



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE



BIOTECNOLOGIA DO USO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DOMÉSTICA EM SOLO
DO CERRADO NO CULTIVO DO CAPIM *Brachiaria brizantha* cv MARANDU

JOSÉ GERALDO DELVAUX SILVA

PALMAS - TO
MARÇO/2017

JOSÉ GERALDO DELVAUX SILVA

**BIOTECNOLOGIA DO USO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DOMÉSTICA EM SOLO
DO CERRADO NO CULTIVO DO CAPIM *Brachiaria brizantha* cv MARANDU**

Tese apresentada à Universidade Federal do Tocantins, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação, em Biotecnologia e Biodiversidade da Rede Bionorte, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

Orientador: Prof. Dr. JOSÉ EXPEDITO CAVALCANTE DA SILVA.

**PALMAS - TO
MARÇO/2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- S586b SILVA, JOSÉ GERALDO DELVAUX .
 Biotecnologia do uso de água residuária doméstica em solo do cerrado no cultivo do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu. / JOSÉ GERALDO DELVAUX SILVA. – Palmas, TO, 2017.
 100 f.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Doutorado) em Biodiversidade e Biotecnologia, 2017.
 Orientador: JOSÉ EXPEDITO CAVALCANTE DA SILVA
1. Fertirrigação. 2. Fungos micorrízicos arbusculares. 3. Bactérias fixadoras de nitrogênio. 4. Metagenômica. I. Título

CDD 660.6

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

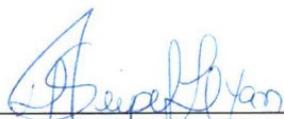
Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

JOSÉ GERALDO DELVAUX SILVA

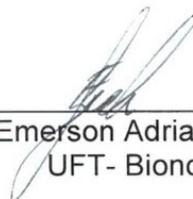
BIOTECNOLOGIA DO USO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DOMÉSTICA EM SOLO DO CERRADO NO CULTIVO DO CAPIM *Brachiaria brizantha* cv MARANDU

Tese apresentada à Universidade Federal do Tocantins, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação, em Biotecnologia e Biodiversidade da Rede Bionorte, para a obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 03 de Março de 2017



Dra Daniele Seipel S. Lim Yan
UFT



Dr. Emerson Adriano Guarda
UFT- Bionorte



Dra Conceição Aparecida Previero
CEULP/ULBRA



Dr. Sergio Donizeti Ascêncio
UFT- Bionorte



Dr. José Expedito C. da Silva
UFT – Orientador

AGRADECIMENTOS

Ao Criador por Ele ter sempre iluminado o meu caminho, mesmo nos momentos de desespero e grande ansiedade, nunca me abandonou e me fez acreditar que era possível finalizar o Doutorado, conseguir o título de Doutor, algo que até alguns anos atrás eu nem sonhava.

Aos meus pais: Antonio Vicente da Silva (*in memoriam*) e minha mãe: Guiomar de Abreu Silva, minha musa inspiradora, mil palavras seriam poucas para expressar meu amor, carinho e gratidão pela Senhora, que sempre me fez trilhar pelos caminhos do bem.

A toda minha família, em especial a minha irmã Cida, que tanto amor me dedica, aos meus sobrinhos em especial ao Júlio César por compartilhar comigo seus conhecimentos, tornando menos doloroso escrever essa tese e também ao Ricardo Augusto pelo carinho de sempre.

Ao meu orientador José Expedito, pela amizade, competência e ensinamentos que muito contribuíram para a conclusão desse trabalho.

A todos da Rede Bionorte, que possibilitaram a realização desse Doutorado.

Agradecer ao Reitor do CEULP/ULBRA, Adriano Chiarini, pela cessão da área experimental, facilitando muito o nosso trabalho.

A todos os colegas do Doutorado, alguns acabaram se tornando grandes amigos em especial a: Áurea Welter, Aline, Ernane, Claudia, Anna Paula, Jacqueline e Joaquim.

As minhas amigas Professoras: Conceição, Roberta, Walkíria e Elisângela e ao Professor Luis Fernando Albarello pelo grande carinho, vocês fazem parte dessa conquista.

Aos amigos José Orlando, Walter Bruno e Welington por estarem sempre próximos nos diversos momentos de angústia, serei eternamente grato a vocês, obrigado pela amizade.

Ao meu amigo Professor Luis Michelin, por sua amizade e carinho.

A todos os colegas de trabalho da Secretaria Estadual que ao longo desses três anos suportaram toda a minha angústia, em especial às amigas Claudia e Wanezia, que estiveram sempre me dando força e me fazendo crer que era possível vencer essa batalha.

Ao meu amigo Marcilio por me suportar tão bem, nos diversos momentos de angústia.

A José Maria, do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) que muito nos auxiliou para a realização desse Doutorado.

Aos meus colaboradores, alunos do CEULP/ULBRA, o Walter que durante todo o experimento esteve ao meu lado, com toda a paciência do mundo, e assim me deixando mais tranquilo, e que o final estava por chegar e também o Júnior.

À banca: Professores Dr Emerson, Dr Sergio, Dra Conceição e Dra Daniele pelas contribuições visando melhorar a qualidade dessa tese, meu muito obrigado.

BIOGRAFIA

JOSÉ GERALDO DELVAUX SILVA, filho de Guiomar de Abreu Silva e Antônio Vicente da Silva, *in memorian*, nasceu em Cajuri, MG, em 11 de agosto de 1968.

Em 1988, matriculou-se no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), MG, graduando-se 1993.

Em agosto de 1994, foi aprovado no concurso público no Estado do Tocantins e tomou posse em setembro do mesmo ano, na função de Engenheiro Agrônomo, em que atua até hoje.

Em 2005, concluiu o Curso de complementação pedagógica em Química na Unitins - TO (Fundação Universidade do Tocantins) e, no mesmo ano, o de Especialização em Química na UFLA (Universidade Federal de Lavras, MG).

Desde 2003, é professor do CEULP/ULBRA, Centro Universitário Luterano de Palmas, onde ministra disciplinas na área de Química Geral e Orgânica.

Em março de 2008, ingressou no Programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Engenharia Agrícola, área de concentração em Recursos Hídricos e Ambientais, da UFV, submetendo-se à defesa de sua dissertação em maio de 2010.

Em março de 2014, ingressou no Programa de Pós-Graduação da Rede Bionorte, em nível de Doutorado na Universidade Federal do Tocantins, e defendeu a tese em março de 2017.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Histórico do reuso de águas residuárias na agricultura.....	19
2.2 Composição e característica do esgoto doméstico bruto	20
2.3 Fertirrigação com água residuária doméstica na agricultura	22
2.4 Riscos físicos, químicos e biológicos da irrigação com águas residuárias....	25
2.5 Riscos sobre comunidade microbiana do solo	28
2.6 Fertirrigação do capim na região do Cerrado.....	31
2.6.1 Características botânicas da <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu.....	32
2.7 Considerações finais	34
3. OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo geral	35
3.2 Objetivos específicos	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1 Descrição da área experimental.....	36
4.2 Preparo do solo e calagem	36
4.3 Caracterização dos sistemas de manejo de adubação e delineamento experimental.....	37
4.4 Plantio e manejo do capim	39
4.5 Manejo da irrigação.....	42
4.5.1 Estimativa da capacidade total de água no solo	42
4.5.2 Manejo do sistema de irrigação da cultura.....	42
4.6 Amostragem e caracterização do efluente (água residuária)	44
4.7 Amostragem, classificação e caracterização das amostras do solo.....	44
4.7.1 Contagem de microrganismos viáveis	45
4.7.2 Análise da diversidade microbiana através do perfil de DGGE.....	46
4.7.2.1 Perfil de DGGE da comunidade de bactéria fixadora de nitrogênio	47
4.7.2.2 Perfil de DGGE da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares	48
4.7.3 Amostragem e caracterização das amostras da planta	49
4.8 Análises estatísticas.....	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1 Caracterização do efluente (água residuária)	52
5.2 Caracterização física e química das amostras do solo antes da fertirrigação	54
5.3 Caracterização física e química das amostras do solo após a fertirrigação..	57
5.4 Análises microbiológicas das amostras do solo	60
5.4.1 Contagem de microrganismos viáveis antes da fertirrigação	60
5.4.2 Contagem de microrganismos viáveis após a fertirrigação	62

5.4.3 Análise da diversidade microbiana pelo perfil de DGGE antes da fertirrigação	64
5.4.4 Análise da diversidade microbiana pelo perfil de DGGE após a fertirrigação	65
5.5 Caracterização das amostras do capim	70
6. CONCLUSÕES	77
7. REFERÊNCIAS	78
8. ANEXOS	96
8.1 Publicação.....	96
8.2 Ilustrações do experimento	97
8.3 Procedimentos das análises estatísticas.....	98

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema da distribuição e casualização dos sistemas de manejo (T_1 a T_5 e repetições (R_1 a R_4)) em função da área de plantio do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e os pontos de coletas de amostras (B_1 a B_4). 37
- Figura 2:** Ilustração em perspectiva da parcela experimental para o plantio de gramínea *Brachiaria brizantha* cv Marandu, com a utilização da água residuária doméstica. 40
- Figura 3:** Agrupamentos das propriedades físico-químicas das amostras do solo que foi utilizado para o plantio de capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu, fertirrigado com águas residuárias domésticas em função do ponto de coleta. Agrupamento realizado no programa Sigma Plot (versão gratuita)..... 56
- Figura 4:** Dendograma de UPGMA e perfil de bandas de gene nif H obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas antes da plantação do capim e da aplicação da água residuária. B_1P_1 – ponto de coleta 1 e profundidade 1 (0-10 cm), B_1P_2 – ponto de coleta 1 e profundidade 2 (10-20 cm), B_1P_3 – ponto de coleta 1 e profundidade 3 (20-30 cm), B_2 - ponto de coleta 2, B_3 – ponto de coleta 3 e B_4 - ponto de coleta 4 (ver Figura 1). As setas destacam as bandas presentes em todos os pontos de coletas analisadas no gel. 65
- Figura 5:** Dendograma de UPGMA e perfil de bandas de gene nif H obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas após fertirrigação. As profundidades de 0-10 cm, 10-20 cm e 20-30 cm foram utilizadas para as coletas das amostras do solo. 67
- Figura 6:** Dendograma de UPGMA e perfil de bandas de gene 18S rDNA obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas antes da plantação do capim e da aplicação da água residuária. B_1P_1 – ponto de coleta 1 e profundidade 1 (0-10 cm), B_1P_2 – ponto de coleta 1 e profundidade 2 (10-20 cm), B_1P_3 – ponto de coleta 1 e profundidade 3 (20-30 cm), B_2 - ponto de coleta 2, B_3 – ponto de coleta 3 e B_4 - ponto de coleta 4 (ver Figura 1). 68
- Figura 7:** Dendograma de UPGMA e perfil de bandas de gene 18S rDNA obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas após a fertirrigação. As profundidades de 0-10 cm, 10-20 cm e 20-30 cm foram utilizadas para coletas das amostras do solo. 70
- Figura 8:** Massa seca foliar do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu fertirrigado com água residuária doméstica. No corte 1, os valores correspondem à média de cada sistema de manejo. Devido não ter observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os cortes 2 e 3, os valores correspondem as médias conjunta de cada sistema de manejo, nesses cortes. 71

Figura 9: Massa seca foliar do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu em função dos teores de NPK proveniente da água residuária doméstica. Devido não ter observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os cortes 2 e 3, os valores correspondem às médias conjunta de cada sistema de manejo nesses cortes. Assim foram obtidas duas equações lineares que representam a produção de massa seca foliar por ha. 72

Figura 10: Análise de componente principal da composição bromatológica do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu (Tabela 10) em função dos sistemas de manejos de adubação (tratamentos) e dos cortes. 76

Figura S1: Ilustrações da evolução do experimento de fertirrigação do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em solo do Cerrado com água residuária doméstica. Experimento foi realizado de maio de 2015 a fevereiro de 2016 na área experimental do Departamento de Recursos Hídricos do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), localizado na cidade de Palmas-TO. A- Capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu aos 57 dias (20 de agosto de 2015). B - Capim em novembro antes do 1^o corte. C - Capim em 25 de dezembro na véspera do 2^o corte. D- Um dia após o 2^o corte (05 de janeiro de 2016). E – Capim na véspera do 3^o corte. F- Amostras a serem encaminhadas ao Laboratório para análises química- bromatológica
..... 97

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Culturas vegetais produzidas utilizando águas residuárias proveniente do esgoto doméstico.....	24
Tabela 2: Descrição dos sistemas de manejo de adubação ou tratamentos experimentais que foram utilizados no cultivo de <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu fertirrigado com água residuária doméstica.	38
Tabela 3: Balanço Hídrico Climatológico para Palmas - TO, durante o período de 2001 a 2009, pelo método de Thornthwaite & Mather (1955).	39
Tabela 4: Demanda de insumos por sistema de manejo de adubação em cada parcela e na área total durante o ciclo da cultura.....	41
Tabela 5: Demanda de insumos na área total, e por evento de aplicação, durante o ciclo da cultura.	41
Tabela 6: Propriedade física, química e contagem de coliformes da água residuária utilizada para o plantio de capim <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu.	52
Tabela 7: Propriedades físicas e químicas das amostras do solo antes do plantio de capim <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu.....	55
Tabela 8A: Propriedades físicas e químicas das amostras do solo após a fertirrigação do capim <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu	58
Tabela 9: Contagem em placa de microrganismos viáveis do solo antes do plantio do capim <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu e utilização da água residuária.....	61
Tabela 10: Contagem em placa de microrganismos viáveis do solo após o plantio do capim <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu e utilização da água residuária.....	63
Tabela 11: Composição bromatológica do capim <i>Brachiaria brizantha</i> cv Marandu fertirrigado com água residuária doméstica.	74

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA - Análise de variância
B₁P₁ - Ponto de coleta 1 e profundidade 1 (0-10 cm)
B₂P₂ - Ponto de coleta 2 e profundidade 2 (10-20 cm)
B₃P₃ - Ponto de coleta 3 e profundidade 3 (20-30 cm)
B₄P₄ - Ponto de coleta 4 e profundidade 4 (90-100 cm).
BFN- Bactéria fixadora de nitrogênio
CE - Condutividade elétrica
CEULP/ULBRA - Centro Universitário Luterano de Palmas
CRA - Capacidade real d'água do solo
CTA - Capacidade total de água no solo
CTC - Capacidade de troca de cátions a pH 7,0
DBO - Demanda bioquímica de oxigênio
DGGE - Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante
DNA - Ácido desoxirribonucleico
DQO - Demanda química de oxigênio
DTA - Disponibilidade total de água do solo
EE - Extrato etéreo
FB - Fibra bruta
FBN - Fixação biológica de nitrogênio
FDA - Fibra detergente ácida
FDN - Fibra detergente neutra
FMA - Fungo micorrízico arbuscular
MAS - Matéria seca ao ar
MSE - Matéria seca em estufa
NPK - Nitrogênio, fósforo e potássio
NMP - Número mais provável
PB - Proteína bruta
PCR - Reação da polimerase em cadeia
PN - Poder neutralizante
PRNT - Poder real de neutralização total
RNA - Ácido ribonucléico
Sat. Al - Saturação de Alumínio
Sat.base - Saturação de base
TGGE - Eletroforese em gel com gradiente de temperatura
Trat - Tratamentos

RESUMO

SILVA, José Geraldo Delvaux. Biotecnologia do uso de água residuária doméstica em solo do cerrado no cultivo do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu. 2017. 100 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade da Rede Bionorte) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2017.

A utilização de água residuária doméstica na fertirrigação de culturas vegetais não produtoras de alimentos, mas de interesse zootécnico, é uma alternativa viável para o uso sustentável dos recursos hídricos. A busca de práticas agrícolas que proporcionem altas produtividades com sustentabilidade dos agroecossistemas tem sido um grande desafio. Assim, o objetivo deste estudo foi utilizar águas residuárias para plantio de sementes de *Brachiaria brizantha* cv Marandu como alternativa para produção de alimento animal em solos do Cerrado, bem como estudar os efeitos da fertirrigação sobre microbiota, bactérias fixadoras de nitrogênio (BFNs) e fungos micorrízicos (FMAs). Esses dois grupos microbianos são os principais microrganismos indicadores da fertilidade do solo. A água residuária utilizada foi obtida do efluente sanitário do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA). Antes da aplicação do efluente no solo foram determinados os teores de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), a condutividade elétrica, o pH, a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), a demanda química de oxigênio (DQO), sólidos totais e contagens de coliformes totais e fecais. Os teores de NPK foram utilizados para determinação dos manejos de irrigação. Foram realizados cinco manejos ou tratamentos (T₁ a T₅). T₁ e T₂ foram os tratamentos que não receberam água residuária e T₃ a T₅ receberam, respectivamente, 20, 40 e 60% de NPK oriundos da água residuária. Esses manejos foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com 20 parcelas e 4 repetições. Para investigar os efeitos dos manejos sobre as características químicas, físicas e microbiológicas do solo foram realizadas duas amostragens, sendo a primeira coleta feita antes da fertirrigação e outra no final do experimento. Para as análises da produtividade da massa verde vegetal e seca, e a composição bromatológica do

capim foram realizados três cortes da parte aérea da planta. Após aplicação da água residuária foram observadas alterações nas propriedades físicas e químicas do solo e na contagem de células microbianas viáveis. Entretanto, a adição de NPK oriundos da água residuária aumentou a abundância de BFNs e FMAs. A produtividade de massa seca foliar por hectare foi diretamente proporcional à concentração de NPK aplicada no solo. Além disso, comparando o manejo de adubação com NPK comercial (T₂) com aqueles que receberam águas residuárias (T₃, T₄ e T₅) observa-se que a utilização desse efluente não alterou a composição nutricional do capim Marandu. Portanto, o uso de água residuária mostrou ser uma alternativa viável e promissora para reuso dessa água em solo do Cerrado que é considerado pobre em nutriente, visando principalmente à produção de alimento animal.

Palavras-chave: fertirrigação, fungos micorrízicos arbusculares, bactérias fixadoras de nitrogênio, metagenômica, esgoto doméstico.

ABSTRACT

SILVA, José Geraldo Delvaux. Biotechnology of use of domestic wastewater in Cerrado soil to cultivation of *Brachiaria brizantha* cv Marandu. 2017. 100 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade da Rede Bionorte) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2017.

The use of domestic sewage for irrigation of non-food crops, but of zootechnical interest, is a viable alternative for the sustainable use of water resources. The search for agricultural practices that provide high productivity with sustainability of agroecosystems has been a great challenge. So, this study were analyzed the changes in the community of nitrogen fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) after the use of domestic wastewater to irrigation of *Brachiaria brizantha* cv Marandu in Cerrado soil. These two microbial groups are the main microorganisms indicative of soil fertility. The changes physical and chemical of the soil before and after the use of the fertigation, dry green mass and dry mass productivity and bromatological composition of the grass were analyzed. After the use domestic wastewater of the CEULP/ULBRA in soil to cultivation of *B. brizantha* cv Marandu, changes in the physical and chemical properties of the soil were observed. The use domestic wastewater did not change the viable microbial cell count. However, the addition of NPK from use domestic wastewater increased the abundance of NFBs and FMAs. The foliar dry mass productivity is highest in the treatments with domestic wastewater and bromatological composition of the grass not was affected by fertigation. Therefore, the NPK concentration added in the soil and the number of cuts contribute to a better nutritional composition of the grass that was cultivated with domestic effluent. Thus, adequate management makes possible the use of fertigation in Cerrado soil for the Marandu grass or other agricultural crop production.

Key words: fertigation, arbuscular mycorrhizal fungi, nitrogen fixing bacteria, metagenomics, domestic effluent.

1. INTRODUÇÃO

Devido à atual crise hídrica e as novas discussões sobre o uso sustentável da água, deve-se diminuir o desperdício de água, assim como aprofundar os estudos do reúso de águas residuárias na agricultura. Nesse contexto a utilização de água residuária proveniente de esgoto doméstico para irrigação de culturas vegetais não produtoras de alimentos é uma alternativa viável.

O Brasil possui a maior biodiversidade do planeta, sendo considerado o mais rico entre os países detentores de megadiversidade (DIAS-FILHO, 2014). Nesse contexto, o Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, e compreende um gradiente de fitofisionomias campestres, savânicas e florestais que dominam o Centro-Oeste brasileiro (SANO et al., 2008). É considerado um dos “hotspots” mundiais de biodiversidade, devido à sua riqueza de espécies, alto nível de endemismos e perda de habitats (MYERS et al., 2000).

O bioma Cerrado foi marcado por grandes investimentos para formação de pastagens plantadas na década de 1970 (ANDRADE et al., 2005). Neste período, iniciou-se um programa de substituição do capim-gordura por gramíneas mais produtivas, principalmente as espécies do gênero *Brachiaria* (*B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. brizantha*). A abertura de novas áreas para agricultura e o abandono de áreas degradadas estaria favorecendo o estabelecimento de espécies vegetais invasoras na região do Cerrado (DIAS-FILHO, 2014).

A busca de práticas agrícolas que proporcionam altas produtividades com sustentabilidade dos agroecossistemas tem sido um grande desafio. O conhecimento sobre o funcionamento biológico do solo do bioma Cerrado ainda é escasso, sendo uma necessidade a busca de bioindicadores que avaliem de modo eficaz, as alterações que ocorrem no solo e seus impactos sobre a composição e funcionamento da microbiota, indicando estratégias adequadas de conservação e manejo (MENDES et al., 2011).

A microbiota do solo é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, pela ciclagem dos nutrientes e pelo fluxo de energia dentro do solo (VITOUSEK et al., 2002, MESQUITA, 2011).

O uso de técnicas moleculares em estudos de ecologia microbiana tem sido frequentemente utilizado para explorar a diversidade microbiana e analisar a estrutura das comunidades existentes (TIEDJE et al., 2001, NICOLAISEN e RAMSING, 2002, FALEIRO, 2011).

As avaliações da diversidade microbiana fornecem indicativos sobre a variedade e a variabilidade, em termos de número (riqueza) e abundância (equitatividade), de espécies presentes em um determinado solo (LIANG et al., 2008, FALEIRO, 2011, VAN ELSAS & BOERSMA, 2011). O uso de técnicas moleculares tem permitido identificar que a riqueza de espécies microbianas presentes no solo é bastante superior ao estimado com base em técnicas tradicionais de cultivo em placa (WARD et al, 1990 citado por MENDES et al., 2011).

Os estudos da diversidade genética microbiana são baseados na extração e purificação do DNA das comunidades microbianas do solo, seguidas da amplificação dos genes que codificam o RNA ribossômico (rRNA) pela reação da polimerase em cadeia (PCR), com a utilização de oligonucleotídeos universais, para espécies ou domínios específicos (MENDES et al., 2011, VAN ELSAS & BOERSMA, 2011). Posteriormente, os produtos da amplificação são separados por técnicas de DGGE (Eletroforese em Gel com Gradiente Desnaturante).

Assim nesse estudo foram analisadas as alterações no perfil de DGGE da comunidade de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFNs) e de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) após a utilização de água residuária para irrigação de *Brachiaria brizantha* cv Marandu. Esses dois grupos microbianos são os principais microrganismos indicadores da fertilidade do solo (SOUZA et al., 2011, THONGTHA et al., 2014). Também foram analisadas as alterações físicas e químicas do solo antes e após o uso da água residuária e a produtividade da massa verde e seca do capim.

2. REFERENCIAL TEÓRICO¹

A água é um recurso natural essencial à vida, ao desenvolvimento econômico e ao bem-estar social. Embora encontrada em abundância no território nacional, já apresenta comprometimento da sua quantidade e qualidade, principalmente nas regiões próximas aos grandes centros urbanos que geram diariamente milhões de m³ de esgoto doméstico. Com a atual crise hídrica que o país vem passando, deve-se aumentar os estudos e os investimentos para a recuperação de águas residuárias, sendo essas utilizadas para o consumo direto e ou outras atividades humanas.

O tratamento de esgoto doméstico tem sido visto como uma tecnologia extremamente madura do ponto de vista da saúde humana e do impacto ambiental (BATSTONE et al., 2015).

O destino final adequado de águas residuárias, tratadas ou não é uma das grandes preocupações da população em geral, dos ambientalistas e dos governantes. Dentre as águas residuárias, o esgoto doméstico é produzido em maiores quantidades (VON SPERLING, 2005). Em vista dessa grande quantidade produzida e suas características físico-química-biológicas, o esgoto doméstico necessita do emprego de técnicas adequadas para seu tratamento/disposição final (SILVA, 2010).

O uso de água residuária na agricultura é uma alternativa importante, por liberar as águas potáveis para consumo humano e tornar possível o aproveitamento do potencial hídrico e de nutrientes dos esgotos. Esse processo tem sido denominado de fertirrigação, devido o potencial da matéria orgânica presente nesses efluentes de ser utilizada como fertilizante ou adubo (RODRIGUES et al., 2009, BATSTONE et al., 2015). Segundo Silva et al. (2012) a fertirrigação é uma técnica de aplicação de nutrientes para plantas via água de irrigação. Além disso, a utilização desse esgoto na agricultura pode minimizar

¹Esse referencial teórico foi publicado na revista *African Journal of Biotechnology* com o título “*Fertigation with domestic wastewater: Uses and implications*” (anexos).

danos ambientais causados pelo lançamento desses efluentes em corpos hídricos (SANTOS et al., 2006, SILVA et al., 2012).

A agricultura é a atividade humana que mais consome água, em média 70% de todo o volume captado (DUARTE et al., 2008, ALMEIDA SILVA et al., 2012, CHRISTOFIDIS, 2013, ALDERSON et al., 2015). Em áreas de clima seco a irrigação chega ao consumo de até 85% dos recursos hídricos (DUARTE et al., 2008, PAULINO et al., 2011). No Brasil, o consumo está em torno de 61% de todo o volume captado (PAULINO et al., 2011).

Em relação à nutrição vegetal, vários estudos indicam efeitos positivos da irrigação com esgotos na produtividade das culturas agrônomicas (JOHNS & MCCONCHIE, 1994, AL-NAKSHABANDI et al., 1997, HESPANHOL, 2002, SILVA et al., 2012, BISWAS et al., 2015, PETOUSI et al., 2015, MALAFAIA et al., 2016). A importância do esgoto tratado no fornecimento de nutrientes em comparação ao seu fornecimento via adubação mineral tem sido mostrada por vários autores (Tabela 1). No entanto, a utilização de águas residuárias domésticas na irrigação de culturas agrícolas pode acarretar alterações físicas, químicas e microbiológicas no solo; com potencial para contaminação do produto agrícola e mesmo do produtor (FONSECA et al., 2007; SOUZA et al., 2011, BATISTA et al., 2010, OLIVEIRA et al., 2014, PETOUSI et al., 2015). Nesse caso seria interessante o uso dessas águas residuárias para produção de culturas agrícolas que não tem consumo direto pelo ser humano, mas para animais ruminantes.

