

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA CIVIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

ROBSON JOSÉ SILVA

**USO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO E LODO NO CULTIVO DE DUAS
ESPÉCIES DE FEIJÃO: BIOFORTIFICAÇÃO DOS GRÃOS E REDUÇÃO NA
INCIDÊNCIA DE PRAGAS**

Recife
2017

ROBSON JOSÉ SILVA

**USO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO E LODO NO CULTIVO DE DUAS
ESPÉCIES DE FEIJÃO: BIOFORTIFICAÇÃO DOS GRÃOS E REDUÇÃO NA
INCIDÊNCIA DE PRAGAS**

Tese apresentada ao curso de pós-graduação do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia Civil.

Área de concentração: Tecnologia Ambiental e Recursos Hídricos

Orientador: Prof. Dr. Mario Takayuki Kato

Coorientador: Prof. Dr. Clístenes Williams de Araújo Nascimento

Recife

2017

Catálogo na fonte
Bibliotecária Margareth Malta, CRB-4 / 1198

S586u Silva, Robson José.
Uso de esgoto doméstico tratado e lodo no cultivo de duas espécies de feijão: biofortificação dos grãos e redução na incidência de pragas / Robson José Silva. – 2017.
89 folhas, il., gráfs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Mario Takayuki Kato.
Coorientador: Prof. Dr. Clístenes Williams de Araújo Nascimento.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil, 2017.
Inclui Referências.

1. Engenharia Cívil. 2. *Phaseolus vulgaris* L. 3. *Vigna unguiculata* (L) Walp. 4. Reuso de água de esgoto. 5. Reator anaeróbio. 6. Biofortificação de grãos de feijão. 7. Trofobiose. I. Kato, Mario Takayuki. (Orientador). II. Nascimento, Clístenes Williams de Araújo. (Coorientador). III. Título.

UFPE

624 CDD (22. ed.)

BCTG/2017-165



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL

A comissão examinadora da Defesa de Tese de Doutorado

**USO DE ESGOTO DOMÉSTICO TRATADO E LODO NO CULTIVO DE DUAS
ESPÉCIES DE FEIJÃO: BIOFORTIFICAÇÃO DOS GRÃOS E REDUÇÃO
NA INCIDÊNCIA DE PRAGAS**

defendida por

Robson José Silva

Considera o candidato APROVADO

Recife, 31 de março de 2017

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Mario Takayuki Kato – UFPE
(orientador)

Prof. Dr. Ronaldo Stefanutti – UFC
(examinador externo)

Prof. Dr. Egídio Bezerra Neto – UFRPE
(examinador externo)

Prof.^a Dr.^a Kenia Kelly Barros da Silva – UFPE
(examinadora externa)

Prof. Dr. Wanderli Rogério Moreira Leite – UFPE
(examinador externo)

Dedico à minha filha Estela, minha princesa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, sempre!

À minha esposa Édila e aos meus pais Esterlita e Valdomiro.

Ao Prof. Mario Kato, que ao longo desses 10 anos de convivência sempre me ajudou a amadurecer profissionalmente, me ensinando a importância da pesquisa, da responsabilidade e do profissionalismo.

À professora Lourdinha Florêncio pelo exemplo, orientação e ensinamentos.

Ao professor Clístenes Williams Araújo do Nascimento (UFRPE), pela parceria, disponibilidade e sempre valiosas contribuições.

Ao professor Egídio Bezerra Neto (UFRPE) pela ajuda e atenção.

Ao professor Romulo Menezes (UFPE-DEN) pela parceria e atenção.

Aos agrônomos José Tabosa e José de Paula, ambos do Instituto Agrônômico de Pernambuco, pelas dicas e ajuda.

Aos meus queridos amigos-pilares Juliana Moraes, Ronaldo Fonseca, Elizabeth Pastich e Kênia Barros, pelo respeito, confiança e ajuda.

Aos meus queridos amigos-irmãos Marcus Vinícius Alves e Jucélia Tavares, pela amizade e confiança de sempre.

Aos meus queridos amigos-papo-cabeça Mariana Barbosa, Larissa Costa e Antônio Gustavo pelas conversas edificantes sobre ciência, projetos e sala de aula.

Aos meus queridos amigos-companheiros Poliana Andrade, Maximiliano Diogo, Edécio Souza, Danúbia Freitas, Nataly Cordeiro, Tayane Vasconcelos e Oucilane Ingret pelos convívios, amizades e brincadeiras.

Aos alunos de iniciação científica Thiago Freitas e Maria Gabriela, pela amizade, confiança, dedicação e apoio nos experimentos e parte analítica.

Aos alunos de iniciação científica Thalita Moura, Márcio Elisângelo e Lucas Caetano, pela amizade e dedicação na parte analítica.

Às sempre atenciosas Tamillys Lima, Marinalva Simões e Andrea Negromonte.

A todos os colegas do Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE pela convivência ao longo desses anos.

Ao técnico Luciano Paixão, operador da ETE Rio Formoso, pela valiosa ajuda na área experimental.

A persistência é o menor caminho do êxito.
(Charles Chaplin)

RESUMO

Avaliou-se a produtividade, a biofortificação e a trofobiose nas espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp., cultivadas com efluente e lodo de uma Estação de Tratamento de Esgotos Domésticos (ETE). A ETE é formada por reator UASB seguido de lagoa de polimento e filtros de pedra. O experimento com 10 tratamentos e 3 repetições cada, foi montado em blocos inteiramente casualizados no sistema fatorial 10 x 2. Os tratamentos T0, T1, T2 e T3 consistiram, respectivamente, na irrigação com água de abastecimento, água + adição de fertilizantes (NPK), água + inoculação com bactéria *Rhizobium* e água + inoculação com *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T4, T5 e T6 consistiram, respectivamente, na irrigação com efluente da ETE, efluente + *Rhizobium* e efluente + *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T7, T8 e T9 consistiram no uso de lodo do UASB, lodo + *Rhizobium* e lodo + *Rhizobium* + PK. Cada vaso contendo 10 kg de solo foi usado para cultivar 2 plantas, com irrigação controlada por peso. Dentre os tratamentos que apresentaram os melhores resultados de produtividade, biofortificação e baixo teor de substâncias solúveis nas folhas (combatendo a incidência de pragas), o tratamento T7 (somente com lodo) foi o grande destaque. O tratamento T4 (somente com efluente) obteve resultados bem melhores que o tratamento testemunha T0. Dessa forma, o uso do lodo e efluente apresentaram grande viabilidade no cultivo das espécies de feijão *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L. *Vigna unguiculata* (L) Walp. Reuso de água de esgoto. Reator anaeróbio. Biofortificação de grãos de feijão. Trofobiose.

ABSTRACT

The productivity, the biofortifying and the trofobiose were analyzed on two beans species: *Phaseolus vulgaris* L. and *Vigna unguiculata* (L) Walp, were cultivated with domestic sewage effluent and sludge from a treatment plant which is composed by an UASB reactor, a polishing pond and stone filters. The experiment consisted of ten treatments with three repetitions each, and was conducted in completely randomized resulting in a factorial system of 10 x 2. Treatments T0, T1, T2 and T3 consisted of using water supply, water + fertilizing (NPK), water + *Rhizobium* bacteria inoculation and water + *Rhizobium* + PK, respectively; treatments T4, T5 and T6, of effluent, effluent + *Rhizobium* and effluent + *Rhizobium* +PK, respectively; and treatments T7, T8 and T9, of UASB sludge, sludge + *Rhizobium* and sludge + *Rhizobium* + PK), respectively. Each vase, filled with 10 kg of soil, was used to cultivate two plants, with controlled irrigation by weight. Among the treatments that presented the best results of productivity, biofortification and low content of soluble substances in the leaves combating the incidence of pests, T7 treatment with sludge alone was of the best performance. The T4 with effluent alone showed better results than the T0 treatment. Therefore, the use of sludge and effluent showed to be very viable on the cultivation of the two beans, *P. vulgaris* L. and *V. unguiculata*.

Keywords: *Phaseolus Vulgaris* L. *Vigna Unguiculata* (L) Walp. Home sewage water. Anaerobic reactor. Biofortifying beans. Trofobiose.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 5.1:** Casa de vegetação DEN/UFPE, Recife-PE
- Figura 5.2:** Localização do município de Rio Formoso dentro do Estado de Pernambuco
- Figura 5.3:** Sistema de tratamento na ETE Rio Formoso
- Figura 5.4:** Montagem do experimento
- Figura 5.5:** (a) Plântulas após germinação; (b) Balança digital e vaso com solo; (c) Medidor analógico de umidade em solo
- Figura 6.1:** Comportamento da produtividade associada aos teores de N, P e K para as espécies *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*
- Figura 6.2:** Equivalência de tratamentos: peso de 1000 sementes para a espécie (a) *P. vulgaris* L. e (b) *V. unguiculata*
- Figura 6.3:** Tamanho médio das sementes *P. vulgaris* L. de cada tratamento, considerando amostragem de 100 sementes: T0 (A) = 0,55 cm, T1 (A+NPK) = 0,99 cm, T2 (A+I) = 0,61 cm, T3 (A + I + PK) = 0,73 cm, T4 (E) = 0,66 cm, T5 (E + I) = 0,65 cm, T6 (E + I + PK) = 0,99 cm, T7 (L) = 0,98 cm, T8 (L + I) = 0,97 cm e T9 (L + I + PK) = 1,12 cm
- Figura 6.4:** Tamanho médio das sementes *V. unguiculata* de cada tratamento, considerando amostragem de 100 sementes: T0 (A) = 0,61 cm, T1 (A+NPK) = 1,01 cm, T2 (A+I) = 0,63 cm, T3 (A + I + PK) = 0,79 cm, T4 (E) = 0,67 cm, T5 (E + I) = 0,67 cm, T6 (E + I + PK) = 1,05 cm, T7 (L) = 1,05 cm, T8 (L + I) = 0,99 cm e T9 (L + I + PK) = 1,13 cm
- Figura 6.5:** (a) Vaso de T1 (A + NPK) – *V. unguiculata*, com incidência de gafanhoto; (b) Gafanhoto coletado para identificação; (c) Gafanhoto da espécie *Meconema thalasinum*
- Figura 6.6:** Vaso de T1 (A + NPK) – *P. vulgaris* L., com incidência de lagarta; (b) Lagarta coletada para identificação; (c) Lagarta da espécie *Hedylepta indicata*
- Figura 6.7:** Vaso de T6 (E + I + PK) – *V. unguiculata*, com incidência de lagarta; (b) lagarta coletada para identificação; (c) Trata-se da lagarta rosca, espécie *Agrotis ipsilon*
- Figura 6.8:** Vaso de T3 (A + NPK) – *P. vulgaris* L., com incidência de lagarta; (b) lagarta coletada para identificação; (c) Lagarta cachorro, espécie *Podalia* sp

LISTA DE TABELAS

- Tabela 4.1:** Padrão do efluente recomendado para agricultura
- Tabela 4.2:** Diretrizes de qualidade microbiológica de efluentes usados na agricultura
- Tabela 4.3:** Parâmetros de DBO₅, sólidos suspensos, OD e coliformes fecais nas águas de irrigação para diferentes culturas em Israel
- Tabela 4.4:** Parâmetros de qualidade para águas residuárias destinadas ao uso agrícola
- Tabela 4.5:** Parâmetros de qualidade da água para consumo humano (potabilidade) e para outros usos
- Tabela 4.6:** Limites da legislação dos Estados Unidos para uso de biossólido de ETE na agricultura
- Tabela 4.7:** Valores limites de concentração de metais pesados para a reciclagem agrícola segundo a Proposta do Paraná
- Tabela 4.8:** Parâmetros para determinação do potencial agronômico do lodo segundo CONAMA 375/2006
- Tabela 4.9:** Valores limites de concentração de substâncias inorgânicas no lodo segundo CONAMA 375/2006
- Tabela 4.10:** Valores limites para agentes patogênicos no lodo de ETE
- Tabela 5.1:** Dados da ETE Rio Formoso
- Tabela 5.2:** Análises realizadas no efluente
- Tabela 5.3:** Análises realizadas no lodo
- Tabela 5.4:** Análises realizadas no solo
- Tabela 5.5:** Tratamentos aplicados ao experimento
- Tabela 5.6:** Métodos utilizados para determinação dos parâmetros bioquímicos
- Tabela 6.1:** Dados da ETE (artigo I)
- Tabela 6.2:** Tratamentos utilizados no cultivo das duas espécies de feijão (artigo I)
- Tabela 6.3:** Características físicas e químicas do solo utilizado no experimento (artigo I)
- Tabela 6.4:** Caracterização físico-química e microbiológica do efluente da ETE (artigo I)
- Tabela 6.5:** Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de UASB (artigo I)

- Tabela 6.6:** Caracterização físico-química e microbiológica da água de abastecimento (artigo I)
- Tabela 6.7:** Resultado do Teste de Tukey (5%) para MS, peso de 100 sementes e produto (artigo I)
- Tabela 6.8:** Resultado do Teste de Tukey (5%) para teor de N, P e K na matéria seca da parte aérea (artigo I)
- Tabela 6.9:** Tratamentos utilizados para as duas espécies de feijão (artigo II)
- Tabela 6.10:** Caracterização física do solo e sua fertilidade (artigo II)
- Tabela 6.11:** Caracterização físico-química do efluente da ETE (artigo II)
- Tabela 6.12:** Caracterização físico-química do lodo de UASB (artigo II)
- Tabela 6.13:** Caracterização físico-química da água de abastecimento (artigo II)
- Tabela 6.14:** Resultado do teste de Tukey (5%) para o parâmetro peso de 1000 sementes (artigo II)
- Tabela 6.15:** Resultado do teste de Tukey (5%) para teor de ferro, zinco e proteína bruta (artigo II)
- Tabela 6.16:** Tratamentos utilizados no cultivo das duas espécies de feijão (artigo III)
- Tabela 6.17:** Características físicas e químicas do solo utilizado no experimento (artigo III)
- Tabela 6.18:** Caracterização físico-química e microbiológica do efluente (artigo III)
- Tabela 6.19:** Caracterização físico-química e microbiológica do lodo (artigo III)
- Tabela 6.20:** Caracterização físico-química e microbiológica da água de abastecimento (artigo III)
- Tabela 6.21:** Resultado do Teste de Tukey (5%) para aminoácidos livres, proteína solúvel e açúcares redutores (artigo III)
- Tabela 6.22:** Resultado do Teste de Tukey (5%) para clorofila *a*, clorofila *b* e prolina (artigo III)

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AD – Água Disponível

APAC – Agência Pernambucana de Água e Clima

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CC – Capacidade de Campo

C/N – Relação carbono/nitrogênio

COMPESA – Companhia Pernambucana de Saneamento

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

COT – Carbono Orgânico Total

COV – Carga Orgânica Volumétrica

CRPH – Agência Estadual de Meio Ambiente de Pernambuco

CTC – Capacidade de Troca de Cátion

CV – Coeficiente de Variação

DQO – Demanda Química de Oxigênio

DS – Densidade do Solo

DP – Densidade da Partícula

ETE – Estação de Tratamento de Esgotos

IAP – Instituto Agrônomo do Paraná

IPA – Instituto Agrônomo de Pernambuco

LSA – Laboratório de Saneamento Ambiental

m – Percentagem de Saturação por Alumínio

MDA – Ministério de Desenvolvimento Agrário

MO – Percentual de matéria orgânica

MS – Matéria seca

NMP – Número máximo provável

N₂ – Nitrogênio gasoso

N_2O – Óxido nitroso

NH_3 – Amônia

NH_4^+ – Amônio

NO – Óxido nítrico

NO_2^- – Nitrito

NO_3^- – Nitrato

OD – Oxigênio Dissolvido

pH – Potencial Hidrogeniônico

PMP – Ponto de Murcha Permanente

PT – Porosidade Total

SB – Soma das Bases Trocáveis

ST – Sólidos Totais

STF – Sólidos Totais Fixos

TDH – Tempo de detenção hidráulico

UASB - Upflow Anaerobic Sludge Blanket

UFP – Unidade formadora de placa

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UFRPE – Universidade Federal Rural de Pernambuco

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

V – Percentagem de Saturação por Bases

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo Geral	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	HIPÓTESES	18
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
4.1	Estação de Tratamento de Esgoto Doméstico (ETE) composta por Reatores UASB seguido de Lagoa de Polimento e Filtros de pedra	19
4.2	Reuso de efluente doméstico na agricultura	21
4.3	Uso de lodo de ETE na agricultura	24
4.4	Biofortificação de alimentos	31
4.5	Cultura do feijão	34
4.6	Teoria da Trofobiose	36
5	MATERIAL E MÉTODOS	38
5.1	Área Experimental	38
5.2	Estação de Tratamento de Esgotos Rio Formoso	38
5.3	Solo	42
5.4	Espécies de feijão	43
5.5	Montagem e monitoramento do experimento	44
5.6	Parâmetros-resposta da planta	46
6	RESULTADOS E DISCUSSÕES	48
6.1	Artigo I: Uso de esgoto e lodo na produtividade de duas espécies de feijão	48
6.2	Artigo II: Biofortificação de duas espécies de feijão a partir do cultivo com efluente e lodo de ETE	60
6.3	Artigo III: Avaliação da trofobiose quanto às respostas bioquímicas de duas espécies de feijão cultivadas com esgoto tratado e lodo de ETE	71
7	CONCLUSÕES	83
	REFERÊNCIAS	85

1 INTRODUÇÃO

Tendo em vista o aumento constante de consumo, a disponibilidade de água em quantidade e qualidade satisfatória tem se tornado um dos maiores desafios enfrentados atualmente. Dentro desse contexto, a agricultura se destaca como uma atividade que demanda uma quantidade de água relativamente alta, especialmente em lugares onde as chuvas são escassas. Além disso, o uso irracional de fertilizantes minerais e agrotóxicos também contribui para a contaminação dos cursos de água.

A utilização de tecnologias apropriadas para o aproveitamento de fontes alternativas para usos menos restritos, constitui uma estratégia básica para a solução do problema da escassez. Dentro desse processo, os esgotos tratados (água e nutrientes) e a biomassa estabilizada (lodo de descarte) são considerados como fonte alternativa de uso, tendo papel fundamental no planejamento e na gestão sustentável dos recursos hídricos como um substituto para o uso de águas de irrigação.

Ao considerar os aspectos agronômicos, estão presentes na composição dos efluentes tratados e lodo, os principais nutrientes utilizados pelas plantas: N, P e K, além de outros igualmente importantes como, por exemplo, S, Ca e Mg. Em concentrações bem menores, também podem ser encontrados alguns metais: Fe, Cu, Zn e Mn, requeridos pelas plantas em pequenas quantidades.

No processo de tratamento de esgotos domésticos, inúmeras configurações são utilizadas atualmente, dentre elas podemos citar o sistema que comporta um reator UASB seguido de lagoa de estabilização. Nesta configuração, 60 a 80% da matéria orgânica presente originalmente no esgoto é degradada no reator anaeróbio, cabendo à lagoa de estabilização a remoção da matéria orgânica restante e dos sólidos suspensos remanescentes, de micro-organismos patogênicos e eventualmente de nutrientes. Devido à função de “polir” o efluente do reator anaeróbio, estas lagoas têm sido denominadas de lagoas de polimento (D’ Castro Filho, 2005).

O feijão é um alimento de excelente valor nutritivo, plantado principalmente para a produção de grãos visando o consumo humano. Mundialmente, representa uma importante fonte protéica na dieta dos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, particularmente nas Américas e no leste e sul da África.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada entre as demais do gênero *Phaseolus*. Considerando todos os gêneros e espécies englobados como feijão nas estatísticas da FAO (2011), este envolve cerca de 107 países produtores em todo o mundo. Considerando somente o gênero *Phaseolus*, o Brasil é o maior produtor, seguido do México.

Além da espécie *Phaseolus vulgaris* L., o Brasil também se destaca no plantio de *Vigna unguiculata* (L) Walp., ou feijão caupi, o qual pode ser cultivado tanto no clima seco do Nordeste, como no clima úmido do Norte. Em outros países o caupi tem diversas utilidades, sendo aproveitadas todas as partes da planta (raízes, folhas, caules, vagens e grãos) para o consumo humano.

Segundo a Rede BioFort (2014), o consumo em quantidades de média a alta de feijão está sendo associado à diminuição do desenvolvimento de doenças como diabete, obesidade, doenças cardiovasculares e até mesmo neoplasias. Atualmente, estão sendo trabalhadas importantes características de produtividade que, quando combinadas com melhor valor nutricional, resultarão no desenvolvimento de novas variedades de feijão, mais nutritivas e mais atraentes aos agricultores. A biofortificação tem se focado nas estratégias de melhoria nutricional, sobretudo nos teores de ferro e zinco.

No processo do cultivo, os fatores mais importantes associados à baixa produtividade do feijoeiro estão relacionados com as doenças, podendo reduzir consideravelmente a produção desta cultura. Dentre as estratégias do manejo integrado de doenças, a resistência genética é a alternativa mais considerada atualmente, diminuindo o uso indiscriminado de defensivos agrícolas.

De acordo com a teoria da trofobiose, a adubação mineral e o uso de agrotóxicos provocam inibição na síntese de proteínas, causando acúmulo de nitrogênio e aminoácidos livres no suco celular e na seiva da planta, alimento que pragas utilizarão para se proliferar. Silva (2011) em seu experimento com mudas de eucalipto, observou o aparecimento de larvas e lagartas naqueles clones que receberam fertilização mineral e foram irrigados com água, enquanto os clones irrigados apenas com esgoto tratado não sofreram nenhum ataque.

Dessa forma, este trabalho propõe o uso do esgoto tratado e do lodo de esgoto não só como uma alternativa de economia no uso de fertilizantes, mas também como uma alternativa de manejo integrado na biofortificação do feijão e no controle de pragas, tendo em vista que uma planta apresentando maior resistência, solicitará cada vez menos o uso de agrotóxicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso de esgoto doméstico tratado e lodo na biofortificação do feijão e no combate à incidência de pragas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o crescimento e a produtividade da cultura do feijão a partir do uso do efluente de esgoto tratado e lodo em diversas configurações de fertirrigação (efluente) e adubação (lodo);
- Estudar o uso do efluente de esgoto tratado e lodo na biofortificação do feijão através da avaliação nutricional dos grãos;
- Estudar o uso do efluente de esgoto tratado e lodo no combate à incidência de pragas através da avaliação de parâmetros bioquímicas da planta (teoria da trofobiose);
- Determinar a absorção de macro e micronutrientes em plantas de feijão fertirrigadas com efluente de esgoto tratado e lodo.

3 HIPÓTESES

- A fertirrigação com efluente de esgoto tratado e adubação com lodo promove a biofortificação dos grãos de feijão com Fe, Zn e proteína;
- A fertirrigação com efluente de esgoto tratado e adubação com lodo combate a incidência de pragas e insetos (teoria da trofobiose) a partir da redução da produção de aminoácidos livres e açúcares, diminuindo a necessidade do uso de agrotóxicos;
- Os tratamentos com efluente tratado e lodo provocam acúmulo de macro e micronutrientes em grãos, planta e solo.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Estação de tratamento de esgoto doméstico (ETE) composta por reatores UASB seguido de lagoa de polimento e filtros de pedra

As ETE's são formadas por unidades de tratamento, cuja principal função, em princípio, é produzir um efluente final que possa ser lançado num corpo receptor sem oferecer riscos ao meio ambiente. Dentro desse processo, inúmeras configurações de tratamento são utilizadas. Uma estação composta por reatores UASB seguido de lagoa de polimento e filtros de pedra configura um sistema de tratamento a nível terciário, cuja remoção de matéria orgânica (DBO) pode chegar a 99% (CETESB, 1999).

A tendência de uso de reatores anaeróbios como unidade principal de tratamento biológico nas ETEs, se deve, principalmente, à constatação de que é considerável a fração de matéria orgânica removida sem o dispêndio de energia ou adição de substâncias químicas auxiliares (Silva, 2011). O bom desempenho desses reatores é consequência da retenção dos microorganismos em seu interior e da digestão anaeróbia, onde os compostos orgânicos complexos são degradados e convertidos em gases metano (60 a 70%), dióxido de carbono (30 a 40%) e outros subprodutos mineralizados (Campos, 2006).

Nos reatores anaeróbios de fluxo ascendente com manta de lodo (UASB), os microorganismos são fisicamente organizados em aglomerados bacterianos, em grânulos biológicos, ou em biofilme retidos dentro do sistema (Montenegro et al, 2003), de forma que as características hidrodinâmicas possibilitam elevado tempo de retenção celular e acomodam altas cargas orgânicas volumétricas, com tempo de detenção hidráulica curto, da ordem de horas (Foresti, 1994).

Apesar da grande aceitação e de todas as vantagens inerentes aos reatores anaeróbios tipo UASB, permanece nestes sistemas uma grande dificuldade em produzir, isoladamente, um efluente dentro dos padrões estabelecidos pela legislação ambiental. De forma similar à maioria dos processos compactos de tratamento, os reatores UASB, ainda que adequados à remoção da matéria carbonácea dos esgotos, não são eficientes na remoção de nutrientes (N e P) e na eliminação de organismos patogênicos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos), necessitando, portanto, de uma etapa de pós-tratamento de seus efluentes (Silva, 2007). Neste

caso, aconselha-se utilizar lagoas para polimento do efluente de reatores UASB, configurando o sistema de tratamento a nível secundário.

No tratamento complementar em lagoas de maturação, os aspectos mais importantes são a qualidade do efluente, refletida pelo número de coliformes fecais e ovos de helmintos, além da remoção dos resíduos de material orgânico e sólidos em suspensão e, eventualmente, a remoção de nutrientes (Van Haandel e Lettinga, 1994).

A quantidade de algas e nutrientes, tal como nitrogênio e fósforo, presentes no efluente de lagoa ainda é alvo de avaliação e monitoramento, tendo em vista que o efluente ainda pode provocar no corpo receptor o fenômeno da eutrofização.

Esses aspectos relacionados à eutrofização apresentam discussões motivadas principalmente por causa da problemática da produção e liberação de toxinas, que podem afetar a saúde humana, tanto pela ingestão de água, consumo de animais contaminados ou ainda pelo contato em atividades de recreação no ambiente (Chorus e Bartram, 1999).

Em virtude dessas prerrogativas, o pós-tratamento da lagoa por meio da filtração, pode ser uma opção a ser explorada. Uma alternativa viável é o uso de filtros como material suporte.

Os filtros são arranjos atribuídos por estratos de pedras, expondo granulometria entre 75 a 200 mm (EPA, 2002) e tem como seu principal objetivo a remoção de algas e sólidos encontrados no efluente de lagoa de estabilização.

Quanto ao fluxo, podem ser de curso vertical ou horizontal. Os filtros de fluxo vertical concebem melhor desempenho em relação aos filtros de fluxo horizontal, contudo a maioria dos sistemas operacionais delineados é do tipo fluxo horizontal, com o leito de pedras instalado no final do sistema, após a lagoa de estabilização (EPA, 2002).

