

## Efeitos da Irrigação com Água de Reúso sobre o DNA da Microbiota no Solo de Cultivos da Hortalíça *Petroselinum crispum*

### Effects of Irrigation with Wastewater Reuse on Microbiota DNA in Soil of vegetable Crops *Petroselinum crispum*

Natasha Berendonk Handam <sup>1\*</sup>, Elvira Carvajal <sup>2</sup>, Ana Beatriz Loureiro Gonçalves da Silva <sup>3</sup>, Rodrigo Bezerra da Silva <sup>4</sup>, Priscila Gonçalves Moura <sup>1</sup>, Adriana Sotero-Martins <sup>5</sup>

---

#### RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar efeitos da irrigação com água de reúso sobre o DNA da microbiota no solo dos cultivos de hortalíça *Petroselinum crispum*. Em sistema construído em laboratório, foram cultivados *Petroselinum crispum*, regados por gotejamento com água de reúso e água potável, a temperatura e iluminação controlados. Foram feitas extrações de DNA total e reação da polimerase em cadeia (PCR), visando identificar no solo possível contaminação fecal. A quantidade extraída de DNA das amostras indicou que o uso da água de reúso contribuiu em média para aumentar 1,6 vezes a quantidade de microbiota no solo em relação ao controle. A PCR mostrou que os cultivos regados com água de reúso alteraram a microbiota no solo em função dos microrganismos, Adenovírus tipo 40 e 41 e *Escherichia coli*, presentes na água de irrigação. Conclui-se que, a água de reúso dentro dos padrões de qualidade sanitária representa uma fonte segura e sustentável para irrigação da agricultura, sendo feita por gotejamento, a fim de evitar danos à saúde humana e ambiental.

**Palavras-chave:** Água de reúso; Irrigação da agricultura; Biologia molecular.

---

#### ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effects of irrigation with reused water on the DNA of the microbiota in the soil of the vegetable crops *Petroselinum crispum*. In a system built in a laboratory, *Petroselinum crispum* were cultivated, drip watered with reuse water and drinking water, at controlled temperature and lighting. Total DNA extractions and polymerase chain reaction (PCR) were performed to identify possible fecal contamination in the soil. The amount of DNA extracted from the samples indicated that the use of reused water contributed, on average, to increase 1.6 times the amount of microbiota in the soil in relation to the control. PCR showed that the cultures irrigated with reused water altered the microbiota in the soil as a function of the microorganisms, Adenovirus types 40 and 41 and *Escherichia coli*, present in the irrigation water. It is concluded that reused water within sanitary quality standards represents a safe and sustainable source for irrigation in agriculture, being done by drip, in order to avoid damage to human and environmental health.

**Keywords:** Agricultural irrigation; Molecular biology; Wastewater reuse.

---

---

<sup>1</sup> Fundação Oswaldo Cruz

\*E-mail: natashabhandam@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

<sup>3</sup> Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial / Centro de Tecnologia da Indústria Química e Têxtil. Bolsista Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

<sup>4</sup> Universidade do Estado do Rio de Janeiro

<sup>5</sup> Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz

## INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo, existem vários exemplos da utilização de água de reúso na agricultura (MANCUSO; SANTOS, 2013). A água de reúso é definida como a reutilização de águas provenientes de efluentes tratados (MORAIS et al., 2016). A agricultura é a atividade econômica que mais demanda água, cerca de 70% (WHO, 2013), e devido à escassez das fontes hídricas para esta atividade em diversas regiões, a água de reúso se torna uma alternativa para enfrentamento desse problema (HANDAM et al., 2021). Entretanto, esta alternativa é questionável, se a análise da qualidade sanitária da água de reúso for realizada por técnicas tradicionais que avaliam apenas os coliformes totais e a *Escherichia coli* (*E. coli*), pois micropoluentes de difícil detecção, como vírus e produtos químicos têm sido persistentes nas amostras (MOURA, 2019).

A utilização da água de reúso traz diversos benefícios à agricultura como fonte de nutrientes que auxiliam o crescimento de cultivos, entretanto deve-se ter segurança da qualidade sanitária para não prejudicar a saúde humana e ambiental, uma vez que este tipo de água pode conter micropoluentes, tais como produtos químicos e microrganismos. A utilização deste tipo de água na microbiota do solo pode ou não beneficiar microrganismos. Quando aplicada em alta quantidade e possuir uma grande carga de nutrientes como fósforo e nitrogênio, patógenos, metais pesados e antibióticos, o solo não consegue realizar a sua função de reciclabilidade, e assim pode alterar as características do solo (LIU et al., 2013).

