

Universidade de Brasília  
Faculdade UnB Planaltina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

**Modelos espaciais isotópicos de carbono no solo em diferentes escalas do Brasil**

Glauber das Neves

Planaltina – DF  
2021

Universidade de Brasília  
Faculdade UnB Planaltina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

**Modelos espaciais isotópicos de carbono no solo em diferentes escalas do Brasil**

Glauber das Neves

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – Universidade de Brasília, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais.

*Linha de Pesquisa: Modelagem Ambiental*

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Bielefeld Nardoto

Planaltina – DF

2021

Universidade de Brasília  
Faculdade UnB Planaltina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

**Modelos espaciais isotópicos de carbono no solo em diferentes escalas do Brasil**

Glauber das Neves

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Nm            Neves, Glauber das  
                  Modelos espaciais isotópicos de carbono no solo em  
                  diferentes escalas do Brasil / Glauber das Neves;  
                  orientador Gabriela Bielefeld Nardoto. -- Brasília, 2021.  
                  109 p.

Tese (Doutorado - Doutorado em Ciências Ambientais) --  
Universidade de Brasília, 2021.

1. Isoscapes. 2. d13C. 3. análise de regressão linear  
múltipla. 4. isótopo estável. I. Nardoto, Gabriela  
Bielefeld, orient. II. Título.

Universidade de Brasília  
Faculdade UnB Planaltina  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais

**Modelos espaciais isotópicos de carbono no solo em diferentes escalas do Brasil**

Glauber das Neves

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Gabriela Bielefeld Nardoto / PPGCA – UnB (Presidente/Orientadora)

Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes / Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Cícero Celio de Figueiredo / FAV – UnB

Dr. Eder de Souza Martins / Embresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Cerrados

“Tu não tens direito a não ser fazer a tua Vontade. Faze isso, e nenhum outro dirá não”  
(AL I 42-43)

“[...] não negue as experiências que são colocadas em seu caminho, vivencie todas e se torne aquilo que você nasceu para ser.”

*Guilherme Kétherus (In Memoriam)*

Dedico este trabalho à memória de  
Antonio Felipe Couto Junior. Meu grande  
amigo e orientador, que me apresentou a  
grandiosidade do universo científico!

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento do projeto número 23038.006832/2014-11 – Edital CAPES 25/2014 – Pró-Forence, que possibilitou a realização das campanhas de campo e análises laboratoriais, e pela bolsa de Doutorado concedida que possibilitou minha permanência ao longo desses quatro anos.

À minha família, pelo incentivo e por sempre acreditarem nos meus objetivos, desde à graduação até as difíceis decisões que resultaram no ingresso na pós-graduação.

Aos professores membros da banca examinadora, Prof. Dr. Éder de Souza Martins, Prof. Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes e Prof. Dr. Cícero Celio de Figueiredo, pelas correções e todas as contribuições que auxiliaram na melhoria da qualidade desta Tese.

Aos amigos do EIS (*Environmental Isotope Studies*), em especial Kisaka, Pomper, João, Ray, Fábio Santos, Fábio Costa, Jéssica e Giovanna pelo convívio, críticas, conversas, risadas e desabafos ao longo dessa última década.

Aos amigos que o PPGCA me trouxe, Silvia, Renata, Carla, Hasley, Hugo, Sergio, Leo, Gleicon, Carol, Daphne e Clárisse. Agradeço pelas conversas e apoio acadêmico e também às confraternizações que resultaram em diversas risadas e momentos de descontração.

Ao grande amigo Pedro Martins, companheiro de turma na graduação e na pós-graduação. Agradeço pelas cervejas artesanais e principalmente pelos momentos de desabafo junto ao cappuccino da Dona Neide, que foram cruciais para a manutenção da sanidade mental em meio às situações adversas durante esses últimos quatro anos.

À Polícia Federal por todo apoio nas campanhas de campo do projeto e ao Perito Criminal Guilherme de Miranda (Soninho) pelo suporte em campo, pelas belíssimas imagens obtidas por drone e por todos os aconselhamentos profissionais dados ao longo das nossas viagens.

A todos os alunos de graduação que passaram pelo laboratório por meio da disciplina de Estágio em Ecologia ou como estudantes de Iniciação Científica, que contribuiram com a triagem e preparação das amostras, ajuda essencial para a elaboração desta Tese.

À Inara Carvalho, por sempre se dispor a resolver as questões burocráticas junto à Secretaria do PPGCA.

À Profa. Dra. Erina Rodrigues, pelo excelente trabalho junto à Coordenação do PPGCA, pela empatia e pelas conversas de incentivo que possibilitaram que eu me mantivesse estimulado nos momentos mais conturbados.

Aos orientadores que tive ao longo da minha formação, Prof. Dr. Éder de Souza Martins, Prof. Dr. Vinicius Vasconcelos e Profa. Dra. Gabriela Nardoto. Agradeço por me ensinarem e por estarem disponíveis ao longo de toda a minha caminhada. Sou extremamente grato de poder frequentar o mesmo ambiente acadêmico que vocês e espero poder reproduzir tudo que me foi ensinado ao longo da minha carreira.

Ao meu grande amigo, orientador e principal incentivador, Prof. Dr. Antonio Felipe Couto Junior (*In Memoriam*). Agradeço por acreditar em mim, por toda a energia e tempo depositados na minha formação, por me mostrar a grandiosidade do universo acadêmico e me por em contato com pessoas maravilhosas que desempenharam um importante papel em todos esses anos. Seus ensinamentos irão me acompanhar por qualquer lugar que eu vá!

Aos grandes amigos, Alesson, Anderson e Dudu, por todo o apoio dado a mim desde o ingresso na graduação.

Aos irmãos Willian, Wagner e Rafael, pelas conversas, pelas trocas de experiência, pelos ensaios na minha garagem e pelas video chamadas durante a pandemia. A realização desta Tese tem um pouco de vocês!

À Santa Ordem da A.:A.: e à queridíssima Soror Ignis, pelos aconselhamentos, conversas e pela paciência nos momentos mais conturbados. Desejo Luz, Vida, Amor e Liberdade em sua jornada. Força e Fogo são de nós, 93!

Aos grandes amigos que a Codeplan me trouxe, Patricia, Alexandre, Bira, Alisson, Giu, Fran e Mauro. Obrigado por todo o apoio, pelos almoços, pelas conversas cotidianas, vocês são fundamentais na minha vida.

Ao Prof. Dr. Edson Eyji Sano, por todas as críticas e conselhos em meus trabalhos, desde o Mestrado. Pela ajuda no primeiro capítulo desta Tese e por sempre se mostrar disposto a discutir e auxiliar na interpretação das minhas análises.

Ao amigo Diego, pela pilha de jornais doados no início do projeto de Doutorado, que serviram para organizar as exsicatas das amostras de plantas, que infelizmente não entraram nesta Tese, mas que possibilitou a obtenção de um conjunto de dados de vegetação que poderá ser explorado em projetos futuros.

Aos amigos do ensino médio Camila e Fellipe, pelas conversas, brincadeiras e incentivos ao longo de todos esses anos que mantemos a nossa amizade. Vocês são especiais e representam muito em minha vida!

Ao amigo Mateus Alexis, por todas as conversas e compartilhamento de experiências de vida, pela descontração (as vezes estresse) com as partidas de CSGO, e pelas risadas e indignações referentes à diversos assuntos que tivemos ao longo desses anos.

Por fim, agradeço à minha esposa Priscila, por ter paciência e acreditar nas minhas decisões, não desistir quando as decisões não foram acertadas e sempre me mostrar o lado positivo nas adversidades. Se foi possível chegar até aqui, devo a você por se colocar como base nos momentos em que eu me perdi. Te amo!

## **Resumo**

O solo é o compartimento que suporta grande parte das espécies de animais e vegetais do planeta, sendo um importante elemento na avaliação das mudanças da cobertura da terra, pois se relaciona com a litosfera, biosfera, hidrosfera e atmosfera, sendo essencial para a dinâmica dos ecossistemas. Entre os ecossistemas terrestres, o solo é o compartimento com o maior estoque de carbono, tendo em torno 1.500 Pg C de carbono orgânico e 1.000 Pg C de carbono mineral. As razões isotópicas de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) são uma importante ferramenta na avaliação das atividades humanas sobre os ecossistemas, e têm sido aplicadas em diversos contextos ambientais. O  $\delta^{13}\text{C}$  no solo é controlado pelo clima, mas também pode ser influenciado por outras variáveis ambientais em escalas mais refinadas, como topografia, atributos do solos e vegetação. Mapear a variabilidade do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo através de modelos espaciais isotópicos (*isoscapes*) possibilita um melhor entendimento dos processos biogeoquímicos que influenciam as variações isotópicas no sistema solo-vegetação. O objetivo desta tese foi identificar as variáveis que influenciam a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo e elaborar modelos espaciais em diferentes escalas no âmbito do território brasileiro baseado em análise de regressão linear múltipla. Para isso, foram utilizados dados compilados da literatura e novos dados coletados em campo com medições do  $\delta^{13}\text{C}$  em solos com profundidade de até 20 cm, e um conjunto de variáveis ambientais com informações do clima, topografia, atributos do solo e vegetação. Na escala do bioma Cerrado, a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo foi explicada por variáveis climáticas, atributos do solo, vegetação a altitude ( $R^2 = 0,76$ ). O modelo de *isoscapes* de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo apresentou uma amplitude entre -29‰ e -13‰, com os maiores valores estimados localizados na região sul. Os resultados preencheram lacunas existentes e forneceram maiores detalhes dos aspectos locais sobre a dinâmica do carbono no Cerrado. Na escala do território nacional, abrangendo todos os biomas, variáveis climáticas, do solo e da vegetação explicaram a variação espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo ( $R^2 = 0,63$ ). O modelo *isotópico espacial* de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo apresentou uma faixa de valores entre -30‰ e -13‰, com os maiores valores estimados na região sudeste e os menores valores na região noroeste. Além disso, os resultados apontaram padrões regionais na distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo em um nível de detalhamento mais refinado em relação ao modelos existentes para a região. Na Serra da Canastra (MG), o ajuste identificou que atributos pedológicos e índice de vegetação explicam a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo ( $R^2 = 0,62$ ). O modelo estimado de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo apresentou valores entre -22‰ e -10‰. A distância não significativa entre a linha de regressão e a linha 1:1 apontou que o modelo estimado ainda não pode ser validado, mas a relação significativa entre os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo observados e estimados indica potencial da aplicação da abordagem. Nas escalas do Cerrado e nacional, os modelos conseguiram identificar as alterações antrópicas mais consolidadas. Porém, tem-se o desafio de incorporar dados antrópicos, como o  $\delta^{13}\text{C}$  em solos sob manejo (pastagens e áreas agrícolas consolidadas), para refinar os resultados das interações entre ambiente natural e antrópico. Para estudos detalhados, as amostragens devem possibilitar a elaboração de modelos interpolados das variáveis preditoras que alimentam os modelos de *isoscapes*. Os resultados apresentados nesta tese podem auxiliar em futuros estudos ecológicos e investigações forenses.

**Palavras-chave:** *Isoscapes*,  $\delta^{13}\text{C}$ , análise de regressão linear múltipla, isótopo estável

## Abstract

The soil is the compartment that supports a large part of the animal and plant species on the planet. It is an important element in evaluating land cover changes, as it relates to the lithosphere, biosphere, hydrosphere, and atmosphere, essential for ecosystems' dynamics. The soil has the most extensive carbon stock among terrestrial ecosystems, having around 1,500 Pg C of organic carbon and 1,000 Pg C of mineral carbon. Carbon isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ) are essential in assessing human activities on ecosystems and have been applied in various environmental contexts. The soil  $\delta^{13}\text{C}$  is controlled by climate, but other environmental variables at finer scales can also be influenced, such as topography, soil attributes, and vegetation. Mapping the variability of soil  $\delta^{13}\text{C}$  using spatial isotopic models (isoscapes) enables a better understanding of the biogeochemical processes that influence isotopic variations in the soil-vegetation system. The objective of this thesis was to identify the variables that influence the variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and elaborate spatial models at different scales within the Brazilian territory based on multiple linear regression analysis. For this, used data compiled from the literature and new data collected in the field with measurements of soil  $\delta^{13}\text{C}$  with depth up to 20 cm, and a set of environmental variables with information of climate, topography, soil attributes, and vegetation. At the scale of the Cerrado biome, the variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  was explained by climate variables, soil attributes, vegetation, to altitude ( $R^2 = 0.76$ ). The isoscape model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  showed a range between -29‰ and -13‰, with the highest estimated values in the southern region. The results filled existing gaps and provided greater details of local aspects of carbon dynamics in the Cerrado. At the scale of the national territory, covering all biomes, climate, soil, and vegetation variables explained the spatial variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  ( $R^2 = 0.63$ ). The spatial isotopic model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  showed a range of values between -30‰ and -13‰, with the highest estimated values in the southeastern region and the lowest values in the northwestern region. Furthermore, the results pointed out regional patterns in the spatial distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  at a more refined level of detail than existing models for the region. In Serra da Canastra (MG), the fit identified that pedological attributes and vegetation index explain the variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  ( $R^2 = 0.62$ ). The estimated model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  presented values between -22‰ and -10‰. The non-significant distance between the regression line and the 1:1 line pointed out that it cannot validate the estimated model yet. Still, the significant relationship between the observed and estimated soil  $\delta^{13}\text{C}$  values indicates the potential of applying the approach. At the Cerrado and national scales, the models were able to identify the most consolidated anthropogenic changes. However, the challenge of incorporating anthropic data, such as soil  $\delta^{13}\text{C}$  under management (pastures and consolidated agricultural areas), is to refine the results of the interactions between natural and anthropic environments. For detailed studies, sampling should enable elaborating interpolated models of the predictor variables that feed the isoscape models. The results presented in this thesis may assist in future ecological studies and forensic investigations.

**Keywords:** Isoscapes,  $\delta^{13}\text{C}$ , multiple linear regression analysis, stable isotope

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>vii</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>x</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>xi</b>
<b>SUMÁRIO .....</b>	<b>xi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xvi</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>17</b>
<b>OBJETIVO E ESTRUTURA DA TESE .....</b>	<b>20</b>
<b>COLETA, PREPARAÇÃO E ANÁLISE ISOTÓPICA DOS SOLOS .....</b>	<b>22</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO GERAIS .....</b>	<b>25</b>
<b>RESUMO GRÁFICO DA TESE.....</b>	<b>32</b>
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>33</b>
<b>PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>
<b>CAPÍTULO 1 – Spatial distribution of soil <math>\delta^{13}\text{C}</math> in the central Brazilian savanna.</b>	<b>42</b>
<b>CAPÍTULO 2 - Brazilian soil <math>\delta^{13}\text{C}</math> isoscape based on multiple linear regression analysis.....</b>	<b>71</b>
<b>CAPÍTULO 3 – Variação espacial do <math>\delta^{13}\text{C}</math> no solo a partir de atributos pedológicos e índice de vegetação na Serra da Canastra – Minas Gerais.....</b>	<b>91</b>
<b>ANEXO – Script para ajuste do modelo de regressão linear múltipla.....</b>	<b>106</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Fig. 0.1.</b> Pontos coletados no bioma Cerrado e utilizados no Capítulo 1 (A). Navegação em tempo real utilizada na seleção dos locais de amostragem (B). Detalhe dos pontos amostrados sob orientação do mapa de forma do relevo (Vasconcelos, 2016). Detalhe dos pontos amostrados sob orientação das unidades geológicas (D).....	22
<b>Fig. 0.2.</b> Fotos das coletas de solo e exemplo da identificação das amostras coletadas (A e B). Foto registrada a partir de um sobrevôo de drone utilizado para observar o contexto da região e o acesso aos locais de coleta (C).....	23
<b>Fig. 0.3.</b> Modelo espacial isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ do solo no Cerrado. Os pontos pretos representam os locais amostrados. As zonas listradas representam regiões onde o modelo não foi capaz de estimar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do solo.....	25
<b>Fig. 0.4.</b> Comparaçao entre o modelo apresentado neste estudo (A) e o modelo proposto por Powell et al. (2012) (C). O quadrado vermelho representa o recorte espacial usada para visualizar aspectos mais detalhados do modelo no presente trabalho (B) e o modelo de Powell et al. (2012) (D). .....	27
<b>Fig. 0.5.</b> Modelo espacial isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ no solo para o Brasil. Os pontos pretos representam os locais amostrados.....	28
<b>Fig. 0.6.</b> Resumo gráfico da tese.....	32
<b>Fig. 1.1.</b> Cerrado distribution across Brazil showing the correspondent locations of the 219 field sampling points (black dots).....	44
<b>Fig. 1.2.</b> Simple linear regression between soil $\delta^{13}\text{C}$ and mean annual precipitation (A), mean annual temperature (B), altitude (C), soil organic carbon content (D), soil organic carbon stock (E), clay content (F), fraction of green vegetation cover (G), fraction of absorbed photosynthetically active radiation (H), and leaf area index (I). Climatic variables (A and B) are from the WordClim 2 database; topographic variable (C) is from SRTM data; soil variables (D, E, and F) are from the SoilGrid database; vegetation variables (G, H, and I) are from the Copernicus database. Blue line is the regression line. Grey space represents 95% confidence interval.....	50

<b>Fig. 1.3.</b> Scatterplot of the simple linear regression between the measured $\delta^{13}\text{C}$ values and the testing database (A) (slope distance 1:1 – Estimate = -0.1492 p-value = 0.046), and with the independent points taken from the literature (Assad et al., 2013; Coletta et al., 2009; Nardoto, 2005; Parron et al., 2004) (B) (slope distance 1:1 – Estimate = -0.4573 p-value = 0.005). Gray line represents the 1:1 line. Blue line represents regression line. Grey space represents 95% confidence interval.....	51
<b>Fig. 1.4.</b> Bubble map of soil $\delta^{13}\text{C}$ residuals for training dataset plotted over the Cerrado biome boundary. In upper-left corner, the plot shows correlogram with Moran's I test for different distance classes, indicating no spatial autocorrelation.....	52
<b>Fig. 1.5.</b> Isoscape modeled from soil $\delta^{13}\text{C}$ for the Cerrado. The black dots represent the sampled points. The slanted striped-line zones represent regions where the model was unable to estimate values of soil $\delta^{13}\text{C}$ .....	53
<b>Fig. 1.6.</b> Comparison between model presented in this study (A) and the model proposed by Powell et al. (2012) (C). The red square represents the spatial cutout used to view more detailed aspects of the model in the present work (B) and the model by Powell et al. (2012) (D).....	54
<b>Fig. 2.1.</b> Brazil location and distribution of the 717 sample points. Black points represent the sampling points used in this study.....	74
<b>Fig. 2.2.</b> Simple linear regression between soil $\delta^{13}\text{C}$ mean annual temperature (A), mean annual precipitation (B), soil organic carbon stock (C), clay content (D), fraction of green vegetation cover (E), and normalized difference vegetation index (F). The blue line is the regression line. Gray space represents a 95% confidence interval.....	78
<b>Fig. 2.3.</b> Correlogram of Moran's index for different distance classes of the multiple linear regression residuals (A) and bubble map of the residuals soil $\delta^{13}\text{C}$ plotted over the Brazilian boundary (B).....	80
<b>Fig. 2.4.</b> Scatterplot of the simple linear regression between the predicted soil $\delta^{13}\text{C}$ values and the validation database (A), and modeled soil $\delta^{13}\text{C}$ isoscapes for Brazil (B). The black dots represent the sampled points. The gray line represents the 1:1 line, and the blue line represents the regression line. Gray space represents a 95% confidence interval.....	81

Brazil location and distribution of the 717 sample points. Black points represent the sampling points used in this study.....	74
<b>Fig. 2.2.</b> Simple linear regression between soil $\delta^{13}\text{C}$ mean annual temperature (A), mean annual precipitation (B), soil organic carbon stock (C), clay content (D), fraction of green vegetation cover (E), and normalized difference vegetation index (F). The blue line is the regression line. Gray space represents a 95% confidence interval.....	78
<b>Fig. 2.3.</b> Correlogram of Moran's index for different distance classes of the multiple linear regression residuals (A) and bubble map of the residuals soil $\delta^{13}\text{C}$ plotted over the Brazilian boundary (B). .....	80
<b>Fig. 2.4.</b> Scatterplot of the simple linear regression between the predicted soil $\delta^{13}\text{C}$ values and the validation database (A), and modeled soil $\delta^{13}\text{C}$ isoscapes for Brazil (B). The black dots represent the sampled points. The gray line represents the 1:1 line, and the blue line represents the regression line. Gray space represents a 95% confidence interval.....	81
<b>Fig. 3.1.</b> Localização da área de estudo. Detalhe para a localização do estado de Minas Gerais em relação ao Brasil (A). Localização da Serra da Canastra em relação ao estado de Minas Gerais (B). Limite da Serra da Canastra e do Parque Nacional da Serra da Canastra com distribuição dos pontos amostrais (C).....	94
<b>Fig. 3.2.</b> Matriz de correlação com as variáveis independentes selecionadas para o ajuste do modelo de regressão linear múltipla.....	97
<b>Fig. 3.3.</b> Krigagem ordinária das variáveis ambientais: %C (A); silte (B), SMAF (C). SAVI <sub>APR</sub> , proveniente do Landsat 8/OLI (D). Mapa de distribuição do $\delta^{13}\text{C}$ no solo da Serra da Canastra, gerado a partir da equação obtida no ajuste de modelo da regressão linear múltipla. (E). Regressão linear entre valores de $\delta^{13}\text{C}$ no solo estimados e observados (F). A linha cinza representa a linha 1:1. A linha azul representa a linha da regressão. O espaço cinza representa o intervalo de confiança de 95%.....	99

## LISTA DE TABELAS

<b>Table 1.1.</b> Statistical summary of multiple linear regression model and F-test. DF = degrees of freedom, SS = Residual Sum of Squares, AIC = Akaike Information Criterion, F = F-test, p = level of significance. F = 86.03; $R^2$ = 0.76; and $p < 0.001$ .....	51
<b>Table 2.1.</b> Statistical summary of multiple linear regression model and F-test. DF = degress of freedom, SS = Residual Sum of Squares, AIC = Akaike Information Criterion, F = F-test, p = Level of significance. F = 124.2; $R^2$ = 0.63; and $p < 0.001$ .....	79
<b>Tabela 3.1.</b> Resumo estatístico do modelo de regressão linear múltipla e teste F. GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, SRQ = soma residual dos quadrados, AIC = critério de informação de Akaike, F = teste F, p = nível de significância. F = 8,47; $R^2$ = 0,62; $p < 0,001$ .....	98
<b>Tabela 3.2.</b> Parâmetros utilizados para o ajuste do semivariograma de modelo esférico utilizado para a elaboração da krigagem ordinária das variáveis ambientais e RMSE calculado a partir da validação cruzada dos resultados das krigagens. ....	98

## INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento acelerado das atividades humanas tem ocasionado grandes alterações na dinâmica dos sistemas terrestres, contribuindo com declínios populacionais e extinções de espécies em todo o mundo (Pérez-Méndez et al., 2016). O rápido crescimento da população humana se destaca como um dos principais fatores das mudanças na cobertura da terra (Pahari e Murai, 1999), principalmente devido à abertura de áreas destinadas para a produção de alimentos, que muitas vezes resultam na conversão de ambientes naturais em terras agrícolas (Pimentel e Pimentel, 2006). Essas alterações no uso da terra têm intensificado as emissões de carbono antropogênico para a atmosfera, sendo considerada a principal fonte depois da queima de combustíveis fósseis (Fitzsimmons et al., 2004). Estima-se que entre 1850 e 1980, as mudanças no uso da terra promoveram uma liberação de aproximadamente 100 Pg C para a atmosfera (Houghton, 1995).