A remoção de sólidos suspensos por filtros oferece um tratamento superior aos métodos básicos de sedimentação e representa uma alternativa atraente para os métodos convencionais mais caros, tal como o método de coagulação (Patil et al., 2012).

Considerando um efluente de ETE com teores de sólidos suspensos reduzidos, livre da ação de patogênicos e que apresenta certos teores de nutrientes como N, P e K, o reuso de água de esgoto na agricultura acaba sendo uma ótima prática de destinação. Nessas condições se enquadra o efluente da estação de tratamento de esgotos localizada no município de Rio Formoso/PE (ETE Rio Formoso), utilizado neste trabalho.

4.2 Reuso de efluente doméstico na agricultura

A qualidade exigida para um efluente de uma ETE depende do uso previsto para este. Dentre as diversas possibilidades de uso de água residuária, Hespanhol (2003) destaca como as mais significativas no Brasil: em área urbana (irrigação, proteção contra incêndio, controle de poeira, construção civil, diluição de dejetos, etc.), uso industrial (resfriamento, caldeiras, lavagens diversas, irrigação, processos industriais, etc.), uso agrícola e recarga de aquíferos.

Atualmente, a agricultura depende do suprimento de água de tal forma, que não poderá ser mantida sem que critérios inovadores de gestão sejam estabelecidos e implantados a curto prazo. Com base neste aspecto, o uso consciente e planejado de águas de drenagem agrícola, salobras, de chuva e, principalmente, esgotos domésticos e industriais, constitui o mais moderno e eficaz instrumento de gestão dos recursos hídricos nacionais (Barros, 2011).

A qualidade físico-química exigida para um efluente que se pretende utilizar na agricultura depende basicamente das características do solo e da cultura a ser irrigada; enquanto a qualidade sanitária deve assegurar o controle de micro-organismos patogênicos e, assim, a proteção da saúde pública (D' Castro Filho, 2005).

A Tabela 4.1 a seguir define os parâmetros de DBO e coliformes termotolerantes para os diferentes métodos de reuso.

Tabela 4.1: Padrão do efluente recomendado para a irrigação

Métodos de Reuso	DBO (mg L ⁻¹)	Coliformes termotolerantes* (CF/100 mL)
Irrigação de árvores, algodão e outras colheitas não comestíveis	60	50.000
Irrigação de citricultura, forragens e castanhas	45	10.000
Irrigação de cana-de-açúcar, campos de esporte e vegetais que não necessitam de cozimento	35	1.000
Irrigação não restrita, incluindo parques e jardins	25	100

Fonte: Kellner; Pires (1998); *Concentrações não devem exceder 80% das amostras

Nos EUA, as normas são diferentes de estado para estado. Entre eles, a Califórnia tem a maior experiência de reúso. O Departamento de Saúde Pública do Estado em 1978 publicou a norma “Wastewater Reclamation Criteria” a qual legislava sobre efluentes de estação de tratamento de esgotos que fossem utilizados para irrigação de culturas.

Baseada em estudos epidemiológicos, em 1989 a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou as recomendações “Health Guidelines for the Use of Wastewater in Agriculture and Aquaculture” nas quais os padrões microbiológicos mostrados na Tabela 4.2 foram sugeridos (WHO, 1989).

Tabela 4.2: Diretrizes de qualidade microbiológica de efluentes usados na agricultura

Categoria	Condições de reuso	Nematódeos intestinais (un L⁻¹)	Coliformes termotolerantes (/100 mL)
A	Irrigação de culturas ingeridas cruas, campos de esporte e parques públicos	≤1	≤1.000
B	Irrigação de culturas de cereais, forragens, pastos e árvores	≤1	–
C	Irrigação localizada de culturas da categoria B, desde que não ocorra exposição dos trabalhadores e do público	–	–

Fonte: WHO (1989)

Segundo Sarikaya et al. (1998), em Israel as exigências são mais detalhadas, embora existam muitas semelhanças com os padrões californianos. Os parâmetros de DBO₅ total e dissolvida, sólidos suspensos, OD e coliformes são definidos a partir de determinados grupos de culturas (Tabela 4.3).

Tabela 4.3: Parâmetros de DBO₅, sólidos suspensos, OD e coliformes termotolerantes nas águas de irrigação para diferentes culturas em Israel

Grupos	A	B	C	D
Principais culturas	Algodão, beterraba, cereais, forragens secas, sementes, irrigação florestal	Forragem verde, azeitonas, frutas cítricas, bananas, nozes, etc.	Frutos de folhas caducas**, legumes, campos de futebol e campos de golfe	Culturas sem restrições, vegetais de consumo cru, parques e gramados
DBO₅ total	60*	45*	35	15
DBO₅ dissolvida	–	–	20	10
Sólidos suspensos	50*	40*	30	15
OD	0,5	0,5	0,5	0,5
Coliformes	–	–	250	12 (80%)

Fonte: Sarikaya et al. (1998); *Normas diferentes são aplicadas para as lagoas com o tempo de detenção de pelo menos 15 dias; **Irrigação deve ser suspensa duas semanas antes da colheita da fruta.

Segundo a CETESB (São Paulo, 2005), as águas residuárias destinadas ao uso agrícola devem atender aos seguintes parâmetros de qualidade (Tabela 4.4).

Tabela 4.4: Parâmetros de qualidade para águas residuárias destinadas ao uso agrícola

Parâmetros		Concentrações
Cobre	mg L ⁻¹	0,2
Ferro		5,0
Manganês		0,2
Sódio		69
Zinco		2,0
N – amoniacal total		20
Condutividade elétrica	dS cm ⁻¹	< 2,9 (a 25° C)
RAS	mmol _c L ⁻¹	< 12

Fonte: CETESB (São Paulo, 2005)

A maior parte do N presente nas águas residuárias está na forma orgânica, a qual pode ser mineralizada após sua disposição no solo. Essa mineralização ocorre por meio de hidrólise enzimática, que é produzida pela atividade da microbiota do solo e de outros processos de degradação do material orgânico (Santos et al., 2006).

A mineralização do N – orgânico presente nas águas residuárias libera para o solo íons inorgânicos como o nitrato (NO₃⁻) e o amônio (NH₄⁺), que, em excesso, podem contaminar águas superficiais e subterrâneas. Por essa razão, o NO₃⁻ normalmente é utilizado como indicador de contaminação de águas subterrâneas em áreas onde há aplicação do efluente tratado no solo, já que é um ânion que apresenta grande mobilidade e pode ser lixiviado em grandes quantidades, podendo contaminar os aquíferos. O NO₃⁻ apresenta alta persistência e pela mobilidade pode provocar a contaminação de áreas extensas, tornando a remediação dessas águas mais lenta e onerosa (Barros, 2011).

A Resolução N° 396 do CONAMA (Brasil, 2008) estabelece que a aplicação e disposição de efluentes e de resíduos no solo deverão observar os critérios e exigências definidas pelos órgãos competentes e não poderão conferir às águas subterrâneas características em desacordo com o seu enquadramento. Os Valores Máximos Permitidos (VMP) de alguns parâmetros de potabilidade estão descritos na Tabela 4.5.

Tabela 4.5: Parâmetros de qualidade da água para consumo humano (potabilidade) e para outros usos

Parâmetros		VMP Consumo humano	VMP Dessententação animal	VMP Irrigação	VMP Recreação
Cu dissolvido	mg L ⁻¹	2,0	0,5	0,2	1,0
Fe dissolvido		0,3	–	5,0	0,3
Mn dissolvido		0,1	0,05	0,2	0,1
N – NO₃		10,0	90,0	–	10,0
Na		200,0	–	–	300,0
Zn total		5,0	24,0	2,0	5,0

Fonte: RESOLUÇÃO n. 396, CONAMA (Brasil, 2008)

4.3 Uso de lodo de ETE na agricultura

Dentre as diversas alternativas de disposição final de lodo de esgoto, o uso agrícola se destaca por sua economicidade e adequação ambiental, observados determinados critérios ambientais e sanitários (Andreoli et al, 1997).

Há uma clara tendência mundial na exigência pelas normatizações de maiores níveis de qualidade do lodo para a sua reciclagem agrícola, que se reflete em uma melhoria da qualidade dos biossólidos produzidos (Cunha e Neto, 2000).

A atual regulamentação norte-americana para uso e disposição de biossólidos derivados de esgoto sanitário serviu como primeira referência para São Paulo. Trata-se da 40 CFR Part 503 (Código de Regulamentos Federais n° 40, Seção 503), promulgada pela Agência Ambiental dos Estados Unidos (USEPA). Foram também consultadas as normas do DEHNR – North Carolina Department of Environmental, Health and Natural Resources – Agência Ambiental do Estado da Carolina do Norte e do DHEC – Department of Health and Environmental Control – Agência Ambiental da Carolina do Sul.

Tanto na Comunidade Econômica Européia (CEE) como nos Estados Unidos é consensual limitar o uso agrícola conforme as concentrações de um pequeno número de metais pesados: cádmio, chumbo, cobre, mercúrio, níquel e zinco. Além destes, os EUA também controlam o arsênio, o selênio e o molibdênio. O cromo era limitado na diretiva da comunidade européia 86/278/EEC de 04/07/86 e também na versão original da “Part 503”, de 19/02/93. Posteriormente foi retirado de ambas as regulamentações, mas o Canadá é um dos países que

ainda o controla. Além daquele elenco de metais comuns, a França controla a soma das concentrações de Cr, Cu, Zn e Ni e o Canadá regulamenta o Co e o Mo. Na Alemanha existem limites para os TOX (halogenados orgânicos absorvíveis), os PCB's (bifenilas policlорados) e os PCDD/PCDF's (dioxinas e furanos).

Com relação à higienização dos bioossólidos, as normatizações usualmente incluem a contagem dos ovos de helmintos, além de presença de coliformes fecais, *Salmonella sp.* e vírus (Santos, 1996).

Outras diferenças importantes referem-se ao solo e ao clima. Nos países de clima temperado e normalmente mais desenvolvidos, os solos são geralmente neutros ou alcalinos e ricos em fósforo. No Brasil, cujo clima é tropical e subtropical, os solos são predominantemente ácidos, o que implica em maior solubilidade dos metais pesados, além de pobres em fósforo. Os constituintes químicos do lodo que necessitam de monitoramento devem ser definidos de acordo com as condições locais.

Estados Unidos

A norma americana estipula que devem ser exercidos os seguintes controles sobre os bioossólidos das ETEs:

- Poluentes químicos, com os respectivos limites para as concentrações máximas em bioossólidos;
- Vetores, com aplicação de processos de tratamento dos bioossólidos que venham a diminuir a atração por vetores;
- Patógenos, com redução significativa (PSRP – Process to Significantly Reduce Pathogens) ou redução avançada (PFRP – Process to Further Reduce Pathogens). No primeiro caso são denominados bioossólidos de classe B, sendo aplicáveis sob restrições de local, de tipo de cultura e de acesso público. No segundo caso, são bioossólidos de classe A, sendo exigido que também tenham passado por processos de tratamento e atendam aos limites microbiológicos.

A Tabela 4.6 resume os principais critérios da norma dos Estados Unidos referente ao uso agrícola dos bioossólidos.

Tabela 4.6: Limites da legislação dos Estados Unidos para uso de biossólido de ETE na agricultura

Parâmetro	Concentrações máximas no biossólido (mg kg ⁻¹ , base seca)	Taxas máximas de aplicação acumulativas (kg ha ⁻¹)	Taxas máximas de aplicação anual (kg ha ⁻¹)
Arsênio	75	41	2,0
Cádmio	85	39	1,9
Cobre	4300	1500	75
Chumbo	840	300	15
Mercúrio	57	17	0,85
Molibdênio	75	-	-
Níquel	420	420	21
Selênio	100	100	5,0
Zinco	7500	2800	140

Fonte: Cunha e Neto (2000)

Brasil

Dentre os estados brasileiros que já buscam disciplinar o uso agrícola do lodo destacam-se o Paraná e São Paulo. No Paraná, por exemplo, a Proposta de Licenciamento Ambiental da Gestão Agrícola do Biossólido exige que todas as ETEs apresentem ao IAP (Instituto Ambiental do Paraná) um plano para destino final dos seus biossólidos. Conceituam-se como ETE's de grande porte aquelas que produzem mais de 240 t/ano (base seca) de resíduo. Para esses casos o IAP exige um “Plano de Reciclagem Agrícola do Biossólido de Esgoto”.

A proposta da norma paranaense é bastante específica quanto à forma de higienização do biossólido (prevendo os processos de caleação ou compostagem) e quanto à necessidade de estocar o produto. O tempo de estocagem será determinado pela demanda do produto na região. O período mínimo previsto para a armazenagem no caso de higienização através da caleação é de um mês; o piso da área deve impedir infiltração no solo e ser coberto com lona. A estocagem pode ser feita em área coberta de acordo com o porte das ETEs (Andreoli et al, 2003).

A proposta paranaense definiu os limites admissíveis de metais pesados, de acordo com a Tabela 4.7.

Tabela 4.7: Valores limites de concentração de metais pesados para a reciclagem agrícola segundo a Proposta do Paraná

Elemento	Teor limite no biossólido (mg kg⁻¹ de matéria seca)
Cd	20
Cu	1000
Ni	300
Pb	750
Zn	2500
Hg	16
Cr	1000

A Resolução CONAMA 375, de 29 de agosto de 2006, define critérios e procedimentos para uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. Na Seção I/Artigo 7º da Resolução, os Parágrafos 1º, 2º, 5º e 6º, estabelecem os parâmetros para a caracterização do potencial agrônômico do lodo, caracterização química quanto à presença de substâncias inorgânicas, micro-biológica e estabilidade, respectivamente. A Tabela 4.8 expressa os parâmetros que deverão ser determinados para caracterização do potencial agrônômico e critério de estabilidade para fins de utilização agrícola.

Tabela 4.8: Parâmetros para determinação do potencial agrônômico do lodo segundo CONAMA 375/2006

Parâmetros
Carbono orgânico
Fósforo total
Nitrogênio amoniacal
Nitrogênio nitrato/nitrito
Nitrogênio total ou Nitrogênio Kjeldahl
pH
Potássio
Sódio
Enxofre
Cálcio
Magnésio
Umidade
Sólidos voláteis e totais*

* O lodo de esgoto será considerado estável se a relação entre sólidos voláteis e sólidos totais for inferior a 0,70 (Parágrafo 6º).

Na Seção III, o Artigo 11 da Resolução trata dos limites máximos para a concentração de substâncias inorgânicas no lodo, conforme Tabela 4.9.

Tabela 4.9: Valores limites de concentração de substâncias inorgânicas no lodo segundo CONAMA 375/2006

Parâmetros	Concentração máxima permitida no lodo de esgoto (mg kg⁻¹, base seca)
Arsênio	41
Bário	1300
Cádmio	39
Cobre	300
Cromo total	1500
Mercúrio	1000
Molibdênio	17
Níquel	50
Selênio	420
Sólidos voláteis	100
Zinco	2800

Ainda na Seção III, o Artigo 11 da Resolução trata dos indicadores de qualidade sanitária, conforme Tabela 4.10.

Tabela 4.10: Valores limites para agentes patogênicos no lodo de ETE

Patógenos	Limite
Coliformes termotolerantes	10 ³ NMP/g de ST
Ovos viáveis de helmintos	0,25 ovo/g ST
<i>Salmonella</i> sp.	ausência em 10 g de ST
Vírus	0,25 UFP ou UFF/g de ST

Os processos para redução de agentes patogênicos e atratividade de vetores recomendados pela Resolução foram baseados no estabelecido pela USEPA, conforme 40 CFR Part 503-Appendix B, Federal Register, 19/Feb/1993. Para produção de biossólido por Processos de Redução Significativa de Patógenos – PSRP, temos:

- Digestão aeróbia – a ar ou oxigênio, com retenções mínimas de 40 dias a 20°C ou por 60 dias a 15°C;
- Secagem em leitos de areia, durante um período mínimo de 3 meses;

- Digestão anaeróbia por um período mínimo de 15 dias a 35-55°C ou de 60 dias a 20°C;
- Compostagem confinada, ou pela pilha estática aerada, ou pelo revolvimento de leiras, desde que, a biomassa atinja uma temperatura mínima de 40°C, durante pelo menos cinco dias, com ocorrência de um pico de 55°C, ao longo de quatro horas sucessivas;
- Estabilização com cal, mediante a adição suficiente para que o pH seja elevado até pelo menos 12, por um período mínimo de 12 horas.

Para produção de biossólido por Processos de Redução Adicional de Patógenos – PRP, temos:

- Compostagem confinada ou em leiras aeradas (3 dias a 55°C no mínimo) ou com revolvimento das leiras (15 dias a 55°C no mínimo, com revolvimento mecânico da leira durante pelo menos 5 dias ao longo dos 15 do processo);
- Secagem térmica direta ou indireta para reduzir a umidade do lodo de esgoto ou produto derivado a 10% ou menos, devendo a temperatura das partículas de lodo de esgoto ou produto derivado superar 80°C ou a temperatura de bulbo úmido de gás, em contato com o lodo de esgoto ou produto derivado no momento da descarga do secador, ser superior a 80°C;
- Tratamento térmico pelo aquecimento do lodo de esgoto ou produto derivado líquido a 180°C, no mínimo, durante um período de 30 minutos;
- Digestão aeróbia termofílica a ar ou oxigênio, com tempos de residência de 10 dias a temperaturas de 55 a 60°C;
- Processos de irradiação com raios beta a dosagens mínimas de 1 megarad a 20°C, ou com raios gama na mesma intensidade e temperatura, a partir de isótopos de Cobalto 60 ou Césio 137;
- Processos de pasteurização, pela manutenção do lodo de esgoto ou produto derivado a uma temperatura mínima de 70°C, por um período de pelo menos 30 minutos.

A Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) criou a norma Aplicação de Lodos de Sistemas de Tratamento Biológico em áreas Agrícolas, conforme ementa de normas técnicas publicada no D.O. de 4/12/99. A mesma ressalta que outros métodos de tratamento do lodo poderão ser propostos, desde que haja comprovação da sua eficiência pelo

acompanhamento do processo. A norma da CETESB (1999) tem como objetivo estabelecer os procedimentos, critérios e requisitos para a elaboração de projetos, implantação e operação de sistemas de aplicação de lodos, visando o atendimento de exigências ambientais aplicadas em todos os sistemas operados no Estado de São Paulo. Esta norma não se aplica a lodos de tanques sépticos, resíduos do gradeamento e resíduos de caixas de areia.

Em relação às culturas que podem ser atendidas, a norma paranaense (Proposta, 2000) destaca as mais aptas:

- Grandes culturas, consumidas após a industrialização e as não consumidas “in natura”, tais como: milho, feijão, soja, sorgo, canola, trigo, aveia, cevada, forrageiras para adubação verde
- Reflorestamentos
- Produção de grama, com bio sólido sendo incorporado ao solo no mínimo 3 meses antes da retirada das leivas
- Fruticultura, na implantação dos pomares, quando a incorporação for feita em covas. Para adubação de manutenção, o bio sólido deve ser aplicado em época anterior à frutificação e incorporado ao solo.
- Áreas degradadas, em dosagens que respeitem o valor máximo de acúmulo de metais.

A normalização brasileira (CONAMA/CETESB/Proposta Paraná) exige a recomendação agrônômica para todas as aplicações de bio sólidos, onde deve ser especificada a dose com base na análise do solo. O critério básico para esta recomendação é o teor de nitrogênio existente no lodo e as necessidades da cultura.

Um dos critérios para determinação da aplicação de bio sólido é em função do nitrogênio disponível; a aplicação ($t\ ha^{-1}$) não pode exceder o quociente entre a quantidade de nitrogênio recomendada para a cultura (em $kg\ ha^{-1}$) e o teor de nitrogênio disponível no lodo (N_{DISP} em $kg\ t^{-1}$).

$$\text{Taxa de aplicação (t ha}^{-1}\text{)} = \frac{N_{RECOMENDADO} (kg\ ha^{-1})}{N_{DISP} (kg\ t^{-1})} \quad (\text{Eq.1})$$

Para calcular o N_{DISP} (Eq.2) deve-se conhecer a fração de mineralização do nitrogênio (FM) (%), a qual pode ser especificamente encontrada para o bio sólido em questão ou adotada a partir de dados da literatura. É necessário também determinar as frações de nitrogênio ($mg\ kg^{-1}$)

¹⁾ em laboratório, onde o nitrogênio orgânico é a diferença entre o nitrogênio total Kjeldahl e o nitrogênio amoniacal ($N_{\text{ORGÂNICO}} = N_{\text{NTK}} - N_{\text{NH}_3}$).

Para aplicação superficial:

$$N_{\text{DISP}} = (FM/100) (N_{\text{NTK}} - N_{\text{NH}_3}) + 0,5 (N_{\text{NH}_3}) + (N_{\text{NO}_3} + N_{\text{NO}_2}) \quad (\text{Eq. 2})$$

Para aplicação subsuperficial, onde o biossólido líquido é injetado no terreno, o rendimento é maior, podendo-se esperar o uso da totalidade do nitrogênio amoniacal presente no biossólido:

$$N_{\text{DISP}} = (FM/100) (N_{\text{NTK}} - N_{\text{NH}_3}) + (N_{\text{NH}_3}) + (N_{\text{NO}_3} + N_{\text{NO}_2}) \quad (\text{Eq. 2'})$$

As concentrações utilizadas nestes cálculos devem ser em mg do parâmetro de biossólido em base seca ou kg por tonelada.

Para as frações de mineralização FM, são recomendadas:

- Lodo de esgoto não digerido: 40
- Lodo de esgoto digerido aerobiamente: 30
- Lodo de esgoto digerido anaerobiamente: 20
- Lodo de esgoto compostado: 10

4.4 Biofortificação de alimentos

Mais de 1,02 bilhões de pessoas não consomem alimentos em quantidade suficiente para suprir suas necessidades diárias básicas de energia. A estratégia atual para combater a desnutrição nos países em desenvolvimento tem como enfoque o fornecimento de suplementos vitamínicos e minerais para as populações carentes, além da fortificação de alimentos (Carvalho e Nutti, 2012).

Depois das crianças, as mães, as lactantes e os idosos são as principais vítimas da desnutrição. O déficit de micronutrientes como ferro, zinco e provitamina A compromete o

desenvolvimento físico e intelectual de crianças, perdurando por toda sua vida, podendo levar desde doenças simples até a morte prematura (Pereira e Hessel, 2008).

Para o metabolismo humano, é necessário o consumo de 15 mg de Zn por dia (Prasad, 2007), enquanto que, para crianças e gestantes, as quantidades requeridas são ainda maiores (Pathak et al., 2008). O consumo de alimentos pobres em Zn e a ausência de suplementação para mulheres grávidas reduzem o desenvolvimento do feto e comprometem todo o desenvolvimento inicial da criança (Machienzie et al., 2007).

O papel da agricultura é essencial na alimentação, sobretudo como fonte primária de energia e nutrientes, no entanto o aumento da produtividade agrícola tem tido como consequência a diminuição das reservas de micronutrientes no solo. Em virtude disso, em diversas pesquisas a biofortificação tem sido apontada como uma alternativa complementar e viável a fim de proporcionar o consumo de alimentos com melhor qualidade nutricional.

Normalmente por meio de cruzamento de plantas da mesma espécie, a biofortificação de alimentos consiste no processo que gera espécies com teores maiores de determinados micronutrientes. Esse processo também é conhecido como melhoramento genético convencional. Os melhores resultados obtidos têm sido para os micronutrientes zinco, ferro e betacaroteno. Neste processo de biofortificação, procura-se inicialmente identificar os alimentos que tenham maior teor de micronutrientes, para posterior produção de sementes de novos cultivos melhorados e que, assim, possam apresentar a característica escolhida de forma marcante (Possobom et al., 2015).

No Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) coordena o projeto BioFort, responsável pela biofortificação de alimentos no país. Este projeto tem o objetivo de diminuir a desnutrição e garantir maior segurança alimentar através do aumento dos teores de ferro, zinco, betacaroteno, manganês, entre outros, na dieta da população, sobretudo a mais carente. Dessa forma, pesquisadores no Brasil e no exterior têm investido em pesquisas para obtenção de alimentos básicos mais nutritivos, como arroz, feijão, batata-doce, mandioca, milho, feijão-caupi, abóbora e trigo. Além disso, parcerias com instituições públicas e privadas vêm ocorrendo na busca por atender as necessidades de comunidades carentes (Carvalho e Nutti, 2012).

Os alimentos como mandioca, batata doce e abóbora são melhorados para obtenção de maiores teores de carotenoides, o milho com maiores teores de lisina, triptofano e betacaroteno; já o arroz, feijão, trigo e feijão-caupi, com teores mais elevados de ferro e zinco.

Além da biofortificação por meio cruzamento genético, cujos riscos ainda são questionáveis, a biofortificação agrônômica pode contar com técnicas mais simples e eficientes, quando da aplicação de fertilizantes tanto via solo, quanto via foliar ou mesmo na semente (Inocencio, 2014).

Em solos brasileiros, por exemplo, os teores de Fe podem atingir até 100 mg dm^{-3} e sua deficiência pode ocorrer em solos que sofreram uma “supercalagem” ou como resultado da aplicação de outros elementos em quantidades superiores à necessária, sendo requisitada sua adubação. Em países como a Turquia, o uso da adubação férrica é necessário por causa dos solos alcalinos (Kutman et al., 2011).

Em diversos alimentos já foram observados teores insatisfatórios de Fe (Ozturk, 2006). Assim como para o Zn, estas deficiências são relacionadas à produção de alimentos em solos pobres nos dois elementos (Broadley et al., 2012).

As plantas podem absorver o Fe basicamente nas formas de Fe II, Fe III e Fe-quelatos que atuam nas reações de oxirredução, na participação de hemoproteínas, como a catalase, peroxidase e dismutase do superóxido e na ligação com o enxofre. O aparecimento de folhas com clorose internerval e reticulado fino constitui característica típica de deficiência de Fe. A clorose foliar está relacionada à menor síntese de clorofila (Romheld e Nikoloc, 2007).

Nos seres humanos, o Fe participa da biossíntese de ácidos nucléicos, no crescimento e desenvolvimento celular, atua na cadeia respiratória e em inúmeros processos enzimáticos e metabólicos (Combs, 2001). A carência de Fe causa várias doenças, principalmente a anemia, além de reduzir a capacidade imunológica do organismo, tornando os seres humanos mais suscetíveis a doenças (Cakmak, 2008).

O Zn nas plantas atua principalmente na síntese de proteínas e no crescimento, decorrente da sua participação na formação do aminoácido triptofano, precursor do ácido indol acético. Nesse contexto, os principais sintomas de deficiência do micronutriente são: a redução da altura da planta, folhas e da produtividade das culturas (Santos et al., 2009; Muner et al., 2011).