Nos dias atuais, há um efeito direto da falta de água sobre as atividades agrícolas, tendo reflexos diretos na economia e no acesso aos alimentos. É importante salientar que a água não é utilizada somente na irrigação, mas também para produzir e higienizar os alimentos (EUFIC, 2015). Devido à escassez de água em consequência da crise hídrica, se observa vários efeitos diretos sobre a produção agrícola, tais como a redução das safras e da qualidade dos produtos bem como impacto sobre a redução da higienização e conservação das colheitas. Desta maneira, diversas doenças podem ser transmitidas em qualquer lugar do mundo pela contaminação dos alimentos, se constituindo um grave problema. Tais doenças são ocasionadas geralmente por bactérias, vírus, protozoários ou toxinas. Dentre outras maneiras, uma forma de evitar estas consequências tão prejudiciais é o planejamento e o gerenciamento da água, assim como a utilização de técnicas de irrigação, com o objetivo também de economizar água nas plantações (MACEDO, 2015).

No Brasil, atualmente, não existe uma legislação federal que estabeleça os parâmetros de qualidade para avaliação sanitária da água de reúso, como fonte hídrica, trazendo desafios em sua aplicação. Para produção de água de reúso para agricultura é fundamental uma lei ou normativa federal no Brasil, contendo formas de tratamento, parâmetros de qualidade tanto bacteriológicos quanto físico-químicos, para que em todo território brasileiro os governos tivessem a obrigação de cumprir (HANDAM et al., 2021).

Os estudos sobre a qualidade sanitária de amostras ambientais têm utilizado análises de biologia molecular, por exemplo, a avaliação de marcadores moleculares de contaminação pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Com o auxílio de técnicas de biologia molecular como esta, podem ser identificados microrganismos bioindicadores de contaminação fecal, e dessa forma ficam mais evidentes os perigos eminentes, e assim poder realizar medidas para a prevenção da saúde humana e ambiental (MCQUAIG et al., 2012).

Os microrganismos que podem ser cultiváveis, por meios de cultivo seletivos, representam por volta de 1% dos seres vivos, um pequeno percentual das espécies no mundo, por isso a metodologia de cultivo não consegue identificar muitos microrganismos que não são cultiváveis. Por meio da biologia molecular é possível a detecção de microrganismos que não são cultiváveis. Estudos utilizam marcadores moleculares (detectam a presença dos genes de microrganismos nas amostras) que podem indicar contaminação fecal, assim como a possível existência de outros microrganismos (SANTOS et al., 2009). Pesquisas vêm sendo feitas utilizando bioindicadores moleculares de contaminação fecal em amostras de água, como adenovírus sorotipos 40 e 41, *Methanobrevibacter smithii* (SIDHU et al., 2013) e *Escherichia coli* (MOURA, 2019) por meio da técnica de PCR.

Nesse contexto o estudo teve o objetivo do trabalho foi avaliar efeitos da irrigação com água de reúso sobre o DNA da microbiota no solo dos cultivos de hortaliça *Petroselinum crispum*.

## **METODOLOGIA**

### **Coleta de amostras**

Foram coletadas três amostras de água de reúso, que tiveram procedências diferentes, são estas: água de reúso “clorada”, obtida a partir de esgoto tratado (ETE) e depois clorado; água de reúso “polida”, proveniente de esgoto tratado (ETE) e tratamento de água de reúso (ETAR -filtração, ultrafiltração e osmose reversa); e água de reúso “biológica”, a partir de águas cinzas (esgoto vindos de chuveiro, lavatório, pia de cozinha, tanque ou máquina de lavar, com exceção de vaso sanitário) tratadas que passaram por um sistema de filtragem por mecanismos físicos e biológicos (POBLETE, 2010), proveniente de quatro sistemas de filtro biológico (quatro residências). Foram utilizados 5,0 litros (DP  $\pm$  0,5) de água de reúso coletada em galão de polipropileno esterilizado (HANDAM, 2021), para serem utilizados para a irrigação dos cultivos. Vale ressaltar que as coletas das amostras foram por amostragem de conveniência, mas que garantiram três diferentes tipos clássicos de origens de água de reúso.

Foi construído um sistema especificamente para cultivo em bancada em laboratório, com temperatura (24°C), e iluminação controladas, com gotejamento direcionado para irrigação dos vasos. Todos os vasos continham solo proveniente do mesmo fornecedor da cidade de Inhaúma, Minas Gerais, MG. E o gotejamento foi controlado, de modo a fornecer a irrigação de 15,59 mL ( $\pm$  6,22) de água ao longo do dia (HANDAM, 2021).