O solo é um elemento essencial na avaliação das mudanças da cobertura da terra, pois se relaciona com a litosfera, biosfera, hidrosfera e atmosfera, sendo essencial para a dinâmica dos ecossistemas (Lal, 2013). A formação do solo ocorre através da interação do clima com outros elementos estruturantes da paisagem, como material de origem, topografia e fatores bióticos (Jenny, 1941). Além disso, temperatura e precipitação são fundamentais para os processos da dinâmica da matéria orgânica nos ecossistemas (Lal, 2013). Entre os ecossistemas terrestres, o solo é o compartimento com maior estoque de carbono (2.500 Pg C), constituído pelo carbono orgânico (1.500 Pg C) e carbono mineral (1.000 Pg C) (Machado, 2005).

O uso da metodologia de análise de isótopos estáveis em estudos ambientais é uma importante ferramenta na avaliação das influências das atividades antrópicas sobre os ambientes naturais (Martinelli et al., 2009). Os isótopos estáveis mais utilizados em estudos ambientais são os de carbono ( $^{12}\text{C}$  e  $^{13}\text{C}$ ), nitrogênio ( $^{14}\text{N}$  e  $^{15}\text{N}$ ), oxigênio ( $^{17}\text{O}$  e  $^{18}\text{O}$ ), hidrogênio ( $^1\text{H}$  e  $^2\text{H}$ ) e enxofre ( $^{32}\text{S}$  e  $^{34}\text{S}$ ). Essa abordagem considera que a composição isotópica ocorre de forma previsível, de acordo com o seu movimento através dos diferentes compartimentos de ecossistema (Martinelli et al., 2009). Dessa forma, é possível rastrear detalhes do ciclo de cada um destes elementos, além de se poder utilizar essa abordagem como traçadores naturais e auxiliar em questões ambientais em diferentes níveis, desde microrganismos a paisagens (Fry, 2006). Entretanto, essa abordagem não pode ser utilizada indiscriminadamente como resposta para todos os organismos em todos

os ecossistemas. Seu uso requer o entendimento do fracionamento isotópico e das variações naturais (Pereira e Benedito, 2007).

O fracionamento isotópico pode ser definido como a variação na proporção entre os isótopos estáveis em um determinado composto ao passar por um processo físico-químico, e pode ocorrer de duas maneiras: 1) efeito termodinâmico, quando o fracionamento ocorre em situações de equilíbrio químico; e 2) efeito cinético, quando o fracionamento se relaciona à reações biológicas e processos físicos (Martinelli et al., 2009). Em estudos ecológicos, o entendimento dos processos de fracionamento isotópico é essencial para a compreensão da dinâmica e das mudanças nos valores isotópicos nos diferentes compartimentos do ecossistema (Pereira e Benedito, 2007).

A razão isotópica de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) tem sido aplicada em diversos contextos ecológicos, como estudos sobre os efeitos das mudanças no uso da terra sobre os ecossistemas (Cerling et al., 1997; Salemi et al., 2016), dieta animal (Galetti et al., 2015; Salgado et al., 2014), dieta humana (Kusaka et al., 2016; Nardoto et al., 2006) e reconstrução paleoecológica (Cerling et al., 1989). O  $\delta^{13}\text{C}$  está relacionado com os processos fotossintéticos e com a contribuição relativa de plantas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> para a produtividade primária (Ometto et al., 2006; Peri et al., 2012; Still et al., 2003). As plantas C<sub>3</sub> apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -35‰ e -20‰, enquanto as plantas C<sub>4</sub> apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -15‰ e -11‰. Esta diferença na composição isotópica torna o  $\delta^{13}\text{C}$  um indicador eficiente pra identificar a via fotossintética predominante (Dawson et al., 2002). Nesse sentido, observar o  $\delta^{13}\text{C}$  dos solos é um caminho eficiente para compreender a distribuição das vias fotossintéticas, pois os solos refletem a composição isotópica da vegetação (Ehleringer et al., 2000).

O  $\delta^{13}\text{C}$  da vegetação e do solo varia sistematicamente nos ambientes naturais. Mapear essa variabilidade espacial a partir de modelos espaciais isotópicos (*isoscape*s) fornece diversas possibilidades para a compreensão dos processos biogeoquímicos que regulam essa variabilidade espacial (West et al., 2010). *Isoscapes* têm sido aplicadas em diversas áreas, como ecologia, mudanças climáticas, biogeoquímica, hidrologia e ciências forenses (Bowen et al., 2009). Com isso, é preciso estabelecer critérios para elaboração dos modelos espaciais isotópicos. Pois, a metodologia empregada em um modelo vai depender de alguns fatores determinísticos, como escala de mapeamento, tipo de amostragem e os fatores limitantes ao fracionamento do elemento estudado (Bowen, 2010). Em geral, o fracionamento do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo é inicialmente controlado pelo clima, onde a disponibilidade de luz e água influenciam na abertura estomática e discriminação

do  $^{13}\text{C}$  pelas plantas, através das vias fotossintéticas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> (Ehleringer et al., 2000; Ometto et al., 2006). Entretanto, estudos em escala global podem minimizar padrões espaciais regionais da variabilidade do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo que podem ser influenciados por outras variáveis ambientais (Kaplan et al., 2002; Powell et al., 2012; Bai et al., 2012).

Em escala global, Kaplan et al. (2002) apresentaram um modelo global da vegetação na tentativa de simular a distribuição do  $\delta^{13}\text{C}$  na biosfera terrestre. Para isso, compilaram um conjunto de dados globais com mais de 1.000 medições de  $\delta^{13}\text{C}$  em vários ecossistemas terrestres. Os valores isotópicos das plantas foram classificados em 12 tipos funcionais, definidas a partir das suas características bioclimáticas e formas de crescimento. Os resultados apontaram que a variação isotópica da vegetação está relacionada à adaptação das plantas em diferentes condições climáticas no globo terrestre.

Powell et al. (2012) apresentaram uma estimativa da distribuição do  $\delta^{13}\text{C}$  para a América do Sul. Para isso, utilizaram dados secundários com informações sobre forma de vida da vegetação, mapas de cobertura da terra, dados climáticos e índices de vegetação. Eles observaram que os menores índices de erro do modelo estavam associados à ambientes com alta homogeneidade de cobertura da terra (florestas, matagais ou pradarias), enquanto que os maiores índices de erro se associavam a áreas com cobertura heterogênea (savana e áreas cultivadas). O Brasil apresenta grande biodiversidade, possuindo o maior número de espécies de plantas vasculares do planeta (Ulloa et al., 2017). Os tipos de vegetação do Brasil variam de extensas florestas tropicais (Morellato et al., 2000) a diferentes fisionomias de savanas (Ribeiro e Walter, 2008), florestas secas (Oliveira et al., 2019) e pastagens (Andriollo et al., 2017). Martinelli et al. (2021) apontaram uma grande variabilidade do  $\delta^{13}\text{C}$  em plantas C<sub>3</sub> entre os biomas brasileiros. Neves et al. (2021) observaram que no bioma Cerrado os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo variam entre -29‰ e -13‰, e que essa variabilidade é explicada por fatores ambientais do clima, solo, vegetação e altitude.

Em escala local, Bai et al. (2012) observaram que variáveis edáficas e as entradas de carbono provenientes da invasão de espécies florestais C<sub>3</sub> explicam a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  do solo em paisagens de savana e sugerem que essa abordagem pode ser utilizada para a avaliação das mudanças da vegetação C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> em outros ecossistemas. Esses resultados em diferentes escalas confirmam a importância de se identificar as variáveis ambientais que influenciam na variabilidade do  $\delta^{13}\text{C}$  em solos e na vegetação, principalmente para ambientes tropicais que apresentam grande diversidade ambiental.

## OBJETIVO E ESTRUTURA DA TESE

O objetivo desta tese foi identificar as variáveis que influenciam a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo e elaborar modelos espaciais isotópicos em diferentes escalas, no contexto brasileiro, baseado em análise de regressão linear múltipla. Para isso, a tese foi estruturada a partir de três capítulos.

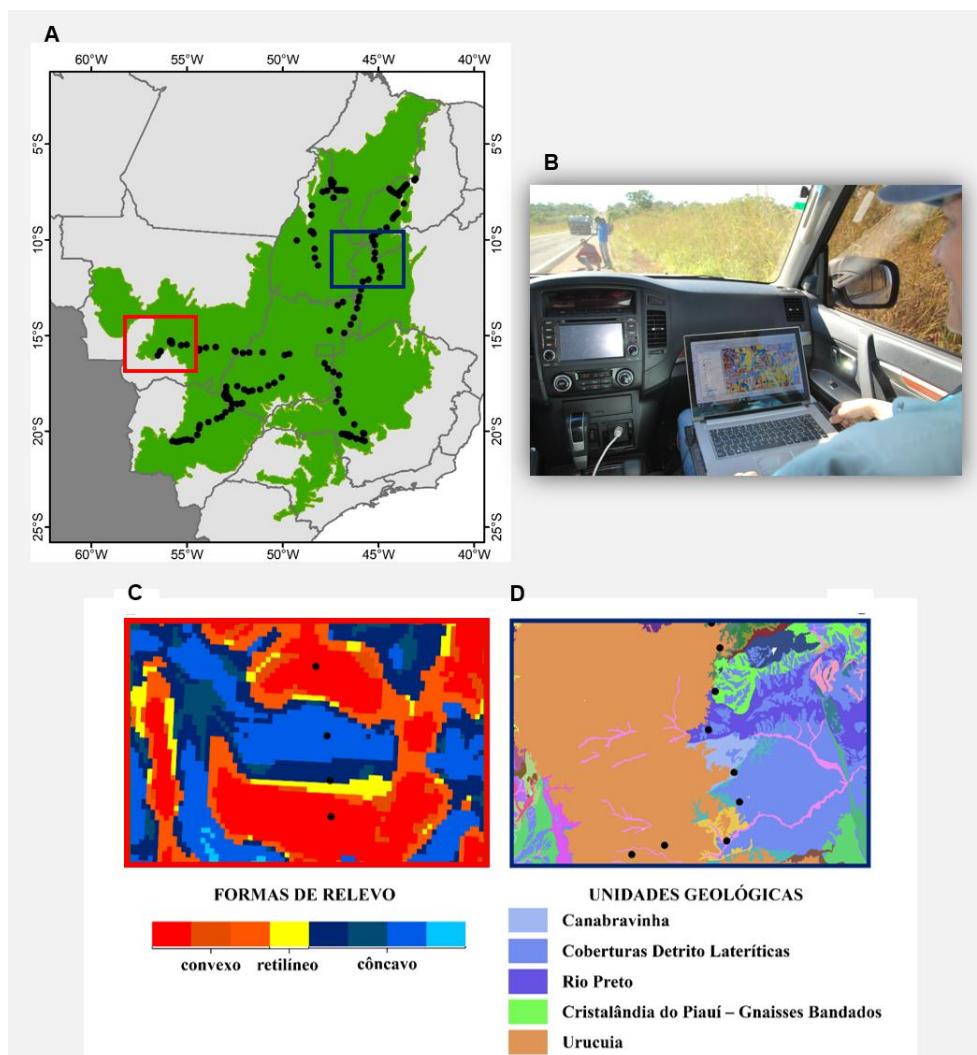
O Capítulo 1 é um ajuste de modelo de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo para o bioma Cerrado. Foram coletadas 219 amostras de solo com intervalo de profundidade de 0-20 cm em fragmentos de vegetação natural nas três formações vegetais do Cerrado (Florestal, Savântica e Campestre) (Ribeiro e Walter, 2008). Essas amostras foram secas ao ar, triadas e enviadas para análise isotópica no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP). Como variáveis preditoras, foram utilizadas variáveis climáticas, topográficas, do solo e da vegetação. Essas variáveis foram obtidas de bancos de dados globais disponíveis gratuitamente em formato *raster*. As covariáveis ambientais foram testadas entre si a partir de matrizes de correlação para a identificação de variáveis independentes que foram inseridas no ajuste de modelo de regressão linear múltipla. Para a elaboração do modelo isotópico espacial de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Cerrado, os *rasters* das covariáveis ambientais selecionadas no ajuste do modelo foram reamostrados para uma resolução espacial de 1 km e foi aplicada a equação obtida através dos coeficientes da regressão linear múltipla.

O Capítulo 2 é um ajuste de modelo isotópico espacial de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo para o Brasil. Foi utilizado um conjunto de dados com valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo com intervalo de profundidade de 0-20 cm, compilados através de uma revisão bibliográfica apresentada por Santos (2021). Esses dados foram incorporados aos pontos coletados e utilizados na estruturação do Capítulo 1. Um total de 717 pontos com valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo e sob vegetação natural foram utilizados. Foram selecionadas variáveis climáticas, do solo e da vegetação obtidas através de modelos globais disponibilizados gratuitamente em formato *raster*. As variáveis ambientais foram testadas quanto à multicolinearidade a partir de matrizes de correlação para a seleção de variáveis preditoras independentes. O modelo de regressão linear foi ajustado e identificou as variáveis que mais explicavam a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Brasil. Os arquivos *raster* das variáveis ambientais selecionadas foram reamostrados para uma resolução espacial de 1 km e foi aplicada a equação gerada a partir dos coeficientes do modelo de regressão para a elaboração do modelo isotópico espacial de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Brasil.

O Capítulo 3 é um ajuste de modelo de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo para a Serra da Canastra, Minas Gerais. Foram utilizados 32 pontos amostrais, extraídos da base de dados do Capítulo 1. As variáveis ambientais foram organizadas a partir de análise de textura e susceptibilidade magnética no Laboratório de Relações Solo-Vegetação, Instituto de Ciências Biológicas/UnB, e análise das propriedades químicas no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante, Departamento de Solos/UFV. Além disso, foram utilizados índices de vegetação derivados de imagens do satélite Landsat-8 e altitude proveniente dos dados do projeto *Shuttle Radar Topographic Mission* (SRTM), ambos disponibilizados gratuitamente. As variáveis independentes foram selecionadas a partir de uma matriz de correlação. Com isso, um modelo de regressão linear múltipla foi ajustado e identificou as variáveis ambientais que mais explicavam a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo da Serra da Canastra.

## COLETA, PREPARAÇÃO E ANÁLISE ISOTÓPICA DOS SOLOS

Para o Capítulo 1 foram realizadas coletas de solo em áreas de vegetação nativa nas três formações vegetais do bioma Cerrado (Florestal, Savântica e Campestre) (Ribeiro e Walter, 2008). Os locais de coleta foram selecionados com base em diferentes parâmetros da paisagem, como vegetação, grupo geológico e geomorfologia, no intuito de representar a diversidade de solos do Cerrado. Para auxiliar na escolha dos pontos de coleta e na orientação em campo, foram utilizados os limites geológicos do Serviço Geológico do Brasil (CPRM), limites geomorfológicos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), imagens de satélite para representação da vegetação e mapas das formas do terreno, elaborados a partir da metodologia proposta por (Vasconcelos, 2016) (Fig. 0.1).



**Fig. 0.1.** Pontos coletados no bioma Cerrado e utilizados no Capítulo 1 (A). Navegação em tempo real utilizada na seleção dos locais de amostragem (B). Detalhe dos pontos amostrados sob orientação do mapa de forma do relevo (Vasconcelos, 2016). Detalhe dos pontos amostrados sob orientação das unidades geológicas (D).

Esses dados foram organizados antes de cada expedição de campo e foram utilizados de forma conjunta, com auxílio de um gps acoplado a um computador que possibilitou a navegação em tempo real e a escolha dos locais mais apropriados para realização das coletas. Ao todo foram coletadas 219 amostras de solo com profundidade até 20 cm, com auxílio de um trato holandês (Fig. 0.2).



**Fig. 0.2.** Fotos das coletas de solo e exemplo da identificação das amostras coletadas (A e B). Foto registrada a partir de um sobrevôo de drone utilizado para observar o contexto da região e o acesso aos locais de coleta (C).

As amostras foram secas ao ar, peneiradas em uma peneira de malha de 2 mm e triadas para remover raízes e outros materiais orgânicos que poderiam influenciar nas medições isotópicas. Subamostras de 20 a 30 mg foram pesadas e acondicionadas em cápsulas de estanho. As razões de isótopos estáveis de carbono foram determinadas por combustão usando um analisador elementar (Carlo Erba, CHN-1100) acoplado a um espectrômetro de massa Finnigan DELTAplus (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) disponível no Laboratório de Ecologia de Isótopos, Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/Universidade de São Paulo), Piracicaba, SP, Brasil. As razões isotópicas foram expressas pela seguinte equação (Eq. 1):

$$\delta X(\%) = \left[ \left( \frac{R_{sample}}{R_{standard}} \right) - 1 \right] \times 1000 \quad (1)$$

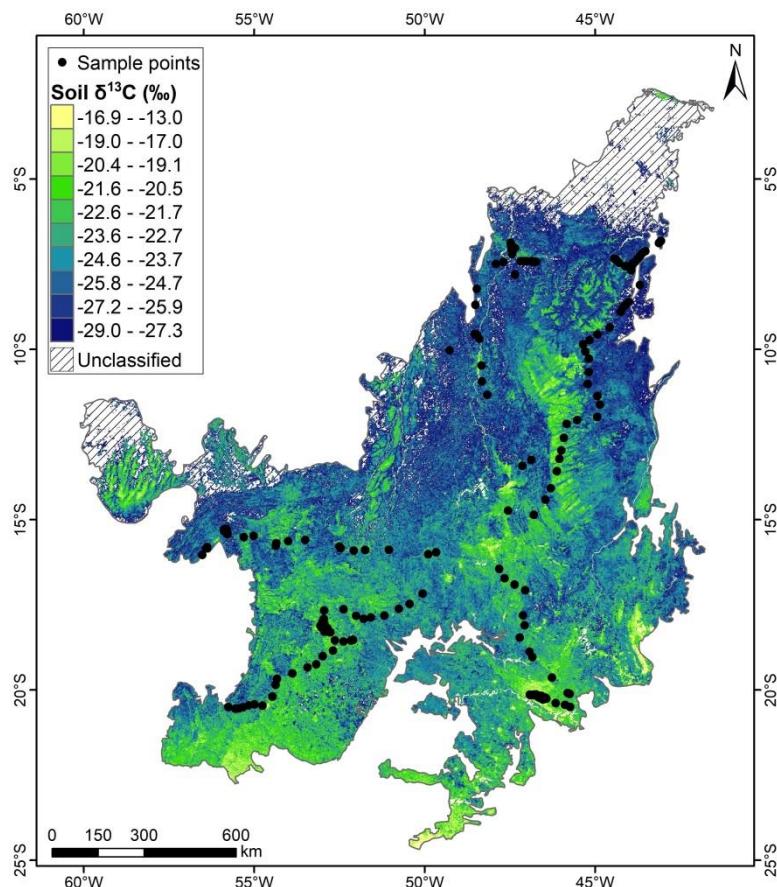
Onde  $\delta X$  é a razão isotópica;  $R_{sample}$  e  $R_{standard}$  são a razão isotópica ( $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ ) das amostras e padrões, respectivamente.

As razões isotópicas são relatadas em por mil (%), onde  $\delta^{13}\text{C}$  é relatado em relação ao Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB; razão  $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C} = 0.01123720$ ). Padrões internos (solo tropical e folhas de cana-de-açúcar) foram intercalados rotineiramente com

amostras alvo para corrigir efeitos de massa e deriva instrumental durante e entre as corridas. O erro analítico de longo prazo para o padrão interno é 0,2‰ para  $\delta^{13}\text{C}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO GERAIS

No Capítulo 1, o ajuste do modelo de regressão múltipla apontou que a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  do solo no Cerrado é explicada por variáveis relacionadas ao clima, solo, vegetação e altitude ( $R^2 = 0,76$ ;  $p < 0,001$ ). O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo variou entre -29‰ e -13‰ e apresentou um padrão de distribuição com maiores valores na região sul e menores valores na região norte (Fig. 0.3).



**Fig. 0.3.** Modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo no Cerrado. Os pontos pretos representam os locais amostrados. As zonas listradas representam regiões onde o modelo não foi capaz de estimar os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo.

Esse padrão de distribuição encontrado é semelhante à distribuição da cobertura da terra do Cerrado, onde as regiões com áreas agrícolas são concentradas na região sul. Os dados utilizados para modelar a distribuição espacial de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo consideraram apenas solos sob cobertura vegetal nativa, o que dificulta qualquer relação dos resultados com áreas agrícolas. Entretanto, essa semelhança de padrão ocorre devido às características

ambientais similares entre as regiões agrícolas e regiões onde a cobertura vegetal é composta principalmente por gramíneas C<sub>4</sub>.

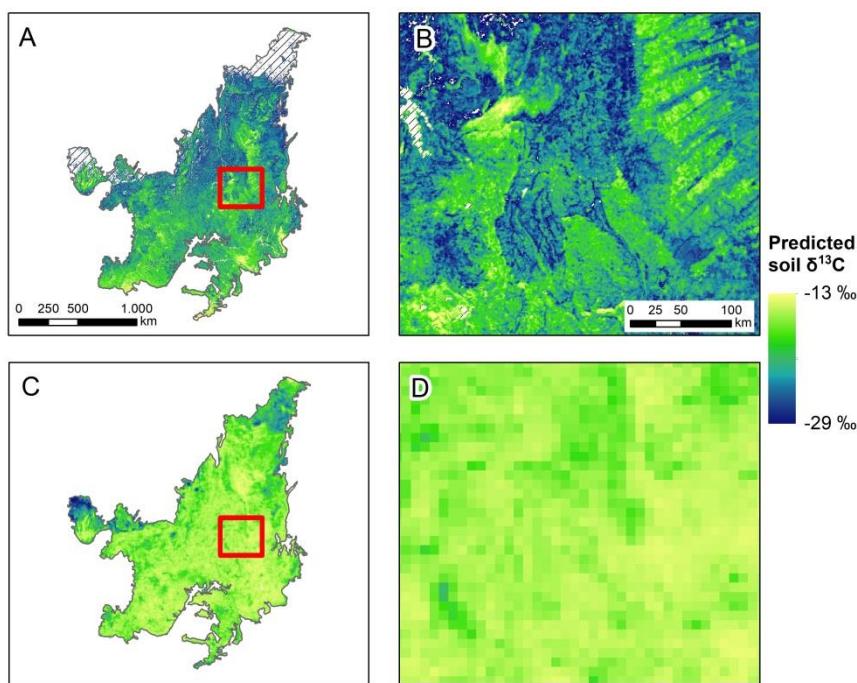
Os resultados apontaram que altitude apresentou correlação positiva com  $\delta^{13}\text{C}$  no solo ( $R^2 = 0,58; p < 0,001$ ). A posição da paisagem é um elemento que determina os padrões de distribuição da vegetação (Arruda et al., 2015). Além disso, variações na altitude podem condicionar os tipos de vegetação (Zhao et al., 2017), e a discriminação de carbono pelas plantas (Liu et al., 2007).

Temperatura apresentou uma relação negativa ( $R^2 = 0,59; p < 0,001$ ) e precipitação uma relação positiva ( $R^2 = 0,19; p < 0,001$ ) com os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo . Estudos anteriores apontaram que o  $\delta^{13}\text{C}$  se relaciona negativamente com temperatura (Li et al., 2009; Pan et al., 2015; Yang et al., 2015) e precipitação (Peri et al., 2012; Yang et al., 2015). Esse comportamento provavelmente é influenciado pelas características ambientais das regiões onde foram relatados os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo maiores de -18‰. Essas regiões são cobertas por uma alta diversidade e abundância de gramíneas C<sub>4</sub> (Fernandes, 2016; Fernandes et al., 2018), além de apresentarem altitude acima de 1.000 metros, temperatura mais baixas e maior precipitação em relação as demais regiões do Cerrado.

O estoque de carbono no solo apresentou uma relação positiva com o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo ( $R^2 = 0,44; p < 0,001$ ). Assim como a precipitação, estudos anteriores relataram uma relação inversa entre estoque de carbono e  $\delta^{13}\text{C}$  no solo (Bai et al., 2012; Luo et al., 2009). Além das características ambientais relacionadas aos ambientes de predomínio de gramíneas C<sub>4</sub>, essa relação positiva pode ser influenciada pelos modelos globais usados pelo SoilGrids. Esses modelos foram elaborados a partir de um conjunto de variáveis ambientais, incluindo precipitação (Hengl et al., 2017). Além disso, valores estimados para regiões tropicais podem sofrer interferência dos valores extremos encontrados em regiões muito áridas e muito úmidas.