Dentre as funções do Zn no organismo humano, destaca-se a influência na proteção estrutural, na integridade das membranas biológicas, na amenização da toxidez dos radicais livres, na síntese de proteínas, na resistência do sistema imunológico e no funcionamento do cérebro (Gibson, 2006). Aproximadamente 10% de todas as proteínas possuem o Zn como constituinte (Bertini e Rosata, 2007) e a sua deficiência aumenta os riscos de doenças infecciosas (Gibson et al., 2008), a incidência de câncer (Pfeiffer e Mcclafferty, 2007) e o atraso intelectual, onerando os gastos com saúde pública (Black et al., 2008).

A potencialidade do Brasil na produção de alimentos é inquestionável e os recursos precisam ser utilizados adequadamente em pró da sustentabilidade. A técnica da biofortificação agrônômica apresenta-se de forma atraente, e para que haja sucesso, é necessário que as culturas biofortificadas sejam base de alimentação da maior parte da população (Inocencio, 2014).

4.5 Cultura do feijão

A cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tem grande importância na alimentação humana, em vista de suas características protéicas e energéticas. No Brasil, esta leguminosa tem importância social e econômica, por ser responsável pelo suprimento de grande parte das necessidades alimentares da população de baixo poder aquisitivo, mas de relativamente altas taxas de crescimento, também pelo contingente de pequenos produtores que se dedicam à cultura.

Os grãos representam uma importante fonte protéica na dieta humana dos países em desenvolvimento das regiões tropicais e subtropicais, com ciclo de plantio em torno de 3 meses, dependendo da espécie. De toda a produção mundial, 47% provem das Américas e cerca de 10% do leste e sul da África. Cerca de 65% da produção mundial provem de apenas seis países (Brasil, Índia, México, Mianmar, Estados Unidos e China). O Brasil é responsável por 16,5% da produção mundial, sendo o maior, seguido pela Índia e México, responsáveis, respectivamente, por 16,4% e 9% da produção. Com base no 8º levantamento de Grãos de Safra 2013/2014 pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), o feijão cresceu 26,8% (752,6 mil toneladas), alcançando 3,6 milhões de toneladas.

Quanto às doenças que afetam a cultura, dentre as principais pragas com ocorrência generalizada nas regiões produtoras, incluem-se a mosca-branca (*Bemisia tabaci*), vaquinhas (*Diabrotica speciosa*), cigarrinha-verde (*Empoasca kraemeri*), ácaro branco (*Polyphagotarso nemuslatus*); lagarta das vagens (*Elasmopalpus lignosellus*), larva minadora (*Liriomyza spp.*) e tripés (*Calyothirps spp*); lagarta rosca (*Agrotis ipsilon*) e lagarta-enroladeira (*Hedylepta indicata*) (EMBRAPA, 2001).

Quanto às propriedades nutricionais, se destacam proteína (22 a 26%) e minerais (K, P, Fe, Cu e Zn), com ênfase no Fe por ser indicado no combate à anemia (Gomes Junior, 2005).

O feijoeiro, como outras leguminosas de interesse agrícola, pode utilizar nitrogênio atmosférico por intermédio da associação simbiótica com as bactérias dos nódulos radiculares – os rizóbios. No caso específico do feijão, a simbiose pode ocorrer com as seguintes espécies de bactéria: *Rhizobium leguminosa rumphaseoli*, *R. tropici*, *R. gallicum* e *R. giardinii*. A inoculação de bactérias do grupo dos rizóbios é uma alternativa que pode substituir, ainda que parcialmente, a adubação nitrogenada (Silva, 2007).

Atualmente, o inoculante comercial para o feijoeiro no Brasil é produzido com uma espécie de rizóbio adaptada aos solos tropicais, o *Rhizobium tropici*, resistente a altas temperaturas e acidez. Ela é altamente competitiva, ou seja, em condições de cultivo favoráveis, é capaz de formar a maioria dos nódulos da planta, predominando sobre a população de rizóbio presente no solo (Ferreira et al, 1999).

A eficiência da FBN, entretanto, depende das condições fisiológicas da planta hospedeira que fornece a energia necessária para que a bactéria possa realizar eficientemente este processo. Além da calagem, é importante proceder a correção do solo com os demais nutrientes. Ressalta-se a importância do fornecimento de fósforo, deficiente na maioria dos solos tropicais, o qual tem efeito marcante sobre a atividade da nitrogenase, devido ao alto dispêndio energético promovido pela atividade de FBN (Mercante et al., 2005).

O procedimento de inoculação das sementes com rizóbio é simples, bastando misturar as sementes com o inoculante de rizóbio para o feijão. Este inoculante é, geralmente, vendido em embalagens contendo a bactéria em veículo turfoso. Deste modo, recomenda-se que a inoculação seja feita à sombra, preferencialmente nas horas mais frescas do dia, utilizando uma solução açucarada a 10% como adesivo, ou outros produtos como goma arábica a 20%. Mistura-se 200 a 300 mL desta solução ao inoculante (500g) até formar uma pasta

homogênea. Em seguida, mistura-se esta pasta a 50 kg de sementes de feijão até que fiquem totalmente recobertas com uma camada uniforme de inoculante. As sementes inoculadas são deixadas secando à sombra, em local fresco e arejado, realizando o plantio no máximo até dois dias após (Santos e Silva, 2002).

4.6 Teoria da Trofobiose

O termo trofobiose origina-se do grego: *trophos* (alimento) e *biosis* (existência de vida). De acordo com essa teoria, todo organismo vegetal fica vulnerável à infestação de pragas e doenças quando excessos de aminoácidos livres e açúcares redutores estão presentes no sistema metabólico (Polito, 2006), provocando condições favoráveis para a sua alimentação, maturação e reprodução.

A idéia básica da relação entre estado nutricional da planta e sua resistência a pragas e patógenos foi dada pelo fitopatologista francês Dufrenoy, *apud* Chaboussou (1999), segundo o qual “toda circunstância desfavorável à formação de nova quantidade de citoplasma, isto é, desfavorável ao crescimento, tende a provocar na solução vacuolar das células um acúmulo de compostos solúveis inutilizados, como açúcares e aminoácidos; este acúmulo de produtos solúveis parece favorecer a nutrição de microorganismos parasitas e, portanto, diminuir a resistência da planta às doenças parasitárias”. Com base nessas informações e em resultados de pesquisas, Chaboussou (1999) formulou a teoria da trofobiose, segundo a qual “todo o processo vital encontra-se sob a dependência da satisfação das necessidades do organismo vivo, seja ele vegetal ou animal”. Em outras palavras: “a planta ou, mais precisamente, o órgão será atacado somente na medida em que seu estado bioquímico, determinado pela natureza e pelo teor em substâncias solúveis nutricionais, corresponda às exigências tróficas do parasita em questão”.

Diversos experimentos relatados por Chaboussou (1999) mostram que a maior parte dos insetos e ácaros de plantas depende, para viver, de substâncias solúveis, tais como aminoácidos e açúcares redutores. Espécies de pulgões, cochonilhas, cigarrinhas, aleurodídeos, larvas, cigarras, tripes e outros insetos fitófagos, não são capazes de desdobrar proteínas em aminoácidos para serem posteriormente recombinados à conveniência de cada

um; por isso eles dependem de aminoácidos livres existentes na seiva das plantas ou no suco celular. Vários outros experimentos mostram que as necessidades nutricionais de diferentes fungos, bactérias, vírus fitopatogênicos e nematoides também são de aminoácidos livres e açúcares redutores presentes no suco celular (Ohmart et al., 1985; Paschoal, 1996; Jiang e Cheng, 2003).

Também segundo Primavesi (1994), os parasitas só aparecem porque encontram condições favoráveis para sua alimentação, maturação e reprodução. Todos os fatores desfavoráveis à formação de novo citoplasma, proteínas, vitaminas, enzimas, açúcares, graxas, hormônios, substâncias aromáticas, fenóis e outros, e que provocam a acumulação de solúveis na seiva, como substâncias nitrogenadas, aminoácidos, açúcares simples etc., favorecem a nutrição e procriação de microorganismos e insetos. Muitos estudos demonstram a estreita relação entre a nutrição mineral e a resistência da planta, verificando-se que alguns nutrientes aumentam a severidade da incidência de doenças e pragas, enquanto outros a reduzem, devendo-se buscar uma nutrição equilibrada (Horn, 1988; Siqueira e Franco, 1988; Primavesi, 1994; Zambolim e Ventura, 1996; Rodrigues e Cassino, 2003; Polito, 2006).

De acordo com a teoria da trofobiose, o acúmulo de substâncias solúveis se dá por perturbações no processo de síntese protéica (proteossíntese) e no metabolismo dos hidratos de carbono, provocadas por desequilíbrios minerais no solo, principalmente pelo uso de adubos minerais de alta solubilidade e, na planta, pelo uso de agrotóxicos. A avaliação de parâmetros bioquímicos da planta como açúcares, aminoácidos, carboidratos solúveis, clorofila e sacarose são cruciais dentro desse contexto.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Área Experimental

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco (Figura 5.1). A mesma apresenta cobertura em telha plástica transparente (com 10 mm de espessura, tratada contra a ação de raios ultravioleta e em formato ondulado), possuindo 6 m de largura por 7 m de comprimento e 2,70 m de pé direito.

Figura 5.1: Casa de vegetação DEN/UFPE, Recife-PE



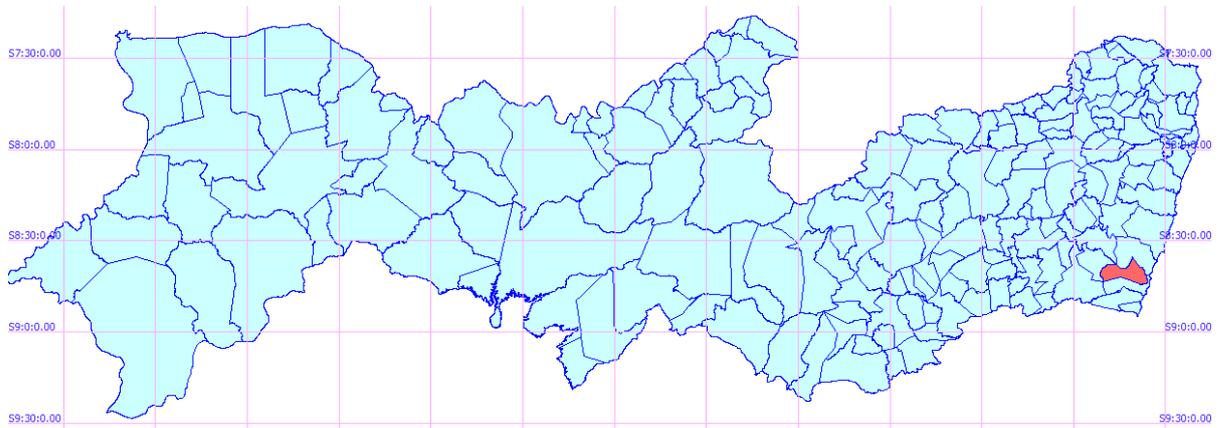
Fonte: O Autor

5.2 Estação de Tratamento de Esgotos Rio Formoso

O efluente e o lodo utilizados neste trabalho foram provenientes da estação de tratamento de esgoto doméstico (ETE) de Rio Formoso, município situado na microrregião da mata meridional de Pernambuco, situado a $08^{\circ}39'50''$ de latitude sul e $35^{\circ}09'32''$ de longitude oeste, distando 81 km da sua capital, Recife, conforme Figura 2. Segundo o IBGE (2016), a

população é de 22.151 habitantes e densidade demográfica de 97,38 hab./km². A região possui uma área de 227,458 km² (Figura 5.2).

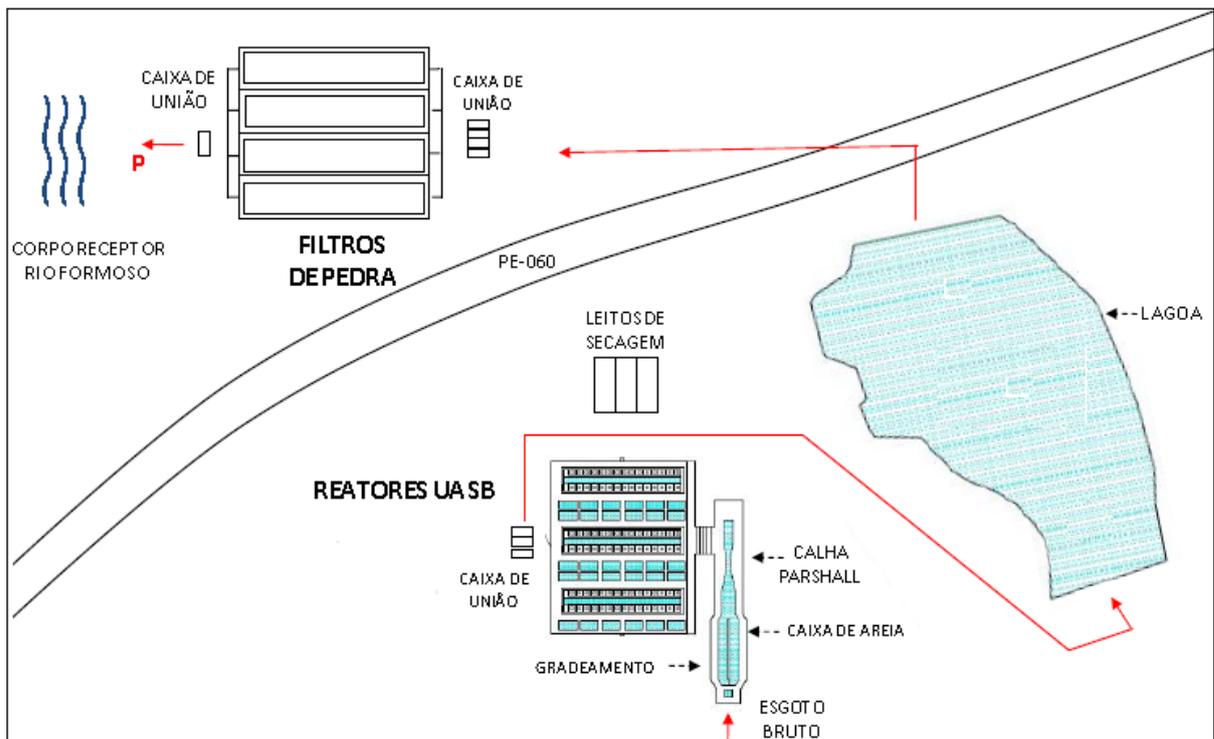
Figura 5.2: Localização do município de Rio Formoso dentro do Estado de Pernambuco



Fonte: <https://pedesenvolvimento.com>

A ETE Rio Formoso é composta por um sistema que comporta Reator UASB, seguido de Lagoa de Estabilização e Filtros de Pedra (Figura 5.3). O tempo de detenção hidráulica do sistema é de 10,4 dias, com vazão de 30 L s⁻¹, conforme Tabela 5.1.

Figura 5.3: Sistema de tratamento na ETE Rio Formoso



Fonte: Adaptado de Barbosa (2012)

Tabela 5.1: Dados da ETE Rio Formoso

Dados	Conjunto reator UASB	Lagoa de estabilização	Filtros de pedra
Comprimento (m)	12	170	120
Altura (m)	6	90	120
Profundidade (m)	4,5	1,5	0,5
Superfície (m ²)	72	15300	14400
Volume (m ³)	324	28050	7920
TDH (d)	0,3	8,1	2

Fonte: Barbosa (2012)

Efluente

As coletas do efluente da ETE foram realizadas semanalmente durante todo o período de irrigação. As análises de caracterização e acompanhamento das condições físico-químicas e biológicas estão expressas na Tabela 5.2 a seguir. De uma forma geral, foram seguidas as metodologias preconizadas no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA/AWWA/WEF, 2012).

Tabela 5.2: Análises realizadas no efluente

Parâmetros	Unidades
pH	-
Temperatura	°C
Condutividade elétrica	$\mu\text{S cm}^{-1}$
Sólidos totais	mg L^{-1}
Sólidos totais fixos	
Sólidos totais voláteis	
Sólidos suspensos totais	
Sólidos suspensos fixos	
Sólidos suspensos voláteis	
Sólidos dissolvidos totais	
Sólidos dissolvidos fixos	
Sólidos dissolvidos totais	
DQO	
NTK	mg L^{-1} N-NTK
Amônia	mg L^{-1} N-NH ₃
Nitrito	mg L^{-1} N-NO ₂ ⁻
Nitrato	mg L^{-1} N-NO ₃ ⁻
Fósforo	mg L^{-1}
Potássio	

Ferro	
Zinco	
Cálcio	
Cobre	
Cromo	
Chumbo	
Manganês	
Níquel	
Sódio	
Coliformes totais	NMP (100mL) ⁻¹
Coliformes termotolerantes	NMP (100mL) ⁻¹
Ovos de helmintos	ovos L ⁻¹

Lodo

No que se refere às questões legais para aplicação do lodo na agricultura, foram seguidas as normas adotadas pelo CONAMA 375, CETESB e A Proposta do Paraná.

O lodo utilizado foi submetido ao processo de compostagem por leiras revolvidas por 90 dias no leito de secagem, visando a diminuição de seu poder contaminante (CONAMA 375/2006). A partir daí as amostras foram coletadas de vários pontos, formando uma amostra composta (Olivier, 2011), que foi enviada ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). As análises químicas e microbiológicas realizadas estão expressas na Tabela 5.3.

Tabela 5.3: Análises realizadas no lodo

Parâmetros	Unidades
pH	-
Umidade, a 60 – 65 °C	% (m/m)
Sólidos totais	
Sólidos suspensos voláteis	
Carbono Orgânico	g C kg ⁻¹
NTK	g N kg ⁻¹
Amônia	mg N kg ⁻¹
Nitrato-nitrito	mg N kg ⁻¹
Arsênio	mg As kg ⁻¹
Selênio	mg Se kg ⁻¹
Merúrio	mg Hg kg ⁻¹
Potássio	mg K kg ⁻¹
Sódio	mg Na kg ⁻¹
Boro	mg B kg ⁻¹
Cadmio	mg Cd kg ⁻¹

Cálcio	mg Ca kg ⁻¹
Chumbo	mg Pb kg ⁻¹
Cobre	mg Cu kg ⁻¹
Cromo	mg Cr kg ⁻¹
Ferro	mg Fe kg ⁻¹
Fósforo	g P kg ⁻¹
Magnésio	g Mg kg ⁻¹
Manganês	mg Mn kg ⁻¹
Molibdênio	g P kg ⁻¹
Níquel	mg Ni kg ⁻¹
Zinco	mg Zn kg ⁻¹
Coliformes termotolerantes	NMP g ⁻¹ ST
Ovos de helmintos	ovos g ⁻¹ ST
<i>Salmonella</i> sp.	NMP (10g) ⁻¹ ST

5.3 Solo

O solo utilizado foi obtido no município de Jaboatão dos Guararapes, região da Zona da Mata de Pernambuco/Brasil. O mesmo foi escolhido estrategicamente pobre em nutrientes, tendo em vista o objetivo de obter respostas diretamente ligadas à assimilação dos nutrientes contidos no efluente e lodo.

A escavação foi realizada na profundidade de 0-20 cm. A partir daí as amostras foram retiradas de vários pontos, formando uma amostra composta (Olivier, 2011), que foi enviada à Estação Experimental de Cana de Açúcar de Carpina (EECAC/UFRPE) para análise.

Os parâmetros avaliados tanto na caracterização quanto ao término da parte experimental estão na Tabela 5.4 a seguir. Para análise do solo foram seguidas as metodologias propostas pela EMBRAPA (1999).

Tabela 5.4: Análises realizadas no solo

Parâmetros	Unidades
pH	-
MO	%
Fe	mg dm ⁻³
Cu	
Zn	
Mn	
P	
K	cmol dm ⁻³

Na	
Al	
Ca	
Mg	
Capacidade de troca cátions (CTC)	
Hidrogênio (H)	
Soma de bases trocáveis (SB)	
Saturação por bases (V)	%
Saturação por alumínio (m)	
Densidade do solo (DS)	g cm ⁻³
Densidade da partícula (DP)	
Porosidade total (PT)	
Argila natural	
Grau de flocculação	
Areia Total	%
Areia Grossa	
Areia Fina	
Silte	
Argila	
Capacidade de campo (CC)	mg mg ⁻¹
Ponto de murcha permanente (PMP)	

5.4 Espécies de feijão

As espécies de feijão utilizadas no experimento foram o *Phaseolus vulgaris* L. e o *Vigna unguiculata* (L) Walp., respectivamente, as cultivares IPA 10 e IPA 207, ambas cedidas pelo Instituto Agronômico de Pernambuco.

A cultivar IPA 10, possui hábito de crescimento indeterminado do tipo II, porte semi-ereto, ciclo médio de 32 a 35 dias da sementeira ao início da floração e 75 a 80 dias da sementeira à maturação. A cor da haste principal é verde e o hipocótilo é verde com estrias roxas. A flor é de cor branca. A vagem no ponto de colheita tem cor amarelo-palha e as sementes, bege com rajadas marrom-claras. A cor do hilo é branca e a do halo é laranja.

A cultivar IPA 207 apresenta porte semiprostrado, ciclo médio de 40 a 45 dias da sementeira à floração e 63 a 68 dias da sementeira à maturação. A flor é de cor roxa, a vagem madura avermelhada média, a cor da vagem seca é palha e do grão, creme (mulato).

5.5 Montagem e monitoramento do experimento

O experimento foi montado em blocos inteiramente casualizados, no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições. Ou seja, as duas espécies de feijão foram submetidas a 10 tratamentos, com três repetições cada, totalizando 60 vasos (Figura 5.4). Os tratamentos estão descritos na Tabela 5.5.

Tabela 5.5: Tratamentos aplicados ao experimento

Tratamento	Descrição
T0 (A)	Água de abastecimento
T1 (A + NPK)	Água de abastecimento + fertilizante NPK
T2 (A + I)	Água de abastecimento + inoculação por bactéria <i>Rhizobium</i>
T3 (A + I + PK)	Água de abastecimento + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T4 (E)	Efluente
T5 (E + I)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i>
T6 (E + I + PK)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T7 (L)	Lodo *
T8 (L + I)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> *
T9 (L + I + PK)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK *

* Irrigação com água de abastecimento

Figura 5.4: Montagem do experimento



Fonte: O Autor

Para a correção da acidez, foi introduzido carbonato de cálcio na dose de $0,6 \text{ g kg}^{-1}$ de solo seco, com base na indicação do IPA (2008), aplicado em todos os vasos do experimento 30 dias antes do plantio.

A adição de NPK e PK nos vasos dos tratamentos T1 (A + NPK), T3 (A + I + PK), T6 (E + I + PK) e T9 (L + I + PK) foi determinada a partir da correlação entre os resultados da análise do solo e a necessidade da cultura, de acordo com as indicações do IPA (2008). Para o *Phaseolus vulgaris* L., a recomendação foi, no plantio, 20 kg ha^{-1} de N, 80 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 80 kg ha^{-1} de K_2O , e na cobertura, 40 kg ha^{-1} de N. Para o *Vigna unguiculata*, no plantio, 20 kg ha^{-1} de N, 60 kg ha^{-1} de P_2O_5 e 60 kg ha^{-1} de K_2O , e na cobertura, 30 kg ha^{-1} de N. Os fertilizantes minerais utilizados para atender aos requisitos de N, P e K foram sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente.

A adição de lodo nos vasos dos tratamentos T7 (L), T8 (L + I) e T9 (L + I + PK) foi determinada a partir da correlação entre a quantidade de nitrogênio recomendada para cultura e o nitrogênio disponível no lodo, onde foram aplicados $10,85 \text{ g kg}^{-1}$ para espécie *Phaseolus vulgaris* L. e $9,05 \text{ g kg}^{-1}$ para a espécie *Vigna unguiculata*.

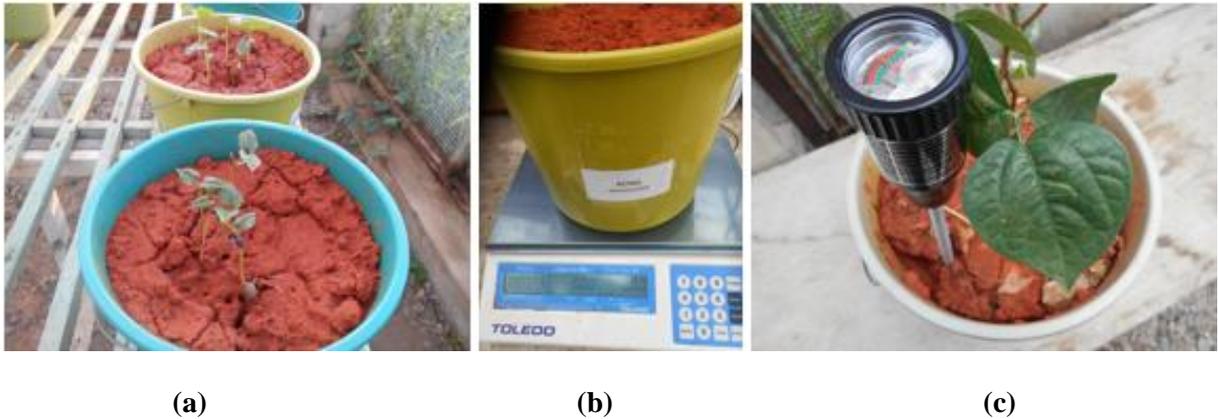
As bactérias *Rhizobium*, específicas para cada espécie de feijão, também foram cedidas pelo Instituto Pernambucano de Agronomia (IPA), juntamente com os procedimentos de inoculação:

- Misturar um copo de água potável ao conteúdo do pacote até formar uma pasta homogênea;
- Misturar bem esta pasta com as sementes;
- Espalhar as sementes para secar em lugar arejado e sombreado;
- Semear no dia seguinte impreterivelmente.

A semeadura foi realizada colocando-se 5 sementes em cada vaso a 2 cm de profundidade; cada vaso fechado contendo 10 kg de solo (Figura 5.5). No 5º dia após a germinação, foi realizado o desbaste, permanecendo apenas 2 plântulas por vaso (Oliveira et al, 2015).

A irrigação se deu por pesagem diária, sempre deixando o solo atingir 80% da saturação (Souza, 2000; Silva, 2015).

Figura 5.5: (a) Plântulas após germinação; (b) Balança digital e vaso com solo; (c) Medidor analógico de umidade em solo.



Fonte: O Autor

Dado o delineamento em blocos casualizados, os parâmetros-resposta foram avaliados estatisticamente utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de F, nos níveis de 1 e 5%. Por último, as hipóteses foram testadas para encontrar possíveis diferenças significativas entre os tratamentos, através do teste de Tukey ($p > 0,05$).

5.6 Parâmetros-resposta da planta

Crescimento e Produção

Os parâmetros de crescimento medidos ao final do ciclo de produção do feijão foram: altura da planta (cm), diâmetro do caule (mm), matéria seca (MS) (g) e número de folhas (un). Os parâmetros de produção foram: número de vagens por planta (un), número de grãos por vagem (un), peso de 100 sementes (g) e produtividade (kg ha^{-1}).