Os experimentos foram realizados com o cultivo da hortaliça *Petroselinum crispum*, popularmente chamada de salsa. A hortaliça salsa (*Petroselinum crispum*) foi escolhida para os experimentos de cultivo agrícola, devido a sua resistência às condições ambientais adversas como, por exemplo, à variação de temperatura (entre 10 a 24°C) e iluminação (EMBRAPA, 2013). Além disto, o cultivo desta planta pode durar de dois a três anos (ZÁRATE et al., 2003; FILGUEIRA, 2007).

### **Extração de DNA e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

Foram realizadas extrações de DNA das amostras de água de rega (água coletada que passou pelo solo após irrigação), provenientes dos 5 vasos com cultivo de hortaliças *Petroselinum crispum* irrigados com as amostras de água de reúso “clorada, biológica e polida”, assim como dos 5 vasos irrigados com água potável (controle). Para isso, no primeiro e após 15 dias dos ensaios de cultivo de plantas, os vasos foram irrigados com 80 mL de água de 10 em 10 mL diretamente no solo, assim que o primeiro volume era

absorvido totalmente pelo solo. Para a coleta de água de rega, embaixo de cada vaso, no dia da coleta, foi colocado frasco de vidro esterilizado para receber a água de rega que saía pelo orifício do vaso. Depois das coletas, 30 mL de amostras de água de rega de cada vaso do cultivo, foram filtrados em um conjunto de quatro membranas de papel filtro (especificação técnica do papel 80 g), para a retirada dos resíduos grosseiros, com auxílio de bomba à vácuo. Posteriormente, o volume filtrado foi distribuído em microtubos com capacidade de 1,5 mL (total de 20 microtubos), e depois as alíquotas dos 30 mL da amostra foram centrifugadas à 14.000 Xg, por 5 minutos à 25°C, por meio de centrífuga da marca Eppendorf Centrifuge 5417C. Depois, em cada microtubo, foram descartados os sobrenadantes, e os precipitados foram passados para um único microtubo, e foram armazenados em freezer a -20°C até o momento da extração de DNA da amostra.

As extrações de DNA das amostras da água de rega foram realizadas através do Kit “PowerWater Sterivex™ DNA Isolation Kit Sample da marca MO BIO Laboratories® (Catalog nº 14600-S), de acordo com as instruções do fabricante adaptadas. Foi quantificado o DNA pelo equipamento NanoDrop™ 1000 spectrophotometers. Depois, para padronizar todas as amostras na mesma concentração de DNA genômico capaz de produzir amplificação na PCR dos marcadores moleculares, foram feitos cálculos para que as amostras ficassem na concentração final de DNA de 20 ng/μL.

Foram realizadas Reações em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando-se iniciadores (primers) específicos de microrganismos associados à contaminação hídrica por esgoto doméstico, e os das Reações de PCR do estudo para cada microrganismo alvo indicador de contaminação (MOURA, 2016; HANDAM, 2021), que foram: *Escherichia coli* (*E. coli*), Adenovírus sorotipos 40 e 41, e *Methanobrevibacter smithii* (*M. smithii*). Foram utilizados estes microrganismos (marcadores moleculares), pois os mesmos foram verificados como presentes em estudo de Moura (2019), que foram as mesmas amostras de água de reúso utilizadas no presente estudo.

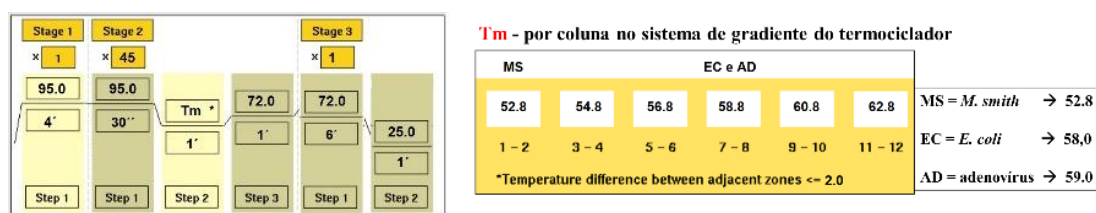
A PCR foi realizada com volume de 3 μL (20 ng) de DNA, utilizando-se um termociclador VERITI Applied Biosystems. Para que fosse feita a PCR dos três microrganismos alvos ao mesmo tempo o protocolo de Moura (2019) foi otimizado, sendo as etapas de ciclagem da máquina realizadas da seguinte forma apresentada na tabela 1, e figura 1.

