 4,7. Embora o H₂O₂ também contribua de maneira sinérgica e a longo prazo para a desinfecção, uma vez que persiste mais tempo no ambiente (GEHR et al., 2003).

O ácido peracético tem sido usado na indústria de alimentos, bebidas e papel há muitos anos, e começou a ser estudado para a desinfecção de efluentes no final da década de 1980, por um grupo de pesquisadores do Reino Unido (BALDRY; FRENCH, 1989). Os pesquisadores apontaram o ácido peracético como uma boa opção para a desinfecção secundária de efluentes, destacando seu amplo espectro de ação e a ausência de formação de DBP indesejáveis (BALDRY; FRENCH, 1989).

Desde então, diversos autores relataram o bom desempenho do ácido peracético em ETE, na inativação de bactérias indicadoras, bactérias formadoras de esporos e até mesmo vírus (ANTONELLI et al., 2013; GEHR et al., 2003; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999; LUUKKONEN; PEHKONEN, 2017; MANOLI et al., 2019; MCFADDEN et al., 2017; PARK et al., 2014; WAGNER; BRUMELIS; GEHR, 2002). No entanto, cabe ressaltar que como todo agente desinfetante a efetividade do ácido peracético depende do organismo alvo, organismos mais resistentes como vírus e bactérias formadoras de esporos exigem um *Ct* maior para serem inativados, em comparação com bactérias do grupo coliforme (GEHR et al., 2003). Como o objetivo do presente trabalho é a inativação de cistos de *Giardia spp.*, a ação do ácido peracético sobre outros agentes patogênicos não será discutida.

A busca realizada para elaboração desta revisão da literatura revelou apenas dois estudos que avaliaram a eficiência do ácido peracético para inativar cistos de *Giardia* em amostras de efluente (BRIANCESCO et al., 2005; CACCIÒ et al., 2003). Os estudos foram desenvolvidos na Itália, onde o uso do ácido peracético em ETE é bastante comum (ANTONELLI et al., 2013; BONADONNA et al., 2002; BRIANCESCO et al., 2005; CACCIÒ et al., 2003; DE SANCTIS et al., 2017; MANOLI et al., 2019).

Briancesco et al. (2005) reduziram 96% dos cistos viáveis presentes em amostras de esgoto bruto utilizando um sistema de lodos ativados seguido por desinfecção com ácido peracético (90 mg min L^{-1}), eficiência semelhante à obtida no mesmo estudo para a mesma dose de cloro (Tabela 2-5). Dentre os cistos recuperados nas amostras de efluente do sistema, 50% estavam viáveis. A viabilidade foi avaliada através da inspeção de estruturas internas dos cistos por microscopia de contraste de fase.

Cacciò et al. (2003) reportaram 98% de eficiência total de uma ETE na remoção de cistos de *Giardia*, utilizando o sistema de lodos ativados, seguido por filtração (poros de $60 \mu\text{m}$) e desinfecção com ácido peracético (4 mg L^{-1}). Os autores

não deram detalhes a respeito do tempo de contato utilizado na etapa de desinfecção e não avaliaram a viabilidade dos cistos recuperados ao final do tratamento (CACCIÒ et al., 2003).

Como o cloro, o ácido peracético também reage com a matéria orgânica presente no efluente. Quando a concentração de matéria orgânica é baixa, o processo de desinfecção é rápido, e a taxa de decomposição dos microrganismos após 30 minutos é insignificante (ANTONELLI et al., 2013; GEHR et al., 2003). Já quando a concentração de matéria orgânica é alta, a desinfecção pode persistir por mais tempo, desde que a quantidade de desinfetante fornecida no início do processo seja alta o suficiente para suprir a demanda do efluente e ainda gerar um residual (GEHR et al., 2003).

Apesar de ser um desinfetante com a eficácia semelhante ao cloro e ter a grande vantagem de não produzir subprodutos nocivos, o alto custo ainda é um fator limitante para a aplicação do ácido peracético em larga escala, especialmente em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos. O valor do ácido peracético 12% na Europa gira em torno 1100,00–1200,00 €/t, resultando em um custo de desinfecção entre 0,02–0,06 €/m³ de efluente, quase 10 vezes mais que o cloro (LUUKKONEN; PEHKONEN, 2017).

2.6.3. Radiação ultravioleta

A radiação UV é uma alternativa mundialmente aceita aos desinfetantes químicos para a desinfecção de água, seja ela potável ou residuária, estima-se que cerca 7 mil ETE ou ETA (estações de tratamento de água) façam uso dessa tecnologia ao redor do mundo (SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2016). Entre suas principais vantagens estão a ausência de formação de subprodutos tóxicos e a maior eficácia na inativação de patógenos resistentes (ADEYEMO et al., 2019).

Dentro do espectro eletromagnético, os comprimentos de onda que vão de 100 a 400 nm compreendem à luz UV, que pode ser dividida em:

- UV-A (315 a 400 nm);
- UV-B (280 a 315 nm);
- UV-C (200 a 280 nm);
- UV-Vacuum (100 a 200 nm).

A radiação UV-C, principalmente na faixa de 260 nm, é fortemente absorvida pelo DNA das células, o que pode promover uma fusão fotoquímica de

bases pirimídicas adjacentes e a quebra da dupla fita (DSB), interferindo em importantes funções celulares como a replicação e a transcrição do DNA e, conseqüentemente, o crescimento e multiplicação da célula (HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006; LUI et al., 2014). Apesar desses danos serem potencialmente letais, a sensibilidade à radiação UV é altamente espécie-específica (EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015).

A dose-resposta do organismo (calculada em função da intensidade UV e do tempo para inativação dos microrganismos) influencia o desempenho da radiação UV como agente desinfetante (LI et al., 2017b). De acordo com o manual da agência de proteção ambiental americana (sigla em inglês EPA - *Environmental Protection Agency*) para desinfecção de água de abastecimento, a dose necessária para inativar 4 logs de cistos de *Giardia* é de 22 mJ cm⁻² (USEPA, 2006).

Entretanto, em efluentes a dose necessária para a inativação dos cistos pode ser maior, em função da presença de partículas orgânicas e inorgânicas que dispersam e absorvem a luz incidente e também servem como escudo para os patógenos, diminuindo a dose de radiação UV recebida pelos organismos-alvo (ADEYEMO et al., 2019; FARRELL et al., 2018; HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006).

Por exemplo, Cantusio Neto et al. (2006) relataram que a etapa de desinfecção com luz UV (25–30 mJ cm⁻²) não foi suficiente para inativar todos os cistos presentes no efluente de uma ETE (lodos ativados). Os autores reportaram a presença de trofozoítos no lúmen do intestino de um dos três ratos inoculados com cistos expostos ao processo de desinfecção (CANTUSIO NETO; SANTOS; FRANCO, 2006). E o estudo desenvolvido por Li et al. (2009), demonstrou, também através do ensaio da infectividade animal, que mesmo efluentes expostos a doses de radiação UV de 57 mJ cm⁻², apresentavam cistos infectantes.

Um desafio da desinfecção com UV é a possibilidade da fotoreparação, apresentada por alguns organismos. A fotoreparação é um mecanismo desenvolvido pelos microrganismos que permite a reparação dos danos ocasionados pela radiação UV-C no DNA, após longos períodos de exposição à luz. Além da fotoreparação, há também a *dark-repair*, a qual não depende da presença de luz para ocorrer. Estes mecanismos ainda não foram completamente elucidados, mas acredita-se que a reativação ocorra através da reposição enzimática dos nucleotídeos danificados e recombinação com DNA não danificado (LUI et al., 2014).

Quando a reparação ocorre corretamente o DNA é restaurado e o ciclo celular reestabelecido

Lindenauer e Darby (1994) descobriram que a fotorreativação de coliformes totais em águas residuais desinfetadas por UV diminuiu com o aumento da dose utilizada. Assim, onde a água de reúso é armazenada após o tratamento, o guia da EPA para reúso de efluentes recomenda o uso de dose de UV mais altas (100, 80 ou 50 mJ cm⁻² dependendo da tecnologia de filtração) (USEPA, 2012).

Uma pesquisa *in vitro* demonstrou que os cistos de *Giardia* têm capacidade limitada de reparar danos induzidos por radiação UV (EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015). Em eucariotos, o reparo dos danos ao DNA induzido por UV foi associado à replicação ativa do DNA, por meio de proteínas que são compartilhadas entre os processos de replicação e reparo do DNA danificado (NOVARINA et al., 2011). Os cistos correspondem ao estágio dormente do ciclo de vida da *Giardia*, e não possuem uma maquinária de replicação de DNA ativa, dessa forma não são capazes de detectar e reparar efetivamente as lesões no DNA (EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015). Linden et al. (2002) não observaram fotorreativação dos cistos submetidos a 40 mJ cm⁻² de radiação. A comprovação foi feita pela avaliação de infectividade animal. Os autores inocularam cistos irradiados, após períodos de incubação em contato com a luz e no escuro, em roedores (LINDEN et al., 2002).

Dentre as desvantagens do uso da radiação UV está o uso de lâmpadas de mercúrio, que são frágeis e contém mercúrio, um metal extremamente perigoso para o meio ambiente (CHEVREMONT et al., 2012b; CLOSE; IP; LAM, 2006; SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2016). Além do mais, gastam muita energia e apresentam uma duração relativamente curta, por volta de 10 mil horas (SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2016).

Os diodos emissores de luz ultravioleta, conhecidos pela sigla em inglês LED (*light emitting diodes*), estão emergindo como tecnologia alternativa para desinfecção de água e efluentes, se mostrando efetivos na inativação de bactérias e vírus (BECK et al., 2017; CHEVREMONT et al., 2012a, 2012b; CLOSE; IP; LAM, 2006; LI et al., 2017a; NYANGARESI et al., 2018; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2016; SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019a). Alguns estudos tem avaliado, inclusive, o uso de LED para emissão de radiação UV

(UV-LED) para o tratamento de água de reúso para irrigação agrícola (CHEVREMONT et al., 2013a, 2013b; NGUYEN et al., 2019).

Entre as principais vantagens do LED destacam-se o fato de serem menores, mais leves, apresentarem maior durabilidade (100 mil horas) e consumirem menos energia, o que contribui para a diminuição do custo de operação do sistema. Além do mais, também produzem com maior eficiência o comprimento de onda específico, permitindo projetar um sistema de desinfecção em função do patógeno a ser inativado (BECK et al., 2017; CHEVREMONT et al., 2012a; SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2016).

Quanto a eficiência, um estudo que comparou o poder germicida do UV-LED, com a lâmpada UV de mercúrio, demonstrou que ambas apresentam desempenho semelhante, para doses equivalentes, na desinfecção de águas cinzas (CROOK et al., 2015). Li et al. (2017a) também observaram desempenho semelhante entre as lâmpadas de mercúrio e UV-LED na desinfecção de amostras de água.

Alguns estudos têm avaliado a combinação de diferentes comprimentos de onda (λ) na inativação de microrganismos, utilizando UV-LED, mas ainda não há um consenso a respeito do aumento da efetividade quando dois ou mais comprimentos são utilizados (BECK et al., 2017; CHEVREMONT et al., 2012a; LI et al., 2017b; NYANGARESI et al., 2018; OGUMA et al., 2013).

Alguns autores sugerem a combinação entre comprimentos de onda dentro dos espectros UV-A e UV-C, visando um potencial efeito cumulativo (CHEVREMONT et al., 2012a, 2012b; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2019; SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019a). A radiação UV-A apresenta uma baixa absorção pelo DNA, demandando doses 100 vezes maiores que a radiação UV-C para formar dímeros de pirimidina, mas, por sua vez, interage com moléculas fotoreativas formando espécies reativas de oxigênio (ROS) que podem danificar componentes celulares, incluindo membranas, proteínas, ácidos nucleicos e contribuir para atrasos de crescimento e mutações (SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2019).

Por outro lado, algumas pesquisas recentes também demonstraram que não há efeito sinérgico na junção de UV-A e UV-C para inativar microrganismos em amostras de água (LI et al., 2017a; NYANGARESI et al., 2018; OGUMA; KITA; TAKIZAWA, 2016; SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019a). Song, Taghipour,

Mohseni (2019a), inclusive, alertam que o UV-A pode induzir o fotoreparo do DNA danificado, se usado após o UV-C, uma vez que a enzima fotoliase, responsável pelo reparo do DNA, tem absorção máxima entre 370 e 420 nm.

Até o momento da elaboração desta revisão da literatura não foram publicados trabalhos que tenham avaliado a ação do UV-LED em cistos de *Giardia spp.* ou outros protozoários.

Apesar das vantagens, o alto custo e a potência relativamente baixa são barreiras no uso de LED para sistemas de desinfecção por radiação UV (IBRAHIM et al, 2014).

2.6.4. Processos Oxidativos Avançados

Os POA constituem uma família de processos similares, mas não idênticos, baseados predominantemente (mas não exclusivamente) na formação do radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$), um forte agente oxidante não seletivo (COMNINELLIS et al., 2008; DEWIL et al., 2017). Esta revisão abordará apenas a formação de radical hidroxila.

Os POA foram propostos inicialmente, no início dos anos 80, para remover gosto e odor no tratamento de água. Mais tarde começaram a ser usados amplamente no tratamento de vários tipos de efluente por serem capazes de mineralizar poluentes orgânicos recalcitrantes que os tratamentos convencionais de águas residuárias não são capazes de remover (DENG; ZHAO, 2015; VILHUNEN; SILLANPÄÄ, 2010). E, com o passar do tempo, a ação desinfetante dos POA também começou a ser estudada, demonstrando uma boa eficiência mesmo para inativação de patógenos resistentes (AGULLÓ-BARCELÓ et al., 2013; CHO et al., 2011; GUADAGNINI et al., 2013; GUIMARÃES et al., 2014; MALATO et al., 2009; MIKLOS et al., 2018; RIZZO et al., 2019; RYU et al., 2008).

A ação desinfetante dos radicais hidroxila está basicamente relacionada à destruição da membrana celular, através da oxidação de lipídios, e a danos no DNA da célula, através da formação de dímeros de pirimidina e da quebra de uma das fitas da molécula, alterações que podem ser letais e mutagênicas. Além do mais, o $\text{OH}\cdot$ pode oxidar proteínas (MALATO et al., 2009).

A versatilidade dos POA está associada aos diferentes modos de se produzir $\text{OH}\cdot$. Os POA baseados em UV usam a radiação UV (principalmente UV-C)

e a combinação de luz UV com diferentes promotores de radicais, catalizadores (principalmente o dióxido de titânio) ou oxidantes (como o peróxido de hidrogênio e o ozônio) (DENG; ZHAO, 2015; MIKLOS et al., 2018).

A associação entre peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e UV é um POA muito bem estabelecido e conhecido, que combina a atividade fotocatalítica do UV e o forte poder oxidativo dos dois radicais hidroxila gerados pela dissociação fotocatalítica de cada molécula de H₂O₂. (Equação 7) (DENG; ZHAO, 2015).



Vários estudos vêm demonstrando a boa efetividade do H₂O₂/UV na inativação de microrganismos como vírus, bactérias indicadoras, bactérias formadoras de esporos e mesmo na forma de resistência de protozoários (CHO et al., 2011; GUADAGNINI et al., 2013; GUIMARÃES et al., 2014, 2015; MALVESTITI; DANTAS, 2018; SUN; TYREE; HUANG, 2016).

Guimarães et al. (2014) avaliaram a eficiência de H₂O₂ (12 g L⁻¹) associado a radiação UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$; dose 5,480 mJ cm⁻²), na redução de cistos de *Giardia spp.* inoculados artificialmente em amostras de água superficial. Segundo os autores, o H₂O₂/UV possibilitou a redução de 64% dos cistos inoculados. Os autores atribuem a baixa porcentagem de redução à alta concentração de H₂O₂ utilizada. O H₂O₂ em excesso passa a consumir radicais hidroxila, para a formação de radicais hidroperoxila (HO₂•), um agente oxidante menos potente que o OH•, o que diminuiu a eficiência do sistema (HU et al., 2008).

No mesmo trabalho, os autores avaliaram possíveis danos causados à parede do cisto após a exposição ao POA. O critério utilizado para tal foi a diminuição da fluorescência dos cistos, ao serem submetidos a reação de imunofluorescência direta (RID). Dentre os cistos não removidos pelo sistema (36,0%) aproximadamente 99% apresentaram fluorescência fraca (GUIMARÃES et al., 2014). Como a inativação pode ocorrer quando um constituinte vital da célula sofre um dano irreversível, a diminuição da fluorescência ou danos estruturais de sua parede são evidências da inativação dos mesmos, decorrente da ação dos agentes desinfetantes (LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004).

Em outro estudo, o mesmo grupo de pesquisa ao avaliar diferentes doses de radiação UV e de H₂O₂, observaram eficiência semelhante ao serem usadas

baixas e altas doses tanto na redução quanto na danificação dos cistos de *Giardia*. Utilizando uma dose de radiação UV de 44 mJ cm⁻² e 15 mg L⁻¹ de H₂O₂, por 5,5 segundos, 45,6% dos cistos remanescentes apresentavam danos na sua estrutura, enquanto, com uma dose de UV igual a 5.472 mJ cm⁻² e 6.000 mg L⁻¹ de H₂O₂, 46,0% dos cistos foram danificados (GUIMARÃES et al., 2015).

Em função de todas as vantagens apresentadas pelos LED, já discutidas no item 2.6.3, estes vêm sendo estudados como fonte de radiação UV para POA. Um extenso estudo de revisão publicado em 2018 evidenciou os LED como uma boa alternativa às lâmpadas de mercúrio como fonte de radiação UV para mineralização de compostos orgânicos recalcitrantes por POA (MATAFONOVA; BATOEV, 2018).

A eficiência dos LED em POA para desinfecção também foi demonstrada utilizando-se a bactéria *Bacillus subtilis* e a associação entre UV-LED e cloro (LI et al., 2018), no entanto, durante a pesquisa para a elaboração desta revisão da literatura não foram encontrados estudos para desinfecção utilizando UV-LED e H₂O₂, tampouco estudos que avaliassem o uso de POA baseado em UV-LED para a inativação de cistos de *Giardia*.

2.7. DIRETRIZES E REGULAMENTAÇÕES

Não há dúvidas que o efluente é uma importante fonte de água para a agricultura, no entanto a sua aplicação precisa ser regulamentada a fim de prevenir o uso de águas de baixa qualidade que possam trazer riscos para a saúde humana e para o meio ambiente (DICKIN et al., 2016; LICCIARDELLO et al., 2018; PEDRERO et al., 2010).

A nível mundial, as principais diretrizes utilizadas como referência são o *Regulations for Recycled Water*, do Estado norte-americano da Califórnia (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH, 2012), o guia da OMS – *WHO Guideline for the safe use of wastewater, excreta and graywater* (WHO, 2006a) e o guia da EPA – *Guideline for water reuse* (USEPA, 2012).

O guia da OMS, com o intuito de ser aplicado em países em desenvolvimento, que não contam com sistemas altamente tecnológicos e eficazes para o tratamento de efluentes, segue o “risco calculado”, baseado na evidência epidemiológica, reconhecendo que as estratégias de redução de risco devem ser flexíveis e ajustadas ao contexto local (BIXIO et al., 2008; LICCIARDELLO et al.,

2018). O guia também introduziu o conceito de “múltiplas barreiras”, que enfatiza o papel das etapas da cadeia do reúso na diminuição dos riscos aos quais usuários, consumidores e população ao entorno estão expostos, ao invés de concentrar a responsabilidade apenas nos sistemas de tratamento (JARAMILLO; RESTREPO, 2017).

Já a legislação californiana é bastante restritiva e segue uma abordagem “risco zero”, baseado no fato de que microrganismos podem viver por dias, semanas ou meses no solo e nas plantações, a detecção de um único patógeno ou microrganismo indicador em um desses ambientes é suficiente para indicar a chance de um problema de saúde pública decorrente do reúso agrícola (LICCIARDELLO et al., 2018). Em função dessa abordagem, o reúso agrícola de efluentes na Califórnia é considerado uma prática segura, não havendo evidências de surtos de doenças atribuídos a ela (OLIVIERI et al., 2014).

Assim como a Califórnia, outros estados norte-americanos, como a Flórida e o Arizona apresentam legislação própria e bastante restritiva a respeito do uso de águas residuárias na irrigação de culturas. A Flórida, inclusive, recomenda o monitoramento de cistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* (FLORIDA ADMINISTRATIVE CODE, 2009), enquanto a maioria das diretrizes e legislações recomendam apenas o monitoramento de microrganismos indicadores e ovos de helmintos (Tabela 2-6).

Já o guia da EPA assemelha-se mais às diretrizes da OMS, e têm como objetivo atender estados, e até mesmo outras nações, onde a legislação é inexistente, ou está sendo revisada/expandida (USEPA, 2012). O guia ressalta que regulamentações mais restritivas, como as da Califórnia e da Flórida, embora amplamente protetivas, são potencialmente proibitivas e caras em alguns contextos econômicos, sem necessariamente melhorar o reflexo na saúde pública.

A diretiva Europeia “*Regulation on minimum requirements for water reuse*” foi proposta recentemente pelo Parlamento Europeu (EUROPEAN COMMISSION, 2018). O instrumento recomenda requisitos mínimos de qualidade para garantir o reúso seguro do efluente para a irrigação agrícola. Alguns países europeus têm suas próprias legislações, que, ocasionalmente, são mais restritivas. A regulamentação italiana (Decreto Ministeriale 185/2003), por exemplo, segue a abordagem de “risco zero”, com um rigoroso protocolo que estabelece 54 parâmetros a serem monitorados e, estabelece limites severos, o que apesar de seguro, pode afetar

negativamente a expansão do reúso de efluentes (LICCIARDELLO et al., 2018). Por outro lado, a legislação francesa estabelece apenas 6 parâmetros, mas inclui requisitos adicionais, como método de irrigação, volume de aplicação, distância mínima para proteção de fontes de água potável, monitoramento das propriedades do solo e origem do efluente (Journal Officiel de la République Française, 2010).

No Brasil, no âmbito federal, a legislação aplicada à prática do reúso agrícola ainda é incipiente e sem orientações técnicas claras, provavelmente, em virtude da falta de tradição quanto à aplicação dessa prática, devido ao senso comum referente à abundância de água no país. A Resolução nº 121/ 2010 tem como objetivo estabelecer diretrizes e critérios para a prática de reúso direto não potável de água na modalidade agrícola e florestal, e afirma que a aplicação de água de reúso para fins agrícolas não podem apresentar riscos ou causar danos ambientais e à saúde pública, e que o produtor da água de reúso é responsável pelas informações constantes de sua caracterização e monitoramento. Entretanto, não deixa claro os parâmetros que devem ser monitorados (BRASIL, 2010).

Alguns Estados apresentam legislação própria que regulamentam a prática do reúso agrícola de efluente. Por exemplo, o Ceará conta com a Lei Estadual nº 16.033/2016, que entre as principais determinações estabelece que a atividade de reúso exige obtenção de outorga e licenciamento ambiental (CEARÁ, 2016). Já os padrões de qualidade são fixados pela Resolução do Conselho Estadual do Meio Ambiente (COEMA) nº 2/2017 e estabelece critérios para salinidade e microrganismos (Tabela 2-6) (CEARÁ, 2017).

O Estado de Minas Gerais também apresenta legislação própria, a Deliberação Normativa do Conselho Estadual de Recurso Hídrico (CERH-MG) nº 65/2020 estabelece, entre outras coisas, que o uso de efluentes provenientes de ETE é permitido em atividades como fertirrigação de culturas não ingeridas cruas, incluindo culturas alimentícias e não alimentícias, forrageiras, pastagens e árvores (MINAS GERAIS, 2020). A normativa estabelece que condutividade elétrica, pH, *E. coli* e ovos de helmintos sejam monitorados pelo produtor da água de reúso, e determina que a quantidade total de sódio recebida pelo solo não ultrapasse 300 kg ha⁻¹ (Tabela 2-6). Não há exigência de licenciamento, mas o produtor deve fazer um cadastro, e mantê-lo atualizado, junto ao órgão gestor competente fornecendo informações a respeito da quantidade e da qualidade da água produzida (MINAS GERAIS, 2020)

No Rio Grande do Sul, a Resolução do CONSEMA nº 419/2020 estabelece padrões de qualidade (Tabela 2-6) e frequência de monitoramento, além de determinar a obrigatoriedade de licenciamento ambiental junto ao órgão ambiental competente (RIO GRANDE DO SUL, 2020). A legislação também proíbe a utilização de água de reúso em raio mínimo de 70 metros de poços e outras captações de água subterrâneas utilizadas para abastecimento de água para consumo humano e que águas oriundas de processos industriais que apresentem substâncias definidas como poluentes orgânicos persistentes sejam usadas para fim agrícola (RIO GRANDE DO SUL, 2020).

A Tabela 2-6 traz um resumo dos principais parâmetros considerados em diferentes guias e diretrizes adotados ao redor do mundo para o reúso agrícola de efluentes. É impossível monitorar rotineiramente todos os compostos químicos e organismos patogênicos preocupantes presentes na água de reúso, assim, existem alguns parâmetros comumente utilizados para controlar a qualidade, como turbidez, pH, condutividade elétrica, matéria orgânica e nutrientes. Alguns países como EUA, Israel, Itália e China, exigem ou recomendam a determinação de agentes potencialmente tóxicos, como metais e contaminantes orgânicos (Tabela 2-6).

Como os métodos utilizados para detectar vírus e protozoários são complexos, caros, e os laboratórios típicos de uma ETE não têm estrutura para realizá-los rotineiramente (USEPA, 2012), a caracterização microbiológica das águas de reúso é baseada principalmente na enumeração de bactérias indicadoras de contaminação fecal (Tabela 2-6). Apesar do monitoramento de vírus e ovos de helmintos ser mais comum, entre todas as regulamentações e diretrizes consultadas para preparar esta revisão, apenas o estado da Flórida nos EUA exige o monitoramento de (oo)cistos de *Giardia* e *Cryptosporidium* (Tabela 2-6). A Austrália e a França usam bactérias formadoras de esporos, como *Clostridium perfringens*, e outras bactérias redutoras de sulfato para indicar contaminação por protozoários. A alta resistência aos processos de desinfecção e às condições ambientais adversas, aliada a uma metodologia de detecção mais simples, justificam o uso das bactérias formadoras de esporos como indicadores da presença de protozoários em efluentes e águas tratadas (ALCADE SANZ; GAWLIK, 2017).

O monitoramento de microrganismos de referência que representem diferentes grupos de patógenos, considerando variações de características, comportamentos e suscetibilidades de cada um é importante para garantir a prática

segura do reúso de efluentes (ALCADE SANZ; GAWLIK, 2017). A concentração de cisto de *Giardia* em efluentes tratados de diferentes ETE (Tabela 2-5), aliada aos dados de prevalência de giardiase em locais que usam efluentes para irrigação (Item 2.5) reforçam a necessidade de se estabelecer limites legais sobre a presença de protozoários na água de reúso.

Além da proteção da saúde humana, as diretrizes visam prevenir possíveis efeitos sobre a produtividade e fertilidade do solo, devido à perturbação das propriedades físico-químicas (USEPA, 2012; WHO, 2006a). O equilíbrio adequado dos serviços ecossistêmicos é crucial para a manutenção da saúde do solo e pode não ser adequadamente coberto pelas diretrizes disponíveis. Outra omissão relevante refere-se aos riscos de introdução de contaminantes biológicos, como genes de resistência a antibióticos (BECERRA-CASTRO et al., 2015; TORSVIK; ØVREÅS, 2002).

Tabela 2-6: Padrões de qualidade para o reúso de efluente para irrigação agrícola de acordo com os principais guias e legislações disponíveis

Guia/ Legislação	Categoria de reúso	Limites							
		pH	ST mg/L ⁻¹	CE dS/m	NT mg/L	UNT	Matéria Orgânica	Cl ₂ mg/L	Microrganismos / Patógenos
WHO ¹	IR	6,5 -8,0	< 50,0	< 0,7	< 5,0	-	-	< 1,0	10 ³ UFC <i>E. coli</i> /100mL < 1 ovo de helminto/L
	R	6,5 -8,0	> 100,0	> 3,0	> 30,0	-	-	> 5,0	≤ 1 ovo de helminto/L
EPA ²	IR	6,0-9,0	-	-	-	≤ 2	≤ 10,0 mg/L DBO	1,0	coliformes fecais não detectáveis /100 mL
	R	6,0 -9,0	≤ 30,0	-	-	-	≤ 30,0 mg/L DBO	1,0	2 x10 ² coliformes fecais /100 mL
Califórnia ³	IR	-	-	-	-	≤ 10	-	-	≤ 2,2 UFC coliformes totais/100mL Redução de 5 log de bacteriófagos MS2
	R1	-	-	-	-	-	-	-	≤ 2,2 UFC coliformes totais / 100 mL
	R2	-	-	-	-	-	-	-	≤ 23 UFC coliformes totais / 100 mL
Flórida ²	IR	-	≤ 5,0	-	-	≤ 2	≤ 60,0 mg/L DBO	-	≤ 240 UFC coliformes totais/ 100 mL <i>Giardia, Cryptosporidium</i> : amostragem a cada 2 anos para ETE ≥ 1 mgd; e a cada 5 anos para ETE ≤ 1 mgd
	R1 e R2	-	≤ 60,0	-	-	-	≤ 60,0 mg/L DBO	-	≤ 800 UFC coliformes totais / 100 mL

IR: Irrigação irrestrita; R: Irrigação restrita - cultura não especificada; R1: Irrigação restrita - vegetais para cozinhar, forragem para produção de carne e leite; R2: Irrigação restrita - vegetais para processo industrial, cereais; NE: Não especificado; ST: sólidos totais; CE: Condutividade elétrica em deciSiemens por metro; NT: nitrogênio total; UNT: Unidade nefelometria de turbidez; DBO: Demanda bioquímica de oxigênio; DQO: Demanda química de oxigênio; Cl₂: Cloro livre; UFC: unidades formadoras de colônia; UFP: Unidades formadoras de placas; mgd: milhões de galões por dia.

¹WHO (2006b); ²USEPA (2012); ³California Department of Public Health (2014); ⁴European Commission (2018); ⁵Norma Portuguesa NP 4434 (Instituto Português de Qualidade, 2005); ⁶Real Decreto 1620/2007 (Gobierno de España, 2007); ⁷Journal Officiel de la République Française (2010); ⁸Common Ministerial Decision no 145116 (354B)/08.03.11(retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015), ⁹Decreto 185/2003 Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ¹⁰NRMMC; EPHC; NHMRC (2006); ¹¹Shoushtarian and Negahban-Azar (2020); ¹²Yi et al. (2011); ¹³NOM-001-ECOL (1996); ¹⁴Ceará (2017); ¹⁵Minas Gerais (2020); ¹⁶Rio Grande do Sul (2020)

Tabela 2-6: Padrões de qualidade para o reúso de efluente para irrigação agrícola de acordo com os principais guias e legislações disponíveis (continuação)

Guia/ Legislação	Categoria de reúso	Limites							
		pH	ST mg/L ⁻¹	CE dS/m	NT mg/L	UNT	Matéria Orgânica	Cl ₂ mg/L	Microrganismos / Patógenos
União Europeia ⁴	IR	-	≤ 10,0	-	-	≤ 5	≤ 10,0 mg/L DBO	-	≤ 10 UFC <i>E. coli</i> /100 mL ≤ 10 ³ UFC <i>Legionella</i> /L ≤ 1 ovo de helminto/L
	R1	-	35,0	-	-	-	25,0 mg/L DBO	-	≤ 10 ² UFC <i>E. coli</i> /100 ml ≤ 10 ³ UFC <i>Legionella</i> /L ≤ 1 ovo de helminto/L
	R2	-	35,0	-	-	-	25,0 mg/L DBO	-	≤ 10 ³ UFC <i>E. coli</i> /100 ml ≤ 10 ³ UFC <i>Legionella</i> /L ≤ 1 ovo de helminto/L
Portugal ⁵	IR	-	-	-	-	-	-	-	10 ² UFC coliformes fecais/100 mL 1 ovo de helminto
	R1	-	-	-	-	-	-	-	10 ³ UFC coliformes fecais 100 mL ≤ 1 ovo de helminto/L
	R2	-	-	-	-	-	-	-	10 ⁴ UFC FC100/mL ≤ 1 ovo de helminto/L
Espanha ⁶	IR	-	20,0	-	-	10	-	-	10 ² UFC <i>E. Coli</i> /100 mL ≤ 1 ovo de helminto/10L
	R1	-	35,0	-	-	-	-	-	10 ³ UFC <i>E. Coli</i> /100 mL ≤ 1 ovo de helminto/10L
	R2	-	35,0	-	-	-	-	-	10 ⁴ UFC <i>E. Coli</i> /100 mL ≤ 1 ovo de helminto/10L

IR: Irrigação irrestrita; R: Irrigação restrita - cultura não especificada; R1: Irrigação restrita - vegetais para cozinhar, forragem para produção de carne e leite; R2: Irrigação restrita - vegetais para processo industrial, cereais; NE: Não especificado; ST: sólidos totais; CE: Condutividade elétrica em deciSiemens por metro; NT: nitrogênio total; UNT: Unidade nefelometria de turbidez; DBO: Demanda bioquímica de oxigênio; DQO: Demanda química de oxigênio; Cl₂: Cloro livre; UFC: unidades formadoras de colônia; UFP: Unidades formadoras de placas; mgd: milhões de galões por dia.

¹WHO (2006b); ²USEPA (2012); ³California Department of Public Health (2014); ⁴European Commission (2018); ⁵Norma Portuguesa NP 4434 (Instituto Português de Qualidade, 2005); ⁶Real Decreto 1620/2007 (Gobierno de España, 2007); ⁷Journal Officiel de la République Française (2010); ⁸Common Ministerial Decision no 145116 (354B)/08.03.11 (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ⁹Decreto 185/2003 Ministerio dell'ambiente e della tutela del territorio (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ¹⁰NRMMC; EPHC; NHMRC (2006); ¹¹Shoushtarian and Negahban-Azar (2020); ¹²Yi et al. (2011); ¹³NOM-001-ECOL (1996); ¹⁴Ceará (2017); ¹⁵Minas Gerais (2020); ¹⁶Rio Grande do Sul (2020)

Tabela 2-6: Padrões de qualidade para o reúso de efluente para irrigação agrícola de acordo com os principais guias e legislações disponíveis (continuação)

Guia/ Legislação	Categoria de reúso	Limites							
		pH	ST mg/L ⁻¹	CE dS/m	NT mg/L	UNT	Matéria Orgânica	Cl ₂ mg/L	Microrganismos / Patógenos
França ⁷	IR	-	15,0	-	-	-	<60,0 mg/L DQO	-	250 UFC <i>E. Coli</i> /100 mL Redução ≥ 4 log para <i>Enterococci</i> , Bacteriófagos RNA F-, Bactérias sulforedutoras formadoras de esporo
	R1	-	-	-	-	-	De acordo com os padrões para tratamento de efluentes	-	10 ⁴ UFC <i>E. Coli</i> /100 mL Redução ≥ 3 log para <i>Enterococci</i> , Bacteriófagos RNA F-, Bactérias sulforedutoras formadoras de esporo
	R2	-	-	-	-	-		-	10 ⁵ UFC <i>E. Coli</i> /100 mL Redução ≥ 2 log para <i>Enterococci</i> , Bacteriófagos RNA F-, Bactérias sulforedutoras formadoras de esporo
Grécia ⁸	IR	-	-	≤ 10,0	≤ 45,0	≤ 2	≤ 10,0 mg/L DBO	≥ 2,0	≤ 5 UFC <i>E. Coli</i> /100 mL
	R	-	-	35,0	≤ 45,0	-	25,0 mg/L DBO	-	≤ 200 UFC <i>E. Coli</i> /100 mL
Itália ⁹	NE	6,0-9,5	10,0	3,0	35,0	-	100,0 mg/L DQO	0,2	10 UFC <i>E. coli</i> /100 mL <i>Salmonella</i> não detectável/100 mL

IR: Irrigação irrestrita; R: Irrigação restrita - cultura não especificada; R1: Irrigação restrita - vegetais para cozinhar, forragem para produção de carne e leite; R2: Irrigação restrita - vegetais para processo industrial, cereais; NE: Não especificado; ST: sólidos totais; CE: Condutividade elétrica em deciSiemens por metro; NT: nitrogênio total; UNT: Unidade nefelometria de turbidez; DBO: Demanda bioquímica de oxigênio; DQO: Demanda química de oxigênio; Cl₂: Cloro livre; UFC: unidades formadoras de colônia; UFP: Unidades formadoras de placas; mgd: milhões de galões por dia.