Ao final do ciclo, cada planta foi medida, pesada e enviada ao Laboratório de Fertilidade do Solo da UFRPE, onde foi determinada MS, o teor de nitrogênio, fósforo e potássio nas plantas, de acordo com os procedimentos normativos de cada análise (EMBRAPA, 1999). Os resultados dos macronutrientes N, P e K foram correlacionados com os parâmetros de crescimento e de produção.

Biofortificação

Para avaliação da biofortificação dos grãos de feijão, foram determinados os teores de Fe, Zn, e proteína bruta. Ao final dos experimentos, os grãos foram coletados, medidos, pesados e acondicionados. As análises também foram realizadas pelo Laboratório de Fertilidade do Solo da UFRPE. O método utilizado nos procedimentos para determinação dos metais consistiu no Method 35A, USEPA (1998). O parâmetro proteína bruta foi medido de acordo com EMBRAPA (2006).

Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos determinados em cada planta foram: carboidratos solúveis, sacarose, açúcares redutores, proteína solúvel, aminoácidos livres, prolina e clorofila *a* e *b*. As amostras foram recolhidas para as análises a partir do momento em que o ataque de pragas se tornou estabelecido. O procedimento de coleta de amostra e acondicionamento seguiu as recomendações propostas por Bezerra Neto e Barreto (2011). Os métodos relativos à determinação de cada parâmetro estão na Tabela 5.6 a seguir.

Tabela 5.6: Métodos utilizados para determinação dos parâmetros bioquímicos

Parâmetro	Método
Carboidratos solúveis	Espectrofotométrico de Antrona (Yemm & Willis, 1954)
Sacarose	Espectrofotométrico de Van Handel (Van Handel, 1968)
Açúcares redutores	Subtração de carboidratos solúveis e sacarose
Proteína solúvel	Espectrofotométrico de Bradford (Bradford, 1976)
Aminoácidos	Espectrofotométrico de Ninidrina (Yemm & Cocking, 1955)
Prolina	Espectrofotométrico de Ninidrina (Bates et al, 1973)
Clorofila	Espectrofotométrico (Mackinney, 1941)

Fonte: Bezerra Neto e Barreto (2011)

6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Artigo I: Uso de esgoto tratado e lodo na produtividade de duas espécies de feijão

Resumo

Avaliou-se a produtividade das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp., cultivadas com efluente e lodo de uma Estação de Tratamento de Esgotos Domésticos (ETE). A ETE é formada por reator UASB seguido de lagoa de polimento e filtros de pedra. O experimento foi montado em blocos casualizados no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições. Os tratamentos T0, T1, T2 e T3 consistiram, respectivamente, na irrigação com água de abastecimento, água + adição de fertilizantes (NPK), água + inoculação com bactéria *Rhizobium* e água + inoculação com *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T4, T5 e T6 consistiram, respectivamente, na irrigação com efluente da ETE, efluente + *Rhizobium* e efluente + *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T7, T8 e T9 consistiram no uso de lodo do UASB, lodo + *Rhizobium* e lodo + *Rhizobium* + PK. Cada vaso contendo 10 kg de solo foi usado para cultivar 2 plantas, com irrigação diária controlada por peso. Os melhores desempenhos de produção para ambas as espécies se concentraram nos tratamentos T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK), T7 (L) e T8 (L + I) e T9 (L + I + PK). Para *P. vulgaris* L., as respectivas produtividades foram 2169 kg ha⁻¹, 1995 kg ha⁻¹, 2138,3 kg ha⁻¹, 2001,3 kg ha⁻¹ e 2566,7 kg ha⁻¹. Já para *V. unguiculata*, respectivamente, 2250 kg ha⁻¹, 2253,3 kg ha⁻¹, 2372,2 kg ha⁻¹, 2180 kg ha⁻¹ e 2641,7 kg ha⁻¹ valores. A matéria seca da parte aérea (MS), o peso de 100 sementes (g) e os teores de N, P e K em MS (caule e folhas) nesses tratamentos também foram os de maior destaque. O tratamento T7 alcançou excelentes resultados, mostrando sua viabilidade no cultivo das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., *Vigna unguiculata* (L) Walp, lodo de UASB, efluente de ETE, produtividade.

Introdução

Embora se admita que o volume de água total existente no planeta seja constante, os recursos hídricos disponíveis para consumo têm diminuído numa escala exponencial, tanto em quantidade, quanto em qualidade. A crescente demanda de água, associada principalmente ao crescimento da população e à poluição dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos, tem propagado a necessidade do gerenciamento dos múltiplos usos da água e do estabelecimento de critérios de economia. De acordo com a Organização das Nações Unidas (ONU), aproximadamente 70% de toda a água potável disponível no mundo é utilizada para irrigação. No Brasil esse índice chega a 72% (MMA, 2016). Diante desse cenário, o desenvolvimento de alternativas não-convencionais de suprimento torna-se essencial e é aí que o efluente das Estações de Tratamento de Esgotos (ETE) Domésticos podem assumir um papel de grande importância.

Do ponto de vista agrônomo, o efluente pode suprir a demanda hídrica da planta, fornecendo concentrações dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), essenciais ao bom desenvolvimento das plantas (Silva, 2015).

Outra fonte nutricional que pode favorecer a produção agrícola é o lodo de descarte. Esse resíduo orgânico é gerado nas ETEs de forma crescente e seu destino final representa um desafio ambiental, tendo em vista o contínuo aumento populacional. Em virtude de sua composição orgânica, o lodo pode ser utilizado como adubo no cultivo de plantas, possibilitando a reciclagem dos macronutrientes e favorecendo o bom desenvolvimento da cultura (Olivier, 2011). Diversos trabalhos têm comprovado essa eficácia, sendo de grande importância o controle dos critérios de aplicabilidade sanitária, tanto do efluente, quanto do lodo (Andreoli, 2007).

O feijão é um produto com alta importância social e econômica no Brasil, exercendo grande influência sob o ponto de vista alimentar, tendo em vista suas características protéicas e energéticas. A cultura é bastante susceptível às condições climáticas nacionais, inclusive utilizada como alternativa econômica de exploração agrícola em pequenas propriedades. Os dois gêneros de feijões mais cultivados são *Phaseolus* e *Vigna*, sendo o primeiro (feijão preto) mais cultivado na região centro sul e o segundo (feijão caupi) na região norte/nordeste.

O presente trabalho teve como objetivo principal o uso do efluente e lodo de ETE no crescimento e na produção do feijão, a partir de diferentes configurações de fertirrigação.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco. A mesma apresenta cobertura em telha plástica transparente, com 10 mm de espessura, tratada contra a ação de raios ultravioleta e em formato ondulado. Durante o período experimental foram realizados o monitoramento da temperatura no interior da casa de vegetação, sendo registrado no período do experimento variações de 22,1 a 32,9°C.

A ETE deste estudo (Rio Formoso – PE) comporta reator UASB seguido de lagoa de estabilização e filtros de pedra. O tempo de detenção hidráulica (TDH) do sistema é de 10,4 dias, com vazão de 30 L/s, conforme Tabela 6.1.

Tabela 6.1: Dados da ETE Rio Formoso PE

Dados	Conjunto reator UASB	Lagoa de Polimento	Filtros de pedra percoladores
Comprimento (m)	12	170	120
Largura (m)	6	90	120
Profundidade (m)	4,5	1,5	0,5
Área (m ²)	72	15300	14400
Volume (m ³)	324	28050	7920
TDH (d)	0,3	8,1	2

O efluente da ETE foi utilizado na irrigação das espécies de feijão: *Phaseolus vulgaris* L. (feijão preto) e *Vigna unguiculata* (L) Walp. (feijão caupi). O lodo do UASB também foi utilizado como adubo. Diferentes configurações do efluente e lodo foram utilizadas no experimento (Tabela 6.2).

Alguns tratamentos fizeram uso da bactéria *Rhizobium* por meio de inoculação. Uma característica importante do feijoeiro é sua capacidade de estabelecer simbiose com bactérias específicas, como as bactérias desse gênero, podendo obter nitrogênio fixado da atmosfera em nódulos radiculares (Pinto et al., 2007), suprimindo parte de sua necessidade com relação a este macronutriente.

As cultivares de feijão foram a IPA 10 e IPA 207, respectivamente, *Phaseolus vulgaris* e *Vigna unguiculata*. As mesmas foram cedidas pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), juntamente com os respectivos inóculos *Rhizobium*.

O experimento foi montado em blocos inteiramente casualizados no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições cada.

Tabela 6.2: Tratamentos utilizados para as duas espécies de feijão

Tratamento	Descrição
T0 (A)	Água de abastecimento
T1 (A + NPK)	Água de abastecimento + fertilizante NPK
T2 (A + I)	Água de abastecimento + inoculação por bactéria <i>Rhizobium</i>
T3 (A + I + PK)	Água de abastecimento + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T4 (E)	Efluente
T5 (E + I)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i>
T6 (E + I + PK)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T7 (L)	Lodo *
T8 (L + I)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> *
T9 (L + I + PK)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK *

* Irrigação com água de abastecimento

O solo para o experimento foi obtido no município de Jaboatão dos Guararapes, região da Zona da Mata de Pernambuco. Esse solo é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo, com base no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Lima et al., 2008), apresentando textura de média a muito argilosa, conforme Tabela 6.3.

As análises do solo foram realizadas segundo os métodos propostos pela EMBRAPA (1999), no Laboratório de Solos da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco. O solo foi escolhido estrategicamente por ser pobre em nutrientes, tendo em vista o objetivo de obter respostas diretamente ligadas à assimilação dos nutrientes contidos no efluente e lodo.

Tabela 6.3: Características físicas e químicas do solo utilizado no experimento

Características químicas									Características físicas						
pH	MO	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H	Areia	Silte	Argila	CC	PMP	DS	DP
(-)	(%)	mg dm ⁻³	cmol dm ⁻³						(%)			mg mg ⁻¹		g cm ⁻³	
4,6	0,22	1,0	0,06	0,1	0,3	0,3	1,5	1,2	13,3	54,0	32,7	0,37833	0,06029	1,15	2,53

MO = Percentual de Matéria Orgânica; DS=Densidade do Solo; DP=Densidade da Partícula; CC=Capacidade de Campo; PMP=Ponto de Murcha Permanente.

Para a correção da acidez, foi introduzido carbonato de cálcio na dose de $0,6 \text{ g kg}^{-1}$ de solo seco, conforme indicação do IPA (2008), aplicado em todos os vasos do experimento.

Para os tratamentos com adição de NPK (T1) e PK (T3, T6 e T9), as doses dos nutrientes N, P e K também foram aplicadas de acordo com as recomendações do IPA (2008) para a adubação das respectivas espécies de feijões (g kg^{-1} de solo). Os fertilizantes minerais utilizados para atender aos requisitos desses nutrientes foram sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente, para N, P e K.

As plantas foram cultivadas em vasos contendo 10 kg de solo. Inicialmente, 5 sementes foram semeadas em cada vaso. No 5º dia, após a germinação, foi realizado o desbaste, permanecendo apenas 2 plântulas por vaso (Oliveira et al, 2015).

O controle da irrigação se deu por pesagem. Diariamente o solo foi irrigado até atingir a lâmina correspondente à 80% da saturação do solo. Esse índice foi adotado como o conteúdo de água retida pelo solo após a sua saturação e consequente cessamento da drenagem por ação da gravidade (Silva et al, 2015; Souza et al., 2000).

Os parâmetros de avaliação da produção foram matéria seca da parte aérea (caule e folhas) (g planta^{-1}), peso de 100 sementes (g) e produtividade (kg ha^{-1}). Ainda para matéria seca da parte aérea foram avaliados os teores de macronutrientes N, P e K (g kg^{-1}).

Dado o delineamento em blocos inteiramente casualizados, os resultados foram avaliados estatisticamente utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de F, nos níveis de 1 e 5%. Por último, as hipóteses foram testadas para encontrar possíveis diferenças significativas entre os tratamentos, através do teste de Tukey ($p > 0,05$).

O efluente da ETE, proveniente dos filtros de pedra, foi utilizado na irrigação dos tratamentos T4, T5 e T6. As análises de caracterização foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE com base nas metodologias preconizadas por APHA (2012), conforme Tabela 6.4.

Tabela 6.4: Caracterização físico-química e microbiológica do efluente da ETE

Parâmetros	Unidade	Número de amostras	Concentração
pH	-	13	7,3
Temperatura	°C		27
Condutividade elétrica	$\mu\text{S cm}^{-1}$		974
Sólidos totais	mg L^{-1}		1286
Sólidos totais fixos			1040
Sólidos totais voláteis			246
Sólidos suspensos totais			43
Sólidos suspensos fixos			15
Sólidos suspensos voláteis			18
Sólidos dissolvidos totais			1243
Sólidos dissolvidos fixos			1025
Sólidos dissolvidos voláteis			218
DQO			
NTK	$\text{mg L}^{-1} \text{ N-NTK}$	10	13,10
Amônia	$\text{mg L}^{-1} \text{ N-NH}_3$		10,60

Nitrito	mg L ⁻¹ N-NO ₂ ⁻		1,09
Nitrato	mg L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻		2,17
Fósforo	mg L ⁻¹		2,39
Potássio			11,20
Ferro			0,81
Zinco			0,13
Coliformes totais		NMP (100mL) ⁻¹	8
Coliformes termotolerantes	NMP (100mL) ⁻¹	<10 ³	
Ovos de helmintos	ovos L ⁻¹	0,0	

O lodo utilizado nos tratamentos T7, T8 e T9 foi submetido ao processo de compostagem pelo sistema de leiras revolvidas por um período de 90 dias. As análises de caracterização foram realizadas no Instituto Agrônomo de Campinas/SP e os resultados encontram-se na Tabela 6.5.

As doses de lodo de esgoto para o cultivo das duas espécies de feijão foram calculadas de acordo com a quantidade de nitrogênio recomendado para as culturas em relação ao disponível no lodo (CONAMA 375, 2006; CETESB, 1999). Vale salientar que as concentrações de coliformes, *Salmonella* sp., ovos de helmintos e metais pesados permaneceram abaixo das concentrações mínimas recomendadas para a cultura do feijão.

Tabela 6.5: Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de UASB

Parâmetros	Unidade	Concentração
pH	-	6,4
Umidade, a 60 – 65 °C	% (m/m)	24,4
Sólidos totais		67,8
Sólidos suspensos voláteis		31,7
Carbono Orgânico	g C kg ⁻¹	151,0
NTK	g N kg ⁻¹	20,3
Amônia	mg N kg ⁻¹	1677,0
Nitrato-nitrito	mg N kg ⁻¹	59,2
Arsênio	mg As kg ⁻¹	5,0
Selênio	mg Se kg ⁻¹	ND
Mercúrio	mg Hg kg ⁻¹	ND
Potássio	mg K kg ⁻¹	949,0
Sódio	mg Na kg ⁻¹	611,0
Boro	mg B kg ⁻¹	Não detectado
Cádmio	mg Cd kg ⁻¹	2,0
Cálcio	mg Ca kg ⁻¹	12,5
Chumbo	mg Pb kg ⁻¹	20,7
Cobre	mg Cu kg ⁻¹	120,0
Cromo	mg Cr kg ⁻¹	22,8
Ferro	mg Fe kg ⁻¹	2668,0
Fósforo	g P kg ⁻¹	5,2

Magnésio	g Mg kg ⁻¹	2,3
Manganês	mg Mn kg ⁻¹	191,0
Molibdênio	g P kg ⁻¹	17,5
Níquel	mg Ni kg ⁻¹	18,3
Zinco	mg Zn kg ⁻¹	579,0
Coliformes termotolerantes	NMP g ⁻¹ ST	1,1.10 ³
<i>Salmonella</i> sp.	NMP (10g) ⁻¹ ST	Ausente
Ovos de helmintos	ovos g ⁻¹ ST	0,11

A água de abastecimento utilizada nos tratamentos T0, T1, T2 e T4 foi retirada de um ponto de fornecimento de água (torneira) localizado na própria casa de vegetação. As análises de caracterização foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE com base nas metodologias preconizadas por APHA (2012), conforme Tabela 6.6.

Tabela 6.6: Caracterização físico-química e microbiológica da água de abastecimento

Parâmetros	Unidade	Número de amostras	Concentração
pH	-	13	6,4
Temperatura	°C		29,7
Condutividade elétrica	μS cm ⁻¹		423
OD	mg L ⁻¹		2,56
NTK	mg L ⁻¹ N-NTK	10	0,0
Amônia	mg L ⁻¹ N-NH ₃		0,0
Ferro	mg L ⁻¹		Não detectado
Fósforo			0,01
Zinco			Não detectado
Potássio		0,0	
Coliformes totais	NMP (100mL) ⁻¹	8	Não detectado
Coliformes termotolerantes			Não detectado
Ovos de helmintos			0,0

Resultados e Discussões

O resultado do método estatístico de Tukey, a 5% de probabilidade, para matéria seca da parte aérea (MS), peso de 100 sementes e produtividade estão expressos na Tabela 6.7.

Tabela 6.7: Resultado do Teste de Tukey (5%) para MS, peso de 100 sementes e produtividade

Tratamentos	MS (g planta ⁻¹)		Peso 100 sementes (g)		Produtividade (kg ha ⁻¹)	
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>
T0 (A)	3,28 c	4,58 d	9,93 c	8,92 d	247,0 d	213,3 e

T1 (A + NPK)	6,39 ab	12,87 ab	19,57 b	20,31 b	2169,0 b	2250,0 b
T2 (A + I)	4,11 bc	9,05 c	9,99 c	9,28 d	401,7 d	274,3 e
T3 (A + I + PK)	5,11 bc	9,34 c	12,57 c	15,71 c	701,0 c	1108,4 c
T4 (E)	4,58 bc	7,64 c	12,42 c	13,18 c	433,3 d	625,4 d
T5 (E + I)	4,79 bc	9,22 c	12,00 c	12,30 cd	692,7 c	679,7 d
T6 (E + I + PK)	6,34 ab	12,22 b	19,28 b	26,02 a	1995,0 b	2253,3 b
T7 (L)	6,23 ab	12,41 b	16,97 b	25,53 a	2138,3 b	2372,2 b
T8 (L + I)	6,16 ab	12,20 b	16,91 b	20,14 b	2001,3 b	2180,0 b
T9 (L + I + PK)	8,10 a	15,66 a	26,86 a	27,96 a	2566,7 a	2641,7 a

Pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$), os valores médios com a mesma letra não diferem significativamente. T0 (A) = água de abastecimento; T1 (A + NPK) = água + fertilizante NPK; T2 (A + I) = água + inoculação com *Rhizobium*; T3 (A + I + PK) = água + inoculação + PK; T4 (E) = efluente; T5 (E + I) = efluente + inoculação; T6 (E + I + PK) = efluente + inoculação + PK; T7 (L) = lodo; T8 (L + I) = lodo + inoculação e T9 (L + I + PK) = lodo + inoculação + PK.

Matéria seca da parte aérea

Os melhores tratamentos para a espécie *P. vulgaris* L. foram T9 (L + I + PK), T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK), T7 (L) e T8 (L + I), com as respectivas massas de 8,10 g planta⁻¹, 6,39 g planta⁻¹, 6,34 g planta⁻¹, 6,23 g planta⁻¹ e 6,16 g planta⁻¹. Para a espécie *V. unguiculata* se destacaram T9 e T1, com 15,66 g planta⁻¹ e 12,87 g planta⁻¹. Posteriormente, ainda é possível evidenciar o desempenho de T7, T6 e T8, com 12,41 g planta⁻¹, 12,22 g planta⁻¹ e 12,20 g planta⁻¹.

Dentre os parâmetros que avaliam o crescimento de uma planta, a matéria seca se destaca com um indicador de grande relevância. De uma forma geral, quanto mais uma planta cresce, maior será sua matéria seca, indicando que a mesma usufruiu de condições favoráveis, sobretudo de nutrientes. Dentro desse contexto, o nitrogênio tem um papel importante.

O nitrogênio (N) é um dos elementos mais requeridos pelo feijoeiro (Silva; Silveira, 2000), sendo responsável pelo aumento da área foliar, que, por sua vez, aumenta a eficiência de interceptação da radiação solar e a taxa fotossintética, promovendo o crescimento da planta e, conseqüentemente, maior matéria seca (Salgado et al, 2012; Fageria e Baligar, 2005). No tratamento T1, a fonte de nitrogênio foi o fertilizante mineral; em T6, o efluente e a inoculação; em T7, o lodo, e em T9, o lodo e a inoculação. Para uma maior avaliação dos resultados de MS, foram determinadas as concentrações de nitrogênio nas plantas de cada tratamento, o que será discutido posteriormente.

Avaliando o desempenho dos tratamentos e comparando-os por meio da equivalência de fertirrigação (água x efluente x lodo), em ambas as espécies, é possível observar que o efluente e lodo apresentaram melhores desempenhos de MS com relação ao tratamento testemunha (água):

- MS T0 (A) < MS T4 (E) < MS T7(L)
- MS T2 (A+I) < MS T5 (E+I) < MS T8 (L+I)
- MS T3 (A+I+PK) < MS T6 (E+I+PK) < MS T9 (L+I+PK)

Peso de 100 sementes

Para a espécie *P. vulgaris* L., o método estatístico de Tukey (5%) apontou o melhor desempenho para T9 (L + I + PK), com valor de 26,86 g. Posteriormente, ainda é possível destacar os tratamentos T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK), T7 (L) e T8 (L + I), com 19,57 g, 19,28 g, 16,97g e 16,91 g, respectivamente. Para a cultivar IPA 10, os trabalhos desenvolvidos pelo IPA (2000) indicam a média de 19 g para o peso de 100 sementes. Essa indicação demonstra que os resultados foram coerentes.

No caso da espécie *V. unguiculata*, o destaque maior foi para os tratamentos T9 (L + I + PK), T7 (L) e T6 (E + I + PK), com os respectivos pesos de 27,96 g, 25,53 g e 26,02 g. De acordo com o IPA (2000), a cultivar IPA 207 apresenta o peso médio de 21g para 100 sementes. Os resultados obtidos estiveram acima dessa média, sendo ainda possível considerar os tratamentos T1 e T8 como resultados relevantes, já que apresentaram 20,31 g e 20,14 g.

Um detalhe importante quando se trata do peso de sementes é a influência do fósforo. Garantir a disponibilidade do mesmo às culturas é algo essencial em virtude de sua atuação na maturação de frutos e formação e crescimento dos grãos e fibras (Vitti et al, 2004). De uma forma objetiva, a influência do fósforo na cultura do feijão está em aumentar o vigor da planta e a massa das sementes, determinantes para o aumento da produtividade (Zucareli, 2010; Fageria et al., 2003). Dessa forma, para averiguar os resultados obtidos referentes ao peso de 100 sementes foram determinados os teores de fósforo em MS. Os resultados serão apresentados e discutidos em seguida.

Avaliando o desempenho dos demais tratamentos e comparando-os por meio da equivalência de fertirrigação (água x efluente x lodo), em ambas as espécies, é possível observar que o efluente e lodo apresentaram melhores desempenhos de peso de 100 sementes ($P_{100\text{ sem}}$) com relação ao tratamento testemunha (água):

- $P_{100\text{ sem T0 (A)}} < P_{100\text{ sem T4 (E)}} < P_{100\text{ sem T7(L)}}$
- $P_{100\text{ sem T2 (A+I)}} < P_{100\text{ sem T5 (E + I)}} < P_{100\text{ sem T8 (L+ I)}}$
- $P_{100\text{ sem T3 (A+I+PK)}} < P_{100\text{ sem T6 (E+I+PK)}} < P_{100\text{ sem T9 (L+I+PK)}}$

Produtividade

A produtividade de uma cultura é sempre o resultado final objetivado. Geralmente antes mesmo da colheita é importante a estimativa de quanto se vai produzir. Normalmente essa resposta é resultado da integração entre o potencial genético da cultivar correlacionado com as condições ambientais e nutricionais. De acordo com o IPA (2000) as cultivares IPA 10 e IPA 207 possuem rendimento médio, ao nível de agricultura, de 2.000 kg ha⁻¹ e 2.300 kg ha⁻¹, respectivamente, em condições de irrigação, nas temperaturas de 21 a 38°C.

O resultado do teste de Tukey (5%) apontou, para a espécie *P. vulgaris* L., o tratamento T9 (L + I + PK) como o melhor, cuja produção foi de 2.566,7 kg ha⁻¹. Embora com produção inferior a esta, os tratamentos T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK), T7 (L) e T8 (L + I) também merecem destaque por apresentarem, respectivamente, as produções de 2.169 kg ha⁻¹, 1.995 kg ha⁻¹, 2.001,3 kg ha⁻¹, 2.138,3 kg ha⁻¹.

Para a espécie *V. unguiculata*, o Teste de Tukey também apontou T9 como o melhor rendimento, 2.641,7 kg ha⁻¹. Na sequência, os tratamentos T1, T6 e T7 se mostraram relevantes, já que apresentaram 2.250,0 kg ha⁻¹, 2.253,3 kg ha⁻¹ e 2.372,2 kg ha⁻¹.

A partir da avaliação dos macronutrientes em MS será possível justificar o comportamento desses resultados.

Vale ressaltar que os tratamentos T4 (E) e T7 (L), afinal, os mais baratos, apresentaram em ambas as espécies resultados de produção superiores ao tratamento testemunha T0 (A), com T7 (L), inclusive, igualando-se a T1 (A + NPK).

Nitrogênio, Fósforo e Potássio

Nitrogênio, fósforo e potássio presentes na massa vegetal das plantas podem dar indícios de vários aspectos ligados ao seu bom desenvolvimento e produtividade (Rayol e Alvino, 2012).

O resultado do método estatístico de Tukey, a 5% de probabilidade, para N, P e K em MS estão expressos na Tabela 6.8.

Tabela 6.8: Resultado do Teste de Tukey para teor de N, P e K na matéria seca da parte aérea

Tratamentos	N (g kg ⁻¹)		P (g kg ⁻¹)		K (g kg ⁻¹)	
	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
T0 (A)	11,33 d	11,17 c	0,68 d	1,02 d	9,31 d	8,79 c
T1 (A + NPK)	19,73 ab	18,97 a	2,63 ab	3,74 b	22,78 a	21,67 a
T2 (A + I)	12,17 cd	11,97 bc	0,99 cd	1,05 d	9,08 d	8,82 c
T3 (A + I + PK)	13,60 cd	13,63 b	1,42 cd	1,82 c	21,37 abc	19,15 ab
T4 (E)	12,60 cd	11,83 bc	1,03 cd	1,27 cd	15,92 c	13,33 bc
T5 (E + I)	14,47 c	13,00 bd	1,63 c	1,46 cd	16,54 bc	14,44 bc
T6 (E + I + PK)	17,53 b	18,27 a	2,39 b	3,56 b	23,52 a	21,64 a
T7 (L)	17,50 b	19,17 a	2,68 ab	3,87 b	23,60 a	22,18 a
T8 (L+ I)	17,30 b	18,47 a	2,39 b	3,18 b	22,52 ab	20,79 a
T9 (L + I + PK)	20,13 a	19,03 a	3,15 a	4,72 a	26,74 a	25,09 a

Pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$), os valores médios com a mesma letra não diferem significativamente. T0 (A) = água de abastecimento; T1 (A + NPK) = água + fertilizante NPK; T2 (A + I) = água + inoculação com *Rhizobium*; T3 (A + I + PK) = água + inoculação + PK; T4 (E) = efluente; T5 (E + I) = efluente + inoculação; T6 (E + I + PK) = efluente + inoculação + PK; T7 (L) = lodo; T8 (L+ I) = lodo + inoculação e T9 (L + I + PK) = lodo + inoculação + PK.