**Tabela 1** - Programação no Termociclador otimizada, em gradiente, dos ciclos de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) para os microrganismos alvos *Methanobrevibacter smithii*, e *Escherichia coli* e Adenovírus.

| Microrganismos    | Iniciadores | Programação da Reação em Cadeia de Polimerase (PCR)                                                                                                                                                                          | Referências                                                          |
|-------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <i>M. smithii</i> | Mnif-342F   | 4 minutos de desnaturação a 95°C, seguido de 45 ciclos com desnaturação a 95°C por 30 segundos, anelamento a gradiente* por 1 minuto, extensão a 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 6 minutos. Tempo total 2:24h. | Harwood et al. (2009); McQuaig et al. (2009); Moura (2019) otimizado |
|                   | Mnif-363R   |                                                                                                                                                                                                                              |                                                                      |
| <i>E. coli</i>    | uidA298F    | *Gradiente 52,8°C (coluna 1-2), 54,8 (coluna 3-4), 56,8 (coluna 5-6), 58,8 (coluna 7-8), 60,8 (coluna 9-10), 62,8 (coluna 11-12).                                                                                            | Bower et al. (2005); Moura (2019) Otimizado                          |
|                   | uidA884R    |                                                                                                                                                                                                                              |                                                                      |
| Adenovírus        | HAdVF       | As amostras com par de iniciadores de <i>M. smithii</i> ficaram na coluna 1-2, e amostras com iniciadores de <i>E. coli</i> e Adenovírus ficaram na coluna 7-8.                                                              | McQuaig et al. (2009); Moura (2019) Otimizado                        |
|                   | HAdV R      |                                                                                                                                                                                                                              |                                                                      |

Nota: *M. smithii* = *Methanobrevibacter smithii*. O protocolo de Reação de PCR foi otimizado proveniente de Moura (2019), sendo observados os protocolos das referências que constam na tabela para cada microrganismo. Fonte: própria autora.

**Figura 1** - Programação no Termociclador VERITI Applied Biosystems, otimizada, em gradiente, dos ciclos de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).



Fonte: própria autora.

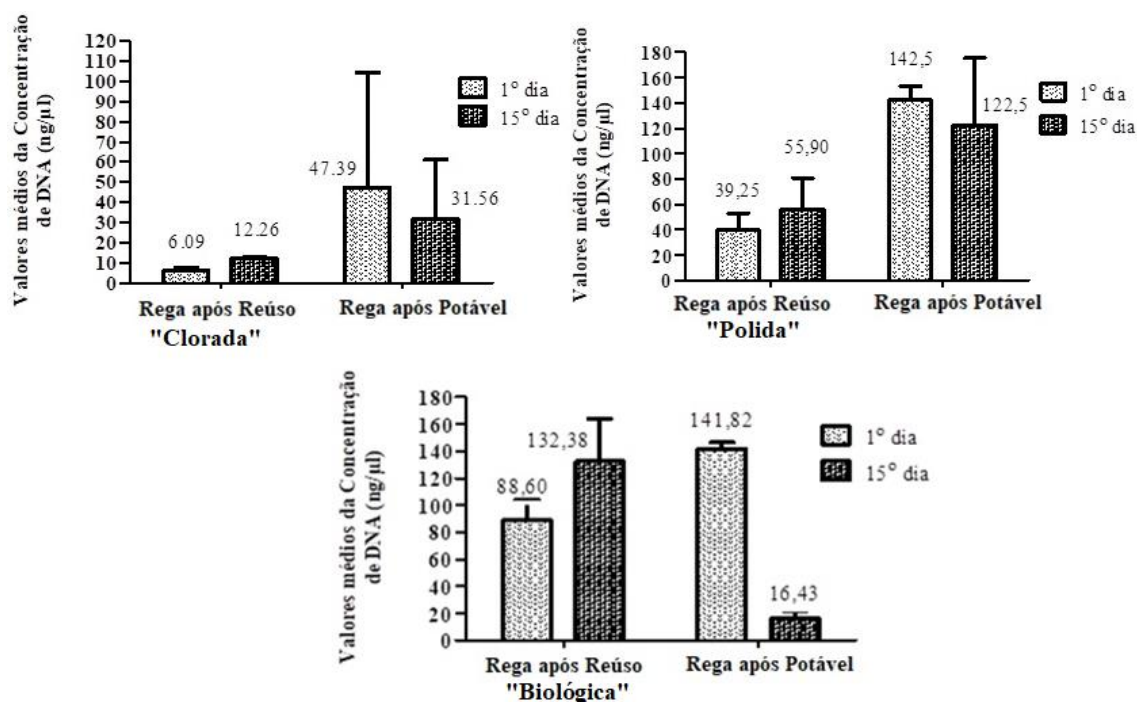
Após a PCR, 10µL das reações foram submetidas à eletroforese na voltagem de 100W, em géis de agarose 2%, utilizando tampão TAE 1X (Tris-acetato 40 mm, EDTA 2mm, pH 8,5), corados com brometo de Etídio (1µg/mL). Foi usado 6µL do padrão de peso molecular da marca *O'GeneRuler 100 pb DNA Ladder* (Fermentas®). Depois da eletroforese, foram feitas as visualizações das bandas de amplificação nos géis, por meio de exposição à luz ultravioleta (UV) em um Transluminador Dual-Intensity Transilluminator da marca UVP.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação de DNA (ng/ $\mu$ L) das amostras de “água de rega” mostrou que os cultivos irrigados com água de reúso “clorada” apresentaram um aumento da microbiota depois de 15 dias de irrigação, com aumento de 2,01 vezes de DNA total em relação ao primeiro dia de cultivo, enquanto que com a água potável (controle) apresentou uma diminuição de 1,5 vezes da microbiota do solo. Os cultivos irrigados com água de reúso “polida” aumentaram 1,42 vezes o DNA total depois de 15 dias de irrigação, aumentando a microbiota do solo, enquanto que os cultivos irrigados com água potável (controle) apresentaram uma diminuição de 1,16 vezes da microbiota do solo. Quanto aos irrigados com água de reúso “biológica”, os cultivos tiveram aumento de 1,49 vezes de DNA total depois de 15 dias de irrigação, enquanto que os cultivos irrigados com água potável (controle) tiveram uma diminuição da microbiota do solo de 8,63 vezes. A quantidade extraída de DNA das amostras indicou que o uso da água de reúso contribuiu em média para aumentar 1,6 vezes a quantidade de microbiota do solo em relação ao controle. Sugere-se que a água de reúso acrescentou uma carga de microrganismos e/ou favoreceu a manutenção e o crescimento dos preexistentes no solo devido a entrada de nutrientes, enquanto que os cultivos irrigados com água potável tiveram diminuição da microbiota do solo após 15 dias (Figura 2).