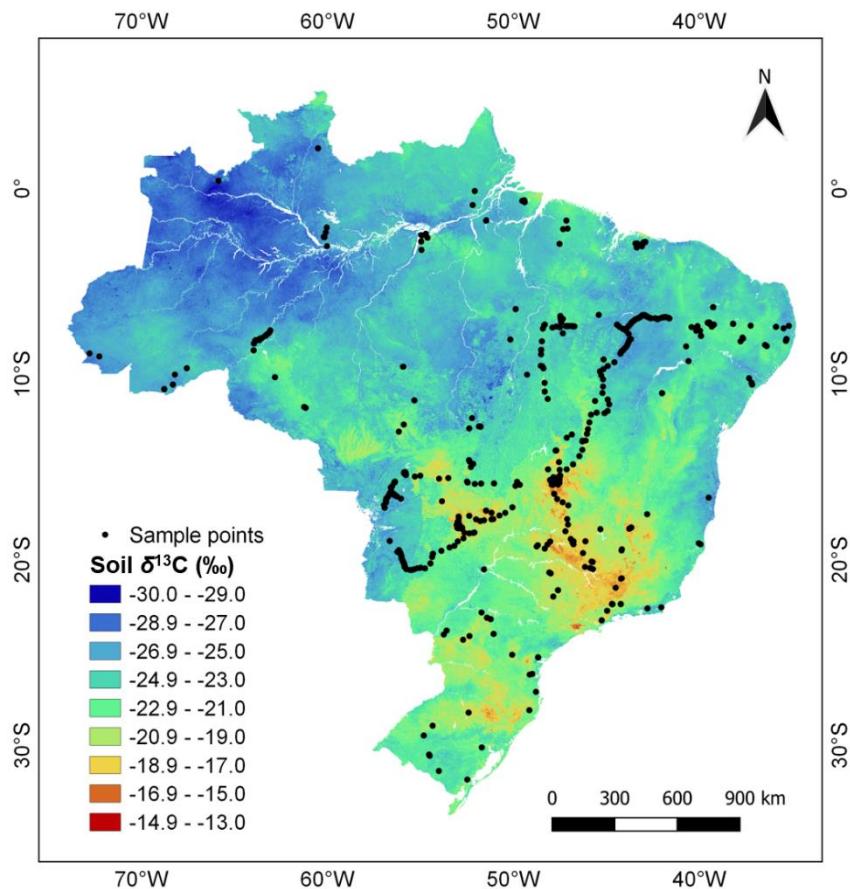
As variáveis de vegetação incorporadas no modelo representam a biomassa, que por sua vez, influencia a distribuição dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  das plantas através da produtividade primária (Still et al., 2003). Essas variáveis são de extrema importância para estimar modelos de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, pois os solos refletem a composição isotópica da vegetação (Ehleringer et al., 2000). Isso pode ser observado em estudos anteriores que utilizaram dados de proporção da cobertura vegetal, mapas de vegetação e índices de vegetação para alimentar modelos de distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  (Powell et al., 2012; Still Powell, 2010).

O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo conseguiu obter um maior detalhamento da distribuição dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Cerrado, em comparação com o modelo existente apresentado por Powell et al. (2012) (Fig. 0.4). Isso foi possível devido ao uso de dados isotópicos medidos no solo em uma ampla faixa geográfica, que possibilitaram um maior detalhamento de aspectos locais do Cerrado. Outro fator importante foi a utilização de dados de entrada com maior resolução espacial em comparação ao modelo de Powell et al. (2012).



**Fig. 0.4.** Comparação entre o modelo apresentado neste estudo (A) e o modelo proposto por Powell et al. (2012) (C). O quadrado vermelho representa o recorte espacial usado para visualizar aspectos mais detalhados do modelo no presente trabalho (B) e o modelo de Powell et al. (2012) (D).

No Capítulo 2, a análise de regressão linear múltipla identificou que a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Brasil é explicado por variáveis climáticas, do solo e da vegetação ( $R^2 = 0,63$ ;  $p < 0,001$ ). O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo foi gerado a partir da equação baseada nos coeficientes da regressão linear múltipla, e apresentou valores entre -30‰ e -13‰ (Fig. 0.5).



**Fig. 0.5.** Modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo para o Brasil. Os pontos pretos representam os locais amostrados.

Os menores valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo (entre  $-30\text{\textperthousand}$  e  $-25\text{\textperthousand}$ ) estão concentrados na região noroeste, onde está localizada a Floresta Amazônica. Estudos anteriores apontaram valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo em torno de  $-28\text{\textperthousand}$  nessa região (Powell et al., 2012; Sanaiotti et al., 2002). Na região central, onde está localizada a savana brasileira, o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo apresentou alta variação. Isso ocorre devido a grande diversidade de composições vegetais da savana, que engloba desde espécies arbóreas C<sub>3</sub> até gramíneas C<sub>4</sub> (Ribeiro and Walter, 2008). Powell et al. (2012) apontaram essa região como a zona de maior incerteza dentro do modelo de *isoscapes* de  $\delta^{13}\text{C}$  para a América Latina. Neves et al. (2021) observaram um intervalo entre  $-29\text{\textperthousand}$  e  $-13\text{\textperthousand}$  em uma *isoscape* de  $\delta^{13}\text{C}$  em solos com até 20 cm de profundidade.

A região nordeste apresentou valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo entre  $-27\text{\textperthousand}$  e  $-23\text{\textperthousand}$ , com os menores valores localizados próximo à costa do Oceano Atlântico e os maiores valores nas zonas onde predomina o clima semiárido. Essa faixa de valores é confirmada por Mendonça et al. (2010), que observaram valores entre  $-27\text{\textperthousand}$  e  $-23\text{\textperthousand}$  em solos com até 20

cm de profundidade. Martinelli et al. (2021) observaram valores de  $\delta^{13}\text{C}$  na vegetação entre -30‰ e -22‰ na região semi-árida do Brasil, e associaram os maiores valores de com o baixo nível de precipitação.

A região sul do Brasil apresentou valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo entre -21‰ e -13‰. Essa faixa de valores também foi observada em estudos passados. Assad et al. (2013) observaram valores entre -23‰ e -16‰ em solos superficiais sob vegetação nativa. Andriollo et al. (2017) observaram valores entre -16‰ e -13‰ em solos superficiais sob pastagens naturais.

As relações entre o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Brasil e as covariáveis ambientais foram semelhantes às apresentadas no Capítulo 1. Entre as variáveis de vegetação, temperatura apresentou uma relação negativa e precipitação uma relação positiva como  $\delta^{13}\text{C}$  no solo. Além das relações levantadas para o Cerrado sobre a relação das regiões dominadas por gramíneas C<sub>4</sub> apresentarem maiores níveis de precipitação, a região semi-árida do Brasil apresenta níveis de precipitação mais baixos, com uma vegetação que tende a ser C<sub>3</sub> (Martinelli et al., 2021; Mendonça et al., 2010). Este comportamento influencia na relação positiva entre precipitação e o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo.

Os resultados apresentaram uma relação positiva do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo com teor de argila, como demonstrado por Bai et al. (2012), e também mostrou uma relação positiva com estoque de carbono no solo, relação inversa ao demonstrado em estudos anteriores (Bai et al., 2013; Luo et al., 2009). Essa relação positiva foi observada nos resultados do Capítulo 01, e ocorre devido às características ambientais locais do Brasil. No nordeste do Brasil, onde os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo são entre -27‰ e -23‰, os níveis de estoque de carbono do solo apresentados pelo *SoilGrids* são inferiores a 30 ton/ha. No sul do Brasil, onde os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo são entre -21‰ e -13‰, os níveis de estoque de carbono no solo são superiores a 60 ton/ha, o que pode estar influenciando a inversão da curva de regressão, assim como observado na relação entre  $\delta^{13}\text{C}$  no solo e média anual de precipitação. No entanto, os resultados apresentados não são suficientes para inferir com precisão sobre essa relação.

As variáveis de vegetação apresentaram relação negativa com o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo. Assim como mostrado no Capítulo 1, essas variáveis estão relacionadas à biomassa e influenciam a distribuição de  $\delta^{13}\text{C}$  através da produtividade primária (Still et al., 2003). O Brasil é uma região com grande diversidade de tipos de vegetação que regulam a variabilidade dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Martinelli et al., 2021), isso reforça a importância de se considerar essas variáveis para a elaboração de modelos de estimativa da distribuição

espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  na vegetação e nos solos (Neves et al., 2021; Powell et al., 2012; Still e Powell, 2010).

No Capítulo 3, a análise de regressão linear múltipla indicou que concentração de carbono no solo, silte, susceptibilidade magnética e o índice de vegetação ajustado ao solo (SAVI) explicaram a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  na Serra da Canastra ( $R^2 = 0,62$ ;  $p < 0,001$ ). Para a elaboração do modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, foi realizada uma krigagem ordinária de modelo esférico para as variáveis de solo, para estruturar uma base de dados em formato *raster* para todas as variáveis explicativas do modelo e possibilitar a aplicação da equação do modelo de regressão. Os valores estimados de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo variaram entre -22‰ e -10‰, com uma maior concentração na faixa entre -16‰ e -13‰.

Como observado nos Capítulos 1 e 2, as variáveis de vegetação são um importante atributo para modelos de estimativa da variação do  $\delta^{13}\text{C}$  na vegetação e no solo. Dados de cobertura da terra e índices de vegetação têm sido aplicados em modelos preditivos da distribuição espacial dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Neves et al., 2021; Powell et al., 2012; Still e Powell, 2010). Entretanto, esses trabalhos utilizaram dados de fração de cobertura vegetal e o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI). A Serra da Canastra é uma região que apresenta mais de 70% da sua área coberta por gramíneas C<sub>4</sub> (Couto Junior et al., 2010). O SAVI é uma modificação do NDVI com foco em minimizar os efeitos da variabilidade e densidade da vegetação, que melhora a avaliação de regiões com cobertura vegetal menos densa (Huete, 1988), o que mostra que o SAVI é um índice coerente para o tipo de vegetação presente na Serra da Canastra.

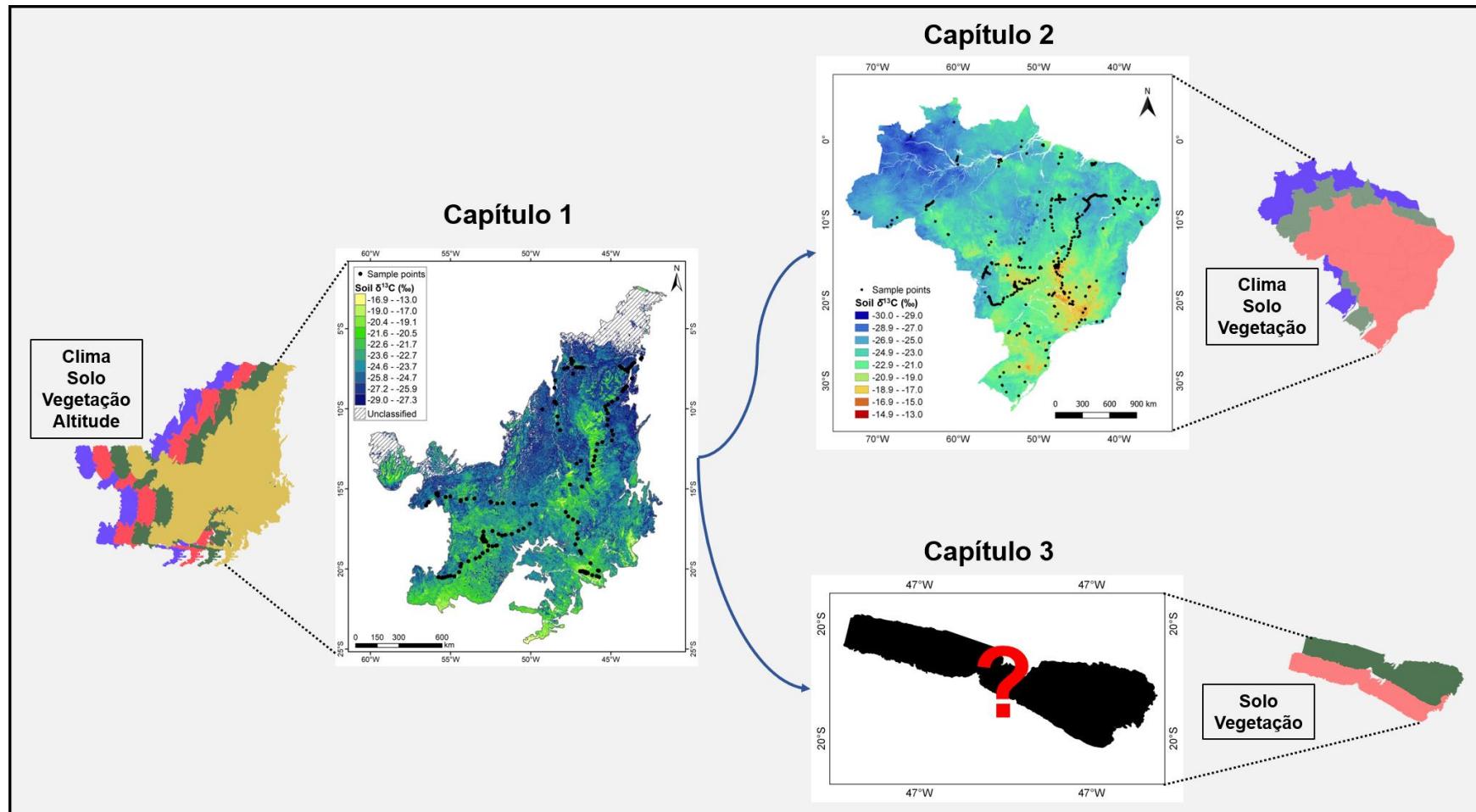
A concentração de carbono no solo está associada aos processos de fotossíntese e decomposição da matéria orgânica do solo (Boutton et al., 1998; Ehleringer et al., 2000). Bai et al. (2012) observaram uma relação negativa entre o estoque de carbono e o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, principalmente causado devido a entrada de matéria orgânica proveniente de plantas lenhosas em ambientes campestres. Por mais que a Serra da Canastra seja um ambiente dominado por gramíneas C<sub>4</sub>, espécies arbóreas e arbustivas C<sub>3</sub> também são presentes nas fitofisionomias de Campo Limpo e Campo Sujo (Ribeiro e Walter, 2008) e influenciam nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo.

A textura do solo é uma variável explicativa para a distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo (Bai et al., 2012). A susceptibilidade magnética está relacionada com a assinatura magnética dos minerais presentes no solo. Na Serra da Canastra, a susceptibilidade magnética possui correlação negativa com hidróxido de alumínio e óxidos de ferro devido ao grau de intemperismo elevado. Entretanto, em Cambissolos localizados em ambientes

dissecados, a fração silte contribui para explicar os processos de evolução pedogeomorfológica da região (Vasconcelos et al., 2013).

A linha de regressão entre os valores observados e estimados não apresentou uma distância significativa em relação a linha 1:1, o que aponta que o modelo estimado ainda não possui poder explicativo suficiente para validação do modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo. Entretanto, a relação entre valores observados e estimados é significativa ( $R^2 = 0,41$ ;  $p < 0,001$ ), o que indica potencial da aplicação dessa abordagem. Para isso, é importante que trabalhos que possuam o foco em escalas detalhadas estabeleçam um desenho amostral que considere não apenas a coleta de dados isotópicos, mas que também possibilite a estruturação de modelos geoestatísticos para interpolação das variáveis preditoras.

## RESUMO GRÁFICO DA TESE



**Fig. 0.6.** Resumo gráfico da tese.

## CONCLUSÕES

A análise de regressão linear múltipla possibilitou identificar as variáveis ambientais que explicam a variação espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo em diferentes escalas no contexto brasileiro. Além disso, foi possível ajustar modelos de predição para mapear a distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo para o Cerrado e para o Brasil.

O Cerrado apresentou os maiores valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo na região sul e os menores valores na região norte. Variáveis do clima, solo, vegetação e altitude explicaram a distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo. O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo preencheu uma lacuna existente e forneceu maior detalhamento sobre os aspectos locais do Cerrado. No entanto, apesar do esforço amostral, ainda existem regiões que não puderam ser estimadas no modelo.

O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Brasil foi ajustado a partir de variáveis climáticas, solo e vegetação, e apresentou padrões de distribuição regional, onde os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo tendem a diminuir de sudeste para noroeste. O modelo apresentado é uma estimativa da distribuição de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo para áreas naturais e apresenta um refinamento em termos de resolução espacial em comparação aos modelos existentes para a região.

Foi possível ajustar um modelo de regressão linear múltipla para a Serra da Canastra. A variação espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo foi explicada por variáveis pedológicas e índice de vegetação. O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo não apresentou distância significativa entre a reta da regressão entre os valores estimados e observados em relação a reta 1:1. Porém, a relação significativa entre valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo observados e estimados aponta o potencial de aplicação dessa abordagem para modelagem espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  em escalas mais detalhadas.

## **PERSPECTIVAS FUTURAS**

Os resultados apresentados nesta tese podem auxiliar em futuros estudos com foco em ecologia de comunidades, distribuição da vegetação, compreensão da dinâmica da matéria orgânica no solo, segurança alimentar, identificação de padrões migratórios de espécies animais e investigações forenses.

Alguns desafios para futuras aplicações são:

- Incorporar informações sobre o uso do solo para a melhor elaboração de estudos que integrem ambientes naturais e antrópicos;
- Estudos regionalizados para a melhor compreensão das relações entre o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo e variáveis que apresentaram relações inversas ao observado em estudos anteriores (precipitação e estoque de carbono no solo);
- Estabelecer um adensamento amostral que possibilite não apenas o levantamento de dados isotópicos, mas que melhore as interpolações das variáveis ambientais que alimentam os modelos de predição, para a elaboração de modelos espaciais isotópicos em escalas mais detalhadas;
- Integração de modelos espaciais isotópicos de outros elementos ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^2\text{H}$ ) para a elaboração de modelos multi-isotópicos.

## REFERÊNCIAS

- Akaike, H., 1974. A New Look at the Statistical Model Identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19, 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>
- Andriollo, D.D., Redin, C.G., Reichert, J.M., da Silva, L.S., 2017. Soil carbon isotope ratios in forest-grassland toposequences to identify vegetation changes in southern Brazilian grasslands. *Catena* 159, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.08.012>
- Arruda, D.M., Schaefer, C.E.G.R., Corrêa, G.R., Rodrigues, P.M.S., Duque-Brasil, R., Ferreira-JR, W.G., Oliveira-Filho, A.T., 2015. Landforms and soil attributes determine the vegetation structure in the Brazilian semiarid. *Folia Geobot.* 50, 175–184. <https://doi.org/10.1007/s12224-015-9221-0>
- Assad, E.D., Pinto, H.S., Martins, S.C., Groppo, J.D., Salgado, P.R., Evangelista, B., Vasconcellos, E., Sano, E.E., Pavão, E., Luna, R., Camargo, P.B., Martinelli, L.A., 2013. Changes in soil carbon stocks in Brazil due to land use: Paired site comparisons and a regional pasture soil survey. *Biogeosciences* 10, 6141–6160. <https://doi.org/10.5194/bg-10-6141-2013>
- Bai, E., Boutton, T.W., Ben Wu, X., Liu, F., Archer, S.R., 2009. Landscape-Scale vegetation dynamics inferred from spatial spatters of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in a subtropical savanna parkland. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 114, 1–10. <https://doi.org/10.1029/2008JG000839>
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, X. Ben, Archer, S.R., 2013.  $^{15}\text{N}$  isoscapes in a subtropical savanna parkland: spatial-temporal perspectives. *Ecosphere* 4, 1–17. <https://doi.org/10.1890/ES12-00187.1>
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, X. Ben, Hallmark, C.T., Archer, S.R., 2012. Spatial variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and its relation to carbon input and soil texture in a subtropical lowland woodland. *Soil Biol. Biochem.* 44, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.013>
- Baret, F., Weiss, M., Lacaze, R., Camacho, F., Makhmara, H., Pacholczyk, P., Smets, B., 2013. GEOV1: LAI and FAPAR essential climate variables and FCOVER global time series capitalizing over existing products. Part1: Principles of development and production. *Remote Sens. Environ.* 137, 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2012.12.027>
- Boutton, T.W., Archer, S.R., Midwood, A.J., Zitzer, S.F., Bol, R., 1998.  $\delta^{13}\text{C}$  values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. *Geoderma* 82, 5–41. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00095-5)
- Bowen, G.J., 2010. Isoscapes: Spatial Pattern in Isotopic Biogeochemistry. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci* 38, 161–87. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-040809-152429>
- Bowen, G.J., West, J.B., Hoogewerff, J., 2009. Isoscapes: Isotope mapping and its applications. *J. Geochemical Explor.* 102, 2008–2010. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2009.05.001>
- Camacho, F., Cernicharo, J., Lacaze, R., Baret, F., Weiss, M., 2013. GEOV1: LAI,

FAPAR essential climate variables and FCOVER global time series capitalizing over existing products. Part 2: Validation and intercomparison with reference products. *Remote Sens. Environ.* 137, 310–329. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2013.02.030>

Camargo, O.A., Moniz, A.C., Jorge, J.A., Valadares, J.M.A., 2009. Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas. *Bol. técnico* 106, 77 p.

Carvalho Junior, O.A., Silva, N.C., Carvalho, A.P.F., Couto Junior, A.F., Silva, C.R., Shimabukuro, Y.E., Guimarães, R.F., Gomes, R.A.T., 2012. Combining noise-adjusted principal components transform and median filter techniques for denoising modis temporal signatures. *Rev. Bras. Geofísica* 30, 147–157.

Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389, 153–158. <https://doi.org/10.1038/38229>

Cerling, T.E., Quade, J., Wang, Y., Bowman, J.R., 1989. Carbon isotopes in soils and palaeosols as ecology and palaeoecology indicators. *Nature* 341, 138–139. <https://doi.org/10.1038/341138a0>

Chapin, F.S., Matson, P.A., Vitousek, P., 2011. Principles of terrestrial ecosystem ecology, Springer. ed, Tạp chí Khoa học Đại học Huế. New York.