Para a espécie *P. vulgaris L.*, o teste de Tukey a 5% apontou T1 (A + NPK) e T9 (L + I + PK) como os melhores tratamentos para nitrogênio, seguido, posteriormente, de T6 (E + I + PK), T7 (L) e T8 (E + L), exatamente àqueles com melhor desempenho de MS (Tabela 6.7). Esses resultados acabam corroborando com a prerrogativa de que o nitrogênio está diretamente associado ao crescimento da planta, consequentemente, ao aumento da matéria seca (Silva;

Silveira, 2000). Para a espécie *V. unguiculata* essa concordância também foi observada, onde os melhores tratamentos foram T1, T6, T7, T8 e T9.

Analisando os resultados dos tratamentos em que a inoculação foi usada como fonte de nitrogênio T2 (A + I), T3 (A + I + PK) e T5 (E + I), é possível perceber que sua influência na produtividade foi pequena. Isso corrobora a idéia de que a inoculação das sementes de feijoeiro com bactérias do gênero *Rhizobium* representa uma tecnologia complementar e não exclusiva de fornecimento de nitrogênio às plantas (Ferreira et al., 2000).

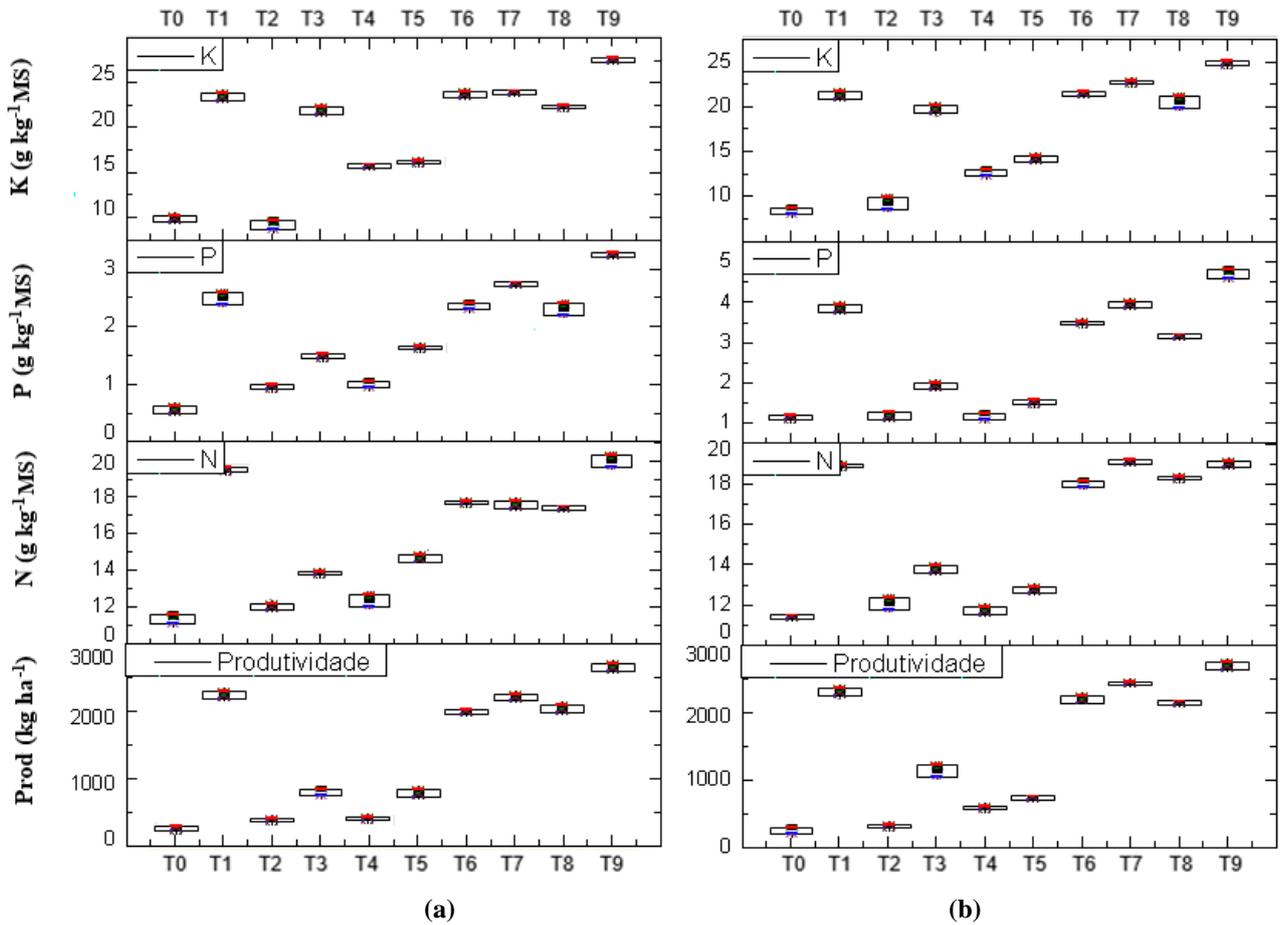
Com relação ao fósforo, diversos trabalhos têm demonstrado seu efeito positivo na cultura do feijoeiro, exercendo influência no acúmulo de massa, sobretudo dos grãos, no desenvolvimento do sistema radicular e nos componentes de produção (Fageria et al.; Silva et al., 2003). O melhor tratamento para a massa dos grãos ou peso de 100 sementes (Tabela 6.7), espécie *P. vulgaris* L., foi T9, seguido de T1, T6, T7 e T8. Não obstante, esses foram os tratamentos que apresentaram os maiores teores de fósforo. Para a espécie *V. unguiculata*, o tratamento T9 apresentou conformidade com o resultado do peso de 100 sementes, sendo relevantes também os tratamentos T1, T6, T7 e T8 nos teores de fósforo encontrados.

O potássio é o nutriente que se destaca por oferecer resistência e estabilidade à planta. Sua ausência sujeita as culturas ao aumento de doenças, quebra de talos ou ramos e susceptibilidade a outras condições de estresse. O nitrogênio (N) usualmente é o nutriente vegetal universalmente mais deficiente, mas não se pode substituir um elemento pelo outro. Embora o N seja considerado o mais importante nutriente para o crescimento das plantas, o potássio é o mais expressivo em estabilizar as produções (Sguario Jr, 2000).

Avaliando o resultado do teor de potássio na matéria seca, o teste de Tukey apontou os tratamentos T1, T6, T7, T8 e T9 como os melhores, em ambas as espécies. Uma vez que não é possível atribuir o bom desempenho de uma cultura a um macronutriente específico, o que se observa é que a produtividade resultante de cada tratamento foi reflexo da iteração dos macronutrientes. Correlacionando os melhores resultados para os parâmetros de nitrogênio, fósforo e potássio, é possível perceber que esses tratamentos obtiveram os melhores rendimentos de produção.

A Figura 6.1a (*P. vulgaris* L.) e 6.1b (*V. unguiculata*) mostra o rendimento de cada tratamento associado aos resultados da concentração de nutrientes em MS. É possível observar que as composições com efluente e lodo alcançaram resultados melhores que os da testemunha T0 (A).

Figura 6.1. Comportamento da produtividade associada aos teores de N, P e K para a espécie (a) *P. vulgaris* L. e (b) *V. unguiculata*. T0 (A), T1 (A+NPK), T2 (A+I), T3 (A + I + PK), T4 (E), T5 (E + I), T6 (E + I + PK), T7 (L), T8 (L + I) e T9 (L + I + PK).



Conclusões

Os melhores desempenhos de produtividade para ambas as espécies foram obtidos com os tratamentos T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK), T7 (L), T8 (L + I) e T9 (L + I + PK), respectivamente. Os teores de N, P e K na matéria seca das plantas desses tratamentos foram os de maior destaque.

O tratamento com efluente T4 (E) apresentou produtividade de 433,3 kg ha⁻¹ para a espécie *P. vulgaris* L. e 625,4 kg ha⁻¹ para a *V. unguiculata*, bem acima do tratamento testemunha T0 (A), que alcançou 247,0 kg ha⁻¹ e 213,3 kg ha⁻¹, respectivamente.

O tratamento T7 (L) foi capaz de acumular nutrientes N, P e K na planta e se destacar pelo aumento de MS, peso de 100 sementes e produtividade. O uso somente de lodo alcançou a produtividade de 2.138,3 kg ha⁻¹ e 2.372,2 kg ha⁻¹ para *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*, respectivamente. Esses resultados foram, por exemplo, semelhantes aos encontrados no tratamento T1 (A + NPK), que alcançou 2.169,0 kg ha⁻¹ e 2.250 kg ha⁻¹.

Os tratamentos com efluente, lodo e suas composições obtiveram destaque tanto na produção quanto no acúmulo de nutrientes em planta, mostrando a viabilidade do uso de esgoto tratado e lodo no cultivo das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp.

Referências

- Andreoli C., Von Sperlin M., Fernandes F. Lodo de esgotos: tratamento e disposição final, 6 volume (2001).
- APHA, AWWA, WEF Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 22nd edition, Washington, USA, 2012.
- CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental). Norma Técnica CESTEB P4.230 de 28 de outubro de 1999: Aplicação de lodos do sistema de tratamento biológico em áreas agrícolas – Critérios para projetos e operação. São Paulo: 1999. 32p.
- CONAMA 375/2006 (Conselho Nacional de Meio Ambiente) "Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências". - Data da legislação: 29/08/2006 - Publicação DOU nº 167, de 30/08/2006, pág. 141-146.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Manual of chemical analyses for soil, plants and fertilizers, in: Silva, F.C. (Ed.), Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brazil, (1999) 75-223.
- IPA (Instituto Pernambucano de Agronomia) Recursos genéticos e melhoramento do feijoeiro em Pernambuco. IPA, 2000. 11p (Circular Técnica).
- Fageria N., Baligar V. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. *Advances in Agronomy* 88 (1), (2005) 97-185.
- Fageria N., Barbosa Filho M., Stone L. Resposta do feijoeiro a adubação fosfatada. In: POTAFOS. Simpósio destaca a essencialidade do fósforo na agricultura brasileira. Piracicaba: Informações Agronômicas 102 (2003) 1-9.
- Ferreira A., Arf O., Carvalho M., Araújo R., Sá M., Buzetti S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. *Scientia Agricola* 57 (3), (2000) 507-512.
- IPA (Instituto Pernambucano de Agronomia) Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco, 2º ed. Instituto Agrônomo de Pernambuco, Comissão Estadual de Fertilidade do Solo, Recife, Brasil, 2008.
- Lima J., Schulze S., Ribeiro M., Barreto S. Mineralogia de um Argisolo Vermelho-Amarelo da zona úmida costeira do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira Ciências do Solo*. 32 (2008) 881-892.
- MMA (Ministério do Meio Ambiente) Água: um recurso cada vez mais ameaçado. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/secex_consumo/arquivos/3%20-%20mcs_agua.pdf. Acesso em 21 de julho de 2016.
- Oliveira F., Medeiros J., Alves R. Produção de feijão caupi em função da salinidade e regulador de crescimento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 19 (11), (2015) 1049-1056.
- Olivier S., Aplicação de resíduos agroindustriais e urbanos em áreas de reflorestamento com *Eucalyptus* spp. Tese de doutorado, USP, Piracicaba, 2011.
- Pinto F, Hungria M., Mercante F. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Soil Biology & Biochemistry* 39 (8), (2007) 1851-1864.
- Rayol B., Alvino-Rayol F. Produção de biomassa e teor de nutrientes do feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) em reflorestamento no estado do Pará. *Agroecossistemas* 4 (2), (2012) 85-90.
- Salgado F., Silva J., Oliveira T., Tonello L., Passos N., Fidelis R Efeito do nitrogênio em feijão cultivado em terras altas do sul do estado de Tocantins. *Ambiência* 8 (1), (2012) 126-136.
- Sguario Junior J. Doses e formas de aplicação de potássio na cultura do feijoeiro em sistema de plantio direto na palha. Dissertação de mestrado, UFPR, Curitiba, 2000.
- Silva R., Gavazza S., Florencio L., Nascimento C., Kato M. Cultivo de mudas de eucalipto com esgoto doméstico tratado. *Revista de Engenharia Sanitária Ambiental*. 20 (2), (2015) 323-330.
- Silva R., Vahl L., Peske S. Rendimento de grãos no feijoeiro em função dos teores de fósforo nas sementes. *Revista Brasileira de Agrociência* 9 (3), (2003) 247-250.
- Silva C., Silveira P. Influência de sistemas agrícolas na resposta do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigado à adubação nitrogenada em cobertura. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 30 (1), (2000) 86-96.
- Souza C., Oliveira F., Silva I., Amorim Neto M. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob o cultivo de algodoeiro herbáceo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*. 4 (3), (2000) 338-342.

- Vitti G., Wit A., Fernandes B. Eficiência agrônômica dos termofosfatos e fosfatos reativos naturais. In: Simpósio sobre fósforo na agricultura brasileira, 2004, Piracicaba. Anais... Piracicaba: POTAFOS (2004) 690-694.
- Zucareli C., Ramos Jr E., Oliveira M., Cavariani C., Nakagawa J. Índices biométricos e fisiológicos em feijoeiro sob diferentes doses de adubação fosfatada. Semina Ciências Agrárias 31 (1), (2010) 1333-1324.

6.2 Artigo II: Biofortificação de duas espécies de feijão a partir do cultivo com efluente e lodo de ETE

Resumo

Avaliou-se o cultivo das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp. com efluente e lodo de uma estação de tratamento de esgotos domésticos (ETE). A ETE é formada por reator UASB seguido de lagoa de polimento e filtros de pedra. O experimento foi montado em blocos inteiramente casualizados no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições. Os tratamentos T0, T1, T2 e T3 consistiram, respectivamente, na irrigação com água de abastecimento, água + adição de fertilizantes (NPK), água + inoculação com bactéria *Rhizobium* e água + inoculação com *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T4, T5 e T6 consistiram, respectivamente, na irrigação com efluente da ETE, efluente + *Rhizobium* e efluente + *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T7, T8 e T9 consistiram no uso de lodo do UASB, lodo + *Rhizobium* e lodo + *Rhizobium* + PK. Cada vaso contendo 10 kg de solo foi usado para cultivar 2 plantas, com irrigação diária controlada por peso e baseada em 80% da saturação do solo. Para o peso de 1000 sementes, T9 com 268,63 g se destacou como o melhor tratamento para a espécie *P. vulgaris* L. e os tratamentos T9, T6 e T7 foram os melhores para a espécie *V. unguiculata*, com os respectivos pesos de 279,60 g, 260,25 g e 255,31 g. Para os teores de ferro nos grãos da primeira espécie, os tratamentos com efluente, lodo e variações (T4, T5, T6, T7, T8 e T9) obtiveram as maiores concentrações, respectivamente, 137,25 mg kg⁻¹, 148,63 mg kg⁻¹, 151,72 mg kg⁻¹, 150,33 mg kg⁻¹, 156,88 mg kg⁻¹ e 187,24 mg kg⁻¹. Para a segunda espécie, o melhor desempenho foi para o tratamento T7, alcançando a concentração de 161,22 g kg⁻¹ de Fe. Quanto ao zinco, em ambas as espécies, os destaques foram para T7 e T9. Os tratamentos com efluente, lodo e suas variações obtiveram destaque tanto na biofortificação dos grãos quanto na produção, mostrando a viabilidade do uso de esgoto tratado e lodo no cultivo das espécies de feijão *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., *Vigna unguiculata* (L) Walp, reuso de água de esgoto, reator anaeróbio, lagoa de polimento, filtros de pedra

Introdução

Água com qualidade e em quantidade satisfatória tem sido um dos maiores desafios enfrentados pela maioria dos países atualmente. Segundo a Organização das Nações Unidas, aproximadamente 70% de toda a água potável disponível no mundo é utilizada para irrigação, 20% para as atividades industriais e 10% para o uso doméstico. No processo de economia de água potável, sobretudo na área de irrigação, o efluente das estações de tratamento de esgotos

domésticos (ETE) pode assumir um papel cada vez mais importante, já que apresentam concentrações consideráveis dos macronutrientes nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), essenciais ao bom desenvolvimento das culturas de plantas. Em concentrações menores, também podem ser encontrados no efluente, metais como ferro (Fe) e zinco (Zn), também requeridos pelas plantas, só que em pequenas quantidades.

O lodo de esgoto também se destaca como uma alternativa viável para uso agrícola, uma vez que apresentam teores consideráveis de macro e micronutrientes. Sua propriedade como fertilizante e condicionador do solo, envolve práticas de reciclagem e reflorestamentos, recuperação de áreas degradadas e produção de substratos de mudas e fertilizantes.

O feijão é um alimento de excelente valor nutritivo, plantado principalmente para a produção de grãos visando o consumo humano. O Brasil é o maior produtor mundial com produção média anual de 3,5 milhões de toneladas e crescimento anual de 1,22% (MAPA, 2012). Como o consumo de feijão é largamente difundido em todo o mundo, o trabalho de melhoramento nutricional tem se tornado alvo de vários estudos (Gonçalves et al.; Tsutsumi, 2015; Inocencio, 2014). Em virtude dos teores de ferro e zinco, o feijão acaba tendo grande importância na alimentação humana, especialmente em países em desenvolvimento e populações pobres. Para estes, a chamada biofortificação de alimentos com ferro e zinco, ainda é mais importante. Muitos especialistas da área de saúde recomendam o feijão como fonte nutricional na dieta de crianças, gestantes, etc. O ferro atua na síntese das células vermelhas do sangue e no transporte do oxigênio para todas as células do corpo. Segundo a WHO (1998), sua carência está associada a hábitos alimentares e anemia. Já o zinco auxilia o sistema imunológico na defesa do corpo, ajuda na cicatrização e é antioxidante (Mafra, 2004). Atualmente diversas pesquisas são desenvolvidas na busca por técnicas de melhoramento nutricional, principalmente, no que diz respeito ao aumento dos teores de ferro e zinco. O melhoramento genético das plantas, a introdução de produtos agrícolas biofortificados e o manejo de adubação com Zn, são exemplos dos métodos utilizados (Inocencio, 2014). Dessa forma, a biofortificação do feijão produzirá maiores resultados beneficiando um grande número de pessoas, oferecendo à população uma forma de combate à desnutrição.

O presente trabalho teve como objetivo principal o uso do efluente e lodo de ETE na biofortificação do grão de feijão, a partir de diferentes configurações de fertirrigação.

Material e Métodos

A ETE deste estudo se localiza na cidade de Rio Formoso (PE) e apresenta o sistema que comporta reator UASB seguido de lagoa de estabilização e filtros de pedra. O tempo de detenção hidráulica do sistema é de 10,4 dias, com vazão de 30 L/s. Foram utilizados o efluente final da ETE e o lodo do UASB no cultivo de duas espécies de feijão: *Phaseolus vulgaris* L. (feijão preto) e *Vigna unguiculata* (L) Walp. (feijão caupi). As duas espécies, bem como os inóculos *Rhizobium* usados no experimento, foram cedidos pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). O experimento foi montado em blocos inteiramente casualizados no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições cada. Os tratamentos estão descritos na Tabela 6.9. As bactérias do gênero *Rhizobium* foram inseridas nesse processo, uma vez que podem fornecer nitrogênio ao feijoeiro por intermédio de associação simbiótica, trazendo benefícios na produtividade.

Tabela 6.9: Tratamentos utilizados para as duas espécies de feijão

Tratamento	Descrição
T0 (A)	Água de abastecimento
T1 (A + NPK)	Água de abastecimento + fertilizante NPK
T2 (A + I)	Água de abastecimento + inoculação por bactéria <i>Rhizobium</i>
T3 (A + I + PK)	Água de abastecimento + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T4 (E)	Efluente
T5 (E + I)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i>
T6 (E + I + PK)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T7 (L)	Lodo *
T8 (L + I)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> *
T9 (L + I + PK)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK *

* Irrigação com água de abastecimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Departamento de Energia Nuclear da UFPE. As plantas foram cultivadas em vasos contendo 10 kg de solo. Inicialmente, 5 sementes foram semeadas em cada vaso. No 5º dia, após a germinação, foi realizado o desbaste, permanecendo apenas 2 plantas por vaso.

O controle da irrigação se deu por pesagem. Diariamente o solo era irrigado até atingir a lâmina correspondente à 80% da saturação. Essa lâmina foi adotada como o conteúdo de água retida pelo solo após a sua saturação e consequente cessamento da drenagem por ação da gravidade (Silva et al, 2015; Souza et al, 2000).

Para avaliação da biofortificação dos grãos foram considerados os teores de ferro e zinco (USEPA, 1998), além de proteína bruta (EMBRAPA, 2006), correlacionados com o parâmetro peso de 1000 sementes. As análises foram realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo da UFRPE. Dado o delineamento em blocos inteiramente casualizados, os resultados foram avaliados estatisticamente utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de F, nos níveis de 1 e 5%. Por último, as hipóteses foram testadas para encontrar possíveis diferenças significativas entre os tratamentos, através do teste de Tukey ($p > 0,05$).

O solo para o experimento foi obtido no município de Jaboatão dos Guararapes, na região da Zona da Mata de Pernambuco. Esse solo se classifica como Argissolo Vermelho-Amarelo, com base no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Lima et al, 2008), apresentando textura de média a muito argilosa.

O solo foi escolhido estrategicamente como pobre em nutrientes, tendo em vista o objetivo de obter respostas diretamente ligadas à assimilação dos nutrientes contidos no efluente e lodo. A Tabela 6.10 expressa a caracterização física do solo e sua fertilidade.

Tabela 6.10. Caracterização física do solo e sua fertilidade

Fe	Cu	Zn	Mn	P	pH	K	Na	Al	Ca	Mg	Ds	DP	Areia	Silte	Argila	MO
mg dm ⁻³					(-)	cmol dm ⁻³					g cm ⁻³		%			
5,4	0,2	5,6	4,7	1,0	4,6	0,06	0,1	1,5	0,3	0,3	1,15	2,53	13,13	54,0	32,7	0,22

MO = Percentual de Matéria Orgânica; DS=Densidade do Solo; DP=Densidade da Partícula

As análises do solo foram realizadas segundo os métodos propostos pela EMBRAPA (1999), no Laboratório de Solos da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar da UFRPE. Para a correção da acidez, foi introduzido carbonato de cálcio, na dose de 0,6 g kg⁻¹ de solo seco de acordo com IPA (2008), aplicado em todos os vasos do experimento.

Para os tratamentos com adição de NPK (T1) e PK (T3, T6 e T9), as doses dos nutrientes foram aplicadas de acordo com as recomendações do IPA (2008) para a adubação das respectivas espécies de feijões (g kg⁻¹ de solo). Os fertilizantes minerais utilizados para atender aos requisitos desses nutrientes foram sulfato de amônio (N), superfosfato simples (P₂O₅) e cloreto de potássio (K₂O).

O efluente da ETE, proveniente dos filtros de pedra, foi utilizado na irrigação dos tratamentos T4, T5 e T6 e sua caracterização (APHA, 2012) encontra-se na Tabela 6.11.

Tabela 6.11. Caracterização físico-química do efluente da ETE

Parâmetros	Unidade	Número de amostras	Concentração
pH	-	13	7,3
Temperatura	°C		27
Condutividade elétrica	µS cm ⁻¹		974
Sólidos totais	mg L ⁻¹		1286
Sólidos totais fixos			1040
Sólidos totais voláteis			246
Sólidos suspensos totais			43
Sólidos suspensos fixos			15
Sólidos suspensos voláteis			18
Sólidos dissolvidos totais			1243
Sólidos dissolvidos fixos			1025
Sólidos dissolvidos voláteis			218
DQO			mg L ⁻¹
NTK		mg L ⁻¹ N-NTK	13,10
Amônia	mg L ⁻¹ N-NH ₃	10,60	
Nitrito	mg L ⁻¹ N-NO ₂ ⁻	1,09	
Nitrato	mg L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻	2,17	
Fósforo	mg L ⁻¹	2,39	
Potássio		11,20	
Ferro		0,81	
Zinco		0,13	
Coliformes totais	NMP (100mL) ⁻¹	8	4,0.10 ³

Coliformes termotolerantes		<10 ³
Ovos de helmintos	ovos L ⁻¹	0,0

O lodo utilizado nos tratamentos T7, T8 e T9 foi submetido ao processo de compostagem pelo sistema de leiras revolvidas por um período de 90 dias (CETESB, 1999; CONAMA 375/2006). As análises de caracterização foram realizadas no Instituto Agrônomo de Campinas seguido os procedimentos da USEPA (1998) e os resultados encontram-se na Tabela 6.12.

As doses de lodo de esgoto para o cultivo das duas espécies de feijão foram calculadas de acordo com a quantidade de nitrogênio recomendado para as culturas em relação ao disponível no lodo (CONAMA 375/2006). As concentrações de coliformes, *Salmonella* sp., ovos de helmintos e metais pesados permaneceram abaixo das concentrações mínimas recomendadas para a cultura do feijão.

Tabela 6.12. Caracterização físico-química do lodo de UASB

Parâmetros	Unidade	Concentração
pH	-	6,4
Umidade, a 60 – 65 °C		24,4
Sólidos totais	% (m/m)	67,8
Sólidos suspensos voláteis		31,7
Carbono Orgânico	g C kg ⁻¹	151,0
NTK	g N kg ⁻¹	20,3
Amônia	mg N kg ⁻¹	1677,0
Nitrato-nitrito	mg N kg ⁻¹	59,2
Arsênio	mg As kg ⁻¹	5,0
Selênio	mg Se kg ⁻¹	ND
Mercúrio	mg Hg kg ⁻¹	ND
Potássio	mg K kg ⁻¹	949,0
Sódio	mg Na kg ⁻¹	611,0
Boro	mg B kg ⁻¹	Não detectado
Cadmio	mg Cd kg ⁻¹	2,0
Cálcio	mg Ca kg ⁻¹	12,5
Chumbo	mg Pb kg ⁻¹	20,7
Cobre	mg Cu kg ⁻¹	120,0
Cromo	mg Cr kg ⁻¹	22,8
Ferro	mg Fe kg ⁻¹	2668,0
Fósforo	g P kg ⁻¹	5,2
Magnésio	g Mg kg ⁻¹	2,3
Manganês	mg Mn kg ⁻¹	191,0
Molibdênio	g P kg ⁻¹	17,5
Níquel	mg Ni kg ⁻¹	18,3
Zinco	mg Zn kg ⁻¹	579,0

Coliformes termotolerantes	NMP g ⁻¹ ST	1,1.10 ³
<i>Salmonella</i> sp.	NMP (10g) ⁻¹ ST	Ausente
Ovos de helmintos	ovos g ⁻¹ ST	0,11

A água de abastecimento utilizada nos tratamentos T0, T1, T2 e T4 tem sua caracterização (APHA, 2012) expressa na Tabela 6.13.