A pastagem é a principal fonte de alimento para os ruminantes, sendo sensivelmente mais econômica em relação aos concentrados (MARANHÃO et al., 2010). Entretanto, os ecossistemas das pastagens são complexos e possuem uma série de componentes bióticos e abióticos que interagem entre si de diferentes maneiras (MARANHÃO et al., 2010). Silva et al., (2012) mostraram que a produtividade do capim, *Panicum maximum*, aumentou com a dose de esgoto doméstico aplicada. Segundo eles não houve alteração na composição químico-bromatológica do capim irrigado com esgoto quando comparado ao controle. O resultado de Silva et al. (2012) mostra o potencial de utilização de águas residuárias na fertirrigação de uma forrageira destinada ao consumo animal. Entretanto, esse estudo não foi analisado o perfil da comunidade microbiana antes e depois da aplicação do esgoto no solo.

Os microrganismos, principalmente os fixadores de nitrogênio, nitrificantes e solubilizadores de fosfatos apresentam grande potencial para auxiliar no desenvolvimento do capim no solo irrigado com água residuária doméstica. Além disso, esses microrganismos contribuem para a estruturação do solo e a disponibilidade de nutrientes para comunidade de seres vivos que vivem no solo. Assim, os estudos sobre a comunidade microbiana pode ser um importante fator para verificar o potencial de danos da fertirrigação com águas residuárias domésticas.

O conhecimento da diversidade microbiana após a aplicação da fertirrigação é importante para estudos de bioprospecção visando o isolamento e seleção de microrganismos que contribuem para fertilidade do solo e auxiliam no desenvolvimento de culturas agrícolas irrigadas com água residuárias.

2.1 Histórico do reuso de águas residuárias na agricultura

Com o grande aumento da população urbana, tornou-se muito sério o problema da poluição ambiental causada pelo lançamento de esgoto sanitário sem tratamento, diretamente no corpo hídrico. Uma alternativa para minimizar esse problema foi o incentivo para a aplicação do esgoto bruto na agricultura em áreas rurais que ficaram conhecidas como “Fazendas de Esgotos” (VÉDRY et al., 2001). No final do século XIX, já existiam cerca de 50 dessas fazendas na Grã-Bretanha (SANTOS, 2004).

No século seguinte muitos projetos dessas fazendas foram abandonados, devido ao crescimento populacional e à urbanização das áreas rurais (SILVA, 2010). Nos Estados Unidos, o desenvolvimento de programas para o reuso de água teve início na primeira metade do século XX (ASANO & LEVINE, 1996). Em 1912, iniciou-se o uso de águas residuárias para fertirrigação de gramados e suprimento de lagos ornamentais (TCHOBANOGLIOUS et al., 2003). Em 1932, foi construída uma estação de tratamento de águas residuárias (METCALF & EDDY, 1991). Além disso, em 1960, foi implantado o sistema dual de abastecimento de água, o qual supria com água residuária recuperada, a demanda da fertirrigação paisagística em campos de golfe, parques, cemitérios e para a limpeza de logradouros públicos (METCALF & EDDY, 1991).

No Brasil, o uso de fertirrigação com águas residuárias é relativamente recente, iniciado com a aplicação de vinhaça em cana-de açúcar, por volta de 1970. No entanto, as áreas fertirrigadas têm crescido muito, em especial nas regiões produtoras de frutas e hortaliças (LIMA et al., 2005).

Atualmente, os recursos hídricos disponíveis não são suficientes para abastecer adequadamente a população mundial. Segundo Rijsberman (2006), no século XX a população mundial triplicou ao passo que o consumo de água aumentou em seis vezes. No Brasil, a escassez de água é bastante visível, sobretudo na região Nordeste, situado na região semiárida e caracterizada por apresentar curto período chuvoso, temperatura elevada e alta taxa de evapotranspiração (SOUSA NETO, 2012). Além disso, a crise hídrica que o país vem enfrentando deve aumentar o uso e ou tratamento de águas residuárias doméstica para diversas atividades humana, incluindo consumo direto e uso agrícola. Os maiores reservatórios de águas destinadas ao consumo humano estão nos últimos anos abaixo do nível considerado ótimo e em muitos estados brasileiros já estão utilizando para consumo humano o chamado volume morto (PENA, 2016).

A água potável, utilizada para sanar as necessidades básicas da população mundial, está cada vez mais escassa; necessitando de políticas de gerenciamento dos recursos hídricos, como forma de minimizar o impacto gerado pelas diversas atividades humanas (SOUSA NETO, 2012). Estima-se que dois terços da população mundial serão afetados pela escassez de água nas próximas décadas (NOBRE et al., 2010, ALDERSON et al., 2015). Nesse contexto, o desenvolvimento de tecnologia para reuso de águas residuárias é muito importante.

2.2 Composição e característica do esgoto doméstico bruto

Os esgotos domésticos provêm principalmente de residências, edifícios comerciais, instituições ou quaisquer edificações que contenham instalações de banheiros, lavanderias e cozinhas (SILVA, 2010). Eles são compostos essencialmente da água de banho, urina, fezes, papel, resto de comida, sabão, detergentes e águas de lavagem de louças e vestimentas (JORDÃO & PESSOA, 1995, TORRES, 2004, VON SPERLING, 2005). Essas águas são ricas em

nutrientes com potencial para serem utilizados na irrigação (ALDERSON et al., 2015, BATASTONE et al., 2015, KONG et al., 2015, MALAFAIA et al., 2016). Além disso, as características dos esgotos são função dos usos à qual foi submetida e variam com o clima, situação social e econômica e hábitos da população (KONG et al., 2015).

Os esgotos domésticos contêm aproximadamente 99,9% de água. A fração restante inclui sólidos orgânicos e inorgânicos, suspensos e dissolvidos, bem como microrganismos (SANTOS et al., 2011, BATASTONE et al., 2015, DERRY & MAHESHWARI, 2015). As substâncias orgânicas presentes nos esgotos são constituídas principalmente por proteínas, carboidratos, gorduras e óleos, ureia, surfactantes, fenóis e pesticidas (DERRY & MAHESHWARI, 2015, PETOUSI et al., 2015). Os pesticidas e outros compostos orgânicos utilizados na agricultura são fontes de poluição e de toxicidade à microbiota do solo e aquática (FELIX et al., 2007).

A presença de nutrientes tais como: nitrogênio, fósforo e potássio tem sido vista como uma das grandes vantagens da utilização de esgoto sanitário na fertirrigação de culturas agrícolas (ALDERSON et al., 2015, BATASTONE et al., 2015, MALAFAIA et al., 2016). Entretanto, uma das preocupações refere-se, justamente, à aplicação de nutrientes ou outros contaminantes em excesso. Mikkelsen et al. (1997) afirmaram que a aplicação de águas residuárias no solo durante longos períodos, pode resultar em acúmulos de nutrientes, excedendo-se as exigências das plantas (eutrofização). Outros riscos potenciais para o ambiente são a poluição de águas superficiais e subterrâneas, salinização, contaminação do solo com metais pesados e alterações sobre a comunidade microbiana do solo (GLOAGUEN et al., 2010, SANTOS et al., 2011, THONGTHA et al., 2014, KONG et al., 2015, ALDERSON et al., 2015, PETOUSI et al., 2015, WANG et al., 2015). Esses fatores podem acarretar efeitos negativos na estrutura e macroporosidade do solo e na contaminação do homem e animais por patógenos microbianos presentes nesses resíduos (ALDERSON et al., 2015, PETOUSI et al., 2015). Assim, é necessário quantificar a disponibilidade de nutrientes no solo, as exigências nutricionais das culturas, a concentração de nutrientes na água residuária e o efeito sobre a comunidade microbiana que contribui para fertilidade do solo (SOUZA et al., 2011, THONGTHA et al., 2014).

A matéria inorgânica presente nos esgotos é formada principalmente de areia e de substâncias minerais. A areia é proveniente de águas de lavagem das ruas e de águas do subsolo (JORDÃO & PESSOA, 1995, SMITH, 1996).

Os microrganismos encontrados nos esgotos podem ser saprófitas, comensais, simbioses ou parasitos (ALDERSON et al., 2015, DERRY & MAHESHWARI, 2015, PETOUSI et al., 2015). Algumas bactérias, vírus, protozoários e helmintos por interagirem com a água ou com as fezes são os principais grupos de organismos de interesse do ponto de vista da saúde pública (SOUSA NETO, 2012). A origem destes agentes patogênicos nos esgotos é predominantemente humana, refletindo diretamente o nível de saúde da população e as condições de saneamento básico de cada região.

Os coliformes; *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Enterobacter sp* e *Citrobacter sp* são indicadores de contaminação fecal por serem típicos do intestino do homem e de outros animais homotérmicos (RIBEIRO et al., 2012, PETOUSI et al., 2015). Esse grupo de microrganismos são utilizados para avaliar a qualidade das águas destinadas ao consumo humano e estimar a magnitude da poluição (BITTON, 1994). A determinação desses microrganismos pode ser feita por técnica de biologia molecular como Reação da Polimerase em Cadeia (PCR), DGGE, eletroforese em gel com gradiente de temperatura (TGGE) e sequenciamento que apresentam uma maior sensibilidade quando comparadas às técnicas de cultivo ou aos testes bioquímicos.

O maior agravante na utilização de esgoto doméstico na agricultura tem sido o aspecto sanitário. Tais características têm limitado a utilização de esgoto doméstico na agricultura (SOUSA NETO et al., 2012). Entretanto, o manejo e o tratamento adequado dessas águas podem diminuir esses eminentes riscos. Segundo Rocha et al. (2003), após 54 dias da aplicação de esgoto sanitário tratado, não foram identificados coliformes fecais no solo, sendo que, a partir de 60 dias, nenhuma amostra positiva com ovos de helmintos foi encontrada, apesar do alto nível de contaminação inicial.

2.3 Fertirrigação com água residuária doméstica na agricultura

Segundo Souza (2005) a aplicação de águas residuárias no solo promove melhorias nas condições físicas e químicas e da fertilidade. Além disso, o reuso

da água, a reciclagem de nutrientes e a redução no uso de fertilizantes químicos podem ser outras vantagens da fertirrigação via águas residuárias (VAN DER HOEK et al., 2002).

O nitrogênio é o nutriente mais exigido pelas plantas. Este elemento, porém, encontra-se quase totalmente complexado na forma orgânica, dependendo da biomassa microbiana do solo para sua transformação e absorção pelas plantas (JENKINSON & LADD, 1981, FEINGIN et al., 1991). Essa biomassa é sensível às mudanças que ocorrem no solo sendo, portanto, uma boa indicadora de qualidade do solo (JACKSON et al., 2003).

As fontes fornecedoras de nitrogênio do solo são a degradação e a mineralização da matéria orgânica, os fertilizantes e a fixação biológica do nitrogênio atmosférico (BLOOM, 2015). A maior parte do nitrogênio fixado biologicamente vem de simbiose envolvendo plantas e rizobactérias, principalmente aquelas da família *Rhizobiaceae* que incluem *Rhizobium* sp, *Mesorhizobium* sp, *Allorhizobium* sp, *Azorhizobium* sp e *Bradyrhizobium* sp (VANCE, 1998, RODRIGUES et al., 2013). Esse processo tem sido utilizado para avaliar o efeito do lodo no solo (VIEIRA, 2001; VIEIRA et al., 2004). Além disso, a maior parte do nitrogênio presente em águas residuárias encontra-se na forma orgânica, que pode ser mineralizada por enzimas microbianas com a liberação de íons amônio e nitrato (SANTOS et al., 2006). Esses íons são absorvidos pelas plantas ou utilizados pela comunidade de organismos do solo para produção de biomoléculas.

Outro nutriente de ocorrência nas águas residuárias e que traz benefícios às culturas é o fósforo (BATSTONE et al., 2015, THONGTHA et al., 2014). Entretanto, uma quantidade excessiva de adubação fosfatada em determinadas culturas, causa redução na produtividade, devido ao desbalanceamento nutricional, pois seu excesso pode reduzir a disponibilidade de micronutrientes, tais como, cobre, ferro e zinco. Além disso, elevadas concentrações de fósforo podem aumentar a precipitação do cálcio no efluente, aumentando com isso a razão de adsorção de sódio (FEINGIN et al., 1991). Os fungos micorrízicos tem um papel importante na disponibilização de fósforo para as plantas (SMITH et al. 2010). Esse microrganismo também pode ser um bom indicador dos efeitos da aplicação de águas residuárias no solo.

Diversas variedades de plantas agrônômicas têm sido cultivadas utilizando a fertirrigação com águas residuárias domésticas (Tabela 1).

Tabela 1: Culturas vegetais produzidas utilizando águas residuárias proveniente do esgoto doméstico.

Cultura	Irrigação	Fonte
Oliva	Água residuária	Petousi et al. (2015)
Melão		Almeida Silva et al. (2012)
Girassol	Esgoto doméstico	Nobre et al. (2010)
		Gloaguen et al. (2010)
		Bezerra et al. (2014)
Capim Mombaça		Silva et al. (2010)
Copaíba		Celentano Augusto et al. (2003)
<i>Eucalyptus</i>		Celentano Augusto et al. (2007)
<i>Grandis</i>		
Mamona		Ribeiro et al. (2012)
Milho		Gloaguen et al. (2010)
Amaranthus		Nathan et al. (2012)
	Biswas et al. (2015)	
	Malafaia et al. (2016)	
Pinhão-manso		Silva et al. (2011)
Quiabo		Santos et al. (2006)
Algodão	Esgoto doméstico tratado	Sousa Neto et al. (2012)
Cana-de-açúcar		Freitas et al. (2013)
Feijão		Rebouças et al. (2010)
Moranga		Oliveira et al. (2013)
Pepino		Azevedo & Oliveira (2005)
Pimentão		Sousa et al. (2006)

Fonte: Silva et al., 2016.

Entretanto, é importante mencionar que o capim mombaça, mamona, pinhão-manso, eucalipto e algodão produzidos por esse processo são mais promissores, devido a não ter sua utilização direta na alimentação humana. Com isso os possíveis riscos de contaminação por microrganismos patogênicos presentes nas águas residuárias são mínimos ou inexistentes.

Portanto, as águas residuárias são fontes importantes de nutrientes requeridos pelas culturas e estudos tem mostrado um aumento de produtividade

em feijão e fruteiras (OLIVEIRA et al., 2014). Segundo esses autores, a utilização de esgoto sanitário na fertirrigação traz benefícios ao meio ambiente e ao produtor rural que irá reduzir seus custos com aplicação de fertilizantes. Além disso, Silva et al., (2012) mostraram aumento na produtividade do capim mombaça em função da dose de esgoto aplicada. Os resultados desse estudo são interessantes devido a utilização de uma cultura agrônômica que está envolvida indiretamente na alimentação humana e mostra a aplicação da fertirrigação em solo do Cerrado.

2.4 Riscos físicos, químicos e biológicos da irrigação com águas residuárias

Um dos possíveis impactos do aproveitamento agrícola de águas residuárias pode ocorrer nas águas subterrâneas (SILVA, 2012). Em zonas áridas com solos permeáveis e rasos, o tratamento do esgoto por disposição no solo, ou mesmo a fertirrigação de culturas com águas residuárias pode causar incrementos no nível freático ou contaminação das águas do lençol freático com microrganismos patogênicos e outros, além de provocar a salinização e ou sodificação do solo (FONSECA et al., 2001, GLOAGUEN et al., 2010).

Os efeitos da aplicação de água residuária nas propriedades químicas do solo são pronunciados somente a longo prazo, sendo que esses efeitos dependem da composição física e química do solo e das condições climáticas (SILVA, 2010, SILVA et al., 2012).

Gloaguen et al. (2010) através de uma análise multivariada estabeleceram uma inter-relação entre os efeitos negativos do uso de águas residuárias na irrigação. Segundo esses pesquisadores, a irrigação com águas residuárias tratadas é uma técnica utilizada na agricultura para reduzir as necessidades hídricas e o impacto da carga de nutrientes nos mananciais, porém vários efeitos negativos já foram registrados nas propriedades químicas (salinização, sodificação e outros) e físicas do solo (alteração na porosidade e condutividade hidráulica do solo e outros). Suas análises revelaram cinco fatores principais, dentre eles, porosidade fina (composto por Na^+ e K^+), porosidade larga, capacidade de troca catiônica do solo (Ca^{2+} e Mg^{2+}), acidez e textura do solo. A conclusão principal desses autores foi que a mudança da distribuição dos poros

do solo (poros grossos para poros finos) ocasionado pela aplicação da água residuária leva a um aumento do armazenamento da água no solo e à redução da drenagem dos sais. Esse resultado confirma a salinização do solo após uso da água residuária e mostra também a capacidade do solo em reter água. Assim, provavelmente, o efeito mais negativo causado pela utilização de águas residuárias seja o aumento na salinidade/sodificação do solo, que em longo tempo pode causar uma redução na produtividade das culturas. Além disso, a qualidade da água residuária, a condutividade hidráulica do solo, o teor de matéria orgânica, a drenagem do solo, os intervalos entre aplicações e a profundidade do lençol freático são fatores determinantes na taxa de salinidade dos solos (WHO, 2004).

A adsorção de sódio às partículas do solo pode levar à dispersão coloidal e a redução na porosidade do solo (GLOAGUEN et al., 2010). Entretanto esse efeito negativo do sódio somente ocorrerá caso a concentração de Na^+ seja superior à de Ca^{+2} e Mg^{+2} e a condutividade elétrica de saturação do solo seja muito baixa (SILVA, 2010). Além disso, o sódio e outras fontes de salinidade são persistentes e usualmente sua remoção requer o uso de sistemas de tratamentos com altos custos, como por exemplo, as resinas de troca de cátions e membranas de osmose reversa (TOZE, 2006). Wang et al. (2015) mostraram que a capacidade de deionização pode ser uma técnica alternativa para dessalinização.

O manejo também é muito importante para evitar a salinização do solo. Silva (2010) cultivou capim *Panicum maximum* com diferentes concentrações de sódio (75, 150, 225 e 300 kg ha⁻¹). Segundo eles, o acúmulo de sódio na folha foi proporcional à dose aplicada no solo e o período de corte. Assim, a determinação da capacidade de retenção do solo e da absorção de sódio por microrganismos e plantas são fundamentais para o sucesso da fertirrigação com esgoto doméstico. Além disso, estudos recentes têm preocupado mais em determinar a contaminação microbiana do solo e do produto agrícola por patógenos contidos nas águas residuárias e não com a salinização/sodificação (ALDERSON et al., 2015, DERRY & MAHESHWARI, 2015, PETOUSHI et al., 2015). Entretanto, a ausência de contaminação microbiana foi detectada nas folhas e frutos de árvores de Oliveira irrigadas com águas residuárias domésticas (PETOUSHI et al., 2015).

A eutrofização é uma poluição causada pelos níveis altos de nutriente e biomassa (POSADAS et al., 2013, KONG et al., 2015). Essas contaminações antrópicas podem ser devido ao descarte em especial de fósforo, no esgoto doméstico em áreas rurais (THONGTHA et al., 2014, KONG et al., 2015). Petousi et al. (2015) mostraram que há um acúmulo de nutriente, principalmente fósforo e potássio, e sal no solo após dois anos de aplicação do esgoto para irrigação de árvores de Oliveira. O alto conteúdo de fósforo causa sérios problemas em cursos d'águas (WANG & WANG, 2009).

Alternativamente, para evitar o acúmulo do nutriente no solo, Thongtha et al. (2014) estudaram a capacidade das plantas *Nelumbo nuciferae* e *Cyperus alternifolius* e dos microrganismos do solo em remover diferentes concentrações de fósforo presente no esgoto doméstico. Eles concluíram que o fósforo foi absorvido do solo pelas plantas testadas e pela comunidade de microrganismos, em especial *Pseudomas* sp. Assim a eutrofização pode ser amenizada pela comunidade microbiana local associada à fitorremediação. A capacidade de remoção de fósforo e nitrogênio de águas residuárias pela comunidade de microrganismos também foi descrita em Kong et al., (2015).

Os metais pesados tais como Cd, Cu, Ni, Pb, As, Cr e Zn representa potencial riscos para os seres vivos (BURCHILL et al., 1981). O acúmulo desses metais pode ser observado após a aplicação de águas residuárias no solo. Entretanto, as contaminações por metais pesados podem ser também removidas pelas plantas (ALDERSON et al., 2015). Nathan et al. (2012) mostraram a capacidade de *Zea mays*, *Commelina bengelensis*, *Helianthus annuuse*, *Amaranthus hybridus* em bioacumular Pb, Cu, Cd e Zn oriundos de águas residuárias. Segundo esses autores, *H. annuuse* e *C. bengelensis* apresentam um potencial para remover Pb, Cu e Cd, enquanto *Z. mays* e *A. hybridus* absorverem melhor o Zn. Dessa forma, esses metais pesados podem estar se acumulando nos alimentos.

Portanto, devido a esses riscos (principalmente a contaminação da cultura com patógenos e metais pesados) o cultivo de variedade agrônômica não alimentícia para o homem utilizando águas residuárias domésticas seria mais recomendada. Nesta tese foi desenvolvido o projeto do plantio de capim *Brachiaria brizantha* em solo do Cerrado utilizando águas residuária domésticas.

2.5 Riscos sobre comunidade microbiana do solo

A microbiota do solo é a principal responsável pela decomposição dos resíduos orgânicos, pela ciclagem dos nutrientes e pelo fluxo de energia dentro do solo (VITOUSEK et al., 2002, GAMA-RODRIGUEZ et al., 2005). Assim, seria muito importante analisar o efeito do uso de águas residuárias para irrigação sobre os microrganismos que contribuem para a fertilidade do solo. Os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) e as bactérias fixadoras de nitrogênio, incluindo nesse grupo os actinomicetos, podem ser um bom parâmetro para investigar essas possíveis alterações. Além disso, esses microrganismos podem contribuir para evitar o acúmulo de nutrientes, incluindo o fósforo e nitrogênio, e de metais pesados oriundos da água residuária doméstica no solo.

Os FMAs constituem um importante componente da microbiota da rizosfera em ecossistemas naturais (VERMA et al., 2008). Eles estão distribuídos em vários habitats formando associações mutualistas com extensivo número de espécies vegetais agrícolas e florestais (AZCÓN-AGUILAR et al., 1997, OEHL et al. 2011). Essa associação mutualista simbiótica formada entre os FMAs e as raízes das plantas está presente na natureza há mais de 400 milhões de anos e ocorre uma transferência bidirecional de substâncias (POZO & AZCÓN-AGUILAR, 2007, SMITH et al. 2010). Os FMAs absorvem os nutrientes minerais, como exemplo fósforo, zinco e cobre e água do solo e os compartilham com a planta (GOSLING et al., 2006, SMITH et al. 2010). Em troca a planta fornece para os FMAs hidratos de carbono provenientes da fotossíntese (SMITH et al. 2010).

Os FMAs contribuem para a adaptação das plantas em diferentes ecossistemas, aumentam a tolerância a estresse biótico e abiótico e, a absorção de água e nutrientes pela planta (TAYLOR et al., 2001; MORAES et al., 2004; BERBARA et al., 2006). Além disso, esses fungos contribuem para o aumento da densidade de bactérias fixadoras de nitrogênio na rizosfera, produzem sideróforos, aumentam a resistência da planta a metais pesados e reduzem a população de nematóides na micorrizosfera (NEERAJ, 2011).

Os FMAs estão agrupados no filo Glomeromycota, possuem sete gêneros: *Acaullospora*, *Archaespora*, *Entrophospora*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Paraglomus* e *Scutellospora* e cerca de 210 espécies já descritas (INVAM, 2015).

O método que se utiliza tradicionalmente para a classificação taxonômica das espécies de FMAs é a comparação entre as características morfológicas dos seus esporos extraídos do solo (MOREIRA, *et al.*, 2007). No entanto, a análise baseada somente na identificação destes esporos pode ser limitado devido à esporulação ser dependente de características particulares de cada espécie e sua interação com o ambiente, os esporos obtidos de uma amostra de campo podem estar em processo de decomposição e esses fungos são biotróficos (RODRÍGUES-ECHEVERRÍA & FREITAS, 2006). Devido a esses fatores, a utilização de técnicas de biologia molecular tem sido cada vez mais empregada para a identificação destas espécies (KRAMADIBRATA *et al.*, 2000). Essas técnicas que analisam diretamente a comunidade de FMAs nos solos e evitam muitos passos associadas ao cultivo e a produção de esporos em cultura armadilha (KOWALCHUK *et al.*, 2002). A técnica de DGGE tem sido empregada para análises da comunidade de FMAs permitindo acessos a estes fungos nos sistemas radiculares das plantas, em amostras de solo ou mesmo em um banco de esporos, sendo um método já testado em uma gama de isolados de FMAs com habilidade de distinguir entre as diferentes espécies (KOWALCHUK *et al.*, 2002).

Os microrganismos têm papel importante no crescimento das plantas e na fertilidade do solo. Podem auxiliar na decomposição e mineralização de compostos orgânicos e na assimilação e fixação biológica de nitrogênio (FBN) (VITOUSEK *et al.*, 2002, GAMA-RODRIGUEZ *et al.*, 2005). Além disso, o nitrogênio da biomassa microbiana é tido como uma fração facilmente disponível (GAMA-RODRIGUES *et al.*, 2005).

Os microrganismos capazes de realizar a FBN chamados diazotróficos, podem contribuir com grande proporção do nitrogênio no solo rizosférico (WARTIAINEN *et al.*, 2008). A FBN é caracterizada pela redução do nitrogênio atmosférico a nitrogênio amoniacal. Processo realizado por uma variedade de microrganismos procariotos, sendo um processo com alto gasto energético, sensível à presença de oxigênio e altamente regulado a nível transcricional e pós transcricional (JENKINS & ZEHR, 2008; HONG *et al.*, 2012). Esses microrganismos são capazes de realizar a FBN por possuírem a enzima nitrogenase, codificada pelos genes *nif H* que estão localizados no operon *nif HDK* (ZEHR *et al.*, 2003). Por estar presente na maioria dos sistemas biológicos

capazes de fixar nitrogênio atmosférico e apresentam regiões altamente conservadas entre as bactérias diazotróficas, o gene *nif H* tem sido muito utilizado em estudos relacionados a bactérias diazotróficas. Além disso, tem sido reportado que análises filogenéticas do gene *nif H* são largamente consistentes com a filogenia do gene 16S rRNA (ZEHR et al., 2003).

As bactérias diazotróficas podem ser epifíticas, como algumas linhagens de *Azospirillum* spp que vivem nas superfícies das raízes, ou endofíticas, tais como *Azospirillum diazotrophicus*, *Azoarcus* spp., *Herbaspirillum* spp. e *Azospirillum brasilense* (JAMES, 2000). Essas bactérias podem também liberar compostos como ácido indol acético-AIA que estimula o crescimento de raízes, a germinação de esporos e o crescimento micelial de fungos micorrízicos (VÁZQUEZ et al., 2000).