Couto Junior, A.F., Souza, V.V. de, Carvalho Júnior, O.A. de, Martins, É.D.S., Santana, O.A., Freitas, L.F., Gomes, R.A.T., 2010. Integração de parâmetros morfométricos e imagem aster para a delimitação das fitofisionomias da Serra da Canastra, Parque Nacional da Serra da Canastra, MG. *Rev. Bras. Geomorfol.* 11, 57–68. <https://doi.org/10.20502/rbg.v11i1.142>

Dawson, T.D., Mambelli, S., Plamboek, A.H., Templer, P.H., Tu, K.P., 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 507–559. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.020602.095451>

Ehleringer, J.R., Bowling, D.R., Flanagan, L.B., Fessenden, J., Helliker, B., Martinelli, L.A., Ometto, J.P., 2002. Stable isotopes and carbon cycle processes in forests and grasslands. *Plant Biol.* 4, 181–189. <https://doi.org/10.1055/s-2002-25733>

Ehleringer, J.R., Buchmann, N., Flanagan, L.B., 2000. Carbon Isotope Ratios in Belowground Carbon Cycle Processes. *Ecol. Appl.* 10, 412. <https://doi.org/10.2307/2641103>

Ehleringer, J.R., Monson, R.K., 1993. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 411–439. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.002211>

Fernandes, G.W., 2016. Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil. *Ecol. Conserv. Mt. Grasslands Brazil* 1–567. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-29808-5>

Fernandes, G.W., Barbosa, N.P.U., Alberton, B., Barbieri, A., Dirzo, R., Goulart, F., Guerra, T.J., Morellato, L.P.C., Solar, R.R.C., 2018. The deadly route to collapse and the uncertain fate of Brazilian rupestrian grasslands. *Biodivers. Conserv.* 27, 2587–2603. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1556-4>

- Fitzsimmons, M.J., Pennock, D.J., Thorpe, J., 2004. Effects of deforestation on ecosystem carbon densities in central Saskatchewan, Canada. *For. Ecol. Manage.* 188, 349–361. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2003.08.005>
- Fry, B., 2006. Stable isotope ecology, *Stable Isotope Ecology*. <https://doi.org/10.1007-0-387-33745-8>
- Galetti, M., Guevara, R., Neves, C.L., Rodarte, R.R., Bovendorp, R.S., Moreira, M., Hopkins, J.B., Yeakel, J.D., 2015. Defaunation affect population and diet of rodents in Neotropical rainforests. *Biol. Conserv.* 190, 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.032>
- Harbert, R.S., Nixon, K.C., 2015. Climate reconstruction analysis using coexistence likelihood estimation (CRACLE): A method for the estimation of climate using vegetation. *Am. J. Bot.* 102, 1277–1289. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400500>
- Hengl, T., De Jesus, J.M., Heuvelink, G.B.M., Gonzalez, M.R., Kilibarda, M., Blagotić, A., Shangguan, W., Wright, M.N., Geng, X., Bauer-Marschallinger, B., Guevara, M.A., Vargas, R., MacMillan, R.A., Batjes, N.H., Leenaars, J.G.B., Ribeiro, E., Wheeler, I., Mantel, S., Kempen, B., 2017. SoilGrids250m: Global gridded soil information based on machine learning, *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169748>
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 25, 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- Houghton, R.A., 1995. Land-use change and the carbon cycle. *Glob. Chang. Biol.* 1, 275–287. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.1995.tb00026.x>
- Huete, A.R., 1988. A soil-adjusted vegetation index (SAVI). *Remote Sens. Environ.* 25, 295–309. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257\(88\)90106-X](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257(88)90106-X)
- IBGE, I.B. de G. e E., 2012. Manual técnico da vegetação brasileira. Rio de Janeiro.
- Jenny, H., 1941. Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology, Foreword by Ronald Amundson. Dover Publications, New York. <https://doi.org/10.2307/211491>
- Kaplan, J.O., Prentice, I.C., Buchmann, N., 2002. The stable carbon isotope composition of the terrestrial biosphere: Modeling at scales from the leaf to the globe. *Glob. Biogeochem. Cycles* 16, 1060. <https://doi.org/10.1029/2001gb001403>
- Kusaka, S., Ishimaru, E., Hyodo, F., Gakuhami, T., Yoneda, M., Yumoto, T., Tayasu, I., 2016. Homogeneous diet of contemporary Japanese inferred from stable isotope ratios of hair. *Sci. Rep.* 6, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep33122>
- Lal, R., 2013. Intensive Agriculture and the Soil Carbon Pool. *J. Crop Improv.* 27, 735–751. <https://doi.org/10.1080/15427528.2013.845053>
- Li, J., Wang, G., Liu, Xianzhao, Han, J., Liu, M., Liu, Xiaojuan, 2009. Variations in carbon isotope ratios of C3 plants and distribution of C4 plants along an altitudinal transect on the eastern slope of Mount Gongga. *Sci. China, Ser. D Earth Sci.* 52, 1714–1723. <https://doi.org/10.1007/s11430-009-0170-4>
- Liu, X., Zhao, L., Gasaw, M., Gao, D., Qin, D., Ren, J., 2007. Foliar  $\delta$  13C and  $\delta$  15N

- values of C 3 plants in the Ethiopia Rift Valley and their environmental controls. Chinese Sci. Bull. 52, 1265–1273. <https://doi.org/10.1007/s11434-007-0165-5>
- Loss, A., Pereira, M.G., Perin, A., Anjos, L.H.C. dos, 2014. Abundância natural de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em sistemas de manejo conservacionista no cerrado. Biosci. J. 30, 604–615.
- Luo, T., Zhang, L., Zhu, H., Daly, C., Li, M., Luo, J., 2009. Correlations between net primary productivity and foliar carbon isotope ratio across a Tibetan ecosystem transect. Ecography (Cop.). 32, 526–538. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2008.05735.x>
- Machado, P.L.O. de A., 2005. Carbono do solo e a mitigação da mudança climática global. Quim. Nova 28, 329–334. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422005000200026>
- Martinelli, L.A., Nardoto, G.B., Soltangheisi, A., Reis, C.R.G., Abdalla-Filho, A.L., Camargo, P.B., Domingues, T.F., Faria, D., Figueira, A.M., Gomes, T.F., Lins, S.R.M., Mardegan, S.F., Mariano, E., Miatto, R.C., Moraes, R., Moreira, M.Z., Oliveira, R.S., Ometto, J.P.H.B., Santos, F.L.S., Sena-Souza, J., Silva, D.M.L., Silva, J.C.S.S., Vieira, S.A., 2021. Determining ecosystem functioning in Brazilian biomes through foliar carbon and nitrogen concentrations and stable isotope ratios. Biogeochemistry 154, 405–423. <https://doi.org/10.1007/s10533-020-00714-2>
- Martinelli, L.A., Ometto, J.P.H.B., Ferraz, E.S., Victoria, R.L., Camargo, P.B., Moreira, M.Z., 2009. Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis. Editora Oficina de Textos.
- Mendonça, L.A.R., Frischkorn, H., Santiago, M.F., Camargo, P.B. de, Lima, J.O.G. de, Mendes Filho, J., 2010. Identificação de mudanças florestais por  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  dos solos da Chapada do Araripe , Ceará. Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient. 14, 314–319.
- Morellato, L.P.C., Talora, D.C., Takahasi, A., Bencke, C.C., Romera, E.C., Zipparro, V.B., 2000. Phenology of Atlantic rain forest trees: A comparative study. Biotropica 32, 811–823. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2000.tb00620.x>
- Nardoto, G.B., Silva, S., Kendall, C., Ehleringer, J.R., Chesson, L.A., Ferraz, E.S.B., Moreira, M.Z., Ometto, J.P.H.B., Martinelli, L.A., 2006. Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. Am. J. Phys. Anthropol. 131, 137–146. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20409>
- Neves, G. das, Sena-Souza, J.P., Santos, F.L. de S., Sano, E.E., Nardoto, G.B., Couto Junior, A.F., 2021. Spatial distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the central Brazilian savanna. J. Environ. Manage. 300. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113758>
- Oliveira, G. de C., Francelino, M.R., Arruda, D.M., Fernandes-Filho, E.I., Schaefer, C.E.G.R., 2019. Climate and soils at the Brazilian semiarid and the forest-Caatinga problem: New insights and implications for conservation. Environ. Res. Lett. 14. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab3d7b>
- Ometto, J.P.H.B., Ehleringer, J.R., Domingues, T.F., Berry, J.A., Ishida, F.Y., Mazzi, E., Higuchi, N., Flanagan, L.B., Nardoto, G.B., Martinelli, L.A., 2006. The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. Biogeochemistry 79, 251–274. <https://doi.org/10.1007/s10533-006-9008-8>

- Pahari, K., Murai, S., 1999. Modelling for prediction of global deforestation based on the growth of human population. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens.* 54, 317–324. [https://doi.org/10.1016/S0924-2716\(99\)00032-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2716(99)00032-5)
- Pan, S., Zhang, W., Zhao, M., Li, Y., Xu, S., Wang, G., 2015. Altitude patterns of leaf carbon isotope composition in a subtropical monsoon forest. *Polish J. Ecol.* 63, 512–522. <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2015.63.4.004>
- Pereira, A.L., Benedito, E., 2007. Isótopos estáveis em estudos ecológicos : métodos , aplicações e perspectivas. *Converter* 13, 16–27.
- Pérez-Méndez, N., Jordano, P., García, C., Valido, A., 2016. The signatures of Anthropocene defaunation: Cascading effects of the seed dispersal collapse. *Sci. Rep.* 6, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep24820>
- Peri, P.L., Ladd, B., Pepper, D.A., Bonser, S.P., Laffan, S.W., Amelung, W., 2012. Carbon ( $\delta$  13C) and nitrogen ( $\delta$  15N) stable isotope composition in plant and soil in Southern Patagonia's native forests. *Glob. Chang. Biol.* 18, 311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02494.x>
- Pimentel, D., Pimentel, M., 2006. Global environmental resources versus world population growth. *Ecol. Econ.* 59, 195–198. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2005.11.034>
- Powell, R.L., Yoo, E.-H., Still, C.J., 2012. Vegetation and soil carbon-13 isoscapes for South America: integrating remote sensing and ecosystem isotope measurements. *Ecosphere* 3, art109. <https://doi.org/10.1890/es12-00162.1>
- R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Found. Stat. Comput.
- Rao, Z., Guo, W., Cao, J., Shi, F., Jiang, H., Li, C., 2017. Relationship between the stable carbon isotopic composition of modern plants and surface soils and climate: A global review. *Earth-Science Rev.* 165, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.12.007>
- Ribeiro, J.F., Walter, B.M.T., 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado in: Sano, S. M.; de Almeida, S. P., Ribeiro, J. F. Cerrado Ecologia e Flora. Embrapa Cerrados-Capítulo em livro científico 151–199.
- Salemi, L.F., Rafaela, S., Lins, M., Ravagnani, E.D.C., Frosini, S., Ferraz, D.B., Martinelli, L.A., 2016. Past and present land use influences on tropical riparian zones: an isotopic assessment with implications for riparian forest width determination. *Biota Neotrop.* 16, 1–8. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2015-0133>
- Salgado, S.S., Motta, P.C., de Souza Aguiar, L.M., Nardoto, G.B., 2014. Tracking dietary habits of cave arthropods associated with deposits of hematophagous bat guano: A study from a neotropical savanna. *Austral Ecol.* 39, 560–566. <https://doi.org/10.1111/aec.12116>
- Sanaiotti, T.M., Martinelli, L.A., Victoria, R.L., Trumbore, S.E., Camargo, P.B., 2002. Past vegetation changes in Amazon savannas determined using carbon isotopes of soil organic matter. *Biotropica* 34, 2–16. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2002.tb00237.x>

- Santos, F.L.S., 2021. Relação entre os fatores edafo-climáticos e os isótopos estáveis de carbono e nitrogênio ao longo do gradiente Pantanal-Cerrado-Caatinga. Universidade de Brasília.
- Sena-Souza, J.P., Houlton, B.Z., Martinelli, L.A., Bielefeld Nardoto, G., 2020. Reconstructing continental-scale variation in soil  $\delta^{15}\text{N}$ : a machine learning approach in South America. *Ecosphere* 11. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3223>
- Still, C.J., Berry, J.A., Collatz, G.J., DeFries, R.S., 2003. Global distribution of C3 and C4 vegetation: Carbon cycle implications. *Global Biogeochem. Cycles* 17. <https://doi.org/10.1029/2001gb001807>
- Still, C.J., Powell, R.L., 2010. Continental-scale distributions of vegetation stable carbon isotope ratios, in: West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P. (Eds.), *Isoscapes: Understanding Movement, Pattern, and Process on Earth Through Isotope Mapping*. pp. 179–194. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3>
- Teixeira, P.C., Donagemma, G.K., Fontana, A., Teixeira, W.G., 2017. Manual de métodos de análise de solo, 3<sup>a</sup> Edição. ed. Brasília - DF.
- Ulloa, C.U., Acevedo-Rodríguez, P., Beck, S., Belgrano, M.J., Bernal, R., Berry, P.E., Brako, L., Celis, M., Davidse, G., Forzza, R.C., Robbert Gradstein, S., Hokche, O., León, B., León-Yáñez, S., Magill, R.E., Neill, D.A., Nee, M., Raven, P.H., Stimmel, H., Strong, M.T., Villaseñor, J.L., Zarucchi, J.L., Zuloaga, F.O., Jørgensen, P.M., 2017. An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science* (80-). 358, 1614–1617. <https://doi.org/10.1126/science.ao0398>
- Vasconcelos, V., 2016. Classificação e Fragmentação das Formas de Terreno na análise do Relevo Tropical. Universidade de Brasília.
- Vasconcelos, V., Carvalho Junior, O.A., Martins, E.S., Couto Junior, A.F., 2015. The Canastra Range: on the way to São Francisco River Spring, in: Vieira, B.C., Salgado, A.A.R., Santos, L.J.C. (Eds.), *Landscape and Landforms of Brazil*. Springer, pp. 349–357. <https://doi.org/http://10.1007/978-94-017-8023-0>
- Vasconcelos, V., Martins, É.D.S., Carvalho Júnior, O.A. de, Marques Júnior, J., Siqueira, D.S., Couto Júnior, A.F., Guimarães, R.F., Gomes, R.A.T., Reatto, A., 2013. Modelo de evolução pedogeomorfológica da Serra Da Canastra, MG. *Rev. Bras. Geomorfol.* 14. <https://doi.org/10.20502/rbg.v14i2.379>
- Wang, L., D'Odorico, P., Ries, L., Macko, S.A., 2010. Patterns and implications of plant-soil  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values in African savanna ecosystems. *Quat. Res.* 73, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2008.11.004>
- West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P., 2010. Isoscapes: understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3>
- Yang, Y., Ji, C., Chen, L., Ding, J., Cheng, X., Robinson, D., 2015. Edaphic rather than climatic controls over  $^{13}\text{C}$  enrichment between soil and vegetation in alpine grasslands on the Tibetan Plateau. *Funct. Ecol.* 29, 839–848. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12393>
- Zhao, Y., Wu, F., Fang, X., Yang, Y., 2017. Altitudinal variations in the bulk organic carbon isotopic composition of topsoil in the Qilian Mountains area, NE Tibetan

Plateau, and its environmental significance. *Quat. Int.* 454, 45–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.quaint.2017.08.045>

## CAPÍTULO 1 – Spatial distribution of soil $\delta^{13}\text{C}$ in the central Brazilian savanna

Glauber das Neves, João Paulo Sena-Souza, Fabio Luis de Souza Santos, Edson Eyji Sano, Gabriela Bielefeld Nardoto, Antonio Felipe Couto Junior

Artigo publicado na revista *Journal of Environmental Management* em Setembro de 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113758>

**Abstract:** Stable carbon isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ) of soil record information regarding  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  plants at the landscape scale that can be used to document vegetation distribution patterns. The Central Brazilian savanna (locally called the Cerrado) has a substantial potential to develop studies of patterns of dynamics and distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$ , due to its environmental diversity. The purpose of this work was to develop a spatial model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  (soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape) to the Cerrado, based on multiple linear regression analysis, and compare the results with the existing model to obtain greater detail of the soil  $\delta^{13}\text{C}$  distribution. The model used 219 soil samples (0–20 cm depth) and a set of climatic, pedological, topographic, and vegetation correlations. The soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model presented amplitude between -29‰ and -13‰, with the highest estimated values in the southern and the lowest values in the northern of the Cerrado. Results indicate that soil  $\delta^{13}\text{C}$ , by reflecting the relative contribution of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  species to plant community productivity, served as a proxy indicator of the vegetation history at the landscape scale for the Central Brazilian savanna. Despite the large sampling effort, there are still regions with some gaps that the model could not estimate. However, the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model filled most the existing gaps and provided greater detail of some unique local aspects of the Cerrado.

**Keywords:** Isoscapes, Stable Isotope, Multiple Regression Analysis, Cerrado

### 1. Introduction

The isotopic ratio of carbon varies systematically across the natural environments. Mapping such spatial variability using spatial models (isoscapes) offers insights into the biogeochemical processes leading to spatial variation in isotopic expressions (West et al., 2010). Isoscapes are also useful tools for tracking wildlife migration (Wunder, 2012). The use of stable carbon isotopes ( $\delta^{13}\text{C}$ ) is widespread in ecological research, mainly for

assessment of the effects of land cover changes on ecosystems (Cerling et al., 1997; Salemi et al., 2016), animal diet (Galetti et al., 2015; Salgado et al., 2014), human diet (Kusaka et al., 2016; Nardoto et al., 2006), and paleoecological reconstruction (Cerling et al., 1989). The relationship between  $\delta^{13}\text{C}$  in soil and plants is usually related to climatic (Peri et al., 2012; Wang et al., 2010; Yang et al., 2015), edaphic (Bai et al., 2012; Yang et al., 2015; Zhao et al., 2017), and topographic characteristics (Li et al., 2009; Pan et al., 2015; Zhao et al., 2017). Plant  $\delta^{13}\text{C}$  is related to the relative contribution of plants to primary productivity through the C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> photosynthetic pathways (Still et al., 2003). Soil  $\delta^{13}\text{C}$  reflects the isotopic composition of the vegetation (Ehleringer et al., 2000) and the influences of litter decomposition, which in turn depends on litter quality, the physical and chemical characteristics of the environment, and decomposer organisms.

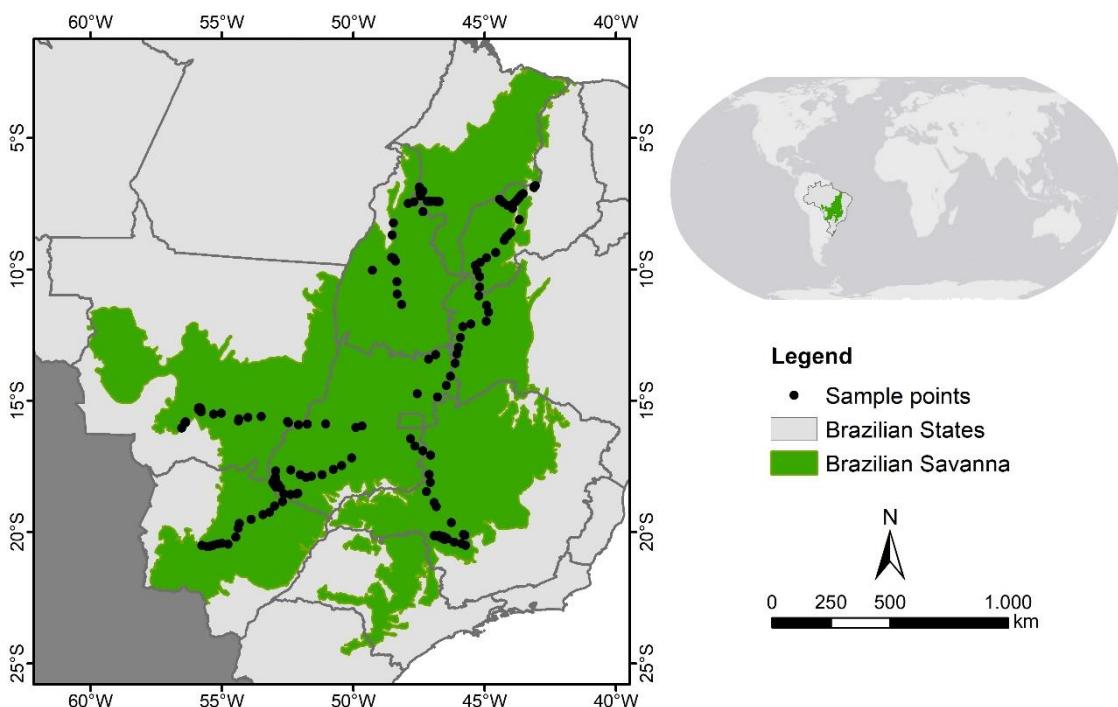
Carbon isoscapes have been presented on different scales. On the global scale, Kaplan et al. (2002) proposed a simulation model of the isotopic carbon composition in the biosphere and pointed out global trends in vegetation composition. On the continental scale, Still and Powell (2010) proposed a workflow to model a  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape by combining percentage maps of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation in Africa. On the local scale, Bai et al. (2009) developed a prediction model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  from altitude and soil texture data, assessing spatial patterns of woodland species invasion in a subtropical savanna in Texas. Finally, Powell et al. (2012) developed a vegetation  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape and presented an estimate of the abundance and distribution of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation for South America. In addition, they used this vegetation  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model to predict soil  $\delta^{13}\text{C}$  values. They observed that the lowest model error was associated with high land cover homogeneity environments, such as the Amazon forest. In contrast, the highest error was heterogeneous coverage (savanna and cultivated areas). These results show the savannas as a region of high uncertainty within the context of the distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  in South America due to the great vegetational and land cover mosaic diversity of this region.

The results of these global and continental models can present an overview of the isotopic distribution at larger scales. However, for better refinement of the results in more detailed scales, the studies must contain samples with greater geographic representation (Sena-Souza et al., 2019). Within this context, the purpose of this work was to develop a spatial model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  (soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape) based on multiple linear regression analysis for the Central Brazilian savanna and compare the results with the model presented by Powell et al. (2012) in order to obtain greater detail of the soil  $\delta^{13}\text{C}$  distribution.

## 2. Methods

### 2.1. Study area

The Central Brazilian savanna (locally named as the Cerrado) is located between the 2°S and 24°S and the 41°W and 60°W (Fig.1.1) and covers 2.04 million km<sup>2</sup> (21%) of the country. The Cerrado is the second largest biome in Brazil after the Amazon, with great biodiversity and landscape heterogeneity (Neves et al., 2020; Silva and Bates, 2002; Silva et al., 2006) and high levels of endemic species (Machado et al., 2004).



**Fig. 1.1.** Cerrado distribution across Brazil showing the correspondent locations of the 219 field sampling points (black dots).

The Cerrado presents a well-defined dry season from April to September and a rainy season from October to March. The average annual rainfall is around 1500 mm year<sup>-1</sup> and is poorly distributed between seasons, with 1200 mm year<sup>-1</sup> concentrated during the rainy season and 300 mm year<sup>-1</sup> concentrated during the dry season. Consequently, the average annual temperature presents high spatial variation. The highest temperatures are found in the northern region, with annual averages between 23 °C and 27 °C while the lowest temperatures are found in the Central-South region, with annual averages between 18 °C and 22 °C (Silva et al., 2008). The vegetation is composed of forests, savannas, and grasses (Ribeiro and Walter, 2008). Forests have a predominant arboreal C<sub>3</sub> stratum. Savanna corresponds to a mosaic of trees, shrubs (C<sub>3</sub> plants), and grasses (mostly C<sub>4</sub>

plants) in different proportions, depending on location in the biome. Approximately 80 million hectares (40%) of this biome have already been converted to some land use, mainly for grain, cattle beef, and energy (biofuel from sugarcane) productions (MAPBIOMAS, 2020; Sano et al., 2010).

## 2.2. Soil sampling and laboratory analysis

A total of 219 soil samples from the Cerrado were collected at the 0–20 cm depth (Fig. 1.1) (for more details, see Supplementary Table S1 and Supplementary Figure S1, available in <https://data.mendeley.com/datasets/fsfv5fwxz/1>). The sites were selected within natural vegetation fragments. One sample was collected per site using a Dutch auger with a 20-centimeter diameter bowl. The soil samples were collected in four national parks (Emas, Serra da Canastra, Chapada das Mesas, and Chapada dos Guimarães), and in natural fragments along major highways within a total distance of approximately 4000 km. The samples were collected between 2017 and 2018 and air-dried, sieved with a 2-millimeter mesh sieve, and screened to remove roots and other coarse organic materials that could influence the isotopic measurements. Sub-samples of 20–30 mg was weighed and packed in tin capsules. Stable carbon isotope ratios were determined by combustion using an elemental analyzer (Carlo Erba, CHN-1100) coupled to a Finnigan DELTAplus (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) mass spectrometer available in the Laboratory of Isotope Ecology, Center for Nuclear Energy in Agriculture (CENA/University of São Paulo), Piracicaba, SP, Brazil. The isotopic ratios were expressed by the following equation (Eq. 1):

$$\delta X (\text{‰}) = \left[ \left( \frac{R_{\text{sample}}}{R_{\text{standard}}} \right) - 1 \right] \times 1000 \quad (1)$$

where  $\delta X$  is the isotopic ratio;  $R_{\text{sample}}$  and  $R_{\text{standard}}$  are the isotopic ratio ( $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$ ) of the samples and standards, respectively.