Tabela 6.13. Caracterização físico-química da água de abastecimento

Parâmetros	Unidade	Número de amostras	Concentração
pH	-	13	6,4
Temperatura	°C		29,7
Condutividade elétrica	μS cm ⁻¹		423
OD	mg L ⁻¹		2,56
NTK	mg L ⁻¹ N-NTK	10	0,0
Amônia	mg L ⁻¹ N-NH ₃		0,0
Ferro	mg L ⁻¹		Não detectado
Fósforo			0,01
Zinco			Não detectado
Potássio			0,0
Coliformes totais	NMP (100mL) ⁻¹	8	Não detectado
Coliformes termotolerantes			Não detectado
Ovos de helmintos			0,0

Resultados e Discussões

Peso de 1000 sementes

O resultado do método estatístico de Tukey, a 5% de probabilidade para o peso de 1000 sementes estão expressos na Tabela 6.14.

Tabela 6.14. Resultado do Teste de Tukey para o parâmetro peso de 1000 sementes

Tratamentos	Peso de 1000 sementes (g)	
	<i>P. vulgaris</i> L.	<i>V. unguiculata</i>
T0 (A)	99,26 c	89,23 d
T1 (A + NPK)	195,72 b	203,12 b
T2 (A + I)	99,95 c	90,28 d
T3 (A + I + PK)	125,69 c	157,07 c
T4 (E)	124,16 c	131,76 c

T5 (E + I)	120,04 c	123,02 cd
T6 (E + I + PK)	192,83 b	260,25 a
T7 (L)	169,73 b	255,31 a
T8 (L+ I)	169,06 b	201,43 b
T9 (L + I + PK)	268,63 a	279,60 a

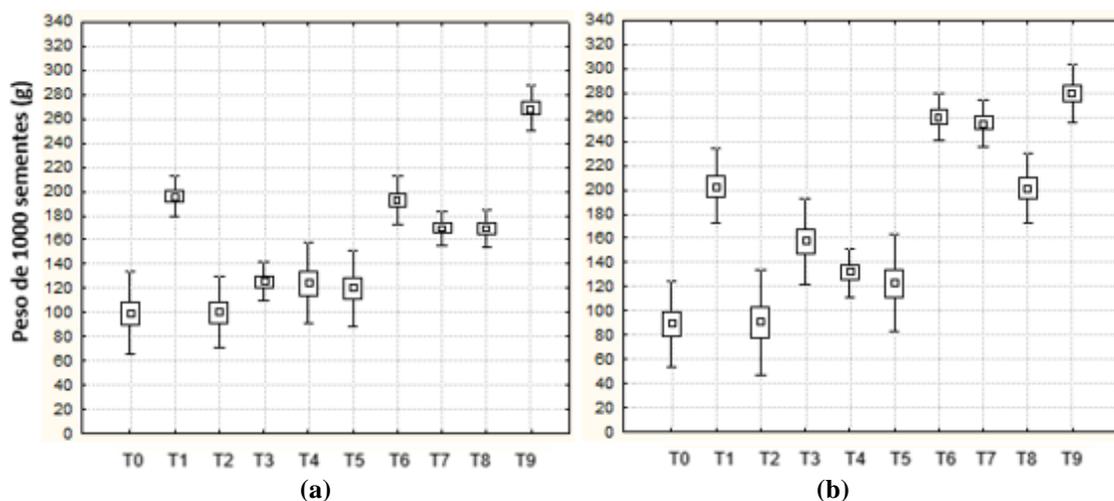
Pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$), os valores médios com a mesma letra não diferem significativamente. T0 (A) = água de abastecimento; T1 (A + NPK) = água + fertilizante NPK; T2 (A + I) = água + inoculação com *Rhizobium*; T3 (A + I + PK) = água + inoculação + PK; T4 (E) = efluente; T5 (E + I) = efluente + inoculação; T6 (E + I + PK) = efluente + inoculação + PK; T7 (L) = lodo; T8 (L+ I) = lodo + inoculação e T9 (L + I + PK) = lodo + inoculação + PK.

Para *P. vulgaris* L., o maior destaque foi para o tratamento T9, cuja combinação (L + I + PK) foi capaz de alcançar 268,63 g para o peso de 1000 sementes. Nenhum outro tratamento se igualou estatisticamente ao seu desempenho. Destacaram-se em seguida os tratamentos T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK) e T7 (L) e T8 (L + I), com pesos respectivos de 195,72 g, 192,83 g e 169,73 g e 169,06 g.

Para a espécie *V. unguiculata*, os tratamentos T9, T6 e T7 se destacaram por apresentar respectivamente 279,60 g, 260,25 g, 255,31 g para o peso de 1000 sementes. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os três, mostrando que para esta espécie as respectivas combinações (L + I + PK), (E+ I + PK) e (L), respectivamente, ofereceram as melhores condições para a produção de grãos. Interessante é que o tratamento somente com lodo (T7) foi capaz de alcançar os mesmos resultados obtidos pelos outros dois tratamentos T9 e T6, ficando evidente que os nutrientes contidos no mesmo, especialmente N, P e K, forneceram excelentes condições ao bom desenvolvimento da planta.

Por meio da Figura 1a e 1b também é possível uma comparação do desempenho dos tratamentos, ficando evidente a performance de T7, tanto para *P. vulgaris* L., quanto para *V. unguiculata*, respectivamente.

Figura 6.2. Equivalência de tratamentos para o peso de 1000 sementes para a espécie: (a) *P. vulgaris* L. e (b) *V. unguiculata*;
T0 (A), T1 (A+NPK), T2 (A+I), T3 (A + I + PK), T4 (E), T5 (E + I), T6 (E + I + PK), T7 (L), T8 (L + I) e T9 (L + I + PK).



Comparando os tratamentos por equivalência de fertirrigação, ou seja, T0 (A) com T4 (E) e T7 (L); T2 (A + I) com T5 (E + I) e T8 (L + I); e T3 (A + I + PK) com T6 (E + I + PK) e T9

(L + I + PK), observou-se que as composições com efluente e lodo apresentaram melhores desempenhos que àqueles com a combinação de água, exceto T1 (A + NPK).

O desempenho de uma cultura está associado principalmente aos teores de macronutrientes disponíveis e absorvidos pela planta (Silva, 2015; Barros, 2012). Tanto o efluente, quanto o lodo são fontes expressivas de N, P e K. Diversos trabalhos apontam o crescimento acentuado das plantas por meio desses subprodutos: eucalipto (Silva et al, 2015), milho (Barros, 2012), feijão (Nascimento, 2004), etc. A absorção de nitrogênio está associada com a assimilação de carbono através da fotossíntese e com o crescimento a partir da acumulação de biomassa vegetal (Gastal e Lemaire, 2002). O fósforo também está envolvido em diversas funções chave da planta, como a transferência de energia, a fotossíntese e a transformação de açúcares e amidos, a transferência de características genéticas de uma geração para outra da planta e a produção de massas das sementes (Zucareli et al, 2011). Já o potássio participa da ativação de vários sistemas enzimáticos, fotossíntese e respiração, fornecendo resistência à planta (Ernani et al, 2007).

Quando se trata do desempenho de um plantio de feijoeiro, os aspectos agrônômicos são cruciais, no entanto, em virtude da importância dessa leguminosa na alimentação, os aspectos nutricionais são de grande relevância. Dentro desse contexto, os micronutrientes assumem um papel importante. Embora requeridos em baixas concentrações, os micronutrientes são fundamentais para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, agindo como constituintes das paredes celulares (B) e das membranas celulares (B, Zn), como constituintes de enzimas (Fe, Mn, Cu, Ni), como ativadores de enzimas (Mn, Zn) e na fotossíntese (Fe, Cu, Mn, Cl). Os especialistas em nutrição de plantas e os agrônomos vêm mostrando crescente interesse pelos micronutrientes em decorrência de sua importância para a produção das culturas (Kirkby e Römheld, 2007).

Para o feijoeiro, a importância dos micronutrientes ainda é maior. Sendo um alimento que agrega ferro, zinco e proteínas, possui um impacto positivo na dieta humana (Bassinello et al., 2012), inclusive no combate à doenças como anemia e desnutrição (Pereira e Hessel, 2008).

Por meio da Figura 6.3 e 6.4 é possível perceber que os tratamentos refletiram diferentes tamanhos de sementes, e que o tratamento T7 obteve resultados bem satisfatórios, no entanto objetivo maior do trabalho é a biofortificação desses grãos.

Figura 6.3. Tamanho médio das sementes *P. vulgaris* L. de cada tratamento, considerando amostragem de 100 sementes: T0 (A) = 0,55 cm, T1 (A+NPK) = 0,99 cm, T2 (A+I) = 0,61 cm, T3 (A + I + PK) = 0,73 cm, T4 (E) = 0,66 cm, T5 (E + I) = 0,65 cm, T6 (E + I + PK) = 0,99 cm, T7 (L) = 0,98 cm, T8 (L + I) = 0,97 cm e T9 (L + I + PK) = 1,12 cm.

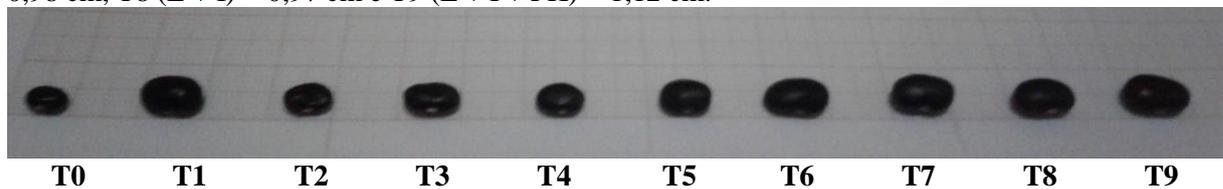
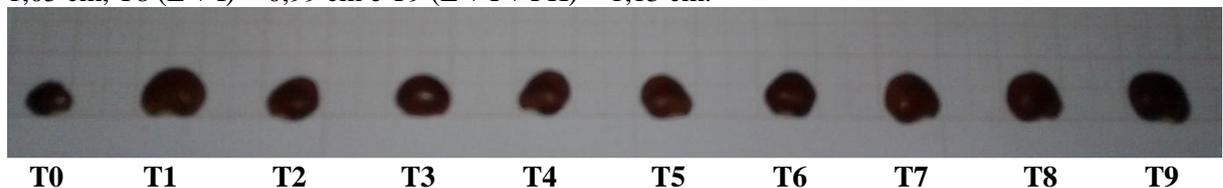


Figura 6.4. Tamanho médio das sementes *V. unguiculata* de cada tratamento, considerando amostragem de 100 sementes: T0 (A) = 0,61 cm, T1 (A+NPK) = 1,01 cm, T2 (A+I) = 0,63 cm, T3 (A + I + PK) = 0,79 cm, T4 (E) = 0,67 cm, T5 (E + I) = 0,67 cm, T6 (E + I + PK) = 1,05 cm, T7 (L) = 1,05 cm, T8 (L + I) = 0,99 cm e T9 (L + I + PK) = 1,13 cm.



Ferro, zinco e proteína bruta

O resultado do método estatístico de Tukey, a 5% de probabilidade, para avaliação da biofortificação dos grãos estão expressos na Tabela 6.15. Foram determinadas as concentrações de ferro, zinco e proteína bruta nas sementes de cada tratamento.

Tabela 6.15. Resultado do Teste de Tukey para teor de ferro, zinco e proteína bruta

Tratamentos	Ferro (mg kg ⁻¹)		Zinco (mg kg ⁻¹)		Proteína bruta (g kg ⁻¹)	
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>
T0 (A)	69,10 c	61,00 c	61,58 b	60,75 b	97,8 d	124,4 c
T1 (A + NPK)	67,32 c	41,79 d	41,62 c	41,43 c	229,9 ab	220,6 ab
T2 (A + I)	76,97 c	59,45 c	61,83 b	58,17 bc	147,6 c	148,8 b
T3 (A + I + PK)	77,46 c	62,79 c	40,00 c	51,83 c	207,8 b	200,8 ab
T4 (E)	137,25 ab	95,55 b	63,58 b	58,33 bc	190,9 b	185,5 b
T5 (E + I)	148,63 ab	90,80 b	66,08 b	56,83 bc	192,8 b	214,5 ab
T6 (E + I + PK)	151,72 ab	88,42 b	56,25 bc	56,67 bc	225,2 ab	207,4 ab
T7 (L)	150,33 ab	161,22 a	71,00 a	73,58 a	233,1 a	226,7 a
T8 (L+ I)	156,88 ab	129,13 ab	62,92 b	57,92 bc	192,1 b	218,8 ab
T9 (L + I + PK)	176,58 a	145,33 a	70,42 a	64,50 b	236,5 a	210,5 ab

Pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$), os valores médios com a mesma letra não diferem significativamente. T0 (A) = água de abastecimento; T1 (A + NPK) = água + fertilizante NPK; T2 (A + I) = água + inoculação com *Rhizobium*; T3 (A + I + PK) = água + inoculação + PK; T4 (E) = efluente; T5 (E + I) = efluente + inoculação; T6 (E + I + PK) = efluente + inoculação + PK; T7 (L) = lodo; T8 (L+ I) = lodo + inoculação e T9 (L + I + PK) = lodo + inoculação + PK.

Avaliando o resultado do teor de ferro nos grãos para a espécie *P. vulgaris*, os melhores tratamentos foram T9 (L + I + PK), T8 (L + I), T6 (E + I + PK), T7 (L), T5 (E + I) e T4 (E), com as respectivas concentrações de 176,58 mg kg⁻¹, 156,88 mg kg⁻¹, 151,72 mg kg⁻¹, 150,33 mg kg⁻¹, 148,63 mg kg⁻¹ e 137,25 mg kg⁻¹. Esses resultados revelam que todos os tratamentos com efluente e lodo produziram grãos fortificados em ferro. Possobom (2015), por meio de melhoramento clássico encontrou grãos de *P. vulgaris* com concentrações de ferro de 132,99 mg kg⁻¹ e Buratto (2012), de 161,50 mg kg⁻¹. Já Santos (2013), por meio de melhoramento de linhagens encontrou 137 mg kg⁻¹ de ferro para *V. unguiculata*. Para esta, o destaque maior foi para o tratamento T7 (L) e T9 (L + I + PK), chegando numa concentração de ferro de 161,22 g kg⁻¹ e 145,33 mg kg⁻¹. Esses resultados para ambas as espécies são bem interessantes comparados àqueles desenvolvidos por meio de outras técnicas de biofortificação. Dessa forma, os resultados da presente pesquisa mostram que o desempenho da biofortificação dos grãos por ferro, usando efluente e lodo, foram extremamente satisfatórios.

Quanto aos resultados de zinco para a espécie *P. vulgaris*, os melhores desempenhos foram para os tratamentos T7 (L) e T9 (L + I), com as respectivas concentrações de 71,00 mg kg⁻¹ e 70,42 mg kg⁻¹. Para o *V. unguiculata*, o tratamento T7 (L) também apresentou o melhor desempenho, com teor de zinco de 73,58 mg kg⁻¹. Estes são resultados interessantes quando

comparados, por exemplo, com o de Buratto (2012), que encontrou concentração de 69,90 mg kg⁻¹ de zinco por meio da biofortificação genética em *P. vulgaris* L.

Outro detalhe importante é que o tratamento T1 (A) em ambas as espécies, apresentaram as mais baixas concentrações para zinco. Isso corrobora a linha de estudo que avalia a perda da fixação de zinco induzida por fertilizantes fosfatados (Soltangheisi, 2013; Singh, 1988; Warnock, 1970). A adubação fosfatada reduz drasticamente a disponibilidade de Zn no solo, por meio da formação de precipitados de reduzida solubilidade (Behara et al, 2011).

Para a proteína nos grãos, em ambas as espécies o melhor desempenho foi para os tratamentos T1 (A + NPK), T7 (L) e T9 (L + I + PK).

Conclusões

Os tratamentos com efluente, lodo e suas variações apresentaram desempenhos satisfatórios quanto à produção de grãos, avaliada em termos do peso de 1000 sementes. Para a espécie *Phaseolus vulgaris* L., os tratamentos T4 (E) e T7 (L) obtiveram uma produção 24% e 70% superior ao tratamento com água (T0), respectivamente. Para a espécie *Vigna unguiculata* (L) Walp., T4 e T7 superaram T0 em 47% e 186%, respectivamente. Isso representa um excelente resultado. Ainda assim, os melhores desempenhos de produção para a primeira espécie se concentraram no tratamento T9 (L + I + PK), enquanto para segunda se concentraram tanto em T9 (L + I + PK), como em T6 (efluente + inoculação + PK) e T7 (lodo).

Quanto à nutrição dos grãos, o destaque foi ainda maior em virtude das concentrações de Fe e Zn provenientes do efluente, lodo e suas variações. Para a espécie *Phaseolus vulgaris* L. os tratamentos T4 (E), T5 (E + I), T6 (E + I + PK), T7 (L), T8 (L + I) e T9 (L + I + PK) superaram T0 em no mínimo 31%. Já para a espécie *Vigna unguiculata* (L) Walp. o melhor desempenho foi para T7 (L). De uma forma geral, este tratamento apresentou destaque em todos os parâmetros avaliados. Sua maior vantagem sobre o tratamento T1 (A + NPK) foi exatamente a atuação na biofortificação dos grãos quanto ao ferro e zinco.

Portanto, os tratamentos com efluente, lodo e suas variações obtiveram destaque na biofortificação dos grãos, mostrando a viabilidade do uso de esgoto tratado e lodo no cultivo das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp.

Referências

- APHA, AWWA, WEF Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 22nd edition, Washington, USA, 2012.
- Barros K., Nascimento C., Florencio L. Nematode suppression and growth stimulation in corn plants (*Zea mays* L.) irrigated with domestic effluent. *Water Science Technology*. 66 (2012) 681-688.
- Bassinello P., Silva Júnior L., Melo L., Peloso M. Retenção mineral do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) após cozimento. In: 9 CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2008, Campinas. Anais de Congresso... Campinas, SP: Instituto Agrônomo de Campinas, 2008. v. 1. p. 1197-1200.
- Behara S. et al. Distribution variability of total and extractable zinc in cultivated acid soils of India and their relationship with some selected soil properties. *Geoderma*. 162 (3), (2011) 242-250.
- Buratto J. Teores de minerais e proteínas em grãos de feijão e estimativas de parâmetros genéticos. Tese de Doutorado. UFLA, 2012.
- CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental). Norma Técnica CETESB P4.230 de 28 de outubro de 1999: Aplicação de lodos do sistema de tratameto biológico em áreas agrícolas – Critérios para projetos e operação. São Paulo: CETESB, 1999. 32p.
- CONAMA 375/2006 (Conselho Nacional de Meio Ambiente) "Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados,

- e dá outras providências". - Data da legislação: 29/08/2006 - Publicação DOU nº 167, de 30/08/2006, pág. 141-146.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, in: Silva, F.C. (Ed.), Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brasil, (1999) 75-223.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. Circular Técnica 63 (2006) 9p.
- Ernani P., Almeida J., Santos F. Potasio. En: Novais, R.; Alvarez, V., Barros, N., Fontes, R., Cantarutti, R., Neves J. Fertilidade do solo. Viçosa: UFV. 1017 p, 2007.
- Gastal F., Lemaire, G. N uptake and distribution in crops: an agronomical and ecophysiological perspective. *Journal of Experimental Botany*. 53 (2002) 789-799.
- Gonçalves A., Gonçalves W., Silva K., Oliveira R. Uso da Biofortificação vegetal: uma revisão. *Cerrado Agrociências* 6 (2015) 75 – 87.
- Inocencio M., Frações de zinco no solo e biofortificação agrônômica com selênio, ferro e zinco em soja e trigo. Tese Doutorado. UFLA, 2014.
- IPA (Instituto Pernambucano de Agronomia) Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco, 2º ed. Instituto Agrônômico de Pernambuco, Comissão Estadual de Fertilidade do Solo, Recife, Brasil, 2008.
- Kirkby E., Römheld V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. *Informações Agrônômicas* 118 (2007) 1-24. Encarte Técnico.
- Lima J., Schulze S., Ribeiro M., Barreto S. Mineralogia de um Argisolo Vermelho-Amarelo da zona úmida costeira do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*. 32 (2008) 881-892.
- Mafra D., Cozzolino S. Importância do zinco na nutrição humana. *Revista de Nutrição*. Campina 17(1), (2004) 79-87.
- Mapa (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento). Brasil Projeções do Agronegócio 2011/2012 a 2021/20122. Assessoria de Gestão Estratégica. Brasília. 51 p, 2012.
- Nascimento C., Barros D., Melo E., Oliveira A. Alterações Químicas em solos e crescimento de milho e feijoeiro após aplicação de lodo de esgoto. *Revista Brasileira de Ciências do Solo* 28 (2004) 385-392.
- Pereira, T., Hessel G. Deficiência de zinco em crianças e adolescentes com doenças hepáticas crônicas. *Revista Paulista de Pediatria*, v. 27, n. 3, São Paulo. Setembro de 2009.
- Possobom M., Ribeiro N., Casagrande C. Biofortificação de ferro em grãos de feijão por melhoramento clássico. 5º Simpósio de Segurança Alimentar. Alimentação e Saúde, 2015.
- Santos C. Melhoramento de linhagens de feijão-caupi com altos teores de proteínas e minerais nas sementes para o Vale do São Francisco. III CONAC, Congresso Nacional de feijão-caupi. Genética e Melhoramento, 2013.
- Silva R., Gavazza S., Florencio L., Nascimento C., Kato M. Cultivo de mudas de eucalipto com esgoto doméstico tratado. *Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental*. 20 (2), (2015) 323-330.
- Singh J., Karamanos R., Stewart J. The mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Canadian Journal of Soil Science*. 68 (1988) 345-358.
- Soltangheisi A., Ishak C., Musa H., Zakikhani H., Rahman Z. Phosphorus and Zinc uptake and their interaction effect on dry matter and chlorophyll content of sweet corn (*Zea mays var. Saccharata*). *Journal Agronomy*. 12 (4), (2013) 187-192.
- Souza C., Oliveira F., Silva I., Amorim Neto M. Avaliação de Métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 4 (3), (2000) 338-342.
- Tsutsumi C., Bulegon L., Piano J. Melhoramento genético do feijoeiro: avanços, perspectivas, novos estudos no âmbito nacional. *Pesquisas Agrárias e Ambientais* 3 (3) (2015) 217-223.
- USEPA U.S. Environmental Protection Agency, Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, soils and oils, 1998.
- Warnock E. Micronutrient uptake and mobility within corn plants (*Zea mays* L.) in relation to phosphorus-induced zinc deficiency. *Soil Science Society of America Proceedings*. 34 (1970) 765-769.
- WHO Health guidelines for the use of waste water in agriculture and aquaculture, World Health Organization, Technical Report, Series nr. 778, Geneva, Switzerland, 1998.
- Zucareli C., Prando A., Ramos Jr E. Fósforo na produtividade e qualidade de sementes de feijão Carioca Precoce cultivado no período das águas. *Revista de Ciências Agrônômica*. 42 (1), (2011) 32-38.

6.3 Artigo III: Avaliação da trofobiose quanto às respostas bioquímicas de duas espécies de feijão cultivadas com esgoto tratado e lodo

Resumo

Avaliou-se o efeito do uso de efluente de ETE e lodo de UASB na redução da incidência de pragas no cultivo das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna Unguiculata* (L) Walp. A ETE é formada por reator UASB seguido de lagoa de polimento e filtros de pedra. O experimento foi montado em blocos casualizados no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições. Os tratamentos T0, T1, T2 e T3 consistiram, respectivamente, na irrigação com água de abastecimento, água + adição de fertilizantes (NPK), água + inoculação com bactéria *Rhizobium* e água + inoculação com *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T4, T5 e T6 consistiram, respectivamente, na irrigação com efluente da ETE, efluente + *Rhizobium* e efluente + *Rhizobium* + PK. Os tratamentos T7, T8 e T9 consistiram no uso de lodo do UASB, lodo + *Rhizobium* e lodo + *Rhizobium* + PK. Cada vaso contendo 10 kg de solo foi usado para cultivar 2 plantas, com irrigação diária controlada por peso. Aos 38 dias observou-se a incidência de pragas nos tratamentos com NPK e composições PK. A partir daí foi possível a identificação dos insetos-praga incidentes, além da coleta das amostras de folhas para avaliação bioquímica. Assim como preconizado pela teoria da trofobiose, as maiores concentrações de aminoácidos livres, proteína solúvel e açúcares redutores, em ambas as espécies, foram para os tratamentos T1 (A + NPK), T3 (A + I + PK), T6 (E + I + PK) e T9 (L + I + PK). Os tratamentos somente com efluente e lodo, T4 (E) e T7 (L), não foram alvos dos ataques de pragas. Concomitantemente, os teores de substâncias solúveis presentes nas amostras de folhas dos mesmos, estiveram bem abaixo daqueles que se destacaram com as maiores concentrações, demonstrando a viabilidade do efluente e lodo na redução da incidência de pragas para as espécies de feijão *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., *Vigna unguiculata* (L) Walp, lodo de UASB, efluente de ETE, trofobiose.

Introdução

De acordo com a teoria da trofobiose todo organismo vegetal fica vulnerável à infestação de pragas e doenças quando excessos de aminoácidos livres e açúcares redutores estão presentes no sistema metabólico (Polito, 2006), provocando condições favoráveis para a sua alimentação, maturação e reprodução. Segundo Chaboussou (1999), toda circunstância desfavorável à formação de nova quantidade de citoplasma, isto é, desfavorável ao crescimento, tende a provocar na solução vacuolar das células um acúmulo de compostos solúveis inutilizados, como açúcares e aminoácidos; este acúmulo de produtos solúveis parece favorecer a nutrição de micro-organismos parasitas e, portanto, diminuir a resistência da planta às doenças parasitárias. A maior parte dos insetos e ácaros de plantas, diferentes tipos de fungos, bactérias e nematódios dependem de aminoácidos livres existentes na seiva das plantas ou no suco celular para sua alimentação, maturação e reprodução (Ohmart et al., 1985; Primavesi, 1994; Paschoal, 1996; Jiang e Cheng, 2003).

Ainda segundo a teoria da trofobiose, o acúmulo de substâncias solúveis se dá por perturbações no processo de síntese protéica (proteossíntese) e no metabolismo dos hidratos de carbono, provocadas por desequilíbrios minerais no solo, principalmente pelo uso de

fertilizantes minerais de alta solubilidade e uso de agrotóxicos. A avaliação de parâmetros bioquímicos da planta como açúcares, aminoácidos, carboidratos solúveis, clorofila e sacarose são cruciais dentro desse contexto.