Os actinomicetos pertence ao filo Actinobactéria e compreende o grupo de organismos com alto teor de guanina e citosina no DNA (STACKEBRANDT et al., 1997). Os principais representantes desse grupo são *Arthrobacter* sp, *Corynebacterium* sp, *Nocardia* sp, *Rhodococcus* sp, *Streptomyces* sp e *Mycobacterium* sp. Eles são conhecidos como bactérias de cultivo lento, produtoras de antibióticos e são capazes de fixar o nitrogênio atmosférico (DUNBAR et al., 2002).

As análises morfológicas e fisiológicas desses microrganismos apresentam limitações, o que justifica o uso das técnicas de biologia molecular, que permitam estudar a comunidade microbiana incluindo os microrganismos biotróficos.

A técnica de DGGE combinada com PCR constitui, atualmente, um método de rotina e de confiança para produzir uma rápida representação de comunidades microbianas dominantes no solo. Além disso, permite a comparação de grande número de amostras a partir de diferentes tratamentos (VAN ELSAS & BOERSMA, 2011). Pode ser utilizada também no monitoramento de mudanças na estrutura da comunidade microbiana em resposta às alterações nos parâmetros ambientais (NICOLAISEN & RAMSING, 2002).

O estudo da comunidade microbiana por DGGE pode ser realizado com a utilização de marcadores como o rDNA 16S ou rDNA 18S avaliando toda comunidade de bactérias e fungos, respectivamente, ou ainda utilizando genes

de marcadores funcionais como o gene *nif H* (LIANG et al., 2008; VAN ELSAS & BOERSMA, 2011).

Essas técnicas moleculares são ferramentas de grande importância para o estudo da comunidade microbiana. Além disso, análises da diversidade microbiana pode ser usada como um indicador da qualidade do solo, pois os microrganismos respondem rapidamente às alterações ambientais (TIEDJE et al., 2001). Assim, essas técnicas moleculares podem contribuir para o estudo das comunidades de bactérias diazotróficas e de FMA's no solo que foi utilizado para plantação de capim *Brachiaria brizantha* fertirrigado com águas residuárias proveniente de esgoto doméstico.

2.6 Fertirrigação do capim na região do Cerrado

A aplicação da fertirrigação com águas residuárias proveniente do esgoto doméstico pode ser uma boa alternativa para o plantio de capim *Brachiaria brizantha* em solo do Cerrado. Esse processo pode diminuir o uso de água de melhor qualidade na irrigação, a aplicação de fertilizantes e os desmatamentos para plantio de pastagens. Silva (2010) mostrou o potencial da irrigação com águas residuárias domésticas no plantio de capim mombaça em solo de Cerrado. Segundo ele, o capim fertirrigado com água residuária teve produtividade maior que o controle.

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, com uma área de 2.045.064 km² e que ocupa os estados do Brasil Central: Minas Gerais, Goiás, Tocantins, Bahia, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Piauí e o Distrito Federal, com índices pluviométricos regulares que lhe propiciam sua grande biodiversidade (ALVARES et al., 2013).

Os solos do Cerrado apresentam características químicas comuns com elevada acidez, toxicidade de alumínio, elevada deficiência de nutrientes e uma alta capacidade de fixação de fósforo (GUCKER et al., 2009). São solos originalmente ácidos, com pH que pode variar de menos de 2,5 a pouco mais de 4. Níveis elevados de íons ferro e manganês associados aos altos níveis de Al³⁺ contribuem para a elevada toxidez destes solos. O teor de matéria orgânica é em geral reduzido, oscilando entre 1 e 4% (ARAÚJO et al., 2007).

As técnicas de manejo e fertilização contornam os principais problemas dos solos do Cerrado que tem contribuído para a ocupação de grandes extensões pela agricultura moderna. O relevo plano associado à adequada distribuição das chuvas, o que ocorre principalmente nos estados de Goiás e Mato Grosso, permite que culturas altamente exigentes possam ser cultivadas com as maiores médias produtivas do país (PEREIRA & VELINI, 2003).

A região do Cerrado foi marcada por grandes investimentos para formação de pastagens plantadas na década de 1970 (EITEN & GOODLAND, 1979; ANDRADE et al., 2005). Neste período, iniciou-se um programa de substituição do capim-gordura por gramíneas mais produtivas, principalmente *Brachiaria* spp (*B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. brizantha*). Além disso, a degradação e o abandono destas áreas favoreceram o estabelecimento de plantas invasoras.

Além da baixa fertilidade, os solos do Cerrado se caracterizaram por possuírem elevados teores de alumínio e manganês trocáveis, baixa capacidade de reter fertilizantes à base de potássio e deficiência de micronutrientes, tais como B, Cu e Zn (MALAVOLTA & KLIEMANN, 1985). Além disso, os teores de matéria orgânica na maioria dos solos dos Cerrados são considerados baixos (ADÁMOLI et al., 1985). Assim, os nutrientes presentes nas águas residuárias podem ser disponibilizados para o crescimento vegetal nesse tipo de solo.

2. 6.1 Características botânicas da *Brachiaria brizantha* cv Marandu

O Brasil é um dos países de maior potencial de produção pecuária a pasto, determinada, principalmente, por suas condições climáticas e vasta extensão territorial (SERAFIM & GALBIATTI, 2012).

As pastagens representam a principal forma para a alimentação dos rebanhos, as quais em sua maioria são formadas por gramíneas. As áreas pastoris representam três bilhões de hectares (ha) no mundo, o que representa praticamente 20% da superfície terrestre (GUERRA FILHO, 2012).

B. brizantha é originário do Zimbábue, África, uma região vulcânica onde os solos apresentam bons níveis de fertilidade natural (BOGDAN, 1977), sendo o cultivar Marandu, lançado na EMBRAPA- CNPQC no ano de 1984. Segundo Nunes et al. (1985) é um cultivar forrageiro cespitoso, muito robusto, de 1,5 a 2,5 metros de altura, com colmos iniciais prostrados, mas que produz perfilhos

predominantemente eretos. Apresentam rizomas curtos e encurvados e com folhas pouco pilosas na face ventral e sem pilosidade na face dorsal, bainhas pilosas e inflorescências com até 40 cm de comprimento, com quatro a seis ráculos. Além disso, ela apresenta crescimento rápido, com boa competição com plantas daninhas, uma vez que proporciona boa cobertura do solo e produtividade.

No Brasil, o cultivo de *B. brizantha* cobre 30 milhões de ha, o que equivale a cerca de 50% das gramíneas cultivadas na região do Cerrado (ABRASEM, 2012). De acordo com Costa et al. (2007), a expansão de áreas pastagens cultivadas com *Brachiaria* sp no Brasil tem se verificado em proporções jamais igualadas por outras forrageiras, em qualquer outro país de clima tropical. Essa grande expansão pode ser devida, *Brachiaria* sp necessitar de temperatura em torno de 30°C e não tolerar geadas fortes e ou temperatura inferior a 25° C (MACEDO, 2005). Assim, esse requerimento de temperatura favorece o plantio dessa cultura no Cerrado brasileiro que apresenta temperatura anuais adequadas para tal cultura.

A *B. brizantha* cv. Marandu é uma cultura perene, cespitosa, com colmos eretos, possui sistema radicular vigoroso e profundo, apresenta elevada tolerância à deficiência hídrica, ao frio e sombreamento, baixa resistência à umidade, adapta-se a solos de média a alta fertilidade, absorve os nutrientes em camadas mais profundas do solo (BARDUCCI et al., 2009).

Desde 1980, *B. brizantha* cv. Marandu por ser um capim que se adapta a solos de média fertilidade, tolerante à cigarrinha das pastagens e com bons índices de produtividade, expandiu-se primeiramente nas áreas de cultivo de *Brachiaria decumbens* e o início desse século tem se estimado que cerca de 50% dos pastos cultivados brasileiros estejam plantadas com essa cultivar, estabelecendo assim um extenso monocultivo (EMBRAPA, 2007).

Os grandes interesses dos pecuaristas por esta espécie incluem o fato de a mesma ser uma planta de alta produção de massa seca, ter boa adaptabilidade aos solos do Cerrado, responder bem à adubação fosfatada, ter facilidade para estabelecimento e persistência, apresentar alto valor nutritivo para ração e poucos problemas de doenças e mostrar um bom crescimento durante a maior parte do ano (SOARES FILHO, 1997; VALLE et al., 2000; COSTA et al., 2005). Além disso, *B. brizantha* é indicada para pastoreio e feno, consorcia-se bem com

o Calapogônio, soja perene e leucena. Ela também apresenta bom potencial forrageiro com produção média de 50 toneladas de massa verde $\text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$ e de 10 a 12 toneladas de massa seca $\text{ha}^{-1} \text{ano}^{-1}$, baixa produção de sementes, teor de proteína bruta aproximado de 10% na matéria seca. Devido à sua boa capacidade de rebrota, ela é a forrageira mais cultivada para engorda e reúne boas condições para a fase de terminação dos animais (SOARES FILHO et al., 2002).

Por possuir sistema radicular vigoroso e profundo, o capim Marandu apresenta elevada tolerância à deficiência hídrica e absorção de nutrientes em camadas mais profundas do solo, desenvolvendo-se em condições ambientais em que a maioria das culturas produtoras de grãos e das espécies utilizadas para cobertura do solo, não se desenvolveria (BARDUCCI et al., 2009).

Assim, a utilização águas residuárias para irrigação de capim Marandu parece ser uma boa alternativa para produção de alimento animal em solos do Cerrado que apresentam deficiência hídrica e nutricional.

2.7 Considerações finais

Com uma grande quantidade de solos degradados, a fertirrigação com águas residuárias pode ser uma alternativa viável para reuso da água e recuperação dos solos. Essa recuperação se caracteriza pela presença de nutrientes no esgoto doméstico que viabilizam o crescimento vegetal.

Essa tese visa à produção de capim *Brachiaria brizantha* em solo do Cerrado utilizando águas residuárias domésticas, bem como analisar as alterações relacionadas à composição física e química e a diversidade microbiana do solo antes e após a aplicação da água residuária e do plantio e coleta do capim.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Utilizar águas residuárias para plantio de sementes de *Brachiaria brizantha* cv Marandu como alternativa para produção de alimento animal em solos do Cerrado, bem como estudar os efeitos da fertirrigação sobre microbiota (bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos).

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a diversidade de microrganismos no solo antes e depois da fertirrigação do capim;
- Investigar alterações na comunidade microbiana (bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos) após a fertirrigação;
- Avaliar a produtividade agrícola do capim nos diferentes tratamentos impostos;
- Analisar a composição química-bromatológica do capim, em função das taxas de esgoto aplicadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Descrição da área experimental

A pesquisa foi conduzida na Área Experimental do Laboratório de Recursos Hídricos do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), localizado na cidade de Palmas-TO a uma altitude de 230 m, e coordenadas geográficas, 10°12'46" S e 48°21'37" W (Figura S1).

O experimento foi realizado no período de maio de 2015 a fevereiro de 2016, em uma área experimental de 180 m², com topografia suave, cultivou a gramínea *Brachiaria brizantha* cv Marandu, com a utilização do efluente sanitário do CEULP/ULBRA na fertirrigação desse capim.

4.2 Preparo do solo e calagem

O solo da área experimental foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo (EMBRAPA, 1999).

Antes da instalação do experimento, procedeu-se a limpeza da área com a retirada de árvores e galhos do local. A cobertura vegetal da área experimental foi também removida por um arado. Posteriormente procedeu-se a aração e gradagem da área experimental. Determinou-se a necessidade de calagem para o cultivo da forrageira, através da equação 1. Para esse cálculo o método utilizado foi aquele que se baseia na elevação da saturação de bases (% V).

$$\text{Equação 1: } NC = CTC \frac{(V_2 - V_1)}{100} \times f$$

Em que: NC: Necessidade de calcário em toneladas/ha, CTC: Capacidade de troca de cátions a pH 7,0, V₂: saturação por bases desejada para a cultura a ser implantada, V₁: saturação por bases atual do solo = S/T x 100, S = soma de bases = meq (K + Ca + Mg)/100 cm³ e f: fator de correção: 100 x (PRNT)⁻¹

O calcário dolomítico utilizado continha 80% de óxido de cálcio (CaO), 18% de óxido de magnésio (MgO), poder neutralizante (PN) do calcário em relação ao carbonato de cálcio e o poder real de neutralização total (PRNT) de 100%.

O valor adotado para V_2 , foi de 40%. A Embrapa (1999) descreve de 40 a 45% para essa forrageira, sendo assim necessários 1,73 toneladas de calcário. ha^{-1} .

Devido à sua baixa mobilidade no solo, o calcário após aplicado foi incorporado, para aumentar a sua eficiência na correção da acidez das camadas subsuperficiais do solo.

4.3 Caracterização dos sistemas de manejo de adubação e delineamento experimental

O experimento foi constituído por cinco sistemas de manejo de adubação ou tratamentos (T_1 a T_5) com quatro repetições (Figura 1, Tabela 2).

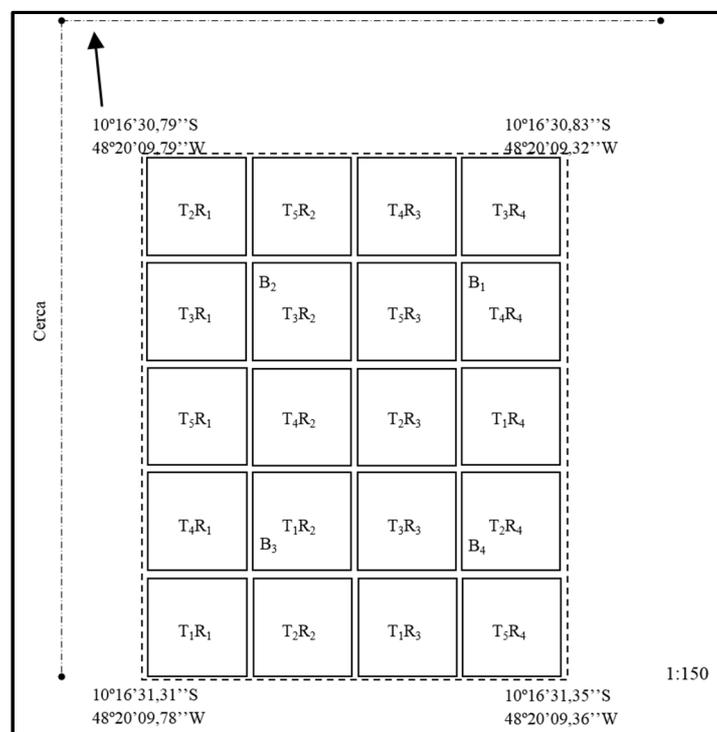


Figura 1: Esquema da distribuição e casualização dos sistemas de manejo (T_1 a T_5 e repetições (R_1 a R_4) em função da área de plantio do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e os pontos de coletas de amostras (B_1 a B_4).

Os sistemas de manejo de adubação foram distribuídos de forma casualizada na área experimental (Figura 1). Nessa Figura, também são apresentados os pontos de coletas de amostra do solo (B₁ a B₄) para as análises físico, química e o estudo da diversidade microbiana que serão discutidos posteriormente.

Tabela 2: Descrição dos sistemas de manejo de adubação ou tratamentos experimentais que foram utilizados no cultivo de *Brachiaria brizantha* cv Marandu fertirrigado com água residuária doméstica.

Sistemas de manejo de adubação	Proporção de adubo (%)	
	NPK comercial	NPK proveniente da água residuária
T ₁	0	0
T ₂	100	0
T ₃	80	20
T ₄	60	40
T ₅	40	60

A composição de cada manejo foi baseada na adição de diferentes proporções de adubo NPK comercial e NPK contido na água residuária, além de um controle sem adição de fertilizantes (Tabela 2).

Todos os manejos receberam calagem e o volume de água aplicado em cada um foi calculado, baseando-se no balanço hídrico de Palmas-TO (Tabela 3) e no teor de nitrogênio total, fósforo e potássio da água residuária (Tabela 2).

Tabela 3: Balanço Hídrico Climatológico para Palmas - TO, durante o período de 2001 a 2009, pelo método de Thornthwaite & Mather (1955).

Meses	T	P	ETP	P – ETP	NAC	ARM	ALT	ETR	DEF	EXC
	°C									
Jan	26,9	248,7	134,8	113,9	0,0	51,6	0,0	134,8	0,0	113,9
Fev	26,5	202,3	119,3	83,0	0,0	51,6	0,0	119,3	0,0	83,0
Mar	26,3	226,9	132,0	94,9	0,0	51,6	0,0	132,0	0,0	94,9
Abr	26,9	155,4	142,4	13,0	0,0	51,6	0,0	142,4	0,0	13,0
Mai	26,8	91,6	148,0	-56,4	-56,4	17,3	-34,3	125,9	22,1	0,0
Jun	26,1	4,9	131,9	-127,0	-183,4	1,5	-15,8	20,7	111,2	0,0
Jul	25,8	0,3	130,6	-130,3	-313,7	0,1	-1,4	1,7	128,9	0,0
Ago	27,1	2,0	155,9	-153,9	-467,6	0,0	-0,1	2,1	153,8	0,0
Set	28,3	46,1	175,3	-129,2	-596,8	0,0	0,0	46,1	129,2	0,0
Out	27,7	134,6	161,6	-27,0	-623,8	0,0	0,0	134,6	27,0	0,0
Nov	27,2	197,7	142,6	55,1	0,0	51,6	51,6	142,6	0,0	0,0
Dez	26,5	203,2	132,1	71,1	0,0	51,6	0,0	132,1	0,0	71,1
Ano	26,8	1513,7	1706,5					1134,3	572,2	375,9

T: temperatura, P: precipitação, ETP: evapotranspiração, NAC: negativo acumulado, ARM: armazenamento de água no solo, ALT : alteração da umidade do solo, ETR: evapotranspiração real, DEF: deficiência hídrica (mm) e EXC: excedente hídrico (mm).

4.4 Plantio e manejo do capim

A escolha do capim *B. brizantha* ocorreu em razão da sua resistência a períodos longos de seca em até oito meses no inverno, assim como ser uma planta recomendada para Cerrados de média a alta fertilidade, em face de sua alta produção de forragem, boa capacidade de rebrota e tolerância ao ataque de cigarrinhas (SOARES FILHO et al., 2002).

As sementes do capim foram obtidas no comércio de Palmas-TO, apresentando um teor de pureza de 60,3% e taxa de germinação de 80%, o que resulta num valor cultural de 48,24%. Assim, foi utilizado 1,75 kg de sementes conforme recomendação da Embrapa (1984) que de 1,5 a 2 kg de sementes viáveis por ha. Para isso uma determinada massa de sementes do capim foi aferida em uma balança analítica e determinado o número de sementes viáveis.

O plantio ocorreu em 24 de junho de 2015, com as sementes aplicadas a lanço e utilização de um rastelo para posterior enterrio das mesmas no solo.

Em um solo arado, e gradeado delimitou-se 20 parcelas de 9 m² (3 m x 3 m), conforme a Figura 2, plantou-se o capim e os tratamentos aplicados em cada parcela experimental, a partir de sorteio. Para melhor estabelecimento da cultura procedeu-se a sementeira em caixas de papelão, sendo feito o transplante para o local onde foram detectadas as falhas de germinação das sementes.

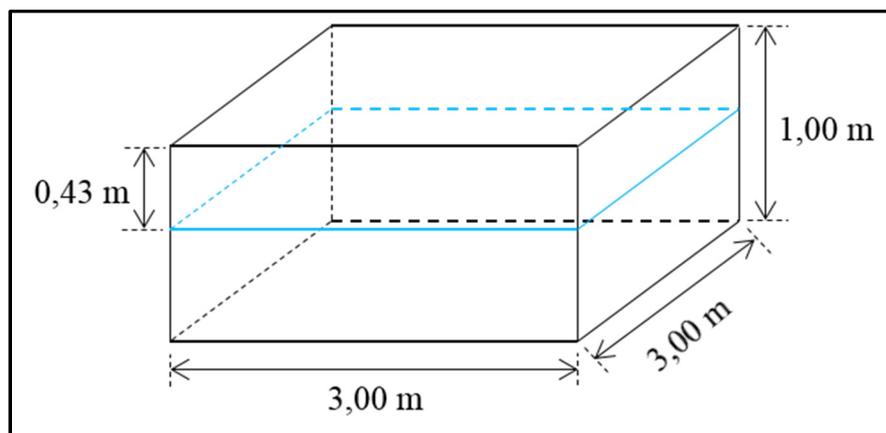


Figura 2: Ilustração em perspectiva da parcela experimental para o plantio de gramínea *Brachiaria brizantha* cv Marandu, com a utilização da água residuária doméstica.

A dimensão vertical das parcelas foi de 1,00 m (Figura 2); pois, a adoção desse valor se deve ao fato de que as coletas de solos foram realizadas até esta profundidade. E para efeito do dimensionamento da lâmina total de água disponível para a cultura levou-se em consideração a profundidade efetiva das raízes da mesma, que é de 43 cm (Figura 2).

Na adubação de plantio, os teores de fósforo (P) e potássio (K), foram aplicados de acordo com a recomendação da cultura e com os níveis desses nutrientes no solo, segundo Alcântara e Bufarah (1999). Como fonte de fósforo foram aplicados 627,66 kg de superfosfato simples ha⁻¹ e o 119,37 kg. ha⁻¹ de cloreto de potássio para disponibilizar o potássio para a forrageira. A ureia foi colocada como fonte de nitrogênio numa dosagem de 150 kg de N.ha⁻¹ (LOPES et al., 2013).

Nas Tabelas 4 e 5 a seguir são apresentadas as demandas de insumos em cada parcela em seus respectivos sistemas de manejo de adubação para cada fertirrigação e durante todo o experimento.

Tabela 4: Demanda de insumos por sistema de manejo de adubação em cada parcela e na área total durante o ciclo da cultura.

Sistemas de manejo de adubação	Composição	Quantidade por parcela	Unidade	Quantidade total	Unidade
T ₁	Calcário	1,555	g	6,221	kg
	Calcário	1,555		6,221	
T ₂	Supersimples	565	g	2,260	kg
	Cloreto de Potássio	107		0,428	
	Ureia	289		1,156	
T ₃	Calcário	1,555	g	6,221	kg
	Supersimples	530		2,122	
	Cloreto de Potássio	93		0,374	
	Ureia	231		0,925	
	Água residuária	362	L	1.448,0	L
T ₄	Calcário	1,555	g	6,221	kg
	Supersimples	496		1,984	
	Cloreto de Potássio	80		0,319	
	Ureia	173		0,694	
	Água residuária	724	L	2.896,0	L
T ₅	Calcário	1,555	g	6,221	kg
	Supersimples	461		1,845	
	Cloreto de Potássio	66		0,265	
	Ureia	116		0,462	
	Água residuária	1.086	L	4.344,0	L

Tabela 5: Demanda de insumos na área total, e por evento de aplicação, durante o ciclo da cultura.

Insumos	Quantidade Total	Unidade	Aplicações	Quantidade por aplicação	Unidade
Calcário	31,104		1	31,104	
Supersimples	8,211		30	0,274	
Cloreto de Potássio	1,386	kg	30	0,046	kg
Ureia	3,237		30	0,108	
Água residuária	8.688,0	L	30	289,6	L

4.5 Manejo da irrigação

4.5.1 Estimativa da capacidade total de água no solo

A estimativa da capacidade total de água no solo é uma variável relacionada à profundidade efetiva das raízes (Z), sendo essa correspondente a 80% do volume total de raízes com pelos absorventes. Klar (1991) indicou que com relação a esta variável nas pastagens podem variar de 30 a 100 cm. Cunha et al (2010) trabalhando com *B. brizantha* cv. Marandu mensurou para esta variável um valor de 43,1357 cm; e dos teores de água retidos no solo entre as pressões de 1/5 a 15 atm em solo de textura média.

Bernardo et al. (2008) admite que o fator de disponibilidade d'água no solo (f) para as plantas forrageiras varia de 0,3 a 0,7; e o mesmo ainda cita que é comum a adoção de 0,5 para este fator em projetos de irrigação para culturas forrageiras. Assim esse valor foi adotado para efeito de estimação da capacidade real d'água do solo (CRA) que é dado pela equação 2.

Equação 2: $CRA = CTA \times f$

Em que: CRA: Capacidade real d'água do solo (mm de água/cm de solo), CTA: Capacidade total de água no solo (mm de água/cm de solo) e f : Coeficiente de disponibilidade, ($0 < f < 1$)).

O valor estimado da CTA foi de 51,6 mm e valor de f adotado foi de 0,5; logo, o valor da CRA a ser utilizado neste projeto será de 25,8 mm.

4.5.2 Manejo do sistema de irrigação da cultura

Segundo a classificação internacional de Köppen, o clima da região é do tipo C2wA'a' - Clima úmido subúmido com pequena deficiência hídrica, no inverno, evapotranspiração potencial média anual de 1.500 mm, distribuindo-se no verão em torno de 420 mm ao longo dos três meses consecutivos com temperatura mais elevada, apresentando temperatura e precipitação média anual de 27,5° C e 1600 mm respectivamente, e umidade relativa média de 80 % (INMET, 2013).

Para o manejo racional d'água a ser disponibilizado à cultura durante o experimento; desenvolveu-se o balanço hídrico climatológico normal para a

cultura forrageira *B. brizantha*, cv Marandu em Palmas-TO, conforme mostrado na Tabela 3.

A capacidade de água disponível (CAD) foi de 51,6 mm e a disponibilidade total de água do solo (DTA) foi estimada a partir do parâmetro morfológico do solo; conforme a faixa de valores descritas por Bernardo et al. (2008), em que para solos de textura média poderá variar de 0,8 a 1,6 mm/cm do solo.

Para estimar a lâmina total d'água a ser aplicada para elevar o solo à capacidade de campo (CC), adotou-se o valor de 1,2 mm/cm do solo para a DTA; deste modo, a capacidade total d'água no solo (CTA) que é obtida pela equação 3.

Equação 3: $CTA = DTA \times Z$

Em que: CTA: capacidade total d'água no solo (mm de água/cm de solo), DTA: disponibilidade total de água do solo (mm de água/cm de solo) e Z - profundidade efetiva do sistema radicular (cm).

Como a cultura forrageira utilizada neste experimento foi o *B. brizantha* cv. Marandu foi assumida a profundidade efetiva das raízes como sendo de, aproximadamente, 43 cm, deste modo o valor da CTA adotado foi de 51,6 mm.

A aplicação da água residuária iniciou-se no dia 12 de agosto de 2015, quando o capim apresentava cerca de 20 cm. Até o final do período experimental foram realizadas 30 fertirrigações, sendo que as mesmas ocorriam no período matutino e ou vespertino.