Isotope ratios are reported in per mil (‰), where  $\delta^{13}\text{C}$  is reported relative to the Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB;  $^{13}\text{C} : ^{12}\text{C}$  ratio = 0.01123720). Internal standards (tropical soil and sugarcane leaves) were routinely interspersed with target samples to correct mass effects and instrumental drift during and between runs. Long-term analytical error for the internal standard is 0.2‰ for  $\delta^{13}\text{C}$ .

### *2.3. Predictor variables*

We used environmental variables related to the soil  $\delta^{13}\text{C}$  spatial patterns reported in the literature to examine the main drivers of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the Cerrado biome. In order to build a soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape from the regression model, all environmental variables considered in this study were obtained from global databases freely available for download in raster format (for more details, see Supplementary Table S2).

#### *2.3.1. Climate variables*

The climatic variables were obtained from the WorldClim 2 dataset (<http://worldclim.org/>) (Hijmans et al., 2005). WorldClim 2 presents 19 climatic parameters related to precipitation and temperature from 1970 to 2000 in a spatial resolution of 1 km. The parameters are: mean annual temperature (MAT), mean diurnal temperature range ( $T_{MDR}$ ), isothermality ( $T_{ISO}$ ), temperature seasonality ( $T_{SEAS}$ ), the maximum temperature of warmest month ( $TMAX_{WARM}$ ), minimum temperature of the coldest month ( $TMIN_{COLD}$ ), the annual range of temperature ( $T_{AR}$ ), mean temperature of the wettest quarter ( $T_{MWeQ}$ ), mean temperature of the driest quarter ( $T_{MDQ}$ ), mean temperature of the warmest quarter ( $T_{MwaQ}$ ), mean temperature of the coldest quarter ( $T_{MCQ}$ ), mean annual precipitation (MAP), precipitation of the wettest month (Pw), precipitation of the driest month (Pd), precipitation seasonality (PSEAS), precipitation of the wettest quarter (PWeQ), precipitation of the driest quarter (PDQ), precipitation of the warmest quarter (PWaQ), and precipitation of the coldest quarter (PCQ). Although the data may not correspond precisely to the current climate data for the Cerrado, we assume that any deviations should be relatively small, considering previous tests that confirm its reliability (Harbert and Nixon, 2015). Furthermore, the relationship between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and the climatic variables is widely accepted (Peri et al., 2012; Wang et al., 2010; Yang et al., 2015).

#### *2.3.2. Soil variables*

Soil data were obtained from the SoilGrids dataset (<http://soilgrids.org/>) (Hengl et al., 2017). SoilGrids presents global models for the physical and chemical properties of the soil in a spatial resolution of 250 meters. We use the following parameters: clay content (CLAY), sand content (SAND), silt content (SILT), bulk density (BD), cation exchange capacity (CEC), soil organic carbon content (SOILocc), organic carbon density (OCD), soil organic carbon stock (SOILocs), soil water content (SOILwc), and soil pH

(SOIL<sub>pH</sub>). The relationship between soil physical and chemical properties has been observed, for example, by Bai et al. (2012), who found a negative relationship between soil δ<sup>13</sup>C and total concentration of soil organic carbon and with sand content, and a positive relationship between soil δ<sup>13</sup>C and silt and clay content in a subtropical forest.

### 2.3.3. Topographic variables

Altitude and slope variables were derived from the digital elevation model (DEM) of the Shuttle Radar Topography Mission (SRTM) project, with a spatial resolution of 90 meters and freely available on the Earth Explorer platform (<http://earthexplorer.usgs.gov>). Pan et al. (2015) observed a positive relationship between the altitude and δ<sup>13</sup>C for some plant species in a subtropical region of eastern China. This positive relationship was also observed in Tibetan plateau soils by Zhao et al. (2017), where the variation in altitude and slope is marked. Li et al. (2009) found a negative relationship between plant δ<sup>13</sup>C and altitudes up to 2000 meters, where plant growth is limited by rainfall shortage, and a positive relationship above 2000 meters, where plants grow with lower restriction of humidity.

### 2.3.4. Vegetation variables

The vegetation variables were obtained from the Copernicus Global Land Service dataset (CGLS) (<http://land.copernicus.eu/global/>) (Baret et al., 2013; Camacho et al., 2013). CGLS provides a series of global data referring to vegetation, water cycle, energy balance, and terrestrial cryosphere, with a spatial resolution of 1 km. The following vegetation variables were used: fraction of absorbed photosynthetically active radiation (FAPAR), fraction of free vegetation cover (FCOVER), leaf area index (LAI), mean normalized difference vegetation index (NDVI) (period: 1999–2007), mean NDVI from April (NDVI<sub>AP</sub>), and mean NDVI from September (NDVI<sub>SEP</sub>).

Gross primary productivity data (GPP) were obtained from the Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer sensor (MODIS17) product, with a spatial resolution of 500 meters. The selected time series were composed of images obtained every eight days between 2000 and 2016. The time series was filtered using median filter, Minimum Noise Fraction (MNF), and inverse transformation of MNF, according to the methodological approach proposed by Carvalho Júnior et al. (2012), to mitigate the atmospheric effects. Those indices were used following the same principles used in the spatial models of Still and Powell (2010) and Powell et al. (2012).

## *2.4. Modeling*

### *2.4.1. Data analysis*

A linear correlation test between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and all environmental variables was performed to identify nonsignificant correlations that the multiple linear regression model could not detect. All covariates with a statistically significant correlation ( $p < 0.05$ ) determined by Spearman's correlation coefficient were selected. Environmental variables were grouped in climate, soil, vegetation, and topographic variables to avoid including unnecessary predictor variables in the model. Each group was tested for multicollinearity by using correlation matrices and Pearson's coefficient of correlation. The pairs of variables that showed a high correlation coefficient ( $r > 0.70$ ) were removed from the selection. Then, the procedure was repeated for all selected variables from the groups. Finally, simple linear regression analyses were performed to describe the individual influence of some environmental variables on the soil  $\delta^{13}\text{C}$ .

The dataset was divided, randomly, in training (75%,  $n = 165$ ) and validation (25%,  $n = 54$ ). The training dataset was used to fit a multiple regression model and generate the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape. The validation dataset was used in the isoscape validation step. A stepwise procedure was applied. First, a regression model was fitted with all previously selected variables. Then, an F-test at  $p < 0.05$  was performed to evaluate the model significance. The final model was performed with the significant variables in the first model and was chosen based on Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1974).

### *2.4.2. Isoscape fit and model validation*

The coefficient estimate from a multiple linear regression model was used to map the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape. All raster data were resampled to a spatial resolution of 1 km before applying the regression equation. The predicted  $\delta^{13}\text{C}$  values less than -29‰ and greater than -13‰ were excluded, considering, in the final model, only the range of  $\delta^{13}\text{C}$  values observed in the dataset.

A simple linear regression was performed between the predicted values and the observed values from the testing dataset for the model validation. In addition, an independent dataset of soil  $\delta^{13}\text{C}$  from the literature was tested against predicted values, indicating the ability of the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape to represent independent samples. To test how far the slope of the data is from the desired slope of 1, we standardize the variables using the  $z$ -score, to force the intercept to 0 and run the linear model using the `offset()` function in R. Shapiro-Wilk test and Moran's Index assessed the normality and spatial

autocorrelation of the residuals from the training dataset. All analyses were performed in R version 4.0.5 (R Core Team, 2018). The soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape was visually compared to the model published by Powell et al. (2012).

### 3. Results

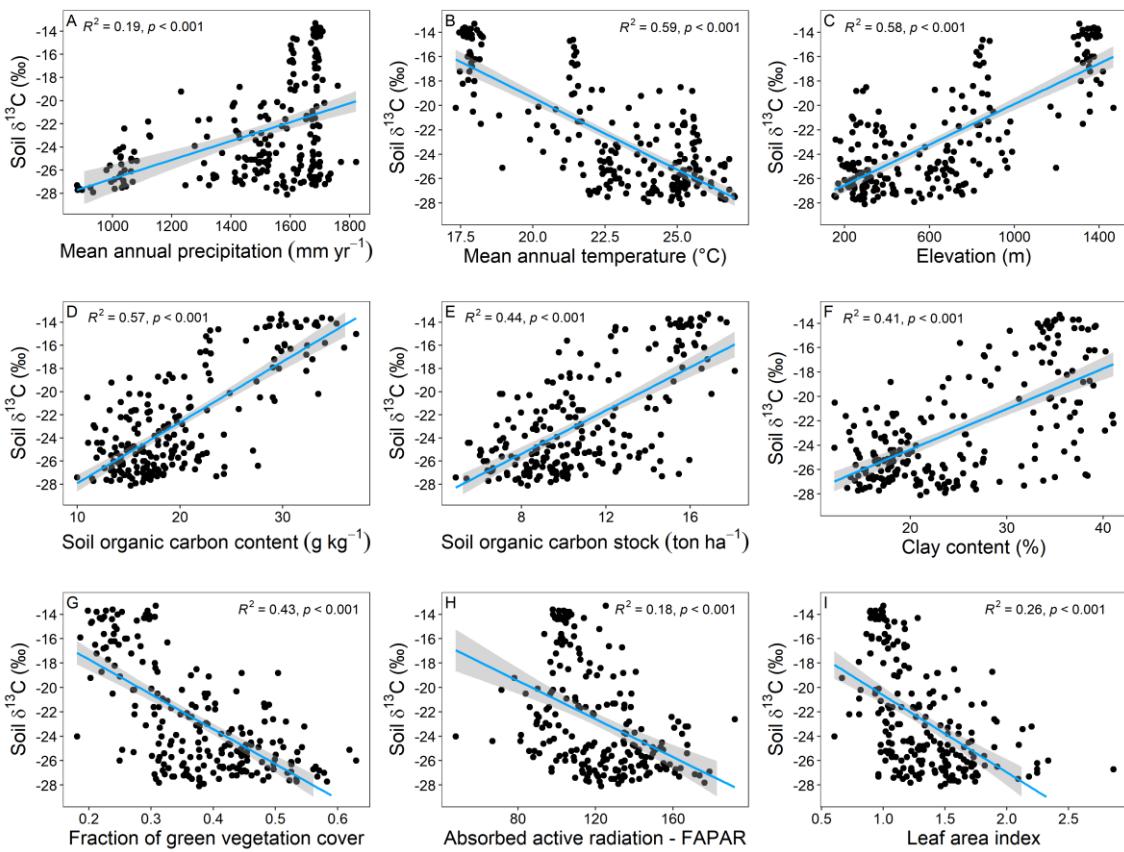
#### 3.1. Variables selection

According to the Shapiro-Wilk test, the data presented a nonnormal distribution ( $p < 0.05$ ), which was expected due to the natural relative distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  values between C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> photosynthetic pathways (Supplementary Figure S2).

Our dataset represented a wide range of climatic patterns in the Cerrado biome. We also observed a representative cover of our dataset regarding soil and vegetation characteristics (Supplementary Figure S3).

The first linear correlation analysis excluded four environmental covariates that presented nonsignificant correlations ( $p > 0.05$ ) with soil  $\delta^{13}\text{C}$  determined by Spearman's correlation coefficient: SOILWC, TAR, PSEAS, and slope (for more details, see Supplementary Figure S4). Next, from the correlation matrix, we selected environmental covariates that were independent. Those covariates that were highly correlated were excluded from the model. In this stage, 14 environmental covariates were selected: FAPAR, NDVI<sub>AP</sub>, NDVI<sub>SEP</sub>, FCover, CEC, SOIL<sub>OC</sub>, SOIL<sub>pH</sub>, SAND, TMDR, Tiso, MAP, PDQ, GPP, and Altitude (for more details, see Supplementary Figures S5 and S6).

The linear regression analysis showed the main relationships between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and environmental covariates. The variables were separated into four groups: climate, topography, soil, and vegetation. In figure 2, we show the linear relationship between our data and some strategic predictive variables (Fig. 1.2). Among the climate variables, MAP had a positive relationship ( $R^2 = 0.19, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2A), MAT had a negative relationship ( $R^2 = 0.59, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2B). Among the topographical variables, altitude presented a positive relationship ( $R^2 = 0.58, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2C). All soil-related variables showed a positive relationship with soil  $\delta^{13}\text{C}$ : SOIL<sub>OC</sub> ( $R^2 = 0.57, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2D), SOIL<sub>OC</sub> ( $R^2 = 0.44, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2E), and CLAY ( $R^2 = 0.41, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2F). On the other hand, all vegetation-related variables showed negative relationship with soil  $\delta^{13}\text{C}$ : FCover ( $R^2 = 0.43, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2G), FAPAR ( $R^2 = 0.18, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2H), and LAI ( $R^2 = 0.26, p < 0.001$ ) (Fig. 1.2I).



**Fig. 1.2.** Simple linear regression between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and mean annual precipitation (A), mean annual temperature (B), altitude (C), soil organic carbon content (D), soil organic carbon stock (E), clay content (F), fraction of green vegetation cover (G), fraction of absorbed photosynthetically active radiation (H), and leaf area index (I). Climatic variables (A and B) are from the WordClim 2 database; topographic variable (C) is from SRTM data; soil variables (D, E, and F) are from the SoilGrid database; vegetation variables (G, H, and I) are from the Copernicus database. Blue line is the regression line. Grey space represents 95% confidence interval.

### 3.2. Multiple linear regression

Multiple linear regression analysis between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and selected environmental covariates showed that P<sub>DQ</sub>, T<sub>ISO</sub>, FCover, FAPAR, SOILocs, and Altitude presented a satisfactory level of significance for the model ( $p < 0.05$ ) and an AIC value of 260.64 (for more details, see Supplementary Table S3 and Supplementary Figure S7).

We performed a second round of multiple linear regression analysis and the F-test with these variables. All variables remained with significant relationships with the soil  $\delta^{13}\text{C}$  ( $p < 0.05$ ). The AIC value of 255.42 indicated the best adjustment of the model compared to the model with all selected covariates. The equation to generate the isoscape

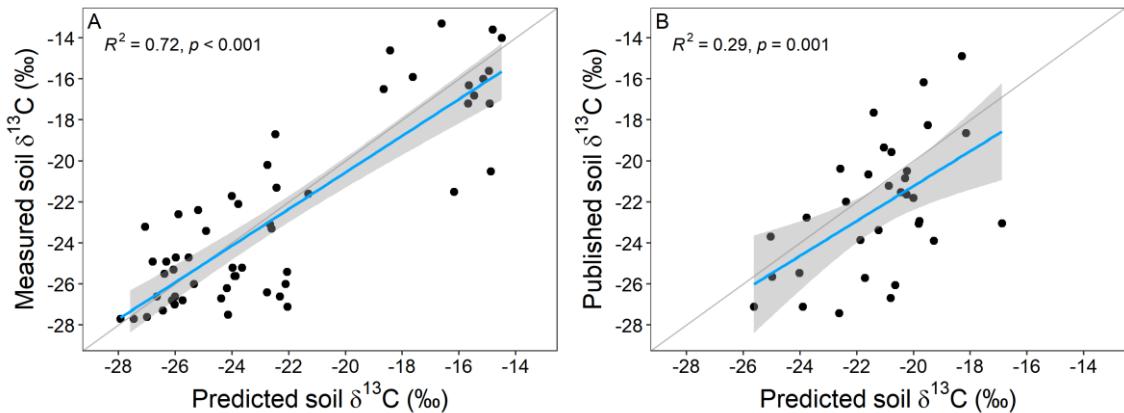
model was calculated from the estimated value of the covariates and the intercept obtained in the multiple linear regression analysis (Table 1.1).

**Table 1.1.** Statistical summary of multiple linear regression model and F-test. DF = degrees of freedom, SS = Residual Sum of Squares, AIC = Akaike Information Criterion, F = F-test, p = level of significance. F = 86.03; R<sup>2</sup> = 0.76; and p < 0.001.

Source	Estimate	Std. Error	DF	SS	RSS	AIC	F	p
Model					714.76	255.42		
(Intercept)	-1378	6.063	1					
P <sub>DQ</sub>	0.027	0.007	1	77.31	792.07	270.26	16.98	< 0.001
T <sub>ISO</sub>	-0.284	0.085	1	50.36	765.12	264.59	11.06	< 0.01
FCOVER	-5.204	2.347	1	22.38	737.14	258.48	4.915	< 0.05
FAPAR	-0.059	0.008	1	221.65	936.41	297.72	48.69	< 0.001
SOIL <sub>OCs</sub>	0.296	0.076	1	68.60	783.36	268.45	15.07	< 0.001
Altitude	0.004	0.001	1	165.22	897.98	287.52	36.29	< 0.001

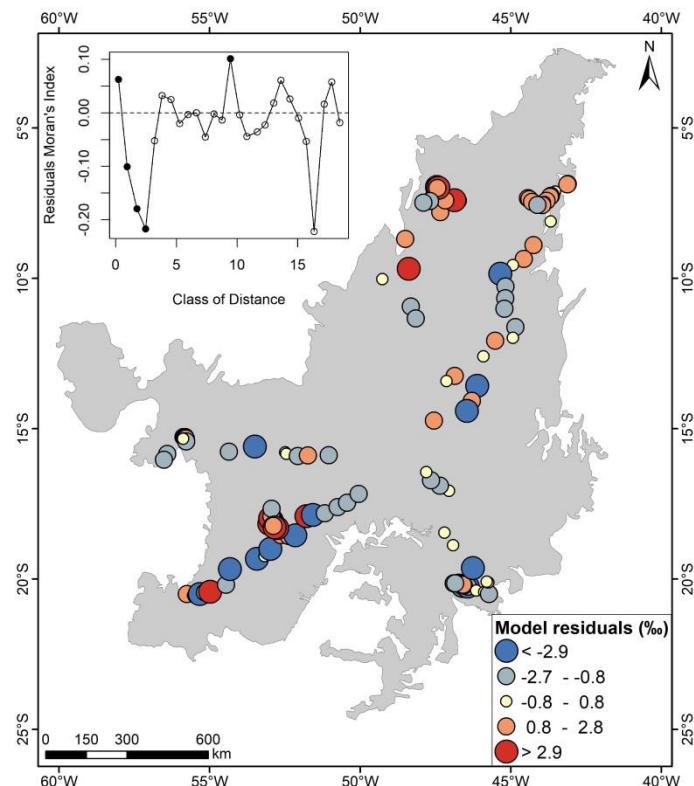
### 3.3. Soil $\delta^{13}\text{C}$ isoscape and model validation

The linear regression between the measured and the predicted soil  $\delta^{13}\text{C}$  from the testing database showed a significant relationship ( $p < 0.001$ ), and  $R^2 = 0.72$  (Fig. 1.3A). Considering the points from the literature, the relationship between estimated and observed  $\delta^{13}\text{C}$  values decreased, but it remained significant ( $R^2 = 0.29$  and  $p < 0.001$ ) (Fig. 1.3B)



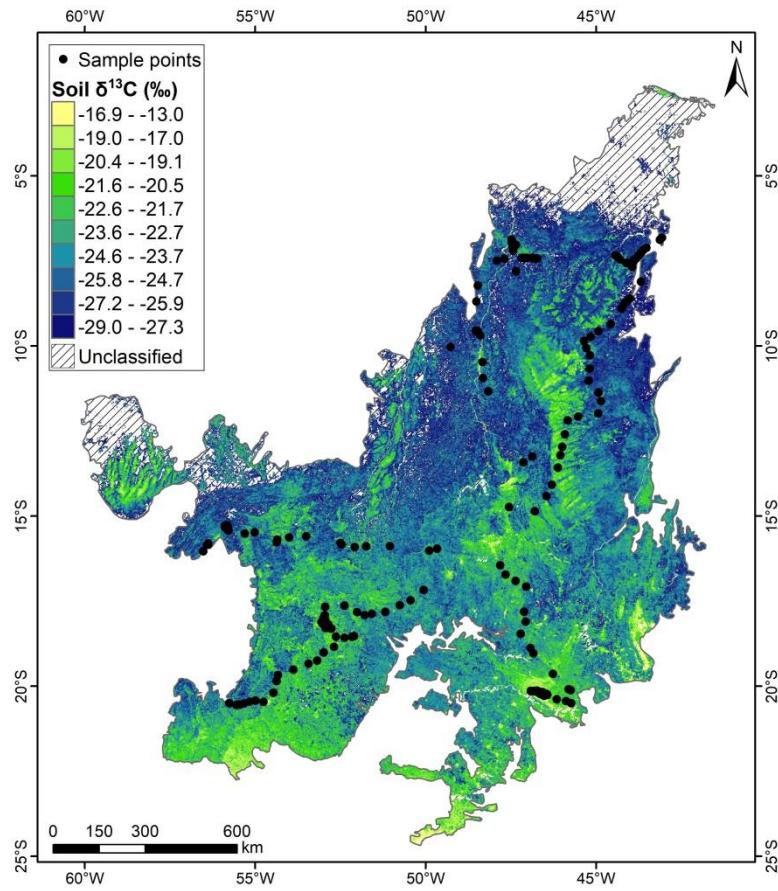
**Fig. 1.3.** Scatterplot of the simple linear regression between the measured  $\delta^{13}\text{C}$  values and the testing database (A) (slope distance 1:1 – Estimate = -0.1492 p-value = 0.046), and with the independent points taken from the literature (Assad et al., 2013; Coletta et al., 2009; Nardoto, 2005; Parron et al., 2004) (B) (slope distance 1:1 – Estimate = -0.4573 p-value = 0.005). Gray line represents the 1:1 line. Blue line represents regression line. Grey space represents 95% confidence interval.

The Shapiro-Wilk test showed normal distribution of residuals ( $W = 0.99$ ,  $p$ -value = 0.70). Additionally, the residuals did not present a distance pattern of Moran's index, indicating no spatial autocorrelation. That pattern is confirmed by the spatial correlogram of the Moran's index and the bubble map of residuals showing no visible spatial structure (Fig. 1.4).



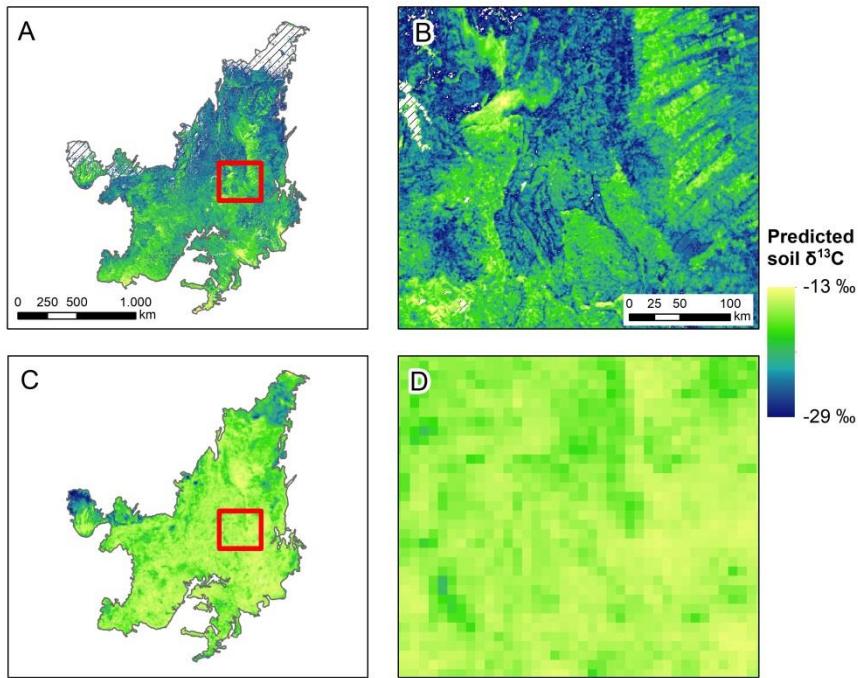
**Fig. 1.4.** Bubble map of soil  $\delta^{13}\text{C}$  residuals for training dataset plotted over the Cerrado biome boundary. In upper-left corner, the plot shows correlogram with Moran's I test for different distance classes, indicating no spatial autocorrelation.

The soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model ranged between  $-29\text{\textperthousand}$  and  $-13\text{\textperthousand}$ , with the highest estimated values in the south and the lowest estimated values in the north of the Cerrado. Slanted striped-line areas of the map indicate unclassified regions due to limitations of our sampled points (Fig. 1.5).