¹WHO (2006b); ²USEPA (2012); ³California Department of Public Health (2014); ⁴European Commission (2018); ⁵Norma Portuguesa NP 4434 (Instituto Português de Qualidade, 2005); ⁶Real Decreto 1620/2007 (Gobierno de España, 2007); ⁷Journal Officiel de la République Française (2010); ⁸Common Ministerial Decision no 145116 (354B)/08.03.11 (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ⁹Decreto 185/2003 Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ¹⁰NRMMC; EPHC; NHMRC (2006); ¹¹Shoushtarian and Negahban-Azar (2020); ¹²Yi et al. (2011); ¹³NOM-001-ECOL (1996); ¹⁴Ceará (2017); ¹⁵Minas Gerais (2020); ¹⁶Rio Grande do Sul (2020)

Tabela 2-6 Padrões de qualidade para o reúso de efluente para irrigação agrícola de acordo com os principais guias e legislações disponíveis (continuação)

Guia/ Legislação	Categoria de reúso	Limites							
		pH	ST mg/L ⁻¹	CE dS/m	NT mg/L	UNT	Matéria Orgânica	Cl ₂ mg/L	Microrganismos / Patógenos
Austrália ¹⁰	IR	-	< 30,0	-	-	-	< 20,0 mg/L DBO	-	<1 UFC <i>E. coli</i> /100 mL <1 UFP colifagos somáticos/100 mL <1 UFC <i>C. perfringens</i> /L
	R1	-	< 30,0	-	-	-	< 20,0 mg/L DBO	-	10 ² UFC <i>E. coli</i> /100 mL
	R2	-	< 30,0	-	-	-	< 20 mg/L DBO	-	10 ³ UFC <i>E. coli</i> / 100 mL
Jordania ¹	IR	6,0 -9,0	50,0	2,34	45	10	100,0 mg/L DBO	-	10 ² UFC <i>E. coli</i> / 100 mL <1 ovo de helminto/L
	R	6,0-9,0	150,0	2,34	70	-	500,0 mg/L DBO	-	10 ³ UFC <i>E. coli</i> / 100 mL <1 ovo de helminto/L
Israel ¹¹	NE	-	10,0	-	-	5	20,0 mg/L DQO	1,0	10 UFC coliformes fecais/100 mL
China ¹²	IR	5,5-8,5	60,0	-	-	-	40,0 mg/L DBO	1,5	2x10 ⁴ UFC coliformes totais /100 mL
	R	5,5-8,5	80,0 - 100,0	-	-	-	60,0 - 100,0 mg/L DBO	1,5	4x10 ⁴ UFC coliformes totais/100 mL

IR: Irrigação irrestrita; R: Irrigação restrita - cultura não especificada; R1: Irrigação restrita - vegetais para cozinhar, forragem para produção de carne e leite; R2: Irrigação restrita - vegetais para processo industrial, cereais; NE: Não especificado; ST: sólidos totais; CE: Condutividade elétrica em deciSiemens por metro; NT: nitrogênio total; UNT: Unidade nefelometria de turbidez; DBO: Demanda bioquímica de oxigênio; DQO: Demanda química de oxigênio; Cl₂: Cloro livre; UFC: unidades formadoras de colônia; UFP: Unidades formadoras de placas; mgd: milhões de galões por dia.

¹WHO (2006b); ²USEPA (2012); ³California Department of Public Health (2014); ⁴European Commission (2018); ⁵Norma Portuguesa NP 4434 (Instituto Português de Qualidade, 2005); ⁶Real Decreto 1620/2007 (Gobierno de España, 2007); ⁷Journal Officiel de la République Française (2010); ⁸Common Ministerial Decision no 145116 (354B)/08.03.11 (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ⁹Decreto 185/2003 Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ¹⁰NRMMC; EPHC; NHMRC (2006); ¹¹Shoushtarian and Negahban-Azar (2020); ¹²Yi et al. (2011); ¹³NOM-001-ECOL (1996); ¹⁴Ceará (2017); ¹⁵Minas Gerais (2020); ¹⁶Rio Grande do Sul (2020)

Tabela 2-6 Padrões de qualidade para o reúso de efluente para irrigação agrícola de acordo com os principais guias e legislações disponíveis (continuação)

Guia/ Legislação	Categoria de reúso	Limites							
		pH	ST mg/L ⁻¹	CE dS/m	NT mg/L	UNT	Matéria Orgânica mg/L	Cl ₂ mg/L	Microrganismos / Patógenos
México ¹³	IR	-	20,0	-	-	-	20,0 mg/L DBO	-	240 UFC coliformes totais /100 mL
	R	-	30,0	-	-	-	30,0 mg/L DBO	-	10 ³ UFC coliformes totais /100 mL
Ceará ¹⁴	IR	6,0-8,5	-	3,0	-	-	-	-	<i>E. coli</i> e ovos de helmintos: Não detectável
	R	6,0-8,5	-	3,0	-	-	-	-	10 ³ UFC <i>E. coli</i> /100 mL 1 ovo de helminto/L
Minas Gerais ¹⁵	IR	6,0-9,0	-	0,5 (solo argiloso)	-	-	-	-	10 ⁴ UFC <i>E. coli</i> /100 mL ≤1 ovo de helminto/L
	R	6,0-9,0	-	0,5 (solo argiloso)	-	-	-	-	10 ⁶ UFC <i>E. coli</i> /100 mL ≤1 ovo de helminto/L
Rio Grande do Sul ¹⁶	NE	6,0-9,0	-	-	-	-	-	-	10 ⁴ UFC coliformes fecais/100 mL 1 ovo de helminto/L

IR: Irrigação irrestrita; R: Irrigação restrita - cultura não especificada; R1: Irrigação restrita - vegetais para cozinhar, forragem para produção de carne e leite; R2: Irrigação restrita - vegetais para processo industrial, cereais; NE: Não especificado; ST: sólidos totais; CE: Condutividade elétrica em deciSiemens por metro; NT: nitrogênio total; UNT: Unidade nefelometria de turbidez; DBO: Demanda bioquímica de oxigênio; DQO: Demanda química de oxigênio; Cl₂: Cloro livre; UFC: unidades formadoras de colônia; UFP: Unidades formadoras de placas; mgd: milhões de galões por dia.

¹WHO (2006b); ²USEPA (2012); ³California Department of Public Health (2014); ⁴European Commission (2018); ⁵Norma Portuguesa NP 4434 (Instituto Português de Qualidade, 2005); ⁶Real Decreto 1620/2007 (Gobierno de España, 2007); ⁷Journal Officiel de la République Française (2010); ⁸Common Ministerial Decision no 145116 (354B)/08.03.11(retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015), ⁹Decreto 185/2003 Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio (retirado de PARANYCHIANAKIS et al., 2015); ¹⁰NRMMC; EPHC; NHMRC (2006); ¹¹Shoushtarian and Negahban-Azar (2020); ¹²Yi et al. (2011); ¹³NOM-001-ECOL (1996); ¹⁴ Ceará (2017); ¹⁵ Minas Gerais (2020); ¹⁶Rio Grande do Sul (2020)

2.8. CONCLUSÃO

O reúso de efluentes para a irrigação agrícola é fundamental para atender à crescente demanda por água, atingir as metas de desenvolvimento sustentável e apoiar a economia circular. E, o manejo adequado é essencial para não transformar o reúso agrícola em problema ao invés de solução.

O correto manejo das práticas de reúso agrícola inclui o conhecimento das características do esgoto bruto que será transformado em água de reúso, para a escolha dos sistemas adequados de tratamento, armazenamento e distribuição; a escolha de cultura e tipo de irrigação compatíveis com as características da água de reúso; análise do solo; conhecimento das características das pessoas envolvidas e, sobretudo, uma regulamentação adequada.

Para a implementação sustentável e segura do reúso agrícola de efluentes é prioritário que as regulamentações e diretrizes considerem os aspectos ambientais e da saúde humana para o estabelecimento dos padrões de qualidade. Fica clara a necessidade de usar como indicadores microrganismos de referência que representem diferentes grupos de patógenos.

Nesta revisão, abordamos apenas o risco das doenças gastrointestinais, especialmente a giardíase e, brevemente, os DBP, mas muitos outros contaminantes biológicos e químicos, como fitopatógenos, bactérias resistentes a antibióticos, xenobióticos e fármacos podem ser transportados pelo efluente, ameaçando a saúde pública e o sistema solo-planta, que também devem ser considerados no planejamento de reúso agrícola.

CAPÍTULO 3: AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE CLORO, ÁCIDO PERACÉTICO, RADIAÇÃO UV-LED E PROCESSO OXIDATIVO AVANÇADO SOBRE CISTOS DE GIARDIA LAMBLIA

RESUMO

Patógenos resistentes, como a *Giardia* são frequentemente identificados em efluentes de estações de tratamento de esgoto, mesmo após o processo de desinfecção, ameaçando à prática segura do reúso agrícola de efluentes. A alta resistência dos cistos de *Giardia* é conferida por sua parede, um rígido componente extracelular formado por moléculas de carboidratos e proteínas e composto por duas camadas. A questão central para a inativação química bem-sucedida de protozoários formadores de cistos, como *Giardia*, é a superação da barreira da parede do cisto, as doses dos oxidantes devem ser suficientes para induzir o rompimento da parede, e atingir as organelas citoplasmáticas e seu material genético, levando a sua inativação. Dessa forma, o presente trabalho, teve como objetivo avaliar a ação de quatro agentes desinfetantes cloro, ácido peracético, radiação ultravioleta (UV) e do processo oxidativo avançado (POA) que consiste na associação de radiação ultravioleta e peróxido de hidrogênio (UV/H₂O₂) sobre os cistos de *Giardia lamblia*, inoculados artificialmente em amostras de efluente doméstico tratado. Os 4 desinfetantes avaliados apresentaram ação eficaz contra os cistos de *Giardia*, demonstrada pela formação de danos morfológicos na parede dos cistos, sendo que o melhor desempenho foi alcançado pelo POA, ao serem utilizados 15 mg L⁻¹ de H₂O₂ associado a 103 mJ cm⁻² de radiação UV, emitida por diodos emissores de luz (LED), nos comprimentos de onda de 255/280/400 nm). Compreender como diferentes agentes desinfetantes agem sobre organismos patogênicos em matrizes complexas como o efluente doméstico, é fundamental para o processo de escolha do tratamento a ser empregado para a produção de água de reúso.

Palavras-chave: *Giardia*; desinfecção; POA; cloro; Radiação UV-LED; parede dos cistos

3.1. INTRODUÇÃO

A *Giardia lamblia* (sinonímia *Giardia duodenalis* e *Giardia intestinalis*), agente etiológico da giardíase, é um dos parasitas gastrointestinal mais prevalentes no mundo (CAPEWELL et al., 2021). De acordo com o Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC), em países desenvolvidos cerca de 2% dos adultos e, entre 6 e 8% das crianças estão infectados com *Giardia lamblia*, enquanto um terço da população de países em desenvolvimento tem giardíase (CDC, 2019).

Os cistos, a forma infectante do protozoário, são eliminados nas fezes dos hospedeiros, sendo frequentemente detectados em grande número em amostras de esgoto ao redor do mundo, chegando a concentrações iguais a 10^6 cistos L^{-1} (CACCIÒ et al., 2003; HACHICH et al., 2013; LEONEL et al., 2016; NASSER et al., 2012; REINOSO et al., 2011). Resultando na associação de casos de giardíase ao reúso agrícola de efluentes não tratados ou parcialmente tratados (AMAHMID; ASMAMA; BOUHOUM, 1999; AMORÓS; ALONSO; CUESTA, 2010; CIFUENTES et al., 2000; KOUAMÉ et al., 2017; NGUYEN et al., 2016; SRIKANTH; NAIK, 2004).

Como medida protetiva, guias e legislações exigem um certo grau de qualidade ao efluente destinado a irrigação agrícola, recomendando a implementação de uma etapa de desinfecção ao final do processo de tratamento do efluente que será usado para irrigação (California Department of Public Health, 2012; EUROPEAN COMMISSION, 2018; USEPA, 2012; WHO, 2006a).

Apesar de alguns estudos, baseados apenas na concentração de bactérias indicadoras de contaminação fecal, indicarem que a irrigação com efluente tratado não apresenta um risco maior do que a irrigação com águas de fontes convencionais (ALDERSON; DOS SANTOS; MOTA FILHO, 2015; CHRISTOU et al., 2014; MARTÍNEZ et al., 2013; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; VIVALDI et al., 2013), patógenos resistentes, como a *Giardia* e outros protozoários, helmintos e vírus, são frequentemente identificados em efluentes de ETE, mesmo após o processo de desinfecção (ALONSO; AMORÓS; GUY, 2014; BENITO et al., 2020; BONADONNA et al., 2002; BRIANCESCO et al., 2005; BRIANCESCO; BONADONNA, 2005; CACCIÒ et al., 2003; CANTUSIO NETO; SANTOS; FRANCO, 2006; GARCIA et al., 2002; KISTEMANN et al., 2008; LEONEL et al., 2016; LI et al., 2009; MA et al., 2016; NASSER et al., 2012).

A alta resistência dos cistos de *Giardia* é conferida por sua parede, um rígido componente extracelular, formado por moléculas de carboidratos e proteínas, composto por duas camadas, uma interna membranosa e uma camada externa filamentosa (ADAM, 2001; JARROLL; BINGHAM; MEYER, 1981; LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004). A parede dos cistos permite que eles permaneçam ativos por meses em ambientes aquáticos, mesmo sob condições ambientais adversas, e garante uma certa proteção contra agentes desinfetantes (JARROLL; BINGHAM; MEYER, 1981; LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004; SPANAKOS et al., 2015; WIDMER et al., 2002).

Devido ao custo relativamente baixo e aplicação conveniente, a cloração é o método de desinfecção mais aplicado para o tratamento de efluentes e produção de água de reúso no mundo todo, entretanto, nas concentrações utilizadas, sua eficiência na inativação de cistos de *Giardia* é baixa (CACCIÒ et al., 2003; FERNANDO, 2009; HUFFMAN et al., 2006; SPANAKOS et al., 2015). A questão central para a inativação química bem-sucedida de protozoários formadores de cistos, como *Giardia*, é a superação da barreira da parede do cisto (LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004; WIDMER et al., 2002). Doses e tempos de contato devem ser aplicados para induzir dano suficiente para o rompimento da parede. Uma vez rompida a parede, o desinfetante tem acesso ao interior do cisto podendo atingir as organelas citoplasmáticas e o material genético do cisto, culminando em sua destruição (LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004).

A ação do cloro sobre a parede de cistos de *Giardia* foi reportada por Li, Smith, Belosevic (2004). De acordo com os autores, altas doses de cloro (superiores a 5 mg L⁻¹ por 120 min) apresentam maior eficiência na destruição da parede e danificação do citoplasma dos cistos. O experimento foi conduzido com os cistos inoculados em uma solução tampão, livre de demanda de cloro. Em efluentes, a concentração de cloro a ser empregada de modo eficaz tende a ser muito maior, podendo ultrapassar 20 mg L⁻¹, a depender da demanda de cloro do efluente (USEPA, 2011).

No entanto, o uso de altas doses de cloro tem sido desencorajado, principalmente quando a destinação final do efluente é o reúso agrícola, devido a formação de subprodutos de desinfecção (DBP), muitos com atividade mutagênica e carcinogênica, que são dose-dependentes (ANTONELLI et al., 2013; CREBELLI et al., 2005; LONIGRO; MONTEMURRO; LAERA, 2017). E desinfetantes como ácido

peracético, radiação UV e, na última década, os processos oxidativos avançados têm sido utilizados como alternativa à cloração (AGULLÓ-BARCELÓ et al., 2013; ANTONELLI et al., 2013; CANTUSIO NETO et al., 2010; CHO et al., 2011; GUADAGNINI et al., 2013; GUIMARÃES et al., 2014; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999; LIBERTI; NOTARNICOLA; LOPEZ, 2000; MARTÍNEZ; PÉREZ-PARRA; SUAY, 2011; MIKLOS et al., 2018; NAKADA et al., 2019; NAKADA; SANTOS; GUIMARÃES, 2020; RIZZO et al., 2019; RYU et al., 2007; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020).

Embora a ação do ácido peracético sobre bactérias seja bem conhecida (ANTONELLI et al., 2006; BALDRY; FRENCH, 1989; CAMPO et al., 2020; KITIS, 2004; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999; LUBELLO; CARETTI; GORI, 2002), pouco se sabe a respeito da sua ação sobre os cistos de *Giardia*. Alguns estudos sugerem que sua eficácia é semelhante ao cloro, quando as mesmas concentrações são usadas (BRIANCESCO et al., 2005; CACCIÒ et al., 2003). No entanto, não há estudos que tenham avaliado a ação desse desinfetante sobre a parede dos cistos de *Giardia*.

Quanto a radiação UV, sua efetividade na inativação dos cistos tem sido reportada com frequência (CANTUSIO NETO; SANTOS; FRANCO, 2006; EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015; LI et al., 2009, 2017b; NASSER et al., 2006). A radiação UV emitida pelas lâmpadas de mercúrio de média pressão, convencionalmente usadas em ETE, é fortemente absorvida pelo DNA das células, interferindo em importantes funções celulares como a replicação e a transcrição, resultando na inativação dos microrganismos (HIJNEN; BEERENDONK; MEDEMA, 2006; LUI et al., 2014; MEDEMA; SCHIJVEN, 2001). Contudo, alguns pesquisadores têm sugerido a substituição das lâmpadas de mercúrio por LED, por serem mais duráveis e ambientalmente amigáveis (BECK et al., 2017; CHEVREMONT et al., 2012a, 2012b; CLOSE; IP; LAM, 2006; NGUYEN et al., 2019; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2019). Uma vantagem adicional do LED é a possibilidade do uso de diferentes comprimentos de onda, com espectro de ação mais abrangente, podendo atingir diversos componentes celulares, e não só os ácidos nucleicos, aumentando a efetividade do processo de desinfecção, principalmente sobre organismos resistentes como os cistos de *Giardia* (SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; SONG; MOHSENI; TAGHIPOUR, 2019; SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019b). Apesar do promissor desempenho dos LED, até o

momento não foram realizados estudos avaliando diferentes comprimentos de onda sobre a parede dos cistos de *Giardia*.

Já a ação dos POA, especificamente a associação do peróxido de hidrogênio à radiação UV, sobre a parede dos cistos foi previamente observada por Guimarães et al. (2014) e Guimarães et al. (2015), entretanto de ação de POA sobre cistos em amostras de esgoto também ainda não foi avaliada.

Compreender como diferentes agentes desinfetantes agem sobre organismos patogênicos em matrizes complexas como o efluente doméstico, é fundamental para o processo de escolha do tratamento a ser empregado para a produção de água de reúso. Dessa forma, o presente trabalho, teve como objetivo avaliar a ação de quatro agentes desinfetantes cloro, ácido peracético, radiação UV-LED e do POA que consiste na associação entre peróxido de hidrogênio e radiação UV-LED (H_2O_2/UV) sobre os cistos de *Giardia lamblia*, inoculados artificialmente em amostras de efluente doméstico tratado, com intuito de produzir água de reúso segura para irrigação agrícola.

3.2. METODOLOGIA

3.2.1. Origem do Efluente

O efluente utilizado nesta pesquisa foi proveniente da ETE Barão Geraldo, situada no distrito homônimo, na cidade de Campinas-SP (Brasil), sob concessão da Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S/A (SANASA).

A ETE tem capacidade máxima de tratamento de 240 L s^{-1} , sendo tratados em média 80 L s^{-1} . O tratamento consiste em reatores anaeróbios de fluxo ascendente de manta de lodo (reatores UASB) e filtros biológicos percoladores, seguidos de decantadores secundários (Figura 3-1).

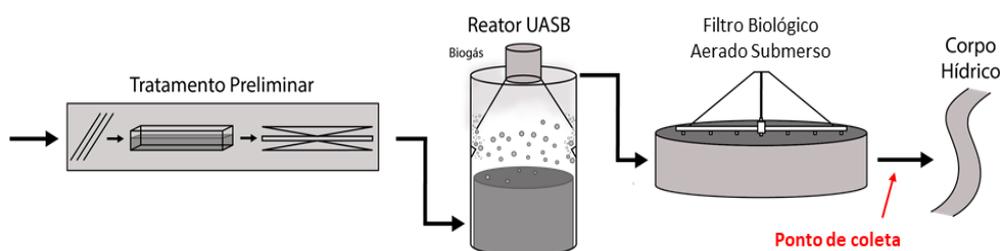


Figura 3-1: Fluxograma da ETE Barão Geraldo, em vermelho o ponto de coleta das amostras

3.2.2. Agentes desinfetantes

Foram avaliados 4 agentes desinfetantes: cloro, na forma de hipoclorito de cálcio $[Ca(ClO)_2]$; ácido peracético ($C_2H_4O_3$); radiação UV-LED e o POA $H_2O_2/UV-LED$.

Previamente ao início dos ensaios foi realizada a padronização dos agentes desinfetantes químicos. E a cada ensaio de desinfecção foi realizada a confirmação da concentração dos mesmos conforme as metodologias listadas na Tabela 3-1.

Tabela 3-1: Métodos utilizados para padronização dos desinfetantes químicos

Agente desinfetante	Fabricante	Método utilizado	Referência
Cloro (na forma de Hipoclorito de cálcio)	Labsynth	SM4500-CI G	APHA, 2012
Ácido peracético	Solvay S.A.	Permanganimetria e Iodometria*	Solvay (PB0-BM-2300-02)
Peróxido de hidrogênio	Sigma Aldrich	Permanganimetria	Mendhan et al., (2002)

*Método sugerido pelo fabricante do ácido peracético utilizado Solvay S.A.

Os ensaios com UV-LED foram realizados em uma unidade experimental construída pelo próprio grupo de pesquisas (SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020). O irradiador conta com 4 LED de diferentes comprimentos de onda que podem ser utilizados individualmente ou em conjunto, proporcionando 15 combinações diferentes. A Tabela 3-2 apresenta as características dos LED que compõe a câmara de radiação. A determinação das doses reais de radiação UV, bem como a eletroluminescência dos LED e transmitância foram avaliadas por Silva, Leonel e Tonetti (2020).

Tabela 3-2: Características dos LED que compõe a câmara de radiação

Fabricante	Comprimento de onda máximo (pico) (nm)	Largura espectral do comprimento de onda (nm)	Potência óptica de saída (mW)
Sensor Electronic Technology, Inc.	255	± 12	1-3
Sensor Electronic Technology, Inc.	280	± 12	1-3
Lumex, Anllinois Tool Works Inc	365	± 7	0,4
Lumex, Anllinois Tool Works Inc	400	± 10	2,5

Fonte: Silva; Leonel; Tonetti, 2020.

A câmara de radiação permite que os ensaios sejam realizados em placas de Petri de 8 mm de diâmetro e volume máximo de 50 mL. Os LED estão posicionados de forma equidistante a 72° numa circunferência de 75 mm e inclinados a 18° em relação ao plano da placa de Petri (Figura 3-2). Essa disposição foi concebida de tal forma que os feixes luminosos possam convergir de forma sobreposta e incidente na placa de Petri na condição de acionamento simultâneo dos quatro comprimentos de onda, possibilitando que a amostra receba energia integral de todas as fontes de radiação no mesmo ponto. A câmara também conta com um agitador magnético, responsável por manter a agitação da amostra durante o processo de desinfecção.

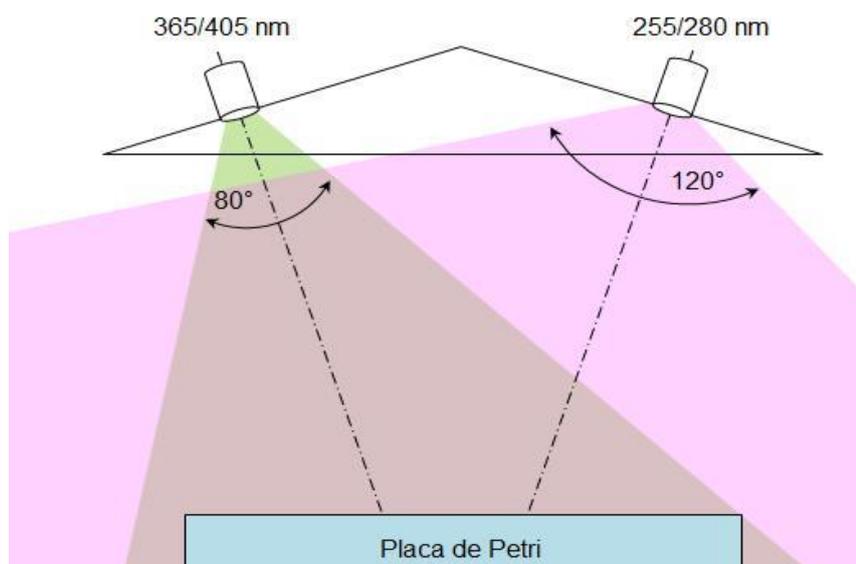


Figura 3-2: Incidência de radiação UV sobre a placa de Petri
Fonte: Silva; Leonel; Tonetti, 2020

3.2.3. Ensaios de Desinfecção

Os ensaios de desinfecção foram realizados em batelada em um prazo de 3 semanas após a data da coleta do efluente. Durante este período o efluente foi mantido refrigerado e ao abrigo da luz, e os parâmetros pH e DQO (demanda química de oxigênio) foram monitorados duas vezes por semana para garantir que não houve degradação do efluente durante o armazenamento.

A coleta foi realizada no período da manhã, na saída da ETE, ponto onde são feitas as coletas para o monitoramento de rotina da estação (Figura 3-1), utilizando-se frasco de polietileno lavado com Tween 80 0,1%, para evitar a adesão dos cistos à parede do frasco. As características físico-químicas do efluente estão na Tabela 3-3. A caracterização foi realizada imediatamente após a coleta, de acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), no Laboratório de Saneamento da Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo (FECFAU) da Unicamp.

A concentração de cistos presentes no efluente também foi avaliada (Tabela 3-3), conforme protocolo estabelecido por Franco et al. (2001).

Tabela 3-3: Características do efluente da ETE Barão Geraldo

Parâmetro	Valores
pH	7,03
Condutividade (dS m ⁻¹)	869,50
Turbidez (UNT)	8,1
Carbono orgânico total (mg L ⁻¹)	34,09
Demanda química de oxigênio (mg L ⁻¹)	24,50
Sólidos suspensos totais (mg L ⁻¹)	*ND
Nitrato (mg L ⁻¹)	4,92
Nitrito (mg L ⁻¹)	1,60
Nitrogênio total Kjeldahl	50,09
Nitrogênio amoniacal (mg L ⁻¹)	41,58
Cistos de <i>Giardia</i> (cistos L ⁻¹)	10 ³

*ND: Não detectável

Antes de cada processo de desinfecção um número conhecido de cistos de *Giardia lamblia*, proveniente de um inóculo comercial (Waterborne INC – New Orleans – EUA) era inoculado artificialmente no efluente. A alíquota inoculada foi calculada com base nas informações fornecidas pelo fabricante, de modo que a concentração de cistos no efluente fosse igual a 10^4 cistos L^{-1} . Antes da retirada da alíquota, o inóculo era homogeneizado em agitador tipo vórtex durante 6 minutos, a fim de remover possíveis cistos aderidos à parede do frasco. As amostras inoculadas permaneciam em agitação constante em agitador orbital por 1 hora antes de serem submetidas a desinfecção, para soltar os cistos que tendem a formar aglomerados, devido às características eletrostáticas de suas paredes.

Na Tabela 3-4 estão apresentados os tratamentos, concentrações ou dosagens e tempos de contato que foram avaliados nos ensaios de desinfecção. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Tabela 3-4: Agentes desinfetantes e respectivas dosagens avaliadas

Agente desinfetante	Concentração (mg L⁻¹)	Dose de radiação (mJ cm⁻²)	Comprimento de Onda (nm)	Tempo de Contato (minutos)
Cloro (na forma de Hipoclorito de cálcio)	15,0	NA	NA	30
	20,0	NA	NA	30
	40,0	NA	NA	30
Ácido peracético	15,0	NA	NA	30
	20,0	NA	NA	30
	40,0	NA	NA	30
Radiação UV-LED	NA*	100	255/280	45
	NA	103	255/280/400	15
H ₂ O ₂ + UV-LED (POA)	1,5	103	255/280/400	15

NA: Não se aplica.

A desinfecção com cloro e ácido peracético foi realizada em béqueres de vidro com 100,0 mL de capacidade volumétrica, tampados com papel filme, mantidos sob agitação constante de 100 rpm (rotações por minuto) e temperatura

controlada (25°C) em incubadora com agitação orbital (Tecnal TE-4200) e sem contato com a luz. Decorrido o tempo de contato estabelecido, a reação de desinfecção era interrompida com a adição de 3,0 mL de tiosulfato de sódio (Na₂S₂O₃) 0,1 M. As concentrações utilizadas nos ensaios foram determinadas com base na literatura e ensaio prévio realizado com água ultrapura (dados não apresentados) (BONADONNA et al., 2002; BRIANCESCO; BONADONNA, 2005; JARROLL; BINGHAM; MEYER, 1981).

Os ensaios envolvendo UV-LED, foram realizados em placas de Petri de poliestireno. As amostras também permaneceram sob agitação constante, durante a desinfecção, mantida pelo do agitador magnético acoplado à câmara de radiação. A distância entre as lâmpadas UV-LED e a lâmina d'água foi padronizada em 3,5 cm.

Os comprimentos de onda utilizados foram escolhidos com base na literatura (CHEVREMONT et al., 2012a, 2012b; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020).

Para a desinfecção com H₂O₂/UV-LED, a ação do H₂O₂ foi interrompida com a adição da enzima catalase. A dose de radiação utilizada foi determinada a partir dos resultados do ensaio de desinfecção por UV-LED, enquanto a dose de H₂O₂ utilizada foi adaptada de Guimarães et al. (2014).

3.2.4. Detecção dos cistos de *Giardia* nas amostras

As amostras após a desinfecção foram concentradas por centrifugação de acordo com o protocolo descrito por Robertson et al. (2000): as amostras eram colocadas em tubos de centrífuga (50,0 mL) e então centrifugados a 1500 x g durante 15 minutos. O sobrenadante era descartado, o volume do tubo completado com solução de eluição Tween 80 0,1% e o processo de centrifugação repetido. Na sequência o sobrenadante era mais uma vez dispensado, e ao sedimento era acrescentada água destilada, até o volume de 1,0 mL, a solução era homogeneizada em *vórtex* e transferida para tubos de microcentrifugação para ser armazenada a 4°C.

Os sedimentos resultantes desta etapa foram analisados ao microscópio de epifluorescência na faixa de fluorescência de 450 a 490 nm e filtro com barreira de 520 nm com aumento de 200x e 400x, empregando o teste de reação de imunofluorescência direta (RID), utilizando o kit Merifluor® (Meridian Bioscience, Inc.), para a contagem de cistos de *Giardia*. A montagem das lâminas foi realizada conforme orientações do fabricante do kit.

3.2.5. Avaliação da viabilidade dos cistos

Como a inativação pode ocorrer quando um constituinte vital da célula sofre um dano irreversível, foram considerados não viáveis os cistos que apresentaram danos estruturais na parede ou diminuição de fluorescência, conforme exemplificado na Figura 3-3. Para avaliar os danos causados à parede dos cistos, foi utilizada uma escala de classificação segundo a observação realizada por RID, proposta por Guimarães et al. (2014).

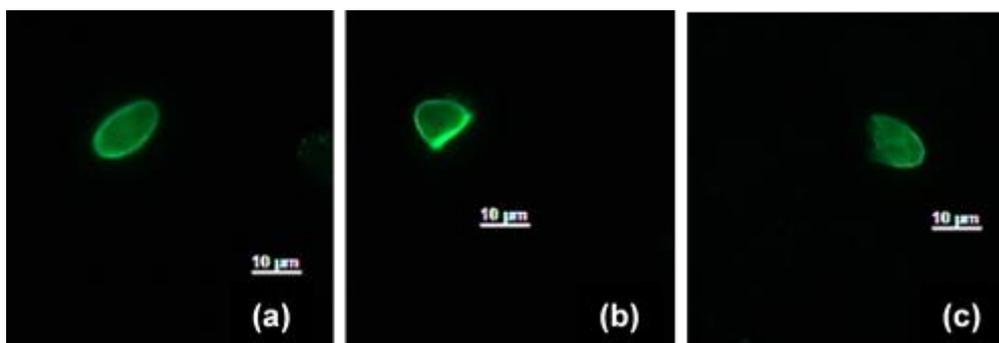


Figura 3-3: Cistos de *Giardia* spp. visualizados no microscópio de fluorescência. (a) Cisto íntegro; (b) Cisto fragmentado; (c) Cisto com fluorescência e forma alteradas

Foram enumerados os cistos danificados e os cistos íntegros visualizados nas lâminas. O cálculo da estimativa da concentração de cistos nas amostras foi realizado separadamente, dependendo da característica do cisto (íntegro ou danificado), com base na Equação 1.

$$\text{N}^{\circ} \text{ de cistos na amostra} = \frac{n}{k} \times \frac{S}{A} \quad (1)$$

Sendo:

n= número de cistos (íntegro ou danificado visualizados na lâmina)

k= volume de sedimento analisado (30 µL)

S= volume do sedimento obtido (1000 µL)

A= volume inicial da amostra (0,05 L)

A estimativa da porcentagem de inativação alcançada pelo sistema foi calculada de acordo com a Equação 2.

$$\% \text{ de inativação} = nd \times \frac{100}{nt} \quad (2)$$

Sendo:

nd= número de cistos danificados visualizados

nt= número total de cistos visualizados (soma de cistos íntegros e danificados)

3.2.6. Experimento controle da metodologia de recuperação de cistos

Foram realizados quatro experimentos controle-positivo para avaliar a sensibilidade apresentada pela metodologia utilizada na recuperação de cistos.

Para o experimento controle foram contaminados artificialmente, com uma suspensão contendo um número conhecido de cistos, 50 mL do efluente, que foi, então, processado de acordo com a metodologia de centrífugo-concentração (ROBERTSON et al., 2000), descrita anteriormente. Alíquotas de 30 μ L de cada sedimento resultante do processamento foram analisadas por RID.

Para a contaminação artificial das amostras controle foi utilizado o inóculo comercial Color Seed®, uma suspensão de oocistos e cistos marcados com corante vermelho fluorescente sulfo-rodamina.

Para estimar a porcentagem de recuperação de organismos foi utilizada a equação 3:

$$Y = \frac{r}{i} \times 100 \quad (3)$$

Sendo:

Y= eficiência de recuperação

r= número de cistos recuperados

i= número de cistos inoculados

3.2.7. Análises dos resultados

Para a determinação da dosagem ideal de cada agente desinfetante, as porcentagens médias de inativação alcançadas por cada dosagem testada foram comparadas utilizando os testes paramétricos (Shapiro–Wilk tests $p < 0.05$) ANOVA,

seguido do teste de Tukey, para cloro de cálcio e ácido peracético e teste t-Student para UV-LED.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram considerados não-viáveis os cistos que apresentaram danos morfológicos em suas paredes (Figura 3-3). Como foi utilizado o microscópio de fluorescência os danos observados foram a ruptura da parede dos cistos, deformidades na forma ovoide característica dos cistos e diminuição de fluorescência provocada pela RID, que se baseia na ligação dos anticorpos monoclonais anti-*Giardia* conjugados com o fluorocromo FITC, com os epítomos presentes na parede dos cistos, dessa forma, a parede uma vez danificada não permite a ligação antígeno-anticorpo, e conseqüentemente, a fluorescência observada ao microscópio é comprometida. Recentemente, o uso da RID foi descrito como uma ferramenta viável para avaliação dos danos causados por agentes oxidantes aos cistos de *Giardia* (NAKADA et al., 2019; NAKADA; SANTOS; GUIMARÃES, 2020).

A eficiência média de recuperação apresentada pelo método de centrífugo-concentração foi de $80 \pm 12\%$, dentro do considerado aceitável (USEPA, 2012b). As concentrações de cistos apresentadas nas discussões sobre a eficiência dos agentes desinfetantes não foram corrigidas pela recuperação do método.

3.3.1. Eficiência do Cloro

As três concentrações de cloro avaliadas provocaram danos morfológicos às paredes dos cistos (Tabela 3-5). Alterações na morfologia dos cistos submetidos ao processo de cloração foram previamente relatadas por Li, et al. (2004), que, utilizando microscópio eletrônico de transmissão, observaram danos e potencial aumento da permeabilidade da parede, além de danos irreversíveis a organelas citoplasmáticas de cistos expostos a 5 mg L^{-1} de cloro livre, durante 120 minutos. Segundo os autores, o cloro afrouxa os filamentos fibrosos da parede externa dos cistos, aumentando sua permeabilidade, e, então, destrói o glicocálice da camada protetora do cisto e, na sequência, a membrana plasmática. Isso permite o acesso do desinfetante ao citoplasma e conseqüentemente a danificação das organelas e do núcleo celular (LI; SMITH; BELOSEVIC, 2004).

Apesar de todas as concentrações avaliadas terem causado danos às paredes dos cistos, a porcentagem de cistos danificados nas amostras foi diretamente proporcional à concentração de cloro utilizada. Na Tabela 3-5 podemos observar que quanto maior a concentração de cloro utilizada, maior a porcentagem de cistos danificados observados nas amostras. O tratamento com 40 mg L⁻¹ obteve uma eficiência significativamente superior aos demais (p<0,05), dentre uma média de 2,1 x 10⁴ cistos L⁻¹ recuperados, em média 65% estavam danificados, enquanto os tratamentos com 15 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹ causaram danos em 37 e 41% dos cistos recuperados, respectivamente (Tabela 3-5).