O esgoto coletado proveniente do CEULP/ULBRA é produzido por cerca de 6000 discentes, docentes e visitantes. Para a condução dessa água residuária foi necessária uma bomba de 2 cv, utilizada no recalque do efluente, 250 metros de mangueira de 50 mm de diâmetro e dois reservatórios de 1000 litros e outro de 500 litros, onde ficava armazenada a água residuária e a água que era succionada do poço artesiano.

A aplicação da água residuária foi feita através de um regador de 10 litros, sobre as folhas simulando uma microaspersão.

Os fertilizantes utilizados como fontes de N, P e K foram moídos e diluídos na água proveniente do poço artesiano ou mesmo no esgoto para a sua

aplicação, por ser uma maneira prática em virtude da pequena quantidade aplicada.

4.6 Amostragem e caracterização do efluente (água residuária)

Três diferentes amostras de 0,5 L do efluente gerado no CEULP/ULBRA foram coletadas, devidamente acondicionadas em garrafas plásticas e encaminhadas aos Laboratórios do Instituto Federal do Tocantins (IFTO) e ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa para as análises físicas, químicas e microbiológicas. Essas análises foram realizadas de acordo com recomendações descritas no *Standard Methods* (APHA, 2005).

A condutividade elétrica e o pH foram determinados, respectivamente, pelos métodos instrumental e potenciométrico. O método iodométrico e o oxidimétrico foram utilizados, respectivamente, nas análises da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e a demanda química de oxigênio (DQO). Os sólidos totais foram determinados em balança analítica, o nitrogênio pelo método Kjeldahl e os minerais por espectrofotometria.

As contagens de coliformes totais e fecais foram determinadas pelo método do número mais provável (NMP).

4.7 Amostragem, classificação e caracterização das amostras do solo

A coleta de amostras do solo ocorreu em dois períodos distintos. A primeira coleta foi realizada em abril de 2015, antes do plantio do capim e aplicação da água residuária, em quatro pontos distintos (B₁ a B₄) da área experimental e em quatro profundidades (0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm e 90-100 cm) para cada ponto (Figura 1). Essas amostras foram identificadas como B₁P₁ a B₁P₄, B₂P₁ a B₂P₄, B₃P₁ a B₃P₄ e B₄P₁ a B₄P₄ em relação ao local de coleta e às profundidades. Por exemplo, B₁P₁ indica que a coleta ocorreu no ponto B₁ de coleta e na profundidade de 0-10 cm. Após a casualização do experimento, o ponto de coleta B₁ ficou localizado dentro da parcela do sistema de manejo de adubação T₄ que recebeu 40% de água residuária (Tabela 2); o B₂ ficou no tratamento T₃ com 20% de água residuária e os pontos B₃ e B₄ ficaram nos sistemas de manejo de adubação (T₁ e T₂, respectivamente) que não receberam água residuária (Figura 1, Tabela 2).

A segunda coleta foi realizada no final do experimento no mês de fevereiro de 2016. Foram coletadas doze amostras para cada sistema de manejo de adubação (T_1 a T_5), com quatro repetições e em três profundidades (0-10 cm, 10-20 cm e 20-30 cm).

Ambas as coletas foram realizadas com o auxílio de um trado holandês e segundo a metodologia descrita por Raij (2001).

Vinte gramas de solo foram colocados em sacos plásticos escuros e adicionados em caixa de isopor contendo gelo seco. Uma parte dessas amostras foi encaminhada ao Laboratório Zoofértil em Palmas-TO.

A outra parte das amostras foi encaminhada ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Viçosa-MG, para estudo da contagem de células viáveis e da diversidade microbiana por DGGE.

4.7.1 Contagem de microrganismos viáveis

Dez gramas de solo foram adicionados em erlenmeyer contendo 90 mL de solução salina (cloreto de sódio, 0,85 % m/v), conforme descrito por Sabino (2007). Esses frascos foram agitados por uma hora, a 200 rpm. Em seguida esse material foi filtrado em papel filtro. A suspensão obtida foi armazenada a 4 °C. Uma série de diluições (de 10^{-1} a 10^{-7}) a partir de 1 mL da suspensão foi realizado. Cem μ L de cada diluição foram adicionados sobre meio de cultura sólido específico para cada microrganismo e espalhado com auxílio da alça de Drigalski. Esse procedimento foi realizado em triplicatas e as placas foram incubadas a 25 °C.

Para a quantificação de bactérias totais foi utilizado em meio de cultura ágar nutriente (para 1 L: 15 g de ágar, 1,5 g de extrato de carne, 5 g de cloreto de sódio e 5 g de peptona), de acordo com descrito por Sabino (2007). Após a esterilização a 121 °C por 20 min foi adicionado 0,3 mL de nistatina e o pH foi corrigido para 7,0. As placas foram incubadas por 3 dias.

As colônias de actinomicetos foram contadas em meio seletivo, contendo glicerol (para 1 L: 15 g de ágar, 0,3 g de caseína hidrolisada, 10 g de glicerol, 2 g de nitrato de potássio, 2 g de cloreto de sódio, 2 g de fosfato dibásico de potássio, 0,05 g de sulfato de magnésio heptahidratado, 0,02 g de carbonato de cálcio, 0,01 g de sulfato ferroso heptahidratado) (RODRIGUES, 2007). As placas foram incubadas por 7 dias.

O meio Martin (para 1 L: 15 g de ágar, 1 g de fosfato dibásico de potássio, 1 g de sulfato de magnésio, 5 g de peptona e 10 g de glicose) contendo rosa-bengala (0,1 % m/v) foi utilizada para contagem de fungos filamentosos (MARTIN, 1950). Nesse meio foi adicionado ainda 1 mL de estreptomicina (0,03 g/100 mL) e o pH foi ajustado para 5,8. As placas foram incubadas por 7 dias.

Os resultados das contagens microbianas foram expressos em logaritmo da unidade formadoras de colônia (UFC) por grama de solo.

4.7.2 Análise da diversidade microbiana através do perfil de DGGE

A diversidade de bactérias fixadoras de nitrogênio (BFN) e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) foram analisadas pela técnica de DGGE. Esses grupos microbianos foram selecionados para essa análise devido à grande diversidade de espécies e suas importâncias para a fertilidade de solo. Assim fica mais fácil observar possíveis mudanças nessas comunidades microbianas em função da adição de água residuária no solo.

Os genes *nif H* e o 18S rDNA foram inicialmente amplificados pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) a partir do DNA total para análise de BFN e dos FMAs, respectivamente.

O DNA total das amostras do solo foi extraído utilizando o Kit-MO BIO (Ultraclean™ soil DNA isolation), de acordo com as instruções do fabricante. Para isso, 0,5 g de solo foram adicionados em tubos plásticos (tipo Eppendorff) contendo grânulos de polipropileno (*Bead solution tubes*).

Após várias etapas de adição de soluções e centrifugações, conforme o protocolo do fabricante, a suspensão contendo o DNA total foi armazenada a uma temperatura de - 20 °C.

O programa Bionumerics (Versão 5.1) foi utilizado para normalização, conversão e comparação das imagens em matrizes de presença/ausência e intensidade de bandas, nos perfis de DGGE.

4.7.2.1 Perfil de DGGE da comunidade de bactéria fixadora de nitrogênio

Para a amplificação do gene *nif H* foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) 19F (5`GCIWTYTAYGGIAARGGIGG 3`) e 407R (5`AAICCRCCRCAIACIACRTC 3`) (Ueda et al., 1995), o que resultou em um fragmento de 390 pares de base (pb), seguindo do *Nested* PCR com os *primers* 19F-GC (com adição do grampo GC) e do primer 278R (5`GCGCAGCCIACICCGGYTC 3`) (DIREITO & TEIXEIRA, 2002), que produziu um fragmento de 260 pb. A reação do PCR foi realizada num volume total de 50 µL, contendo por reação 1 µL (20,0 ng) de DNA total, 0,2 µM de cada *primers* (19F e 407R ou 19f-C e 278R), 200 µM de desoxidonucleotídeos trifosfatados (dNTP), 2 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), 0,5 mg mL⁻¹ de soro bovino albumina e 1,25 U GO Taq DNA polymerase (Invitrogen, Life Technologies) em 20 mM Tris-HCl, pH 8,4, e 50 mM de cloreto de potássio (KCl).

O programa utilizado no termociclador (Eppendorf) foi semelhante aquele descrito por Direito e Teixeira (2002), que consiste no número de ciclos e temperaturas de desnaturação, anelamento e extensão dos *primers*.

Os controles negativos consistiram de 1 µL de água ultrapura (MilliQ), em substituição à amostra de DNA, para checar a presença de possíveis contaminantes.

O produto do *Nested*-PCR foi analisado por DGGE (Modelo DCode™ Systems - BIO-RAD Califórnia). Uma amostra de 20 µL do produto do *Nested* PCR foi aplicado em gel de poliacrilamida 8 % (m/v) em tampão TAE 1 X. Este gel foi preparado com gradiente desnaturante variando de 45 a 70 % (onde 100 % de desnaturação, significa a concentração de 7M de ureia e 40 % de formamida). O gel foi submetido à eletroforese vertical por 12 h a 60 V à temperatura de 60 °C, e posteriormente corado por 40 min com SYBR Gold (1x) (Molecular Probes, Leiden, The Netherlands) e fotografado sobre luz ultravioleta no fotodocumentador Molecular *Imaging* (Loccus biotecnologic L-Pix Chemi).

Utilizou-se como marcadores externos, o DNA extraído de culturas puras de bactérias diazotróficas: *Pseudomonas fluorescens* (ATCC 14), *Bradyrhizobium elkanii* (BR96), *Bradyrhizobium japonicum* (BR111), *Rhizobium tropici*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia brasiliensis* (BR11340), *Burkholderia sabiae* (BR3405), *Paenibacillus validus*, *Stenotrophomonas*

maltrophila, *Bacillus cereus* (ATCC 3) e *Acinetobacter calcoaceticus* (DA LUZ et al. 2014).

4.7.2.2 Perfil de DGGE da comunidade de fungos micorrízicos arbusculares

As ampliações do PCR foram conduzidas em um termociclador (Mastercycler ep gradient, Eppendorf), utilizando-se as seguintes etapas: um primeiro ciclo de 1 min a 94 °C, 1 min a 66 °C e 1 min e 30s a 72 °C, seguido de mais 30 ciclos de 30s a 94 °C, 1 min a 66 °C e 1 min e 30s a 72 °C e para finalizar com a extensão final de 10 min a 72 °C. Para a confirmação da presença do produto amplificado, 5µL dos produtos das reações de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (0,8% m/v), corado com brometo de etídio, visualizado e fotografados sobre luz ultravioleta no fotodocumentador Molecular Imaging (*Loccus Biotecnologic L-Pix Chemi*).

A mistura do PCR foi constituída de 20,0 ng de DNA total, 0,2 µM de cada oligonucleotídeo, 200 µM de dNTP, 2 mM de MgCl₂, 0,5 mg ml⁻¹ de BSA e 1,25 U GO Taq DNA polimerase (Promega, Madison, USA) em um volume de reação de 50 µL. Os controles negativos consistiram de 1 µL de água MilliQ, em substituição à amostra de DNA.

Os *primers* utilizados para amplificação dos fragmentos correspondentes ao 18S rDNA na primeira reação de PCR foram: AM1(5'-GTTTCCCGTAAGGCGCCGAA-3') (HELGASON et al.,1998), em combinação com o *primer* universal para eucariotos NS31 (5'-TTGGAGGGCAAGTCTGGTGCC-3') (SIMON et al.,1992).

Essa amplificação resultou em fragmentos de DNA de aproximadamente 580 pb. Com a finalidade de se obter um fragmento de DNA menor para realização do DGGE e melhor observação das bandas no gel, foi realizada uma segunda rodada de reações de PCR (*Nested* PCR) onde foram utilizados os *primers* NS31-GC (com grampo GC) (KOWALCHUK et al., 2002) e Glo1 (5'-GCCTGCTTTAAACTCTA) (CORNEJO et al., 2004), empregando-se a mesma reação de mistura anterior. Para a confirmação da presença dos produtos, 5 µL da reação de PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose (1,5% m/v). Esse gel foi corado com brometo de etídio, visualizados e

fotografados sobre luz ultravioleta no fotodocumentador Molecular *Imaging* (*Loccus Biotechnologic* L-Pix Chemi).

Os fragmentos de DNA obtidos pela técnica de *Nested-PCR* foram analisados por DGGE (Modelo *DCode™Systems* - BIO-RAD Califórnia). Uma amostra de 20 µL do produto do *Nested PCR* de 150 a 200 ng de DNA, foi aplicado em gel de poliacrilamida 8% (m/v) em tampão TAE 1 X. Este gel foi preparado com gradiente desnaturante variando de 35 a 50%. O gel foi submetido à eletroforese vertical por 20 h a 60 V à temperatura de 60 °C, posteriormente corado por 40 min com *SYBR Gold* (1x) (Molecular Probes, Leiden, The Netherlands) e fotografado sobre luz ultravioleta no fotodocumentador *Molecular Imaging* (*Loccus Biotechnologic* L-Pix Chemi). Nessas análises foram utilizados como marcadores externos o DNA extraído de culturas puras de *Glomus clarum*, *Acaulospora koskei* (SCT406A), *Acaulospora tuberculata* (SCT250B), *Gigaspora albida* (PRN201A), *Gigaspora decipiens* (SCT304A) e *Scutellospora heterogama* (PNB102A) obtidas da Coleção Internacional de Culturas de Glomeromycota da Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, SC.

4.7.3 Amostragem e caracterização das amostras da planta

A avaliação da composição químico-bromatológica de uma planta forrageira fertirrigada com água residuária é fundamental para avaliar o seu desempenho agrônômico e a sua capacidade de absorção de nutrientes do solo.

Os cortes foram realizados nos dias 13 de novembro de 2015, 04 de janeiro de 2016 e 23 de fevereiro de 2016.

O primeiro corte ocorreu após 140 dias da semeadura das sementes do capim. Embora, a forrageira tenha sido irrigada, o plantio ocorreu em um período de seca na região, sendo necessários cerca de trinta dias para a germinação das sementes. O segundo corte ocorreu 50 dias após o primeiro e o terceiro 50 dias após o segundo. Os cortes foram realizados a uma altura de mais ou menos 10 cm do solo.

Após a realização do corte com o auxílio de uma tesoura de poda, pesou-se a massa verde produzida em cada uma das parcelas nos diferentes sistemas de manejo de adubação.

Para minimizar o efeito bordadura utilizou-se de uma quadrícula de madeira de 40 x 40 cm, para que dessa subparcela fosse determinada os teores de massa seca. As amostras dessas subparcelas foram pesadas em uma balança analítica para a determinação da massa seca em estufa (Figura S1).

Após a obtenção da massa verde, as amostras foram colocadas em estufa a 65 °C, com ventilação forçada por um período de 72 horas para a perda de umidade. Após resfriamento a temperatura ambiente (25 ± 5 °C) essas amostras foram novamente pesadas até o peso constante, com isso determinou-se a matéria seca ao ar (MAS).

As amostras pré-secas foram submetidas à moagem em um moinho tipo Willey (Figura S1), para as análises químicas foliares, quantificação das concentrações dos nutrientes: N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Cu, Fe, Mn, Na, Co, Mo e B e determinação do extrato etéreo, fibra detergente ácida (FDA) e fibra detergente neutra (FDN).

Para a determinação de teores de minerais e nitrogênio as amostras vegetais foram submetidas inicialmente a uma digestão nítrico-perclórico (TEDESCO et al., 1985). Para isso, em 1 g de amostra foi adicionado 5 mL de uma solução de ácido nítrico e ácido perclórico (3:1 v:v). Essa mistura foi incubada a 200 °C por duas horas.

A quantificação de N foi realizada pelo método Kjeldahl e a quantificação de P, K e Na foram feitas por espectrofotometria e fotometria de emissão de chama. A concentração dos demais minerais foi determinada em espectrofotometria por emissão de plasma, de acordo com as técnicas descritas pela Embrapa (1999).

Para a determinação do teor de matéria seca em estufa (MSE), as amostras pré-secadas (MAS) foram colocadas numa estufa sob uma temperatura de 105 °C, até a estabilização de seu peso.

O teor de cinzas foi determinado em mufla a 550°C utilizando o MSE.

Todas as análises, descritas previamente, foram realizadas segundo os métodos oficiais reconhecidos pelo Ministério da Agricultura e seguido a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists* (1990).

4.8 Análises estatísticas

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 5 sistemas de manejo de adubação e 4 repetições, conforme mostrado nas Tabelas 2, 4 e 5.

As análises estatísticas das amostras do solo e do capim foram realizadas separadamente, sendo utilizado o DIC para as primeiras e o DIC em um esquema fatorial 5 x 3 para as amostras do capim. O fatorial correspondeu a cinco diferentes doses de água residuária aplicadas (Tabela 2) e três cortes.

As quantificações de microrganismos viáveis foram comparadas utilizando a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey, ambos a 5 % de significância. Para produtividade da massa seca foi realizada também ANOVA seguida de uma análise de regressão ao nível de 5%.

Essas análises foram realizadas utilizando a versão experimental e gratuita do software Minitab 17 (2016) disponibilizado no portal eletrônico <http://www.onthehub.com/minitab/>. Os procedimentos dessas análises utilizando esse software foram adicionados nos anexos dessa tese.

As análises de agrupamentos e de componente principal das amostras de solo e da planta foram realizadas no software Sigma Plot (versão 13 demonstração, 2016).

Os perfis de DGGE obtidos foram analisados e comparados no programa Bionumerics (Versão 5.1), onde foram alinhados de acordo com os marcadores externos. Foram identificadas as bandas e as áreas de cada uma delas foram quantificadas em relação à área total da amostra, permitindo assim normalização e comparações delas. Assim, foram construídos os dendogramas utilizando o índice de similaridade de Jaccard pelo método hierárquico aglomerativo (UPGMA) que corresponde à distância média ponderada das bandas presentes no DGGE. Foram consideradas bandas similares aquelas com nível de probabilidade de 0,5% pelo teste *post-hoc* de Bonferroni.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do efluente (água residuária)

A composição química da água residuária foi bastante diversificada com maiores teores de nitrogênio, potássio e fósforo (Tabela 6). Os teores desses nutrientes mostram o potencial de utilização dessa água na fertirrigação. Entretanto, o manejo da aplicação da água residuária sobre o solo é importante, pois o maior teor de nitrogênio se encontra na forma de amônia que apresenta alta taxa de evaporação (Tabela 6).

Tabela 6: Propriedade física, química e contagem de coliformes da água residuária utilizada para o plantio de capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu.

Propriedades	Quantidade	Unidade
Condutividade elétrica	634	$\mu\text{S cm}^{-1}$
pH	8,10	-
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	86,80	
Demanda química de oxigênio (DQO)	213,30	
Sólido totais	298,00	
Nitrogênio total	74,58	
Nitrogênio orgânico	29,62	
Nitrito	1,23	
Nitrato	3,42	
Amônia	40,31	
Cloro	4,56	
Cádmio	7,43	mg L ⁻¹
Cobre	0,43	
Ferro	3,45	
Alumínio	0,54	
Manganês	0,03	
Magnésio	0,02	
Enxofre	0,92	
Cálcio	0,22	
Fósforo	7,43	
Sódio	5,83	
Potássio	18,60	
Coliformes fecais	$1,85 \times 10^{-7}$	NMP/100 mL
Coliformes totais	$2,50 \times 10^{-6}$	

Os teores de nitrogênio total, fósforo e potássio (Tabela 6) foram utilizados para determinar a proporção de água residuária em relação ao adubo comercial a ser aplicada nos diferentes manejos (Tabelas 2, 4 e 5).

Segundo Kong et al., (2015) a composição do esgoto pode variar em função do local de coleta, clima e situação econômica e social da população. O teor de fósforo descrito para esgoto bruto segundo Metcalf e Eddy (2003) é de 4 a 12 mg. L⁻¹. Os mesmos autores relatam os níveis de 20 a 70 mg L⁻¹, de nitrogênio total, logo a água residuária analisada neste estudo apresentou teores desse elemento um pouco acima (Tabela 6). Quanto ao teor de K, Pescod (1992) descreve uma concentração de 30 mg L⁻¹ a qual é maior que a obtida na água residuária do CEULP/ULBRA (Tabela 6).

Os valores da demanda bioquímica de oxigênio (DBO) e da demanda química de oxigênio (DQO) estão abaixo dos valores descritos por Metcalf e Eddy (2003) e Araújo et al. (2010) que são de 110 e 250 mg L⁻¹, para esgoto bruto de baixa concentração, atingindo 350 e 800 mg L⁻¹. Entretanto, a razão DBO/DQO encontrada no efluente utilizado nesse estudo é semelhante àquela obtida para esgoto doméstico (SIMÕES et al., 2013).

O teor de sódio encontrado está abaixo daquele descrito por Von Sperling (2006), que é de 40 mg L⁻¹. Assim, a possibilidade de salinização e ou sodificação do solo e do lençol freático (FONSECA et al., 2001, GLOAGUEN et al., 2010) são mínimas na utilização desse efluente doméstico do CEULP/ULBRA no plantio do capim Marandu.

A condutividade elétrica (CE) é a capacidade da água de conduzir corrente elétrica, sendo variável de acordo com os íons presentes em solução (SILVA, 2004).

Segundo Bernardo et al. (2008), a classificação das águas quanto ao risco de salinização do solo é dividida em baixo nível - C1 (CE < 0,25 μS. cm⁻¹), médio nível - C2 (CE de 250 a 750 μS.cm⁻¹), alto-nível - C3 (CE de 750 a 2250 μS.cm⁻¹) e muito alto nível -C4 (CE maior que 2250 μS.cm⁻¹), sendo assim a água residuária utilizada se enquadra na classe C2, de média salinidade. Além disso, o alumínio (Tabela 6) também apresentou baixas concentrações reduzindo assim a possibilidade de contaminação do solo com esse mineral.

O pH da água residuária foi básico (Tabela 6) o que contribui juntamente com a calagem para a correção do pH do solo e mantê-lo favorável à germinação da semente e crescimento da plântula.

A água residuária apresentou contagens de coliformes totais e fecais (Tabela 6). Esses valores encontrados são menores que aqueles mostrados por

Araújo et al. (2010) e Filho e Silva (2008) e semelhantes aos obtidos em esgoto doméstico oriundo de um tanque séptico (FONSECA, 2007). A possibilidade de contaminação do solo e da planta por esses patógenos serão discutidas posteriormente durante os resultados das análises do solo após os cortes do capim.

5.2 Caracterização física e química das amostras do solo antes da fertirrigação

De acordo com os dados observados dos pontos amostrados na área experimental, as frações granulométricas, argila, limo e areia, não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) ao longo da área e em profundidade; mas apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 7). Os valores médios mensurados para as frações argila, limo e areia, classifica o solo dessa área experimental como franco argilo arenoso, com textura média, de acordo com a Embrapa (1999).

Com exceção do índice de saturação de bases, pH e areia todas as outras variáveis físico-químicas analisadas nas amostras do solo reduziram teores em função da profundidade (Tabela 7). Na superfície o pH foi mais ácido que nas profundidades acima de 20 cm. Isso pode ser devido os maiores teores de matéria orgânica e minerais na profundidade de 0-10 cm. Além disso, existe uma correlação linear positiva ($r^2 = 0,8795$) entre a saturação de base e o pH em função da profundidade. Segundo Ronquim (2010), o pH do solo do Cerrado medido em cloreto de cálcio apresenta característica levemente ácida e pode variar em função do local, tempo e profundidade da coleta das amostras. Os solos de seis lavouras no sistema plantio direto também apresentaram pH mais ácido na superfície quando comparado com a profundidade de 20 cm (NICOLODI et al., 2008).

Na superfície, profundidade de 0-10 cm, os pontos de coletas apresentaram diferentes distribuições das propriedades físico-químicas, com poucas sobreposições (Figura 3). Isso demonstra a característica heterogênea do solo. A distribuição desigual de nutrientes no solo tem sido relatada em vários estudos (PAVINATO % ROSOLEM, 2008, NICOLODI et al., 2008, RONQUIM, 2010).

Tabela 7: Propriedades físicas e químicas das amostras do solo antes do plantio de capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu.

Variáveis		Pontos de coleta*															
		B ₁				B ₂				B ₃				B ₄			
		Profundidade															
		P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
pH (CaCl ₂)		4,2	4,3	4,3	5,1	4,5	4,5	4,6	5,1	4,4	4,5	4,5	5,1	4,2	4,2	4,2	5,1
Argila	%	44	42	40	37	37	40	32	37	30	37	40	28	32	30	37	37
Areia		45	48	52	55	55	52	60	55	63	55	52	65	60	63	55	55
Limo		11	10	8	8	8	8	8	8	7	8	8	7	8	7	8	8
Ca	cmolc/dm ³	1	1	0,7	0,6	1,1	0,8	0,7	0,7	0,7	0,9	0,6	0,8	0,9	0,8	0,8	0,6
Mg		0,8	0,7	0,5	0,4	0,8	0,5	0,4	0,4	0,6	0,7	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	0,4
Al		0,9	0,6	0,4	0,1	0,2	0	0	0	0,3	0,3	0,3	0,1	0,4	0,5	0,4	0
H+Al		9,8	8	8	2,8	5,2	5,5	5	2,5	7,2	6,8	5,2	2,8	8,4	9,3	8	2,9
K		0,07	0,06	0,04	0,03	0,05	0,03	0,02	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,05	0,05	0,02
CTC		11,67	9,76	9,24	3,83	7,15	6,83	6,12	3,64	8,54	8,44	6,25	4,24	9,94	10,75	9,45	3,92
Matéria orgânica		g/dm ³	40	43	30	8	14	14	13	9	30	29	18	9	30	22	26
Saturação de bases	%	16,02	18,03	13,42	26,89	27,27	19,47	18,3	31,32	15,69	19,43	16,8	33,96	15,49	13,49	15,34	26,02
Saturação de Al		32,49	25,42	24,39	8,85	9,3	0	0	0	18,29	15,46	22,22	6,49	20,62	25,64	21,62	0
Na	mg/dm ³	2,00	2,00	2,0	2,0	2,00	2,00	3,00	3,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Zn		0,20	2,90	1,30	2,10	0,30	2,30	0,70	2,40	0,20	1,00	1,80	0,90	0,80	0,40	2,30	10,0
B		0,23	0,19	0,14	0,28	0,23	0,19	0,23	0,19	0,23	0,28	0,19	0,23	0,14	0,28	0,19	0,23
Cu		0,30	0,20	0,20	0,30	0,20	0,20	0,30	0,30	0,30	0,20	0,50	0,30	0,60	0,60	0,20	0,20
Fe		120,00	62,80	38,40	30,20	41,90	44,20	35,90	31,00	53,90	51,40	37,10	27,40	61,60	63,10	58,50	29,60
Mn		5,40	3,60	2,70	1,00	2,20	2,20	0,20	0,30	2,90	1,80	2,00	1,20	1,70	0,90	1,10	0,30
K		26	24	14	11	21	12	9	15	14	15	19	14	17	18	19	7
P (Melich)		1,5	1,5	1,2	0,8	1,2	0,8	0,8	1,5	1,2	1,5	1,2	1,2	1,5	1,5	1,5	1,2

* Os valores desta tabela representam a média de 4 repetições. Esses valores foram comparados pela análise de variância (Anova) seguida do teste de Tukey a 5% probabilidade. Os resultados dessas análises estatísticas estão apresentados no texto indicados, pelo nível significativo $p < 0,05$.