**Fig. 1.5.** Isoscape modeled from soil  $\delta^{13}\text{C}$  for the Cerrado. The black dots represent the sampled points. The slanted striped-line zones represent regions where the model was unable to estimate values of soil  $\delta^{13}\text{C}$ .

Compared to the model presented by Powell et al. (2012), our model was able to present a more heterogeneous isotopic distribution and to represent regional characteristics in the distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the Cerrado (Fig. 1.6). Powell et al. (2012) showed a distribution with little variation in soil  $\delta^{13}\text{C}$ , with higher concentration of values between  $-15\text{\textperthousand}$  and  $-13\text{\textperthousand}$ . Our model was able to represent a greater range of soil  $\delta^{13}\text{C}$ , where we were able to estimate values between  $-29\text{\textperthousand}$  and  $-13\text{\textperthousand}$ .



**Fig. 1.6.** Comparison between model presented in this study (A) and the model proposed by Powell et al. (2012) (C). The red square represents the spatial cutout used to view more detailed aspects of the model in the present work (B) and the model by Powell et al. (2012) (D).

#### 4. Discussion

The soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model in this study shows that the values decrease from south to north. Our sampled points did not consider agricultural areas, making it impossible for us to directly relate our soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape with agricultural regions. However, the expansion of agricultural activities in the Cerrado occurred preferentially in high and flat plateaus, from the south to the north direction (MAPBIOMAS, 2020; Sano et al., 2010) (the Cerrado landcover map can be viewed in Supplementary Figure S8). These areas have similar environmental characteristics to the areas where the highest  $\delta^{13}\text{C}$  values ( $>-18\text{\textperthousand}$ ) in our database are concentrated. That is why the regions presenting the highest values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  are coincident with the regions with agricultural activities.

Our model incorporated climatic, topographical, pedological, and vegetation aspects as environmental covariates. We obtained a positive correlation between  $\delta^{13}\text{C}$  and altitude. The landscape position is an element that determines patterns of vegetation distribution (Arruda et al., 2015). This behavior was also observed by Zhao et al. (2017), who showed a relationship between altitude and soil  $\delta^{13}\text{C}$ , in addition to the fact that the types of vegetation were conditioned by variation of altitude in the Tibetan plateau of

China. Liu et al. (2007) identified relationships between precipitation, altitude and  $\delta^{13}\text{C}$  and their implications for carbon discrimination in different types of topography in Ethiopia, Africa.

Soil water availability and atmospheric pressure are major factors that influence carbon isotope fractionation (Cernusak et al., 2013). Those variables are strongly correlated with the climatic variables, which are linked to the carbon isotope fractionation. Mean annual precipitation and temperature influence the stomatal opening and the discrimination of  $^{13}\text{C}$  by plants (Ehleringer and Monson, 1993). Previous studies have shown that  $\delta^{13}\text{C}$  correlates negatively with precipitation (Peri et al., 2012; Rao et al., 2017; Wang et al., 2010) and temperature (Li et al., 2009; Pan et al., 2015; Yang et al., 2015). However, our results show a unique positive correlation between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and precipitation. This behavior is probably being influenced by the predominant C<sub>4</sub> plants but also by some environmental characteristics of the regions where the points with  $\delta^{13}\text{C}$  values higher than -18‰ were reported. These regions are covered basically with high diversity and abundance of C<sub>4</sub> grasses (Fernandes, 2016; Fernandes et al., 2018), altitude above 1000 meters, lower temperatures, and higher precipitation compared with other Cerrado regions.

Our results also showed a positive correlation with the soil carbon stock. Some studies have shown an inverse relationship to what we found (Bai et al., 2012; Luo et al., 2009). In addition to the topographic characteristics and vegetation associated with the regions mentioned above, the positive relationship can be influenced by the global models used in the modeling. SoilGrids modeled the global surface of soil carbon stock from a set of environmental variables, including precipitation (Hengl et al., 2017). In this model, the estimated values for tropical regions may suffer interference from the extreme values found in very arid and very humid regions.

Both FAPAR and FCover are related to biomass, which in turn, influences the distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  values from the contribution of plants to primary productivity (Still et al., 2003). That is why is essential to include vegetation variables  $\delta^{13}\text{C}$  spatial models. This can be observed in studies that used data referring to vegetation cover proportion, land cover map, and vegetation indices to generate layers with estimates of percentage C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation, which later fed a  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model for South America (Powell et al., 2012) and Africa (Still and Powell, 2010).

Our isoscape was able to explain 72% ( $p < 0.05$ ) of the variation of the observed soil  $\delta^{13}\text{C}$  from the testing subset. This explanation decreased to 29% when compared to

the data from the literature. We expected a lower explanation since these data are averages of sampling units with different analytical approaches. Still, our isoscape showed a significant relationship with the independent data ( $p < 0.05$ ), indicating a good spatial representation of soil  $\delta^{13}\text{C}$ . However, this decreases in  $R^2$  with independent data shows the need for increasing sample density in the Cerrado better to represent the spatial distribution of the soil  $\delta^{13}\text{C}$ .

Compared to the model presented by Powell et al. (2012), our model was able to show greater detail of the distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  values in the Cerrado. As much as the results present a good representation of the spatial distribution of  $\delta^{13}\text{C}$  isotopic values of South America, savanna was identified as a region of uncertainty. This is due to Cerrado vegetation is composed of plants  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$ , making prediction difficult in an average value assignment model. In our model, the use of measured isotopic data in the soil over a wide geographic range help in detailing the distribution aspects of  $\delta^{13}\text{C}$  values because the soil  $\delta^{13}\text{C}$  represents this composition of the diversity of vegetation types present in different positions in the landscape. Another factor for the detailing is the spatial resolution of the input data. Powell et al. (2012) used data with spatial resolution between 500 meters and 10 minutes (approximately 18.5 kilometers). We used a dataset of predictor variables with spatial resolution between 250 meters and 1 kilometer.

## 5. Conclusion

The soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model in the Cerrado presented the highest values of  $\delta^{13}\text{C}$  in the south and the lowest values in the north. The combination of climatic, topographic, soil, and vegetation variables explained the spatial distribution of the  $\delta^{13}\text{C}$  in the soil.

The  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model filled an existing gap in the literature and provided greater details on the local aspects of the Cerrado. However, despite the time-demanding sampling effort, there are still regions with information gaps that the model could not be estimated. A future challenge for this approach is to incorporate information on land use for the best elaboration of studies that integrate natural and anthropic environments.

The results contribute to improve the detail of the spatial distribution of the soil  $\delta^{13}\text{C}$  for the Brazilian savanna. Together with isoscapes of other stable isotopes used in environmental studies, they can serve as a tool bringing a new dimension to neotropical community ecology. Modeling the spatial differences on the consequence in the soil due to the relative abundance of  $\text{C}_3$  and  $\text{C}_4$  might help elucidate soil biological processes on

a regional scale based on the recognition of the intrinsic information held within the observed patterns soil  $\delta^{13}\text{C}$  across the Cerrado landscapes.

## Acknowledgment

Glauber das Neves received a doctoral scholarship from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil (CAPES), Finance Code 001. The fieldwork and laboratory analysis were financed by the project number 23038.006832/2014-11-Edital CAPES 25/2014 – Pró-ForeNSE.

## References

- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19, 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- Arruda, D.M., Schaefer, C.E.G.R., Corrêa, G.R., Rodrigues, P.M.S., Duque-Brasil, R., Ferreira-JR, W.G., Oliveira-Filho, A.T., 2015. Landforms and soil attributes determine the vegetation structure in the Brazilian semiarid. *Folia Geobot.* 50, 175–184. <https://doi.org/10.1007/s12224-015-9221-0>.
- Assad, E.D., Pinto, H.S., Martins, S.C., Groppo, J.D., Salgado, P.R., Evangelista, B., Vasconcellos, E., Sano, E.E., Pavão, E., Luna, R., Camargo, P.B., Martinelli, L.A., 2013. Changes in soil carbon stocks in Brazil due to land use: paired site comparisons and a regional pasture soil survey. *Biogeosciences* 10, 6141–6160. <https://doi.org/10.5194/bg-10-6141-2013>.
- Bai, E., Boutton, T.W., Wu, X.B., Liu, F., Archer, S.R., 2009. Landscape-scale vegetation dynamics inferred from spatial spatters of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in a subtropical savanna parkland. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 114, G01019. <https://doi.org/10.1029/2008JG000839>.
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, X. Ben, Hallmark, C.T., Archer, S.R., 2012. Spatial variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and its relation to carbon input and soil texture in a subtropical lowland woodland. *Soil Biol. Biochem.* 44, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.013>.
- Baret, F., Weiss, M., Lacaze, R., Camacho, F., Makhmara, H., Pacholczyk, P., Smets, B., 2013. GEOV1: LAI and FAPAR essential climate variables and FCOVER global time series capitalizing over existing products. Part 1: Principles of development and production. *Remote Sens. Environ.* 137, 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2012.12.027>.
- Camacho, F., Cernicharo, J., Lacaze, R., Baret, F., Weiss, M., 2013. GEOV1: LAI, FAPAR essential climate variables and FCOVER global time series capitalizing over existing products. Part 2: Validation and intercomparison with reference products. *Remote Sens. Environ.* 137, 310–329.

<https://doi.org/10.1016/j.rse.2013.02.030>.

- Carvalho Júnior, O.A., Silva, N.C., Carvalho, A.P.F., Couto Júnior, A.F., Silva, C.R., Shimabukuro, Y.E., Guimarães, R.F., Gomes, R.A.T. 2012. Combining noise-adjusted principal components transform and median filter techniques for denoising MODIS temporal signatures. *Rev. Bras. Geof.* 30, 147–157. <http://dx.doi.org/10.22564/rbgf.v30i2.88>.
- Cerling, T.E., Quade, J., Wang, Y., Bowman, J.R., 1989. Carbon isotopes in soils and palaeosols as ecology and palaeoecology indicators. *Nature* 341, 138–139. <https://doi.org/10.1038/341138a0>.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389, 153–158. <https://doi.org/10.1038/38229>.
- Cernusak, L.A., Ubierna, N., Winter, K., Holtum, J.A.M., Marshall, J.D., Farquhar, G.D., 2013. Environmental and physiological determinants of carbon isotope discrimination in terrestrial plants. *New Phytol.* 200, 950–965. <https://doi.org/10.1111/nph.12423>.
- Coletta, L.D., Nardoto, G.B., Latansio-Aidar, S.R., Rocha, H.R., Aidar, M.P.M., Ometto, J.P.H.B., 2009. Isotopic view of vegetation and carbon and nitrogen in a cerrado ecosystem, southeastern Brazil. *Sci. Agric.*, 66, 467–475. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162009000400006>.
- Ehleringer, J.R., Monson, R.K., 1993. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24, 411–439. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.002211>.
- Ehleringer, J.R., Buchmann, N., Flanagan, L.B., 2000. Carbon isotope ratios in belowground carbon cycle processes. *Ecol. Appl.* 10, 412–422. <https://doi.org/10.2307/2641103>.
- Fernandes, G.W., 2016. Ecology and Conservation of Mountaintop Grasslands in Brazil. Springer, Switzerland.
- Fernandes, G.W., Barbosa, N.P.U., Alberton, B., Barbieri, A., Dirzo, R., Goulart, F., Guerra, T.J., Morellato, L.P.C., Solar, R.R.C., 2018. The deadly route to collapse and the uncertain fate of Brazilian rupestrian grasslands. *Biodivers. Conserv.* 27, 2587–2603. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1556-4>.
- Galetti, M., Guevara, R., Neves, C.L., Rodarte, R.R., Bovendorp, R.S., Moreira, M., Hopkins, J.B., Yeakel, J.D., 2015. Defaunation affect population and diet of rodents in Neotropical rainforests. *Biol. Conserv.* 190, 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.032>.
- Harbert, R.S., Nixon, K.C., 2015. Climate reconstruction analysis using coexistence likelihood estimation (CRACLE): a method for the estimation of climate using

vegetation. *Am. J. Bot.* 102, 1277–1289. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400500>.

Hengl, T., Jesus, J.M., Heuvelink, G.B.M., Gonzalez, M.R., Kilibarda, M., Blagotić, A., Shangguan, W., Wright, M.N., Geng, X., Bauer-Marschallinger, B., Guevara, M.A., Vargas, R., MacMillan, R.A., Batjes, N.H., Leenaars, J.G.B., Ribeiro, E., Wheeler, I., Mantel, S., Kempen, B., 2017. SoilGrids250m: global gridded soil information based on machine learning. *PLoS ONE*, 12, e0169748. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169748>.

Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 25, 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>.

Kaplan, J.O., Prentice, I.C., Buchmann, N., 2002. The stable carbon isotope composition of the terrestrial biosphere: modeling at scales from the leaf to the globe. *Glob. Biogeochem. Cycles* 16, 1060. <https://doi.org/10.1029/2001gb001403>.

Kusaka, S., Ishimaru, E., Hyodo, F., Gakuhami, T., Yoneda, M., Yumoto, T., Tayasu, I., 2016. Homogeneous diet of contemporary Japanese inferred from stable isotope ratios of hair. *Sci. Rep.* 6, 33122. <https://doi.org/10.1038/srep33122>.

Li, J., Wang, G., Liu, Xianzhao, Han, J., Liu, M., Liu, Xiaojuan, 2009. Variations in carbon isotope ratios of C<sub>3</sub> plants and distribution of C<sub>4</sub> plants along an altitudinal transect on the eastern slope of Mount Gongga. *Sci. China Ser. D: Earth Sci.* 52, 1714–1723. <https://doi.org/10.1007/s11430-009-0170-4>.

Liu, X., Zhao, L., Gasaw, M., Gao, D., Qin, D., Ren, J., 2007. Foliar δ<sup>13</sup>C and δ<sup>15</sup>N values of C<sub>3</sub> plants in the Ethiopia Rift Valley and their environmental controls. *Chinese Sci. Bull.* 52, 1265–1273. <https://doi.org/10.1007/s11434-007-0165-5>.

Luo, T., Zhang, L., Zhu, H., Daly, C., Li, M., Luo, J., 2009. Correlations between net primary productivity and foliar carbon isotope ratio across a Tibetan ecosystem transect. *Ecography*, 32, 526–538. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2008.05735.x>.

Machado, R.B., Ramos Neto, M.B., Pereira, P.G.P., Caldas, E.F., Gonçalves, D.A., Santos, N.S., Tabor, K., Steininger, M., 2004. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. *Conservação Internacional*, Brasília, Brazil.

MAPBIOMAS, 2020. Coleção v 4.0 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso do Solo do Brasil [WWW Document]. URL <http://plataforma.mapbiomas.org/map#coverage> (accessed 2 June 2020).

Nardoto, G.B., 2005. Abundância natural de <sup>15</sup>N na Amazônia e Cerrado - implicações para a ciclagem de nitrogênio. Ph.D. dissertation, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil. <https://doi.org/10.11606/T.91.2005.tde-30012006-155758>.

Nardoto, G.B., Silva, S., Kendall, C., Ehleringer, J.R., Chesson, L.A., Ferraz, E.S.B., Moreira, M.Z., Ometto, J.P.H.B., Martinelli, L.A., 2006. Geographical patterns of

human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. *Am. J. Phys. Anthropol.* 131, 137–146. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20409>.

Neves, D.M., Dexter, K.G., Baker, T.R., Souza, F.C., Oliveira-Filho, A.T., Queiroz, L.P., Lima, H.C., Simon, M.F., Lewis, G.P., Segovia, R.A., Arroyo, L., Reynel, C., Marcelo-Peña, J.L., Huamantupa-Chuquimaco, I., Villarroel, D., Parada, G.A., Daza, A., Linares-Palomino, R., Ferreira, L.V., Salomão, R.P., Siqueira, G.S., Nascimento, M.T., Fraga, C.N., Pennington, R.T., 2020. Evolutionary diversity in tropical tree communities peaks at intermediate precipitation. *Sci. Rep.* 10, 1188. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55621-w>.

Pan, S., Zhang, W., Zhao, M., Li, Y., Xu, S., Wang, G., 2015. Altitude patterns of leaf carbon isotope composition in a subtropical monsoon forest. *Polish J. Ecol.* 64, 178–188. <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2016.64.2.003>.

Parron, L.M., Bustamante, M.M.C., Camargo, P.B. 2004. Composição isotópica de carbono e nitrogênio em solos e plantas de uma mata de galeria: efeito do gradiente topográfico. Embrapa Cerrados, Planaltina, Brazil (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 127).

Peri, P.L., Ladd, B., Pepper, D.A., Bonser, S.P., Laffan, S.W., Amelung, W., 2012. Carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) stable isotope composition in plant and soil in Southern Patagonia's native forests. *Glob. Chang. Biol.* 18, 311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02494.x>.

Powell, R.L., Yoo, E.-H., Still, C.J., 2012. Vegetation and soil carbon-13 isoscapes for South America: integrating remote sensing and ecosystem isotope measurements. *Ecosphere*, 3, 109. <https://doi.org/10.1890/es12-00162.1>.

R Core Team, 2018. R: a language and environment for statistical computing. Viena, Austria. <https://www.r-project.org/>.

Rao, Z., Guo, W., Cao, J., Shi, F., Jiang, H., Li, C., 2017. Relationship between the stable carbon isotopic composition of modern plants and surface soils and climate: a global review. *Earth-Science Rev.* 165, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.12.007>.

Ribeiro, J.F., Walter, B.M.T., 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado, in: Sano, S.M.; Almeida, S.P., Ribeiro, J.F. (Eds.), Cerrado: Ecologia e Flora. Embrapa Cerrados, Planaltina, Brazil, pp. 151–199.

Salemi, L.F., Rafaela, S., Lins, M., Ravagnani, E.D.C., Frosini, S., Ferraz, D.B., Martinelli, L.A., 2016. Past and present land use influences on tropical riparian zones: an isotopic assessment with implications for riparian forest width determination. *Biota Neotrop.* 16, e20150133. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2015-0133>.

Salgado, S.S., Motta, P.C., Aguiar, L.M.S., Nardoto, G.B., 2014. Tracking dietary habits of cave arthropods associated with deposits of hematophagous bat guano: a study

- from a neotropical savanna. *Austral Ecol.* 39, 560–566. <https://doi.org/10.1111/aec.12116>.
- Sano, E.E., Rosa, R., Brito, J.L.S., Ferreira, L.G., 2010. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 166, 113–124. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-0988-4>.
- Sena-Souza, J.P., Costa, F.J.V., Nardoto, G.B., 2019. Background and the use of isoscapes in the Brazilian context: essential tool for isotope data interpretation and natural resource management. *Rev. Ambient. Água* 14, e2282. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2282>.
- Silva, J.M.C., Bates, J.M., 2002. Biogeographics patterns and conservation in the South American Cerrado: a tropical savanna hotspot. *BioScience* 52, 225–233. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0225:bpacit\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0225:bpacit]2.0.co;2).
- Silva, J.F., Fariñas, M.R., Felfili, J.M., Klink, C.A., 2006. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. *J. Biogeogr.* 33, 536–548. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2005.01422.x>.
- Silva, F.A.M., Assad, E.D., Evangelista, B.A., 2008. Caracterização climática do Bioma Cerrado, in: Sano, S.M., Almeida, S.P., Ribeiro, J.F. (Eds.), Cerrado: Ecologia e Flora. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Brazil, pp. 69–88.
- Still, C.J., Powell, R.L., 2010. Continental-scale distributions of vegetation stable carbon isotope ratios, in: West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P. (Eds.), Isoscapes: Understanding Movement, Pattern, and Process on Earth Through Isotope Mapping, Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 179–194.
- Still, C.J., Berry, J.A., Collatz, G.J., DeFries, R.S., 2003. Global distribution of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation: carbon cycle implications. *Global Biogeochem. Cycles* 17, 1006. <https://doi.org/10.1029/2001gb001807>.
- Wang, L., D'Odorico, P., Ries, L., Macko, S.A., 2010. Patterns and implications of plant-soil δ<sup>13</sup>C and δ<sup>15</sup>N values in African savanna ecosystems. *Quat. Res.* 73, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2008.11.004>.
- West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P., 2010. Isoscapes: understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Wunder, M.B., 2012. Determining geographic patterns of migration and dispersal using stable isotopes in keratins. *J. Mammal.* 93, 360–367. <https://doi.org/10.1644/11-MAMM-S-182.1>.
- Yang, Y., Ji, C., Chen, L., Ding, J., Cheng, X., Robinson, D., 2015. Edaphic rather than climatic controls over <sup>13</sup>C enrichment between soil and vegetation in alpine grasslands on the Tibetan Plateau. *Funct. Ecol.* 29, 839–848. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12393>.

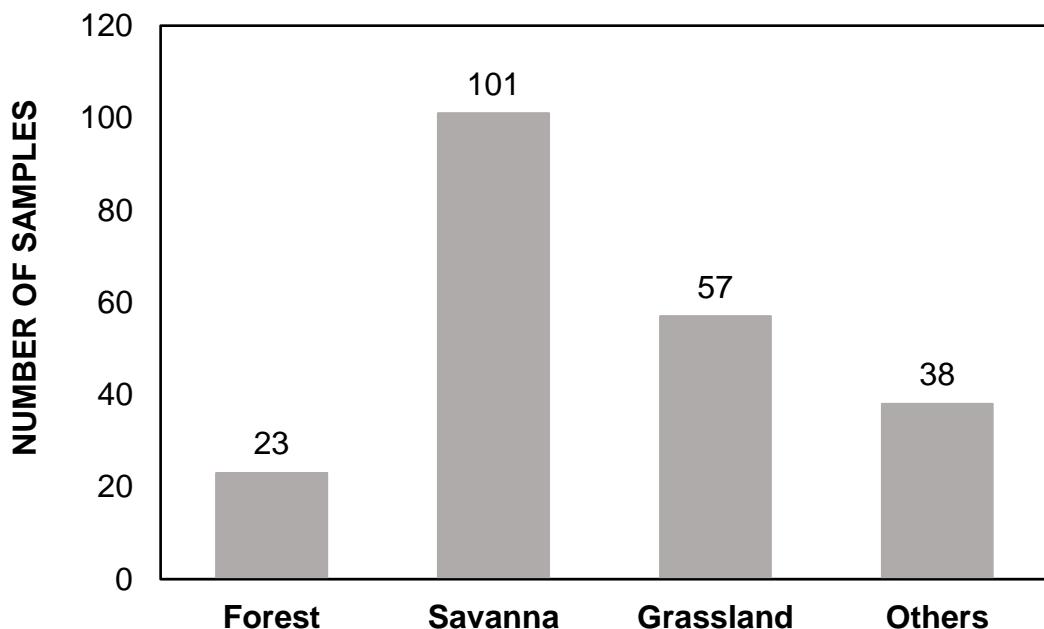
Zhao, Y., Wu, F., Fang, X., Yang, Y., 2017. Altitudinal variations in the bulk organic carbon isotopic composition of topsoil in the Qilian Mountains area, NE Tibetan Plateau, and its environmental significance. *Quat. Int.* 454, 45–55.  
<https://doi.org/10.1016/j.quaint.2017.08.045>.