O feijão tem um importante papel na alimentação da população brasileira. É um produto usado como complemento alimentar para o arroz, sendo uma fonte vegetal rica em ferro, zinco e proteínas, e com baixo custo quando comparado com a proteína animal. Além da importância na alimentação, a cultura do feijoeiro também se destaca pela alta rentabilidade econômica ao agricultor que investe na aplicação de novas tecnologias, deixando de ser considerada como cultura de subsistência para ocupar extensas áreas e fazer parte do programa de rotação de culturas e planejamento de muitas propriedades agrícolas (Sguario Jr, 2000). Dentre as principais pragas que podem atingir a cultura do feijoeiro se destacam a lagarta rosca, lagarta das vagens, ácaro-branco e lagarta-enroladeira (EMBRAPA, 2001).

O objetivo desse estudo foi avaliar a trofobiose em cultivos com efluente de ETE e lodo de UASB em duas espécies de feijão, com base na análise de parâmetros bioquímicos, para verificar a possível redução da incidência de pragas e uso de agrotóxicos.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Departamento de Energia Nuclear da Universidade Federal de Pernambuco. Durante o período experimental foi realizado o monitoramento da temperatura no interior da casa de vegetação, sendo registradas variações de 22,1 a 32,9°C.

A ETE deste estudo apresenta o sistema que comporta reator UASB seguido de lagoa de estabilização e dois filtros de pedra. O tempo de detenção hidráulica do sistema (TDH) é de 10,4 dias, com vazão de 30 L/s.

O efluente da ETE foi utilizado na irrigação das espécies de feijão: *Phaseolus vulgaris* L. (feijão preto) e *Vigna unguiculata* (L) Walp. (feijão caupi). O lodo do UASB também foi utilizado como adubo. Diferentes configurações do efluente e lodo foram utilizadas no experimento (Tabela 6.16). O experimento foi montado em blocos inteiramente casualizados no sistema fatorial 10 x 2, com três repetições cada.

Tabela 6.16. Tratamentos utilizados no cultivo das duas espécies de feijão

Tratamento	Descrição
T0 (A)	Água de abastecimento
T1 (A + NPK)	Água de abastecimento + fertilizante NPK
T2 (A + I)	Água de abastecimento + inoculação por bactéria <i>Rhizobium</i>
T3 (A + I + PK)	Água de abastecimento + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T4 (E)	Efluente
T5 (E + I)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i>
T6 (E + I + PK)	Efluente + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK
T7 (L)	Lodo *
T8 (L + I)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> *
T9 (L + I + PK)	Lodo + inoculação por <i>Rhizobium</i> + fertilizante PK *

*Irrigação com água de abastecimento

Alguns tratamentos fizeram uso da bactéria *Rhizobium* por meio de inoculação. Uma característica importante do feijoeiro é sua capacidade de estabelecer simbiose com bactérias específicas, como as bactérias desse gênero, podendo obter nitrogênio fixado da atmosfera em nódulos radiculares (Pinto et al., 2007), suprimindo parte de sua necessidade com relação a este macronutriente.

As cultivares de feijão consistiram na IPA 10 e IPA 207, respectivamente, *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*. As mesmas foram cedidas pelo Instituto Agrônomo de Pernambuco, juntamente com os respectivos inóculos *Rhizobium*.

O solo para o experimento foi obtido no município de Jaboatão dos Guararapes, região da Zona da Mata de Pernambuco/Brasil. Esse solo se classifica como Argissolo Vermelho-Amarelo, com base no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos (Lima et al., 2008), apresentando textura de média a muito argilosa, conforme Tabela 6.17.

As análises do solo foram realizadas segundo os métodos propostos pela EMBRAPA (1999), no Laboratório de Solos da Estação Experimental de Cana-de-Açúcar da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Tabela 6.17. Características físicas e químicas do solo utilizado no experimento

Características químicas									Características físicas						
pH	MO	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H	Areia	Silte	Argila	CC	PMP	DS	DP
(-)	(%)	mg dm ⁻³	cmol dm ⁻³						(%)			mg mg ⁻¹	g cm ⁻³		
4,6	0,22	1,0	0,06	0,1	0,3	0,3	1,5	1,2	13,3	54,0	32,7	0,37833	0,06029	1,15	2,53

MO=Percentual de Matéria Orgânica; DS=Densidade do Solo; DP=Densidade da Partícula; CC=Capacidade de Campo; PMP=Ponto de Murcha Permanente.

As plantas foram cultivadas em vasos contendo 10 kg de solo. Inicialmente, 5 sementes foram semeadas em cada vaso. No 5º dia, após a germinação, foi realizado o desbaste, permanecendo apenas 2 plantas por vaso, seguindo a recomendação de Oliveira et al (2015).

O controle da irrigação se deu por pesagem. Diariamente o solo foi irrigado até atingir a lâmina correspondente à 80% da saturação do solo. Esse índice foi adotado como o conteúdo de água retida pelo solo após a sua saturação e consequente cessamento da drenagem por ação da gravidade (Silva et al, 2015; Souza et al., 2000).

Os parâmetros bioquímicos avaliados foram aminoácidos livres, proteína solúvel, açúcares redutores, clorofila *a* e *b* e prolina. Para as análises foram coletadas, quando do ataque das pragas, folhas completamente desenvolvidas nas 6 plantas de cada tratamento, entre 9:30h e 10:30h, sendo acondicionadas em bolsas plásticas e colocadas dentro de um recipiente com gelo (Bezerra Neto e Barreto, 2011) e encaminhadas ao Laboratório de Bioquímica da Planta/UFRPE.

Para determinação dos teores de aminoácidos foi utilizado o método de Yemm e Cocking (1995). O teor de proteína solúvel foi determinado pelo método de Bradford (1976) e o prolina por Bates et al. (1973). Para a determinação de clorofila *a* e *b* foi utilizado o método de Mackinney (1941) e para açúcares redutores a subtração de carboidratos solúveis (Yem e Willis, 1954) e sacarose (Van Handel, 1968).

Dado o delineamento em blocos inteiramente casualizados, os resultados foram avaliados estatisticamente utilizando-se a análise de variância (ANOVA) e o teste de F, nos níveis de 1 e 5%. Por último, as hipóteses foram testadas para encontrar possíveis diferenças significativas entre os tratamentos, através do teste de Tukey ($p > 0,05$).

Para os tratamentos com adição de NPK (T1) e PK (T3, T6 e T9), as doses dos nutrientes N, P e K foram aplicadas de acordo com as recomendações do IPA (2008) para a adubação das respectivas espécies de feijões (g kg^{-1} de solo). Os fertilizantes minerais utilizados para atender aos requisitos desses nutrientes foram sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente. Para a correção da acidez, foi introduzido carbonato de cálcio, na dose de $0,6 \text{ g kg}^{-1}$ de solo seco de acordo com IPA (2008), aplicado em todos os vasos do experimento.

O efluente da ETE, proveniente dos filtros de pedra, foi utilizado na irrigação dos tratamentos T4, T5 e T6. As análises de caracterização foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE com base nas metodologias preconizadas por APHA (2012), conforme Tabela 6.18.

Tabela 6.18. Caracterização físico-química do efluente da ETE

Parâmetros	Unidade	Número de amostras	Concentração
pH	-	13	7,3
Temperatura	°C		27
Condutividade elétrica	$\mu\text{S cm}^{-1}$		974
Sólidos totais	mg L^{-1}		1286
Sólidos totais fixos	mg L^{-1}		1040
Sólidos totais voláteis	mg L^{-1}		246
Sólidos suspensos totais	mg L^{-1}		43
Sólidos suspensos fixos	mg L^{-1}		15
Sólidos suspensos voláteis	mg L^{-1}		18
Sólidos dissolvidos totais	mg L^{-1}		1243
Sólidos dissolvidos fixos	mg L^{-1}		1025
Sólidos dissolvidos voláteis	mg L^{-1}		218
DQO	mg L^{-1}		10
NTK	mg L^{-1} N-NTK	13,10	
Amônia	mg L^{-1} N-NH ₃	10,60	
Nitrito	mg L^{-1} N-NO ₂ ⁻	1,09	
Nitrato	mg L^{-1} N-NO ₃ ⁻	2,17	
Fósforo	mg L^{-1}	2,39	
Potássio	mg L^{-1}	11,20	
Ferro	mg L^{-1}	0,81	
Zinco	mg L^{-1}	0,13	
Coliformes totais	NMP (100mL) ⁻¹	8	
Coliformes termotolerantes	NMP (100mL) ⁻¹		$<10^3$
Ovos de helmintos	ovos L ⁻¹		0,0

O lodo utilizado nos tratamentos T7, T8 e T9 foi submetido ao processo de compostagem pelo sistema de leiras revolvidas por um período de 90 dias. As análises de caracterização foram realizadas no Instituto Agronômico de Campinas/SP e os resultados encontram-se na Tabela 6.19.

As doses de lodo de esgoto para o cultivo das duas espécies de feijão foram calculadas de acordo com a quantidade de nitrogênio recomendado para as culturas em relação ao disponível no lodo (CONAMA 375/06; CETESB, 1999). Vale salientar que as concentrações de coliformes, *Salmonella* sp., ovos de helmintos e metais pesados permaneceram abaixo das concentrações mínimas recomendadas para a cultura do feijão.

Tabela 6.19. Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de UASB

Parâmetros	Unidade	Concentração
pH	-	6,4
Umidade, a 60 – 65 °C	% (m/m)	24,4
Sólidos totais	% (m/m)	67,8
Sólidos suspensos voláteis	% (m/m)	31,7
Carbono Orgânico	g C kg ⁻¹	151,0
NTK	g N kg ⁻¹	20,3
Amônia	g N kg ⁻¹	1677,0
Nitrato-nitrito	g N kg ⁻¹	59,2
Arsênio	g As kg ⁻¹	5,0
Selênio	g Se kg ⁻¹	ND
Mercúrio	g Hg kg ⁻¹	ND
Potássio	g K kg ⁻¹	949,0
Sódio	g Na kg ⁻¹	611,0
Boro	g B kg ⁻¹	Não detectado
Cadmio	g Cd kg ⁻¹	2,0
Cálcio	g Ca kg ⁻¹	12,5
Chumbo	g Pb kg ⁻¹	20,7
Cobre	g Cu kg ⁻¹	120,0
Cromo	g Cr kg ⁻¹	22,8
Ferro	g Fe kg ⁻¹	2668,0
Fósforo	g P kg ⁻¹	5,2
Magnésio	g Mg kg ⁻¹	2,3
Manganês	g Mn kg ⁻¹	191,0
Molibdênio	g P kg ⁻¹	17,5
Níquel	g Ni kg ⁻¹	18,3
Zinco	g Zn kg ⁻¹	579,0
Coliformes termotolerantes	NMP g ⁻¹ ST	1,1.10 ³
<i>Salmonella</i> sp.	NMP (10g) ⁻¹ ST	Ausente
Ovos de helmintos	ovos g ⁻¹ ST	0,11

A água de abastecimento utilizada nos tratamentos T0, T1, T2 e T4 foi retirada de um ponto de fornecimento (torneira) localizado na própria casa de vegetação. As análises de

caracterização foram realizadas no Laboratório de Saneamento Ambiental da UFPE com base nas metodologias preconizadas por APHA (2012), conforme Tabela 6.20.

Tabela 6.20. Caracterização físico-química e microbiológica da água de abastecimento

Parâmetros	Unidade	Número de amostras	Concentração
pH	-	13	6,4
Temperatura	°C		29,7
Condutividade elétrica	$\mu\text{S cm}^{-1}$		423
OD	mg L^{-1}		2,56
NTK	mg L^{-1} N-NTK	10	0,0
Amônia	mg L^{-1} N-NH ₃		0,0
Ferro	mg L^{-1}		Não detectado
Fósforo	mg L^{-1}		0,01
Zinco	mg L^{-1}		Não detectado
Potássio	mg L^{-1}		0,0
Coliformes totais	NMP (100mL)^{-1}	8	Não detectado
Coliformes termotolerantes	NMP(100mL)^{-1}		Não detectado
Ovos de helmintos	ovos L^{-1}		0,0

Resultados e Discussões

Aminoácidos livres, proteína solúvel e açúcares redutores

O resultado do método estatístico de Tukey, a 5% de probabilidade, encontra-se na Tabela 6.21.

Tabela 6.21. Resultado do Teste de Tukey para aminoácidos livres, proteína solúvel e açúcares redutores

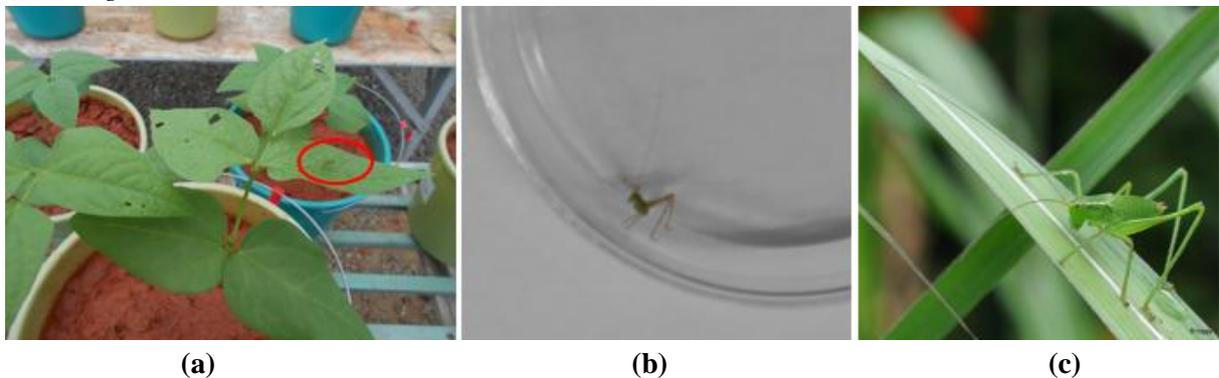
Tratamentos	Aminoácidos livres (mg g^{-1})		Proteína solúvel (mg g^{-1})		Açúcares redutores (mg g^{-1})	
	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris L.</i>	<i>Vigna unguiculata</i>
T0 (A)	0,164 e	0,188 d	1,755 f	1,104 d	2,12 e	1,98 d
T1 (A + NPK)	0,325 a	0,340 a	4,256 b	4,008 b	12,10 a	9,14 a
T2 (A + I)	0,212 cd	0,196 d	1,823 ef	1,120 d	3,47 de	2,89 d
T3 (A + I + PK)	0,245 bc	0,234 bc	4,392 ab	3,795 b	10,11 ab	8,52 a
T4 (E)	0,192 de	0,200 cd	2,099 cd	1,689 c	4,14 de	3,86 cd
T5 (E + I)	0,210 cd	0,202 cd	2,259 c	1,589 c	4,80 cd	4,12 cd
T6 (E + I + PK)	0,255 b	0,239 bc	4,279 b	4,269 ab	10,38 ab	8,74 a
T7 (L)	0,162 e	0,192 d	1,983 de	1,622 c	6,45 c	6,02 bc

T8 (L+ I)	0,228 bc	0,205 cd	2,053 cd	1,757 c	6,88 c	6,21 b
T9 (L + I + PK)	0,242 bc	0,253 b	4,600 a	4,434 a	9,20 b	8,23 ab

Pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$), os valores médios com a mesma letra não diferem significativamente. T0 (A) = água de abastecimento; T1 (A + NPK) = água + fertilizante NPK; T2 (A + I) = água + inoculação com *Rhizobium*; T3 (A + I + PK) = água + inoculação + PK; T4 (E) = efluente; T5 (E + I) = efluente + inoculação; T6 (E + I + PK) = efluente + inoculação + PK; T7 (L) = lodo; T8 (L+ I) = lodo + inoculação e T9 (L + I + PK) = lodo + inoculação + PK.

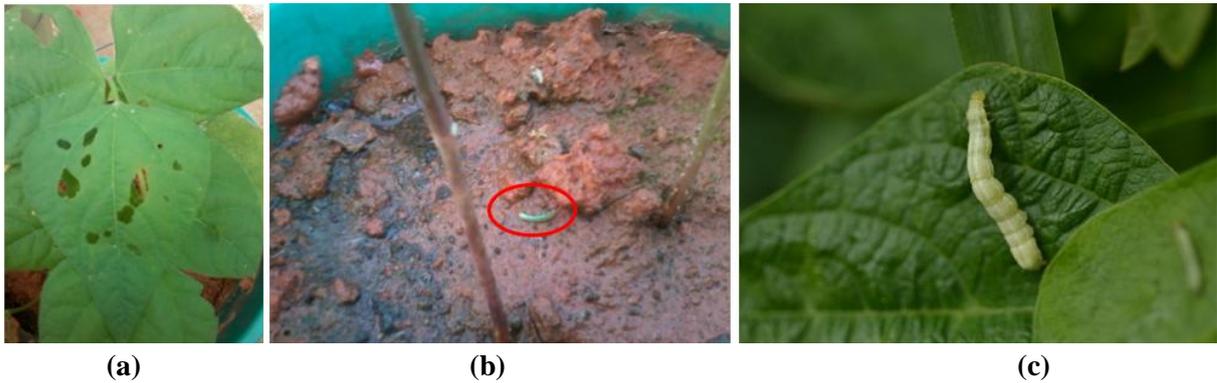
O tratamento T1 (A + NPK) foi o grande destaque para o parâmetro aminoácidos livres, alcançando a maior concentração em ambas as espécies, $0,325 \text{ mg g}^{-1}$ para *P. vulgaris* L. e $0,340 \text{ mg g}^{-1}$ para *V. unguiculata*. Embora não existam estudos que definam o grau de concentração de aminoácidos a partir do qual se torne mais perceptível ao inseto-praga, uma diferença sutil no seu teor pode ser significativa no contexto da trofobiose (Vilanova e Silva Junior, 2010). Por outro lado, de acordo com Zambolim e Ventura (1996), o nitrogênio na forma de sulfato de amônia acarreta um nível mais baixo de proteossíntese, aumentando o conteúdo de aminoácidos livres nas folhas, tornando as plantas mais sensíveis aos insetos praga. Não por coincidência, a partir de 38° dia do plantio, quando do início dos estágios de amadurecimento da planta de feijão, foram encontrados nos vasos do tratamento T1 (A + NPK), em ambas as espécies, os insetos-praga apresentadas na Figura 6.5.

Figura 6.5: (a) Vaso do tratamento T1 (A + NPK) – *V. unguiculata*, com incidência de gafanhoto; (b) Gafanhoto coletado para identificação; (c) Gafanhoto da espécie *Meconema thalassinum* (Fonte: agrolink.com).



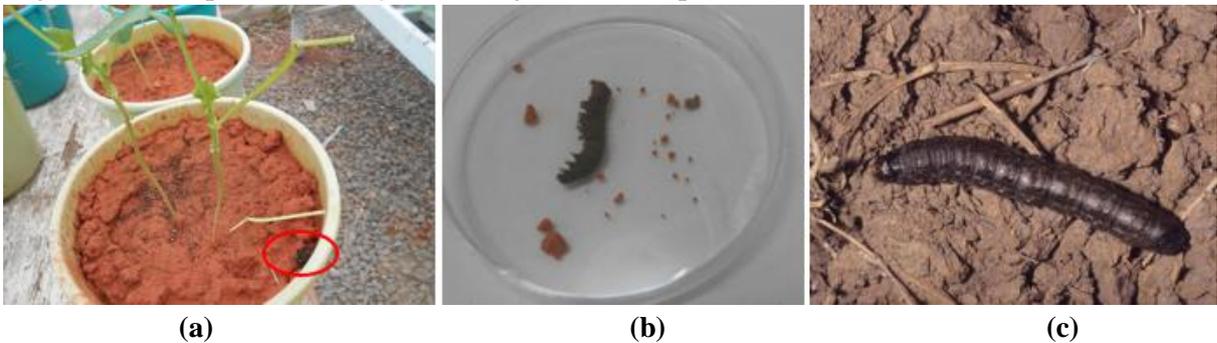
Ainda nos vasos do tratamento T1 (A + NPK), para ambas as espécies, foi encontrado outro tipo de praga, conforme Figura 6.6.

Figura 6.6: (a) Vaso do tratamento T1 (A + NPK) – *P. vulgaris* L., com incidência de lagarta; (b) Lagarta coletada para identificação; (c) Lagarta da espécie *Hedylepta indicata* (Fonte: *agrolink.com*).



Para proteína solúvel e açúcares, de uma forma geral, os tratamentos com a composição PK, ou seja, T3 (A + I + PK), T6 (E + I + PK) e T9 (L + I + PK), foram os que apresentaram maiores concentrações, em ambas as espécies (Tabela 6.21). Exatamente nos vasos desses tratamentos foi observada a presença constante de lagarta rosca (Figura 6.7), e, posteriormente, lagarta cachorro (Figura 6.8). Embora o tratamento T1 (A + NPK) tenha obtido certo destaque na concentração de açúcares e proteína solúvel (pelo resultado do Teste de Tukey), prevaleceu nos vasos do mesmo, as pragas mostradas nas Figuras 6.5 (gafanhoto *Meconema thalassinum*) e 6.6 (lagarta da espécie *Hedylepta indicata*).

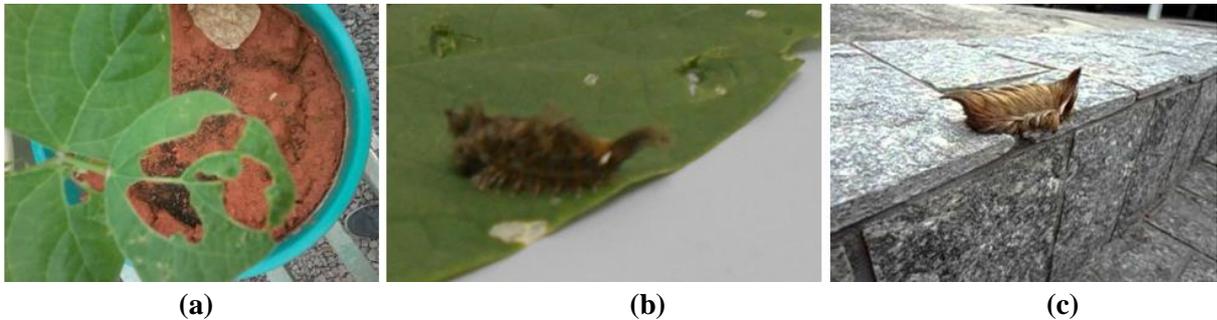
Figura 6.7: (a) Vaso do tratamento T6 (E + I + PK) – *V. unguiculata*, com incidência de lagarta; (b) Lagarta coletada para identificação; (c) Lagarta rosca, espécie *Agrotis ipsilon* (Fonte: *agrolink.com*).



De acordo com o Ministério do desenvolvimento Agrário (MDA, 2013), a planta ou parte dela só será atacada por um inseto, ácaro, nematóide ou microrganismo, quando tiver na sua seiva exatamente o alimento que eles precisam. Este alimento é constituído, principalmente, por substâncias solúveis. Isso ocorre por alterações no metabolismo da planta provocadas por fatores como, por exemplo, fertilizantes químicos e agrotóxicos, correlacionados com a genética da planta, clima e solo. Ainda segundo MDA (2013), o cloreto de potássio, os superfosfatos e a uréia podem alterar o mecanismo das enzimas em virtude dos produtos tóxicos contidos em suas fórmulas. Nesses casos, a seiva da planta fica carregada de substâncias solúveis, tais como açúcares e aminoácidos (Fumis e Pedras, 2002). Estas reflexões fazem todo sentido quando do ataque de pragas às plantas dos tratamentos T3 (A + I

+ PK), T6 (E + I + PK) e T9 (L + I + PK), expressas nas Figuras 6.7 e 6.8. Esses tratamentos fizeram uso do superfosfato simples e do cloreto de potássio como fontes de fósforo e potássio, respectivamente.

Figura 6.8: (a) Vaso do tratamento T3 (A + I + PK) – *P. vulgaris* L., com incidência de lagarta; (b) Lagarta coletada para identificação; (c) Lagarta cachorro, espécie *Podalia sp* (Fonte: *agrolink.com*).



De acordo com Paschoal (1996), ao contrário dos fertilizantes minerais, os adubos orgânicos, quando utilizados de forma adequada, fornecem todos os macro e micro nutrientes que as plantas precisam e em doses proporcionais. Por isso, culturas adubadas organicamente podem se achar perfeitamente equilibradas em seu metabolismo, não ocorrendo acúmulos de substâncias solúveis, o que as torna mais resistentes à ação deletéria das espécies daninhas (Vilanova e Silva Junior, 2010). Dentro desse contexto, é possível destacar o tratamento T7 (L), o qual não apresentou incidência de pragas durante o período de plantio. Os resultados da Tabela 6.21 expressam as mais baixas concentrações de aminoácidos e açúcares redutores para o mesmo.

Clorofila a, clorofila b e prolina

O resultado do método estatístico de Tukey, 5% de probabilidade, encontra-se na Tabela 6.22.

Tabela 6.22. Resultado do Teste de Tukey para clorofila a, clorofila b e prolina

Tratamentos	Clorofila a (mg g ⁻¹)		Clorofila b (mg g ⁻¹)		Prolina (mg g ⁻¹)	
	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	<i>Vigna unguiculata</i>
T0 (A)	0,306 f	0,309 c	0,181 b	0,198 b	0,85 ns	0,99 ns
T1 (A + NPK)	1,207 a	1,246 a	0,621 a	0,635 a	1,18 ns	1,30 ns
T2 (A + I)	0,366 f	0,625 b	0,190 b	0,252 b	0,98 ns	1,09 ns
T3 (A + I + PK)	0,423 ef	0,662 b	0,233 b	0,333 b	1,12 ns	1,27 ns
T4 (E)	0,375 f	0,645 b	0,213 b	0,243 b	0,94 ns	1,05 ns
T5 (E + I)	0,394 f	0,647 b	0,216 b	0,314 b	0,97 ns	1,03 ns
T6 (E + I + PK)	0,482 def	0,664 b	0,328 b	0,254 b	1,30 ns	1,45 ns
T7 (L)	0,601 bc	0,674 b	0,277 b	0,315 b	1,14 ns	1,20 ns

T8 (L+ I)	0,625 bc	0,730 b	0,310 b	0,351 b	1,11 ns	1,17 ns
T9 (L + I + PK)	0,681 bc	0,708 b	0,324 b	0,360 b	1,20 ns	1,32 ns

Pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$), os valores médios com a mesma letra não diferem significativamente; ns - não há diferença significativa entre os tratamentos. T0 (A) = água de abastecimento; T1 (A + NPK) = água + fertilizante NPK; T2 (A + I) = água + inoculação com *Rhizobium*; T3 (A + I + PK) = água + inoculação + PK; T4 (E) = efluente; T5 (E + I) = efluente + inoculação; T6 (E + I + PK) = efluente + inoculação + PK; T7 (L) = lodo; T8 (L+ I) = lodo + inoculação e T9 (L + I + PK) = lodo + inoculação + PK.