Há uma sobreposição na matéria orgânica, Mg e K do ponto de coleta B₃ e B₄. Assim, o ponto B₁ se assemelha mais com o B₂ e o B₃ com o B₄ (Figura 3). Esses agrupamentos podem ser devido à proximidade entres os pontos, B₁ está mais próximo de B₂ que de B₃ e B₄ (Figura 3). Além disso, esses agrupamentos mostram a importância da casualização dos manejos.

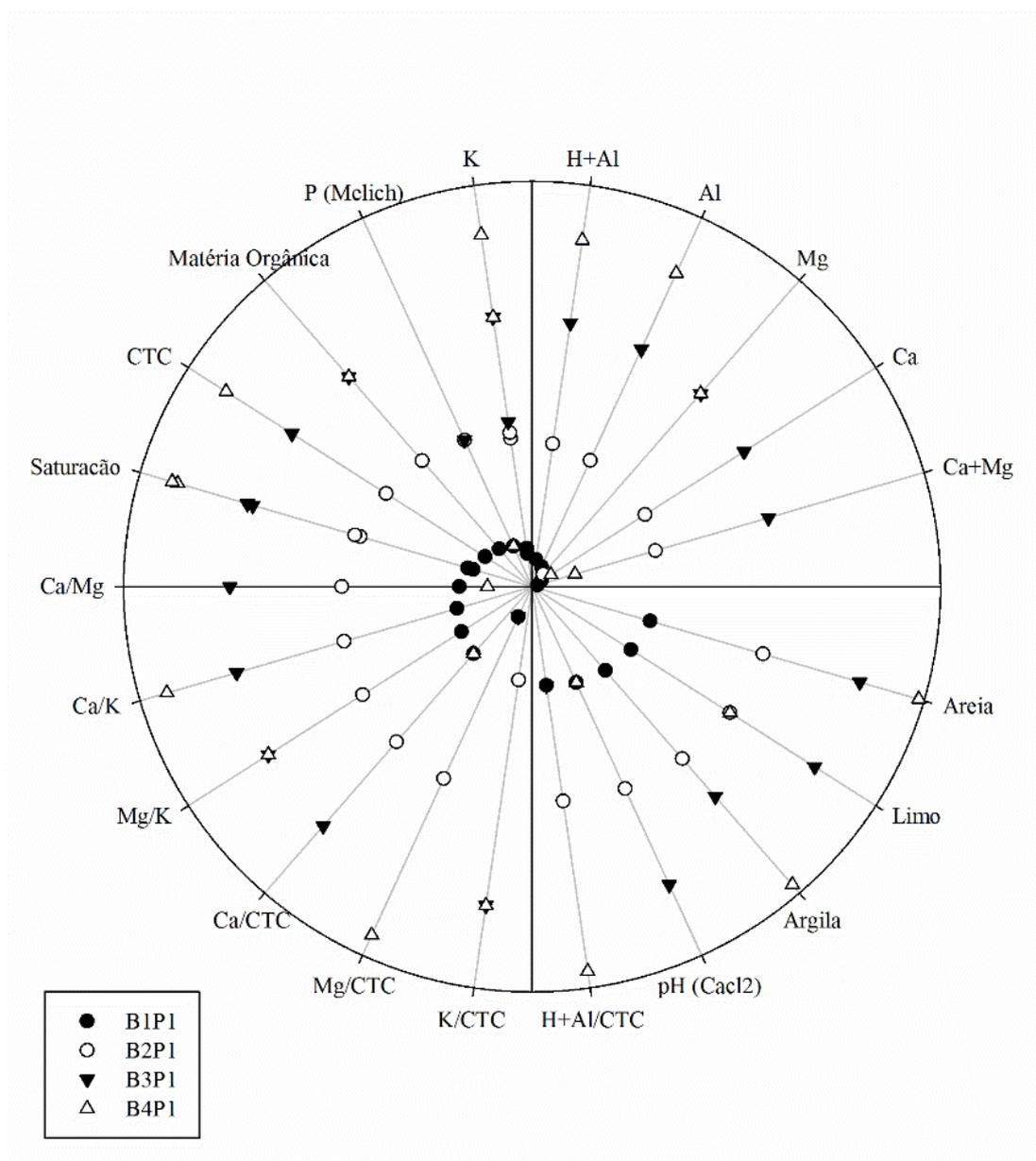


Figura 3: Agrupamentos das propriedades físico-químicas das amostras do solo que foi utilizado para o plantio de capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu, fertirrigado com águas residuárias domésticas em função do ponto de coleta.

5.3 Caracterização física e química das amostras do solo após a fertirrigação

As propriedades físicas e químicas das amostras de solo após a fertirrigação estão mostradas nas tabelas 8A e 8B. Os valores de cada variável em cada tratamento e profundidades estão apresentados em média de quatro repetições e mais ou menos um desvio-padrão.

Comparando as amostras antes (Tabela 7) e após a fertirrigação (Tabelas 8A e 8B), houve um aumento significativo na saturação de base e uma redução significativa na saturação de alumínio ($p < 0,05$), quando comparado as profundidades do manejo 1 (Tabela 8A). Não foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) nos teores de fósforo (Tabelas 7, 8A e 8B). De acordo com Koura et al. (2002) devido à dinâmica muito lenta do solo são necessários vários anos de irrigação com águas residuárias, para que ocorra mudanças nas características químicas do solo. Entretanto, vários autores têm relatado alterações nos teores de fósforo, matéria orgânica, magnésio, cálcio e outros elementos após aplicação de esgoto no solo em apenas um ciclo de cultivo (FONSECA, 2001, AZEVEDO & OLIVEIRA, 2005, DUARTE et al., 2008). Isso mostra que as alterações nas propriedades físicas e químicas do solo dependem do tempo de aplicação, do tipo de cultura utilizada e das características do solo e do efluente. Nesse experimento também não foram observadas alterações significativas na porcentagem de argila, areia e limo após a fertirrigação do capim (Tabelas 7, 8A e 8B).

Independente do sistema de manejo de adubação após a fertirrigação o solo permaneceu ácido nas profundidades estudadas (Tabelas 7, 8A e 8B). Isso mostra que a aplicação da água residuária não alterou o pH do solo quando comparado os sistemas de manejo de adubação que receberam nível crescente de efluente (T_3 , T_4 e T_5) com aqueles que não receberam (T_1 e T_2). Duarte et al (2008) também não constataram diferença significativa do pH do solo antes e após a aplicação de água residuária no solo.

Tabela 8A: Propriedades físicas e químicas das amostras do solo após a fertirrigação do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu

Variáveis	Sistemas de manejo de adubação								
	T1			T2			T3		
	Profundidade (cm)								
	0-10	10 - 20	20-30	0-10	10 - 20	20-30	0-10	10 - 20	20-30
pH (CaCl₂)	5,00 ± 0,71	4,65 ± 0,43	4,55 ± 0,24	4,57 ± 0,68	4,3 ± 0,22	4,25 ± 0,13	4,82 ± 0,43	4,57 ± 0,31	4,42 ± 0,10
Argila	36,5 ± 9,85	40,25 ± 5,62	46,5 ± 1,73	36 ± 4,00	39,25 ± 2,06	44,75 ± 6,95	30,5 ± 4,04	34 ± 6,00	40,25 ± 10,69
Areia %	41,5 ± 8,96	39 ± 6,00	33 ± 2,00	45,5 ± 7,14	40,75 ± 5,62	37,25 ± 8,77	50 ± 2,00	46 ± 10,68	38,5 ± 10,21
Limo	22 ± 2,16	20,75 ± 2,06	20,5 ± 1,73	18,5 ± 4,04	20 ± 4,24	18 ± 3,56	19,5 ± 3,32	20 ± 6,98	21,25 ± 2,99
Ca	2,85 ± 1,82	1,9 ± 1,42	0,85 ± 0,48	1,525 ± 1,46	0,75 ± 0,37	0,45 ± 0,10	2,15 ± 1,31	1,275 ± 1,02	0,575 ± 0,33
Mg	1,275 ± 1,21	0,625 ± 0,43	0,375 ± 0,22	0,7 ± 0,87	0,375 ± 0,29	0,2 ± 0,00	1,1 ± 0,77	0,575 ± 0,49	0,3 ± 0,22
Al	0,075 ± 0,15	0,075 ± 0,15	0,025 ± 0,05	0,15 ± 0,13	0,275 ± 0,13	0,175 ± 0,10	0,025 ± 0,05	0,075 ± 0,05	0,075 ± 0,05
H+Al	5,15 ± 2,54	5,75 ± 1,95	5,25 ± 1,12	5,4 ± 1,81	6,175 ± 1,07	6,3 ± 1,15	5,3 ± 1,41	4,9 ± 1,10	4,9 ± 1,16
K	0,053 ± 0,02	0,041 ± 0,01	0,034 ± 0,01	0,037 ± 0,00	0,041 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,037 ± 0,00	0,0348 ± 0,00	0,031 ± 0,01
CTC	9,325 ± 0,88	8,3 ± 0,85	6,475 ± 0,80	7,625 ± 1,34	7,325 ± 0,72	6,975 ± 1,07	8,55 ± 0,77	6,75 ± 1,52	5,775 ± 1,46
Matéria Orgânica g/kg	2,70 ± 0,00	2,70 ± 0,57	1,975 ± 0,29	2,5 ± 0,40	2,6 ± 0,20	2,15 ± 0,17	2,8 ± 0,50	2,8 ± 0,60	2,325 ± 0,29
Sat. base %	44,43 ± 26,40	31,45 ± 19,22	19,75 ± 9,79	27,8 ± 24,88	16,13 ± 9,37	10,35 ± 2,97	37,23 ± 20,12	26,3 ± 15,87	15,43 ± 7,41
Sat. Al	5,45 ± 10,90	7,125 ± 14,25	3,375 ± 6,75	11,3 ± 9,03	22,3 ± 12,18	19,65 ± 9,53	0,775 ± 1,55	6,2 ± 4,28	11,33 ± 9,66
Na	1,5 ± 0,58	2 ± 0,82	1,5 ± 0,58	1,25 ± 0,50	1,5 ± 0,58	1,5 ± 0,58	1,25 ± 0,50	2 ± 0,82	1,5 ± 0,58
Zn	3,375 ± 3,39	0,775 ± 0,31	0,775 ± 0,79	0,975 ± 0,13	0,875 ± 0,21	0,875 ± 0,10	1,1 ± 0,18	1,15 ± 0,06	1,15 ± 0,47
B	0,275 ± 0,05	0,2 ± 0,08	0,25 ± 0,06	0,25 ± 0,06	0,225 ± 0,10	0,225 ± 0,05	0,25 ± 0,06	0,275 ± 0,05	0,2 ± 0,08
Cu	0,1 ± 0,00	0,15 ± 0,06	0,1 ± 0,00	0,175 ± 0,05	0,125 ± 0,05	0,125 ± 0,05	0,125 ± 0,05	0,175 ± 0,05	0,1 ± 0,00
Fe	46 ± 6,48	41,25 ± 9,98	26 ± 4,69	34,75 ± 4,86	33,5 ± 3,87	25,5 ± 4,43	42 ± 8,29	34 ± 13,74	24,25 ± 11,59
Mn	6,25 ± 2,75	3,75 ± 2,06	2 ± 1,15	2,75 ± 0,96	4,25 ± 1,50	3 ± 1,63	17,75 ± 21,70	11 ± 13,04	2,5 ± 1,00
K	20,5 ± 6,61	16 ± 3,27	13 ± 2,00	14,5 ± 1,91	16 ± 3,65	19,5 ± 8,70	14,5 ± 1,00	13,5 ± 1,91	12 ± 2,83
P (Melich I)	1,5 ± 0,58	1,25 ± 0,50	1 ± 0,00	2,5 ± 1,00	1,5 ± 0,58	2,25 ± 0,96	1,75 ± 0,96	1,5 ± 0,58	1,5 ± 0,58

Sat.base = Saturação de base, Sat. Al = Saturação de Alumínio. * Os valores desta tabela representam a média de 4 repetições. Esses valores foram comparados pela análise de variância (Anova) seguida do teste de Tukey a 5% probabilidade (veja os anexos). Os resultados dessas análises estatísticas estão apresentados no texto indicado pelo nível significativo $p < 0,05$.

Tabela 8b: Propriedades físicas e químicas das amostras do solo após a fertirrigação do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu.

Variáveis	Sistemas de manejo de adubação								
	T4						T5		
	Profundidade (cm)								
	0-10		10 - 20		20-30		0-10		10 - 20
pH (CaCl₂)	5,00 ± 0,87	4,8 ± 0,78	4,625 ± 0,50	5,00 ± 0,62	5,00 ± 0,6	4,85 ± 0,66			
Argila	27 ± 0,00	35,75 ± 3,95	42 ± 4,24	32,25 ± 5,85	38,5 ± 1	44,75 ± 6,02			
Areia	50 ± 3,46	40,75 ± 5,62	35 ± 2,00	41,75 ± 6,45	33,25 ± 3,4	32 ± 7,53			
Limo	23 ± 3,46	23,5 ± 1,73	23 ± 4,69	26 ± 2,16	28,25 ± 3	23,25 ± 6,99			
Ca	2,7 ± 2,35	1,65 ± 1,65	0,975 ± 1,02	1,875 ± 1,81	2,375 ± 1,7	1,825 ± 1,66			
Mg	0,975 ± 1,03	0,5 ± 0,38	0,45 ± 0,38	0,675 ± 0,57	0,775 ± 0,5	0,55 ± 0,45			
Al	0,1 ± 0,14	0,05 ± 0,06	0,125 ± 0,10	0,05 ± 0,10	0,025 ± 0,1	0,075 ± 0,10			
H+Al	3,35 ± 2,06	3,6 ± 1,88	3,05 ± 1,66	2,75 ± 1,26	2,925 ± 1,3	2,575 ± 0,79			
K	0,042 ± 0,01	0,069 ± 0,07	0,04 ± 0,01	0,042 ± 0,01	0,0398 ± 0	0,036 ± 0,01			
CTC	7,05 ± 1,77	5,8 ± 1,43	4,5 ± 1,49	5,325 ± 2,11	6,1 ± 0,6	4,95 ± 1,63			
Matéria Orgânica	31 ± 3,27	28 ± 3,83	26 ± 3,83	32 ± 2,00	27 ± 5,7	24,25 ± 4,72			
Sat. base	49,05 ± 36,25	37,05 ± 28,84	32,05 ± 24,40	42,83 ± 25,12	50,45 ± 26	43,625 ± 24,81			
Sat. Al	8,275 ± 12,44	5,975 ± 6,90	14 ± 11,65	2,875 ± 5,75	2,175 ± 4,4	4,5 ± 7,14			
Na	1,25 ± 0,50	1,25 ± 0,50	1,5 ± 0,58	1,25 ± 0,50	1,25 ± 0,5	1,25 ± 0,50			
Zn	1,2 ± 0,41	1,15 ± 0,10	0,925 ± 0,34	4,3 ± 2,83	3,775 ± 2,6	4,9 ± 1,30			
B	0,225 ± 0,05	0,25 ± 0,06	0,175 ± 0,05	0,3 ± 0,00	0,225 ± 0,1	0,2 ± 0,00			
Cu	0,15 ± 0,06	0,125 ± 0,05	0,1 ± 0,00	0,1 ± 0,00	0,125 ± 0,1	0,125 ± 0,05			
Fe	36 ± 3,74	34 ± 8,12	24,75 ± 3,59	35,75 ± 7,14	30,75 ± 4,3	22,5 ± 4,43			
Mn	20,25 ± 14,03	7 ± 3,46	10 ± 12,08	7,75 ± 2,63	8 ± 0	6,25 ± 2,99			
K	16,5 ± 5,26	27 ± 28,77	15,5 ± 4,73	16,5 ± 3,42	15,5 ± 4,1	14 ± 2,83			
P (Melich I)	2,75 ± 0,96	2,25 ± 1,26	1,5 ± 0,58	2,75 ± 0,50	1,75 ± 1,6	2,25 ± 0,50			

Sat. base = Saturação de base, Sat. Al = Saturação de Alumínio. * Os valores desta tabela representam a média de 4 repetições. Esses valores foram comparados pela análise de variância (Anova) seguida do teste de Tukey a 5% probabilidade (veja os anexos). Os resultados dessas análises estatísticas estão apresentados no texto indicado, pelo nível significativo $p < 0,05$.

Os teores de matéria orgânica foram maiores nos sistemas de manejo de adubação que receberam água residuária, independente da profundidade (Tabelas 8A e 8B). Assim pode-se concluir que houve infiltração do efluente nas camadas mais profundas do solo. A presença de matéria orgânica no solo é um fator importante para a fertilidade (ALDERSON et al., 2015, BATASTONE et al., 2015, MALAFAIA et al., 2016).

Embora tenha observado infiltração do efluente no solo, não houve diferença significativa ($p < 0,05$) nas concentrações de fósforo e sódio quando comparado às profundidades dos sistemas de manejo de adubação que receberam água residuária (Tabela 8B). Esses resultados são relevantes, pois demonstram o baixo risco de salinização e eutrofização do solo utilizado após aplicação do efluente, a curto prazo.

Silva et al. (2012) concluíram que a fertirrigação de capim Mombaça com esgoto doméstico não proporciona dispersão de argila nas diferentes profundidades do solo, entretanto proporciona aumento, ao longo do tempo de sua aplicação, nos teores de Na^+ trocável, além de significativa lixiviação de nitrato no perfil do solo.

5.4 Análises microbiológicas das amostras do solo

5.4.1 Contagem de microrganismos viáveis antes da fertirrigação

A água residuária utilizada nesse estudo não apresentou contagem significativa ($p < 0,05$) de fungos e actinomicetos (Tabela 9). Entretanto, foi observado contagem de células viáveis de bactérias (Tabela 9), que pode ser atribuído à presença de coliformes nesse efluente (Tabela 6).

Essas bactérias podem apresentar nichos ecológicos distintos, geralmente em águas residuárias domésticas há predominância de coliformes e no solo as rizobactérias promotoras de crescimento vegetal, incluindo as bactérias diazotróficas, estão em maior concentração (WARTIAINEN et al., 2008). Segundo Dionísio (2006), as bactérias são os principais microrganismos presentes no efluente da estação de tratamento de esgoto de Curitiba/PR.

Tabela 9: Contagem em placa de microrganismos viáveis do solo antes do plantio do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu e utilização da água residuária.

Amostras	Actinomicetos	Bactérias	Fungos
	Log (UFC g ⁻¹)		
Água residuária	-a	7,29 ± 0,03	-a
B ₁ P ₁	6,21 ± 0,01	7,44 ± 0,01	5,15 ± 0,03
B ₁ P ₂	6,02 ± 0,01	7,37 ± 0,01	4,92 ± 0,01
B ₁ P ₃	5,64 ± 0,01	6,95 ± 0,01	-a
B ₁ P ₄	-a	6,69 ± 0,03	-a
B ₂ P ₁	6,25 ± 0,01	7,45 ± 0,01	5,04 ± 0,04
B ₂ P ₂	6,10 ± 0,01	7,37 ± 0,01	4,86 ± 0,02
B ₂ P ₃	5,50 ± 0,03	6,97 ± 0,01	-a
B ₂ P ₄	-a	6,68 ± 0,04	-a
B ₃ P ₁	6,24 ± 0,01	7,44 ± 0,01	5,05 ± 0,01
B ₃ P ₂	6,08 ± 0,01	7,36 ± 0,01	4,79 ± 0,02
B ₃ P ₃	5,49 ± 0,04	6,96 ± 0,01	-a
B ₃ P ₄	-a	6,67 ± 0,05	-a
B ₄ P ₁	6,28 ± 0,01	7,43 ± 0,01	5,10 ± 0,06
B ₄ P ₂	6,14 ± 0,01	7,36 ± 0,01	4,89 ± 0,01
B ₄ P ₃	5,55 ± 0,03	6,93 ± 0,01	-a
B ₄ P ₄	-a	6,65 ± 0,04	-a

a- valores abaixo de 25 colônias. UFC – Unidade formadora de colônia.

B₁P₁ – ponto de coleta 1 e profundidade 1 (0-10 cm), B₂P₂ – ponto de coleta 2 e profundidade 2 (10-20 cm), B₃P₃ – ponto de coleta 3 e profundidade 3 (20-30 cm) e B₄P₄ – ponto de coleta 4 e profundidade 4 (90-100 cm). Os valores desta tabela representam a média de 4 repetições mais ou menos um desvio padrão. Esses valores foram comparados pela análise de variância (Anova) seguida do teste de Tukey a 5% probabilidade (veja os anexos). Os resultados dessas análises estatísticas estão apresentados no texto, indicados pelo nível significativo $p < 0,05$.

A contagem de microrganismos viáveis nas amostras do solo antes da fertirrigação foi influenciada pela profundidade e pelo grupo microbiano (Tabela 9). Independente da profundidade, a comunidade de bactérias foi maior que a de fungos filamentosos. Esse predomínio da comunidade bacteriana em relação à de fungos também foi observada no solo sob vegetação nativa localizado na região Sul do país (MORGANA et al., 2013). Esses mesmos autores ressaltam que a contagem de microrganismos do solo pode variar de acordo com as técnicas empregadas, profundidade da coleta e o meio de cultura cultivado. Entretanto, não foi observada diferença ($p < 0,05$) na contagem de bactérias viáveis entre os pontos de coleta e nas profundidades de 0 a 10 cm e de 10 a 20

cm (Tabela 9). Isso mostra que a contagem de células microbianas pode ser mais influenciada pela técnica e pelo meio de cultura.

A contagem de células bacterianas e fúngicas antes da fertirrigação são semelhantes aos resultados obtidos em outros estudos com amostras de solo (MORGANA et al., 2013).

Apenas a comunidade de bactérias foi observada em todas as profundidades (Tabela 9). Esse grupo de microrganismos apresentam espécies aeróbicas, anaeróbicas obrigatórias e facultativas, além de espécies fixadoras de nitrogênio que justifica a grande dispersão desses microrganismos (DUNBAR et al., 2002, VÁZQUEZ et al., 2000, ZEHR et al., 2003). Além disso, a atividade microbiana de seis solos argilosos foi maior na superfície, quando comparada com a profundidade de 60 cm mostrando que as bactérias estão presentes em várias profundidades do solo (VALE JÚNIOR, 2011).

Os actinomicetos somente não formaram colônias na profundidade de 90 a 100 cm (Tabela 9). A ausência de colônia nessa profundidade pode ser devido à limitação de nutrientes. Segundo Silva et al. (2002) a maior comunidade de actinomicetos é encontrada no rizoplane. Além disso, os actinomicetos que são atualmente classificadas no Domínio Bactéria, também contêm espécies que são fixadoras de nitrogênio (DUNBAR et al., 2002, STACKEBRANDT et al., 1997). Devido à limitação de nutriente e oxigênio, também não foram observadas colônias de fungos nas profundidades de 20 a 30 cm e de 90 a 100 cm (Tabela 9). Os fungos são encontrados principalmente nas profundidades que compreende a região da rizosfera (POZO & AZCÓN-AGUILAR, 2007, SMITH et al. 2010, NEERAJ, 2011, SILVA et al., 2011).

Comparando os pontos de coletas dentro de cada profundidade (Tabela 9) não foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) na contagem de microrganismos viáveis, o que significa uma homogeneidade da área em relação às comunidades microbianas. A profundidade é o fator determinante para diferenças entre os grupos microbianos (Tabela 9).

5.4.2 Contagem de microrganismos viáveis após a fertirrigação

Uma redução na contagem de células microbianas em função da profundidade e a contagem de células bacterianas maior que a de actinomicetos e fungos foram observadas nas amostras do solo antes e após a fertirrigação

(Tabelas 9 e 10). Como já mencionado essa redução pode ser devido à limitação de nutriente e água nas camadas mais profundas do solo. A maior quantidade de células bacterianas pode ser devido à característica fisiológica desse grupo microbiana que tem crescimento unicelular, enquanto actinomicetos e fungos filamentosos apresentam a formação de filamentos (MADIGAN et al., 2010).

Tabela 10: Contagem em placa de microrganismos viáveis do solo após o plantio do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu e utilização da água residuária.

Sistemas de manejo de adubação	Profundidade (cm)	Actinomicetos	Bactérias	Fungos
		Log (UFC g ⁻¹)		
T ₁	0-10	7,13 ± 0,03	8,80 ± 0,09	6,64 ± 0,01
	10-20	6,83 ± 0,03	8,20 ± 0,07	5,52 ± 0,01
	20-30	6,21 ± 0,04	7,55 ± 0,04	2,01 ± 0,01
T ₂	0-10	7,23 ± 0,02	8,40 ± 0,02	6,24 ± 0,03
	10-20	6,79 ± 0,01	7,95 ± 0,07	5,35 ± 0,07
	20-30	6,17 ± 0,02	7,20 ± 0,01	2,12 ± 0,01
T ₃	0-10	6,89 ± 0,03	8,32 ± 0,09	5,85 ± 0,04
	10-20	6,64 ± 0,06	7,93 ± 0,05	5,12 ± 0,02
	20-30	5,96 ± 0,03	7,15 ± 0,06	1,96 ± 0,01
T ₄	0-10	7,11 ± 0,01	8,36 ± 0,02	6,95 ± 0,04
	10-20	6,82 ± 0,03	8,01 ± 0,03	5,34 ± 0,03
	20-30	5,87 ± 0,07	7,22 ± 0,02	1,86 ± 0,05
T ₅	0-10	7,36 ± 0,09	8,35 ± 0,03	6,84 ± 0,01
	10-20	7,01 ± 0,06	7,85 ± 0,03	5,90 ± 0,02
	20-30	6,10 ± 0,03	7,13 ± 0,02	2,55 ± 0,07

Os valores desta tabela representam a média de 4 repetições mais ou menos um desvio padrão. Esses valores foram comparados pela análise de variância (Anova) seguida do teste de Tukey a 5% probabilidade (veja os anexos). Os resultados dessas análises estatísticas estão apresentados no texto, indicados pelo nível significativo $p < 0,05$.