Tabela 3-5: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com diferentes concentrações de cloro

Tratamento	Cistos íntegros (cistos L⁻¹)	Cistos danificados (cistos L⁻¹)	% de cistos danificados
15 mg L⁻¹	1,3 x 10 ⁴ ± 1,2x10 ⁴	8,0 x 10 ³ ± 9,1 x10 ³	37 ± 3 ^a
20 mg L⁻¹	4,5 x 10 ³ ± 2,6x10 ³	2,8 x 10 ³ ± 1,1 x 10 ³	41 ± 8 ^a
40 mg L⁻¹	7,3 x 10 ³ ± 2,8 x 10 ³	1,4 x 10 ⁴ ± 2,3 x 10 ³	65 ± 3 ^b

Letras iguais na vertical indicam médias que não se diferem estatisticamente (ANOVA seguido por teste de Tukey p<0,05).

Conforme já discutido por outros autores, a efetividade do cloro na inativação de cistos de *Giardia*, bem como outros microrganismos, é diretamente influenciada pela relação concentração x tempo de exposição (Ct). Adeyemo et al. (2019) ao utilizarem 0,5 mg L⁻¹ de cloro livre para inativar cistos inoculados artificialmente em amostras de efluente (os autores não apresentam detalhes quanto a origem e qualidade do efluente), não identificaram cistos viáveis após 60 minutos de exposição, mesmo resultado observado ao utilizarem 5 mg L⁻¹ durante 15 minutos de tempo de contato. Entretanto, os mesmos autores afirmam que o aumento do tempo de exposição pode ser significativo até um determinado limite, que é maior para altas concentrações de cloro e menor para as mais baixas. Já foi relatado na literatura que a maior taxa de inativação dos cistos ocorre durante os 30 primeiros minutos de exposição (KIM; HONG; LEE, 2001), o que pode ser explicado pelo decaimento da quantidade de cloro livre disponível ao longo de tempo, consumido pelo próprio processo de desinfecção, bem como pela presença de matéria orgânica e amônia no efluente.

Embora Briancesco et al. (2005) também tenham observado a relação entre maior concentração de cloro e maior eficiência na inativação de cistos, os autores observaram 52% de cistos não viáveis, utilizando 4,5 mg L⁻¹ por 30 minutos, restando ainda cerca de 10² cistos viáveis L⁻¹ após a desinfecção de efluente de uma estação que emprega o sistema de lodos ativados para o tratamento.

As características físico-químicas do efluente influenciam diretamente a eficácia do cloro como desinfetante, o que dificulta a comparação entre os resultados observados por Briancesco et al. (2005), Adeyemo et al. (2019) e a presente pesquisa. O cloro livre é composto por duas espécies oxidantes (HOCl e OCl⁻) e parâmetros como a temperatura e o pH do meio alteraram sua atividade através da modificação do equilíbrio HOCl/OCl⁻ ou desacelerando as reações químicas de acordo com a Lei de Arrhenius (BARBEAU et al., 2005; CLARK; READ; HOFF, 1989; MORRIS, 1946). Em altas temperaturas o cloro é consumido mais rapidamente, diminuindo sua disponibilidade na água e a faixa de pH entre 5 e 8 favorece o processo de desinfecção, uma vez que há predominância da espécie protonada HOCl, um forte oxidante que penetra facilmente nas membranas celulares dos microrganismos, promovendo precipitação de proteínas, hidrólise e rompimento celular (MCFADDEN et al., 2017; MEDEIROS; DANIEL, 2015). A presença de compostos orgânicos e inorgânicos reduzidos, como ferro, carbono, sulfetos e amônia, também interfere na eficácia do processo. Estes compostos são capazes de reagir com o cloro reduzindo sua disponibilidade para desinfecção. A reação entre cloro e amônia é quase instantânea em efluentes domésticos, onde o pH está próximo da neutralidade, formando cloraminas e reduzindo o cloro livre disponível (USEPA, 2011).

A avaliação de demanda de cloro do efluente utilizado nessa pesquisa (dados não apresentados) demonstrou uma maior concentração de cloro residual combinado, em relação ao cloro residual livre, em todas as concentrações de cloro aplicadas ao efluente, após poucos minutos de reação. Essa proporção se manteve praticamente constante durante os 30 minutos de experimento. Apesar de não ter sido avaliada a concentração de cloraminas, a alta concentração de amônia apresentada pelo efluente aqui utilizado (41,6 mg L⁻¹) (Tabela 3-3) nos leva a deduzir que pelo menos uma parte do cloro residual detectado estava na forma de cloraminas. Apesar das cloraminas também serem desinfetantes, seu poder de oxidação é inferior ao do cloro livre (USEPA, 2011; BARBEAU et al, 2005), o que

pode justificar o desempenho inferior em relação aos estudos desenvolvidos por Adeyemo et al. (2019) e Briancesco et al. (2005), mesmo utilizando concentrações de cloro significativamente maiores.

Os diferentes métodos utilizados para avaliação da inativação dos cistos também dificultam a comparação de estudos distintos. Enquanto Adeyemo et al. (2019) utilizaram a técnica de citometria de fluxo, Briancesco et al. (2005) e o presente estudo utilizaram microscopia e se basearam em alterações morfológicas para quantificar os cistos viáveis.

3.3.2. Eficiência do Ácido Peracético

Assim como o cloro, as três concentrações de ácido peracético testadas causaram danos aos cistos de *Giardia* inoculados nas amostras de efluente, após 30 minutos de exposição, conforme pode ser observado na Tabela 3-6. A porcentagem de cistos danificados (31, 47 e 72%) foi diretamente proporcional à concentração de ácido peracético utilizada e os três tratamentos apresentaram diferença estatisticamente significativa no desempenho (ANOVA $p < 0,05$) (Tabela 3-6).

Tabela 3-6: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com diferentes concentrações de ácido peracético e eficiência de inativação de cada tratamento

Tratamento	Cistos íntegros (cistos L ⁻¹)	Cistos danificados (cistos L ⁻¹)	% de cistos danificados
15 mg L ⁻¹	$3,7 \times 10^3 \pm 2,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^3 \pm 1,5 \times 10^3$	31 ± 1^a
20 mg L ⁻¹	$6,6 \times 10^3 \pm 1,7 \times 10^3$	$5,8 \times 10^3 \pm 5,7 \times 10^3$	47 ± 5^b
40 mg L ⁻¹	$3,3 \times 10^3 \pm 0,0$	$9,0 \times 10^3 \pm 4,7 \times 10^2$	72 ± 2^c

Letras iguais na vertical indicam médias que não se diferem estatisticamente (ANOVA seguido por teste de Tukey $p < 0,05$)

Briancesco et al. (2005) relatou a inativação de 22% dos cistos recuperados das amostras de efluente expostas a 4,5 mg L⁻¹ de ácido peracético por 30 minutos, observando uma média de 130 cistos ativos por litro de efluente. Este foi o único estudo encontrado que realizou a avaliação da ação desse desinfetante na inativação de cistos de *Giardia* em amostras de efluente. Também não foram encontradas pesquisas que avaliassem a ação do ácido peracético sobre os cistos em amostras de água.

Embora faltem estudos que avaliem a ação do ácido peracético sobre protozoários, existem diversas pesquisas que comprovam a sua alta capacidade de inativação de bactérias e vírus presentes no efluente (ANTONELLI et al., 2013; AO et al., 2020; BALDRY; FRENCH, 1989; BALDRY; FRENCH; SLATER, 1991; CAMPO et al., 2020; CREBELLI et al., 2005; GEHR et al., 2003; HASSABALLAH et al., 2019; KITIS, 2004; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999; MCFADDEN et al., 2017; PARK et al., 2014; SÁNCHEZ-RUIZ; MARTÍNEZ-ROYANO; TEJERO-MONZÓN, 1995; WAGNER; BRUMELIS; GEHR, 2002). Assim como o cloro, a eficiência do ácido peracético depende dos valores de *Ct*. Quando concentrações mais altas do ácido peracético ($> 10 \text{ mg L}^{-1}$) são usadas o processo de desinfecção é mais intenso nos primeiros 10 minutos e, em seguida, segue uma tendência assintótica, enquanto que para concentrações mais baixas o processo de inativação dos microrganismos é mais dependente do longo tempo de exposição (ANTONELLI et al., 2013; KITIS, 2004). Segundo Antonelli et al. (2013), este processo é devido à resistência de difusão do ácido peracético através da membrana celular que pode ser visualizada nas fases iniciais do processo, quando uma baixa concentração é usada, e que é insignificante utilizando doses maiores.

Alguns pesquisadores sugerem que a ação desinfetante do ácido peracético se deve pela liberação do oxigênio reativo que oxida as ligações sulfidrílica ($-\text{SH}$) e dissulfeto ($\text{S}-\text{S}$) de enzimas e proteínas da membrana celular, ocasionando lesões ou até mesmo a ruptura da membrana lipoproteica e alterando o sistema de transporte via membrana, desestabilizando assim a função quimiosmótica da célula microbiana, e paralisando a atividade celular (BALDRY; FRENCH, 1989; CAMPO et al., 2020; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999). Outros estudos indicam um segundo mecanismo de inativação através da formação de radicais hidroxila, que prontamente oxidam proteínas e lipídios, comprometendo a parede celular microbiana e desnaturam o DNA celular (KITIS, 2004; LUBELLO; CARETTI; GORI, 2002). Há registros na literatura que as bactérias não são capazes de se recuperar dos danos causados pelo ácido peracético (ANTONELLI et al., 2006).

Como a parede dos cistos também é formada por proteínas, os danos observados neste estudo podem ser explicados pela ruptura da parede devido à oxidação das ligações $-\text{SH}$ e $\text{S}-\text{S}$ das proteínas, semelhante ao que ocorre nas bactérias.

A eficácia deste desinfetante também está sujeita às características do efluente. Fatores como temperatura, pH, matéria orgânica, sólidos e salinidade afetam a taxa de decomposição do ácido peracético, diminuindo sua ação desinfetante (GEHR et al., 2003; KITIS, 2004; LUUKKONEN; PEHKONEN, 2017). A maior atividade do ácido peracético se dá em pH menores que 8,2, quando sua forma biocida, o ácido não dissociado ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$), é predominante. Em condições alcalinas a forma ionizada (CH_3CO_3^-) que têm capacidade mínima de desinfecção é dominante (BALDRY; FRENCH, 1989; GEHR et al., 2003; KITIS, 2004; MCFADDEN et al., 2017).

As características de efluentes de tratamentos secundários, como é o caso do efluente usado nessa pesquisa, como baixa concentração de matéria orgânica e sólidos totais, pH próximo a neutralidade (Tabela 3-3) colaboram para um bom desempenho do ácido peracético como agente desinfetante (ANTONELLI et al., 2013; KITIS, 2004; LUUKKONEN; PEHKONEN, 2017).

3.3.3. Eficiência da Radiação Ultravioleta

Apesar da radiação UV agir principalmente sobre o material genético das células, inibindo a replicação do DNA e, conseqüentemente, levando à inativação dos microrganismos, nesse estudo observamos danos morfológicos nos cistos submetidos a radiação UV-LED. Dentre uma concentração média de $2,4 \times 10^4$ cistos L^{-1} recuperados das amostras após submissão à radiação UV-LED, cerca de 60% apresentaram algum tipo de dano morfológico em suas paredes, independente do tratamento de radiação utilizado (Tabela 3-7). As porcentagens médias de cistos danificados alcançadas pelas duas combinações de comprimento de onda testadas, 255/280 nm e 255/280/400 nm, não diferem estatisticamente entre si (*Teste t-Student*, $p = 0,87$) (Tabela 3-7).

Tabela 3-7: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com diferentes comprimentos de onda

Tratamento	Cistos íntegros (cistos L^{-1})	Cistos danificados (cistos L^{-1})	% de cistos danificados
255/280 nm	$8,9 \times 10^3 \pm 4,3 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4 \pm 7,9 \times 10^3$	58 ± 23^a
255/280/400 nm	$1,1 \times 10^4 \pm 1,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4 \pm 1,1 \times 10^4$	61 ± 5^a

Letras iguais na vertical indicam médias que não se diferem estatisticamente (*Teste t-Student* $p < 0,05$)

As alterações morfológicas observadas podem ser decorrentes dos diferentes comprimentos de onda utilizados. Comumente os sistemas de desinfecção baseados em radiação UV utilizam lâmpadas de mercúrio que emitem luz UV com comprimento de onda (λ) de 254 nm (dentro do espectro UV-C), sendo o DNA seu principal alvo, por apresentar pico de absorção em 260 nm (ADEYEMO et al., 2019; CANTUSIO NETO; SANTOS; FRANCO, 2006; EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015; LI et al., 2009; LINDEN et al., 2002; MOFIDI et al., 2002; RIZZO et al., 2019). Já o espectro de absorção das proteínas atinge seu pico em torno de 280 nm (KALISVAART, 2004). A absorção da luz UV por proteínas e enzimas as torna instáveis podendo levar a perda da sua atividade biológica (KALISVAART, 2004).

Sendo a parede dos cistos de *Giardia* constituída por proteínas e carboidratos, a radiação no comprimento de onda de 280 nm, utilizado em ambos os tratamentos empregados nessa pesquisa, pode ter sido absorvida pelas proteínas de parede de cisto (CWP, sigla em inglês para *cyst wall protein*), resultando nas alterações morfológicas observadas. As proteínas CWP (CWP1, CWP2 e CWP3) possuem uma região rica em cisteína, um aminoácido que quando submetido a radiação UV ($\lambda = 280$ nm) tem suas ligações dissulfeto rompidas, resultando na desnaturação da molécula e na perda de sua atividade (CHATTERJEE et al., 2010; KALISVAART, 2004). Além do mais, a CWP1 é geralmente alvo dos anticorpos monoclonais utilizados em testes diagnósticos por imunofluorescência (CHATTERJEE et al., 2010), o que pode justificar as alterações na fluorescência observadas nesse estudo.

As proteínas também são os principais alvos das espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas quando radiação dentro do espectro UV-A é utilizada. As ROS são formadas como subprodutos naturais durante os processos normais do metabolismo celular e, ao longo da evolução, os organismos desenvolveram estratégias e mecanismos para controlar a geração e se defenderem contra os efeitos deletérios das ROS nas células (GIRARD et al., 2008; GODAR et al., 1993). No entanto, a exposição a condições ambientais adversas, como a radiação, principalmente UV-A, pode gerar estresse oxidativo, aumentando os níveis de ROS dentro das células, resultando em dano oxidativo significativo aos componentes celulares, como degradação de membranas, desnaturação de proteínas e oxidação de lipídios, que podem culminar na inativação celular (BOSSHARD et al., 2010; GIRARD et al., 2008; GODAR et al., 1993; SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019b).

Neste estudo a adição de um LED que emite radiação dentro do espectro UV-A em um dos tratamentos (255/280/400 nm) não aumentou o número de cistos danificados observados, em comparação com o tratamento que utilizou apenas os comprimentos de onda de 255 e 280 nm. Provavelmente a dose de UV-A utilizada (69,5 mJ cm⁻²) não foi suficiente para romper o equilíbrio oxidativo natural dos cistos. Song, Taghipour, Mohseni (2019) só observaram efeito do uso da UV-A para inativação de colônias de *E. coli* utilizando doses superiores a 17000 mJ cm⁻².

Os resultados do estudo desenvolvido por Medeiros, Samarro-Silva, Daniel (2020) nos ajuda a corroborar a hipótese da ação dos comprimentos de onda sobre as paredes dos cistos. Os autores não observaram alterações em padrões de fluorescência ou na morfologia de cistos presentes no efluente de uma ETE (UASB + lodos ativados), antes e após serem submetidos a radiação UV com lâmpadas de mercúrio ($\lambda = 254$ nm, a intensidade da dose da radiação aplicada sobre as amostras de efluente não foram indicadas no trabalho).

A fim de avaliar se os danos observados no presente estudo eram decorrentes do tratamento da ETE, o efluente foi analisado antes de ser submetido ao processo de desinfecção, sendo constatado que apenas uma pequena porcentagem dos cistos presentes na amostra apresentava danos em suas paredes (em média 6%). Além do mais, as amostras de efluente da ETE foram inoculadas artificialmente com inóculo comercial de cistos purificados para garantir que os danos observados ao microscópio eram decorrentes dos tratamentos de desinfecção, e não do processo de tratamento da ETE.

Uma das vantagens atribuídas ao uso de LED como fonte de radiação UV é a possibilidade de combinação de diferentes picos de emissão em um único dispositivo, aumentando o espectro de ação devido à sensibilidade variável de diferentes organismos e componentes celulares à radiação UV (SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019b). Alguns autores sugerem um possível efeito cumulativo quando são associados comprimentos de onda UV-C, fortemente absorvidos pelo DNA celular, interferindo em funções vitais da célula com transcrição e replicação, e UV-A, que apesar de não serem facilmente absorvidos pelos ácidos nucleicos, interagem com moléculas fotorreativas proporcionando um mecanismo de desinfecção adicional por estresse oxidativo. Esse efeito sinérgico foi observado na inativação de bactérias indicadoras de contaminação fecal (CHEVREMONT et al.,

2012a, 2012b; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020; SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019b, 2019b).

A eficiência da radiação ultravioleta dentro do espectro UV-C emitido pelas lâmpadas de mercúrio de baixa pressão ($\lambda = 254$ nm) para inativação de cisto de *Giardia* já é bastante conhecida (ADEYEMO et al., 2019; CAMPBELL; WALLIS, 2002; CANTUSIO NETO; SANTOS; FRANCO, 2006; EINARSSON; SVÄRD; TROELL, 2015; LI et al., 2009; LINDEN et al., 2002; MOFIDI et al., 2002), mas não foram encontradas referências na literatura disponível até o momento que tenham avaliado ação de comprimentos de onda superiores ao espectro de absorção do DNA (260 nm) ou a combinação de comprimentos de onda, como testado nessa pesquisa.

A metodologia empregada nessa pesquisa para avaliar a viabilidade dos cistos (observação de danos morfológicos) não nos permite analisar os possíveis danos ocasionados ao DNA dos cistos pela radiação UV-LED e conseqüentemente não pudemos avaliar o efeito cumulativo da associação entre UV-A e UV-C sobre os cistos. Ensaio que utilizem a infectividade animal, excitação *in vitro*, ou técnicas moleculares são mais adequados para avaliar esse tipo de dano, desse modo a eficiência da radiação UV-LED aqui reportada pode estar subestimada. As limitações impostas pela metodologia aplicada nesse estudo são discutidas mais a fundo no item 3.3.5.

3.3.4. Eficiência do Processo Oxidativo Avançado H₂O₂/UV-LED

A porcentagem média de cistos danificados pela associação entre 15 mg L⁻¹ de H₂O₂ e UV-LED (255/280/405 nm) alcançou 78% (Tabela 3-8). Ao contrário dos demais desinfetantes avaliados, não foram testadas diferentes concentrações de H₂O₂ e/ou combinações de comprimentos de onda, os valores aqui aplicados foram baseados em bons resultados encontrados na literatura (GUIMARÃES et al., 2015; SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020) e em etapas prévias a essa pesquisa (dados não apresentados).

Tabela 3-8: Estimativa da concentração de cistos íntegros e danificados visualizados nas amostras de efluente desinfetadas com POA H₂O/UV-LED

Replicata	Cistos íntegros (cistos L ⁻¹)	Cistos danificados (cistos L ⁻¹)	% de cistos danificados
1	1,3 x 10 ³	6,0 x 10 ³	82
2	4,6 x 10 ³	7,3 x 10 ³	61
3	6,6 x 10 ²	8 x 10 ³	92
Média	2,2 x 10 ³ ± 2,1 x 10 ³	7,1 x 10 ³ ± 1,0 x 10 ³	78

A ação desinfetante desse POA se dá através dos radicais hidroxila (OH•) gerados pela dissociação fotocatalítica das moléculas de H₂O₂ pela ação da radiação UV. Os radicais OH• são ROS altamente reativas e não seletivas, capazes de danificar todos os tipos de macromoléculas nas células, levando a degradação de carboidratos, lesões no DNA, danos nas membranas celulares, desnaturação de proteínas e inativação de enzimas (SONG; TAGHIPOUR; MOHSENI, 2019a; WANG; XU, 2012). Acredita-se que o radical hidroxila aja sobre os cistos de *Giardia* pela oxidação das CWP, provocando o rompimento dos grupos sulfidrilas (-SH) e das pontes de dissulfeto (S-S), provocando descaracterização e alteração das propriedades da parede e das membranas dos cistos, assim como ocorre a ação do ácido peracético (item 3.3.2) (GUIMARÃES et al., 2015).

Assim como os demais desinfetantes avaliados, a eficiência do POA pode ser comprometida pela qualidade do efluente a ser tratado. Devido ao caráter não seletivo do radical OH•, a matéria orgânica e mesmo compostos recalcitrantes presentes no efluente podem sequestrar parte dos radicais gerados pelo POA, diminuindo a quantidade disponível para o processo de desinfecção. O que justifica o menor número de cistos danificados contabilizados nesse estudo, em comparação aos resultados obtidos por Guimarães et al. (2015). Os autores utilizaram 15 mg L⁻¹ de H₂O₂ e uma dose de 44 mJ cm⁻² de radiação UV, gerada por lâmpada de mercúrio ($\lambda = 254$ nm) e observaram danos nas paredes de cerca de 98% dos 2 x 10³ cistos L⁻¹ inoculados em solução salina.

3.3.5. Limitações da metodologia empregada

A observação de danos morfológicos nos permite avaliar a viabilidade, ou seja, determinar se cistos estão vivos. No entanto, cistos vivos e/ou intactos não são

necessariamente infecciosos, pois podem não ser capazes de causar infecção em seus hospedeiros. Portanto, para obter uma avaliação confiável da exposição de humanos a parasitas infecciosos, os métodos para medir a viabilidade são de maior utilidade se estiverem correlacionados com os resultados dos ensaios de infectividade animal, um ensaio que demonstra a capacidade do cisto de causar infecção após ser submetido ao processo de desinfecção. Se tal correlação não for estabelecida, a detecção de cistos viáveis não significa que parasitas infecciosos estejam presentes e, portanto, qualquer risco pode ser superestimado (ROUSSEAU et al., 2018).

Embora os resultados de observação de danos na paredes do cistos terem sido correlacionados com ensaios de infectividade animal para a avaliação da ação de oxidantes (NAKADA et al., 2019; WIDMER et al., 2002), quando a radiação UV é utilizada como agente desinfetante essa associação é mais difícil de ser realizada. Sendo o DNA o principal alvo da luz UV, cistos classificados como íntegros podem estar não infectantes, subestimando a eficiência do tratamento.

Apesar da alta acurácia nos resultados, o alto custo, a complexidade de implementação, a demora na obtenção dos resultados e as questões éticas envolvidas nos levaram a optar pela não realização do ensaio da infectividade animal nessa pesquisa.

3.4. CONCLUSÕES

- O sistema de tratamento que conta com UASB + filtro biológico percolador produziu um efluente adequado para ser submetido aos processos de desinfecção, com baixa carga orgânica, baixa turbidez e baixa concentração de sólidos.
- Os 4 desinfetantes avaliados apresentaram ação eficaz contra os cistos de *Giardia*, demonstrada pela formação de danos morfológicos na parede dos cistos.
- A ação dos desinfetantes químicos cloro e ácido peracético é diretamente proporcional à concentração de desinfetante utilizada. Para ambos foi necessária uma concentração até 10 vezes superior ao comumente utilizado em ETE para que uma porcentagem superior a 60% dos cistos fosse danificada.

- O uso de LED emitindo radiação UV no comprimento de onda de 280 nm agiu sobre as proteínas de parede dos cistos, causando danos morfológicos aos mesmos.
- O POA H₂O₂/UV-LED apresentou o melhor desempenho na inviabilização dos cistos de *Giardia*, causando danos em 78% dos cistos presentes na amostra.

CAPÍTULO 4: IMPACTOS DA IRRIGAÇÃO COM EFLUENTE DESINFETADO NAS CARACTERÍSTICAS DO SOLO E NA PRODUTIVIDADE AGRÍCOLA

RESUMO

Para o reúso agrícola, o tratamento de desinfecção deve ser eficiente para inativar os patógenos resistentes e não gerar subprodutos nocivos para o solo e para produtividade da cultura. Assim, o objetivo deste capítulo foi avaliar os possíveis impactos causados pela irrigação com efluente desinfetado com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio), ácido peracético, radiação UV-LED e o processo oxidativo avançado que combina peróxido de hidrogênio e radiação UV-LED, sobre as propriedades físico-químicas e a composição da comunidade microbiana do solo, bem como sobre a produtividade de uma cultura de trigo, a curto prazo. Comparamos os efeitos da irrigação com efluente que passou pelos tratamentos de desinfecção com irrigação com efluente não desinfetado, e a irrigação com efluente não desinfetado com irrigação com água da torneira. Foi realizado um experimento em casa de vegetação e ao final de um ciclo de cultivo do trigo, foi avaliado o pH, a condutividade elétrica, a matéria orgânica, a concentração de nitrogênio e fósforo e a composição da comunidade microbiana do solo, bem como o número de grãos de trigo produzidos pelas plantas irrigadas com os diferentes tratamentos. Os tratamentos de desinfecção não impactaram as características físico-químicas do solo nem o rendimento do trigo, porém desempenharam papel importante na composição da comunidade microbiana.

Palavras-chave: Reúso agrícola, desinfecção de efluentes, diversidade microbiana, produtividade agrícola, propriedades do solo.

4.2. INTRODUÇÃO

Desde o início das civilizações, o esgoto tem sido usado para irrigação de culturas como solução para manter a agricultura em regiões secas (AL-HAMMAD; ABD EL-SALAM; IBRAHIM, 2014; ANGELAKIS et al., 2018; BIXIO et al., 2006; DERY et al., 2019; JARAMILLO; RESTREPO, 2017; TAL, 2016). No entanto, devido

ao rápido crescimento populacional, a consequente urbanização e o aumento da demanda por alimentos, hoje em dia, projetos de irrigação com água de reúso têm sido implementados em todo o mundo como estratégia para economizar água doce para usos mais nobres (HARA et al., 2016; LYU et al., 2016; PARANYCHIANAKIS et al., 2015; PERRY; PRASKIEVICZ, 2017). De acordo com o relatório da ONU sobre o desenvolvimento da água (*World Water Development Report*), pelo menos 50 países em todo mundo usam águas residuais para irrigação, sendo que 10% das áreas totais irrigáveis do planeta são irrigadas com esgoto (WWAP, 2017).

A irrigação de culturas com águas residuais, além de poupar água doce, reduz a degradação dos ecossistemas aquáticos pela descarga de efluentes e converte o esgoto de rejeito a recurso, uma vez que, além da água, também fornece minerais, matéria orgânica e nutrientes para a planta, melhorando o rendimento da cultura e diminuindo o custo da produção com fertilizantes minerais (BECERRA-CASTRO et al., 2015; BEDBABIS et al., 2010; BIXIO et al., 2006; CIRELLI et al., 2012; EREL et al., 2019; GATTA et al., 2016; MARINHO et al., 2013, 2014; MOK et al., 2014; PEDRERO et al., 2018, 2020; SEGAL et al., 2011; TOZE, 2006).

Apesar de todas as vantagens, a adoção sustentável do reúso agrícola requer considerações quanto aos impactos na produtividade das culturas, nas propriedades físico-químicas e microbiológicas do solo, bem como na saúde pública (IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; LEONEL; TONETTI, 2021).

A escolha do método apropriado para a produção de água de reúso para irrigação agrícola é muito importante. Deve haver um equilíbrio entre eficácia na remoção ou inativação de patógenos, custo-benefício e produção de água com qualidade adequada para irrigação de culturas (BECERRA-CASTRO et al., 2015).

Uma das maiores preocupações com o reúso agrícola é a segurança da saúde pública. Surto de doenças veiculadas pela água têm sido associados ao consumo de vegetais e cereais irrigados com efluentes sem tratamento adequado (FALLAH et al., 2012; GUPTA; KHAN; SANTRA, 2009; MELLOUL; HASSANI; RAFOUK, 2001). Além do mais, há uma alta prevalência de doenças gastrointestinais em agricultores que utilizam esgoto não tratado ou parcialmente tratado para irrigação (AMOAHA et al., 2016; BLUMENTHAL et al., 2001; DEVAUX et al., 2001; ENSINK et al., 2005; FUHRMANN et al., 2016; KATZENELSON; BUIUM; SHUVAL, 1976). Assim, as principais diretrizes para o reúso de efluentes na

agricultura recomendam uma etapa de desinfecção para proteger os consumidores e os agricultores (EUROPEAN COMMISSION, 2018; USEPA, 2012; WHO, 2006a).

Para o reúso agrícola, o tratamento de desinfecção deve ser eficiente na inativação de patógenos resistentes e não gerar subprodutos nocivos para o solo e o desenvolvimento da cultura. Devido ao seu baixo-custo e suas propriedades bactericidas bem conhecidas, a cloração é a tecnologia de desinfecção mais aplicada para tratamento de efluentes e produção de água de reúso em todo o mundo (LONIGRO; MONTEMURRO; LAERA, 2017; NORTON-BRANDÃO; SCHERRENBURG; VAN LIER, 2013). No entanto, há uma preocupação emergente com o uso de efluentes clorados para irrigação agrícola, considerando os DBP e seu potencial acúmulo nas partes comestíveis das plantas (GARRIDO et al., 2020; LONIGRO; MONTEMURRO; LAERA, 2017; LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 2018). Dessa forma, algumas regulamentações para o reúso agrícola restringiram o uso desse desinfetante (ANTONELLI et al., 2013; KISTEMANN et al., 2008).

A radiação UV é a alternativa mais comum à cloração para desinfecção de efluentes. Entre suas principais vantagens estão a ausência de formação de DBP tóxicos e a maior eficácia na inativação de patógenos resistentes (ADEYEMO et al., 2019). Contudo, a radiação requer a implantação de instalações complexas e efluentes filtrados, o que pode dificultar seu uso, principalmente em países em desenvolvimento.

Por outro lado, o ácido peracético é uma alternativa adequada e ambientalmente amigável ao cloro, e de fácil reaproveitamento dos equipamentos utilizados para desinfecção com hipoclorito de sódio (NaOCl), que está quase sempre presente em ETE, sem necessidade de intervenções estruturais dispendiosas (ANTONELLI et al., 2013). O ácido peracético possui amplo espectro de ação, ausência de formação de DBP indesejáveis e sem resíduos persistentes no ambiente (ANTONELLI et al., 2006, 2013; AO et al., 2020; BALDRY; FRENCH, 1989; CREBELLI et al., 2005; KITIS, 2004; LUUKKONEN; PEHKONEN, 2017; MANOLI et al., 2019; WAGNER; BRUMELIS; GEHR, 2002).

Recentemente, os processos oxidativos avançados (POA), como a associação de peróxido de hidrogênio à radiação UV, comumente utilizados para a mineralização de poluentes orgânicos recalcitrantes em águas residuais, passaram a ser estudados como agentes desinfetantes, demonstrando uma boa eficiência até mesmo para inativar patógenos resistentes (AGULLÓ-BARCELÓ et al., 2013; CHO

et al., 2011; GUADAGNINI et al., 2013; MALATO et al., 2009; MIKLOS et al., 2018; RIZZO et al., 2019; RYU et al., 2008). Segundo Agulló-Barceló et al. (2013), os POA podem produzir água de reúso adequada para irrigação irrestrita atendendo aos critérios estabelecidos pela OMS (WHO, 2006a) e pela EPA (USEPA, 2012a).

Apesar da conhecida capacidade desinfetante desses quatro tratamentos, com exceção do cloro, até o momento, nenhum estudo avaliou os impactos do reúso com efluentes desinfetados nas propriedades do solo, na produtividade das culturas e no sistema solo-planta. Há uma preocupação preponderante com a destruição de patógenos e uma falta de atenção aos danos que agentes desinfetantes e seus subprodutos podem causar ao solo e ao seu ecossistema.

Desta forma, o objetivo desta etapa da pesquisa foi avaliar o impacto causado pelo reúso agrícola de efluente doméstico tratado e desinfetado nas propriedades físico-químicas e na composição da comunidade microbiana do solo e sobre a produtividade de uma cultura de trigo. Para o tratamento de desinfecção, escolhemos quatro agentes desinfetantes: 2 bem-conhecidos (cloro e radiação UV), e 2 emergentes (ácido peracético e peróxido de hidrogênio associado à radiação UV). Também foi avaliado o impacto da irrigação com efluente não desinfetado em comparação com a irrigação com água da torneira.

4.3. METODOLOGIA

4.3.1. Condições experimentais

O experimento foi realizado em vasos, dentro de uma casa de vegetação localizada no *campus* da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, na cidade de Campinas-SP, entre abril e agosto de 2019, correspondente aos meses secos de inverno. A temperatura média dentro da estufa durante o ensaio foi de $24,5 \pm 14,0$ °C.

Foram utilizados vasos de poliuretano, com furos na base, tamanho 15. Cada vaso recebeu 1,6 kg de solo, proveniente de uma região não agrícola do campus universitário, classificado como Argissolo Vermelho Eutrófico, com textura argilosa de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação do Solo (SiBCS) (SANTOS et al., 2018). A caracterização físico-química inicial do solo está na Tabela 4-1.

Tabela 4-1: Características físico-químicas do solo antes da irrigação

Parâmetro	Valor
pH	6,6
Fósforo	16,0 mg dm ⁻³
Potássio	4,4 mmolc dm ⁻³
Cálcio	105,0 mmolc dm ⁻³
Magnésio	11,0 mmolc dm ⁻³
Cobre	3,8 mg dm ⁻³
Ferro	14,0 mg dm ⁻³
Manganês	5,7 mg dm ⁻³
Zinco	1,8 mg dm ⁻³
Matéria orgânica	82,0 g dm ⁻³
Hidrogênio + Alumínio	24,0 mmolc dm ⁻³
Soma das Bases	120,4 mmolc dm ⁻³
Capacidade de troca de catiônica	144,4 mmolc dm ⁻³
Saturação por bases	83,0 %
Argila < 0,002 mm	506,0 g kg ⁻¹
Silte 0,002 – 0,053 mm	106,0 g kg ⁻¹
Areia Total 2,0 – 0,053 mm	388,0 g kg ⁻¹

Foram utilizadas sementes de trigo cultivar IAC 389 ATAKAMA, lote IA 101/2018, com 98% de taxa de germinação, produzidas e fornecidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (RENASCEM nº 02670/2010). Antes do plantio, as sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri (Ø 15 cm), forradas com papel filtro, umedecido com 5 mL de água da torneira. As placas permaneceram em incubadora do tipo BOD, com temperatura controlada a 25°C, por cinco dias. Na sequência, seis sementes pré-germinadas foram plantadas aleatoriamente em cada vaso.

O design experimental foi completamente randomizado, com seis tratamentos de irrigação (quatro repetições cada):

- WW: efluente doméstico secundário sem etapa de desinfecção;
- AOP: efluente doméstico secundário desinfetado com o POA H₂O₂/UV-LED;

- HYP: efluente doméstico secundário desinfetado com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio);
- PAA: efluente doméstico secundário desinfetado com ácido peracético;
- UV: efluente doméstico secundário desinfetado com radiação UV-LED;
- FW: água da torneira.

Os vasos foram colocados aleatoriamente em uma mesa para minimizar a interferência de insetos e outros organismos, e suas posições eram alteradas, aleatoriamente a cada 15 dias, para minimizar quaisquer variações de luz e temperatura que pudessem ocorrer na estufa (Figura 4-1).



Figura 4-1: Experimento na casa de vegetação

Para garantir que a demanda de água das plantas fosse totalmente atendida, foi criado um sistema automatizado que fornecia água à cultura duas vezes ao dia, às 7h e 19h, utilizando irrigação por gotejamento. Todos os dias a quantidade de 100 ml era aplicada em cada vaso, mantendo a umidade do solo na capacidade de campo. Os gotejadores eram monitorados periodicamente e quando o entupimento era detectado a troca dos mesmos era realizada. Os reservatórios de água de irrigação eram abastecidos semanalmente.

Ao final do ciclo da safra do trigo (130 dias após o plantio), as plantas foram colhidas. Os grãos de trigo produzidos por cada vaso foram separados, contados e pesados para determinar a produtividade. E o solo em todos os tratamentos foi amostrado de forma destrutiva para avaliar pH, nitrogênio disponível (nitrogênio total, amônia e nitrato), fósforo disponível, condutividade elétrica (CE), matéria orgânica (OM) e a diversidade da comunidade microbiana do solo.

4.3.2. Características das águas utilizadas para irrigação

Foi utilizado o efluente da ETE "Barão Geraldo", localizada em Campinas-SP, sob concessão da Sociedade de Abastecimento de Água e Saneamento S/A (SANASA), que consiste em um reator anaeróbico de manta de lodo (UASB) seguido por um filtro biológico percolador (Figura 3-1). A água de torneira utilizada como controle era proveniente da rede de água potável do *campus*, fornecida pela SANASA. As características físico-químicas das águas de irrigação estão na Tabela 4-2.