## MATERIAL SUPPLEMENTAR

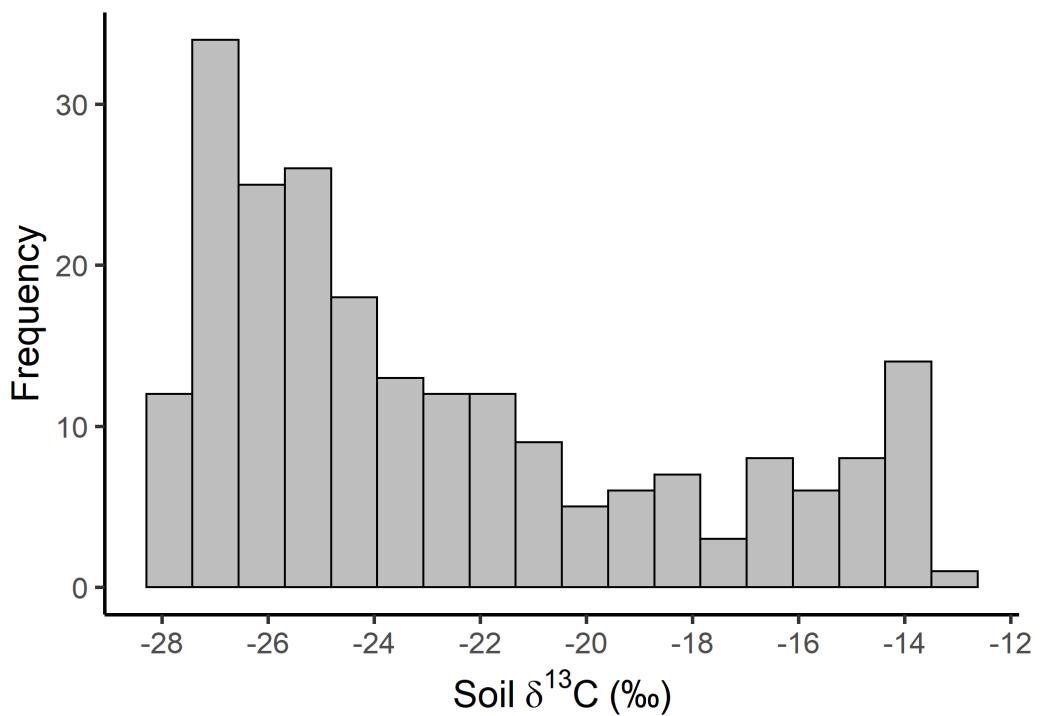
### Supplementary Tables

Environmental Isotope Studies, EIS (2021), “Spatial distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the central Brazilian savanna”, Mendeley Data, V1, doi: 10.17632/fsfv5fwxz.1 (<https://data.mendeley.com/datasets/fsfv5fwxz/1>).

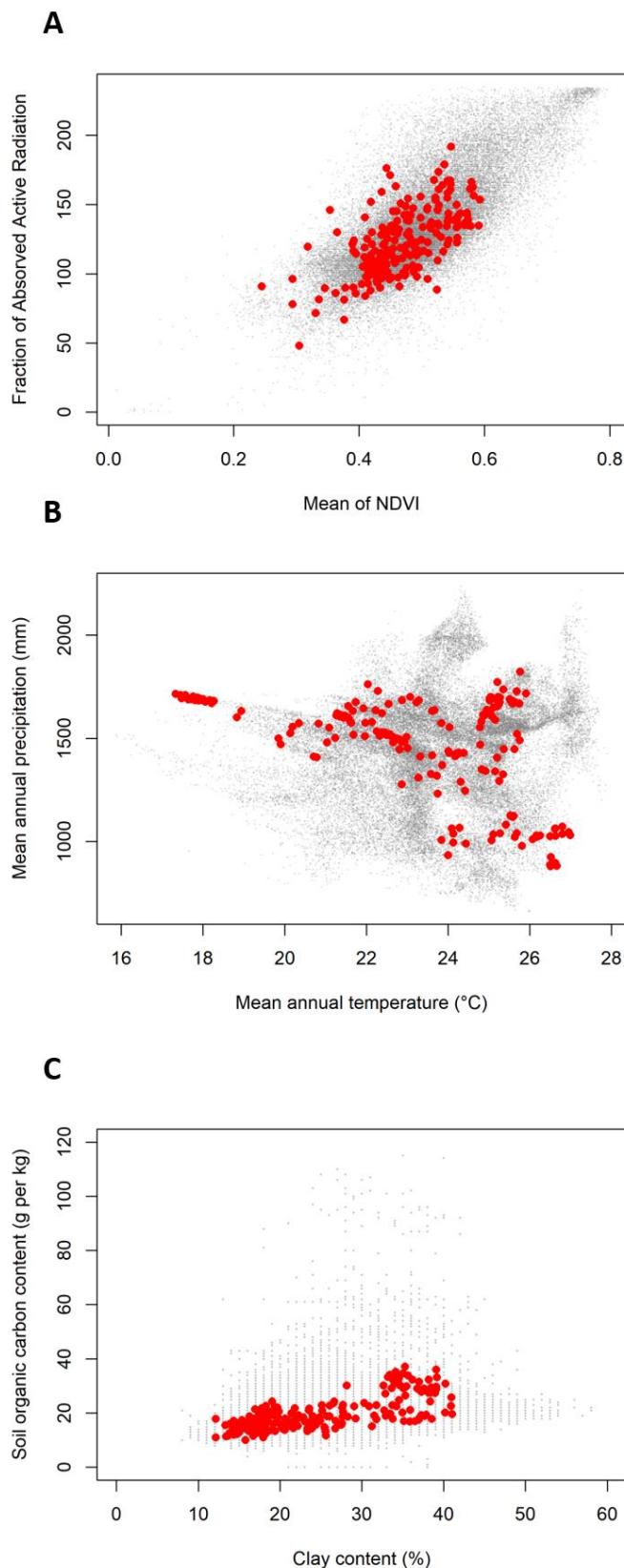
### Supplementary Figures



Supplementary Figure S1. Distribution of samples by type of Cerrado vegetation. The count was carried out based on the 2019 land cover mapping of MAPBIOMAS. The class “Others” occurs due to the mapping scale of MAPBIOMAS. As our points have remnant natural vegetation fragments, when crossing with the mapping, the point can be assigned to another class due to scale. However, these points are from Savanna and Grassland.

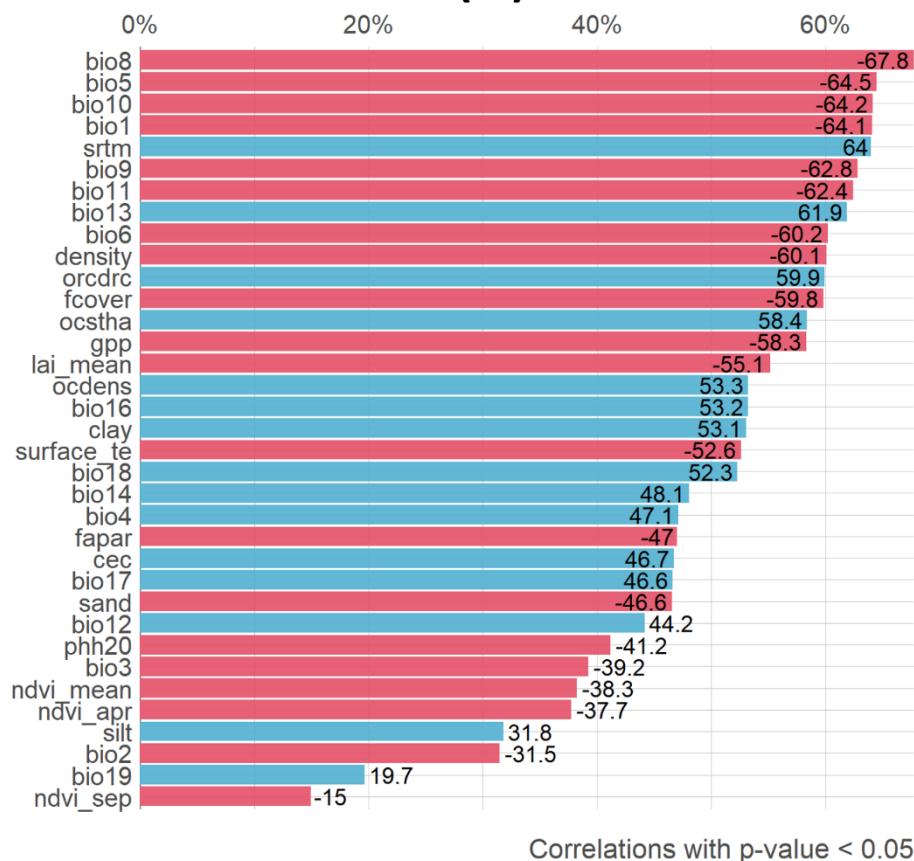


Supplementary Figure S2. Histogram of the distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  values. The black line indicates the nonnormal distribution of the data shown by the Shapiro-Wilk test ( $p < 0.05$ ).



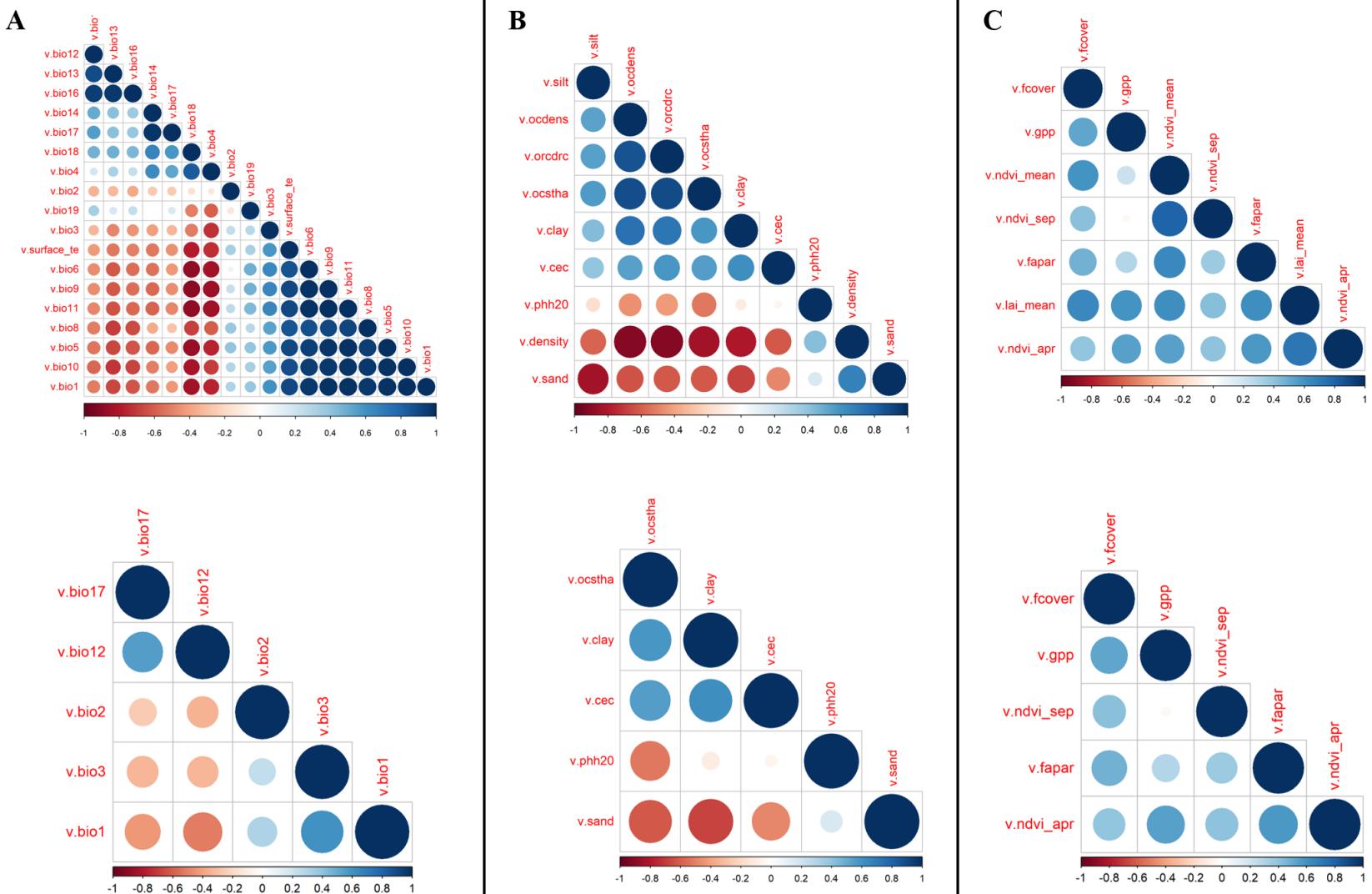
Supplementary Figure S3. Representativeness of the dataset in relation to the vegetation (A), climatic (B), and soil variables (C). The gray dots represent the pixel values of the environmental covariates, and the red dots represent the all  $\delta^{13}\text{C}$  database.

## Correlations of $\delta^{13}\text{C}$ (%)

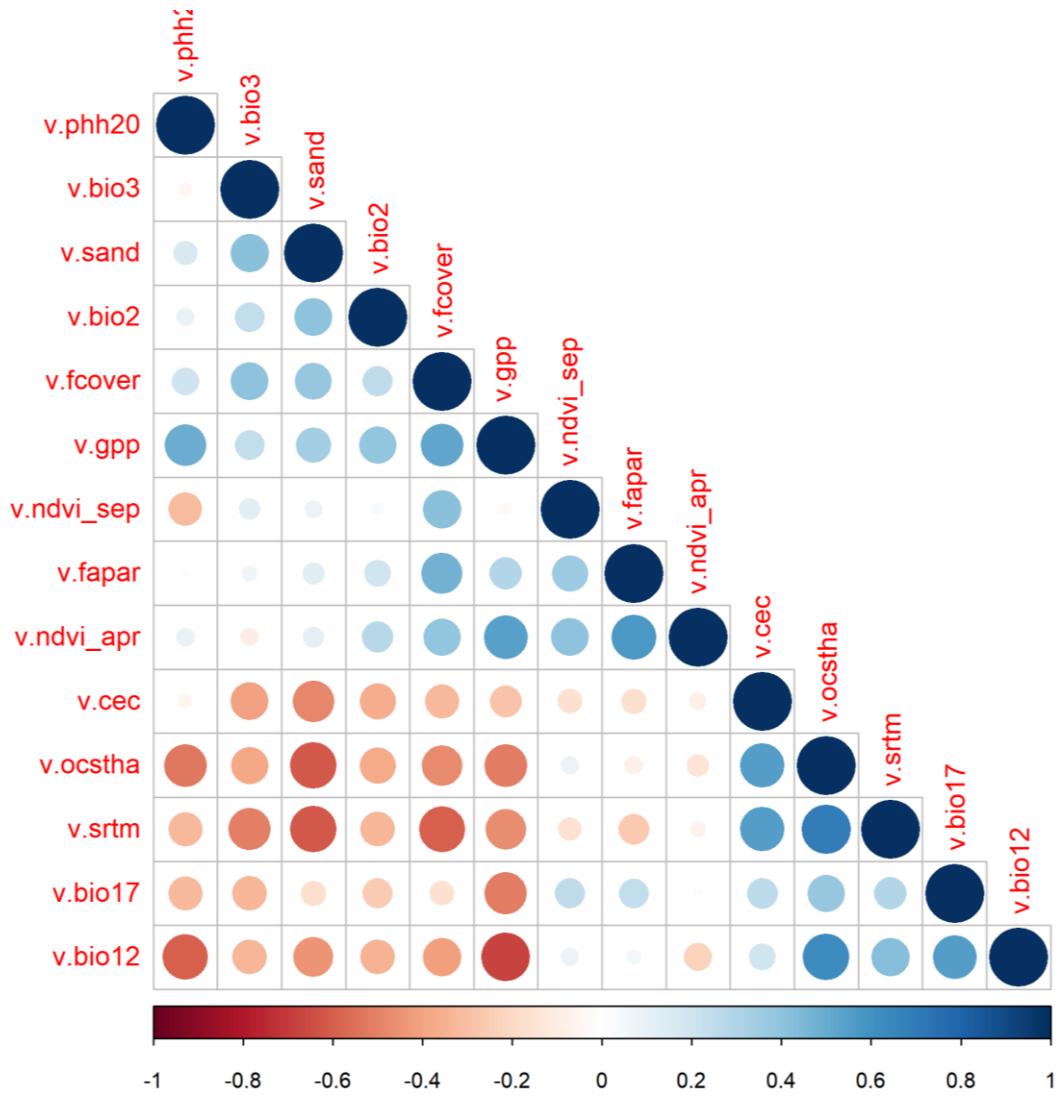


Correlations with p-value < 0.05

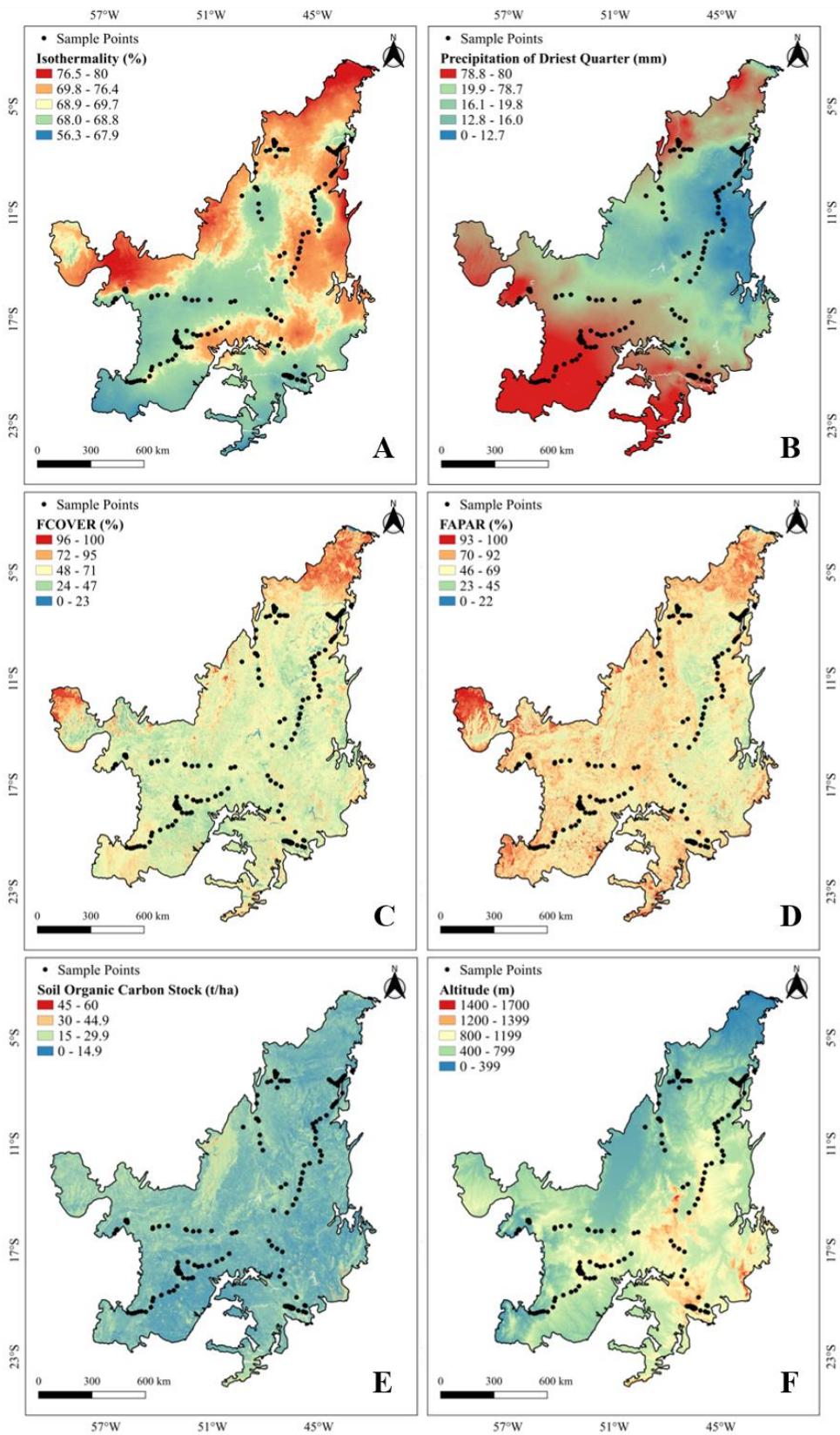
Supplementary Figure S4. Linear correlation between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and environmental covariates.



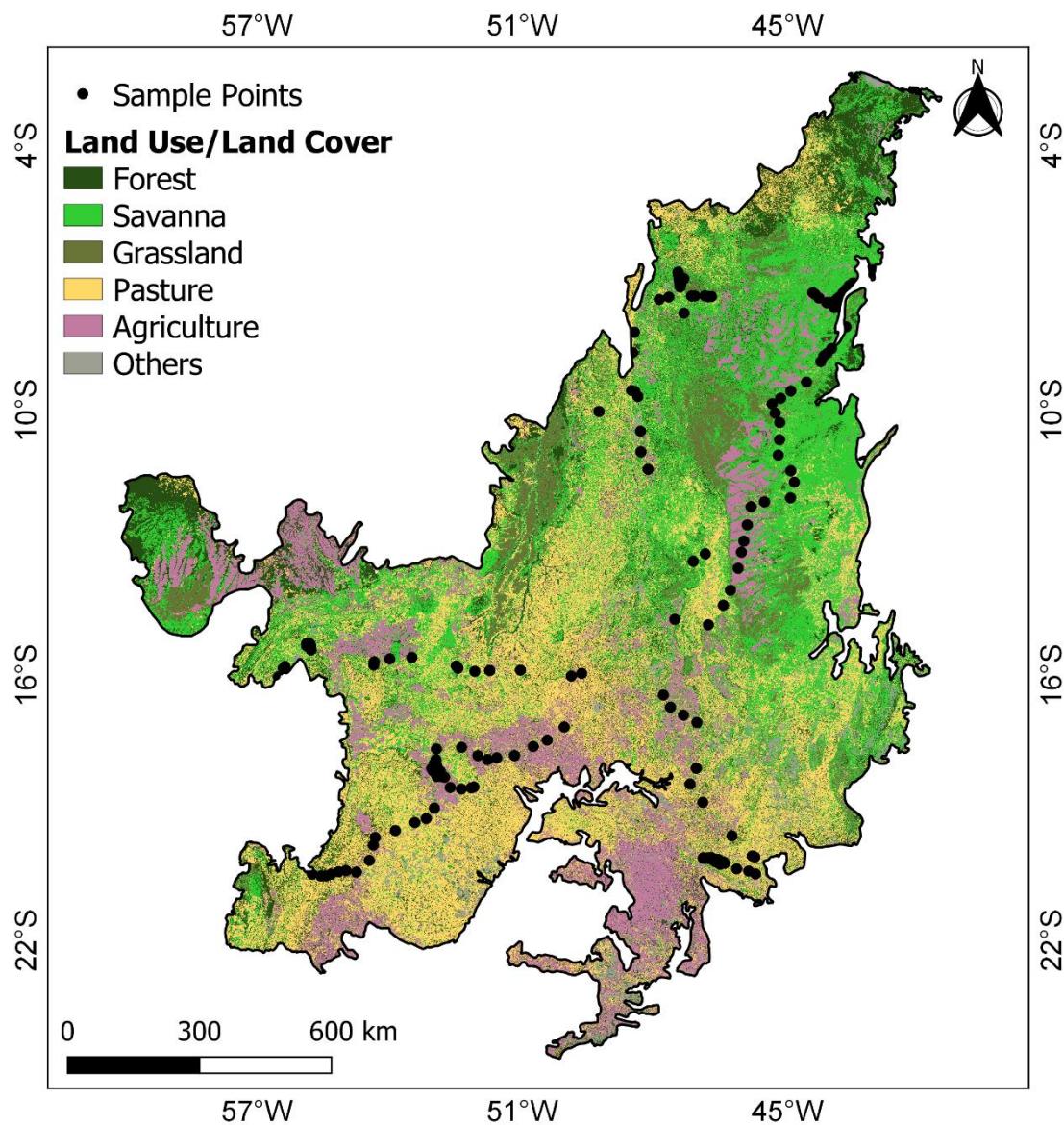
Supplementary Figure S5. Correlation matrix between climatic (A), pedological (B), and vegetation covariates (C).



Supplementary Figure S6. Correlation matrix with all environmental covariates, including altitude.



Supplementary Figure S7. Environmental covariates used as explanatory variables for the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model: isothermality (A), precipitation of driest quarter (B), fraction of green vegetation cover (C), fraction of absorbed photosynthetically active radiation (D), soil organic carbon stock (E), altitude (F). Black dots represent the soil sample locations.