Comparando as contagens de células microbianas viáveis antes e após a fertirrigação é observado uma maior quantidade de células microbiana viável após a mesma (Tabelas 9 e 10). Simões et al. (2013) observaram um aumento linear na respiração basal microbiana em função da dose de efluente doméstico aplicado no solo para plantio de mamoneira. Além disso, independente da aplicação ou não da fertirrigação houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na contagem de células viáveis de microrganismos em todos os sistemas de manejo

de adubação (Tabelas 9 e 10). Como mostrado na Tabela 2 os manejos T₁ e T₂ não receberam NPK oriundo da água residuária e sendo assim, o uso da água residuária não alterou a contagem de células microbianas viáveis quando comparadas com os sistemas de manejo de adubação que não receberam água residuária (Tabela 10).

Entretanto, foi observado após a fertirrigação, a presença de colônias fúngicas na profundidade de 20-30 cm (Tabela 10). A presença de fungos nessa profundidade pode ser devido à maior disponibilidade de água e nutrientes e ou presença de raízes. Os fungos formam interações micorrízicas com as raízes das plantas (AZCÓN-AGUILAR et al., 1997, OEHL et al. 2011).

5.4.3 Análise da diversidade microbiana pelo perfil de DGGE antes da fertirrigação

Embora, tenham sido obtidas contagens de bactéria viáveis na profundidade de 90 a 100 cm (profundidade 4) nas amostras antes da fertirrigação não foi observada a amplificação do gene *nif H* (Figura 4) nessa profundidade com os *primers* utilizados. Isso mostra que os microrganismos nessa profundidade não apresentam atividade significativa de fixação de nitrogênio.

O perfil de bandas do DGGE mostrou uma grande variedade de bactérias contendo o gene *nif H*, com maior número de bandas nas profundidades de 0 a 10 cm e 10-20 cm (Figura 4). Esse resultado pode ser explicado devido à maior quantidade de células de BFNs na região da rizosfera (SILVA et al., 2011). Além disso, Da Silva (2012) mostrou grande diversidade de gene *nif H* em solo do Cerrado aplicando a mesma técnica. Essa mesma autora identificou uma predominância desse *nif H* em Actinomicetos, quando comparado com os grupos bacterianos.

Semelhante ao observado nas análises físico-químicas do solo (Figura 3), o dendograma UPGMA das bandas de DGGE agrupou os pontos de coleta em dois principais grupos (Figura 4). O ponto de coleta B₁ em 69 % de similaridade do perfil de DGGE com o ponto B₂ e os pontos B₃ e B₄ apresentam 89 % de similaridade. Logo a distância entre os pontos de coletas (Figura 1) tem influência sobre a diversidade bacteriana e demonstra mais uma vez a importância da

casualização dos manejos. Campelo (2008) mostrou que a diversidade do gene 16S RNA tem influência do local de coleta e estação climática. Entretanto, não houve diferenças significativas na diversidade das BFNs nas profundidades estudadas (Figura 4).

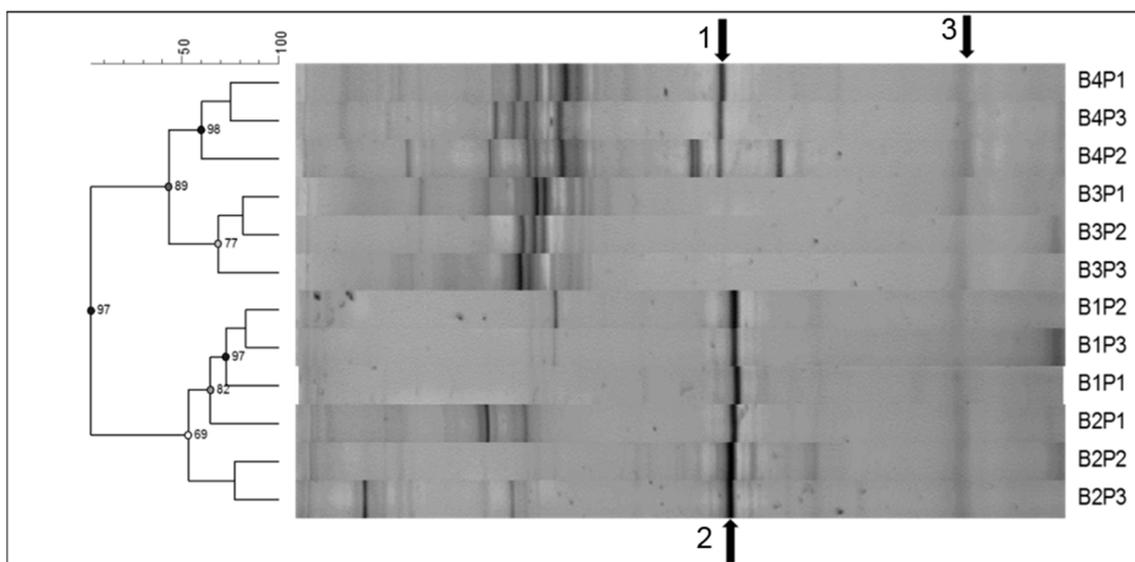


Figura 4: Dendograma de UPGMA e perfil de bandas de gene *nif H* obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas antes da plantação do capim e da aplicação da água residuária.

Na Figura 4, as bandas representadas pelas setas 1 e 2 são aquelas com maiores intensidades no gel. Esse grupo de bactérias diazotróficas está distribuído em grande número de indivíduos nos pontos de coletas B₁, B₂ e B₄. As bandas representadas pela seta 3 são vistas, em baixa intensidade, em todos os pontos de coleta que mostra uma distribuição desse grupo de BFN em toda a área estudada.

5.4.4 Análise da diversidade microbiana pelo perfil de DGGE após a fertirrigação

Após a fertirrigação independente do sistema de manejo de adubação observou-se um aumento na intensidade das bandas (Figuras 4 e 5). Isso mostra que as BFNs estão mais abundantes, embora não se detectou um aumento na diversidade das mesmas (Figura 5). No gel de DGGE a diversidade (riqueza de espécies) e abundância (quantidade de organismos de uma determinada

espécie) são representadas, respectivamente, pelo número e pela intensidade das bandas (VAN ELSAS & BOERSMA, 2011). Além disso, notou-se também que a diversidade e abundância das BNFs são diferentes em função da profundidade e adição de água residuária (Figura 5). Esse resultado confirma o aumento da contagem de células microbiana viáveis após a fertirrigação do capim (Tabelas 9 e 10 e Figura 5). O monitoramento do gene 16S rRNA por microarranjos de DNA mostraram grandes variações na comunidade microbiana do solo após a aplicação de diferentes doses de lodo de esgoto (VAL-MORAES, 2008).

As amostras da profundidade de 0-10 cm formaram um grupamento na parte superior do gel, enquanto as amostras das outras profundidades se agruparam em função do sistema de manejo de adubação (Figura 5). Esse resultado indica que a adição de NPK tem maior efeito na superfície ou não teve uma taxa de infiltração suficiente para afetar as BNFs presentes nas outras profundidades estudadas.

Outros efeitos da adição de NPK são observados pela formação de agrupamento no interior do gel das amostras do sistema de manejo de adubação T₁ que não recebeu adição de NPK e pela baixa intensidade das bandas, principalmente nas profundidades acima de 10 cm, no tratamento T₂ que recebeu NPK comercial (Tabela 2 e Figura 4). Considerando ainda o sistema de manejo de adubação T₁ observa-se que independentemente da profundidade a maioria das bandas estão em alta intensidade, similar aos descrito por Reis Júnior et al. (2011), a limitação de uma fonte de nitrogênio pode ser intensificar a atividade das BNFs.

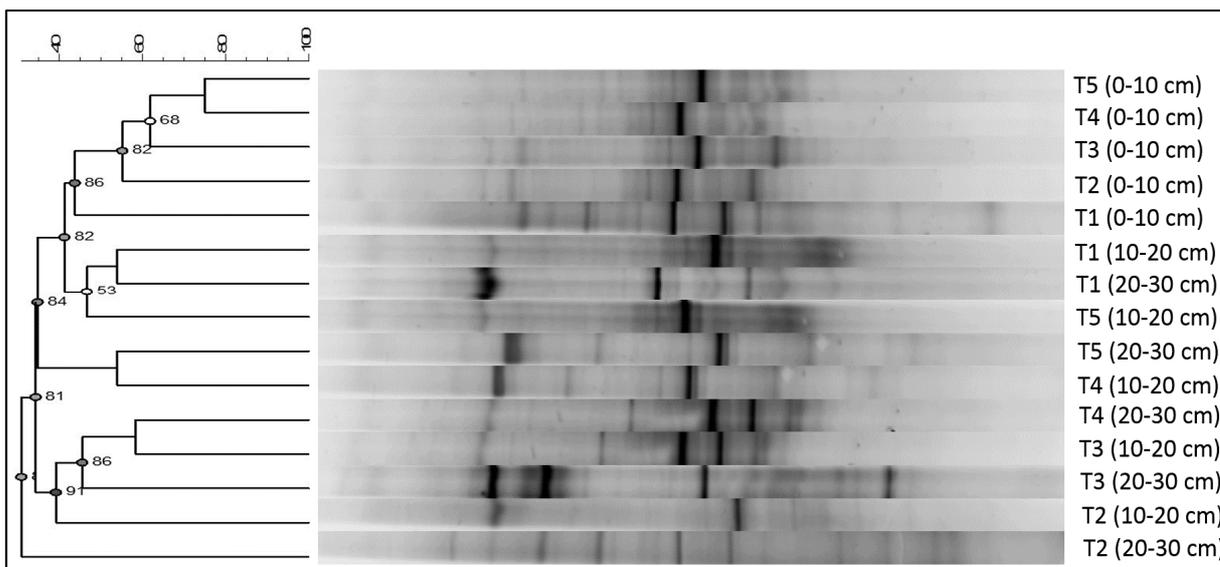


Figura 5: Dendrograma de UPGMA e perfil de bandas de gene *nif H* obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas após fertirrigação.

O dendrograma de UPGMA mostra que os sistemas de manejo de adubação que receberam água residuária apresentam perfis de bandas do gene *nif H* similares (Figura 5). Os sistemas de manejo de adubação T₅ e T₄ que tem maiores teores de NPK proveniente da água residuária, na profundidade de 0-10 cm tem o mesmo perfil de bandas (Tabela 2 e Figura 5). Nas demais profundidades, os perfis de bandas desses dois sistemas de manejo de adubação se agrupam com mais de 80% de similaridade. A profundidade de 0-10 cm, o manejo T₃ tem 82% de similaridade com T₅/T₄, entretanto nas demais profundidades está mais próximo de T₂. Esse resultado pode ser devido ao T₃ ter 80 % de NPK comercial e apenas 20% do NPK da água residuária (Tabela 2) e confirma que água residuária influenciou mais comunidade de BNFs na profundidade superficial. Além disso, o efeito da água residuária sobre as BNFs nas outras profundidades é observado em dose superior a 40% de NPK (Figura 5).

Após a fertirrigação foi observado o desaparecimento das bandas mostradas pela seta 3 na Figura 4, enquanto aquelas mostradas pelas setas 1 e 2 continuaram com alta intensidade, mas não mantiveram o mesmo alinhamento, ou seja, elas ficaram mais dispersas no gel (Figuras 4 e 5). Essas alterações foram observadas em todos os sistemas de manejo de adubação. Portanto, é

mais provável que as alterações da comunidade BNFs após fertirrigação foi devido aos diferentes períodos de coleta das amostras, ao manejo do solo antes do plantio e a umidificação do solo que adição da água residuária (Figuras 4 e 5). Isso mostra o potencial de uso dessas águas na agricultura, em especial, no plantio de forrageira no solo no Cerrado.

Em relação à diversidade de FMAs, antes da fertirrigação, o perfil de bandas do DGGE mostra uma distribuição heterogênea dos fungos nos pontos de coletas e nas profundidades quando comparado com o perfil de bandas do gene *nif H* (Figuras 4 e 6).

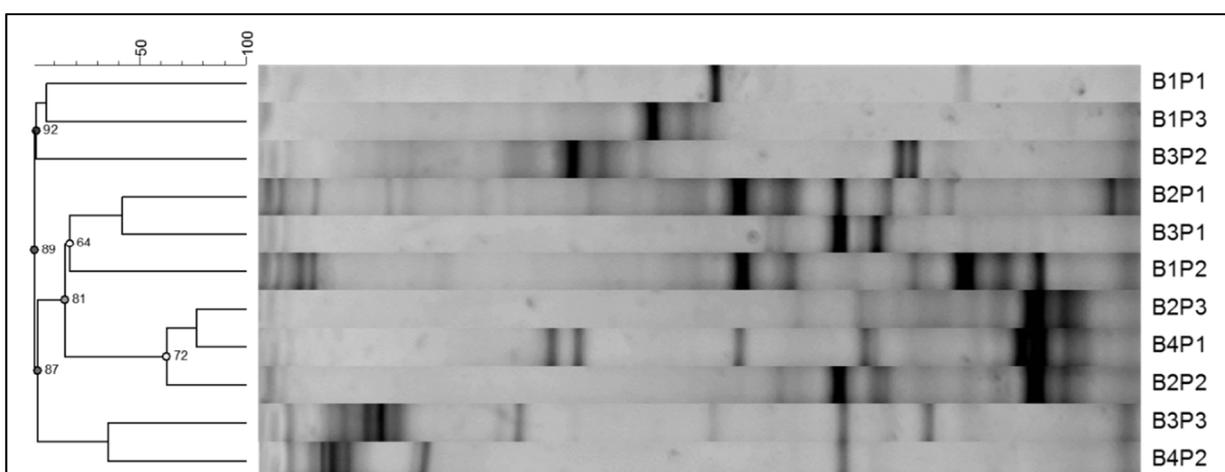


Figura 6: Dendrograma de UPGMA e perfil de bandas de gene 18S rDNA obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas antes da plantação do capim e da aplicação da água residuária.

A quantidade e a intensidade dessas bandas mostram também uma grande diversidade e concentração desses fungos na área estudada (Figura 6). Eles auxiliam a planta na absorção de água e nutrientes, principalmente o fósforo do solo (SOUZA et al., 2011, THONGTHA et al., 2014). Além disso, Moreira et al., (2012) também verificaram pelo perfil de DGGE uma alta diversidade de FMAs em diferentes solos. Segundo eles, os solos com maior riqueza de espécies de FMAs apresentam maior taxa de germinação das sementes e crescimentos de plântula. Além disso, o perfil de DGGE do gene 18S rRNA

mostra também uma alta diversidade e maior distribuição de FMAs na área de estudo (Figura 6).

A alta intensidade das bandas pode ser devido à presença no solo de células vegetativas (Tabela 9) e também de esporos fúngicos. A redução da quantidade e intensidade dessas bandas pode mostrar alteração na comunidade de FMAs em função da aplicação da água residuária.

Com os *primers* utilizados não foi possível a amplificação do gene 18S rDNA na profundidade de 90 a 100 cm. Esse resultado confirma a ausência de células viáveis de fungos nessa profundidade (Tabela 9).

Diferente do perfil de DGGE do gene *nif H*, o dendograma UPGMA do gene 18S rRNA não agrupou os pontos de coleta e as profundidades (Figura 6). Isso confirma a distribuição mais heterogênea de FMAs na área estudada antes do manejo do solo, plantio de capim e da utilização da água residuária.

Após a fertirrigação foi observado, nos sistemas de manejo de adubação T₂ a T₅ um aumento no número de bandas que demonstra um aumento na diversidade de FMAS (Figuras 6 e 7), o que relaciona a influência da adição de NPK no solo independente da fonte desses elementos sobre a diversidade de FMAs. No sistema de manejo de adubação sem adição de NPK (T₁) tem um número menor de bandas e uma baixa intensidade das mesmas.

Nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm os sistemas de manejo de adubação de adubação (T₂ a T₅) formaram um agrupamento (Figura 7) com alta similaridade no perfil de bandas. Semelhante ao observado no perfil das BFNs após a fertirrigação, o perfil de FMAS do manejo T₃ compartilha semelhança com os tratamentos com NPK da água residuária e com aquele com NPK comercial (Figura 5 e 7).

Diferentes do perfil de BFNs (Figura 5) o NPK influenciou a comunidade de FMAs na profundidade de 10-20 cm (Figura 7). Entretanto, a formação de um grupamento entre os sistemas de manejo de adubação na profundidade de 20-30 cm confirma que não houve infiltração nas camadas mais profundas do solo.

Comparando o perfil do sistema de manejo de adubação T₁ com os demais que receberam NPK da água residuária (T₃ a T₅) não existem similaridade entre eles pelo dendograma de UPGMA e pelos perfis de DGGE (Figura 7). Entretanto, a intensidade das bandas os sistemas de manejo de adubação com NPK da água residuária são maiores que aqueles do T₁. Sendo

assim a aplicação de água residuária influenciou positivamente na abundância de FMAs. A adição dessa água pode ter auxiliado na germinação de esporos. Segundo Machado et al. (2011), o teor de água e nutriente aumenta a taxa de germinação de esporos de FMAs, o que confirma o potencial de uso de água residuária para irrigação de culturas agrícolas, com efeito positivo sobre a comunidade de FMAs. Santos et al. (2009) mostraram que o uso de lodo de esgoto como fertilizantes estimula a atividade microbiana.

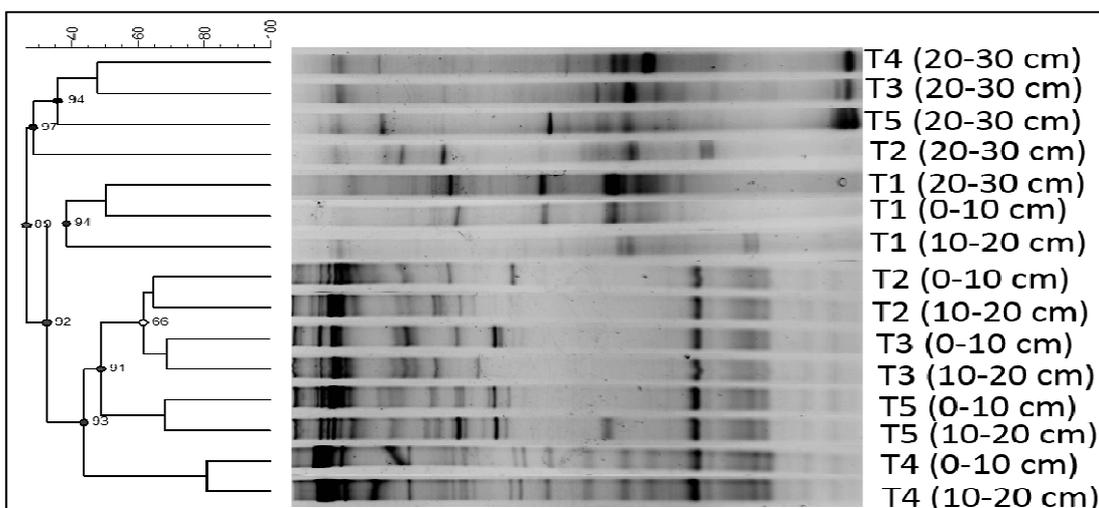


Figura 7: Dendrograma de UPGMA e perfil de bandas de gene 18S rDNA obtidas pelo DGGE das amostras de solo coletadas após a fertirrigação.

5.5 Caracterização das amostras do capim

Neste estudo foram realizados três cortes da parte aérea da planta (Figura S1) e não houve observação do período de floração e produção de sementes.

Independente do sistema de manejo de adubação, o primeiro corte tem a menor produção de massa seca foliar e não foi observado diferença significativa ($p < 0,05$) entre a produção dos cortes 2 e 3 (Figuras 8 e 9).

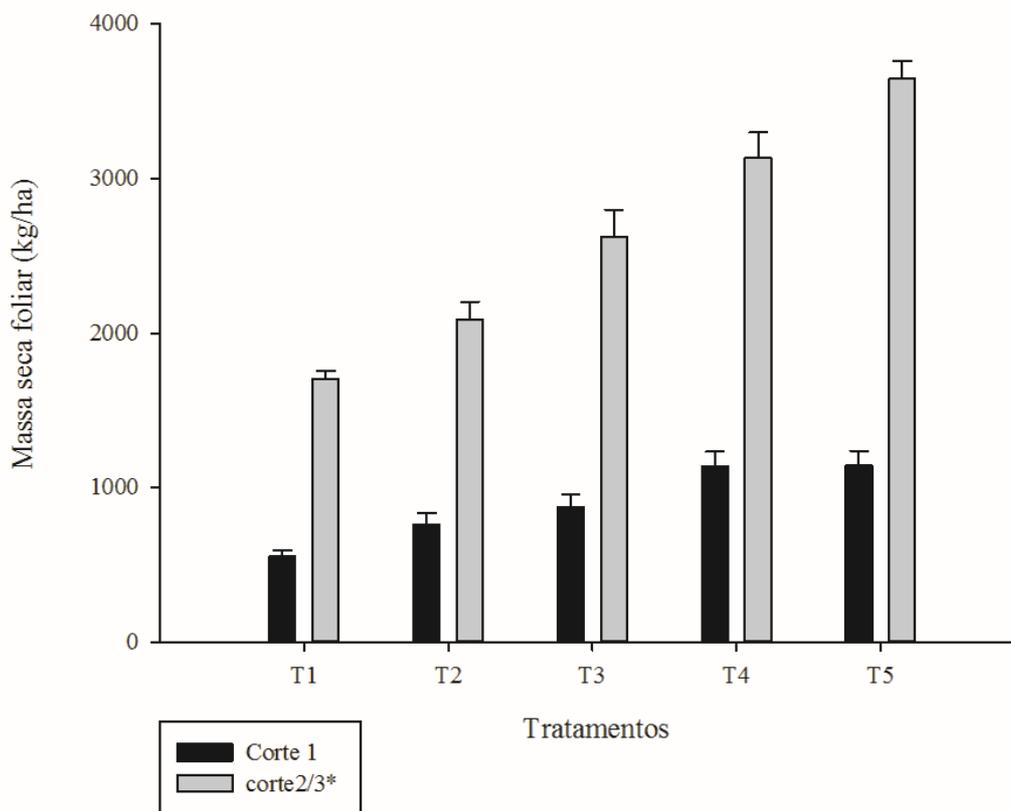


Figura 8: Massa seca foliar do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu fertirrigado com água residuária doméstica.

As maiores produções de massa seca foliar por hectare (ha) foram observadas nos sistemas de manejo de adubação (T₃, T₄ e T₅) que receberam água residuária (Figuras 8 e 9).

No corte 1, os valores correspondem à média de cada sistema de manejo. Devido não ter observado diferença significativa ($P < 0,05$) entre os cortes 2 e 3, os valores correspondem as médias conjuntas de cada sistema de manejo, nesses cortes (Figuras 8 e 9).

Neste estudo, a produtividade de massa seca do capim *B. brizantha* cv Marandu foi diretamente proporcional à concentração de NPK proveniente da água residuária (Figura 9). Além disso, o NPK da água residuária promoveu a maior produtividade de massa seca foliar que o NPK comercial independente do corte (Figuras 8 e 9). Isso sugere que NPK comercial está menos disponível para planta que o NPK da água residuária.

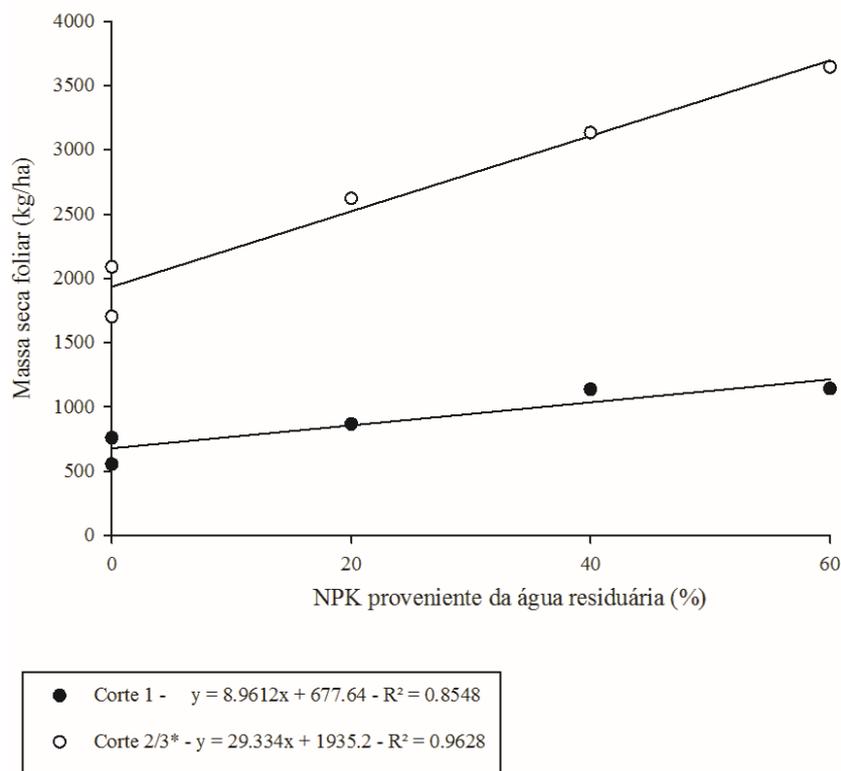


Figura 9: Massa seca foliar do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu em função dos teores de NPK proveniente da água residuária doméstica.

As equações lineares significativas ($p < 0,05$) são importantes para estudos da produtividade em massa seca foliar utilizando concentrações de NPK da água residuária como referência. Efeito linear positivo na produtividade de massa seca foliar em função da dose de nitrogênio foi também observado no plantio do capim Marandu (ALEXANDINO et al., 2003) e em *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk (MARANHÃO et al., 2010).

A produtividade igual entre os cortes 2 e 3 é importante para redução da frequência de plantio do capim e mostra também o rigor de rebrotação do capim Marandu no solo fertirrigado com água residuária. Geralmente a produtividade aumenta com redução do intervalo de corte e o rigor de rebrotação reduz em função do corte (MARANHÃO et al., 2010, ALEXANDINO et al., 2003, AGUIAR et al., 2000).

Embora, não ter havido diferença significativa na produtividade da massa seca entre os cortes 2 e 3 (Figuras 8 e 9), observou-se que na composição bromatológica do capim apenas o ferro, cobalto, extrato etéreo não

apresentaram diferenças significativa ($p < 0,05$) entre os cortes (Tabela 11). Além disso, no terceiro corte foi observada uma redução significativa ($p < 0,05$) de nitrogênio, proteína bruta, potássio, zinco, cobre e manganês (Tabela 11). Entretanto, há um aumento significativo ($p < 0,05$) de fósforo, cálcio, magnésio, enxofre e fibra de detergente ácido nesse último corte (Tabela 11). Isso mostra que os cortes têm influência na composição nutricional do capim Marandu.