Tabela 4-2: Características físico-químicas das águas utilizadas para irrigação (n=5)

Parâmetro*	FW**	WW	AOP	HYP	PAA	UV
DQO (mgL ⁻¹)	-	62,5 ± 40,1	95,0 ± 51,0	85,2 ± 58,5	150,5 ± 36,0	72,5 ± 22,8
COT (mg L ⁻¹)	-	14,8 ± 3,4	15,7 ± 7,7	18,1 ± 4,4	45,7 ± 5,1	19,2 ± 6,3
N _T (mg L ⁻¹)	1,5	55,0 ± 12,2	63,5 ± 7,2	69,2 ± 10,7	55,0 ± 19,6	42,8 ± 9,8
P _T (mg L ⁻¹)	-	2,9 ± 2,3	4,4 ± 1,7	4,1 ± 0,8	5,3 ± 2,2	3,9 ± 1,2
CE (dS m ⁻¹)	-	0,758 ± 0,03	0,738 ± 0,03	0,789 ± 0,05	0,739 ± 0,04	0,752 ± 0,03
pH	7,9	8,0 ± 0,2	8,1 ± 0,2	7,8 ± 0,4	7,1 ± 0,1	8,0 ± 0,2
Turbidez (UNT)	0,29	8,1 ± 2,3	10,0 ± 6,0	7,9 ± 2,4	8,0 ± 2,3	9,5 ± 3,7

*Avaliados de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012)

**Dados fornecidos pela Divisão de Água e Energia - Prefeitura Universitária

Abreviações: DQO: Demanda química de oxigênio; COT: Carbono orgânico total; N_T: Nitrogênio total; P_T: Fósforo total; UNT: Unidade nefelometria de turbidez

O efluente tratado era coletado semanalmente na ETE e imediatamente levado ao laboratório de saneamento da FECFAU da UNICAMP, para passar pelos processos de desinfecção. As concentrações de desinfetantes, o tempo de contato e a dose de radiação UV-LED utilizados foram determinados na Etapa 2 da pesquisa, conforme discutido no Capítulo 3, considerando a eficácia para inativar cistos de *Giardia* (Tabela 4-3).

Tabela 4-3: Condições dos processos de desinfecção

Desinfetante	Concentração (mg L ⁻¹)	Dose de radiação (mJ cm ⁻²)	Comprimento de onda (nm)	Tempo de contato (minutos)
Cloro	40,0	NA	NA	30
Ácido peracético	40,0	NA	NA	30
Radiação UV	NA	103	255/280/400	15
Radiação UV + peróxido de hidrogênio	1,5	103	255/280/400	15

NA: Não se aplica

4.3.3. Caracterização da comunidade microbiana do solo

As amostras de solo foram coletadas ao final do ciclo da cultura de trigo. De cada vaso foram retiradas amostras de 6 pontos ao acaso, para compor uma amostra composta, da qual foi retirada uma subamostra de 500,0 mg, para extração do DNA total de bactérias e arqueas, com o kit DNeasy® PowerSoil (QIAGEN, Hilden, Alemanha), de acordo com o protocolo recomendado pelo fabricante.

A região V4 do gene estrutural rRNA 16S foi amplificada utilizando os primers universais 16S para bactérias e arqueas 515F (Parada) (5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (Apprill) (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3') (APPRILL et al., 2015; CAPORASO et al., 2011; PARADA; NEEDHAM; FUHRMAN, 2016). O sequenciamento foi realizado na plataforma Illumina MiSeq (2x150 bases for paired-end reads¹).

¹Nesta abordagem de sequenciamento duas leituras são produzidas para cada fragmento de DNA sequenciado, uma referente à fita *forward* e outra à fita *reverse*. Para isso, o processo de sequenciamento é realizado em duas etapas, sendo em cada uma utilizado um primer específico para cada fita.

As sequências brutas foram analisadas usando o *pipeline* de bioinformática FROGS (*Find Rapidly OTU with Galaxy solution*) (ESCUDIÉ et al., 2018). Resumidamente, na plataforma Galaxy, o software mesclou as *paired-end reads* usando *Flash* (versão 1.2.11), com base nas regiões sobrepostas e executou o controle de qualidade usando *Cutadapt* (versão 1.8) para excluir sequências de que não apresentavam comprimento entre 250 e 340 pares de base, sequências com bases ambíguas e sequências que não continham as sequências iniciadoras completas. O agrupamento foi então realizado usando o algoritmo *Swarm* (v2.1.2) com uma distância máxima de agregação de 3 bases. Além disso, as sequências quiméricas foram removidas usando *VSEARCH* (v2.9.115) com validação de amostra cruzada. A afiliação foi realizada usando o *best blast hit* contra o banco de dados *silva132 16S pintail100*. E, finalmente, uma árvore filogenética foi construída usando *FastTree* (v2.1.1018) (ESCUDIÉ et al., 2018).

4.3.4. Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no R (v4.0.2; R Core Team, 2020). Para avaliar os impactos da irrigação sobre as características físico-químicas do solo o teste t-Student foi usado para comparar efeitos do tipo de água (FW vs WW) e a análise da variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey foi usado para comparar os efeitos dos desinfetantes (AOP, HYP, PAA e UV) em relação à irrigação com WW. Todas as variáveis apresentaram distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk $p < 0,05$).

Para avaliação da produtividade da cultura, as variáveis apresentaram uma distribuição não normal (teste de Shapiro-Wilk $p > 0.05$), por isso utilizamos o teste exato de Wilcoxon para avaliar os efeitos do tipo de água e o teste de Kruskal-Wallis para avaliação do efeito dos desinfetantes.

O pacote PhyloSeq (MCMURDIE; HOLMES, 2013) foi utilizado para as análises filogenética e de bioestatística. Os índices Chao1, correspondente à soma do número de espécies observadas e ao número estimado de espécies não observadas (CHAO, 1984), Shannon, que avalia a uniformidade da distribuição da abundância das espécies (SHANNON, 1948) e inverso de Simpson (InvSimpson), um índice de dominância (SIMPSON, 1949), foram calculados para estimar a riqueza e a diversidade dentro das amostras. A ANOVA bidirecional foi então realizada

nesses três índices para avaliar os efeitos do tipo de água e dos agentes desinfetantes.

A diversidade beta foi avaliada calculando a distância de *Bray-Curtis* entre as amostras, e a comparação foi realizada através de uma ANOVA multivariada (PERMANOVA).

Para visualizar a influência dos tratamentos de desinfecção na diversidade beta, uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada, utilizando-se o pacote FactoMineR (LÊ; JOSSE; HUSSON, 2008). Para tal, os dados da contagem de unidades taxonômicas operacionais (OTU) foram primeiro normalizados, utilizando a transformação logarítmica central (CLR). Para avaliar as influências das condições ambientais do solo na beta-diversidade microbiana, as variáveis ambientais do solo foram projetadas como vetores nas ordenações da PCA (LÊ; JOSSE; HUSSON, 2008).

O pacote DESeq2 (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014) foi usado para identificar as OTU diferencialmente abundantes entre os tratamentos WW e FW, e entre cada tratamento de desinfecção e WW. Como dados de entrada foram utilizadas as médias geométricas dos dados da contagem das OTU (LOVE; HUBER; ANDERS, 2014).

Os gráficos foram feitos com o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2016).

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. Características físico-químicas do solo

Foram avaliados os efeitos da irrigação com diferentes tipos de água (FW vs WW) e com efluentes desinfetados sobre as características físico-químicas do solo após um ciclo de plantio de trigo. As principais alterações observadas foram devido ao tipo de água e não aos tratamentos de desinfecção (Tabela 4-4). Comparando o solo irrigado com FW ao solo irrigado com WW, os parâmetros pH, condutividade elétrica (CE) e concentração de nitrato (NO_3) foram significativamente diferentes entre os tratamentos (p -valor < 0,05). Já ao comparar o solo irrigado com WW com os solos que receberam efluente desinfetado (AOP, HYP, PAA e UV), os parâmetros físico-químicos estavam dentro das mesmas faixas para todos os tratamentos (Tabela 4-4).

Tabela 4-4: Características do solo após a irrigação

Tratamento	Parâmetros						
	CE (dS m ⁻¹)	pH	P (mg dm ⁻³)	Nitrogênio total (g kg ⁻¹)	NH ₃ (mg kg ⁻¹)	NO ₃ (mg kg ⁻¹)	Matéria Orgânica (g m ⁻³)
FW ^a	0,425 ± 0,095*	6,2 ± 0,2*	26,0 ± 7,0	1,5 ± 0,1	8,5 ± 2,3	3,6 ± 2,0*	38,0 ± 2,6
WW ^{ab}	1,150 ± 0,173	6,5 ± 0,1	30,0 ± 9,3	1,5 ± 0,1	11,0 ± 2,3	21,0 ± 21,8	39,0 ± 1,6
AOP ^b	1,375 ± 0,221	6,7 ± 0,1	40,8 ± 3,5	1,6 ± 0,0	11,4 ± 1,7	31,8 ± 6,7	39,5 ± 1,3
HYP ^b	1,325 ± 0,613	6,6 ± 0,1	36,8 ± 4,6	1,6 ± 0,0	10,9 ± 2,7	16,0 ± 9,3	38,2 ± 1,5
PAA ^b	1,050 ± 0,238	6,7 ± 0,1	33,5 ± 3,0	1,5 ± 0,1	9,3 ± 1,3	19,4 ± 5,9	40,8 ± 1,7
UV ^b	0,875 ± 0,287	6,8 ± 0,1	32,5 ± 3,3	1,6 ± 0,1	11,4 ± 1,5	18,5 ± 6,8	38,7 ± 1,5

Letras iguais na vertical indicam médias que não se diferem estatisticamente

^aPara avaliação do tipo de água, WW foi comparado com FW por teste t-Student, *p-valor < 0,05

^bPara avaliação dos tratamentos de desinfecção, WW foi comparado com AOP, HYP, PAA e UV por ANOVA

O aumento da salinidade do solo é uma das principais preocupações relacionadas à irrigação com efluente (CHAGANTI et al., 2020; DE LAS HERAS; MAÑAS, 2020; EL MOUSSAOUI et al., 2019; EREL et al., 2019; FARHADKHANI et al., 2018; MUYEN; MOORE; WRIGLEY, 2011; PEDRERO et al., 2010; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; ZOLTI et al., 2019). O acúmulo contínuo de sal pode afetar adversamente a permeabilidade, a estrutura e a condutividade hidráulica do solo, bem como a atividade dos microrganismos, refletindo negativamente na fertilidade do solo e na produtividade das culturas (LEONEL; TONETTI, 2021; MOHAMMAD; MAZAHREH, 2003; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007). Dessa forma, vários países e a OMS estabeleceram limites para CE ($< 3,0$ dS / m) e SAR (razão de adsorção de sódio) (< 10) no caso de reúso de efluentes na agricultura (PARANYCHIANAKIS et al., 2015; WHO, 2006a).

O efluente utilizado neste estudo está dentro dos limites estabelecidos pelas diretrizes para o reúso agrícola (Tabela 4-4), e, ao final do experimento, o solo irrigado com WW ainda poderia ser considerado um solo não-salino, de acordo com a classificação da FAO (CE < 2 dS/m) (ABROL et al., 1988). O aumento da salinidade causado pela irrigação com WW (expressa em CE), em comparação com FW (teste t-Student, $p = 2,08 \times 10^{-3}$) (Tabela 4-4), foi provavelmente devido ao ensaio ter sido realizado em vasos, dentro de uma casa de vegetação. Em condições de campo a lixiviação pelas chuvas evitaria o acúmulo de sal. No entanto, a salinidade 2,7 vezes maior no solo irrigado pelo WW pode ser um problema em regiões áridas e semiáridas onde a demanda evaporativa é alta e a precipitação natural é baixa (MUYEN; MOORE; WRIGLEY, 2011). A taxa de salinização do solo não depende apenas da qualidade da água, mas também de algumas características do solo, como transmissividade, teor de matéria orgânica e drenagem; e a fatores externos como irrigação, precipitação e taxas de evaporação (WHO, 2006a). Por isso, o monitoramento periódico da salinidade do solo *in loco* é importante para garantir que a prática de reúso agrícola seja sustentável.

Os tratamentos de desinfecção não alteraram a CE do efluente (ANOVA, $p = 0,28$) (Tabela 4-4), e conseqüentemente, os valores da CE dos solos irrigados com efluente, independente do tratamento de desinfecção, estavam dentro da mesma faixa (Tabela 4-4). Há uma certa preocupação com o risco de salinização do solo quando águas residuais cloradas são usadas para irrigação, uma vez que o cloro liberado pela reação de oxidação pode ser convertido em sais de cloreto (LI; LI;

ZHANG, 2014). A alta demanda de cloro do efluente utilizado nesta pesquisa (SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020), em função do alto teor de amônia, evitou o acúmulo de cloro livre no efluente e, conseqüentemente, o acúmulo de sais de cloreto no solo irrigado. A reação entre cloro e amônia é quase instantânea no efluente doméstico, onde o pH está próximo da neutralidade, formando cloraminas e reduzindo o cloro livre disponível (USEPA, 2011). Li, Li e Zhang (2014), também não observaram o aumento da salinidade do solo ao utilizarem efluente desinfetado com concentrações de cloro abaixo de 50 mg L⁻¹.

A irrigação com água de reúso pode aumentar o pH do solo devido ao seu alto teor de íons bicarbonato (HCO₃⁻), cátions trocáveis e nutrientes vegetais (ADROVER et al., 2012; ZOLTI et al., 2019). Neste trabalho, independente da significância estatística (ANOVA, p = 0,036), as diferenças observadas nos valores do pH do solo foram pequenas (Tabela 4-4), e para todos os seis tratamentos avaliados, o pH do solo estava dentro da faixa ótima para o desenvolvimento da planta (6,2 - 6,8) (RECHCIGL, 2017), e não apresentou mudanças em relação ao pH inicial do solo (Tabela 4-1), provavelmente devido à alta capacidade tampão do solo. Farhadkhani et al (2018) e Guo et al. (2017) também reportaram a manutenção do pH inicial do solo, apesar da irrigação com água de reúso.

Nitrogênio (N) e fósforo (P) são nutrientes essenciais para a fertilidade do solo, desenvolvimento das plantas e a produtividade das culturas. E sua presença no efluente reduz o uso de fertilizantes minerais, diminuindo o custo da produção, uma grande vantagem do reúso agrícola (LYU et al., 2016). A taxa de aplicação de nutrientes no solo é determinada pela carga hidráulica e pelo teor de nutrientes no efluente e, deve levar em consideração a demanda de nutrientes da planta para evitar seu acúmulo no solo e, conseqüentemente, o desequilíbrio ecológico (ELLIOTT; JAISWAL, 2012; LYU et al., 2016).

A baixa concentração de P (2,9 ± 2,3 mg L⁻¹) do efluente secundário utilizado nesta pesquisa, combinado com a baixa carga hidráulica aplicada nos vasos (100 mL dia⁻¹) resultou em uma taxa de aplicação de fósforo de aproximadamente 1 kg P ha⁻¹ ano⁻¹. Como não adicionamos nenhuma outra fonte de P, provavelmente a planta usou uma parte considerável do P fornecido pelo efluente para o seu desenvolvimento, evitando seu acúmulo no solo. O aumento do fósforo disponível do solo foi relatado por Androver et al. (2012), Bedbabis et al. (2010) e Mohammad e Mazahreh (2003), em solos irrigados com efluentes tratados, refletindo

o alto teor de fósforo na água de reúso utilizada pelos autores. De acordo com Elliott e Jaiswal (2012), efluentes contendo níveis de P total elevados ($6-15 \text{ mg P L}^{-1}$) certamente fornecerão P em excesso em todos os cenários comuns de cultivo, mesmo com baixas cargas hidráulicas, especialmente em longo prazo.

Da mesma forma, o nitrogênio total (N_T) seguiu um padrão semelhante comparando FW e WW (t-Student, $p = 0,050$) (Tabela 4-4), mesmo a concentração de N_T sendo muito maior no efluente ($55 \pm 12,2 \text{ mg L}^{-1}$) do que na água de torneira (em torno de 1 mg L^{-1}) (Tabela 4-2). O mesmo foi observado por Guo et al. (2017), sugerindo que a maior parte do nitrogênio do efluente estava em formas que poderiam ser facilmente absorvidas pela planta: NO_3^- e NH_3 (GLASS et al., 2002; GUO et al., 2019). A alta concentração de NH_3 no efluente utilizado neste estudo foi relatada anteriormente por Silva, Leonel e Tonetti (2020).

Embora não tenhamos observado um aumento na concentração de NH_3 no solo irrigado com WW, em comparação com o FW (t-Student, $p = 0,132$), o conteúdo de NH_3 no WW parece ter estimulado a taxa de nitrificação do solo, resultando no acúmulo de nitrato (NO_3^-), em comparação com o solo irrigado com FW. O que está de acordo com Crecchio et al. (2004) e Elifantz et al. (2011), que observaram maior taxa de nitrificação em solos irrigados com efluente tratado. As taxas de nitrificação geralmente respondem rapidamente às adições de amônia (NORTON; STARK, 2011). Provavelmente, no solo irrigado com WW, a taxa de nitrificação foi superior à taxa de absorção de nitrato pelo trigo, resultando no acúmulo de NO_3^- . A alta concentração de nitrato nos solos pode ser benéfica para as lavouras, mas em excesso pode ser lixiviado, contaminando camadas profundas do solo e as águas subterrâneas (LEONEL; TONETTI, 2021).

Os tratamentos de desinfecção não proporcionaram uma mudança significativa ($p > 0,05$) no teor de nutrientes do solo. No entanto, com o tempo, a deposição de cloro pode impactar o acúmulo de nutrientes, diminuindo a fertilidade do solo (LI; LI; ZHANG, 2014).

Não observamos um aumento da concentração de matéria orgânica OM no solo irrigado com WW, em comparação ao irrigado com FW (t-Student, $p = 0,54$), provavelmente devido ao curto período experimental ou à rápida decomposição da matéria orgânica do efluente, o mesmo foi relatado por Kayikcioglu (2012). O aumento do teor de matéria orgânica do solo é geralmente observado quando águas residuais de baixa qualidade, com alta concentração de DQO são usadas para

irrigação (ADROVER et al., 2012; BASTIDA et al., 2017; DANG et al., 2019; EL MOUSSAOUI et al., 2019; ORLOFSKY et al., 2016; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; ZOLTI et al., 2019) o que não é o caso deste estudo (Tabela 4-2).

Os tratamentos de desinfecção não influenciaram a concentração de matéria orgânica no solo irrigado (ANOVA, $p = 0,24$). Mesmo o efluente PAA, que apresentou uma maior DQO e uma maior concentração de carbono orgânico total (Tabela 4-2), em função do uso do ácido peracético, que funcionou com uma fonte extra de carbono para o efluente, não alterou a concentração de matéria orgânica do solo.

4.4.2. Impacto na produção de trigo

Assim como as propriedades físico-químicas do solo, a produtividade do trigo foi influenciada pelo tipo de água (FW vs WW) (Wilcoxon, $p = 0,028$), mas não pelos tratamentos de desinfecção (Kruskal-Wallis, $p = 0,642$) (Tabela 4-5). A Irrigação com WW aumentou quase 5 vezes a produção de grãos de trigo, em comparação com FW (Tabela 4-5). A produção de grãos de trigo foi, em média, $8,64 \text{ g vaso}^{-1}$ no tratamento com WW e $1,78 \text{ g vaso}^{-1}$ em plantas irrigadas com FW.

Tabela 4-5: Rendimento médio da cultura de trigo por tratamento de irrigação

Tratamento	Rendimento da cultura	
	Massa do grão (g vaso^{-1})	Número de grãos por pote
FW ^a	$1,9 \pm 0,5^*$	44 ± 12
WW ^{ab}	$8,6 \pm 4,1$	195 ± 93
AOP ^b	$6,4 \pm 1,5$	157 ± 38
HYP ^b	$6,3 \pm 2,0$	215 ± 67
PAA ^b	$7,9 \pm 6,2$	188 ± 147
UV ^b	$5,4 \pm 1,6$	127 ± 38

^aPara avaliação do tipo de água, WW foi comparada com FW pelo teste exato *Wilcoxon rank-sum*, * p -valor = 0,028

^bPara avaliação do tratamento desinfetante, WW foi comparada com AOP, HYP, PAA e UV pelo teste de Kruskal-Wallis $p = 0,642$

O aumento da produtividade agrícola é frequentemente associado ao teor de nutrientes do efluente utilizado para irrigação (BEDBABIS et al., 2010; CIRELLI et al., 2012; GATTA et al., 2016; MARINHO et al., 2013, 2014; MARTÍNEZ et al., 2013).

Assim, o maior rendimento obtido nos vasos irrigados com WW foi, provavelmente, uma consequência do fornecimento de nutrientes. Enquanto as plantas irrigadas FW não receberam nenhum fertilizante, o total de N e P aplicados em cada vaso irrigado com WW foi de cerca de 742,0 g e 43,0 g, respectivamente, durante todo o experimento.

Nitrogênio e fósforo são os principais elementos limitadores da produtividade do trigo. A oferta insuficiente desses elementos reduz o perfilhamento e, conseqüentemente, o número de espigas produzidas por metro quadrado, interfere na iniciação do florete, diminuindo o número de grãos por cabeça; perturba a divisão e o crescimento celular normal, e diminui a taxa e a extensão da síntese proteica (JEUFFROY; BOUCHARD, 1999; RÖMER; SCHILLING, 1986). Na Figura 4-2 podem ser observadas as diferenças fenotípicas entre as plantas irrigadas com WW e FW.

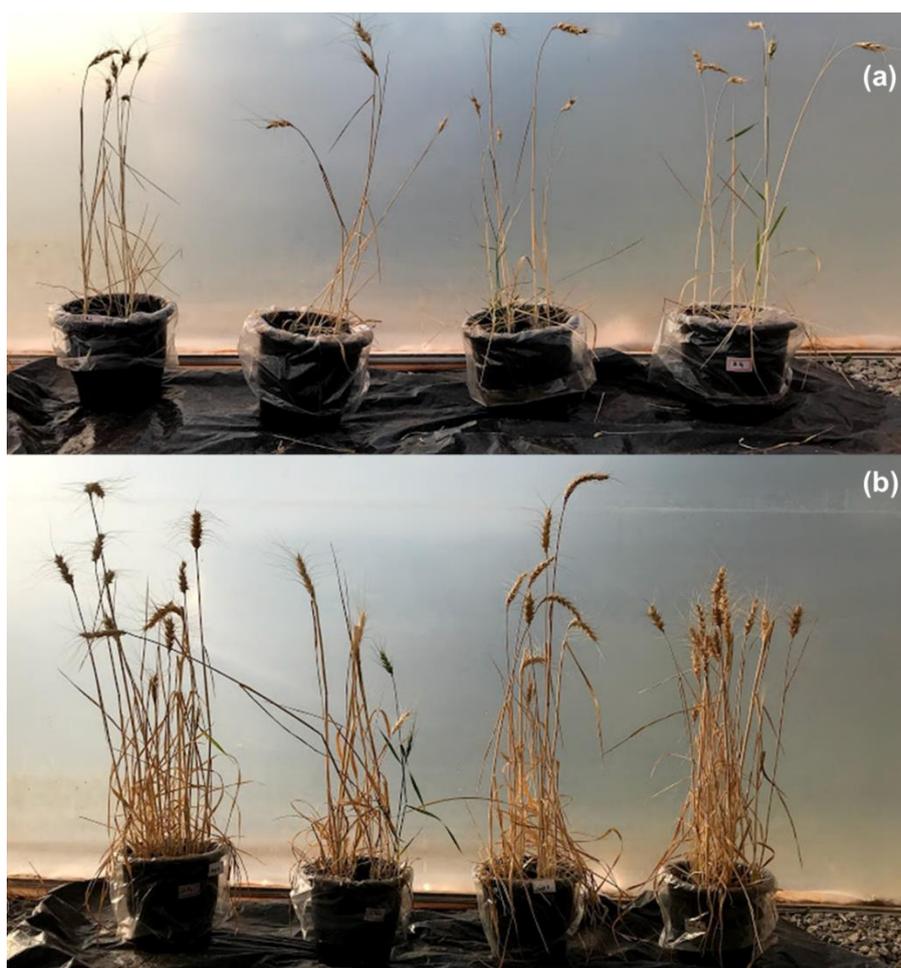


Figura 4-2: Diferenças fenotípicas entre as plantas irrigadas com (a) FW e (b) WW

Há uma certa preocupação em relação ao uso de água de reúso cloradas para irrigação de culturas alimentares, devido aos DBP potencialmente tóxicos

geradas quando o cloro reage com a matéria orgânica dos efluentes (CLARK; READ; HOFF, 1989). Lonigro, Montemurro e Laera (2017) relataram que pés de alface irrigados com água clorada apresentaram sintomas típicos de estresse, como clorose, necrose das folhas e redução da produtividade da cultura, principalmente quando a concentração de cloro livre foi superior a $10,0 \text{ mg L}^{-1}$. Além do mais, a adição de uma etapa de cloração também reduziu o rendimento e a qualidade de plantas de tabaco e batatas irrigados com efluente (SONG et al., 2019). Neste estudo, a irrigação com efluente clorado (HYP) não prejudicou o desenvolvimento ou rendimento do trigo, provavelmente devido à baixa concentração de cloro livre residual observada no reservatório de HYP ($<1,0 \text{ mg L}^{-1}$), de acordo com Lonigro, Montemurro e Laera (2017) quanto maior a concentração de cloro residual, pior é o dano à planta.

A ausência de efeito negativo sobre o rendimento do trigo não significa que a irrigação HYP seja segura. O acúmulo de DBP como clorato e compostos organoalogenados foi relatado na parte comestível de alface fresca e espinafre irrigados com efluente clorado (GARRIDO et al., 2020; LONIGRO; MONTEMURRO; LAERA, 2017; LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 2018). Nesta pesquisa, não avaliamos a formação de DBP, porém, é importante chamar a atenção para o risco associado a esses compostos quando águas residuais cloradas são utilizadas para irrigação de culturas. A cloração é o tratamento de desinfecção mais usado para produção de água de reúso no mundo (USEPA, 2012), portanto, as doses de cloro devem ser gerenciadas para maximizar a inativação do patógeno e minimizar a formação de DPB.

Ácido peracético, radiação UV, e recentemente, os processos oxidativos avançados têm sido estudados como alternativas à cloração para recuperação de águas residuais para diferentes propósitos. Essas tecnologias mostraram capacidades muito boas de desinfecção e nenhuma formação de DBP fitotóxicos até o momento (ANTONELLI et al., 2013; CHEVREMONT et al., 2012b, 2013a; KITIS, 2004; LIBERTI; LOPEZ; NOTARNICOLA, 1999; LIBERTI; NOTARNICOLA; PETRUZZELLI, 2003; RIZZO et al., 2020; SGROI; SNYDER; ROCCARO, 2021), e no presente estudo, não prejudicaram a produção da cultura do trigo, demonstrando serem boas opções para tratar águas residuais utilizadas para irrigação de culturas.

4.4.3. Caracterização da comunidade microbiana do solo

Um total de 1.759.806 sequências foram geradas através do sequenciamento do DNA das 24 amostras de solo analisadas. Após o controle de qualidade e a exclusão de OTU raras, um total de 1.255.661 sequências, com um número médio de 52.319 sequências por amostra permaneceram para as análises de diversidade microbiana (Figura 4-3). As sequências foram agrupadas em 1.857 OTU, com 97% de similaridade. A curva de rarefação das OTU alcançou um platô, demonstrando que o número de sequências obtidas foi suficiente (Figura 4-4)

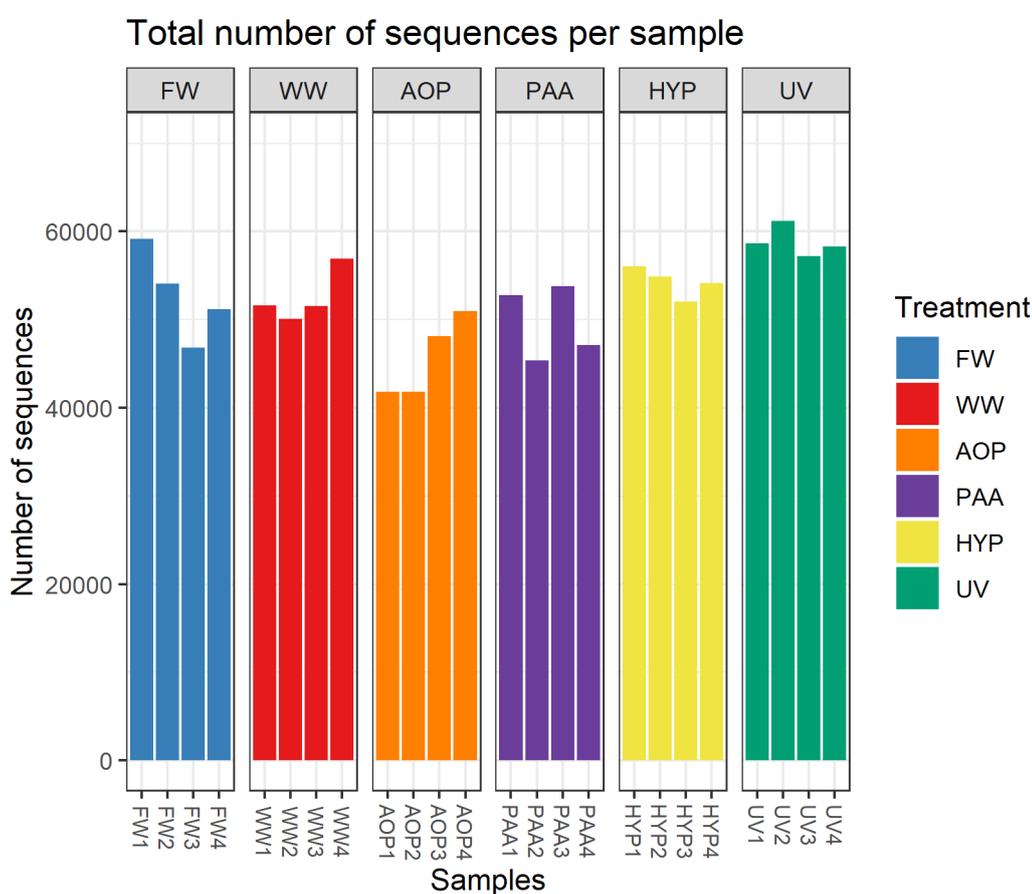


Figura 4-3: Número de sequências por amostra, pós controle de qualidade

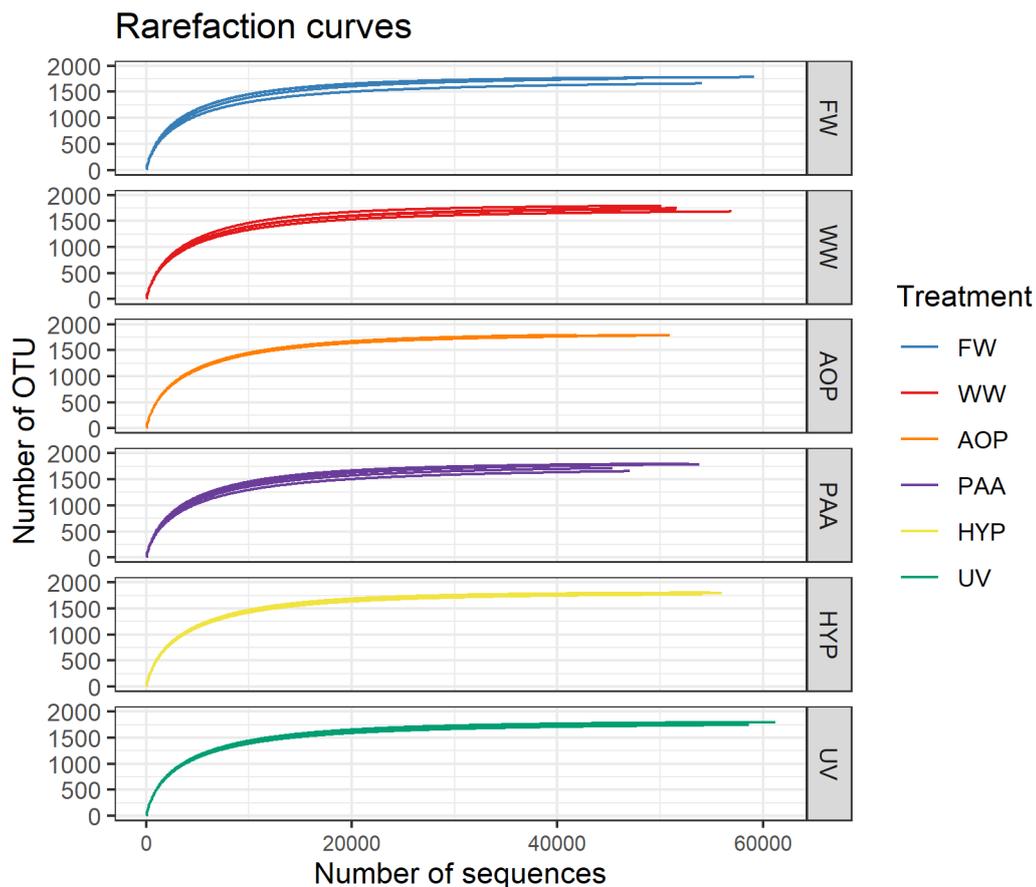


Figura 4-4: Curvas de rarefação indicando os números observados de OTU por tratamento, de acordo com o número de sequências obtidas por re-amostragem aleatória

A riqueza (índice Chao 1) e a diversidade alfa (índices de Shannon e InvSimpson) da comunidade microbiana não foram significativamente impactadas pelo tipo de água, nem pelos processos de desinfecção ($p > 0,05$) (Figura 4-5). Isso está de acordo com outros estudos, nos quais a qualidade da água de irrigação teve um impacto insignificante na diversidade e riqueza global da microbiota do solo (BROSZAT et al., 2014; ELIFANTZ et al., 2011; FRENK; HADAR; MINZ, 2014; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; KRAUSE et al., 2020).

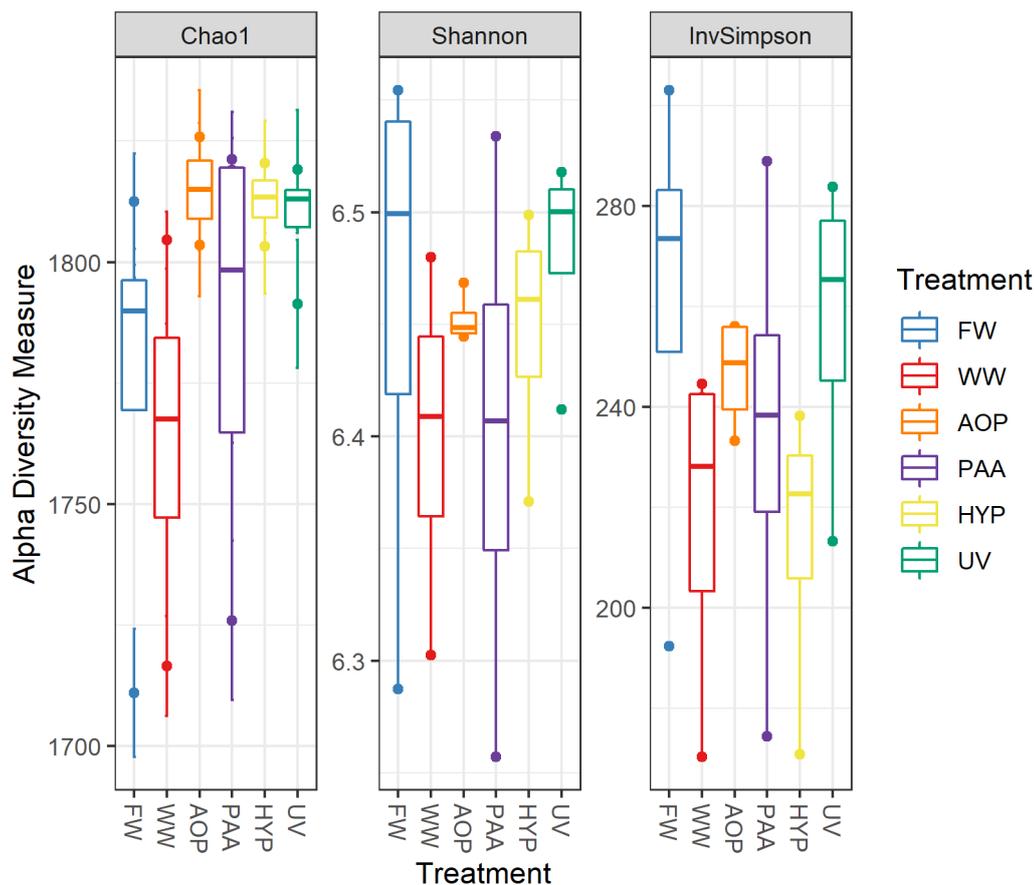


Figura 4-5: Índices de riqueza e diversidade alfa por tratamento

As OTU foram afiliadas a 25 filós: 23 de Bactérias e 2 de Archaea. Acidobacterias (23%), Proteobacterias (19%), Actinobacteria (15%) e Chloroflexi (15%) foram os filós mais abundantes em todas as 24 amostras de solo, seguindo a distribuição microbiana comum do solo (DANG et al., 2019; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; KIM et al., 2016; KRAUSE et al., 2020; KULKARNI et al., 2018; MIRANDA et al., 2018; REESE et al., 2017; SONG et al., 2019; UDDIN et al., 2019; WANG; LIU; BAI, 2018; ZOLTI et al., 2019). Os tratamentos de irrigação não mudaram a abundância relativa dos 10 filós dominantes (Figura 4-6).