**Figura 2** - Valores médios da concentração de DNA (ng/μL) de amostras de “água de rega” de solos irrigados com as águas de reúso “Clorada, polida e biológica”, e com água potável (controle), no primeiro dia e depois de 15 dias de experimento.



Fonte: própria autora.

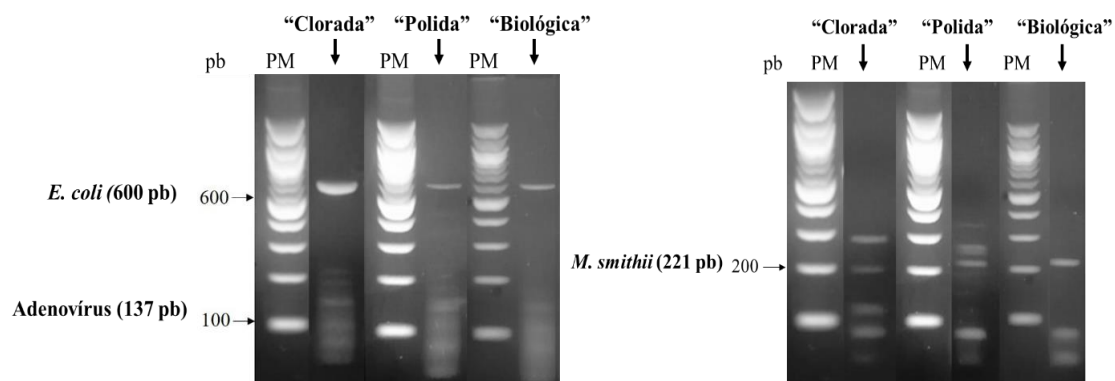
Em relação ao aumento do nível de DNA nas amostras regadas com água de reúso, sugere-se que, a quantidade elevada de microrganismos encontrada pode ajudar na decomposição de nutrientes no solo e disponibilização de minerais para as plantas, favorecendo o crescimento do cultivo (MANCUSO; SANTOS, 2013). Por outro lado, há a possibilidade de contaminação por meio de microrganismos patogênicos e por isso deve-se atentar ao risco de transmissão de doenças (MONTE; ALBUQUERQUE, 2010). O risco maior existe do contato da água de reúso com a parte externa, de permanecer resíduos contaminantes e poluentes sobre as folhas e caules. A transmissão de doenças se torna menor ou mesmo controlada por meio de práticas de irrigação, de cultura e de colheita utilizadas, por exemplo, aplicação de irrigação por gotejamento e uso de equipamentos de proteção individual pelos agricultores (MORAIS et al., 2016; MANCUSO; SANTOS, 2013; WHO, 2006). Além disso, a utilização da água de reúso pode representar uma fonte de nutrientes disponíveis para aplicação na agricultura (HANDAM et al., 2021; MANCUSO; SANTOS, 2013).