Comparando o sistema de manejo de adubação com NPK comercial (T_2) com aqueles que receberam águas residuárias (T_3 , T_4 e T_5) observa-se a utilização desse efluente doméstico não alterou a composição nutricional do capim Marandu (Tabela 11). Os teores de cálcio e fibra de detergente neutro foram diferentes entre o sistema sem adubação com NPK (T_1) com aqueles com adubação NPK (T_2 a T_5) (Tabela 11). Os sistemas que NPK proveniente da água residuária apresenta maiores teores de fósforo, magnésio e FDN que o manejo sem NPK (T_1).

Benett et al (2008) trabalhando com 5 diferentes doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg por ha) observaram produtividade de massa seca no 1º corte, inferior a 1000 kg ha⁻¹, entretanto no 3º corte a produtividade superou 4000 kg ha⁻¹.

Nos diferentes manejos, o teor de proteína bruta variou 11,31 a 13,81 %, concentrações similares às aquelas obtidas por Serafim (2010), que descreveu valores na faixa de 8,43 a 14,39% em seu trabalho com utilização de águas residuárias da suinocultura para adubação da mesma forrageira.

Ressalta-se que a FDN é o componente da forragem mais consistentemente associada ao consumo (Benett et 2008), assim os menores teores de FDN permitem um consumo de forragem de melhor qualidade pelo animal. Não houve diferença entre o 1º e o 3º corte. Nos diferentes sistemas de manejo de adubação ao longo dos cortes apenas o tratamento T_1 (controle), resultou em uma forrageira de pior qualidade.

Tabela 11: Composição bromatológica do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu fertirrigado com água residuária doméstica.

Corte	N	P	K	Ca	Mg	S	Zn	Cu	Fe	Mn	Na	Co	Mo	PB	EE	FDA	FDN	Cinzas
	g kg ⁻¹						mg kg ⁻¹						%					
1	21,76 A	1,03 B	17,89 A	2,43 B	1,89 B	1,29 B	25,35 A	9,00 A	392,30 A	48,45 A	113,50 B	0,13 A	0,44 C	13,59 A	1,50 A	29,60 B	55,17 B	6,01 A
2	20,38 A	1,39 A	11,78 B	2,43 B	3,09 A	1,27 B	25,25 A	5,80 B	434,40 A	28,10 B	124,65 A	0,17 A	0,58 A	12,72 A	1,36 A	31,39 AB	61,58 A	5,82 A
3	18,10 B	1,51 A	10,16 B	3,00 A	3,13 A	1,51 A	16,15 B	3,00 C	366,60 A	25,80 B	112,50 B	0,10 A	0,48 B	11,31 B	1,48 A	33,285 A	57,95 B	5,74 A
Trat																		
1	22,10 a	1,05 b	16,03 a	2,29 b	1,85 b	1,22 a	26,25 a	5,58 a	336,90 a	38,33 a	114,83 a	0,12 a	0,50 a	13,81 a	1,50 a	29,37 b	53,94 b	6,1 a
2	20,38 ab	1,25 ab	12,07 a	2,78 a	2,04 ab	1,38 a	22,92 a	7,00 a	358,80 a	32,17 a	116,64 a	0,12 a	0,49 a	12,73 ab	1,47 a	31,92 ab	59,36 a	5,3 ab
3	18,26 b	1,37 a	12,17 a	2,53 ab	2,93 a	1,38 a	20,01 a	5,01 a	350,10 a	36,25 a	116,58 a	0,12 a	0,51 a	11,41 b	1,51 a	31,93 ab	59,68 a	4,1 b
4	19,64 ab	1,41 a	13,08 a	2,74 ab	3,10 a	1,34 a	19,75 a	6,01 a	320,50 a	31,83 a	118,25 a	0,18 a	0,51 a	12,24 ab	1,36 a	32,70 a	59,08 a	4,7 b
5	20,08 ab	1,46 a	13,05 a	2,75 ab	3,22 a	1,45 a	22,33 a	6,08 a	322,40 a	32,00 a	118,08 a	0,12 a	0,49 a	12,50 ab	1,36 a	31,20 ab	59,11 a	4,7 b

PB – Proteína bruta, EE – extrato etéreo, FDA – Fibra de detergente ácida, FDN – Fibra de detergente neutro, Trat - Tratamentos
 As letras maiúsculas e as minúsculas nas colunas indicam, respectivamente, a comparação estatística entre os cortes e os tratamentos. Assim, as letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de significância (veja os anexos). As análises estatísticas foram realizadas utilizando a versão experimental e gratuita do software Minitab 17 (2016) disponibilizado no portal eletrônico <http://www.onthehub.com/minitab/>.

Os teores de FDA têm relação com os teores de lignina dos alimentos, que determinam a sua digestibilidade, pois quanto menor o teor de FDA, menor será o teor de lignina e, conseqüentemente, melhor a digestibilidade do alimento. Sendo assim o 3º corte apresentou maior FDA, possivelmente em virtude do envelhecimento da planta.

Os teores de extrato etéreo não ultrapassaram o limite de 6% da dieta a partir do qual se poderia limitar o consumo de matéria seca por ruminantes (SOUZA et al., 2009). Esses teores encontrados neste trabalho estão inferiores àqueles relatados por Mari (2003), que obteve valores de extrato etéreo em capim-Marandu de 2,7 a 1,9%.

A concentração de fósforo variou de 1,03 g kg⁻¹ a 1,51 g kg⁻¹ que segundo Malavolta (1987) são considerados normais para plantas forrageiras.

A maturidade da planta influenciou de maneira significativa ($p < 0,05$) na concentração de Cu, conforme se observa na Tabela 11 houve uma queda na concentração de Cu com o tempo. As concentrações deste nutriente variaram entre 3,00 a 9,00 mg kg⁻¹. Segundo Malavolta (1987), os teores adequados para as braquiárias na MS é 6,0 mg kg⁻¹. Esses resultados podem ser atribuídos ao pH do solo, pois a absorção de Cu é prejudicada em pH superior a 5,0; porque esse nutriente fica retido firmemente nos colóides do solo, havendo redução da sua disponibilidade, para a planta.

Os níveis de Fe encontrados na forrageira podem ser considerados altos, que segundo Malavolta (1987) os teores adequados para as braquiárias na MS é 180 a 250 mg kg⁻¹.

Segundo McDowell (1999), o requerimento estimado de ferro para ruminante adulto encontra-se entre 30 a 60 mg kg⁻¹ e para bezerros este requerimento é de 100 mg kg⁻¹ mostrando que a exigência para o animal jovem é maior que para o adulto, sendo assim a forrageira atenderia a essa exigência.

Os teores de cinzas não tiveram diferenças em relação aos cortes ($P < 0,05$), mas os tratamentos que receberam águas residuárias tiveram menores teores de cinzas que outros tratamentos (Tabela 11). Independente dos sistemas de manejo de cortes, os teores de cinzas obtidas são semelhantes aqueles observados em capim Marandu cultivado em diferentes épocas do ano no estado do Piauí (RODRIGUES JÚNIOR et al., 2015).

Considerando apenas os sistemas de manejos que receberam água residuária, FDN, FDA, molibdênio, enxofre e sódio tiveram respectivamente, efeito negativo e positivo em relação aos cortes e os sistemas de manejo de adubação (Figura 10). Assim, aumento dos teores dessas variáveis pela adição de NPK da água residuária depende do número de cortes. Entretanto, manganês, cobre e extrato etéreo tem efeito contrário em relação aos tratamentos e cortes (Figura 10). Os teores de zinco, ferro, potássio, nitrogênio e proteína bruta têm efeitos positivos em função dos tratamentos e dos cortes (Figura 10). Mas, as concentrações de magnésio, fósforo e cálcio tem efeito negativo em relação aos dois parâmetros. Apenas os teores de cobalto não têm nenhum efeito em relação ao tratamento e os cortes que parece ser característica da fisiológica da planta. Portanto, essas variações negativas, neutras e positivas na composição bromatológica no capim Marandu mostram que a concentração de NPK adicionada no solo e o manejo do número de cortes podem contribuir para uma melhor composição nutricional do capim que foi irrigado com efluente doméstico.

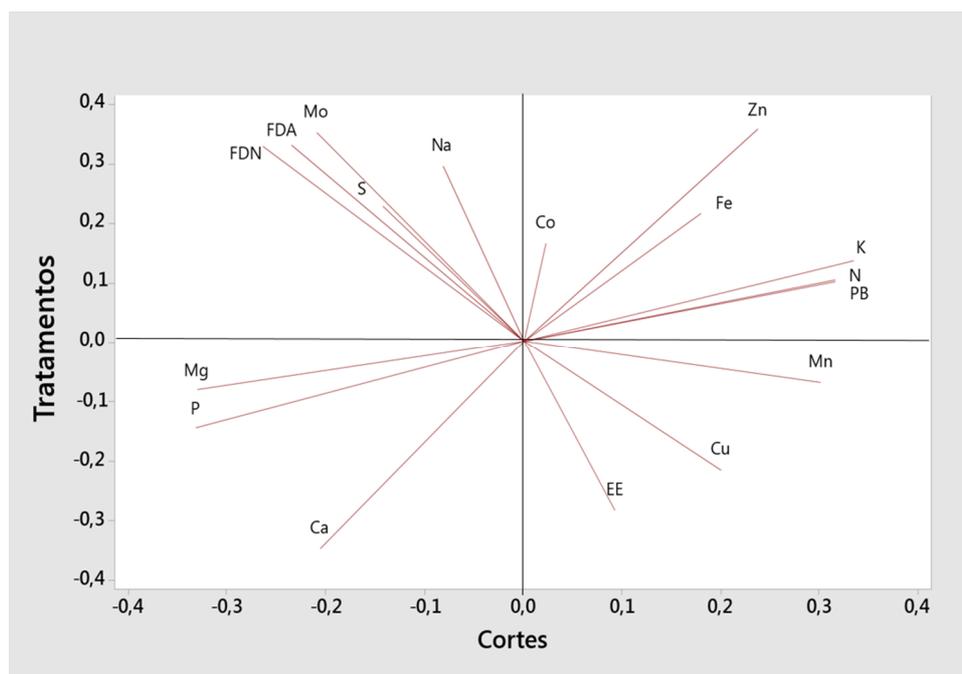


Figura 10: Análise de componente principal da composição bromatológica do capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu (Tabela 10) em função dos sistemas de manejos de adubação (tratamentos) e dos cortes.

6. CONCLUSÕES

- A fertirrigação mostrou ser uma alternativa viável para utilização de águas residuárias domésticas na agricultura no solo do Cerrado o que pode representar uma redução da quantidade de esgostos domésticos descartados nas bacias hídricas;
- Os manejos de adubação com até 60% de NPK oriundo da água residuária valida esse uso;
- As alterações nas propriedades físicas e químicas do solo após a fertirrigação dependem do tempo de aplicação, do tipo de cultura utilizada e das características do solo e do efluente utilizado;
- O uso de fertilizantes oriundos da água residuária doméstica contribuiu positivamente com a abundância de bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos arbusculares no solo;
- A fertirrigação aumentou a produtividade de massa seca foliar indicando que o NPK da água residuária é mais disponível para a planta que o NPK comercial;
- A fertirrigação de cultura agrícola, em especial capim Marandu, com esgoto doméstico concorre como alternativa biotecnológica de grande potencial de uso em solo do Cerrado.

7. REFERÊNCIAS

ADÂMOLI J, MACEDO J, AZEVEDO LG, NETTO JM (1985). **Characterization of Cerrado Region**. In: Goedeber, W. J. (Ed) Cerrado soil: Technologies and Management Strategies, Nobel, EMBRAPA, São Paulo. pp. 33-74.

ALCÂNTARA PB, BUFARAH G (1999). **Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas**. São Paulo: Nobel, 1999. 162p.

ALDERSON MP, DOS SANTOS AB, MOTA FILHO CR (2015). Reliability analysis of low-cost, full-scale domestic wastewater treatment plants for reuse in aquaculture and agriculture. **Ecological Engineering**, 82:6-14.

ALMEIDA SILVA JL, GURGEL MT, MOTA AF, AZEVEDO J, COSTA LR (2012). Influence of wastewater from households in the initial growth of the melon yellow gold. **Agropecuária Científica no Semi-Árido** 8:(4):16-22.

AL-NAKSHABANDI GA, SAQQAR MM, SHATANAWI MR, FAYYAD M, AL-HORANI H (1997). Some environmental problems associated with the use of treated wastewater for irrigation in Jordan. **Agricultural Water Management**, 34:81-94.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, APHA (2005). American Water Works Association (AWWA) & Water Environment Federation (WEF): **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21st Edition.

ANDRADE IP, MONTENEGRO AAA, SILVA JAA, FREIRE MBGS, DOS SANTOS TRM (2005). Impact of reuse of effluent from sewage treatment atment on the leachate from the leachate from soil cultivated with corn. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 9:212-216.

ARAÚJO R, GOEDERT WJ, LACERDA MPC (2007). Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. 2007. **Revista Brasileira de Ciências do Solo** 31:1099-1108.

ASANO T, LEVINE AD (1996). Wasterwater reclamation, recycling and reuse: past, present and future. **Water Science Technology**, 33:1-14.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS (Abrasen) (2012). **Produção anual de sementes de *Brachiaria* sp no Brasil**. <http://www.abrasem.com.br>. Acesso em 21 de julho de 2016.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC (1990). **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC.

AZCÓN-AGUILAR C, CANTOS M, TRONCOSO A, BAREA JM (1997). Beneficial Effect Arbuscular Mycorrhizas on Acclimatization of Micropropagated Cassava Plantlets. **Scientia Horticulturae**, 72:63-71.

AZEVEDO LP, OLIVEIRA EL (2005). Application effects of sewage treatment effluent on soil fertility and yield of cucumber with subsurface irrigation. **Engenharia Agrícola**, 25:253-263.

BATISTA RO, SOUZA JAR, FERREIRA DC (2010). Effect of treated domestic sewage on the performance of a drip irrigation system. **Revista Ceres**, 57:18-22.

BATSTONE DJ, HÜLSEN T, MEHTA CM, KELLER J (2015). Platforms for energy and nutrient recovery from domestic wastewater: A review. **Chemosphere**, 140:2-11.

BENETT CGS, BUZETTI, S, SILVA, KS, BERGAMASCHINE AF, FABRICIO JA (2008). Produtividade e composição bromatológica do capim Marandu a fontes e doses de nitrogênio. **Ciência e Agrotecnologia**, 32:5:1629-1636.

BERBARA RLL, SOUZA FA, FONSECA HMA (2006) Fungi mycorrhizal: far beyond nutrition. In: **Nutrição Mineral de Plantas**. pp. 54-79.

BERNARDO S, SAORES, AA, MANTOVANI, EC (2008). **Manual de Irrigação**, 8ª edição Viçosa, Impr. Universitária, 625p, ISBN: 8572692428.

BEZERRA FML, FREITAS CAS, SILVA ARA, MOTA SB, AQUINO BF (2014). Irrigation with domestic treated sewage and nitrogen fertilizing in sunflower cultivation. **Engenharia Agrícola**, 34:1186-1200.

BISWAS GC, SARKAR A, RASHIDD MDH, SHOHANA MH, WANG MIQ (2015) Assessment of the irrigation feasibility of low-cost filtered municipal wastewater for red amaranth (*Amaranthus tricolor* L . cv. Surma). **International Soil and Water Conservation Research**, 3:239-252.

- BITTON G (1994). **Wasterwater microbiology**. New York: Willey-liss, 478p.
- BLOOM AJ (2015). The increasing importance of distinguishing among plant nitrogen sources. **Current Opinion in Plant Biology**, 25:10-16.
- BURCHILL S, HAYES M, GREENLAN D, GREENLAND D, HAYES M (1981). **The chemistry of soil processes**. In: Greenland D.J., & Hayes H.B. (Eds.), New York: Wiley.
- CAMPELO, ISG (2008). **Comunidades microbianas e qualidade do solo em povoamentos de eucalipto**. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, 90p.
- CELENTANO AUGUSTO DC, GUERRINI IA, ENGEL VL, ROUSSEAU GX (2007). Use of biologically treated wastewater in *Eucalyptus grandis* Hill. Ex.Maiden seedling production by continuum sub irrigation. **Revista Árvore**, 31:745-751.
- CELENTANO AUGUSTO DC, GUERRINI IA, ENGEL VL, ROUSSEAU GXR (2003). Use of domestic wastewater after biological treatment system for *Croton floribundus* Spreng. and *Copaifera langsdorffii* Desf. Seedling production. **Revista Árvore**, 27:335-342.
- CHRISTOFIDIS D (2013). Water, irrigation, and sustainable agriculture and livestock. **Revista de Política Agrícola**, 21:115.
- CORNEJO P, AZCON-AGUILAR C, BAREA JM, FERROL N (2004). Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TTGE) as a tool for the characterization of arbuscular mycorrhizal fungi. **FEMS Microbiology Letters**, 241: 265-270.
- CUNHA BAL, NASCIMENTO JR. D, SILVEIRA MCT (2010). Effects of two post grazingheights on morphogenic and structural characteristics of guinea grass under rotational grazing. **Tropical Grasslands**, 44:253–259.
- DA LUZ JMR, PAES SA, BAZZOLLI DMS, TOTOLA MR, DEMUNER AJ, KASUYA, MCM (2013). Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable plastic bags. **Plos one**, 9(11): e107438.

DA SILVA MRSS (2012). **Diversidade de comunidades bacterianas de solo de Cerrado em resposta a diferentes alterações dos ecossistemas**. Tese, Universidade de Brasília, 140p.

DERRY C, MAHESHWARI B (2015). Wastewater treatment by a modular, domestic-scale reedbed system for safe horticultural irrigation. **Science of the Total Environment**, 537:243-249.

DIAS-FILHO MB (2014). **Diagnóstico das Pastagens no Brasil**. Documento 402. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa).

DIONÍSIO JA (2006). **Riscos biológicos na estação de tratamento de esgotos ETE Belém, Curitiba/ PR**. Universidade Federal do Paraná, 59p.

DIREITO ICN, TEIXEIRA KRS (2002). Simulação e comportamento de migração de produtos da amplificação parcial do gene *nif H* quando submetidos ao DGGE. **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da vida 22:123–129.

DUARTE AS, AIROLDI RPS, FOLEGATTI MV, BOTREL TA, SOARES TM (2008). Effects of application of treated wastewater in soil: pH, organic matter, phosphorus and potassium. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 12:3.

DUNBAR J, BARNS SM, TICKNOR LO, KUSKE CR (2002). Empirical and Theoretical Bacterial Diversity in Four Arizona Soils. **Applied and Environmental Microbiology**, 68:3035-3045.

EITEN J, GOODLAND R (1979). **Ecology and management of semi-arid ecosystems in Brazil**. Reprinted from Management of semi-arid Ecosystems, B.H. Walker (ed.), Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (Embrapa) (1999). **Manual de métodos de análises do solo/Centro Nacional de Pesquisa de Solos**. 2ª edição revisada e atualizada, Rio de Janeiro, 212p., ISBN: 85-85864-03-6.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (1984). ANO 11. **Destaque dos principais resultados pesquisa de 1983**. Brasília, EMBRAPA-ATA, 1984, 88p.

FALEIRO FG (2011). **Aplicações de marcadores moleculares como ferramenta auxiliar em programas de conservação, caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético vegetal**. In: Faleiro FG, de Andrade SRM. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. Embrapa Cerrados, 730 p.

FELIX FF, NAVICKIENE S, DÓREA HS (2007). Persistent Organic Pollutants (POPs) and Soil Quality Indicators. **Revista Fapese**, 3:39-62.

Fonseca AF (2001). **Disponibilidade de nitrogênio, alterações nas características químicas do solo e do milho pela aplicação de efluente de esgoto tratado**. Dissertação. ESALQ, 110p.

FONSECA SPP, SOARES AA, MATOS AT, PEREIRA OG (2001). Nutritional value and fecal contamination of coastcross grass grown in a unit of wastewater overland flow treatment. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 21:293-301.

FONSECA SPP (2007). **Avaliação de uma estação de tratamento de esgoto doméstico por escoamento superficial**. Tese. Universidade Federal de Viçosa, 144p.

FREITAS CAS, DA SILVA ARA, BEZERRA FML, MOTA FSB, GONÇALVES LRB, BARROS E M (2013). Reuse of treated domestic sewage effluent as an alternative water source for the production of sugarcane. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17:727-734.

GAMA-RODRIGUES EF, BARROS NF, GAMA-RODRIGUES AC, SANTOS GA (2005). Carbon, nitrogen and activity of microbial biomass in soil under eucalypt plantations. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 29:893-901.

GLOAGUEN TV, GONÇALVES RAB, FORTI MC, LUCAS Y, MONTES CR (2010). Irrigation with domestic wastewater: a multivariate analysis of main soil changes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 34:1427-1434.

GOSLING P, HODGE A, GOODLASS G, BENDING GD (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, 113:17-35.

GUCKER B, BOECHAT IG, GIANI A (2009). **Impacts of agricultural land use on ecosystem structure and whole-stream metabolism of tropical Cerrado streams**. *Freshwater Biology*, Chicago, 54:10, 2069-2085.

HELGASON T, FITTER AH, YOUNG JPW (1998). Ploughing up the wood-wide web? **Nature**, 394-431.

HESPANHOL I (2002). Water reuse potential in Brazil: agriculture, industry, municipalities, aquifer recharge. **Revista Brasileira de Recurso Hídricos**, 7:75-95.

HONG Y, MAA Y, WUA L, MAKIB M, QINB W, CHENA S (2012). Characterization and analysis of *nif H* genes from *Paenibacillus sabiniae* T27. **Microbiological Research**, 167:596-601.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (2013). **Distribuição de Probabilidade Climatológica da Precipitação (INMET)**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/distribuicoesProbabilidade>>. Acesso em: 04 de agosto de 2016.

INVAM- **INTERNATIONAL CULTURE COLLECTION OF VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI** (2015). Disponível em: <<http://invam.caf.wvu.edu/>>.

JACKSON LE, CALDERON FJ, STEENWERTH KL, SCOW KM, ROLSTON DE (2003). Responses of soil microbial processes and community structure to tillage events and implications for soil quality. **Geoderma**, 114:305-317.

JAMES EK (2000). Nitrogen fixation in endophytic and associative symbiosis. **Field Crops Res**. 65:197-209.

JENKINS BD, ZEHR JP (2008). **Molecular Approaches to the Nitrogen Cycle**. In: D. Bronk, M. Mulholland, D. Capone and E. Carpenter (eds). Nitrogen in the Marine Environment. Academic Press.

JENKINSON DS, LADD JN (1981). **Microbial biomass in soil: measurement and turnover**. In: Paul EA, Ladd JN (Eds.) Soil Biochemistry. New York: Marcel Dekker. pp. 415-471.

JOHNS GG, MCCONCHIE DM (1994). Irrigation of bananas with secondary treated sewage effluent. II. Effect on plant nutrients, additional elements and pesticide residues in plants, soil and leachate using drainage lysimeters. **Australian Journal of Agriculture Research**, 45:1619-1638.

JORDÃO EP, PESSOA CA (1995). **Treatment of domestic sewage**. Rio de Janeiro: ABES: 1.

KLAR AE (1991). **Irrigação; frequência e quantidade de aplicação**. São Paulo, Nobel, 156p.

KONG Z, LI L, FENG C, CHEN N, DONG S, HUB W (2015). Soil infiltration bioreactor incorporated with pyrite-based (mixotrophic) denitrification for domestic wastewater treatment. **Bioresource Technology**, 187:14-22.

KOURAA A, FETHI F, LAHLOU A, OUAZZANII N (2002). Reuse of urban wastewater by combined stabilization pond system en Benslimane (Marocco). **Urban Water**, 4: 373-378.

KOWALCHUK GA, DE SOUZA FA, VAN VEEN JA (2002). Community Analysis of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Associated with *Ammophila arenaria* in Dutch Coastal Sand Dunes. **Molecular Ecology**, 11:571-581.

KRAMADIBRATA K, WALKER C, SCHWARZOTT D, SCHÜBLER A (2000). A New Species of *Scutellospora* with a Coiled Germination Shield. **Annals of Botany**. 86:21-27.

LIANG Z, DRIJBER RA, LEE DJ, DWIEKAT IM, HARRIS SD, WEDIN DA (2008). A DGGE-cloning method to characterize arbuscular mycorrhizal community structure in soil. **Soil Biology and Biochemistry**, 40:956-966.

LIMA SMS, HENRIQUE IN, CEBALLOS BSO, SOUSA JT, ARAÚJO HWC (2005). Sanitary quality and production of lettuce production irrigated with trirrigated with treated domestic sewage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 9:21-25.

LOPES RA, BUZETTI S, TEIXEIRA FILHO MCM, BENETT CGS, VALENTINI MARF (2013). Doses, fontes e épocas de aplicação de nitrogênio em arroz de

terras altas cultivado em sistema de semeadura direta. **Revista Caatinga**, 26: 4:79 – 87.

MACHADO CTT, PEREIRA CD, LOPES V (2011). **Fungos micorrízicos arbusculares: pesquisa e desenvolvimento para a agricultura**. In: FALEIRO, FG, DE ANDRADE, SRM. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. Embrapa Cerrados, 730 p.

MADIGAN MT, MARTINKO JM, DUNLAP PV, CLARK DP. **Microbiologia de Brock**. 12.ed. Porto Alegre: Artmed, 1091p, 2010.

MALAFAIA G, ARAÚJO FG, ESTRELA DC, GUIMARÃES ATB, LEANDRO WM, RODRIGUES ASL (2016). Corn production in soil containing in naturatannery sludge and irrigated with domestic wastewater. **Agricultural Water Management**, 163:212-218.

MALAVOLTA E (1987). **Manual de calagem e adubação das principais culturas**. São Paulo: Ceres, 496 p.

MALAVOLTA E, KLIEMANN HJ (1985). **Nutritional disorders in the Cerrado**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1985. 136p.

MARANHÃO CMA, BONOMO P, PIRES AJV, COSTA ACPR, MARTINS GCF, CARDOSO EO (2010). Productive traits of *Brachiaria* grass subject to cutting intervals and nitrogen fertilization over three seasons. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 32:375-384.

MARI LJ (2003). **Intervalo entre cortes em capim-Marandu (*Brachiaria brizantha* (Hochts. ex A. Rich.) Stapf cv. Marandu): produção, valor nutritivo e perdas associadas à fermentação da silagem**. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 85p.

MARTIN JP (1950). Use of acids rose-bengall and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. **Soil Science**, 134:215- 232.

MCDOWELL LR (1999). **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3. ed. Florida: University of Florida, 89 p

MENDES IC, REIS JUNIOR, F, HUNGRIA, BM, FERNANDES, MF, CHAER, GM, MERCANTE, FM, ZILLI, JE (2011). **Microbiologia do solo e sustentabilidade de sistemas agrícolas**. In: Faleiro FG, de Andrade SRM. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. Embrapa Cerrados, 730 p.