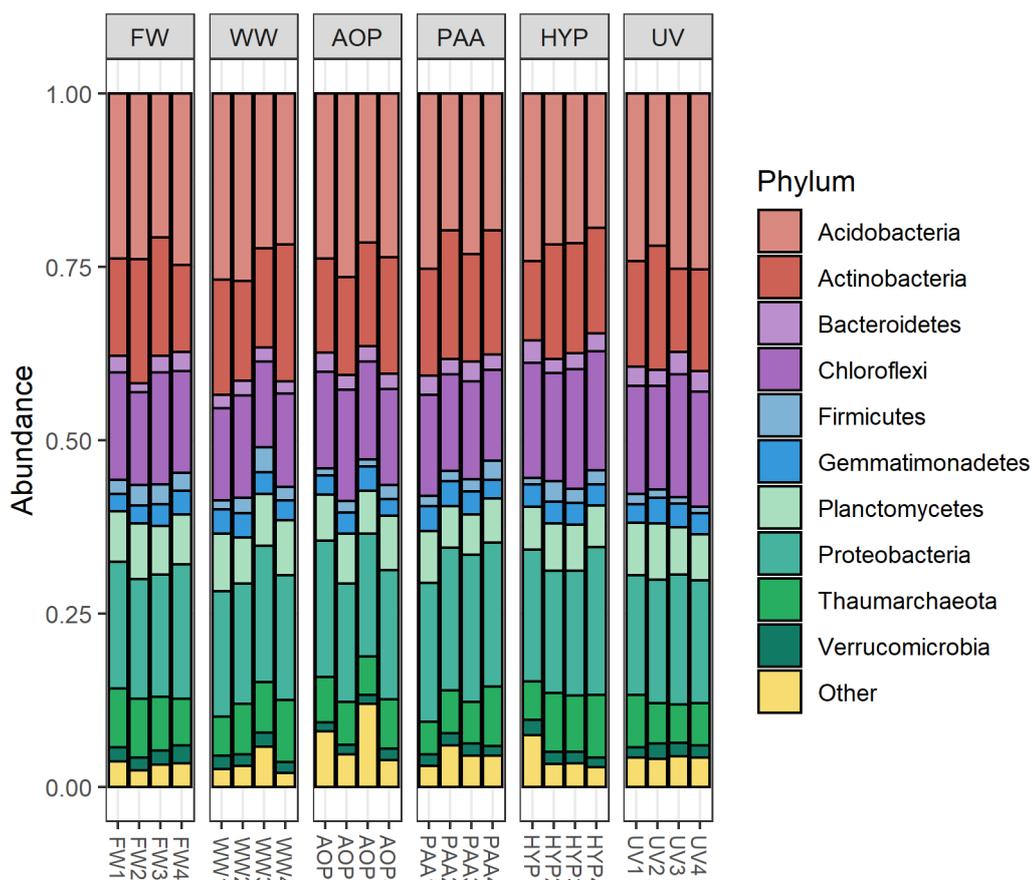


Figura 4-6: Abundância relativa dos 10 filis principais filis por amostra.

No entanto, o índice de dissimilaridade de Bray-Curtis (diversidade beta) demonstrou que o tipo de água (PERMANOVA, $R^2 = 0,094$; $p = 0,0058$) e os tratamentos de desinfecção (PERMANOVA, $R^2 = 0,345$; $p = 0,0003$) influenciaram a composição da comunidade do solo. Estudos anteriores também observaram diferenças na composição das comunidades entre solos irrigados com diferentes fontes de água (BASTIDA et al., 2017; DANG et al., 2019; FRENK; HADAR; MINZ, 2014; WAFULA et al., 2015; ZOLTI et al., 2019).

Removemos as amostras do tratamento FW e realizamos uma análise de componentes principais (PCA) para visualizar o efeito dos desinfetantes sobre a diversidade beta e identificar as principais variáveis do solo que explicaram a variância na estrutura microbiana. O *biplot*² resultante da PCA revela alguma relação entre a comunidade microbiana e os tratamentos (Figura 4-7).

²O biplot é um gráfico muito utilizado em análises multivariadas, que representa tanto os pontos amostrais, como as variáveis.

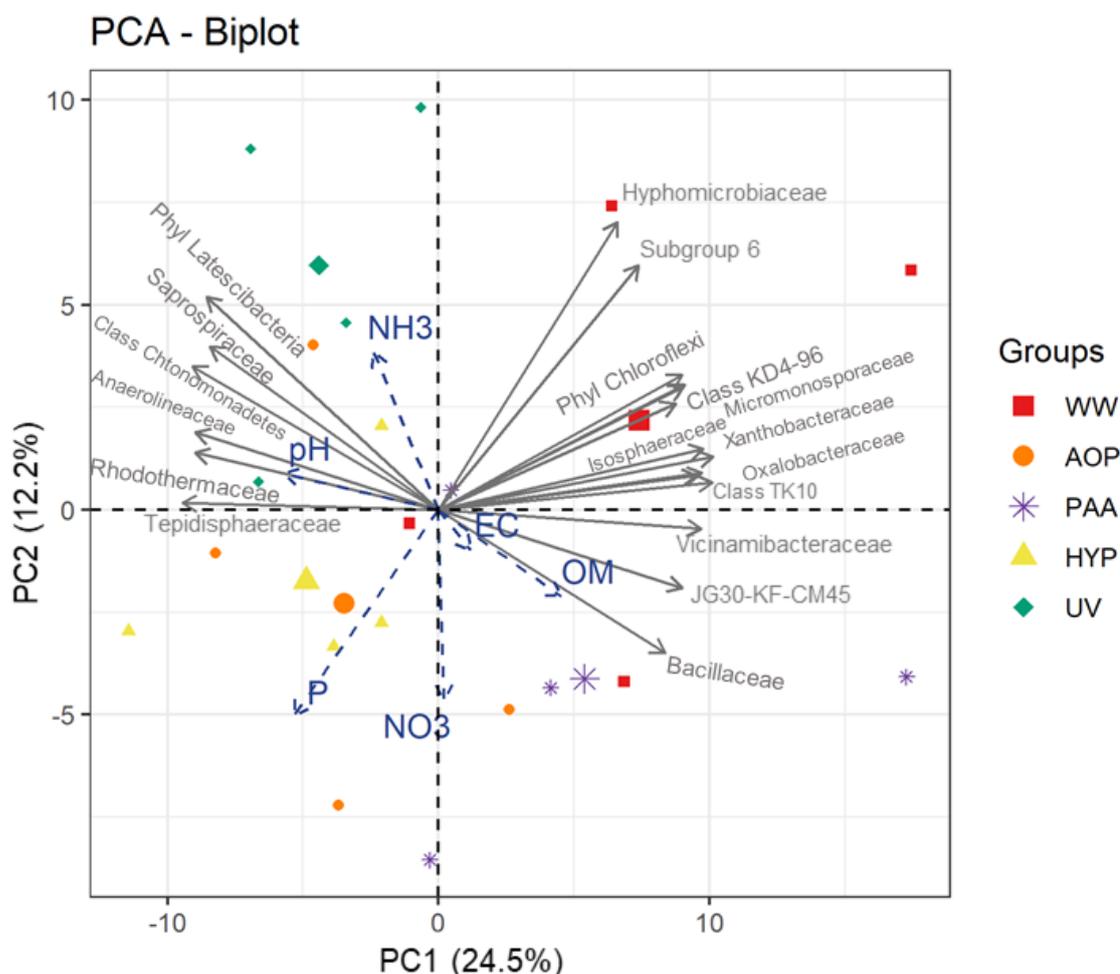


Figura 4-7: Biplot da PCA ilustrando a composição microbiana do solo baseada no tratamento de desinfecção. Em azul, parâmetros físico-químicos do solo, como variáveis suplementares; OM: Matéria orgânica; EC: Condutividade elétrica; P: fósforo; pH: potencial hidrogeniônico; NH₃: Amônia, NO₃: Nitrato. Para esta análise, as amostras do tratamento FW foram removidas. Apenas as 20 OTU mais abundantes foram plotadas e suas afiliações taxonômicas mais explicativas são apresentadas. As formas maiores indicam o baricentro de cada grupo correspondente.

Os dois primeiros eixos da PCA explicam 36,7% da variância. Ao longo do PC1 as amostras foram separadas de acordo com os tratamentos, com amostras de WW e PAA no lado positivo e amostras de AOP, HYP e UV no lado negativo.

O *biplot* (Figura 4-7) mostra claramente que os parâmetros do solo estão relacionados com a composição da comunidade microbiana. Os parâmetros físico-químicos estão representados como variáveis suplementares, assim os vetores são os gradientes das variáveis do solo no plano 2D definido por PC1 e PC2.

OTU pertencentes aos táxons de bactérias Saprospiraceae (Bacteroidetes), Anaerolineaceae (Chloroflexi), Rhodothermaceae (Bacteroidetes), Tepidisphaeraceae (Planctomyce), e uma família não identificada de cada filo Armatimonadetes (Classe Cronomonadetes) e Latescibacteria (classe não

identificada) estão negativamente relacionadas à condutividade elétrica e matéria orgânica e positivamente relacionadas à NH_3 e pH. E Bacillaceae (Firmicutes), JG30-KF-CM45 (Cloroflexi) e Vininamibacterceae (Acidobacteria) são o oposto. Hyphomicrobiaceae (Proteobacteria), Termomicrobiales (Cloroflexi), Gemmataceae (Planctomycetes), Isospharaceae (Planctomycetes), Xanthobacteraceae (Proteobacteria), Oxalobacteraceae (Proteobacteria), duas famílias não identificadas do filo Cloroflexi (Classes TK10 e KD4-96) e uma família não identificada do filo Acidobacteria (Classe SubGrupo 6) estão negativamente correlacionadas com P.

Para entender melhor o efeito do tipo de água e dos tratamentos de desinfecção na seleção de táxons dos domínios Bacteria e Archaea, realizamos uma análise diferencial dos dados da contagem das OTU, baseada na distribuição binomial negativa, comparando FW com WW e WW com AOP, HYP, PAA e UV, individualmente. A Figura 4-8 mostra a abundância relativa das OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em cada comparação. O impacto do tipo de água e do tratamento de desinfecção foi mais significativo em OTU sub-dominantes, que correspondiam a menos de 15% da abundância relativa da comunidade.

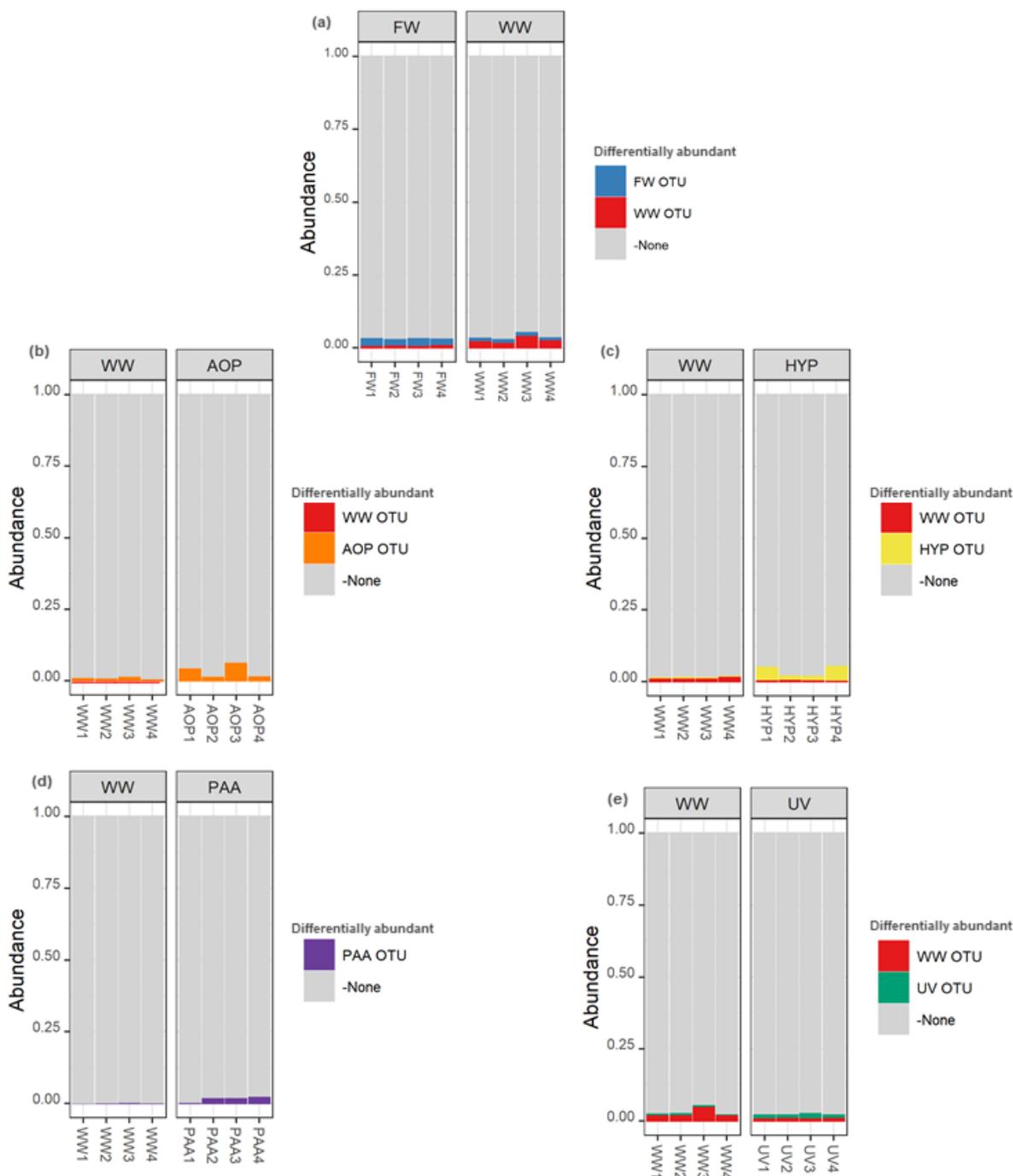


Figura 4-8: Abundância relativa de OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$), com base na distribuição binomial negativa. (a) Comparação entre solo irrigado com WW e solo irrigado com FW; (b) Comparação entre solo irrigado com AOP e solo irrigado com WW; (c) Comparação entre o solo irrigado com HYP e o solo irrigado com WW; (d) Comparação entre solo irrigado com PAA e solo irrigado com WW; (e) Comparação entre solo irrigado com UV e solo irrigado com WW.

FW OTU: OTU significativamente mais abundantes em solo irrigado com FW; WW OTU: OTU significativamente mais abundantes em solo irrigado com WW; HYP OTU: OTU significativamente mais abundantes em com solo irrigado com HYP; PAA OTU: OTU significativamente mais abundantes em solo irrigado com PAA; AOP OTU: OTU significativamente mais abundantes em solo irrigado com AOP; UV OTU: OTU significativamente mais abundantes em solo irrigado com UV.

Para visualizar os táxons selecionados pelo tipo de água e pelos tratamentos de desinfecção foram construídos gráficos de dispersão baseados na análise diferencial de abundância.

Comparando WW com FW, a maior parte das OTU diferencialmente abundantes em solo irrigado com WW foram afiliadas a famílias do filo Proteobacteria (Figura 4-9), como Cellvibrionaceae, uma família produtora de celulose, geralmente encontrada em solos (RANALLI; ZANARDINI; SORLINI, 2019); Micropepsaceae, uma família envolvida no ciclo do carbono (BEHNKE et al., 2021); Burkholderiaceae, uma família degradadora de matéria orgânica, onipresente em diversos ambientes poluídos por esgoto, que também tem sido associada à degradação de contaminantes na rizosfera (CARRIÓN et al., 2018; KATOR; RHODES, 2003; WORRICH; WICK; BANITZ, 2018); Sphingomonadaceae, família associada a solos enriquecidos com nutrientes (YANG et al., 2019); Nitrosomonadaceae, família de bactérias nitrificantes (PROSSER; HEAD; STEIN, 2014); Rhodanobacteraceae, com membros capazes de realizar desnitrificação heterotrófica (DE ALMEIDA FERNANDES et al., 2018); e três famílias fixadoras de nitrogênio, Rhizobiaceae, Devosiaceae e Xanthobacteraceae, pertencentes à ordem Rhizobiales (FRANCHE; LINDSTRÖM; ELMERICH, 2009; OREN, 2014a).

Wu et al. (2021) observaram uma correlação positiva entre o aumento na abundância relativa das famílias Sphingomonadaceae, Xanthobacteraceae, Rhizobiaceae e os níveis adubação nitrogenada. Os autores também correlacionaram a abundância de Nitrosomonadaceae com a concentração de NO_3 no solo (WU et al., 2021). Neste estudo, o solo irrigado com FW não recebeu nenhum fornecimento de nitrogênio, enquanto a taxa de aplicação de nitrogênio no solo irrigado com WW foi em média 742,0 g por vaso, ao longo do experimento, o que pode explicar a maior abundância dessas famílias no solo irrigado com WW.

Os membros do filo Proteobacteria são tipicamente copiotróficos e abundantes em solos ricos em matéria orgânica facilmente disponível (DANG et al., 2019; NEMERGUT et al., 2010). O aumento em sua abundância é geralmente observado em solos irrigados com águas residuais (BASTIDA et al., 2017; BROSZAT et al., 2014; DANG et al., 2019; FRENK; HADAR; MINZ, 2014; GUO et al., 2017; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018). No entanto, como um grupo metabolicamente diverso, também observamos algumas OTU afiliadas a famílias do filo Proteobacteria mais abundantes em solo irrigado com FW (Figura

4-9), como Thioalkalispiraceae, uma família de oxidantes de enxofre (MARCOS et al., 2018), Rhodocyclaceae, que oxida uma gama de açúcares simples e ácidos orgânicos (OREN, 2014b), Archangiaceae, bactérias fixadoras de nitrogênio comumente distribuídas no solo (MASUDA et al., 2020); e duas famílias não cultivadas das classes Gamma e Deltaproteobacteria.

Chloroflexi é outro filo metabólica e ambientalmente diverso, com membros identificados como diferencialmente abundante nos solos irrigados com os dois tipos de tratamento (Figura 4-9). Membros da família fotossintética autotrófica Chloroflexaceae estavam mais abundantes em solo irrigado pela WW (GUPTA, 2013), e membros das ordens pouco conhecidas Ardenticatenales, SBR1031 e RBG-13-54-9 e da família Anaerolineacea foram identificados como mais abundantes no solo irrigado com FW (Figura 4-9). Membros desses últimos grupos já foram relacionados a solos com baixo teor de nutrientes (BEHNKE et al., 2021; FREY et al., 2021).

Identificamos membros da família Leptolyngbyaceae, pertencente ao filo Cyanobacteria em solos irrigados com ambos os tipos de água (Figura 4-9). O gênero *Leptolyngbya* foi mais abundante no solo irrigado com WW. As espécies deste gênero têm sido observadas em ETE e em biofilmes de gotejadores utilizados em sistemas de irrigação com efluentes, e estão associadas à tolerância à salinidade (FURTADO et al., 2009; LEQUETTE; AIT-MOUHEB; WÉRY, 2019; MAITY et al., 2014). O gênero *Oscillatoria*, mais abundante no solo irrigado com FW, pode promover a fixação de carbono e o acúmulo de nutrientes (ZHANG et al., 2018). A maior abundância desse gênero no solo irrigado com FW pode ser uma estratégia para superar as limitações N do solo, como observado anteriormente em solos de cultivo de arroz pobres em N (HOQUE et al., 2001).

A família Rubritaleaceae, era mais abundante em solos irrigado com WW, enquanto a família Opitutaceae estava em maior proporção em solo irrigado com FW (Figura 4-9), ambas pertencentes ao filo do Verrucomicrobia. Este é um filo encontrado em diversos biomas, incluindo o solo, no entanto, suas adaptações e funções permanecem não esclarecidas, uma vez que a proporção de membros cultivados é baixa (BÜNGER et al., 2020).

As OTU afiliadas aos membros do filo Actinobacteria foram mais abundantes em solo irrigado com WW (Figura 4-9), ao contrário do observado por outros autores, que relataram uma diminuição de Actinobacteria em solos irrigados

com águas residuais (BASTIDA et al., 2017; BROSZAT et al., 2014; ELIFANTZ et al., 2011; FRENK; HADAR; MINZ, 2014; WAFULA et al., 2015). Entretanto, a classificação a nível de filo não indica processos metabólicos específicos ou uma resposta específica aos padrões espaciais, portanto, especialmente para um grupo altamente diverso como Actinobacteria, uma classificação taxonômica mais explicativa deve ser usada para entender melhor as mudanças na composição microbiana (FRENK; HADAR; MINZ, 2014; VAN BERGEIJK et al., 2020). Analisando táxons mais específicos, o resultado aqui observado é completamente compreensível. As OTU diferencialmente abundantes em solo irrigado com WW são afiliados às famílias Nocardioideae, Intrasporangiaceae, e a uma família não identificada da classe Acidimicrobia, todas já isoladas em ETE (HU; CHA; GAO, 2018; PENG et al., 2018; ŚWIĄTCZAK; CYDZIK-KWIATKOWSKA; ZIELIŃSKA, 2019). De acordo com Bastida et al. (2017), que relataram que alguns microrganismos encontrados em águas residuais e ETE podem persistir no solo.

OTU afiliadas a uma família não identificada da ordem Frankiales também eram mais abundantes em solo irrigado com WW. Alguns membros desta ordem são fixadores de nitrogênio simbiotes, encontrados em nódulos nas raízes de plantas vasculares, mas, até o momento, nenhum estudo relatou sua associação à raiz do trigo (FRANCHE; LINDSTRÖM; ELMERICH, 2009; NORMAND; FERNANDEZ, 2020).

Do filo Gemmatimonadetes, a família Gemmatimonadaceae estava em maior número em solo irrigado com WW (Figura 4-9). Dentro dessa família, há membros do gênero *Gemmatimonas* que são um organismo redutores de N_2O . N_2O é um potente gás do efeito estufa e agente destruidor da camada de ozônio, produzido, principalmente, pela transformação biológica do N presente em fertilizantes aplicados em solos agrícolas, mesmo quando a fertirrigação com efluentes é usada (WAFULA et al., 2015; ZHOU et al., 2011). A nitrificação produz N_2O como subproduto da oxidação da amônia, e a desnitrificação emite N_2O como um intermediário estável ou produto final (PARK; KIM; YOON, 2017). Os organismos redutores de N_2O são os únicos dissipadores biológicos de N_2O no ambiente, desempenhando um papel importante no controle do aquecimento global. A maior abundância de *Gemmatimonas* em solo irrigado com WW pode indicar um equilíbrio no solo que recebeu nitrogênio, como relatado anteriormente, identificamos no

mesmo solo famílias de bactérias envolvidas nas fases anteriores do ciclo do nitrogênio.

Ainda dentro do filo Gemmatimonadetes, a família oligotrófica Longimicrobiaceae (PASCUAL et al., 2016) foi observada em maior abundância em solos irrigados com FW (Figura 4-9).

A ordem Saccharimonadales, do filo Patescibacteria, geralmente correlacionada com locais ricos em nutrientes (MASON et al., 2021; SHI et al., 2021), foi mais abundante em solos irrigados com WW. O mesmo foi observado para a família Vicinamibacteraceae, do filo Acidobacteria, um clado comum em solos (HUBER et al., 2016), e para o filo de bactérias não cultivadas WPS-2 (recentemente proposto como Candidatus Eremiobacterota) (Figura 4-9).

OTU afiliadas a uma família pouco conhecida do filo Planctomycetes foram mais abundantes em solos irrigados com FW (Figura 4-9).

A família arqueas oxidante de amônia Nitrososphaeraceae, do filo de Thaumarchaeota foram mais abundantes em solos irrigados com FW. Estudos ecofisiológicos deste táxon sugerem adaptação a baixas concentrações de amônia e demonstraram uma correlação negativa com carbono orgânico, o que justifica sua abundância diferencial em solos irrigados com FW (FREY et al., 2021; KEROU; SCHLEPER, 2016; PESTER; SCHLEPER; WAGNER, 2011). Outra família de arqueas, Woesearchaeia, do filo Nanoarchaeaeota também estavam presentes em maior número no solo irrigado com FW. Os membros dessa família, geralmente, estão negativamente associados à salinidade, explicando sua distribuição neste estudo (WANG et al., 2019).

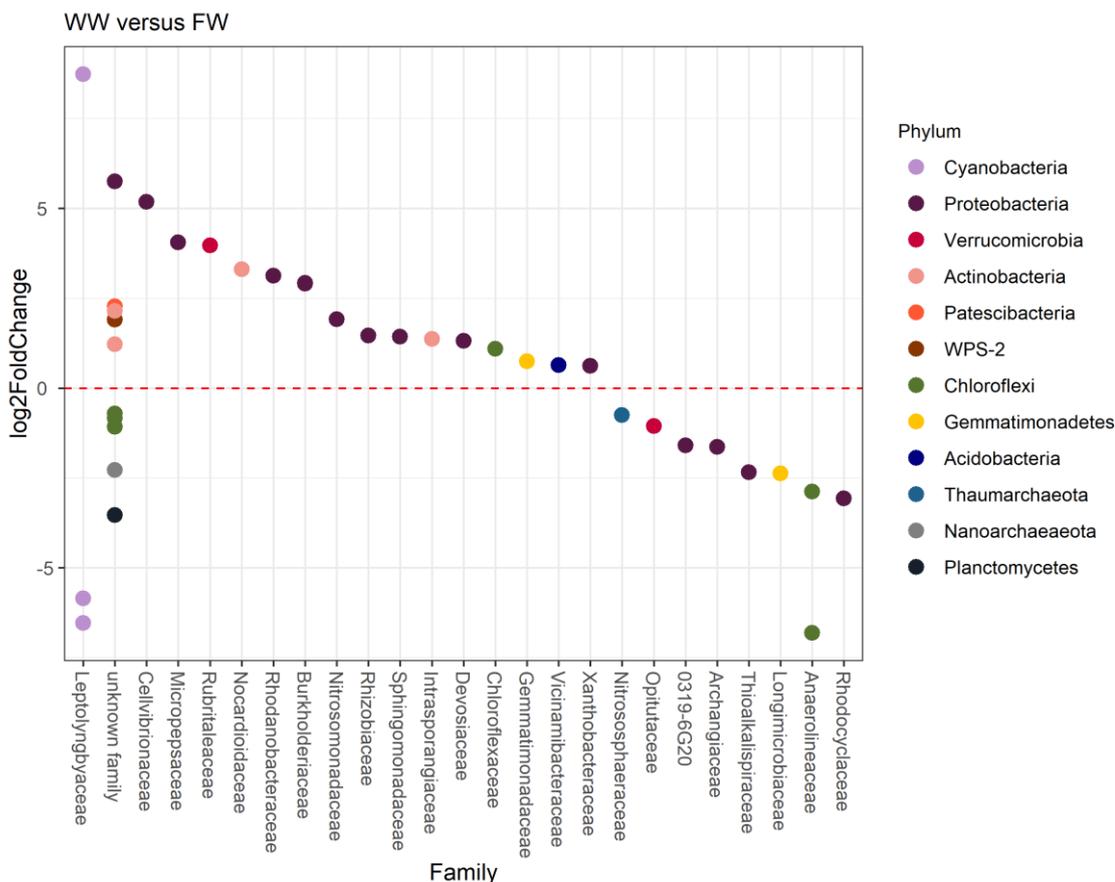


Figura 4-9: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com WW e em solo irrigado com FW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de $\log_2 \text{fold change}$ correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com FW.

Comparando HYP com WW, a irrigação com efluente desinfetado com cloro (HYP) selecionou principalmente OTU dos filos Cyanobacteria e Chloroflexi (Figura 4-10). Alguns membros desses filos podem degradar compostos organoalogenados, como trialometano, um subproduto da desinfecção com cloro (KASSOUF et al., 2018; KURITZ, 1998; MAILLARD; WILLEMEN, 2019; ROBERT et al., 2001). Por exemplo, em ambientes com alta concentração de nitrato, membros da família de Cyanobacteria Nostocaceae usam seu sistema de redução de nitrato para metabolizar compostos orgânicos clorados (KURITZ, 1998).

No solo irrigado com WW, identificamos a maior abundância de duas famílias do filo Proteobacteria relacionadas ao ciclo do nitrogênio: Rhodomicrobiaceae, fixadora de nitrogênio e Steroidobacteraceae, desnitrificante; e também três famílias de Actinobacteria, geralmente relacionadas à adição de nitrogênio inorgânico no solo: Micromonosporaceae, Streptosporangiaceae, e Pseudonocardaceae (FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ et al., 2019; TRUJILLO; HONG;

GENILLOUD, 2014) (Figura 4-10). O que pode sugerir uma redução da ciclagem de nutrientes e potenciais problemas biológicos na saúde do solo irrigado com HYP.

As OTU afiliadas ao grupo de bactérias não cultivadas S0134, do filo Gemmatimonadetes, e à família Archangiaceae do filo Proteobacteria eram mais abundantes no solo irrigado por HYP e, OTU afiliadas à pouco conhecida família Vicinamibacteraceae do filo Acidobacteria foram diferencialmente abundantes no solo irrigado com WW (Figura 4-10).

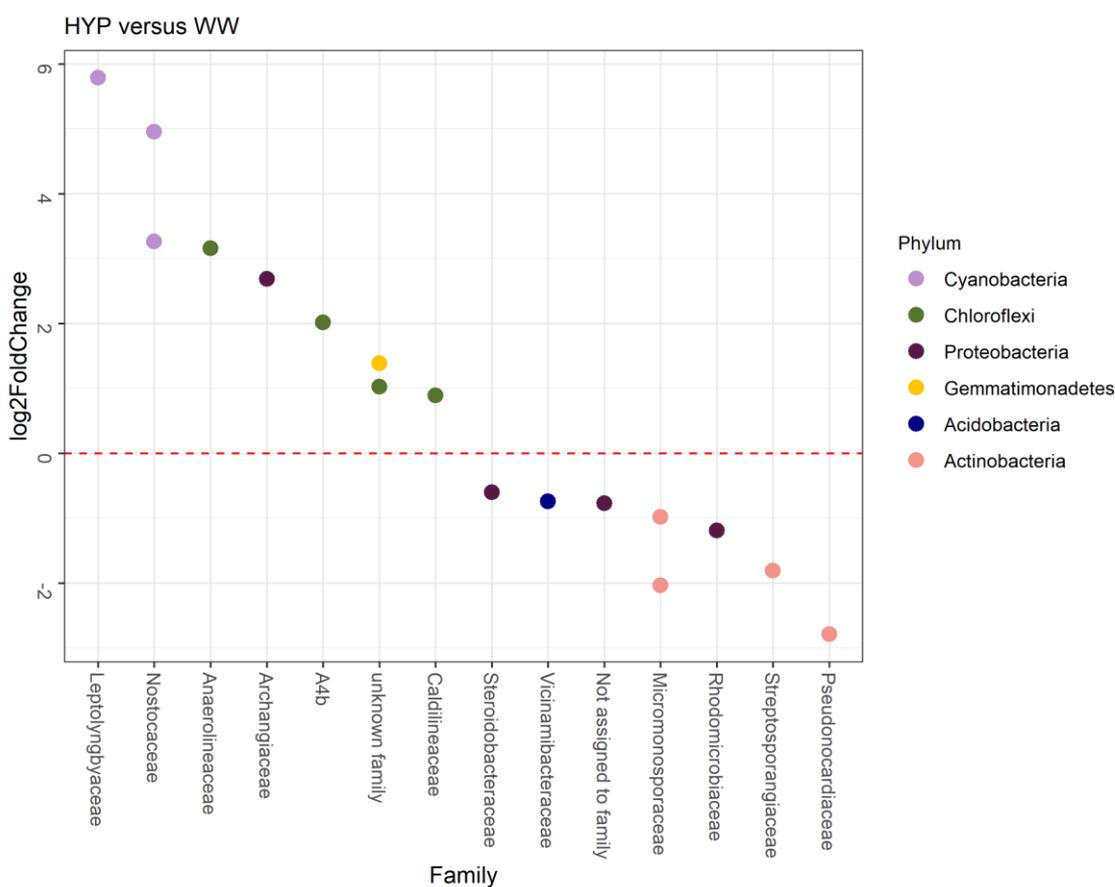


Figura 4-10: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com HYP e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de $\log_2 \text{fold change}$ correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com HYP e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW.

A comunidade do solo irrigado com efluente desinfetado com ácido peracético (PAA) apresentou apenas seis OTU diferencialmente abundantes, afiliadas aos filios Proteobacteria e Cyanobacteria, em comparação ao solo irrigado com WW (Figura 4-11). As famílias de Proteobacteria Sphingomonadaceae, Burkholderiaceae, Rhodobacteraceae e Azospirillaceae, são catalase-positivas (CARRIÓN et al., 2018; ONORI et al., 2018; PUJALTE et al., 2014; SHARMA et al.,

2021). A catalase é a enzima responsável pela proteção, interceptação e reparação de microrganismos contra peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um dos produtos da decomposição do ácido peracético. Dessa forma, a catalase pode ter contribuído para a sobrevivência dos organismos em um ambiente submetido à desinfecção com ácido peracético (PARDIECK; BOUWER; STONE, 1992).

Membros do filo Cyanobacteria também possuem mecanismos eficazes de proteção, como as enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase para evitar danos oxidativos de espécies reativas de oxigênio (ROS), que incluem o radical hidroxila, um forte oxidante gerado pela dissociação fotocatalítica do H_2O_2 (RASTOGI et al., 2014). O que explica a abundância diferencial desse grupo de bactérias no solo irrigado com PAA, em comparação com o irrigado com WW (Figura 4-11).

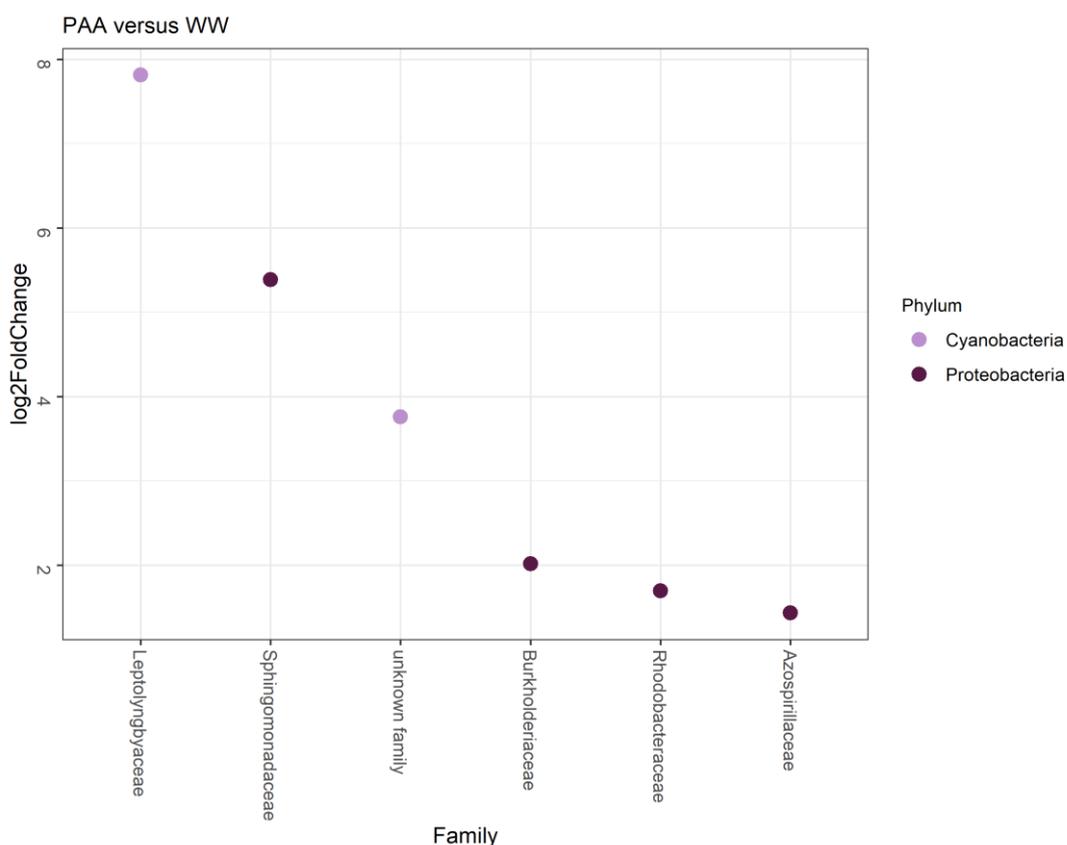


Figura 4-11: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com PAA e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de log 2 fold change correspondem às OTU diferencialmente mais abundantes no solo irrigado com PAA e os valores negativos às OTU diferencialmente mais abundantes no solo irrigado com WW.