Os resultados da PCR dos bioindicadores de contaminação ambiental mostraram que os marcadores moleculares como o Adenovírus tipo 40 e 41 (HADv) e *E. coli* (gene uidA) estavam presentes em todas as amostras de água de rega originadas de irrigações



com água de reúso “clorada, polida e biológica”. O marcador molecular *M. smithii* (*nifH*) foi detectado nos cultivos irrigados com amostras de água de reúso “polida e biológica”, sendo ausente nas amostras de água de rega dos cultivos irrigados com água de reúso “clorada” (Figura 3).

**Figura 3** – Resultados da PCR dos bioindicadores de contaminação *Escherichia coli* (600 pb), Adenovírus tipo 40 e 41 (137 pb), das amostras de água de rega dos três cultivos irrigados com água de reúso “clorada, polida e biológica”.



Legenda: As setas indicam as posições das bandas de 600pb e de 100pb do padrão de peso molecular. PM – peso molecular com 100 kb. *E. coli*, Adenovírus, *M. smithii* com 600 pb, 137 pb, 221 pb, respectivamente. Fonte: autora.

A irrigação com água de reúso alterou a microbiota do solo, pois passou a apresentar microrganismos no solo que estavam presentes na água de reúso, ficando retidos no solo durante o cultivo.

Estudo semelhante também encontrou a presença de adenovírus no solo, depois de analisar a água que percolou pelo solo (nesse estudo esse tipo de água está sendo chamada de água de rega), por meio da técnica de PCR também (MEHNERT, 2003). No estudo dos autores comparados acima, foi detectada a presença de adenovírus em uma profundidade de 3 a 4 metros de solo, simulando o nível do lençol freático (MEHNERT, 2003). Pesquisas verificaram a presença de adenovírus no solo, e verificaram que os mesmos podem atingir grandes profundidades no solo, sendo possível a contaminação das águas subterrâneas (MEHNERT, 2003). Ward e Irving (1987) verificaram no solo irrigado com água de reúso a presença de vírus depois de 13 dias. Hurst et al. (1980) verificaram o deslocamento de vírus de 10 cm no solo a cada 10 dias, diante da lixiviação com ajuda de irrigação e chuva. Além disso, Mena e Gerba (2009) observaram que as partículas virais em geral são adsorvidas pelo solo em 98 a 99%, sendo um filtro frente a contaminação por vírus vindos, por exemplo, da água de reúso. O solo age como um filtro

que consegue remover geralmente microrganismos com tamanhos maiores que 25 µm (bactérias, helmintos, protozoários) (MANCUSO; SANTOS, 2013).

Vale ressaltar que os microrganismos identificados através da amplificação por PCR podem não estar viáveis ou infecciosos, no caso dos vírus, e não vivos no caso das bactérias *E. coli* e *M. smithii*, pois essa técnica permite verificar a presença dos genes estudados em um ambiente.

As plantas possuem mecanismos para evitar a entrada de microrganismos pelos seus vasos condutores (PASCHOLATI, 1994, AGRIOS, 2004). Além disso, conseguem absorver sais minerais com dimensão de 0,001 µm, enquanto que as dimensões de vírus, bactérias, são respectivamente, 0,1 e 1 µm (SCHÄFER, 1999 apud SCHNEIDER; TSUTIYA, 2001), ou seja, são mais de 100 vezes maiores do que a dimensão do sistema utilizado pelas plantas para absorver, por isso a chance de contaminação dos alimentos é pequena. O risco maior existe do contato da água de reúso com a parte externa, de permanecer resíduos contaminantes e poluentes sobre as folhas e caules. Segundo WHO (2006) técnicas de irrigação, de forma próxima ao solo, como por exemplo, por gotejamento, diminui a chance de contaminação dos cultivos com patógenos que estão no solo, pois não ocorre o contato com as partes aéreas superficiais das plantas, como as folhas e caules (WHO, 2006). No entanto, os agricultores devem ter cuidado em contato direto com o solo contaminado com microrganismos como adenovírus e *E. coli*, pois podem causar gastroenterites. Por isso, para o reúso agrícola, é essencial o uso de equipamentos de proteção individual, como luvas, máscaras e botas impermeáveis, para evitar o contato do agricultor com o solo irrigado com água de reúso.

O resultado das análises por PCR da “amostra de água de reúso biológica” mostrou que a bactéria *E. coli* estava ausente nessa amostra (MOURA, 2019). Porém na PCR da amostra de “água de rega”, que havia sido irrigada com a água de reúso “biológica”, o gene marcador para a presença de *E. coli* foi amplificado. No entanto, a presença de *E. coli* na “água de rega” pode ser atribuída a presença dessa bactéria no próprio solo.