MESQUITA VA (2011). **Caracterização da Diversidade Microbiológica de solo do Cerrado de Minas Gerais por eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE)**. Universidade Federal de Lavras (dissertação), 70 p.

METCALF L, EDDY H (1991). **Wasterwater EGINEERING- Treatment, Disposal and reuse**. 3ª edição revisada por G. Tchobanoglous, F.L.Burton. McGraw-Hill, Inc., Estados Unidos. 1334 p.

METCALF L, EDDY H (2003). **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4 ed. Revisado por George Tchobanoglous, Franklin L. Burton, H. David Stensel. New York: McGraw.

MIKKELSEN RL, REHCIGL JE, MACKINNON HC (1997) **Agricultural and environmental issue in the management of swine waste**. Agriculture uses of products and waste. Oxford: Oxford University Press 6 110-119.

MORAES RM, ANDRADE Z, BEDIR E, DAYAN FE, LATA H, KHAN I, PEREIRA AMS (2004). Arbuscular mycorrhizal improves acclimatization and increases lignan content of micropropagated mayapple (*Podophyllum peltatum* L.). **Plant Science**, 166: 23-29.

MOREIRA M, NOGUEIRA MA, TSAI SM (2007). Sporulation and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazil Pine in the field and in the greenhouse. **Mycorrhiza** 17:519-526.

MYERS, N., MITTERMEIER, R.A., MITTERMEIER, C.G., DA FONSECA, G.A.B., KENT, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 403:853-858.

NATHAN O, NJERI KP, RANG'ONDI OE, SARIMA CJ (2012). The potential of *Zea mays*, *Commelina bengelensis*, *Helianthus annuus* and *Amaranthus hybridus* for phytoremediation of waste water. **Revista Ambiente & Água**, 7:55-60.

NEERAJ KS (2011). Organic amendments to soil inoculated arbuscular mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* treatments reduce the development of root-rot disease and enhance the yield of *Phaseolus vulgaris* L. **European Journal of Soil Biology**, 47:288-295.

NICOLAISEN MH, RAMSING NB (2002). Denaturing gradient gelelectrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria. **Journal of Microbiological Methods** 50:189-203.

NICOLODI M, ANGHINONI I, GIANELLO C (2008). Relações entre os tipos e indicadores de acidez do solo em lavouras no sistema plantio direto na região do planalto do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32:1217-1226.

NOBRE RG, GHEYI HR, SOARES FAL, ANDRADE LO, NASCIMENTO ECS (2010). Production of the sunflower under different depths of irrigation using domestic effluents and organic manure. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 14:747-754.

OEHL F, SIEVERDING E, PALENZUELA J, INEICHEN K, SILVA GA (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. **IMA Fungus**, 2:191-199.

OLIVEIRA AFM, FERNANDES FGBC, BATISTA RO, SOUZA L, GURGEL MT (2014). Heavy metal contents in irrigated cambisol with domestic wastewater and well water. **Revista Ambiente & Água**, 9(2):302-312.

OLIVEIRA PCP, GLOAGUEN TV, GONÇALVES RAB, SANTOS DL (2013). Pumpkin yield irrigated with treated domestic wastewater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17:861-867.

PAULINO J, FOLEGATTI MV, ZOLIN CA, SÁNCHEZ-ROMÁN RM, JOSÉ JV (2011). Brazil agriculture irrigated status according to the agricultural census of 2006. **Irriga**, 16(2):163-176.

PAVINATO PS, ROSOLEM CA (2008). Disponibilidade de nutrientes no solo - decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 32:911-920.

PENA RF (2016). **Escassez de água no Brasil**; Brasil Escola. Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/geografia/escassez-agua-no-brasil.htm>>. Acesso em 29 de agosto de 2016.

PEREIRA FAR, VELINI ED (2003). Sistemas de cultivo no Cerrado e dinâmica de populações de plantas daninhas. **Planta Daninha**, 21:3,355-363.

PESCOD MB (1992). **Wasterwater treatment and use in agriculture. Irrigation and Drainagem Paper 47**, FAO, Rome, 125 p.

PETOUSI I, FOUNTOULAKIS MS, SARU ML, NIKOLAIDIS N, FLETCHER L, STENTIFORD EI, MANIOS T (2015). Effects of reclaimed wastewater irrigation on olive (*Olea europaea* L.cv. 'Koroneiki') trees. **Agricultural Water Management**, 160:33-40.

POSADAS E, MORALES M, GOMEZ C, ACIÉN FG, MUÑOZ R (2015). Influence of pH and CO₂ source on the performance of microalgae-based secondary domestic wastewater treatment in outdoors pilotraceways. **Chemical Engineering Journal**, 265:239-248.

POZO M, AZCOÓN-AGUILAR C (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. **Current Opinion in Plant Biology**. 10:393-398.

RAIJ B, ANDRADE JC, CANTARELLA H, QUAGGIO JÁ (2001). **Análise química da fertilidade dos solos tropicais**. Campinas: IAC, 285 p.

REBOUÇAS JRL, DIAS NS, GONZAGA MIS, GHEYI HR, SOUSA NETO ON (2010). Cow pea cultivation irrigated with treated domestic wastewater. **Revista Caatinga**, 23:97-102.

RECH M, PANSERA MR, SARTORI VC, RIBEIRO RTS (2013). Microbiota do solo em vinhedos agroecológico e convencional e sob vegetação nativa em Caxias do Sul, RS. **Revista Brasileira de Agroecologia**, 8: 3.

REIS JUNIOR FB, MENDES LC, REIS VM, HUNGRIA M (2011). **Fixação biológica de nitrogênio: uma revolução na agricultura**. In: Faleiro, FG, de Andrade, SRM. Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária. Embrapa Cerrados, 730 p

RIBEIRO MCF, ROCHA FA, SANTOS AC, SILVA JO, PEIXOTO MFSP, PAZ VPS (2012). Growth and production of castor bean irrigated with different dilutions of domestic wastewater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16:639-646.

RIJSBERMAN FR (2006). Water scarcity: Fact or fiction? **Agricultural Water Management**. 80:5-22.

ROCHA REM, PIMENTEL MS, ZAGO VCP (2003). Evaluation of biosolid fed by municipal waste-water sludge as a fertilizer in kale. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 38:1435-1441.

RODRIGUES AC, SILVEIRA JAG, BONIFACIO A, FIGUEIREDO MVB (2013). Metabolism of nitrogen and carbon: Optimization of biological nitrogen fixation and cowpea development. **Soil Biology and Biochemistry**, 67:226e234.

RODRIGUES JÚNIOR CT, CARNEIRO MSS, MAGALHÃES JA; PEREIRA ES; RODRIGUES BHN, COSTA NL; PINTO MSC, ANDRADE AC; PINTO AP; FOGAÇA FHS, CASTRO KNC (2015). Production and chemical composition of Marandu grass in different periods of stockpiled and utilization. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, 36:3, suplemento 1, 2141-2154.

RODRIGUES LN, NERY AR, FERNANDES PD, BELTRÃO NE, GHEYI HR (2009). Growth and production of seeds of castor bean crop irrigated with domestic wastewater. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 13:825-835.

RODRIGUES OD (2007). **Influência da comunidade microbiana do solo no estabelecimento de saúveiros iniciais de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae)**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Dissertação, 64p.

RODRÍGUES-ECHEVERRÍA S, FREITAS H (2006). Diversity of AMF Associated with *Ammophila arenaria* ssp. *Arundinacea* in Portuguese Sand Dunes. **Mycorrhiza**, 16:543-552.

ROGÉRIO TV, SILVA MH; ENDO RM; FONSECA ICB (2002). Effects of the seed treatment and sowing depth on the development of Oat (*Avena sativa* L.) plant

regarding the microorganisms of the rhizosphere and of the rizoplane. **Revista Brasileira de Sementes**, 24:1:237-243.

RONQUIM CC (2010). **Conceitos de fertilidade do solo e manejo adequado para as regiões tropicais**. Embrapa Monitoramento por Satélite, Campinas/SP

SABINO DCC (2007). **Interação planta-bactéria diazotrófica na cultura de arroz**. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 54p.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, L. G (2008). Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 43: 1: 153-156.

SANTOS SS (2004). **Application of influence, through drip irrigation of wastewater treated in the coffee crop and soil**. Dissertação. Universidade Federal de Viçosa.

SANTOS JA, NUNES LAPL, MELO WJ, ARAÚJO ASF (2011). Tannery sludge compost amendment rates on soil microbial biomass of two different soils. **European Journal Soil Biology**, 47:146-151.

SANTOS JA, SANTOS VB, ARAÚJO ASF (2009). Changes in soil microbial activity and organic matter after application of sewage sludge. **Bioscience Journal**, 25: 2: 17 – 23.

SANTOS SS, SOARES AA, MATOS AT, MANTOVANI EC, BATISTA RO (2006). Effects from trickle application of treated sanitary sewage on the chemical characteristics of the soil. **Engenharia Agrícola**, 14:32-38.

SERAFIM RS (2010). **Produção e composição química da *Brachiaria Brizantha* cv Marandu adubada com água residuária de suinocultura**. Dissertação, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, 96p.

SERAFIM RS, GALBIATTI JA (2012). Efecto de la aplicación de la agua residual porcina en el pasto *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Revista Colombiana de Ciencia Animal**, Sincelejo, 4:1:185-203.

SILVA JGD (2010). **Chemical composition and productivity of Mombaça grass grown in different effluent blades of primary sewage treatment.** Dissertação. Universidade Federal de Viçosa, 67p.

SILVA JGD, MATOS AT, BORGES AC, PREVIERO CA (2012). Chemical bromatological composition and productivity of Mombaça grass (*Panicum maximum* cv. mombaca) submitted to different primary wastewater treatments of sanitary sewage. **Revista Ceres**, 59:606-613.

SILVA MBR, FERNANDES PD, DANTAS NETO J, NERY AR, RODRIGUES LN, VIÉGAS RA (2011). Growth and production of physic nut irrigated with wastewater, under water stress conditions. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 15:621-629.

SIMÕES KS, PEIXOTO MF, ALMEIDA AT, LEDO CA, PEIXOTO CP, PEREIRA FAC (2013). Treated wastewater from domestic sewage on soil microbial activity and growth of castor bean. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 17:5,518–523.

SIMON L, LALONDE M, BRUNS TD (1992). Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. **Applied and Environmental Microbiology**, 58: 291-295.

SMITH SDA (1996). The effects of domestic sewage effluent on marine communities at cofts harbour, new south wales, Australia. **Marine Pollution Bulletin**, 33:309-316.

SMITH SE, FACELLI E, POPE S, SMITH FA (2010). Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. **Plant Soil**, 326:3-20.

SOARES FILHO CV, RODRIGUES LRA, PERRI SHV (2002). Produção e valor nutritivo de dez gramíneas forrageiras na região Noroeste do Estado de São Paulo. **Acta Scientiarum**, 24:5:1377-1384.

SOUSA JT, DE CEBALLOS BSO, HENRIQUE IN, DANTAS JP, LIMA SMS (2006). Wastewater reuse in the production of green pepper. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 10:89-96.

SOUSA NETO ON, ANDRADE FILHO J, DIAS NS, REBOUÇAS JRL, OLIVEIRA FRA, DINIZ AA (2012). Fertigation of cotton with treated domestic sewage. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16:200-208.

SOUZA ARDL, MEDEIROS SR, MORAIS MG, OSHIRO MM, TORRES JÚNIOR RAA (2009). Dieta com alto teor de gordura e desempenho de tourinhos de grupos genéticos diferentes em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 44: 7, 746-753.

SOUZA JAA (2005). **Wastewater use of domestic origin in the coffee fertigation: effects on soil and plant**. Universidade Federal de Viçosa, 56p.

SOUZA JAA, BATISTA RO, RAMOS MM, SOARES AA (2011). Microbiological contamination of soil by sewage. **Acta Scientiarum Technology**, 33:5-8.

STACKEBRANDT E, RAINEY FA, WARD-RAINEY NL (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 47:479-491.

TAYLOR J, LUCY A, HARRIER A (2001). Comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonised by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology**, 18:205-215.

TCHOBANOGLIOUS G, BURTON F, STENSEL D. (2003), **Wastewater Engineering, Treatment and Reuse**. Metcalf and Eddy 4^o edição. McGraw-Hill. Boston, 2003. P 1044.

TEDESCO MJ, GIANELLO C, BISSANI CA, BOHNEN H, VOLKWEIS SJ (1995). **Soil analysis, plant and other minerals**, Porto Alegre, Departamento de Solos, UFRGS, 2 ed, 174.

THONGTHA S, TEAMKAO P, BOONAPATCHAROEN N, TRIPETCHKUL S, TECHKARNJARARUK S, THIRAVETYAN P (2014). Phosphorus removal from domestic wastewater by *Nelumbo nucifera* Gaertn and *Cyperus ternifolius* L. **Journal of Environmental Management**, 137:54-60.

THORNTHWAITE CW, MATHER JR (1955). **The water balance**. Centerton, NJ: Drexel Institute of Technology - Laboratory of Climatology, 104p. (Publications in Climatology, vol.VIII, n.1)

TIEDJE JM, CHO JC, MURRAY A, TREVES D, XIA B, AHOU J (2001). **Soil teeming with life: new frontiers for soil science**. In: Rees RM, Ball BC, Campebell CD, Watson CA. (Org.). Sustainable management of soil organic matter. Wallingford: CAB International. pp. 393-412.

TORRES DPC (2004). Aspects of biological treatment of domestic sewage. **Revista Científica de IMAPES**, 1:68-70.

TOZE S (2006). Reuse of effluent water – benefits and risks. Agric. **Water Manage**, 80:147-159.

UEDA T, SUGA Y, YAHIRO N, MATSUGUCHI T (1995). Remarkable N₂-fixing bacterial diversity detected in rice roots by molecular evolutionary analysis of *nifH* gene sequences. **Journal of Bacteriology**, 177: 1414–1417.

VALE JÚNIOR JF, FREITAS RMS, UCHÔA SCP, SOUZA MIL, CRUZ SOUZA DLS (2011). Atributos químicos e atividade microbiana em solos convertidos de savana para plantios de *Acacia mangium* Willd em Roraima. **Revista Agroambiente**, 5:1: 1-11.

VAL-MORAES SP (2008). **Impacto do lodo de esgoto na comunidade bacteriana do solo: avaliação por microarranjo de DNA**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (tese), 171p.

VAN DER HOEK W, HASSAN UM, ENSINK JHJ, FEENSTRA S, RASCHIDSALLY L, MUNIR S, ASLAM R, MATSUNO Y (2002). **Urban wastewater: A Valuable Resource for Agriculture**. A case study from Horoonabad, Pakistan. Research Report 63. Colombo, Sri Lanka: Internacional Water Management Institute.

VAN ELSAS JD, BOERSMA FGH (2011). A review of molecular methods to study the microbiota of soil and the mycosphere. **European Journal of Soil Biology**, 47:77-87.

VANCE CP (1998). **Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects**. In: Spaink, H.P. The Rhizobiaceae. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 509-530.

VÁZQUEZ MM, CÉSAR S, AZCÓN R, BAREA JM (2000). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. **Applied Soil Ecology**, 15:261-272.

VÉDRY B, GOUSAILLES M, AFFHOLDER M, LEFAUX A, BONTOUX J (2001). From sewage water treatment to wastewater reuse. One century of Paris sewage farms history. **Water Science & Technology**, 43:101-107.

VERMA N, TARAFDAR JC, SRIVASTAVA KK, PANWAR J (2008). Arbuscular Mycorrhizal (AM) Diversity in *Prosopis cinerária* (L.) Druce under Agroecosystems. **Agriculture Science China**, 7(6):754-761.

VIEIRA RF (2001). Sewage sludge effects on soybean growth and nitrogen fixation. **Biology and Fertility Soils**, 34:196-200.

VIEIRA RF, TSAI SM, TEIXEIRA MA (2004). **Sewage Sludge Effect on Growth and N₂ Simbiotic Fixation in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)**. Jaguariuna: Embrapa Meio Ambiente, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. 18 p.

VITOUSEK PM, HÄTTENSCHWILER S, OLANDER L, ALLISON S (2002). Nitrogen and Nature. **Ambio: A Journal of the Human Environment**, 31:97-101.

VON SPERLING M (2005). **Basic principles of wastewater treatment**. Belo Horizonte. DESA/UFMG. 211 p.

WANG C, SONG H, ZHANG Q, WANG B, LI A (2015). Parameter optimization based on capacitive deionization for highly efficient desalination of domestic wastewater biotreated effluent and the fouled electrode regeneration. **Desalination**, 365:407-415.

WANG H, WANG H (2009). Mitigation of lake eutrophication: loosen nitrogen control and focus on phosphorus abatement. **Progress in Natural Science**, 19(10):1445-1451.

WARTIAINEN I, ERIKSSONT, ZHENG W, RASMUSSE U (2008). Variation in the active diazotrophic community in rice Paddy *nif* H PCR-DGGE analysis of rhizosphere and bulk soil. **Applied Soil Ecology**, 39:65-75.

WHO (2004). Health **Guidelines for the use of wastewater in agriculture and aquaculture**. Geneva, Technical Report Serie N° 74. World Health Organization.

ZEHR JP, JENKINS BD, SHORT SM, STEWARD GF (2003). Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. **Environmental Microbiology**, 5:539-554.

8. ANEXOS

8.1 Publicação

<p>academicjournals</p> <p>Vol. 15(20), pp. 806-815, 18 May, 2016 DOI: 10.5897/AJB2015.15115 Article Number: 617838C58505 ISSN 1684-5315 Copyright © 2016 Author(s) retain the copyright of this article http://www.academicjournals.org/AJB</p>	<p>African Journal of Biotechnology</p>
--	--

Review

Fertigation with domestic wastewater: Uses and implications

José Geraldo Delvaux Silva¹, Joaquim José de Carvalho¹, José Maria Rodrigues da Luz² and José Expedito Cavalcante da Silva^{3*}

¹Doutorando em Biotecnologia e Biodiversidade do Programa de Pós-Graduação da Rede Bionorte- Universidade Federal do Tocantins –TO, Avenida NS 15, 109 Norte - Plano Diretor Norte, Palmas/TO, Brazil.

²Pós-doutor em Microbiologia Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brazil.

³Universidade Federal do Tocantins, Tocantins, Brazil.

Received 21 November, 2015; Accepted 28 April, 2016

The use of wastewater in agriculture is an alternative means of reducing wastewater release into water sources. This process, known as fertigation is an opportunity to make use of organic matter and other nutrients in wastewater for agricultural productivity. The presence of organic matter in these effluents serves as biofertilizer. Since 19th century in Britain, fertigation had been widely accepted due to the scarcity of water, the large amount of sewage produced and the concern about the final destination of wastewater. However, salinization, contamination of soil and agricultural products with the microbial pathogens and presence of heavy metals may limit the use of wastewaters in agricultural system. Thus, the plantation of agronomic varieties that do not have direct use as human food are optional cultivars, which may not have implications of fertigation with domestic wastewater. Fertigation with wastewater will be a nutritive support for the cultivation of *Brachiaria brizantha* cv Marandu in cerrado soil that is considered as low fertility soil. Soil microorganisms are fertility indicators. For example, nitrogen fixing bacteria (NFB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) has great potential to assist in the development of plant varieties under irrigation with domestic wastewater. These microorganisms are good parameters to be used in the analysis of changes that occur when sewage is applied into the soil. Furthermore, microbes contribute to the structuring of the soil, degradation of organic matter and nutrient availability to the biotic component of soil. Despite the limitations of fertigation with domestic sewage, it is a great alternative to use wastewater for nutritional enrichment to the soil that will be used for planting of agricultural crops of commercial interest.

Key words: *Brachiaria brizantha*, agriculture, salinization, diazotrophic bacteria, mycorrhizal fungi.

INTRODUCTION

Water is a natural resource that is essential to life, abundance in the country, it has its quantity and quality economic and social development. Although found in compromised, especially in metropolises that generate

*Corresponding author. E-mail: jecs@mail.uft.edu.br. Tel: +55-063.3232-8007.

Author(s) agree that this article remains permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

8.2 Ilustrações do experimento

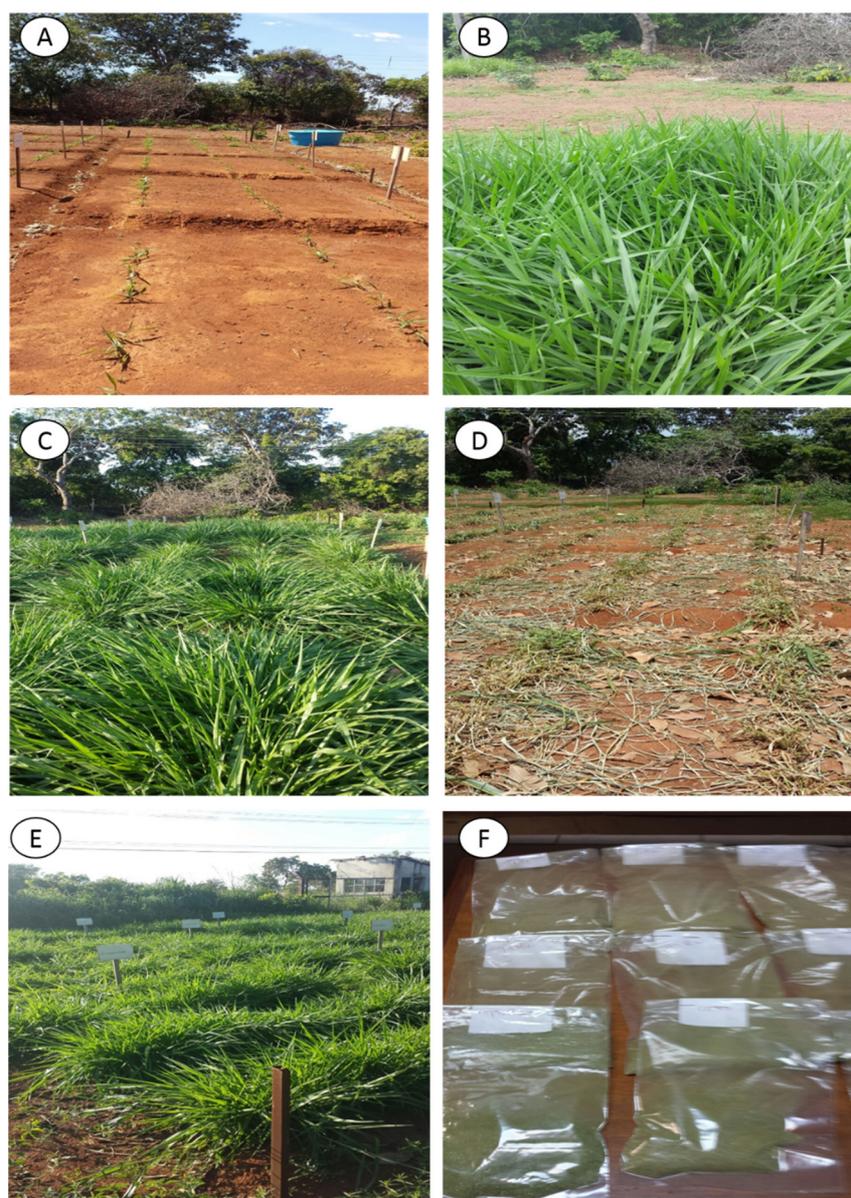


Figura S1: Ilustrações da evolução do experimento de fertirrigação do capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em solo do Cerrado com água residuária doméstica. Experimento foi realizado de maio de 2015 a fevereiro de 2016 na área experimental do Laboratório de Recursos Hídricos do Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA), localizado na cidade de Palmas-TO. A - Capim *Brachiaria brizantha* cv Marandu aos 57 dias (20 de agosto de 2015). B - Capim em novembro antes do 1º corte. C - Capim em 25 de dezembro na véspera do 2º corte. D- Um dia após o 2º corte (05 de janeiro de 2016). E – Capim na véspera do 3º corte. F – Amostras a serem encaminhadas ao Laboratório para análises química- bromatológica.

8.3 Procedimentos das análises estatísticas

Welcome to Minitab, press F1 for help.

Nested ANOVA: massa seca versus Tratamento; corte

Analysis of Variance for massa seca

Source	DF	SS	MS	F	P
Tratamento	4	2.36639E+07	5.91597E+06	0.800	0.552
corte	10	7.39806E+07	7.39806E+06	39.635	0.000
Error	45	8.39943E+06	186653.9126		
Total	59	1.06044E+08			

Variance Components

Source	Var Comp.	Total	StDev
Tratamento	-123507.886*	0.00	0.000
corte	1802851.934	90.62	1342.703
Error	186653.913	9.38	432.035
Total	1989505.847	1410.498	

* Value is negative, and is estimated by zero.

Expected Mean Squares

1 Tratamento	1.00(3) + 4.00(2) + 12.00(1)
2 corte	1.00(3) + 4.00(2)
3 Error	1.00(3)

One-way ANOVA: massa seca versus corte

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

corte 3 1; 2; 3

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
corte	2	65146858	32573429	45.40	0.000
Error	57	40897053	717492		
Total	59	106043911			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
847.049	61.43%	60.08%	57.27%

Means

corte	N	Mean	StDev	95% CI
1	20	1109.1	436.3	(729.8; 1488.3)
2	20	3142	1023	(2763; 3522)
3	20	3462	957	(3083; 3841)

Pooled StDev = 847.049

Interval Plot of massa seca vs corte

One-way ANOVA: massa seca versus Tratamento

Method

Null hypothesis All means are equal

Alternative hypothesis At least one mean is different

Significance level $\alpha = 0.05$

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor Levels Values

Tratamento 5 1; 2; 3; 4; 5

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamento	4	23663868	5915967	3.95	0.007
Error	55	82380043	1497819		
Total	59	106043911			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1223.85	22.32%	16.67%	7.55%

Means

Tratamento	N	Mean	StDev	95% CI
1	12	1322	650	(614; 2030)
2	12	2811	1461	(2103; 3520)
3	12	2908	1354	(2200; 3616)
4	12	2989	1136	(2281; 3697)
5	12	2825	1345	(2117; 3533)

Pooled StDev = 1223.85

Interval Plot of massa seca vs Tratamento

One-way ANOVA: massa seca versus corte

Method

Null hypothesis All means are equal
 Alternative hypothesis At least one mean is different
 Significance level $\alpha = 0.05$
 Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Levels	Values
corte	3	1; 2; 3

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
corte	2	65146858	32573429	45.40	0.000
Error	57	40897053	717492		
Total	59	106043911			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
847.049	61.43%	60.08%	57.27%

Means

corte	N	Mean	StDev	95% CI
1	20	1109.1	436.3	(729.8; 1488.3)
2	20	3142	1023	(2763; 3522)
3	20	3462	957	(3083; 3841)

Pooled StDev = 847.049

Interval Plot of massa seca vs corte