Da mesma forma, vemos 8 OTU afiliadas a membros do filo Cyanobacteria mais abundantes no solo irrigados com as águas residuais desinfetadas pelo processo oxidativo avançado $H_2O_2/UV-LED$ (AOP) (Figura 4-12). Na verdade, todas as OTU diferencialmente abundantes no solo irrigado por AOP foram afiliadas a táxons de bactérias que apresentam enzimas que atuam na proteção contra as ROS: Nocardioideaceae (Actinobacteria), Sphingomonadaceae (Proteobacteria), Xanthomonadaceae (Proteobacteria), Blastocatellaceae (Acidobacteria) (DENNER; KÄMPFER; BUSSE, 2015; DU et al., 2020; WIRGOT et al., 2017; YU et al., 2015).

Apenas três OTU foram mais abundantes no solo irrigado pela WW, em comparação com o irrigado com AOP. Uma família desconhecida do filo Chloroflexi e duas afiliadas ao filo Firmicutes, Clostridiaceae (*Clostridium*) e Paenibacillaceae (*Aneurinibacillus*) (Figura 4-12). Ambos os gêneros são bactérias formadoras de esporos, geralmente encontradas em ETE (NIKAEEN et al., 2015; SKARIYACHAN et al., 2018). Sua maior abundância em solo irrigado pelo WW pode indicar que o tratamento com o processo oxidativo avançado foi eficaz contra microrganismos resistentes, presentes no efluente. Estudos anteriores também observaram a baixa resistência de membros do filo Firmicutes a processos oxidativos avançados (DU et al., 2020; WANG et al., 2017).

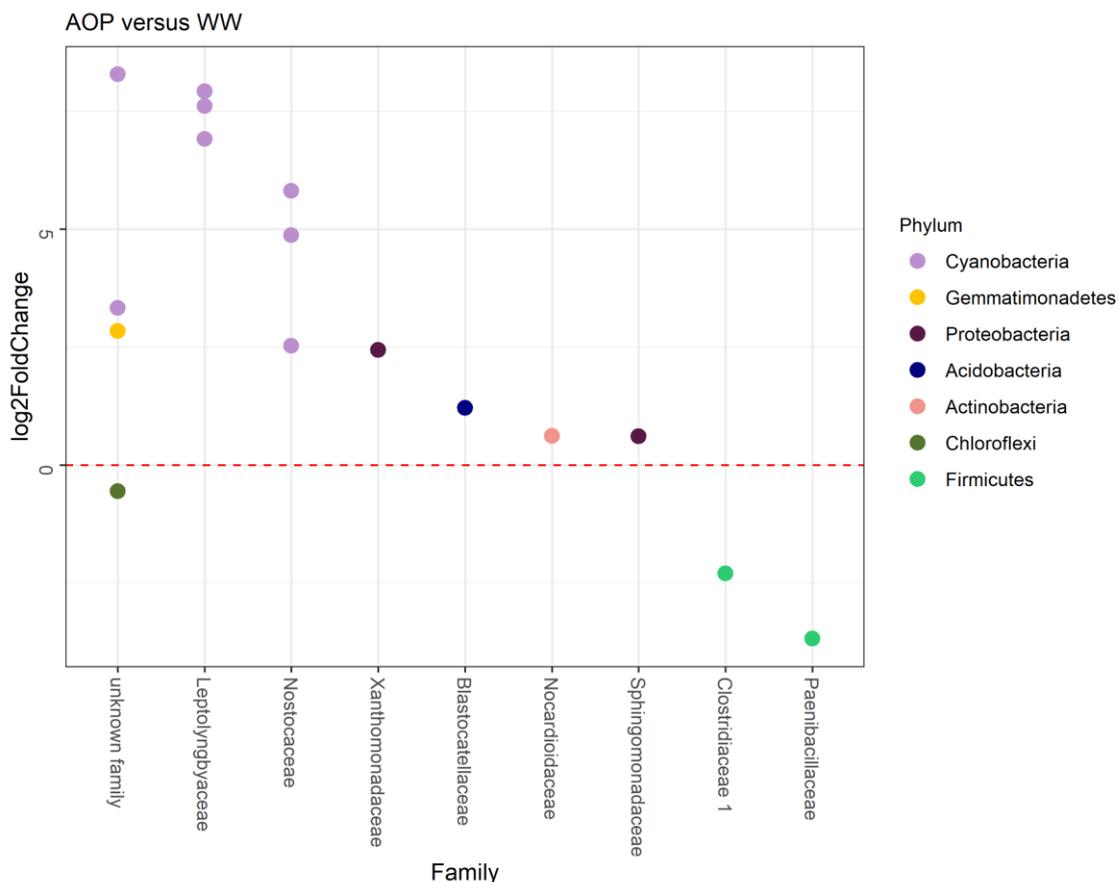


Figura 4-12: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com AOP e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de $\log_2 \text{fold change}$ correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com AOP e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW

A radiação UV-LED parece ter eficácia semelhante contra membros do filo Firmicutes, uma vez que OTU afiliados a este filo foram significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW, em comparação com o irrigado com UV (Figura 4-13). De acordo com Cui et al. (2020), que relataram uma diminuição dos membros desse filo em efluentes desinfetadas com radiação ultravioleta.

Por outro lado, no solo irrigado por UV, identificamos OTU afiliados à bactérias resistentes à radiação ultravioleta, como os membros das famílias Microscillaceae e Saprospiraceae, de filo Bacteroidetes, e Phycisphaeraceae, do filo Planctomycetes (ORDOÑEZ et al., 2009; VIANA; LAGE; OLIVEIRA, 2013) (Figura 4-13). O último é geralmente encontrado em águas residuais tratadas, mas raramente detectado em solo agrícola (BECERRA-CASTRO et al., 2015).

Além de Firmicutes, OTU identificados como mais abundantes no solo irrigado com WW foram afiliados aos táxons: ordem Oxyphotobacteria (famílias Leptolyngbyaceae e uma família não identificada), do filo Cyanobacteria; ordem

TK10 (família desconhecida) e a família não cultivada JG30-KF-CM45 ambas do filo Chloroflexi; a família Gemmataceae, do filo Planctomycetes; e alguns táxons relacionados ao ciclo de nitrogênio: famílias Intrasporangiaceae, Streptosporangiaceae e Pseudonocardiaaceae, do filo Actinobacteria; família Xanthobacteraceae, do filo Proteobacteria; família Gemmatimonadaceae, do filo Gemmatimonadetes; e a família Nitrososphaeraceae, do filo de arqueas Thaumarchaeota (Figura 4-13).

Curiosamente, o solo irrigado por UV apresentou mais OTU afiliados a táxons pouco conhecidos, como a ordem Rokubacteriales (família desconhecida) do filo Rokubacteria; Subgrupo 17 (família desconhecida), do filo Acidobacteria; família Geminococcaceae, do filo Proteobacteria; ordem Ardenticatenales (família desconhecida), do filo Chloroflexi; grupo terrestre S0134 não cultivado, do filo Gemmatimonadetes; um membro não identificado do filo Latescibacteria; família mle1-27 não cultivada do filo Proteobacteria; ordem AKAU4049 do filo Gemmatimonadetes; e a família Opitutaceae, do filo Verrucomicrobia (Figura 4-13).

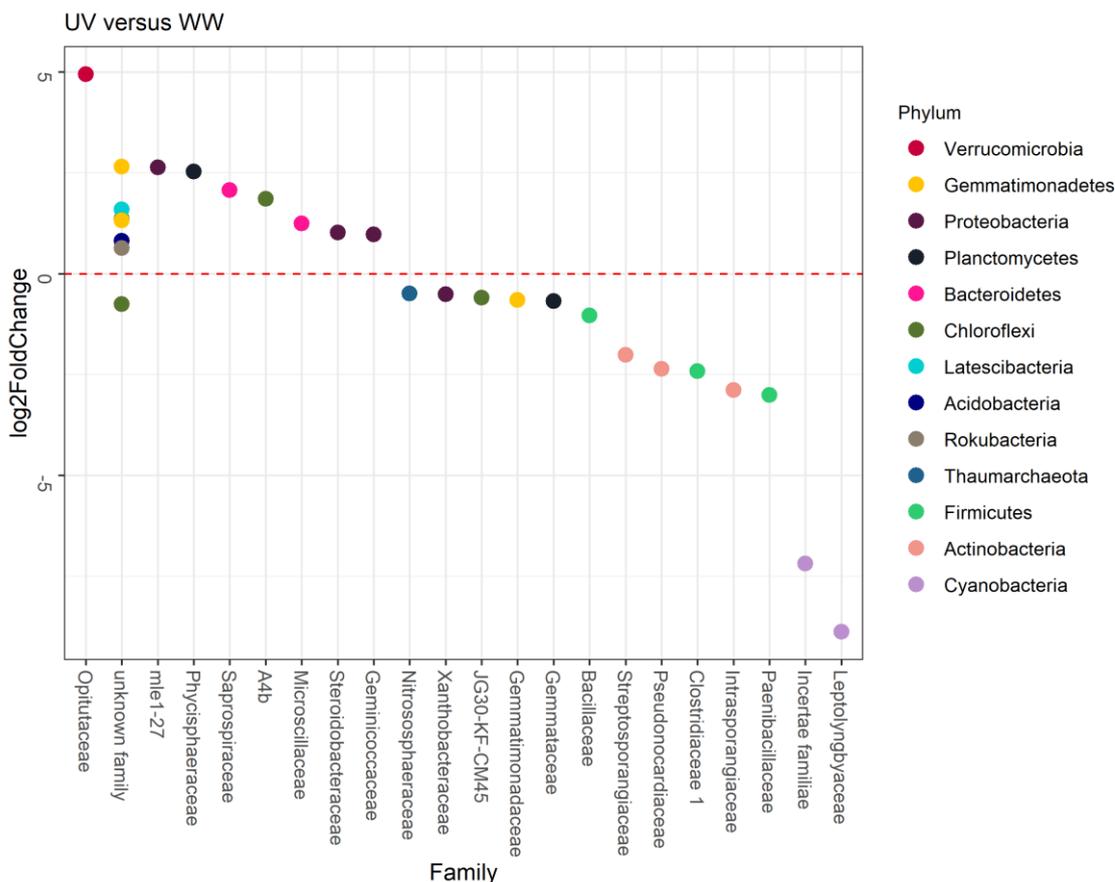


Figura 4-13: OTU diferencialmente abundantes ($p < 0,05$) em solo irrigado com UV e em solo irrigado com WW, baseado na distribuição binomial negativa, apresentados de acordo com sua filiação taxonômica. Os valores positivos de log 2 fold change correspondem às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com UV e os valores negativos às OTU significativamente mais abundantes no solo irrigado com WW

O diagrama de Venn ilustrado na Figura 4-14 ajuda a visualizar os táxons diferencialmente abundante únicos e compartilhados entre os solos irrigados com os diferentes tratamentos de desinfecção. O tratamento com UV selecionou o maior número de táxons; 19 táxons foram diferencialmente abundantes exclusivamente no solo irrigado com UV. A possível razão pode ser que a mudança da comunidade bacteriana do efluente durante a desinfecção com radiação ultravioleta desempenhou um papel importante na formação da estrutura da comunidade do solo, através da eliminação de bactérias e arqueas sensíveis e enriquecendo as resistentes, como observado por outros autores (HU et al., 2016; HUANG et al., 2018; PULLERITS et al., 2020).

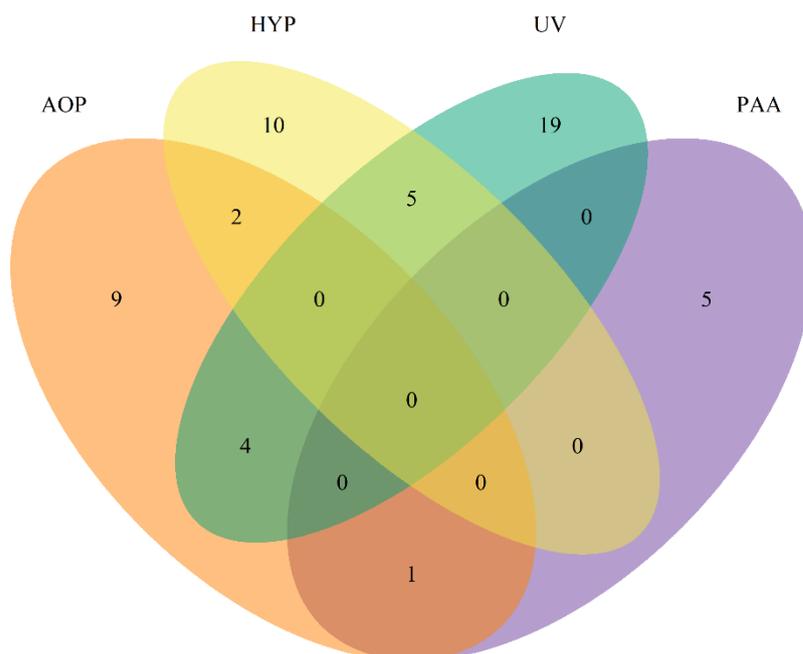


Figura 4-14: Diagrama de Venn para resumir as OTU diferencialmente abundantes, únicas e compartilhadas entre os solos irrigados com efluente submetido aos diferentes desinfetantes

Apesar dos pequenos impactos causados pelos tratamentos de desinfecção nas propriedades físico-químicas do solo e no rendimento do trigo, os tratamentos desempenharam um papel importante na composição da comunidade microbiana, impactando principalmente os táxons menos abundantes.

Conforme relatado por Bastida et al. (2017), Broszat et al. (2014) e Ibekwe, Gonzalez-Rubio, Suarez (2018), também observamos a persistência de microrganismos provenientes de águas residuais no solo. No entanto, os tratamentos de desinfecção com processo oxidativo avançado H_2O_2/UV -LED e radiação UV-LED tiveram um papel importante eliminando algumas bactérias formadoras de esporos potencialmente patogênicas, pertencentes ao filo Firmicutes, conhecidas pela alta resistência à cloração, geralmente encontradas em amostras de águas residuais. Ibekwe, Gonzalez-Rubio, Suarez (2018) ao detectarem a presença de Firmicutes potencialmente patogênicos em solos irrigados com efluente, chamaram a atenção para o perigo da irrigação com águas residuais sem um tratamento adequado de desinfecção.

No geral, a irrigação com efluentes aumentou a abundância de organismos degradadores de matéria orgânica e, principalmente, famílias envolvidas

no ciclo do nitrogênio, seguindo estudos anteriores, devido ao aporte de compostos nitrogenados, em comparação com a água da torneira (FRENK; HADAR; MINZ, 2014; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018; OVED et al., 2001; TSIKNIA; TZANAKAKIS; PARANYCHIANAKIS, 2013; WAFULA et al., 2015; ZHOU et al., 2011). Entretanto, a irrigação com os tratamentos UV e HYP selecionaram algumas bactérias relacionadas ao ciclo do nitrogênio, o que pode afetar a fertilidade do solo a longo prazo.

4.5. CONCLUSÕES

- As mudanças nas propriedades físico-químicas do solo foram mais evidentes devido à irrigação com efluente em comparação com a irrigação com a água de torneira.
- A adição de uma etapa de desinfecção com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio), ácido peracético, radiação UV-LED, ou com processo oxidativo avançado H_2O_2 /UV-LED não interferiu diretamente nas características avaliadas do solo.
- Apesar do aumento do pH e da condutividade elétrica causados pela irrigação com efluente, a capacidade tampão do solo manteve o pH dentro da faixa ideal para o desenvolvimento da planta em todos os seis tratamentos e, ao final do experimento, o solo foi classificado como não-salino.
- O acúmulo de nitrato no solo deveu-se à alta concentração de amônia no efluente utilizado para irrigação. A taxa de nitrificação do solo foi maior do que a taxa de absorção de nitrato pela cultura de trigo, demonstrando a importância de considerar não apenas a demanda de água da planta, mas também a demanda de nutrientes, quando o efluente é usado para irrigação.
- A irrigação com efluente teve um efeito positivo no desenvolvimento e na produtividade do trigo. E os tratamentos de desinfecção não impactaram o rendimento da cultura. A ausência de acúmulo de fósforo e nitrogênio total no solo indica que a planta utilizou todo o nutriente fornecido pelo efluente para seu desenvolvimento.
- A comunidade microbiana, principalmente os táxons menos abundantes, foram mais sensíveis à ação dos tratamentos sobre o solo, e tanto o tipo de

água, quanto os tratamentos de desinfecção influenciaram a composição da comunidade microbiana dos solos que receberam os diferentes tratamentos.

- A irrigação com efluente aumentou a abundância de organismos degradadores de matéria orgânica e, principalmente, famílias envolvidas no ciclo do nitrogênio, em comparação com a água de torneira. Além disso, observamos a persistência de algumas bactérias típicas de esgoto no solo, incluindo alguns potenciais grupos patogênicos.
- A desinfecção com radiação UV desempenhou um papel importante na formação da estrutura da comunidade das bactérias do solo, 19 táxons foram diferencialmente abundantes no solo irrigado UV, a maioria pertencente a grupos pouco conhecidos pela comunidade científica, o que dificulta a avaliação das possíveis consequências dessa seleção.
- Bactérias e arqueas com mecanismos de resistências aos desinfetantes foram mais abundantes nos solos irrigados pelo efluente tratado com o desinfetante em questão.
- A presença de bactérias degradadoras de DBP em solos irrigados com HYP acende o alerta para o uso de cloro para desinfecção de água de reúso
- O uso de efluente tratado com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio) e radiação UV-LED pode afetar a fertilidade do solo a longo prazo, em função da diminuição da abundância de bactérias relacionadas ao ciclo do nitrogênio.

CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1. DISCUSSÃO GERAL

Os desinfetantes aqui avaliados apresentaram um bom desempenho na formação de danos na parede dos cistos de *Giardia* inoculados em amostras de efluente. O POA H₂O₂/UV-LED (103 mJ cm⁻² / 15 mg L⁻¹) apresentou a melhor eficácia, sendo capaz de danificar 78% dos cistos, seguido pelo ácido peracético (40 mg L⁻¹, por 30 minutos), que causou danos à parede de 71% dos cistos e pelo cloro, 65% de cistos danificados (40 mg L⁻¹, por 30 minutos). Mesmo o tratamento com UV-LED (103 mJ cm⁻²), que provavelmente teve a eficácia subestimada pelo método utilizado para avaliação da viabilidade, apresentou 61% de efetividade.

A proteção da saúde da população é uma das principais preocupações referentes ao uso de efluentes para irrigação agrícola. Guias e regulamentações fornecem procedimentos específicos para reduzir os riscos de contaminação microbiana das culturas. Os regulamentos especificam processos de tratamento, padrões de qualidade da água e regimes de monitoramento que minimizam os riscos do uso do efluente tratado para irrigação de plantações que são consumidas por humanos (USEPA, 2012).

Embora algumas legislações sejam bastante restritivas, como na Itália (MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA TUTELA DEL TERRITORIO, 2003), e nos estados norte-americanos da Califórnia (CALIFORNIA DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH, 2014) e da Flórida (FLORIDA ADMINISTRATIVE CODE, 2009), que seguem uma abordagem de “risco zero”, os guias da OMS (WHO, 2006a), da EPA (USEPA, 2012) e da União Europeia (EUROPEAN COMMISSION, 2018) usam a abordagem “múltiplas barreiras”, que enfatiza o papel de todas as etapas da cadeia do reúso na diminuição dos riscos aos quais usuários, consumidores e população ao entorno estão expostos. A restrição de culturas e escolha de técnicas de irrigação específicas, dependendo da qualidade da água de reúso, também fazem parte das medidas para diminuição de riscos (WHO, 2006a).

Considerando que a concentração média de cistos de *Giardia* no esgoto bruto da cidade de Campinas, reportada previamente na literatura, gira em torno de 10⁴-10⁵ cistos L⁻¹ (CANTUSIO NETO et al., 2010; LEONEL et al., 2016) e que a

concentração de cistos de *Giardia* no efluente da ETE Barão Geraldo é em média 10^3 cistos L^{-1} (Tabela 3-3), podemos inferir que o tratamento empregado na ETE (UASB + Filtro Biológico Percolador) é capaz de reduzir a concentração de cistos em 1-2 log. Com a adição da etapa de desinfecção, com um dos tratamentos utilizados neste estudo, a eficiência do processo pode chegar a 2-3 log, considerando a concentração de cistos viáveis obtidos contabilizados ao microscópio após os tratamentos de desinfecção (item 3.2.7).

O guia da OMS recomenda, para irrigação irrestrita (culturas consumidas *in natura*), uma redução de 6-7 log para vírus, bactérias e protozoários patogênicos e, para irrigação restrita (culturas consumidas após algum tipo de processamento) a redução de 2-3 log, para que a meta de 10^{-6} DALY³ (ano de vida ajustado por incapacidade, sigla em inglês para *Disability Adjusted Life-Year*) seja atingida, e dessa forma, assegurar o reúso seguro do efluente. O guia ressalta que diferentes combinações de medidas de proteção à saúde devem ser usadas para atingir a meta, como a combinação entre tratamento do efluente e o uso de irrigação por gotejamento, que pode garantir uma redução de até 6 log, desde que o tratamento utilizado reduza no mínimo 2 log e a cultura irrigada não cresça rente ao solo (WHO, 2006a).

O efluente produzido pelos tratamentos avaliados nessa pesquisa pode ser usado seguramente, atendendo a meta de 10^{-6} DALY para giardíase, para irrigar culturas que cresçam longe do solo, utilizando-se irrigação por gotejamento e/ou culturas que sejam cultivadas em sistemas agrícolas altamente mecanizados, com o mínimo de contato do trabalhador rural com o efluente.

Cabe destacar que a adição de uma etapa de desinfecção é recomendada, independente de outras medidas protetivas, para evitar consequências adversas à saúde por contato inadvertido ou uso indevido acidental ou intencional do sistema de reúso do efluente (USEPA, 2012; EUROPEAN COMMISSION, 2018; WHO, 2006a). O uso de desinfetantes em dosagens que sejam eficazes contra patógenos resistentes é importante para evitar uma falsa sensação de segurança quanto ao efluente em uso. Em uma pesquisa prévia realizada pelo nosso grupo de pesquisa, com exceção do POA que não foi avaliado na ocasião, os

³ Disability Adjusted Life-Year (DALY) ou anos de vida perdidos ajustados por incapacidade corresponde a um indicador para medir o efeito da mortalidade e dos problemas de saúde de um indivíduo após um caso de doença. Em outras palavras, 1 DALY é equivalente a 1 ano de vida sadia perdido (WHO, 2006a).

desinfetantes aqui avaliados alcançaram mais de 4 logs de inativação de bactéria indicadoras de contaminação fecal, mesmo quando dosagens muito inferiores foram avaliadas (SILVA, 2018, SILVA; LEONEL; TONETTI, 2020). Alguns autores afirmam que a inativação de 4 log de *E. coli* são suficientes para alcançar uma meta de carga de doença viral (rotavírus) menor que 10^{-6} DALY (BASTOS, 2008). O que indica que o efluente produzido nesse estudo é seguro não só para *Giardia*, mas também quanto a outros patógenos resistentes.

Apesar da proteção da saúde humana contra a contaminação por microrganismos patogênicos ser prioridade, os impactos ambientais causados pela irrigação com efluente também devem ser considerados. Mudanças nas características físico-química e na composição da comunidade microbiana do solo estão diretamente relacionadas à fertilidade e, conseqüentemente, à produtividade dos sistemas agrícolas.

Dessa forma, os guias e regulamentações também estabelecem parâmetros de qualidade físico-química para a água de reúso (Tabela 2-6). Considerando os parâmetros físico-químicos monitorados nessa pesquisa (Tabela 4-2), o efluente gerado pela ETE Barão Geraldo atende aos padrões estabelecidos pelo guia da OMS (WHO, 2006a) para pH, condutividade elétrica, sólidos totais e nitrogênio total. E, a adição da etapa de desinfecção não alterou significativamente nenhum desses parâmetros, para nenhum dos tratamentos avaliados (Tabela 4-2).

Mesmo quando o efluente utilizado para irrigação atende aos padrões preconizados, o monitoramento das características do solo faz parte do manejo sustentável do reúso agrícola, uma vez que cada sistema apresenta características únicas (MAASS; GRUNDMANN, 2016).

A avaliação do solo ao final de um ciclo de cultivo do trigo demonstrou que a adição da etapa de desinfecção com cloro (na forma de hipoclorito de cálcio) (40 mg L^{-1}), ácido peracético (40 mg L^{-1}), radiação UV-LED (103 mJ cm^{-2} ; $\lambda=255/280/400 \text{ nm}$) ou POA (15 mg L^{-1} de H_2O_2 associado a 103 mJ cm^{-2} de radiação UV-LED) não impactaram as características físico-químicas do solo, em relação ao solo irrigado com efluente não desinfetado. Enquanto a irrigação com efluente teve impactos no pH, condutividade elétrica e concentração de nitrato, em comparação ao solo irrigado com água de torneira.

É importante destacar que apesar do aumento observado, o pH do solo manteve-se dentro da faixa ideal para o desenvolvimento da planta em todos os seis

tratamentos (RECHCIGL, 2017). Já o aumento da salinidade, mesmo ao final do experimento o solo sendo classificado como não-salino, acende um alerta. Como o acúmulo de sal pode aumentar com o uso contínuo do efluente para irrigação, boas práticas de manejo, considerando a taxa de precipitação, drenagem e taxa de infiltração do solo, quantidade de matéria orgânica são essenciais para evitar a salinização (WHO, 2006a). O acúmulo de nitrato também pode ser um problema, em virtude da lixiviação e consequente contaminação das camadas profundas do solo e das águas subterrâneas (LEONEL; TONETTI, 2021). Entretanto, é um problema que pode facilmente ser evitado, basta que a demanda de nutrientes da planta seja considerada e não apenas a demanda hídrica, ao se determinar a quantidade de efluente a ser aplicado na plantação (ELLIOTT; JAISWAL, 2012).

A produtividade da cultura de trigo também sofreu influência apenas do tipo de água utilizado para irrigação (água de torneira ou efluente), em virtude do suprimento de nutrientes proporcionado pela irrigação com efluente, não sofrendo efeito do tipo de tratamento de desinfecção utilizado.

É importante ressaltar que este foi um estudo inicial de curto prazo, com pouca alteração nas propriedades físico-químicas do solo, mas pesquisas anteriores demonstraram que os efeitos da irrigação com águas residuais tornaram-se mais fortes com o tempo (ADROVER et al., 2012; BASTIDA et al., 2017; EREL et al., 2019; JARAMILLO; RESTREPO, 2017; MORUGÁN-CORONADO et al., 2013; PEDRERO et al., 2010; RUSAN; SAMI HINNAWI; ROUSAN, 2007; WAFULA et al., 2015), chamando a atenção para a necessidade de monitoramento periódico do solo que recebe a água de reúso, a fim de garantir a prática sustentável do reúso na agricultura.

As diferenças observadas na composição das comunidades microbiana dos solos que receberam os diferentes tratamentos podem, inclusive, ser um indicativo de possíveis problemas no caso de uma irrigação a longo-prazo. Como por exemplo, a menor abundância de certas bactérias relacionadas ao ciclo do nitrogênio, observada em solos que receberam efluente desinfetado com radiação UV-LED e cloro, o que, a longo prazo, pode afetar a fertilidade do solo. Inclusive, Li, Li e Zhang (2014) relataram uma diminuição do acúmulo de nutrientes no solo, em função da deposição de cloro por meio da água de irrigação.

Comparando-se o solo irrigado com efluente e o solo irrigado com água de torneira, as alterações observadas na composição da comunidade microbiana são

benéficas para a fertilidade do solo, pois estão basicamente relacionadas ao *input* de matéria orgânica, com aumento de organismos copiotróficos, e, principalmente, de nutrientes, com aumento de famílias envolvidas no ciclo do nitrogênio (Figura 4-9). Além disso, observamos a persistência de algumas bactérias típicas de águas residuais no solo, incluindo alguns potenciais grupos patogênicos (Figura 4-9), assim como já reportado na literatura (BASTIDA et al., 2017; BROSZAT et al., 2014; IBEKWE; GONZALEZ-RUBIO; SUAREZ, 2018), endossando a necessidade de uma etapa de desinfecção para o reúso agrícola de efluentes. Cabe destacar que os tratamentos com UV-LED e POA diminuíram a abundância de bactérias pertencentes ao gênero *Clostridium*, potencialmente patogênico, tipicamente encontrado em efluentes domésticos (Figura 4-12 e Figura 4-13).

Organismos que apresentam mecanismos de resistência contra determinado agente desinfetante permaneceram em maior número no solo irrigado com o efluente tratado com o desinfetante em questão. Como a maior abundância de bactérias que possuem enzimas de proteção contra as ROS nos solos irrigados com efluente desinfetado com ácido peracético (Figura 4-11) e POA (Figura 4-12), e de organismos resistentes à radiação UV, no solo que recebeu efluente tratado com UV-LED (Figura 4-13).

No solo irrigado com efluente desinfetado com cloro foi observada a maior abundância de bactérias capazes de degradar compostos organoalogenados (Figura 4-10), que podem ser formados como subprodutos da desinfecção com cloro (KASSOUF et al., 2018; KURITZ, 1998; MAILLARD; WILLEMIN, 2019; ROBERT et al., 2001), o que pode ser um indicativo da presença de DBP no solo. A presença desses compostos em solos irrigados com efluente clorado já foi relatado por Lonigro, Montemurro e Laera (2017).

Há uma preocupação emergente com o uso de águas residuais cloradas para irrigação agrícola, em função de seus efeitos genotóxicos, considerando o potencial acúmulo dos DBP nas partes comestíveis das plantas (GARRIDO et al., 2020; LONIGRO; MONTEMURRO; LAERA, 2017; LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 2018). Inclusive algumas regulamentações para o reúso agrícola restringiram o uso de cloro como agente desinfetante (ANTONELLI et al., 2013; KISTEMANN et al., 2008).

É importante salientar que apesar dos problemas referente aos DBP, em regiões sem recursos para implementação de tecnologias avançadas, como radiação UV, POA, e mesmo o ácido peracético, que apesar não exigir instalações

complexas para aplicação, seu alto custo ainda é um fator limitador para o uso em grande escala, o cloro pode e deve ser usado para o controle da disseminação de patógenos veiculados pela água. O efeito de doenças diarreicas é muito mais devastador sobre populações de regiões subdesenvolvidas do que os potenciais efeitos genotóxicos dos DBP.

A escolha do sistema de desinfecção para o tratamento da água de reúso não é tarefa fácil, deve haver um equilíbrio entre efetividade na inativação de patógenos, custo e produção de água com qualidade adequada para irrigação. É impossível estabelecer um único agente desinfetante que seja adequado aos diferentes contextos sociais, econômicos, políticos e epidemiológicos observados em diferentes partes do mundo. Cabe aos tomadores de decisão valerem-se de ferramentas como este trabalho no processo de escolha do tratamento que se adapte melhor a sua realidade.

Considerando a região onde este estudo foi desenvolvido, a região metropolitana de Campinas, uma das regiões mais ricas do Estado de São Paulo, com grande problema de escassez hídrica, que apresenta áreas de prática agrícola, solo argiloso, e onde a giardíase é endêmica, uma escolha adequada para a desinfecção do efluente para o reúso agrícola é o POA ($H_2O_2/UV-LED$), em virtude da alta eficácia apresentada contra cistos de *Giardia* e poucos efeitos colaterais observados no sistema solo-planta.

Neste trabalho abordamos apenas o risco das doenças gastrointestinais, especialmente a giardíase e, brevemente, os DBP, mas muitos outros contaminantes biológicos e químicos, como fitopatógenos, bactérias resistentes a antibióticos, xenobióticos e fármacos podem ser transportados pelo esgoto, ameaçando a saúde pública e o sistema solo-planta, também devem ser considerados no planejamento de reúso agrícola de efluentes.

5.2. CONCLUSÕES

Estratégias precisas de manejo, incluindo a aplicação de níveis adequados de tratamento, monitoramento periódico das propriedades do solo e da planta, bem como práticas adequadas de irrigação, cultivo e colheita são imprescindíveis para minimizar riscos ao homem e ao meio ambiente, garantindo que a prática do reúso seja segura, sustentável e rentável.

Neste trabalho demonstramos a ação de quatro agentes desinfetantes, que apresentam tecnologias e custos distintos, mas que mostraram eficácia semelhante contra um patógeno resistente e não prejudicaram o desenvolvimento e a produtividade da cultura de trigo. Os potenciais impactos sobre as características do solo podem ser solucionados com o manejo adequado do sistema.

Diante dos resultados obtidos, as principais conclusões desta pesquisa são:

- Os 4 desinfetantes avaliados apresentaram ação eficaz contra os cistos de *Giardia*, demonstrada pela formação de danos morfológicos na parede dos cistos.
- A eficácia do cloro e do ácido peracético foi diretamente proporcional às concentrações utilizadas. Sendo que o melhor desempenho foi alcançado utilizando-se 40 mg L⁻¹ dos desinfetantes por 30 minutos, para ambos.
- O comprimento de onda de 280 nm usado na desinfecção com UV-LED teve papel fundamental na formação de danos nas paredes dos cistos e consequentemente na inviabilização dos mesmos.
- O POA que consiste na associação do peróxido de hidrogênio à radiação UV-LED apresentou a maior eficácia na formação de danos à parede dos cistos de *Giardia*, dentre os desinfetantes avaliados.
- A água de reúso produzida pelo sistema UASB + filtro biológico percolador, associado a qualquer um dos agentes desinfetantes avaliados, nas dosagens aqui estabelecidas, pode ser utilizada para irrigação de culturas agrícolas assegurando a meta de 10⁻⁶ DALY para giardiase.
- Os tratamentos de desinfecção não alteraram significativamente as características físico-químicas do efluente da ETE Barão Geraldo.
- Os impactos nas características físico-químicas do solo observados ao final do experimento foram decorrentes do tipo de água utilizada para irrigação (potável ou de reúso) e não dos tratamentos de desinfecção. A irrigação com

efluente aumentou o pH, a salinidade e a concentração de nitrato do solo, em comparação com a irrigação com água de torneira. Outros parâmetros não foram impactados pelo uso do efluente a curto prazo. Os parâmetros impactados podem facilmente ser neutralizados com práticas efetivas de manejo do sistema.

- Tanto o tipo de água quanto os tratamentos de desinfecção influenciaram a composição da comunidade de bactérias e arqueas do solo.
- O solo irrigado com efluente apresentou maior abundância de organismos degradadores de matéria orgânica e, principalmente, famílias envolvidas no ciclo do nitrogênio.
- Bactérias típicas de efluentes e ETE, inclusive patogênicas, podem persistir no solo irrigado com água de reúso. Alertando para a importância da etapa de desinfecção.
- Os tratamentos de desinfecção selecionaram organismos que apresentavam algum tipo de mecanismo de resistência ao desinfetante em questão.
- A desinfecção com radiação UV-LED e POA eliminaram bactérias resistentes formadoras de esporos potencialmente patogênicas tipicamente encontradas em efluentes de ETE
- A aplicação de efluente desinfetado com radiação UV-LED e cloro diminuiu a abundância de algumas bactérias relacionadas ao ciclo do nitrogênio, o que, a longo prazo, pode afetar a fertilidade do solo.
- O uso do efluente teve impacto positivo no desenvolvimento e na produtividade da cultura de trigo, em comparação com a irrigação com água de torneira, em função do aporte de nutrientes. Os tratamentos de desinfecção não impactaram o desenvolvimento ou a produtividade das plantas.
- Para as condições avaliadas, o melhor desempenho geral foi alcançado pelo POA, em virtude da alta eficiência na inviabilização de cistos de *Giardia* e os poucos efeitos causados ao ecossistema do solo e à produtividade do trigo.

5.3. SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

- Avaliação do efeito sinérgico de diferentes comprimentos de onda da radiação UV-LED sobre cistos de *Giardia*
- Estudo para compreender a ação da radiação UV-A sobre os cistos de *Giardia*.
- Implementação do estudo em escala real para avaliar o efeito da irrigação com agentes desinfetantes a longo prazo
- Avaliar a presença de DBP nas plantas irrigadas com efluente tratado com cloro;
- Avaliação de contaminantes emergentes no solo irrigado com efluente
- Avaliação de genes de resistência à antibióticos no solo irrigado com efluente.

REFERÊNCIAS

ABROL, I. P., YADAV, J. S. P., MASSOUD, F. I. Salt-affected soils and their management. **FAO Soils Bulletin 39**, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 1988

ADAM, R. D. Biology of Giardia lamblia. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 3, p. 447–475, 1 jul. 2001.

ADEGOKE, A. A. et al. Epidemiological Evidence and Health Risks Associated With Agricultural Reuse of Partially Treated and Untreated Wastewater: A Review. **Frontiers in Public Health**, v. 6, 6 dez. 2018.

ADEYEMO, F. E. et al. Efficiency of chlorine and UV in the inactivation of Cryptosporidium and Giardia in wastewater. **PLoS ONE**, v. 14, n. 5, 13 maio 2019.