Os tratamentos do esgoto, para produção dos diferentes tipos de água de reúso que foram utilizadas nesse trabalho, não conseguiram retirar os traços dos microrganismos indicadores de contaminação, como o adenovírus tipos 40 e 41 e a *E. coli* que são patogênicos ao ser humano, causadores de gastroenteritis (MCQUAIG *et al.*, 2012).

Em outros estudos (MOURA, 2019; JIANG; NOBLE; CHU, 2001; PINA *et al.*, 1998) que utilizaram o adenovírus, a *E. coli* e a *M. smithii* como bioindicadores de contaminação fecal humana em águas, relataram que a presença desses organismos indicam a possível presença também de outros microrganismos de origem fecal humana, que podem ser comensais ou patógenos, sendo estes últimos um perigo à saúde humana (SINIGALLIANO *et al.*, 2010).

## CONCLUSÃO

As quantidades extraídas de DNA do solo das culturas mostraram que a água de reúso contribuiu para o aumento na quantidade de microbiota no solo, enquanto que os cultivos irrigados com água potável tiveram diminuição da microbiota após 15 dias. O resultado indicou que a irrigação diária e a composição da água de reúso acrescentou uma carga de microrganismos e/ou favoreceu a manutenção e o crescimento dos preexistentes no solo devido a entrada de matéria orgânica (nutrientes). O aumento da microbiota do solo pode ajudar na decomposição e disponibilização de minerais para as plantas, o que favorece o crescimento das culturas.

Os resultados da PCR indicaram que ao final dos ensaios os bioindicadores de contaminação Adenovírus tipo 40 e 41 e *Escherichia coli* estavam presentes no solo dos três cultivos. E a bactéria *Methanobrevibacter smithii* estava presente nos solos irrigados com as águas de reúso “polida e biológica”. A irrigação com água de reúso alterou a microbiota do solo, pois foram amplificados os marcadores dos microrganismos analisados no solo, que estavam presentes na água de reúso, ficando retidos no solo durante o cultivo. A presença dos bioindicadores podem indicar a possível existência de outros microrganismos de origem fecal humana, por isso deve-se ter cuidado com o contato direto com o solo, pois podem causar doenças. Por isso, recomenda-se uso de equipamentos de proteção individual, pois o agricultor terá mais segurança quando for manusear o solo.

Diante do estudo, assim como pela revisão da literatura, sugere-se que a irrigação utilizando água de reúso seja por meio de aplicação por gotejamento, onde a água vai direto para o solo, não entra em contato com as folhas das plantas.

O estudo demonstrou que, se a água de reúso estiver dentro dos padrões de qualidade sanitária, se for feita irrigação por gotejamento, e com um tempo de interrupção entre as culturas irrigadas com água de reúso, esta representa uma fonte de água segura e sustentável

para irrigação da agricultura. Independente da origem do esgoto, o tratamento pode produzir água de reúso com qualidade para reúso agrícola. Para isso é fundamental a criação de lei federal de água de reúso para agricultura, a fim de evitar danos à saúde humana e ambiental.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001; Inova Fiocruz/Fundação Oswaldo Cruz; ao Programa PIBIC/CNPq; Laboratório de Biotecnologia e Saúde Ambiental (BIOTECSA) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, e Departamento de Saneamento e Saúde Ambiental, da ENSP-FIOCRUZ.

## REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5ª ed. San Diego: Academic Press, 922 p. 2004.

BOWER, P. A. *et al.* Detection of Genetic Markers of Fecal Indicator Bacteria in Lake Michigan and Determination of Their Relationship to *Escherichia coli* Densities Using Standard Microbiological Methods. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 8305–8313, 2005.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Agroindústria Tropical. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Plantas condimentares: cultivo e utilização**. Rita de Cassia Alves Pereira, Odécia Gomes dos Santos. – Fortaleza, 2013.

EUFIC - European Food Information Council. **Uso da água na produção de alimentos**. Disponível em: <<https://www.eufic.org/pt/food-production/article/uso-da-agua-na-producao-de-alimentos>>. Acesso em: 12 abr. 2018. 2015

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 3 ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007, 293p.

HANDAM, N. B. **Qualidade sanitária da água de reúso como destino sustentável para a agricultura**. 179 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021.

HANDAM, N. B. et al. Agricultural reuse: comparison between Brazilian and international quality Standards. **International Journal of Hydrology**, v.5, n.1, p. 28-31, 2021.

HARWOOD, V. J. *et al.* Validation and field testing of library-independent microbial source tracking methods in the Gulf of Mexico. **Water Research**, v. 43, n. 19, p. 4812–4819, 2009.

JIANG, S.; NOBLE, R.; CHU, W. Human adenoviruses and coliphages in urban runoff impacted coastal waters of Southern California. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 179–184, 2001.