As mais altas concentrações de clorofila *a* e *b* foram encontradas para T1 (A + NPK). Vilanova e Silva Junior (2010), ao comparar um plantio orgânico de pimentão com outro convencional, encontraram os maiores teores de clorofila *a* e *b* para este segundo, em virtude do uso do fertilizante nitrogenado sintético. Lima et al. (2012), comparando pigmentos em espinafres em plantio orgânico e convencional, não observou diferenças significativas nos teores de clorofila *a* e *b*.

Dentro de um contexto geral, o teor de clorofila pode ser um indicador do nível de nitrogênio (Argenta et al., 2001), havendo a concordância de que concentrações mais acentuadas de clorofila *a* e *b* favorecem uma maior intensidade fotossintética à planta. Esta correlação entre a maior faixa fotossintética e o teor de clorofila foi observada por Brandão Filho et al. (2003), em plantas de berinjela.

Com relação ao teor de prolina, não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo Teste de Tukey. Vários estudos relacionam a alteração de prolina em virtude de efeitos ligados ao estresse da planta. Vilanova e Silva Junior (2010) observaram aumento de prolina em resposta ao baixo potencial hídrico no plantio de pimentão; Lima et al (2004) em virtude do efeito salino, observaram em folhas de arroz e Marques et al. (2010), por conta do excesso de potássio, observaram em plantas de beringela.

Conclusões

Como preconizado pela teoria da trofobiose, as maiores concentrações de aminoácidos livres, proteína solúvel e açúcares redutores, em ambas as espécies, foram para os tratamentos T1 (A + NPK), T3 (A + I + PK), T6 (E + I + PK) e T9 (L + I + PK). Os tratamentos com efluente e lodo, T4 (E) e T7 (L), respectivamente, não foram alvos dos ataques de pragas. Concomitantemente, os teores de substâncias solúveis presentes nas amostras de folhas desses dois tratamentos, estiveram bem abaixo daqueles que se destacaram com as maiores concentrações, demonstrando a viabilidade, sobretudo do lodo, na redução da incidência de pragas para as espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp.

Referências

- APHA, AWWA, WEF Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 22nd edition, Washington, USA, 2012.
- Argenta G., Silva P., Bortolini C. Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. *Ciência Rural* 31 (4), (2001) 715-722.

- Bates L., Waldren R., Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39 (1973) 205-207.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the determination of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 (1976) 248-254.
- Brandão Filho J., Goto R., Guimarães V., Habbermann G., Rodrigues D., Callegari O. Influência de enxertia nas trocas gasosas cultivados em ambiente protegido. *Horticultura Brasileira* 21 (3), (2003) 474-477.
- Bates L., Waldren R., Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39 (1973) 205-207.
- Bezerra Neto E., Barreto L. *Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas*. Recife: UFRPE, Editora Universitária da UFRPE, 2011, 267p.
- CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental). Norma Técnica CESTEB P4.230 de 28 de outubro de 1999: Aplicação de lodos do sistema de tratamento biológico em áreas agrícolas – Critérios para projetos e operação. São Paulo: 1999. 32p.
- CONAMA 375/2006 (Conselho Nacional de Meio Ambiente) "Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências". - Data da legislação: 29/08/2006 - Publicação DOU nº 167, de 30/08/2006, pág. 141-146.
- Chaboussou F. *Plantas Doentes pelo Uso de Agrotóxicos (A Teoria da Trofobiose)*. 2ª. ed., Porto Alegre: L&PM, 1999. 272p.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Manejo integrado de pragas do feijoeiro. Circular Técnica 46 (2001) 28p.
- EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Manual of chemical analyses for soil, plants and fertilizers, in: Silva, F.C. (Ed.), *Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias*, Brazil, (1999) 75-223.
- Fumes T., Pedras J. Variação nos níveis de prolina, diamina e poliaminas em cultivares de trigo submetidas a déficits hídricos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37 (4), (2002) 449-453.
- IPA (Instituto Pernambucano de Agronomia) *Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco*, 2º ed. Instituto Agrônomo de Pernambuco, Comissão Estadual de Fertilidade do Solo, Recife, Brasil, 2008.
- Lima G., Borges L., Manoel L., Fleuri F., Vieira M. Pigmentos e teor de água em espinafres orgânicos e convencionais. *Horticultura Brasileira* 30 (2012) 7353-7357.
- Lima J., Schulze S., Ribeiro M., Barreto S. Mineralogia de um Argisolo Vermelho-Amarelo da zona úmida costeira do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira Ciências do Solo*. 32 (2008) 881-892.
- Lima M., Lopes N., Bacarin M., Mendes C. Efeito do stress salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. *Bragantia* 63 (3), (2004) 335-340.
- Jiang M., Cheng J. Feeding oviposition and survival of overwintered rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) adults in response to nitrogen fertilization of rice at seedling stage. *Applied Entomology and Zoology* 38 (4), (2003) 543-549.
- Mackinney G. Absorption of light by chlorophyll solutions. *Journal of Biological Chemistry* 140 (1941) 315-322.
- Marques D., Broetto F., Silva E., Concentração de prolina de plantas de beringela cultivadas sobre condições de salinidade. *Horticultura Brasileira* 28 (2010) 853-858.
- MDA (Ministério do Desenvolvimento Agrário). *Agricultura Ecológica-Princípios Básicos*. 71 p, 2005.
- Ohmart C., Sewart L., Thomas J. Effects of nitrogen concentrations of *Eucalyptus blakelyi* foliage on the fecundity of *Paropsis atomaria* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia* 68 (1), (1985) 41-44.
- Oliveira F., Medeiros J., Alves R. Produção de feijão caupi em função da salinidade e regulador de crescimento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 19 (11), (2015) 1049-1056.
- Pinto F, Hungria M., Mercante F. Polyphasic characterization of Brazilian *Rhizobium tropici* strains effective in fixing N₂ with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Soil Biology & Biochemistry* 39 (8), (2007) 1851-1864.
- Paschoal A. *Pragas da Agricultura nos Trópicos*. 72 p. (ABEAS – Curso de Agricultura Tropical – Módulo 3.1) 1996.
- Polito W. The Trofobiose Theory and organic agriculture: the active mobilization of nutrients and the use of rock powder as a tool for sustainability. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78 (4), (2006) 765-779.

- Primavesi A. Manejo Ecológico de Pragas e Doenças: técnicas alternativas para a produção agropecuária e defesa do meio ambiente. São Paulo: Nobel, 1994. 137 p.
- Sguario Junior J. Doses e formas de aplicação de potássio na cultura do feijoeiro em sistema de plantio direto na palha. Dissertação de mestrado, UFPR, Curitiba, 2000.
- Silva R., Gavazza S., Florencio L., Nascimento C., Kato M. Cultivo de mudas de eucalipto com esgoto doméstico tratado. *Revista de Engenharia Sanitária Ambiental* 20 (2), (2015) 323-330.
- Souza C., Oliveira F., Silva I., Amorim Neto M. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob o cultivo de algodoeiro herbáceo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*. 4 (3), (2000) 338-342.
- Van Handel E. Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*. 22 (1968) 280-283.
- Vilanova C., Silva Junior C. Avaliação da trofobiose quanto às respostas ecofisiológicas e bioquímicas de couve e pimentão, sob cultivos orgânico e convencional. *Revista Brasileira de Agroecologia* 5 (1), (2010) 127-137.
- Yemm E., Cocking E. The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* 80 (1955) 209-213.
- Yemm E., Willis A. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal* 57 (1954) 508-514.
- Zambolim L., Ventura J. Resistência a doenças induzidas pela nutrição das plantas. *Informações Agronômicas (POTAFOS)*, v.75, encarte técnico, 1996.

7 CONCLUSÕES

Os melhores desempenhos de produtividade para ambas as espécies se concentraram nos tratamentos T1 (A + NPK), T6 (E + I + PK), T7 (L), T8 (E + L) e T9 (L + I + PK), com respectivamente, 2169 kg ha⁻¹, 1995 kg ha⁻¹, 2138,3 kg ha⁻¹, 2001,3 kg ha⁻¹ e 2566,7 kg ha⁻¹, para *P. vulgaris* L., e, 2250 kg ha⁻¹, 2253,3 kg ha⁻¹, 2372,2 kg ha⁻¹, 2180 kg ha⁻¹ e 2641,7 kg ha⁻¹, para *V. unguiculata*. Os teores de N, P e K na matéria seca das plantas desses tratamentos foram os de maior destaque.

O tratamento com efluente T4 (E) apresentou produtividade de 433,3 kg ha⁻¹ para a espécie *P. vulgaris* L. e 625,4 kg ha⁻¹ para a *V. unguiculata*, bem acima do tratamento testemunha T0 (A), que alcançou 247,0 kg ha⁻¹ e 213,3 kg ha⁻¹, respectivamente.

O tratamento T7 (L) foi capaz de acumular nutrientes N, P e K na planta e se destacar pelo aumento de MS, peso de 100 sementes e produtividade. O uso somente de lodo alcançou a produtividade de 2.138,3 kg ha⁻¹ e 2.372,2 kg ha⁻¹ para *P. vulgaris* L. e *V. unguiculata*, respectivamente. Esses resultados foram, por exemplo, semelhantes aos encontrados no tratamento convencional T1 (A + NPK), que alcançou 2.169,0 kg ha⁻¹ e 2.250 kg ha⁻¹.

Quanto à biofortificação dos grãos, o destaque foi ainda maior em virtude das concentrações de Fe e Zn provenientes do efluente, lodo e suas variações. Para a espécie *P. vulgaris* L. os tratamentos T4 (E), T5 (E + I), T6 (E + I + PK), T7 (L), T8 (L + I) e T9 (L + I + PK) superaram T0 em no mínimo 31%. Já para a espécie *V. unguiculata*, o melhor desempenho foi para T7 (L). De uma forma geral, este tratamento apresentou destaque em todos os parâmetros avaliados. Sua maior vantagem sobre o tratamento T1 (A + NPK) foi exatamente a atuação na biofortificação dos grãos quanto ao ferro e zinco, apresentando, respectivamente, 150,33 mg kg⁻¹ e 71,00 mg kg⁻¹ para a espécie *P. vulgaris* L., e, 161,22 mg kg⁻¹ e 73,58 mg kg⁻¹, respectivamente, para a espécie *V. unguiculata*.

Assim como preconizado pela teoria da trofobiose, as maiores concentrações de aminoácidos livres, proteína solúvel e açúcares redutores, em ambas as espécies, foram para os tratamentos com fertilizantes: T1 (A + NPK), T3 (A + I + PK), T6 (E + I + PK) e T9 (L + I + PK). Os tratamentos com efluente e lodo, T4 (E) e T7 (L), não foram alvos dos ataques de pragas. Os teores de substâncias solúveis presentes nas amostras de folhas dos mesmos, estiveram bem abaixo daqueles que se destacaram com as maiores concentrações.

Baseado nos parâmetros de produtividade, biofortificação dos grãos e redução da incidência de pragas (trofobiose), o tratamento T7 (L) foi o grande destaque em todos os aspectos, mostrando sua viabilidade no cultivo das espécies de feijão *Phaseolus vulgaris* L. e *Vigna unguiculata* (L) Walp. Já o tratamento T4 (E), mesmo não estando no patamar dos tratamentos com melhores desempenhos, sempre se manteve com resultados superiores aos da testemunha T0 (A). Em virtude disso, o efluente da ETE também poderia ser usado no cultivo de feijão (considerando um plantio de baixo custo).

Diante disso, fica registrado nesse trabalho, a importância e as vantagens do reuso de efluente e, principalmente, do uso do lodo como alternativa sustentável no cultivo de uma cultura cujo consumo se dá por cozimento e é tão representativa para o país, o feijão.

REFERÊNCIAS

- Andreoli C., Hoppen C.; Pegorini E., Dalarmi, O. “A crise da água e os mananciais de abastecimentos”. In: ANDREOLI, C. V. (org.). Mananciais de abastecimento e gestão – estudo de caso do Altíssimo Iguazu. Curitiba, Companhia de Saneamento do Paraná – Sanepar; Financiadora de Estudos e Projetos – Finep, 2003, 33-34.
- Andreoli C., Domaszek, S., Fernandes F., Lara, A. Proposta preliminar de regulamentação para reciclagem agrícola de lodo de esgoto no Paraná. Sanare, Curitiba, v.7, n.11, 1997, p. 53-60.
- APHA, AWWA, WEF Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation, 22nd edition, Washington, USA, 2012.
- Barbosa, S. Estudo de remoção de nitrogênio em lagoa de polimento tratando esgoto doméstico em escala real. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 2013.
- Barros K., Nascimento C., Florencio, L. Suppressiveness induction of nematodes in corn plants (*Zea mays* L.) irrigated with domestic effluent. In: Proceedings of the 8th IWA International Conference on Water Reclamation and Reuse. Barcelona, Spain, IWA. 2011, 8 p.
- Bates L., Waldren R., Teare I. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39 (1973) 205-207.
- Bertini I., Rosata A. From genes to metalloproteins: a bioinformatic approach. *European Journal Inorganic Chemistry* 18 (2007) 2546-2555.
- Bezerra Neto E., Barreto L. *Análises Químicas e Bioquímicas em Plantas*. Recife: UFRPE, Editora Universitária da UFRPE, 2011, 267p.
- Black R., Allen L., Bhutta Z., Caulfield L., Onis, M., Ezzati M., Mathers C., Rivera J. Maternal and child under-nutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*. 371 (9608), (2008) 243–260.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the determination of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72 (1976) 248-254.
- Bradley S., Croft T, Fishel J., Westoff C. Revising Unmet need for family planning. *DHS Analytical Studies* n.25, Jan. 2012, 93 p.
- BRASIL. Resolução nº 396 de 03 de abril de 2008. Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA. Classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências.
- Cakmak, I. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification *Plant Soil* 302 (2008) 1 – 17.
- Campos C. M. M.; Carmo, F. R.; Botelho, C. G.; Costa, C. C. Desenvolvimento e Operação de Reator Anaeróbico de Manta de Lodo (UASB) no tratamento dos efluentes da suinocultura em escala laboratorial. *Ciências Agrotecnologia*, Lavras. v. 30, n. 1, jan/fev 2006, p. 140-147.
- Carvalho, J.; Nutti, M. R. Biofortificação de produtos agrícolas para nutrição humana. Embrapa Agroindústria de Alimentos-Resumo em anais de congresso (ALICE), 2013. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 64., 2012, São Luís. Ciência, cultura e saberes tradicionais para enfrentar a pobreza. São Luís: SBPC: UFMA, 2012.

- CETESB (Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental). Norma Técnica CESTEB P4.230 de 28 de outubro de 1999: Aplicação de lodos do sistema de tratamento biológico em áreas agrícolas – Critérios para projetos e operação. São Paulo: 1999, 32p.
- Chabossou, F. Plantas Doentes pelo Uso de Agrotóxicos (A Teoria da Trofobiose). 2ª. ed., Porto Alegre: L&PM, 1999, 272p.
- Chorus, I.; Bartram, J. Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. London: E&FN Spon, 1999, 146 p.
- Combs G. Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition* 85 (5), (2001) 517-547.
- CONAB Levantamentos de safra. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=2>. Acesso em: 20 jan. 2014.
- CONAMA 375/2006 "Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências". - Data da legislação: 29/08/2006 - Publicação DOU nº 167, de 30/08/2006, pág. 141-146.
- CONAMA 396/2008 "Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrânea e dá outras providências". - Data da legislação: 03/04/2008 - Publicação DOU nº 167, de 07/04/2008, pág. 64-68.
- Cunha, R, Neto, V. Fundamentos teóricos do processo de avaliação de risco. In: EMBRAPA Meio Ambiente. Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Ed. BETTIOL, W., CAMARGO, O. 2000, 311 p.
- D’Castro Filho, J. Pós-tratamento de Efluente de Reator Anaeróbico em Lagoa de Polimento. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2005, 128 p.
- EMBRAPA Manejo integrado de pragas do feijoeiro. Circular Técnica 46 (2001) 28p.
- EMBRAPA Manual of chemical analyses for soil, plants and fertilizers, in: Silva, F.C. (Ed.), Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias, Brazil, 1999, p. 75-223.
- EMBRAPA Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. Circular Técnica 63 (2006) 9p.
- EPA Rock Media Polishing Filter for Lagoons (Wastewater Technplogy Fact Sheet No. EPA 832-F-02-023). Washington, DC: Office of Water, US Eviromental Protection Agency, 2002.
- FAO World Agricultural Information Centre. Statistics. Disponível: <http://www.fao.org>. Acesso em: 20 dez. 2011.
- Ferreira A., Silva A., Pereira L., Braga L., Moraes S., Araújo G. Produção e valor nutritivo da área de mandioca, maniçoba e pornunça. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal* 10 (1), (1999) 983-990.
- Foresti E. Fundamentos do Processo de Digestão Anaeróbica. In: ANAIS III TALLER Y SEMINARIO LATINOAMERICANO: TRATAMIENTO ANAERÓBICO DE ÁGUAS RESIDUALES. 1994.Uruguai.
- Gibson R. Zinc: The missing link in combating micronutrient malnutrition in developing countries. *Proceedings of the Nutrition Society* 65 (1), (2006) 51-60.
- Gibson R., Hess S., Hotz C., Brown K. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *British Journal of Nutriion* 99 (2008) 14-21.
- Gomes Junior F., Lima E., Leal A. Teor de proteína em grãos de feijão em diferentes épocas e doses de cobertura nitrogenada. *Acta Scientiarum. Agronomy* 27 (3), (2005) 455-459.
- Hespanhol, I. Potencial de Reuso de Água no Brasil: Agricultura, Indústria, Município e Recarga de Aquíferos, cap. 3. In: Mancuso, P. C. S; Santos, H.F. Reúso de Água. NISAM-USP, ABES. Barueri, SP. 2003. 62p.

- Horn D. *Ecological Approach to Pest Management*. The Guilford Press, New York, 1988.
- IBGE Levantamentos das cidades. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/v4/brasil/pe/rio-formoso/panorama>. Acesso em: 20 jan. 2017
- Inocencio M. Frações de zinco no solo e biofortificação agrônômica com selênio, ferro e zinco em soja e trigo. Tese Doutorado. UFLA, 2014.
- IPA Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco, 2º ed. Instituto Agrônômico de Pernambuco, Comissão Estadual de Fertilidade do Solo, Recife, Brasil, 2008.
- Jiang M., Cheng, J. Feeding oviposition and survival of overwintered rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae) adults in response to nitrogen fertilization of rice at seedling stage. *Applied Entomology and Zoology* 38 (4), (2003) 543-549.
- Kelner E.; Pires E. Lagoas de estabilização: projeto e operação. Rio de Janeiro: ABES, cap 1 e 2. 1998.
- Kutman U., Yildis B., Cakmak I. Improved nitrogen status enhances zinc and iron concentrations both in the whole grain and the endosperm fraction of wheat. *Journal of Cereal Science* 53 (1), (2011) 118-1125.
- Mackenzie G., Zago M., Aimo L., Oteiza P. Zinc deficiency in neuronal biology. *Life, Rockville* 59 (4-5), (2007) 299-307.
- Mackinney G. Absorption of light by chlorophyll solutions. *Journal of Biological Chemistry* 140 (1941) 315-322.
- Mercante F., Silva R., Francelino C., Carvalheiro J., Otsurb A. Biomassa microbiana, em argissolo vermelho, em diferentes coberturas vegetais, em área cultivada com mandioca. *Acta Scientiarum Agronomy* 34 (4), (2005) 479-485.
- Montenegro M., Araujo J., Vazoller R. Microbial Community Evaluation of Anaerobic Granular Sludge From a Hybrid Reactor Treating Pentachlorophenol by Using Fluorescence in Situ Hybridization. *Water Science and Tehnology* 48 (6), (2003) 65-73.
- Muner L., Ruiz H., Venegas V., Neve J., Freire M. Disponibilidade de zinco para milho em resposta à localização de fósforo no solo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15 (2011) 29-38.
- Ohmart C., Sewart L., Thomas, J. Effects of nitrogen concentrations of *Eucalyptus blakelyi* foliage on the fecundity of *Paropsis atomaria* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia* 68 (1), (1985) 41-44.
- Oliveira F., Medeiros J., Alves R. Produção de feijão caupi em função da salinidade e regulador de crescimento. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 19 (11), (2015) 1049-1056.
- Olivier S. Aplicação de resíduos agroindustriais e urbanos em áreas de reflorestamento com *Eucalyptus* spp. Tese de doutorado, USP, Piracicaba, 2011.
- Ozturk L., Yazici M., Yucel C., Torrun A., Cekic C., Bagci A., Ozkan H., Braun H., Sayers Z., Cakmak I. Concentration and localization of zinc during seed development and germination in wheat. *Physiology Plant* 128 (2006) 144-152.
- Paschoal A. *Pragas da Agricultura nos Trópicos* (ABEAS – Curso de Agricultura Tropical – Módulo 3.1), 1996, 72 p.
- Pathak R., Ahmad A., Lochab S., Raghuram N. Molecular physiology of plant nitrogen use efficiency and biotechnological options for its enhancemnt. *Current Science* 94 (11), (2008) 1394-1403.
- Patil V., Kulkani G., Kore V. Performance of Horizontal Roughing Filters for Wastewater : A review. *International Research Journal of Evironment Sciences* 1 (2), (2012) 53-55.
- Pereira T., Hessel G. Deficiência de zinco em crianças e adolescentes com doenças hepáticas crônicas. *Revista Paulista de Pediatria* 27 (3), (2009) 322-328.

- Pfeiffer W., McClafferty B. Harvest plus: breeding crops for better nutrition. *Crop Science*, Madson 47 (2), (2007) 88-105.
- Polito W.L. The Trofobiose Theory and organic agriculture: the active mobilization of nutrients and the use of rock powder as a tool for sustainability. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78 (4), (2006) 765-779.
- Possobom M., Ribeiro N., Casagrande C. Biofortificação de ferro em grãos de feijão por melhoramento clássico. 5º Simpósio de Segurança Alimentar. Alimentação e Saúde, 2015.
- Prasad, A. S. Zinc in human health: Anupdate. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 11 (2-3), (1998) 63-68.
- Primavesi A. Manejo Ecológico de Pragas e Doenças: técnicas alternativas para a produção agropecuária e defesa do meio ambiente. São Paulo: Nobel, 1994. 137 p.
- PROPOSTA DE LICENCIAMENTO AMBIENTAL DA GESTÃO AGRÍCOLA DO LODO. Minuta de norma no IAP. Recebida po e-mail do Eng. Cleverson Andreoli em 26/07/2000.
- REDE BIOFORT – site <http://www.biofort.com.br/>. Acesso em 02/03/2014. 14:29h.
- Rodrigues, W.C. & Cassino, P.C.R. Efeitos da adubação nitrogenada e potássica sobre a população de *Aleurothrixus floccosus* (Homóptera, Aleyrodidae), em laranja doce (*Citrus sinensis*) cv. Folha Murcha. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida, UFRRJ*, v.22, n.2, 2003, p.55-59.
- Romheld, M.; Nikolic, M. Iron. In: Barker, A.V.; Pilbeam, D. J. (Ed.) *Handbook of plant nutrition*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2007, p. 329-350.
- Santos A., Silva O. Manejo do nitrogênio. In: AIDAR, H.; KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F. (Ed.). *Produção do feijoeiro comum em várzeas tropicais*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2002, p.207-2016.
- Santos H., Fraga V., Raposo R., Pereira W. Cu e Zn na cultura do sogro cultivado em três classes de solos I. Crescimento vegetativo e produção. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 13 (2009) 125-130.
- Santos H. Uso agrícola do biossólido das estações de tratamento de esgotos sanitários (ETEs). Subsídios para elaboração de uma norma brasileira. Dissertação de mestrado, Universidade Mackenzie, São Paulo, 1996, 74 p.
- Santos S., Soares A., Matos A., Mantovani E., Batista R. Efeitos da aplicação localizada de esgoto sanitário tratado nas características químicas do solo. *Engenharia na Agricultura* 14 (1), (2006) 32-38.
- SÃO PAULO - Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB). Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – critérios para projeto e operação (Manual Técnico). Norma Técnica P-4.230. Homologad PELA DIRETORIA Plena em 28/10/99, ementa no D. O. de 04/12/99; 1999.
- SÃO PAULO (Estado) - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB. Decisão de Diretoria nº 195-2005-E, de 23 de novembro de 2005. Dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2005, em substituição aos Valores Orientadores de 2001, e dá outras providências.
- SÃO PAULO (Estado) - Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental (CETESB). Norma Técnica CETESB P4.230 de 28 de outubro de 1999: Aplicação de lodos do sistema de tratameto biológico em áreas agrícolas – Critérios para projetos e operação. São Paulo: CETESB, 1999, 32p.
- Sarikaya, H. Z.; Akça, L.; Yazgan, M. S.; Özdemir, C. Re-Evaluation of the Use of Industrial Waste Water for Irrigation in Konya. *PROCEEDINGS OF 1ST INTERNATIONAL WORKSHOP ON ENVIRONMENTAL QUALITY AND ENVIRONMENTAL ENGINEERING IN THE MIDDLE EAST REGION*, Konya, 1998, p. 438-450.
- Silva R. Caracterização do esgoto tratado na ETE Mangueira e a viabilidade de seu uso em mudas de eucalipto. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, 2011, 61 p.

- Silva V. Avaliação dos Efeitos da Fertirrigação com Efluente de Lagoa de Polimento nos Atributos do Solo e Componentes de Produção do Feijão Caupi. Programa de Pós-graduação em Engenharia Civil. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. 2007, 130 p.
- Siqueira J., Franco A. Biotecnologia do Solo: Fundamentos e Perspectivas. Brasília, MEC – ESAL – FAEPE – ABEAS, 1988. 236p.
- Souza C., Oliveira F., Silva I., Amorim Neto M. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob o cultivo de algodoeiro herbáceo. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*. 4 (3), (2000) 338-342.
- USEPA U.S. Environmental Protection Agency, Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils, 1998.
- USEPA U.S. Environmental Protection Agency, Standards for the Use or Disposal of Sewage Sludge. 40 CFR Parts 257, 403 and 503 [FRL – 4203-3], v. 58, n. 32. Feb 19, 1993.
- Van Haandel A., Leetinga G. Tratamento Anaeróbico de Esgotos: Um Manual para Regiões de Clima Quente. Campina Grande: Epgraf, 1994, 208 p.
- Van Handel E. Direct microdetermination of sucrose. *Analytical Biochemistry*. 22 (1968) 280-283.
- WHO. Health Guidelines for the Use of Wastewaters in Agriculture and Aquaculture. Technical Report, series n. 778. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1989, 72 p.
- Yemm E., Cocking E. The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* 80 (1955) 209-213.
- Yemm E., Willis A. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal* 57 (1954) 508-514.
- Zambolim, L.; Ventura, J.A. Resistência a Doenças Induzida pela Nutrição Mineral das Plantas (ABEAS. Curso de Agricultura Tropical – Módulo 3.2.1), 1996, 45p.