ADROVER, M. et al. Chemical properties and biological activity in soils of Mallorca following twenty years of treated wastewater irrigation. **Journal of Environmental Management, Environmental Risks and Problems, Strategies to reduce them through Biotechnology and Engineering**. v. 95, p. S188–S192, 1 mar. 2012.

AGULLÓ-BARCELÓ, M. et al. Solar Advanced Oxidation Processes as disinfection tertiary treatments for real wastewater: Implications for water reclamation. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 136–137, p. 341–350, 5 jun. 2013.

AIT-MOUHEB, N. et al. The reuse of reclaimed water for irrigation around the Mediterranean Rim: a step towards a more virtuous cycle? **Regional Environmental Change**, v. 18, n. 3, p. 693–705, 1 mar. 2018.

ALCALDE-SANZ, L., GAWLIK, B. M. Minimum quality requirements for water reuse in agricultural irrigation and aquifer recharge - Towards a water reuse regulatory instrument at EU level. **Publications Office of the European Union**, 2017.

ALDERSON, M. P.; DOS SANTOS, A. B.; MOTA FILHO, C. R. Reliability analysis of low-cost, full-scale domestic wastewater treatment plants for reuse in aquaculture and agriculture. **Ecological Engineering**, v. 82, p. 6–14, 1 set. 2015.

AL-HAMMAD, B. A.; ABD EL-SALAM, M. M.; IBRAHIM, S. Y. Quality of wastewater reuse in agricultural irrigation and its impact on public health. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 11, p. 7709–7718, nov. 2014.

ALONSO, J. L.; AMORÓS, I.; GUY, R. A. Quantification of viable *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in wastewater using propidium monoazide quantitative real-time PCR. **Parasitology Research**, v. 113, n. 7, p. 2671–2678, 1 jul. 2014.

AMAHMID, O.; ASMAMA, S.; BOUHOUM, K. The effect of waste water reuse in irrigation on the contamination level of food crops by *Giardia* cysts and *Ascaris* eggs. **International Journal of Food Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 19–26, 1 ago. 1999.

AMOAH, I. D. et al. Contribution of Wastewater Irrigation to Soil Transmitted Helminths Infection among Vegetable Farmers in Kumasi, Ghana. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 12, p. e0005161, 6 dez. 2016.

AMORÓS, I.; ALONSO, J. L.; CUESTA, G. *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* Cysts on Salad Products Irrigated with Contaminated Water. **Journal of Food Protection**, v. 73, n. 6, p. 1138–1140, jun. 2010.

ANGELAKIS, A. N. et al. Water Reuse: From Ancient to Modern Times and the Future. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, 2018.

ANTONELLI, M. et al. Secondary Effluent Disinfection: PAA Long Term Efficiency. **Environmental Science & Technology**, v. 40, n. 15, p. 4771–4775, 1 ago. 2006.

ANTONELLI, M. et al. Peracetic acid for secondary effluent disinfection: a comprehensive performance assessment. **Water Science & Technology**, v. 68, n. 12, p. 2638, dez. 2013.

ANTWI-AGYEI, P. et al. A faecal exposure assessment of farm workers in Accra, Ghana: a cross sectional study. **BMC Public Health**, v. 16, n. 1, dez. 2016.

AO, X. et al. Peracetic acid-based advanced oxidation processes for decontamination and disinfection of water: A review. **Water Research**, p. 116479, 30 set. 2020.

APPRILL, A. et al. Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 75, n. 2, p. 129–137, 4 jun. 2015.

BALDERRAMA-CARMONA, A. P. et al. Occurrence and quantitative microbial risk assessment of *Cryptosporidium* and *Giardia* in soil and air samples. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 123–127, set. 2014.

BALDRY, M. G. C.; FRENCH, M. S. Disinfection of Sewage Effluent with Peracetic Acid. **Water Science and Technology**, v. 21, n. 3, p. 203–206, mar. 1989.

BALDRY, M. G. C.; FRENCH, M. S.; SLATER, D. The Activity of Peracetic Acid on Sewage Indicator Bacteria and Viruses. **Water Science and Technology**, v. 24, n. 2, p. 353–357, 1 jul. 1991.

BARBEAU, B. et al. Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters. **Water Research**, v. 39, n. 10, p. 2024–2033, 1 maio 2005.

BASTIDA, F. et al. Combined effects of reduced irrigation and water quality on the soil microbial community of a citrus orchard under semi-arid conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 104, p. 226–237, 1 jan. 2017.

BECERRA-CASTRO, C. et al. Wastewater reuse in irrigation: A microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health. **Environment International**, v. 75, p. 117–135, fev. 2015.

BECK, S. E. et al. Evaluating UV-C LED disinfection performance and investigating potential dual-wavelength synergy. **Water Research**, v. 109, p. 207–216, fev. 2017.

BEDBABIS, S. et al. Effects of irrigation with treated wastewater on olive tree growth, yield and leaf mineral elements at short term. **Scientia Horticulturae**, v. 126, n. 3, p. 345–350, 30 set. 2010.

BEHNKE, G. D. et al. Soil Microbial Indicators within Rotations and Tillage Systems. **Microorganisms**, v. 9, n. 6, p. 1244, jun. 2021.

BENITO, M. et al. Seeking the reuse of effluents and sludge from conventional wastewater treatment plants: Analysis of the presence of intestinal protozoa and nematode eggs. **Journal of Environmental Management**, v. 261, p. 110268, 1 maio 2020.

BIEL-MAESO, M.; CORADA-FERNÁNDEZ, C.; LARA-MARTÍN, P. A. Monitoring the occurrence of pharmaceuticals in soils irrigated with reclaimed wastewater. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 312–321, 1 abr. 2018.

BIXIO, D. et al. Wastewater reuse in Europe. **Desalination**, v. 187, n. 1–3, p. 89–101, fev. 2006.

BIXIO, D. et al. Water reclamation and reuse: implementation and management issues. **Desalination**, v. 218, n. 1, p. 13–23, 5 jan. 2008.

BLUMENTHAL, U. J. et al. The risk of enteric infections associated with wastewater reuse: the effect of season and degree of storage of wastewater. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 2, p. 131–137, 1 mar. 2001.

BONADONNA, L. et al. Fate of bacterial indicators, viruses and protozoan parasites in a wastewater multi-component treatment system. **The New Microbiologica**, v. 25, n. 4, p. 413–420, out. 2002.

BOSSHARD, F. et al. Protein oxidation and aggregation in UVA-irradiated *Escherichia coli* cells as signs of accelerated cellular senescence. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 11, p. 2931–2945, 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução número 430, de 13 de maio de 2011. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2011.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Recursos Hídricos Resolução número 121, de 05 de outubro de 2010. Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2010.

BRIANCESCO, R. et al. Peracetic acid and sodium hypochlorite effectiveness in reducing resistant stages of microorganisms. **Central European journal of public health**, v. 13, n. 3, p. 159, 2005.

BRIANCESCO, R.; BONADONNA, L. An Italian Study on *Cryptosporidium* and *Giardia* in Wastewater, Fresh Water and Treated Water. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 104, n. 1–3, p. 445–457, mayo 2005.

BROSZAT, M. et al. Wastewater Irrigation Increases the Abundance of Potentially Harmful Gammaproteobacterial in Soils in Mesquite Valley, Mexico. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 17, p. 5282–5291, 1 set. 2014.

BÜNGER, W. et al. Novel cultivated endophytic Verrucomicrobia reveal deep-rooting traits of bacteria to associate with plants. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 8692, 26 maio 2020.

CACCIÒ, S. M. et al. Giardia Cysts in Wastewater Treatment Plants in Italy. **Applied Environmental Microbiology**, v. 69, n. 6, p. 3393–3398, 1 jun. 2003.

CALIFORNIA DEPARTMENT OF PUBLIC HEALTH. Regulations Related to Recycled Water, June 18, 2014.

CAMPBELL, A. T.; WALLIS, P. The effect of UV irradiation on human-derived Giardia lamblia cysts. **Water Research**, v. 36, n. 4, p. 963–969, 2002.

CAMPO, N. et al. Inactivation kinetics of antibiotic resistant Escherichia coli in secondary wastewater effluents by peracetic and performic acids. **Water Research**, v. 169, p. 115227, 1 fev. 2020.

CANTUSIO NETO, R. et al. Cryptosporidium spp. and Giardia spp. in surface water supply of Campinas, southeast Brazil. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, v. 62, n. 1, p. 217–222, 2010.

CANTUSIO NETO, R.; SANTOS, J. U.; FRANCO, R. M. B. Evaluation of activated sludge treatment and the efficiency of the disinfection of Giardia species cysts and Cryptosporidium oocysts by UV at a sludge treatment plant in Campinas, south-east Brazil. **Water Science and Technology**, v. 54, n. 3, p. 89–94, 1 ago. 2006.

CAPEWELL, P. et al. Molecular Epidemiology of Giardia Infections in the Genomic Era. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 2, p. 142–153, 1 fev. 2021.

CAPORASO, J. G. et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. Supplement 1, p. 4516–4522, 15 mar. 2011.

CARLANDER, A.; SCHÖNNING, C.; STENSTRÖM, T. A. Energy forest irrigated with wastewater: a comparative microbial risk assessment. **Journal of Water and Health**, v. 7, n. 3, p. 413–433, 1 set. 2009.

CARRIÓN, V. J. et al. Involvement of Burkholderiaceae and sulfurous volatiles in disease-suppressive soils. **The ISME Journal**, v. 12, n. 9, p. 2307–2321, set. 2018.

CDC - Centre of disease control and prevention. Epidemiology and Risk Factors: *Giardia*. Disponível em < <https://www.cdc.gov/parasites/giardia/infection-sources.html>> Acesso em 24 de julho de 2019.

CEARÁ. Lei número 16.033, de 20 de junho de 2016. Diário Oficial do Estado do Ceará, 2016.

CEARÁ. Conselho Municipal de Meio Ambiente. Resolução número 2 de 02 de fevereiro de 2017. Diário Oficial do Estado do Ceará, 2017.

CHAGANTI, V. N. et al. Effects of treated urban wastewater irrigation on bioenergy sorghum and soil quality. **Agricultural Water Management**, v. 228, p. 105894, 20 fev. 2020.

CHAO, A. Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 11, n. 4, p. 265–270, 1984.

CHATTERJEE, A. et al. Giardia Cyst Wall Protein 1 Is a Lectin That Binds to Curled Fibrils of the GalNAc Homopolymer. **PLOS Pathogens**, v. 6, n. 8, p. e1001059, 19 ago. 2010.

CHEN, W. et al. Soil Enzyme Activities of Long-Term Reclaimed Wastewater-Irrigated Soils. **Journal of Environmental Quality**, v. 37, n. S5, p. S-36-S-42, 2008.

CHEN, W. et al. Reclaimed water: A safe irrigation water source? **Environmental Development**, v. 8, p. 74–83, 1 out. 2013.

CHEN, Z.; NGO, H. H.; GUO, W. A Critical Review on the End Uses of Recycled Water. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 43, n. 14, p. 1446–1516, 1 jan. 2013.

CHEVREMONT, A.-C. et al. Multivariate optimization of fecal bioindicator inactivation by coupling UV-A and UV-C LEDs. **Desalination**, v. 285, p. 219–225, jan. 2012a.

CHEVREMONT, A.-C. et al. Effect of coupled UV-A and UV-C LEDs on both microbiological and chemical pollution of urban wastewaters. **Science of The Total Environment**, v. 426, p. 304–310, jun. 2012b.

CHEVREMONT, A.-C. et al. Impact of watering with UV-LED-treated wastewater on microbial and physico-chemical parameters of soil. **Water Research**, v. 47, n. 6, p. 1971–1982, abr. 2013a.

CHEVREMONT, A.-C. et al. Fate of carbamazepine and anthracene in soils watered with UV-LED treated wastewaters. **Water Research**, v. 47, n. 17, p. 6574–6584, nov. 2013b.

CHO, M. et al. Investigating synergism during sequential inactivation of MS-2 phage and *Bacillus subtilis* spores with UV/H₂O₂ followed by free chlorine. **Water Research**, v. 45, n. 3, p. 1063–1070, 1 jan. 2011.

CHRISTOU, A. et al. Impact assessment of the reuse of two discrete treated wastewaters for the irrigation of tomato crop on the soil geochemical properties, fruit safety and crop productivity. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 192, p. 105–114, 1 jul. 2014.

CIFUENTES, E. et al. Risk factors for *Giardia* intestinals infection in agricultural villages practicing wastewater irrigation in Mexico. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 62, p. 388–392, 2000.

CIRELLI, G. L. et al. Treated municipal wastewater reuse in vegetable production. **Agricultural Water Management**, v. 104, p. 163–170, fev. 2012.

CLARK, R. M.; READ, E. J.; HOFF, J. C. Analysis of Inactivation of *Giardia Lamblia* by Chlorine. **Journal of Environmental Engineering**, v. 115, n. 1, p. 80–90, 1 fev. 1989.

CLOSE, J.; IP, J.; LAM, K. H. Water recycling with PV-powered UV-LED disinfection. **Renewable Energy**, v. 31, n. 11, p. 1657–1664, set. 2006.

COMNINELLIS, C. et al. Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&D. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 83, n. 6, p. 769–776, 2008.

CONTRERAS, J. D. et al. Health risks from exposure to untreated wastewater used for irrigation in the Mezquital Valley, Mexico: A 25-year update. **Water Research**, v. 123, p. 834–850, 15 out. 2017.

COUTINHO, R. M.; KRAENKEL, R. A.; PRADO, P. I. Catastrophic Regime Shift in Water Reservoirs and São Paulo Water Supply Crisis. **PLOS ONE**, v. 10, n. 9, p. e0138278, 15 set. 2015.

CRAUN, G. F. et al. Waterborne outbreaks of cryptosporidiosis. **Journal - American Water Works Association**, v. 90, n. 9, p. 81–91, set. 1998.

CREBELLI, R. et al. Genotoxicity of the disinfection by-products resulting from peracetic acid- or hypochlorite-disinfected sewage wastewater. **Water Research**, v. 39, n. 6, p. 1105–1113, mar. 2005.

CRECCHIO, C. et al. Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 11, p. 1873–1883, nov. 2004.

CROOK, M. J. et al. Comparison of ultraviolet light emitting diodes with traditional UV for greywater disinfection. **Journal of Water Reuse and Desalination**, v. 5, n. 1, p. 17, mar. 2015.

CUI, Q. et al. Bacterial removal performance and community changes during advanced treatment process: A case study at a full-scale water reclamation plant. **Science of The Total Environment**, v. 705, 135811, 2020.

DANG, Q. et al. Linking the response of soil microbial community structure in soils to long-term wastewater irrigation and soil depth. **Science of The Total Environment**, v. 688, p. 26–36, 20 out. 2019.

DE ALMEIDA FERNANDES, L. et al. Effect of temperature on microbial diversity and nitrogen removal performance of an anammox reactor treating anaerobically pretreated municipal wastewater. **Bioresource Technology**, v. 258, p. 208–219, 1 jun. 2018.

DE LAS HERAS, J.; MAÑAS, P. Reclaimed Wastewater to Irrigate Olive Groves and Vineyards: Effects on Soil Properties. **Agronomy**, v. 10, n. 5, p. 649, maio 2020.

DE SANCTIS, M. et al. Removal of pollutants and pathogens by a simplified treatment scheme for municipal wastewater reuse in agriculture. **Science of The Total Environment**, v. 580, p. 17–25, fev. 2017.

DENG, S. et al. The utilization of reclaimed water: Possible risks arising from waterborne contaminants. **Environmental Pollution**, v. 254, p. 113020, 1 nov. 2019.

DENG, Y.; ZHAO, R. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. **Current Pollution Reports**, v. 1, n. 3, p. 167–176, set. 2015.

DENNER, E. B. M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H.-J. Thermomonas. In: **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**. [s.l.] American Cancer Society, 2015. p. 1–6.

DERY, J. L. et al. Understanding grower perceptions and attitudes on the use of nontraditional water sources, including reclaimed or recycled water, in the semi-arid

Southwest United States. **Environmental Research**, v. 170, p. 500–509, 1 mar. 2019.

DEVAUX, I. et al. Infectious risk associated with wastewater reuse: an epidemiological approach applied to the case of Clermont-Ferrand, France. **Water Science and Technology**, v. 43, n. 12, p. 53–60, 1 jun. 2001.

DEWIL, R. et al. New perspectives for Advanced Oxidation Processes. **Journal of Environmental Management, Advanced Oxidation Processes for Environmental Remediation**. v. 195, p. 93–99, 15 jun. 2017.

DOMENECH, E. et al. Cryptosporidium and Giardia safety margin increase in leafy green vegetables irrigated with treated wastewater. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 221, n. 1, p. 112–119, 1 jan. 2018.

DICKIN, S. K. et al. A Review of Health Risks and Pathways for Exposure to Wastewater Use in Agriculture. **Environmental Health Perspectives**, v. 124, n. 7, p. 900–909, jul. 2016.

DU, Z. et al. Pilot-scale UV/H₂O₂-BAC process for drinking water treatment – Analysis and comparison of different activated carbon columns. **Chemical Engineering Journal**, v. 382, p. 123044, 15 fev. 2020.

DUNGENI, M.; MOMBA, M. N. B. The abundance of Cryptosporidium and Giardia spp. in treated effluents produced by four wastewater treatment plants in the Gauteng province of South Africa. **Water South Africa**, v. 36, p. 425–431, 2010.

DUNN, N.; JUERGENS, A. L. Giardiasis. In: StatPearls. **Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**, 2020.

EFSTRATIOU, A.; ONGERTH, J. E.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011–2016. **Water Research**, v. 114, p. 14–22, maio 2017.

EINARSSON, E.; SVÄRD, S. G.; TROELL, K. UV irradiation responses in Giardia intestinalis. **Experimental Parasitology**, v. 154, p. 25–32, jul. 2015.

EL MOUSSAOUI, T. E. et al. Soil properties and alfalfa (*Medicago sativa* L.) responses to sustainable treated urban wastewater reuse. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 65, n. 13, p. 1900–1912, 10 nov. 2019.

ELGALLAL, M.; FLETCHER, L.; EVANS, B. Assessment of potential risks associated with chemicals in wastewater used for irrigation in arid and semiarid zones: A review. **Agricultural Water Management**, v. 177, p. 419–431, 1 nov. 2016.

ELIFANTZ, H. et al. Microbial Activity and Organic Matter Dynamics During 4 Years of Irrigation with Treated Wastewater. **Microbial Ecology**, v. 62, n. 4, p. 973–981, nov. 2011.

ELLIOTT, H. A.; JAISWAL, D. Phosphorus Management for Sustainable Agricultural Irrigation of Reclaimed Water. **Journal of Environmental Engineering**, v. 138, n. 3, p. 367–374, 1 mar. 2012.

ENSINK, J. H. J. et al. High risk of hookworm infection among wastewater farmers in Pakistan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 99, n. 11, p. 809–818, nov. 2005.

EREL, R. et al. Long-term irrigation with reclaimed wastewater: Implications on nutrient management, soil chemistry and olive (*Olea europaea* L.) performance. **Agricultural Water Management**, v. 213, p. 324–335, 1 mar. 2019.

ESCUDIÉ, F. et al. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. **Bioinformatics**, v. 34, n. 8, p. 1287–1294, 15 abr. 2018.

EUROPEAN COMMISSION. Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council on Minimum Requirements for Water Reuse. Brussels, 5.28.2018.

FALLAH, A. A. et al. Prevalence of parasitic contamination in vegetables used for raw consumption in Shahrekord, Iran: Influence of season and washing procedure. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 617–620, 1 jun. 2012.

FAO. AquaStat, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2019. <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/data/query/results.html> Accessed jul/2020.

FARHADKHANI, M. et al. Effects of irrigation with secondary treated wastewater on physicochemical and microbial properties of soil and produce safety in a semi-arid area. **Water Research**, v. 144, p. 356–364, nov. 2018.

FARRELL, C. et al. Turbidity composition and the relationship with microbial attachment and UV inactivation efficacy. **Science of The Total Environment**, v. 624, p. 638–647, 15 maio 2018.

FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, A. J. et al. Defining the root endosphere and rhizosphere microbiomes from the World Olive Germplasm Collection. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 20423, 31 dez. 2019.

FERNANDO, W. J. N. Theoretical considerations and modeling of chemical inactivation of microorganisms: Inactivation of Giardia Cysts by free chlorine. **Journal of Theoretical Biology**, v. 259, n. 2, p. 297–303, jul. 2009.

FERREIRA, D. D. M. et al. Wastewater use in agriculture: analytical limits of sewage for impact control in Brazil. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 4, p. 1048–1059, dez. 2019.

FLETCHER, S. M. et al. Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 420–449, jul. 2012.

FLORIDA ADMINISTRATIVE CODE. Chapter 62-610, F.A.C.: Reuse of Reclaimed Water and Land Application, Florida, USA, 2009.

FRANCHE, C.; LINDSTRÖM, K.; ELMERICH, C. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. **Plant and Soil**, v. 321, n. 1, p. 35–59, 1 ago. 2009.

FRANCO, R.M.B. et al. Occurrence of Cryptosporidium oocysts and Giardia cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. **Revista Instituto de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 109–111, 2001.

FRENK, S.; HADAR, Y.; MINZ, D. Resilience of soil bacterial community to irrigation with water of different qualities under Mediterranean climate. **Environmental Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 559–569, 2014.

FREY, B. et al. Deep Soil Layers of Drought-Exposed Forests Harbor Poorly Known Bacterial and Fungal Communities. **Frontiers in Microbiology**, v. 0, 2021.

FU, C. Y. et al. Monitoring and evaluation of removal of pathogens at municipal wastewater treatment plants. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, v. 61, n. 6, p. 1589–1599, 2010.

FUHRIMANN, S. et al. Risk of Intestinal Parasitic Infections in People with Different Exposures to Wastewater and Fecal Sludge in Kampala, Uganda: A Cross-Sectional Study. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, 3 mar. 2016.

- FURTADO, A. L. F. F. et al. Morphological and molecular characterization of cyanobacteria from a Brazilian facultative wastewater stabilization pond and evaluation of microcystin production. **Hydrobiologia**, v. 627, n. 1, p. 195–209, 1 jul. 2009.
- GALVIS, A. et al. Financial aspects of reclaimed wastewater irrigation in three sugarcane production areas in the Upper Cauca river Basin, Colombia. *Agricultural Water Management*, v. 209, p. 102–110, 30 out. 2018.
- GARCIA, A. et al. Giardia Cysts in Tertiary-Treated Wastewater Effluents: Are They Infective? **Water Environment Research**, v. 74, n. 6, p. 541–544, 1 nov. 2002.
- GARRIDO, Y. et al. Chlorate accumulation in commercial lettuce cultivated in open field and irrigated with reclaimed water. **Food Control**, v. 114, p. 107283, 1 ago. 2020.
- GATTA, G. et al. Reuse of treated municipal wastewater for globe artichoke irrigation: Assessment of effects on morpho-quantitative parameters and microbial safety of yield. **Scientia Horticulturae**, v. 213, p. 55–65, 14 dez. 2016.
- GEHR, R. et al. Disinfection efficiency of peracetic acid, UV and ozone after enhanced primary treatment of municipal wastewater. **Water Research**, v. 37, n. 19, p. 4573–4586, nov. 2003.
- GIRARD, P.-M. et al. Inhibition of S-phase progression triggered by UVA-induced ROS does not require a functional DNA damage checkpoint response in mammalian cells. **DNA Repair**, v. 7, n. 9, p. 1500–1516, 1 set. 2008.
- GLASS, A. D. M. et al. The regulation of nitrate and ammonium transport systems in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 370, p. 855–864, 15 abr. 2002.
- GOBIERNO DE ESPAÑA. Real Decreto no 1620/2007 de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. BOE núm. 294, Sábado 8 diciembre 2007.
- GODAR, D. E. et al. LONG-WAVELENGTH UVA RADIATION INDUCES OXIDATIVE STRESS, CYTOSKELETAL DAMAGE and HEMOLYSIS*. **Photochemistry and Photobiology**, v. 57, n. s1, p. 1018–1026, 1993.

GONZALES-GUSTAVSON, E. et al. Quantitative risk assessment of norovirus and adenovirus for the use of reclaimed water to irrigate lettuce in Catalonia. **Water Research**, v. 153, p. 91–99, 15 abr. 2019.

GUADAGNINI, R. A. et al. Inactivation of bacteria and helminth in wastewater treatment plant effluent using oxidation processes. **Water Science & Technology**, v. 68, n. 8, p. 1825, nov. 2013.

GUIMARÃES, J. R. et al. *Giardia duodenalis*: Number and Fluorescence Reduction Caused by the Advanced Oxidation Process (H₂O₂ /UV). **International Scholarly Research Notices**, v. 2014, p. 1–7, 2014.

GUIMARÃES, J. R. et al. Inativação de cistos de *Giardia duodenalis* por peroxidação e peroxidação assistida por radiação ultravioleta. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 2, p. 159–164, jun. 2015.

GUMBO, J. R. et al. The health implications of wastewater reuse in vegetable irrigation: a case study from Malamulele, South Africa. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 20, n. 3, p. 201–211, 1 jun. 2010.

GUO, J. et al. Growth, photosynthesis, and nutrient uptake in wheat are affected by differences in nitrogen levels and forms and potassium supply. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1248, 4 fev. 2019.

GUO, W. et al. Effects of reclaimed water irrigation and nitrogen fertilization on the chemical properties and microbial community of soil. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 3, p. 679–690, 1 mar. 2017.

GUPTA, N.; KHAN, D. K.; SANTRA, S. C. Prevalence of intestinal helminth eggs on vegetables grown in wastewater-irrigated areas of Titagarh, West Bengal, India. **Food Control**, v. 20, n. 10, p. 942–945, 1 out. 2009.

GUPTA, R. S. Chapter Two - Molecular Markers for Photosynthetic Bacteria and Insights into the Origin and Spread of Photosynthesis. In: BEATTY, J. T. (Ed.). . **Advances in Botanical Research**. Genome Evolution of Photosynthetic Bacteria. [s.l.] Academic Press, 2013. v. 66p. 37–66.

HAAS, C. N.; HELLER, B. Kinetics of inactivation of *Giardia lamblia* by free chlorine. **Water Research**, v. 24, n. 2, p. 233–238, 1990.

HACHICH, E. M. et al. Pathogenic parasites and enteroviruses in wastewater: support for a regulation on water reuse. **Water Science and Technology**, v. 67, n. 7, p. 1512–1518, abr. 2013.

HANJRA, M. A. et al. Wastewater irrigation and environmental health: Implications for water governance and public policy. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 215, n. 3, p. 255–269, 1 abr. 2012.

HARA, K. et al. Historical development of wastewater and sewage sludge treatment technologies in Japan – An analysis of patent data from the past 50 years. **Environmental Development**, v. 19, p. 59–69, jul. 2016.

HASSABALLAH, A. H. et al. Inactivation of *E. coli*, *Enterococcus* spp., somatic coliphage, and *Cryptosporidium parvum* in wastewater by peracetic acid (PAA), sodium hypochlorite, and combined PAA-ultraviolet disinfection. *Environmental Science: Water Research & Technology*, v. 6, n. 1, p. 197–209, 19 dez. 2019.

HERNÁNDEZ-PADILLA, F. et al. Assessing wastewater treatment in Latin America and the Caribbean: Enhancing life cycle assessment interpretation by regionalization and impact assessment sensibility. **Journal of Cleaner Production**, v. 142, p. 2140–2153, 20 jan. 2017.

HIJNEN, W. A. M.; BEERENDONK, E. F.; MEDEMA, G. J. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. **Water Research**, v. 40, n. 1, p. 3–22, 1 jan. 2006.

HOQUE, M. et al. Biological dinitrogen fixation and soil microbial biomass carbon as influenced by free-air carbon dioxide enrichment (FACE) at three levels of nitrogen fertilization in a paddy field. **Biology and Fertility of Soils**, v. 34, n. 6, p. 453–459, 1 dez. 2001.

HU, D.; CHA, G.; GAO, B. A Phylogenomic and Molecular Markers Based Analysis of the Class Acidimicrobiia. **Frontiers in Microbiology**, v. 0, 2018.

HU, Q. et al. Photodegradation of methyl tert-butyl ether (MTBE) by UV/H₂O₂ and UV/TiO₂. *Journal of Hazardous Materials*, v. 154, n. 1, p. 795–803, 15 jun. 2008.

HU, Q. et al. Metagenomic insights into ultraviolet disinfection effects on antibiotic resistome in biologically treated wastewater. **Water Research**, v. 101, p. 309–317, 15 set. 2016.

HUANG, K. et al. Free-living bacteria and potential bacterial pathogens in sewage treatment plants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 5, p. 2455–2464, 1 mar. 2018.

HUBER, K. J. et al. The first representative of the globally widespread subdivision 6 Acidobacteria, *Vicinamibacter silvestris* gen. nov., sp. nov., isolated from subtropical savannah soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 8, p. 2971–2979, 2016.

HUFFMAN, D. E. et al. Detection of Infectious Parasites in Reclaimed Water. **Water Environment Research**, v. 78, n. 12, p. 2297–2302, 1 dez. 2006.

IBEKWE, A. M.; GONZALEZ-RUBIO, A.; SUAREZ, D. L. Impact of treated wastewater for irrigation on soil microbial communities. **Science of The Total Environment**, v. 622–623, p. 1603–1610, maio 2018.

IBRAHIM, M.A.; MACADAM, J.; AUTIN, O.; JEFFERSON, B. Evaluating the impact of LED bulb development on the economic viability of ultraviolet technology for disinfection. **Environmental Technology**, v. 35, n. 4, p. 400–406, 2014.

Instituto Português da Qualidade. NP 4434 - Norma Portuguesa sobre reutilização de águas residuais urbanas tratadas na rega. Instituto Português da Qualidade, Caparica, Portugal (in Portuguese) 2005.

JARAMILLO, M. F.; RESTREPO, I. Wastewater Reuse in Agriculture: A Review about Its Limitations and Benefits. **Sustainability**, v. 9, n. 10, p. 1734, out. 2017.

JARROLL, E. L.; BINGHAM, A. K.; MEYER, E. A. Effect of chlorine on *Giardia lamblia* cyst viability. **Applied and environmental microbiology**, v. 41, n. 2, p. 483–487, 1981.

JEUFFROY, M.-H.; BOUCHARD, C. Intensity and Duration of Nitrogen Deficiency on Wheat Grain Number. **Crop Science**, v. 39, n. 5, p. 1385–1393, 1999.

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE, 2010. Arrêté du 2 août 2010 relatif à l'utilisation d'eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduaires urbaines pour l'irrigation de cultures ou espaces verts. J.O. du 31 août 2010. Texte 32 sur 157, France.

KAYIKCIOGLU, H. H. Short-term effects of irrigation with treated domestic wastewater on microbiological activity of a Vertic xerofluent soil under

Mediterranean conditions. **Journal of Environmental Management**, v. 102, p. 108–114, 15 jul. 2012.

KALISVAART, B. F. Re-use of wastewater: preventing the recovery of pathogens by using medium-pressure UV lamp technology. **Water Science and Technology**, v. 50, n. 6, p. 337–344, set. 2004.

KAMRAN, M. et al. Role of TaALMT1 malate-GABA transporter in alkaline pH tolerance of wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 43, n. 10, p. 2443–2459, 2020.

KASSOUF, H. et al. Chlorine Demand and Trihalomethane Formation during Chlorination of Wastewater in Hillsborough County, Florida: Effects of Temperature and Chlorine Dose. **Journal of Environmental Engineering**, v. 144, n. 8, p. 04018067, ago. 2018.

KATOR, H.; RHODES, M. 8 - Detection, enumeration and identification of environmental microorganisms of public health significance. In: MARA, D.; HORAN, N. (Eds.). . **Handbook of Water and Wastewater Microbiology**. London: Academic Press, 2003. p. 113–144.

KATZENELSON, E.; BUIUM, I.; SHUVAL, H. I. Risk of communicable disease infection associated with wastewater irrigation in agricultural settlements. **Science** (New York, N.Y.), v. 194, n. 4268, p. 944–946, 26 nov. 1976.

KELLIS, M., KALAVROUZITIZ, I. K., GIKAS P. Review of wastewater reuse in the Mediterranean countries, focusing on regulations and policies for municipal and industrial applications. **Global NEST Journal**. V. 15, p. 333–350. 2013.

KEROU, M.; SCHLEPER, C. Nitrososphaeraceae. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. [s.l.] American Cancer Society, 2016. p. 1–2.

KIM, J. M. et al. Soil pH and electrical conductivity are key edaphic factors shaping bacterial communities of greenhouse soils in Korea. **Journal of Microbiology**, v. 54, n. 12, p. 838–845, dez. 2016.

KIM, K.; HONG, W.; LEE, K. Disinfection characteristics of waterborne pathogenic protozoa *Giardia lamblia*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 6, n. 2, p. 95–99, abr. 2001.

KISTEMANN, T. et al. A comparison of efficiencies of microbiological pollution removal in six sewage treatment plants with different treatment systems.

International Journal of Hygiene and Environmental Health, v. 211, n. 5, p. 534–545, 1 out. 2008.

KITIS, M. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. **Environment International**, v. 30, n. 1, p. 47–55, mar. 2004.

KOUAMÉ, P. K. et al. Microbiological risk infection assessment using QMRA in agriculture systems in Côte d'Ivoire, West Africa. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 11, p. 587, 28 out. 2017.

KRAUSE, S. M. B. et al. Soil properties and habitats determine the response of bacterial communities to agricultural wastewater irrigation. **Pedosphere**, v. 30, n. 1, p. 146–158, 1 fev. 2020.

KULKARNI, P. et al. Conventional wastewater treatment and reuse site practices modify bacterial community structure but do not eliminate some opportunistic pathogens in reclaimed water. **Science of The Total Environment**, v. 639, p. 1126–1137, 15 out. 2018.

KURITZ, T. Cyanobacteria as agents for the control of pollution by pesticides and chlorinated organic compounds. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, n. S1, p. 186S-192S, 1998.

LANDA-CANSIGNO, O.; DURÁN-ÁLVAREZ, J. C.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. Retention of *Escherichia coli*, *Giardia lamblia* cysts and *Ascaris lumbricoides* eggs in agricultural soils irrigated by untreated wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 22–29, 15 out. 2013.

LAURENSEN, S. et al. Review: Use of recycled wastewater for irrigating grapevines. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 18, n. 1, p. 1–10, 2012.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**, v. 25, n. 1, 2008.

LEONEL, L. P. et al. Reuse of sewage treated effluent in agricultural practices: An alarming presence of *Giardia* spp. cysts. **Ecological Engineering**, v. 94, p. 682–687, 1 set. 2016.

LEONEL, L. P.; TONETTI, A. L. Wastewater reuse for crop irrigation: Crop yield, soil and human health implications based on giardiasis epidemiology. **Science of The Total Environment**, v. 775, p. 145833, 25 jun. 2021.

LEQUETTE, K.; AIT-MOUHEB, N.; WÉRY, N. Drip irrigation biofouling with treated wastewater: bacterial selection revealed by high-throughput sequencing. **Biofouling**, v. 35, n. 2, p. 217–229, 7 fev. 2019.

LI, D. et al. Infectivity of Giardia lamblia cysts obtained from wastewater treated with ultraviolet light. **Water Research**, v. 43, n. 12, p. 3037–3046, jul. 2009.

LI, G.-Q. et al. Comparison of UV-LED and low pressure UV for water disinfection: Photoreactivation and dark repair of Escherichia coli. **Water Research**, v. 126, p. 134–143, dez. 2017a.

LI, G.-Q. et al. Synergistic effect of combined UV-LED and chlorine treatment on Bacillus subtilis spore inactivation. **Science of The Total Environment**, v. 639, p. 1233–1240, 15 out. 2018.

LI, H. Y. et al. Numerical and experimental investigation of UV disinfection for water treatment. **Applied Thermal Engineering**, v. 111, p. 280–291, 25 jan. 2017b.

LI, Y.; LI, J.; ZHANG, H. Effects of Chlorination on Soil Chemical Properties and Nitrogen Uptake for Tomato Drip Irrigated with Secondary Sewage Effluent. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 9, p. 2049–2060, 1 set. 2014.

LI, Y.; SMITH, D. W.; BELOSEVIC, M. Morphological changes of Giardia lamblia cysts after treatment with ozone and chlorine. **Journal of Environmental Engineering and Science**, v. 3, n. 6, p. 495–506, nov. 2004.

LIBERTI, L.; LOPEZ, A.; NOTARNICOLA, M. Disinfection With Peracetic Acid for Domestic Sewage Re-Use in Agriculture. **Water and Environment Journal**, v. 13, n. 4, p. 262–269, 1 ago. 1999.

LIBERTI, L.; NOTARNICOLA, M.; LOPEZ, A. Advanced Treatment For Municipal Wastewater Reuse In Agriculture. III - Ozone Disinfection. **Ozone: Science & Engineering**, v. 22, n. 2, p. 151–166, jan. 2000.

LIBERTI, L.; NOTARNICOLA, M.; PETRUZZELLI, D. Advanced treatment for municipal wastewater reuse in agriculture. UV disinfection: parasite removal and by-product formation. **Desalination**, v. 152, n. 1–3, p. 315–324, 2003.