LIU, L. *et al.* Potential effect and accumulation of veterinary antibiotics in *Phragmites australis* under hydroponic conditions. **Eco. Eng.**, v. 53, p. 138-143, 2013

MANCUSO, P. C. S.; SANTOS H.F. Reúso de água. Barueri, SP: Manole, 2013.

MACEDO, M. F. S. Técnicas de Irrigação, o Desenvolvimento da Agricultura e do Agronegócio: uma Análise à Luz da Proteção Humana e da Cidadania Frente à Crise Hídrica Nacional. **Campo jurídico**, v. 3, n. 2, p. 39-54–54, 22 out. 2015.

MCQUAIG, S.; GRIFFITH, J.; HARWOOD, V. J. Association of fecal indicator bacteria with human viruses and microbial source tracking markers at coastal beaches impacted by nonpoint source pollution. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 6423–6432, 2012.

MENA, K. D.; GERBA, C. P. Waterborne adenovirus. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 198, p. 133-1367, 2009. Doi: 10.1007/978-0-387-09647-6\_4. PMID: 19253037.

MEHNERT, D. U. Reuso de efluente doméstico na agricultura e a contaminação ambiental por vírus entéricos humanos. **Biológico**, São Paulo, v. 65, n.1/2, p. 19-21, 2003.

MONTE, H. M. DO; ALBUQUERQUE, A. **Reutilização de Águas Residuais**. Série GUIAS TÉCNICOS. Edição Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos Instituto Superior de Engenharia de Lisboa. ERSAR, Lisboa, Portugal, v. 14, 2010.

MORAIS, M. A. *et al.* Contaminação microbiológica no perfil do solo por águas residuárias. **Holos**, v. 3, p. 76, 23 jun. 2016.

MOURA, P. G. **Metagenômica de água de reúso, Esgoto e Água potável. 2019. 173p.** Tese (Doutorado em Saúde Pública e Meio Ambiente). Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz, Rio de Janeiro. 2019.

MOURA, P. G. **Avaliação de poluição biológica no Complexo de Manguinhos usando marcadores moleculares e filogenia molecular.** Dissertação (Biologia Computacional e Sistemas). Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz- Fiocruz, Rio de Janeiro. 2016.

PASCHOLATI, S. F. **Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças.** In.: FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). Revisão anual de

patologia de plantas. Passo Fundo: Revisão anual de patologia de plantas, v.2, cap.1, p. 1-51. 1994.

PINA, S. *et al.* Viral pollution in the environment and in shellfish: human adenovirus detection by PCR as an index of human viruses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 9, p. 3376–3382, 1998.

POBLETE, C. P. C. **Estudio del Comportamiento de una Mezcla de Aserrín y Grasa Láctea de Desecho**. Valdivia: Universidad Austral de Chile, 2010.

SCHÄFER, A. I. Natural organics removal using membranes. Phd thesis, 410pp. UNESCO Center for Membrane Science and Technology, University of New South Wales, Sydney, NSW, Australia, 1999 apud SCHNEIDER, R. P.; TSUTYA, M. Membranas Filtrantes para o Tratamento de Água, Esgoto e Água de Reuso. São Paulo: ABES, 2001.

SCHNEIDER, R. P.; TSUTIYA, M. T. Membranas filtrantes para o tratamento de água, esgoto e água de reúso. **Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, São Paulo, Brasil, 234p. 2001.

SIDHU, J. P. S. *et al.* Sewage pollution in urban stormwater runoff as evident from the widespread presence of multiple microbial and chemical source tracking markers. **Science of the Total Environment**, v. 463–464, p. 488-496, 2013.

SINIGALLIANO, C. D. *et al.* Traditional and molecular analyses for fecal indicator bacteria in non-point source subtropical recreational marine waters. **Water Research**, v. 44, n. 13, p. 3763–3772, 2010.

WARD, B. K.; IRVING, L. Virus survival on vegetables spray-irrigated with wastewater. **Water Research**, v. 21, p. 57-63, 1987.

WHO - World Health Organization. **Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater**. Vol. 2. Geneva, Suíça. 2006.

WHO – World Health Organization. **Water Security & the Global Water**. Agenda AUN- Water Analytical Brief. Canada, 2013. (Reporto f a WHO meeting of experts). Disponível em: <<http://whqlibdoc.who.int/publications/9241545747.pdf>> Acesso em: 19 jun. 2016. 2013.

ZÁRATE, N. A. H. *et al.* Produção e renda bruta de cebolinha e de salsa em cultivo solteiro e consorciado. **Revista Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 574-577, 2003.

*Recebido em: 01/10/2022*

*Aprovado em: 03/11/2022*

*Publicado em: 06/11/2022*