LICCIARDELLO, F. et al. Wastewater tertiary treatment options to match reuse standards in agriculture. **Agricultural Water Management**, v. 210, p. 232–242, 30 nov. 2018.

LINDEN, K. G. et al. UV Disinfection of Giardia lamblia Cysts in Water. **Environmental Science & Technology**, v. 36, n. 11, p. 2519–2522, jun. 2002.

LINDENAUER, K. G.; DARBY, J. L. Ultraviolet disinfection of wastewater: Effect of dose on subsequent photoreactivation. **Water Research**, v. 28, n. 4, p. 805–817, 1 abr. 1994.

LONIGRO, A. et al. Faecal pollution on vegetables and soil drip irrigated with treated municipal wastewaters. **Agricultural Water Management**, v. 174, p. 66–73, 1 ago. 2016.

LONIGRO, A.; MONTEMURRO, N.; LAERA, G. Effects of residual disinfectant on soil and lettuce crop irrigated with chlorinated water. **Science of The Total Environment**, v. 584–585, p. 595–602, abr. 2017.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F. et al. Demonstration tests of irrigation water disinfection with chlorine dioxide in open field cultivation of baby spinach. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 8, p. 2973–2980, 2018.

LOVE, M. I.; HUBER, W.; ANDERS, S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. [s.l.] **Bioinformatics**, 19 fev. 2014.

LUBELLO, C.; CARETTI, C.; GORI, R. Comparison between PAA/UV and H₂O₂/UV disinfection for wastewater reuse. **Water Supply**, v. 2, n. 1, p. 205–212, 1 jan. 2002.

LUI, G. Y. et al. Photovoltaic powered ultraviolet and visible light-emitting diodes for sustainable point-of-use disinfection of drinking waters. **Science of The Total Environment**, v. 493, p. 185–196, 15 set. 2014.

LUUKKONEN, T.; PEHKONEN, S. O. Peracids in water treatment: A critical review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 1, p. 1–39, 2 jan. 2017.

LYU, S. et al. Wastewater reclamation and reuse in China: Opportunities and challenges. **Journal of Environmental Sciences**, 40th Anniversary of RCEES. v. 39, p. 86–96, 1 jan. 2016.

MA, J. et al. Human infective potential of Cryptosporidium spp., Giardia duodenalis and Enterocytozoon bienersi in urban wastewater treatment plant effluents. **Journal of water and health**, v. 14, n. 3, p. 411–423, jun. 2016.

MAASS, O.; GRUNDMANN, P. Added-value from linking the value chains of wastewater treatment, crop production and bioenergy production: A case study on reusing wastewater and sludge in crop production in Braunschweig (Germany). **Resources, Conservation and Recycling**, v. 107, p. 195–211, 1 fev. 2016.

MAESTRE-VALERO, J. F. et al. Revaluing the nutrition potential of reclaimed water for irrigation in southeastern Spain. **Agricultural Water Management**, v. 218, p. 174–181, 1 jun. 2019.

MAILLARD, J.; WILLEMIN, M. S. Chapter Four - Regulation of organohalide respiration. In: POOLE, R. K. (Ed.). . **Advances in Microbial Physiology**. Advances in Microbial Physiology. [s.l.] Academic Press, 2019. v. 74p. 191–238.

MAITY, J. P. et al. The production of biofuel and bioelectricity associated with wastewater treatment by green algae. **Energy**, v. 78, p. 94–103, 15 dez. 2014.

MALATO, S. et al. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. **Catalysis Today**, MONOGRAPH: Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. v. 147, n. 1, p. 1–59, 15 set. 2009.

MALVESTITI, J. A.; DANTAS, R. F. Disinfection of secondary effluents by O₃, O₃/H₂O₂ and UV/H₂O₂: Influence of carbonate, nitrate, industrial contaminants and regrowth. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 1, p. 560–567, 1 fev. 2018.

MANOLI, K. et al. Detailed modeling and advanced control for chemical disinfection of secondary effluent wastewater by peracetic acid. **Water Research**, v. 153, p. 251–262, 15 abr. 2019.

MARCOS, M. S. et al. Tide as Steering Factor in Structuring Archaeal and Bacterial Ammonia-Oxidizing Communities in Mangrove Forest Soils Dominated by *Avicennia germinans* and *Rhizophora mangle*. **Microbial Ecology**, v. 75, n. 4, p. 997–1008, 1 maio 2018.

MARINHO, L. E. DE O. et al. Application of Reclaimed Wastewater in the Irrigation of Rosebushes. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 224, n. 9, set. 2013.

MARINHO, L. E. DE O. et al. Evaluation of the Productivity of Irrigated Eucalyptus grandis with Reclaimed Wastewater and Effects on Soil. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 225, n. 1, jan. 2014.

MARTÍNEZ, S. et al. Reuse of tertiary municipal wastewater effluent for irrigation of Cucumis melo L. **Irrigation Science**, v. 31, n. 4, p. 661–672, jul. 2013.

MARTÍNEZ, S. B.; PÉREZ-PARRA, J.; SUAY, R. Use of Ozone in Wastewater Treatment to Produce Water Suitable for Irrigation. **Water Resources Management**, v. 25, n. 9, p. 2109–2124, jul. 2011.

MASON, L. M. et al. Potential microbial bioindicators of phosphorus mining in a temperate deciduous forest. **Journal of Applied Microbiology**, v. 130, n. 1, p. 109–122, 2021.

MASUDA, Y. et al. Diazotrophic Anaeromyxobacter Isolates from Soils. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 16, p. e00956-20, 3 ago. 2020.

MATAFONOVA, G.; BATOEV, V. Recent advances in application of UV light-emitting diodes for degrading organic pollutants in water through advanced oxidation processes: A review. **Water Research**, v. 132, p. 177–189, 1 abr. 2018.

MCFADDEN, M. et al. Comparing peracetic acid and hypochlorite for disinfection of combined sewer overflows: Effects of suspended-solids and pH. **Science of The Total Environment**, v. 599–600, p. 533–539, dez. 2017.

MCMURDIE, P. J.; HOLMES, S. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e61217, 22 abr. 2013.

MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D. et al. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

MEDEIROS, R. C.; DANIEL, L. A. Study of sequential disinfection for the inactivation of protozoa and indicator microorganisms in wastewater. **Acta Scientiarum Technology**, v. 37, n. 2, p. 203, 29 maio 2015.

MEDEIROS, R. C.; SAMMARRO-SILVA, K. J.; DANIEL, L. A. Wastewater treatment performance in microbiological removal and (oo)cyst viability assessed comparatively to fluorescence decay. **Environmental Technology**, v. 0, n. 0, p. 1–9, 17 ago. 2020.

- MEDEMA, G. J.; SCHIJVEN, J. F. Modelling the sewage discharge and dispersion of cryptosporidium and giardia in surface water. **Water Research**, v. 35, n. 18, p. 4307–4316, 1 dez. 2001.
- MEKONNEN, M. M.; HOEKSTRA, A. Y. Four billion people facing severe water scarcity. **Science Advances**, v. 2, n. 2, p. e1500323, fev. 2016.
- MELLOUL, A. A.; HASSANI, L.; RAFOUK, L. Salmonella contamination of vegetables irrigated with untreated wastewater. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 207–209, 1 mar. 2001.
- MIKLOS, D. B. et al. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. **Water Research**, v. 139, p. 118–131, ago. 2018.
- MINAS GERAIS. Conselho Estadual de Recursos Hídricos. Deliberação Normativa número de 18 de junho de 2020. Diário Oficial do Estado de Minas Gerais, 2020.
- MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA TUTELA DEL TERRITORIO. Decreto 12 giugno 2003, n. 185. Italia, 2003.
- MIRANDA, A. R. L. et al. Responses of soil bacterial community after seventh yearly applications of composted tannery sludge. **Geoderma**, v. 318, p. 1–8, 15 maio 2018.
- MOFIDI, A. A. et al. The effect of UV light on the inactivation of Giardia lamblia and Giardia muris cysts as determined by animal infectivity assay (P-2951-01). **Water Research**, v. 36, n. 8, p. 2098–2108, abr. 2002.
- MOHAMMAD, M. J.; MAZAHREH, N. Changes in Soil Fertility Parameters in Response to Irrigation of Forage Crops with Secondary Treated Wastewater. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 34, n. 9–10, p. 1281–1294, 1 maio 2003.
- MOK, H.-F. et al. Field comparison and crop production modeling of sweet corn and silage maize (Zea mays L.) with treated urban wastewater and freshwater. **Irrigation Science**, v. 32, n. 5, p. 351–368, set. 2014.
- MORRIS, J. C. The Mechanism of the Hydrolysis of Chlorine. **Journal of the American Chemical Society**, v. 68, n. 9, p. 1692–1694, set. 1946.

MORUGÁN-CORONADO, A. et al. Application of soil quality indices to assess the status of agricultural soils irrigated with treated wastewaters. **Solid Earth**, v. 4, n. 1, p. 119–127, 7 mar. 2013.

MUSAZURA, W. et al. Nitrogen and phosphorus fluxes in three soils fertigated with decentralised wastewater treatment effluent to field capacity. **Journal of Water Reuse and Desalination**, v. 9, n. 2, p. 142–151, 1 jun. 2019.

MUYEN, Z.; MOORE, G. A.; WRIGLEY, R. J. Soil salinity and sodicity effects of wastewater irrigation in South East Australia. **Agricultural Water Management**, v. 99, n. 1, p. 33–41, 1 nov. 2011.

NAKADA, L. Y. K. et al. Pre-ozonation of source water: Assessment of efficacy against *Giardia duodenalis* cysts and effects on natural organic matter. **Chemosphere**, v. 214, p. 764–770, 1 jan. 2019.

NAKADA, L. Y. K.; SANTOS, L. U.; GUIMARÃES, J. R. Pre-ozonation of surface water: An effective water treatment process to reduce the risk of infection by *Giardia* in drinking water. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115144, 1 nov. 2020.

NASSER, A. M. et al. UV disinfection of wastewater effluents for unrestricted irrigation. **Water Science & Technology**, v. 54, n. 3, p. 83, ago. 2006.

NASSER, A. M. et al. Prevalence and fate of giardia cysts in wastewater treatment plants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 113, n. 3, p. 477–484, 1 set. 2012.

NAVARRO, T. Water reuse and desalination in Spain – challenges and opportunities. **Journal of Water Reuse and Desalination** v.8, p. 153–168. 2018

NEMERGUT, D. R. et al. Plot-scale manipulations of organic matter inputs to soils correlate with shifts in microbial community composition in a lowland tropical rain forest. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 42, n. 12, p. 2153–2160, 1 dez. 2010.

NGUYEN, T. M. H. et al. Application of a novel, continuous-feeding ultraviolet light emitting diode (UV-LED) system to disinfect domestic wastewater for discharge or agricultural reuse. **Water Research**, v. 153, p. 53–62, 15 abr. 2019.

NGUYEN, T. T. et al. Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in environmental samples in Hanam province, Vietnam. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 3, p. 13–20, 1 jun. 2016.

NIKAEEN, M. et al. Occurrence of *Clostridium difficile* in two types of wastewater treatment plants. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 114, n. 7, p. 663–665, 1 jul. 2015.

NOBRE, C. A. et al. Some Characteristics and Impacts of the Drought and Water Crisis in Southeastern Brazil during 2014 and 2015. **Journal of Water Resource and Protection**, v. 08, n. 02, p. 252–262, 2016.

NOM-001-ECOL-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Mexico, 1996.

NORMAND, P.; FERNANDEZ, M. P. Frankiales. In: Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. [s.l.] **American Cancer Society**, 2020. p. 1–3.

NORTON, J. M.; STARK, J. M. Chapter Fifteen - Regulation and Measurement of Nitrification in Terrestrial Systems. In: KLOTZ, M. G. (Ed.). . **Methods in Enzymology**. Research on Nitrification and Related Processes, Part A. [s.l.] Academic Press, 2011. v. 486p. 343–368.

NORTON-BRANDÃO, D.; SCHERREBERG, S. M.; VAN LIER, J. B. Reclamation of used urban waters for irrigation purposes – A review of treatment technologies. **Journal of Environmental Management**, v. 122, p. 85–98, 15 jun. 2013.

NOVARINA, D. et al. Mind the gap: Keeping UV lesions in check. **DNA Repair**, v. 10, n. 7, p. 751–759, jul. 2011.

NRMCC; EPHC; NHMRC. Australian Guidelines for Water Recycling: Managing Health and Environmental Risks (Phase 1). 2006 Prot. Herit. Counc. Aust. Heal., 1, 389

NYANGARESI, P. O. et al. Effects of single and combined UV-LEDs on inactivation and subsequent reactivation of *E. coli* in water disinfection. **Water Research**, v. 147, p. 331–341, 15 dez. 2018.

OGUMA, K. et al. Application of UV light emitting diodes to batch and flow-through water disinfection systems. **Desalination**, v. 328, p. 24–30, 1 nov. 2013.

OGUMA, K.; KITA, R.; TAKIZAWA, S. Effects of Arrangement of UV Light-Emitting Diodes on the Inactivation Efficiency of Microorganisms in Water. **Photochemistry and Photobiology**, v. 92, n. 2, p. 314–317, 1 mar. 2016.

OLIVIERI, A. W. et al. Risk-Based Review of California's Water-Recycling Criteria for Agricultural Irrigation. **Journal of Environmental Engineering**, v. 140, n. 6, p. 04014015, jun. 2014.

ONORI, R. et al. First isolation of *Skermanella aerolata* from a human sample. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 31, n. 6, p. 552–554, dez. 2018.

ORDOÑEZ, O. F. et al. Extremophile culture collection from Andean lakes: extreme pristine environments that host a wide diversity of microorganisms with tolerance to UV radiation. **Microbial Ecology**, v. 58, n. 3, p. 461–473, out. 2009.

OREN, A. The Family Xanthobacteraceae. In: ROSENBERG, E. et al. (Eds.). . **The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014a. p. 709–726.

OREN, A. The Family Rhodocyclaceae. In: ROSENBERG, E. et al. (Eds.). . **The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014b. p. 975–998.

ORLOFSKY, E. et al. Comparable levels of microbial contamination in soil and on tomato crops after drip irrigation with treated wastewater or potable water. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 215, p. 140–150, 1 jan. 2016.

OVED, T. et al. Influence of effluent irrigation on community composition and function of ammonia-oxidizing bacteria in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 8, p. 3426–3433, ago. 2001.

PARADA, A. E.; NEEDHAM, D. M.; FUHRMAN, J. A. Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 5, p. 1403–1414, 2016.

PARANYCHIANAKIS, N. V. et al. Water Reuse in EU States: Necessity for Uniform Criteria to Mitigate Human and Environmental Risks. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 13, p. 1409–1468, 3 jul. 2015.

PARDIECK, D. L.; BOUWER, E. J.; STONE, A. T. Hydrogen peroxide use to increase oxidant capacity for in situ bioremediation of contaminated soils and aquifers: A review. **Journal of Contaminant Hydrology**, v. 9, n. 3, p. 221–242, 1 mar. 1992.

PARK, D.; KIM, H.; YOON, S. Nitrous Oxide Reduction by an Obligate Aerobic Bacterium, *Gemmatimonas aurantiaca* Strain T-27. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 12, 15 jun. 2017.

PARK, E. et al. Efficiency of peracetic acid in inactivating bacteria, viruses, and spores in water determined with ATP bioluminescence, quantitative PCR, and culture-based methods. **Journal of Water and Health**, v. 12, n. 1, p. 13, mar. 2014.

PASCUAL, J. et al. *Longimicrobium terrae* gen. nov., sp. nov., an oligotrophic bacterium of the under-represented phylum Gemmatimonadetes isolated through a system of miniaturized diffusion chambers. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 5, p. 1976–1985, maio 2016.

PEDRERO, F. et al. Use of treated municipal wastewater in irrigated agriculture—Review of some practices in Spain and Greece. **Agricultural Water Management**, v. 97, n. 9, p. 1233–1241, set. 2010.

PEDRERO, F. et al. Physiological and agronomic mandarin trees performance under saline reclaimed water combined with regulated deficit irrigation. **Agricultural Water Management**, v. 146, p. 228–237, 1 dez. 2014.

PEDRERO, F. et al. Use of reclaimed wastewater on fruit quality of nectarine in Southern Italy. **Agricultural Water Management**, v. 203, p. 186–192, 30 abr. 2018.

PEDRERO, F. et al. Opportunities for expanding the use of wastewaters for irrigation of olives. **Agricultural Water Management**, v. 241, p. 106333, 1 nov. 2020.

PENG, Y. et al. Characteristics of microbial community involved in early biofilms formation under the influence of wastewater treatment plant effluent. **Journal of Environmental Sciences**, v. 66, p. 113–124, 1 abr. 2018.

PERRY, D. M.; PRASKIEVICZ, S. J. A New Era of Big Infrastructure? (Re)developing Water Storage in the U.S. **West in the Context of Climate Change and Environmental Regulation**. v. 10, n. 2, p. 18, 2017.

PESTER, M.; SCHLEPER, C.; WAGNER, M. The Thaumarchaeota: an emerging view of their phylogeny and ecophysiology. **Current opinion in microbiology**, v. 14, n. 3, p. 300–306, 1 jun. 2011.

PETTERSON, S. R.; ASHBOLT, N. J.; SHARMA, A. Microbial Risks from Wastewater Irrigation of Salad Crops: A Screening-Level Risk Assessment. **Water Environment Research**, v. 73, n. 6, p. 667–672, 2001.

PEZZOLLA, D. et al. Influence of exogenous organic matter on prokaryotic and eukaryotic microbiota in an agricultural soil. A multidisciplinary approach. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 82, p. 9–20, mar. 2015.

PROSSER, J. I.; HEAD, I. M.; STEIN, L. Y. The Family Nitrosomonadaceae. In: ROSENBERG, E. et al. (Eds.). . **The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014. p. 901–918.

PUJALTE, M. J. et al. The Family Rhodobacteraceae. In: ROSENBERG, E. et al. (Eds.). . **The Prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014. p. 439–512.

PULLERITS, K. et al. Impact of UV irradiation at full scale on bacterial communities in drinking water. **Clean Water**, v. 3, n. 1, p. 11, jan. 2020.

QADIR, M. et al. The challenges of wastewater irrigation in developing countries. *Agricultural Water Management*, Comprehensive **Assessment of Water Management in Agriculture**. v. 97, n. 4, p. 561–568, 1 abr. 2010.

RAMO, A. Occurrence and genetic diversity of *Cryptosporidium* and *Giardia* in urban wastewater treatment plants in north-eastern Spain. **Science of The Total Environment**, v. 598, p.628–638, 2017.

RANALLI, G.; ZANARDINI, E.; SORLINI, C. Biodeterioration – Including Cultural Heritage☆. In: SCHMIDT, T. M. (Ed.). . **Encyclopedia of Microbiology** (Fourth Edition). Oxford: Academic Press, 2019. p. 491–509.

RASTOGI, R. P. et al. Ultraviolet radiation and cyanobacteria. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 141, p. 154–169, 1 dez. 2014.

RECHCIGL, M. (ED.). **CRC Handbook of Agricultural Productivity: Plant Productivity**. Boca Raton: CRC Press, 2017.

REESE, A. T. et al. Plant community and soil conditions individually affect soil microbial community assembly in experimental mesocosms. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 2, p. 1196–1205, 2017.

REINOSO, R. et al. Mechanisms for Parasites Removal in a Waste Stabilisation Pond. **Microbial Ecology**, v. 61, n. 3, p. 684–692, 1 abr. 2011.

REINOSO, R.; TORRES, L. A.; BÉCARES, E. Efficiency of natural systems for removal of bacteria and pathogenic parasites from wastewater. **Science of The Total Environment**, v. 395, n. 2, p. 80–86, 1 jun. 2008.

RICART, S.; RICO, A. M. Assessing technical and social driving factors of water reuse in agriculture: A review on risks, regulation and the yuck factor. **Agricultural Water Management**, v. 217, p. 426–439, 20 maio 2019.

RICE, E. W.; HOFF, J. C.; SCHAEFER, F. W. Inactivation of Giardia Cysts by Chlorine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 250–251, jan. 1982.

RIO GRANDE DO SUL. Conselho Estadual de Meio Ambiente. Resolução número 419 de 13 de fevereiro de 2020. Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul, 2020.

RIZZO, L. et al. Tertiary treatment of urban wastewater by solar and UV-C driven advanced oxidation with peracetic acid: Effect on contaminants of emerging concern and antibiotic resistance. **Water Research**, v. 149, p. 272–281, fev. 2019.

RIZZO, L. et al. Best available technologies and treatment trains to address current challenges in urban wastewater reuse for irrigation of crops in EU countries. **Science of The Total Environment**, v. 710, p. 136312, 25 mar. 2020.

ROBERT et al. Predicting the Formation of Chlorinated and Brominated By-Products. **Journal of Environmental Engineering**, v. 127, n. 6, p. 493–501, 1 jun. 2001.

ROBERTSON, L. J. et al. Giardia cysts and Cryptosporidium oocysts at sewage treatment works in Scotland, UK. **Water Research**, v. 34, n. 8, p. 2310–2322, 1 jun. 2000.

RODRIGUEZ-MANZANO, J. et al. Standard and new faecal indicators and pathogens in sewage treatment plants, microbiological parameters for improving the control of reclaimed water. **Water Science and Technology**, v. 66, n. 12, p. 2517–2523, 1 dez. 2012.

RÖMER, W.; SCHILLING, G. Phosphorus requirements of the wheat plant in various stages of its life cycle. **Plant and Soil**, v. 91, n. 2, p. 221–229, 1 jun. 1986.

ROUSSEAU, A. et al. Assessing viability and infectivity of foodborne and waterborne stages (cysts/oocysts) of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium* spp., and *Toxoplasma gondii*: a review of methods. **Parasite**, v. 25, p. 14, 2018.

RUSAN, M. J. M.; SAMI HINNAWI; ROUSAN, L. Long term effect of wastewater irrigation of forage crops on soil and plant quality parameters. **Desalination**, v. 215, n. 1–3, p. 143–152, set. 2007.

RUTKOWSKI, T.; RASCHID-SALLY, L.; BUECHLER, S. Wastewater irrigation in the developing world—Two case studies from the Kathmandu Valley in Nepal. **Agricultural Water Management**, v. 88, n. 1, p. 83–91, 16 mar. 2007.

RYU, H. et al. Assessment of the risk of infection by *Cryptosporidium* and *Giardia* in non-potable reclaimed water. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 1–2, p. 283–290, 1 jan. 2007.

RYU, H. et al. Photocatalytic inactivation of *Cryptosporidium parvum* with TiO₂ and low-pressure ultraviolet irradiation. **Water Research**, v. 42, n. 6, p. 1523–1530, 1 mar. 2008.

SÁNCHEZ-RUIZ, C.; MARTÍNEZ-ROYANO, S.; TEJERO-MONZÓN, I. An evaluation of the efficiency and impact of raw wastewater disinfection with peracetic acid prior to ocean discharge. **Water Science and Technology**, Environment Protection Technologies for Coastal Areas. v. 32, n. 7, p. 159–166, 1 jan. 1995.

SANTOS, H. G. dos et al. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 5. ed. revisada e ampliada, Rio de Janeiro: CNPS, 2018. 356p.

SEGAL, E. et al. Olive orchard irrigation with reclaimed wastewater: Agronomic and environmental considerations. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 140, n. 3, p. 454–461, 1 mar. 2011.

SGROI, M.; SNYDER, S. A.; ROCCARO, P. Comparison of AOPs at pilot scale: Energy costs for micro-pollutants oxidation, disinfection by-products formation and pathogens inactivation. **Chemosphere**, v. 273, p. 128527, 1 jun. 2021.

SHANNON, C. E. A Mathematical Theory of Communication. **Bell System Technical Journal**, v. 27, n. 3, p. 379–423, 1 jul. 1948.

SHARMA, M. et al. The genus *Sphingopyxis*: Systematics, ecology, and bioremediation potential - A review. **Journal of Environmental Management**, v. 280, p. 111744, 15 fev. 2021.

SHI, L. et al. Enantioselective effects of cyflumetofen on microbial community and related nitrogen cycle gene function in acid-soil. **Science of The Total Environment**, v. 771, p. 144831, 1 jun. 2021.

Shoushtarian, F., Negahban-Azar, M. Worldwide Regulations and Guidelines for Agricultural Water Reuse: A Critical Review. **Water** v. 12, p. 971, 2020.

SHUVAL, H. I.; YEKUTIEL, P.; FATTAL, B. Epidemiological Evidence for Helminth and Cholera Transmission by Vegetables Irrigated with Wastewater: Jerusalem – A Case Study. **Water Science and Technology**, v. 17, n. 4–5, p. 433–442, 1 abr. 1985.

SILVA, N. B. Avaliação do uso de diferentes agentes desinfetantes em esgoto sanitário tratado. 2018. 291p. Tese (Doutorado em Engenharia Civil). Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo. Universidade Estadual de Campinas, 2018.

SILVA, N. B.; LEONEL, L. P.; TONETTI, A. L. UV-LED for Safe Effluent Reuse in Agriculture. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 7, p. 343, 1 jul. 2020.

SIMPSON, E. H. Measurement of Diversity. **Nature**, v. 163, n. 4148, p. 688–688, abr. 1949.

SKARIYACHAN, S. et al. Enhanced polymer degradation of polyethylene and polypropylene by novel thermophilic consortia of *Brevibacillus* sps. and *Aneurinibacillus* sp. screened from waste management landfills and sewage treatment plants. **Polymer Degradation and Stability**, v. 149, p. 52–68, 1 mar. 2018.

SONG, K.; MOHSENI, M.; TAGHIPOUR, F. Application of ultraviolet light-emitting diodes (UV-LEDs) for water disinfection: A review. **Water Research**, v. 94, p. 341–349, maio 2016.

SONG, K.; MOHSENI, M.; TAGHIPOUR, F. Mechanisms investigation on bacterial inactivation through combinations of UV wavelengths. **Water Research**, v. 163, p. 114875, 15 out. 2019.

SONG, K.; TAGHIPOUR, F.; MOHSENI, M. Microorganisms inactivation by wavelength combinations of ultraviolet light-emitting diodes (UV-LEDs). **Science of The Total Environment**, v. 665, p. 1103–1110, 15 maio 2019a.

SONG, K.; TAGHIPOUR, F.; MOHSENI, M. Microorganisms inactivation by wavelength combinations of ultraviolet light-emitting diodes (UV-LEDs). **Science of The Total Environment**, v. 665, p. 1103–1110, 15 maio 2019b.

SONG, P. et al. Environmental risk of chlorine-controlled clogging in drip irrigation system using reclaimed water: the perspective of soil health. **Journal of Cleaner Production**, v. 232, p. 1452–1464, 20 set. 2019.

SPANAKOS, G. et al. Occurrence of Cryptosporidium and Giardia in recycled waters used for irrigation and first description of Cryptosporidium parvum and C. muris in Greece. **Parasitology Research**, v. 114, n. 5, p. 1803–1810, 1 maio 2015.

SPARLING, G. P. et al. Hydraulic conductivity in soils irrigated with wastewaters of differing strengths: Field and laboratory studies. **Soil Research**, v. 37, n. 2, p. 391–402, 1999.

SRIKANTH, R.; NAIK, D. Prevalence of Giardiasis due to wastewater reuse for agriculture in the suburbs of Asmara City, Eritrea. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 14, n. 1, p. 43–52, fev. 2004.

SUN, P.; TYREE, C.; HUANG, C.-H. Inactivation of Escherichia coli, Bacteriophage MS2, and Bacillus Spores under UV/H₂O₂ and UV/Peroxydisulfate Advanced Disinfection Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 8, p. 4448–4458, 19 abr. 2016.

ŚWIĄT CZAK, P.; CYDZIK-KWIATKOWSKA, A.; ZIELIŃSKA, M. Treatment of the liquid phase of digestate from a biogas plant for water reuse. **Bioresource Technology**, v. 276, p. 226–235, 1 mar. 2019.

TAL, A. Rethinking the sustainability of Israel's irrigation practices in the Drylands. **Water Research**, v. 90, p. 387–394, 1 mar. 2016.

TIEDJE, J. M. et al. Opening the black box of soil microbial diversity. **Applied Soil Ecology**, v. 13, n. 2, p. 109–122, out. 1999.

TORSVIK, V.; ØVREÅS, L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, p. 6, 2002.

TOZE, S. Reuse of effluent water—benefits and risks. **Agricultural Water Management**, v. 80, n. 1–3, p. 147–159, fev. 2006.

TRUJILLO, M. E.; HONG, K.; GENILLOU, O. The Family Micromonosporaceae. In: ROSENBERG, E. et al. (Eds.). **The Prokaryotes: Actinobacteria**. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014. p. 499–569.

TSIKNIA, M.; TZANAKAKIS, V. A.; PARANYCHIANAKIS, N. V. Insights on the role of vegetation on nitrogen cycling in effluent irrigated lands. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 104–111, 1 fev. 2013.

UDDIN, M. et al. Bacterial community variations in paddy soils induced by application of veterinary antibiotics in plant-soil systems. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 167, p. 44–53, 15 jan. 2019.

UNITED KINGDOM ENVIRONMENT AGENCY. Water for people and the environment: water resources strategy for England and Wales. 2009.

UNITED NATIONS. General Assembly Resolution 70/1: Transforming Our World: the 2030 Agenda for Sustainable Development. September 25th, 2016. UN Doc A/RES/70/1. 2016.

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAM. Annual Report 2015. <<https://www.unep.org/resources/annual-report/united-nations-environment-programme-annual-report-2015>> Acessado em julho de 2020

URBANO, V. R. et al. Effects of treated wastewater irrigation on soil properties and lettuce yield. **Agricultural Water Management**, v. 181, p. 108–115, 1 fev. 2017.

USEPA. Ultraviolet Disinfection Guidance Manual for the Final Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule. Environmental Protection Agency (EPA). Washington DC, (EPA 815 R 06 007), 2006.

USEPA. Revision of water treatment manual on disinfection. Environmental Protection Agency (EPA). Washington DC, 2011.

USEPA. Guidelines for Water Reuse. Environmental Protection Agency (EPA), Washington DC (EPA/600/R-12/618), 2012a.

USEPA. Method 1623.1: Cryptosporidium and Giardia in Water by Filtration/IMS/FA. United States, 2012b.

VAN BERGEIJK, D. A. et al. Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. **Nature Reviews Microbiology**, v. 18, n. 10, p. 546–558, out. 2020.

VÉLEZ, O. R.; FASCIOLO, G. E.; BERTRANOU, A. V. Domestic wastewater treatment in waste stabilization ponds for irrigation in Mendoza, Argentina: policies and challenges. **Water Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 127–132, 1 jan. 2002.

VERBYLA, M. E. et al. Wastewater infrastructure for small cities in an urbanizing world: integrating protection of human health and the environment with resource recovery and food security. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 8, p. 3598 – 3605, April, 2013.

VIANA, F.; LAGE, O. M.; OLIVEIRA, R. High ultraviolet C resistance of marine Planctomycetes. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 104, n. 4, p. 585–595, 1 out. 2013.

VILHUNEN, S.; SILLANPÄÄ, M. Recent developments in photochemical and chemical AOPs in water treatment: a mini-review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 9, n. 4, p. 323–330, dez. 2010.

VIVALDI, G. A. et al. Microbial impact of different types of municipal wastewaters used to irrigate nectarines in Southern Italy. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 181, p. 50–57, 1 dez. 2013.

VOULVOULIS, N. Water reuse from a circular economy perspective and potential risks from an unregulated approach. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 2, p. 32–45, 1 abr. 2018.

WAFULA, D. et al. Impacts of Long-Term Irrigation of Domestic Treated Wastewater on Soil Biogeochemistry and Bacterial Community Structure. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 20, p. 7143–7158, 15 out. 2015.

WAGNER, M.; BRUMELIS, D.; GEHR, R. Disinfection of Wastewater by Hydrogen Peroxide or Peracetic Acid: Development of Procedures for Measurement of Residual Disinfectant and Application to a Physicochemically Treated Municipal Effluent. **Water Environment Research**, v. 74, n. 1, p. 33–50, 2002.

WANG, C.; LIU, D.; BAI, E. Decreasing soil microbial diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 120, p. 126–133, 1 maio 2018.

WANG, F. et al. Effect of residual H₂O₂ from advanced oxidation processes on subsequent biological water treatment: A laboratory batch study. **Chemosphere**, v. 185, p. 637–646, 1 out. 2017.

WANG, J. L.; XU, L. J. Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: Formation of Hydroxyl Radical and Application. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 42, n. 3, p. 251–325, 1 fev. 2012.

WANG, Q. et al. Effects of Nitrogen and Phosphorus Inputs on Soil Bacterial Abundance, Diversity, and Community Composition in Chinese Fir Plantations. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 19 jul. 2018.

WANG, S. et al. Archaeal community variation in the Qinhuangdao coastal aquaculture zone revealed by high-throughput sequencing. **PLOS ONE**, v. 14, n. 6, p. e0218611, 21 jun. 2019.

WANG, Z. et al. Assessing the soil quality of long-term reclaimed wastewater-irrigated cropland. **Geoderma**. v. 114, n. 3, p. 261–278, 1 jun. 2003.

WHO. Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. v. 2. World Health Organisation (WHO) Paris, 2006a.

WHO. A Compendium for Standards for Wastewater Reuse in the Eastern Mediterranean Region. World Health Organisation (WHO), (WHO-EM/CEH/142/E), 2006b.

WICKHAM, H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. **Springer-Verlag New York**. 2016. Disponível em <<https://ggplot2.tidyverse.org>> Acesso em Outubro de 2019.

WIDMER, G. et al. Structural and biochemical alterations in *Giardia lamblia* cyst exposed to ozone. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 6, p. 1100–1106, dez. 2002.

WIERZBOWSKA, J. et al. Phosphorus fractions in soil fertilised with organic waste. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 5, 2020.

WIRGOT, N. et al. H₂O₂ modulates the energetic metabolism of the cloud microbiome. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 17, n. 24, p. 14841–14851, 14 dez. 2017.

WORLD BANK. Unleashing wastewater's potential in Brazil. 2020. Disponível em <<https://blogs.worldbank.org/water/unleashing-wastewaters-potential-brazil>> Acessado em julho 2020.

WORRICH, A.; WICK, L. Y.; BANITZ, T. Chapter Three - Ecology of Contaminant Biotransformation in the Mycosphere: Role of Transport Processes. In: GADD, G. M.; SARIASLANI, S. (Eds.). . **Advances in Applied Microbiology**. [s.l.] Academic Press, 2018. v. 104p. 93–133.

WU, A. L. et al. Sorghum rhizosphere effects reduced soil bacterial diversity by recruiting specific bacterial species under low nitrogen stress. **Science of The Total Environment**, v. 770, p. 144742, 20 maio 2021.

WU, X. et al. Treated Wastewater Irrigation: Uptake of Pharmaceutical and Personal Care Products by Common Vegetables under Field Conditions. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 19, p. 11286–11293, 7 out. 2014.

WWAP - UNESCO World Water Assessment Programme. The United Nations World Water Development Report 2019: Leaving No One Behind. Paris, UNESCO, 2019.

WWAP - UNESCO World Water Assessment Programme. The United Nations World Water Development Report 2017: Wastewater: The Untapped Resource. Paris, UNESCO, 2017.

YANG, H. et al. Wheat Straw Return Influences Nitrogen-Cycling and Pathogen Associated Soil Microbiota in a Wheat–Soybean Rotation System. **Frontiers in Microbiology**, v. 0, 2019.

YI, L. et al. An overview of reclaimed water reuse in China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 10, p. 1585–1593, 1 out. 2011.

YU, L. Z.-H. et al. Diversity of ionizing radiation-resistant bacteria obtained from the Taklimakan Desert. **Journal of Basic Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 135–140, 2015.

XI, B. et al. Insights into the effects of heavy metal pressure driven by long-term treated wastewater irrigation on bacterial communities and nitrogen-transforming

genes along vertical soil profiles. **Journal of Hazardous Materials**, v. 403, p. 123853, 5 fev. 2021.

ZABALAGA, J.; AMY, G.; VON MÜNCH, E. Evaluation of agricultural reuse practices and relevant guidelines for the Alba Rancho WWTP (primary and secondary facultative ponds) in Cochabamba, Bolivia. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 1–2, p. 469–475, 1 jan. 2007.

ZHANG, Y. et al. Variations in cyanobacterial and algal communities and soil characteristics under biocrust development under similar environmental conditions. **Plant and Soil**, v. 429, n. 1, p. 241–251, 1 ago. 2018.

ZHOU, Z.-F. et al. Response of denitrification genes nirS, nirK, and nosZ to irrigation water quality in a Chinese agricultural soil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, n. 9, p. 1644–1652, 1 nov. 2011.

ZOHAR, I. et al. Phosphorus dynamics in soils irrigated with reclaimed waste water or fresh water — A study using oxygen isotopic composition of phosphate. **Geoderma**, v. 159, n. 1, p. 109–121, 15 out. 2010.

ZOLTI, A. et al. Root microbiome response to treated wastewater irrigation. **Science of The Total Environment**, v. 655, p. 899–907, mar. 2019.