Supplementary Figure S8. Land-use and Land-cover map of the Cerrado to 2019. (MAPBIOMAS, 2020). Black dots represent the soil sample locations.

## CAPÍTULO 2 - Brazilian soil $\delta^{13}\text{C}$ isoscape based on multiple linear regression analysis

Glauber das Neves, João Paulo Sena-Souza, Fabio Luis de Souza Santos, Plínio Barbosa de Camargo, Luiz Antônio Martinelli, Gabriela Bielefeld Nardoto

**Abstract:** Carbon stable isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ) have been applied in several environmental contexts, such as feeding habits, origin of migratory species, and vegetation distribution patterns. Brazil presents a vast environmental diversity, which enables the development of studies to identify the soil  $\delta^{13}\text{C}$  distribution patterns. This work aimed to identify the environmental variables that influence the soil  $\delta^{13}\text{C}$  and develop a spatial model of Brazilian soil  $\delta^{13}\text{C}$ , based on multiple linear regression analysis. The model used 717 samples at a depth of 0-20 centimeters and a set of climate, soil, and vegetation variables. The model showed a range of soil  $\delta^{13}\text{C}$  values between -30‰ and -13‰, with the highest estimated values in the southeastern regions and the lower estimated values in northwestern Brazil. The results pointed out regional patterns in the spatial distribution of the soil  $\delta^{13}\text{C}$  and the relationships between the environmental variables incorporated in the model and the soil  $\delta^{13}\text{C}$ . Due to the high environmental diversity of Brazil and the local environmental characteristics, some of these variables presented opposite behavior to that reported in previous studies, which makes necessary the development of studies aimed at the better understanding of these relations. Nevertheless, the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model presented a general panorama of the distribution of Brazilian soil  $\delta^{13}\text{C}$  with a more refined level of detail concerning the existing models for the region.

**Keywords:** Stable carbon isotope, 13-carbon, soil carbon, carbon cycle, Brazil.

### 1. Introduction

Carbon stable isotope ratio ( $\delta^{13}\text{C}$ ) have been applied in various ecological contexts, such as animal diet (Galetti et al., 2015; Salgado et al., 2014), human diet (Kusaka et al., 2016; Nardoto et al., 2006), land cover change effects (Cerling et al., 1997; Salemi et al., 2016), and palaeoecological reconstruction (Cerling et al., 1989). This diversity of applications makes the isotopic approach an essential tool in assessing the influences of human activities on natural environments (Martinelli et al., 2009).

Soil  $\delta^{13}\text{C}$  reflects the isotopic composition of the vegetation (Ehleringer et al., 2000), which responds to variation in water availability through the photosynthesis and respiration processes (Ometto et al., 2006; Peri et al., 2012). Plants following the C<sub>3</sub> photosynthetic pathway have  $\delta^{13}\text{C}$  varying from -35‰ to -22‰. In contrast, plants C<sub>4</sub> photosynthetic pathway have  $\delta^{13}\text{C}$  varying from -15‰ to -11‰. This large difference in the isotopic composition of plants following the C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> photosynthetic metabolic pathways makes the  $\delta^{13}\text{C}$  an efficient indicator for identifying the predominant photosynthetic pathway (Dawson et al., 2002).

It is known that  $\delta^{13}\text{C}$  of plant and soils varies systematically among natural environments. Mapping this spatial variability from spatial models (isoscapes) provides several possibilities for understanding the biogeochemical processes that regulates such spatial variability (West et al., 2010), including regions where information is scarce (Bowen et al., 2009). In recent past decades, plants and soils  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes have been developed at different scales. For instance, at global scales, Kaplan et al., (2002) developed an isoscapes for plant's  $\delta^{13}\text{C}$ . At a continental scale, (Still and Powell, 2010) developed also a plant's isoscapes for the Africa Continent using the relative proportion of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub>. For South America, Powell et al. (2012) developed a vegetation and soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes showing the relative distribution of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. They observed higher accuracy of the estimated model related to regions with higher homogeneity of land covers, such as Amazon Forest, and higher error in areas with higher heterogeneity of land covers, such as savanna and semiarid region.

As shown by Powell et al. (2012), there is a high variability in the  $\delta^{13}\text{C}$  of plants and soil in Brazil. Such variability is due in part to the large biodiversity of the country, which has the largest number of vascular plant species on Earth (Ulloa et al., 2017). Vegetation types in Brazil ranges from extensive tropical rainforests (Morellato et al., 2000) to different physiognomies of savannas (Ribeiro and Walter, 2008), dry forests (Oliveira et al., 2019), and grasslands (Andriollo et al., 2017). In a recent work, Martinelli et al. (2021) showed that there is a large variability of  $\delta^{13}\text{C}$  of C<sub>3</sub> plants among main Brazilian biomes. Additionally, there is an intense land-use changes in the country, mainly the replacement of forests by exotic forage C<sub>4</sub> grasses, and the existence of large tracts covered with wild C<sub>4</sub> plants in the Cerrado and Caatinga.

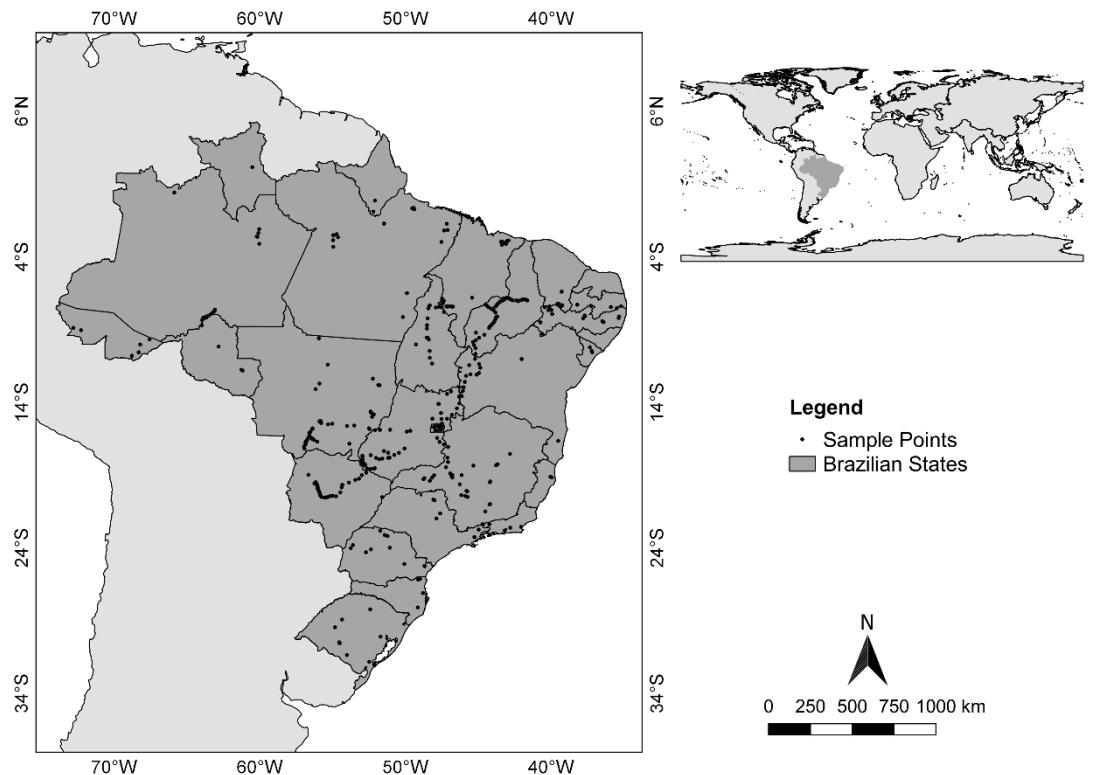
Although the results of global and continental models present a global view of isotopic distribution patterns, studies containing greater geographic representativeness of

samples are needed so that it is possible to refine mappings at more detailed scales (Sena-Souza et al., 2019). The objective of this work was to identify the environmental variables that influence the distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and to elaborate a soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes in Brazil based on multiple linear regression analysis.

## 2. Methods

### 2.1. Study area

Brazil is the largest country in South America (Fig. 2.1). It presents a great environmental diversity and vegetational compositions. Based on the Brazilian vegetation classification of the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE, 2012), Martinelli et al. (2021) regrouped the Brazilian vegetation into: Evergreen Forests, which represents all types of Ombrophilous forest, characteristic of extensive tropical forests such as Amazon Forest and the Atlantic Forest (Morellato et al., 2000); Seasonal Forests, which represents the semideciduous seasonal forests mainly of the Atlantic Forest; Cerrado, which represents the different plant physiognomies present in savannas (Ribeiro and Walter, 2008); Caatinga, representing the vegetation of the semiarid region, with negative water balance and great climatic, edaphic and topographic heterogeneity (Oliveira et al., 2019); Campina, representing a forest developed on white-sand soils in the Amazon region; Pantanal, where dominates mainly periodically flooded areas; Restinga, which are forests of the Atlantic in coastal environments over sandy soils; and Mangrove, which represents the coastal vegetation in transition environments between marine and terrestrial ecosystems.



**Fig. 2.1.** Brazil location and distribution of the 717 sample points. Black points represent the sampling points used in this study.

## 2.2. Soil Sampling

A total of 717 soil samples were included in this study (Fig. 1). These samples were selected through a systematic search in two online databases, Scopus and ISI Web of Science. Furthermore, searches were conducted in databases of Doctoral Theses and Master's Dissertations. Only works that presented soil  $\delta^{13}\text{C}$  values, under natural vegetation cover, at a depth of 0-20 cm were considered (for more details, see Supplemental Table S1, available in <https://data.mendeley.com/datasets/gbdf8fkv89/1>).

## 2.3. Predictor variables

We used environmental covariates related to the spatial patterns of soil  $\delta^{13}\text{C}$  reported in the literature to identify the main variables influencing soil  $\delta^{13}\text{C}$  in Brazil. These environmental covariates were obtained from global databases freely available for download in raster format and were divided into three groups: climate, soil, and vegetation variables (for more details, see Supplemental Table S2).

### 2.3.1. Climate variables

Climate variables were obtained from the WorldClim2 dataset (<http://worldclim.org/>) (Hijmans et al., 2005). WorldClim 2 provides 19 climate parameters related to temperature and precipitation over a time interval between 1970 and 2000 at a spatial resolution of 1 km. The climate parameters are: mean annual temperature (MAT), mean diurnal temperature range ( $T_{MDR}$ ), isothermality ( $T_{ISO}$ ), temperature seasonality ( $T_{SEAS}$ ), the maximum temperature of the warmest month ( $TMAX_{WARM}$ ), minimum temperature of the coldest month ( $TMIN_{COLD}$ ), the annual range of temperature ( $T_{AR}$ ), mean temperature of the wettest quarter ( $T_{MWeQ}$ ), mean temperature of the driest quarter ( $T_{MDQ}$ ), mean temperature of the warmest quarter ( $T_{MwQ}$ ), mean temperature of the coldest quarter ( $T_{MCQ}$ ), mean annual precipitation (MAP), precipitation of the wettest month (P<sub>w</sub>), precipitation of the driest month (P<sub>d</sub>), precipitation seasonality (P<sub>SEAS</sub>), precipitation of the wettest quarter (P<sub>WeQ</sub>), precipitation of the driest quarter (P<sub>DQ</sub>), precipitation of the warmest quarter (P<sub>WaQ</sub>), and precipitation of the coldest quarter (P<sub>CQ</sub>). While these data may not accurately represent the climate data for Brazil, tests confirm the reliability of the data and suggest that any deviations should be relatively small (Harbert and Nixon, 2015).

### 2.3.2. *Soil Variables*

Soil variables were obtained from the SoilGrids dataset (<http://soilgrids.org/>) (Hengl et al., 2017). SoilGrids provides global models for soil physical and chemical properties at a spatial resolution of 250 meters. For this study, we used the following variables: clay content (CLAY), sand content (SAND), silt content (SILT), and soil organic carbon stock (SOILOCs).

### 2.3.3. *Vegetation variables*

Vegetation variables were obtained from the Copernicus Global Land Service (CGLS) (<http://land.copernicus.eu/global/>) (Baret et al., 2013; Camacho et al., 2013). CGLS provides a global vegetation dataset with a spatial resolution of 1 km. The following variables were used: fraction of absorbed photosynthetically active radiation (FAPAR), fraction of free vegetation cover (FCOVER), leaf area index (LAI), and mean normalized difference vegetation index (NDVI) (period: 1999–2007).

In addition to vegetation data from the CGLS, we used Gross Primary Productivity (GPP), data obtained from the Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS17) sensor at a spatial resolution of 500 meters. The GPP data were structured

from time series composed of satellite images obtained every eight days between 2000 and 2016. The images were filtered through the median filter, Minimum Noise Fraction (MNF), and inverse MNF transformation, according to the methodological approach proposed by Carvalho Junior et al. (2012), to reduce influences caused by atmospheric effects.

## 2.4. Modeling

### 2.4.1. Data analysis

The environmental covariates in each group were tested against each other for multicollinearity using correlation matrices and Pearson's correlation coefficient. Pairs of variables with a high correlation coefficient ( $r > 0.70$ ) were removed from the selection. Then, the procedure was repeated for all selected variables in each group to ensure that all variables entered into the multiple linear regression model were independent. Simple linear regression analyses were performed to describe the individual influence of some environmental variables on the soil  $\delta^{13}\text{C}$ .

The dataset was randomly divided into training (75%,  $n = 537$ ) and validation (25%,  $n = 180$ ). The training dataset was used to fit the multiple regression model and generate the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape. The validation dataset was used in the isoscape validation step. The environmental covariates of the training dataset were standardized for z-score using the *scale()* function so that it was possible to evaluate the weight of each variable in the regression model.

The multiple linear regression model was adjusted from a stepwise procedure. First, a regression model was fitted with all independent variables. Then, an F-test was performed to evaluate the significance of the model. The final model was fitted with the significant variables from the first model and chosen based on the Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1974). The Shapiro Wilk test and the Moran Index assessed the normality and spatial autocorrelation of the residuals of the adjusted model.

### 2.4.2. Isoscape fit and model validation

The estimated coefficient from the multiple linear regression was used to generate the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes. The raster data of the selected environmental covariates were resampled to a spatial resolution of 1 km and standardized for z-score using the *scale()* function before applying the regression equation. For model validation, a simple linear

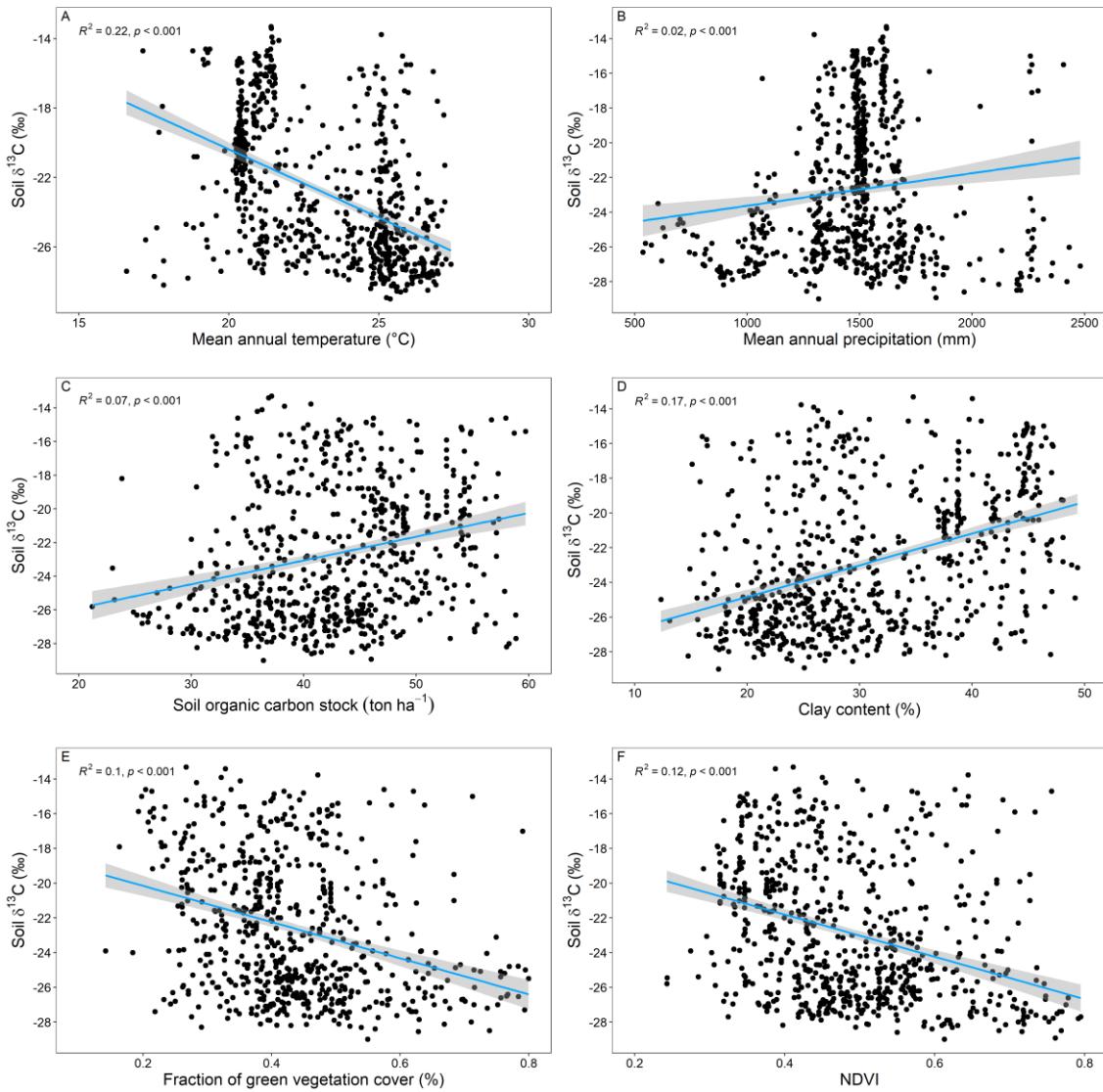
regression was performed between the predicted and measured values of the validation dataset. All analyses were performed in R version 4.0.5 ( R Core Team, 2018).

### 3. Results

#### 3.1. Variables selection

The multicollinearity test from the correlation matrices excluded highly correlated variables. The first round of the multicollinearity test selected independent variables for each group. The climate variables  $T_{ISO}$ ,  $T_{AR}$ ,  $T_{MwaQ}$ ,  $P_w$ ,  $P_{DQ}$ ,  $P_{WaQ}$ , and  $P_{CQ}$  were selected. From the soil variables, SOIL<sub>OCS</sub>, SILT, and CLAY were selected. From the vegetation variables, FCOVER, GPP, and NDVI were selected. The second round of multicollinearity analysis tested all variables previously selected in each group. At this stage, no variables showed a high correlation coefficient ( $r > 0.70$ ), and all were considered for the multiple linear regression model fit (for more details, see Supplementary Figure S1).

The linear regression analysis showed the relationships between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and some environmental variables (Fig. 2.2). The variables were separated into three groups: climatic, soil and vegetation variables. Among the climatic variables, MAT had a negative relationship ( $R^2 = 0.22$ ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2.2A), and MAP had a positive relationship ( $R^2 = 0.02$ ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2.2B). Among the soil variables, SOIL<sub>OCS</sub> had a positive relationship ( $R^2 = 0.02$ ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2.2C), and CLAY had a positive relationship ( $R^2 = 0.17$ ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2.2D). Among vegetation variables, FCOVER had a negative relationship ( $R^2 = 0.1$ ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2.2E), and NDVI had a negative relationship ( $R^2 = 0.12$ ;  $p < 0.001$ ) (Fig. 2.2F).



**Fig. 2.2.** Simple linear regression between soil  $\delta^{13}\text{C}$  mean annual temperature (A), mean annual precipitation (B), soil organic carbon stock (C), clay content (D), fraction of green vegetation cover (E), and normalized difference vegetation index (F). The blue line is the regression line. Gray space represents a 95% confidence interval.

### 3.2. Multiple linear regression

Multiple linear regression analysis between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and selected environmental variables showed that FCover, NDVI, Tiso, Twaq, Pw, SOILocs, and CLAY were significantly related to the model ( $p < 0.05$ ) and an AIC value of 892.91 (for more details, see Supplementary Table S3 and Supplementary Figure S2).

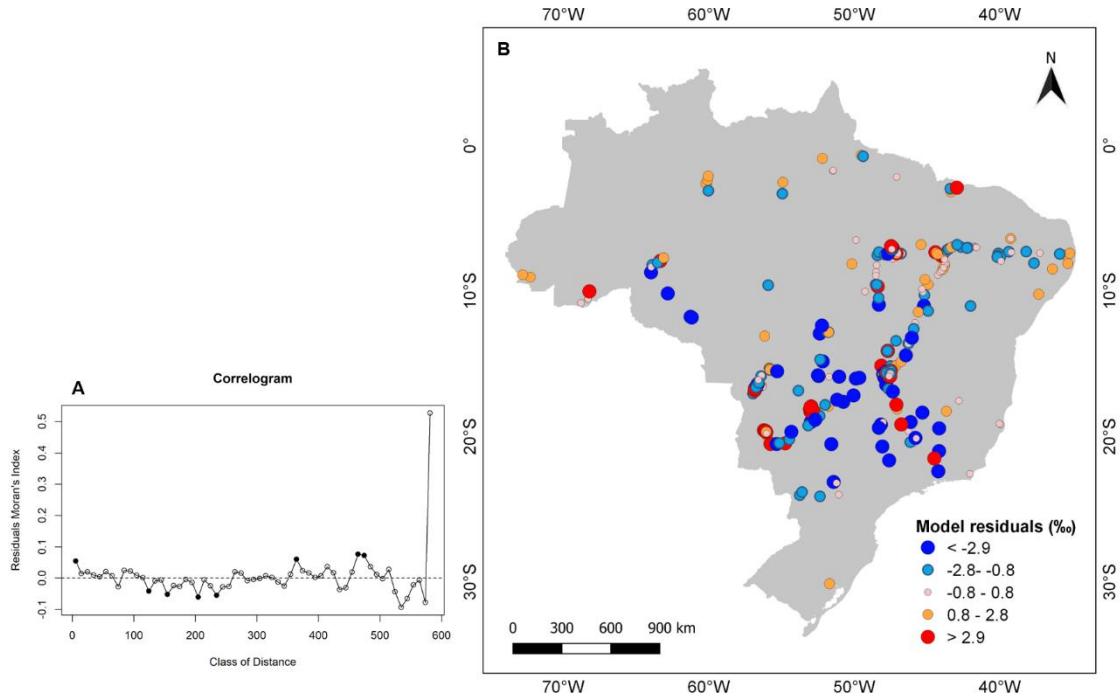
The second round of multiple linear regression analysis and the F-test was performed considering only these variables. All variables maintained significant relations with the soil  $\delta^{13}\text{C}$  ( $p < 0.05$ ), and the AIC value was 887.95. The equation to generate the

soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes was established from the estimated value of the covariates and the intercept obtained in the multiple linear regression analysis (Table 2.1).

**Table 2.1.** Statistical summary of multiple linear regression model and F-test. DF = degrees of freedom, SS = Residual Sum of Squares, AIC = Akaike Information Criterion, F = F-test, p = Level of significance. F = 124.2; R<sup>2</sup> = 0.63; and p < 0.001.

Source	Estimate	Std. Error	DF	SS	RSS	AIC	F	p
Model					2796	887.95		
(Intercept)	-22.920	0.105	1					
FCOVER	-0.423	0.160	1	38.31	2834.3	892.97	6.96	<0.01
NDVI	-0.841	0.180	1	119.62	2915.6	907.57	21.73	<0.001
T <sub>ISO</sub>	-1.085	0.165	1	237.05	3033	927.94	43.07	<0.001
T <sub>MWaQ</sub>	-1.405	0.189	1	303.19	3099.2	939.07	55.08	<0.001
P <sub>w</sub>	1.187	0.130	1	453.07	3249	963.44	82.31	<0.001
SOIL <sub>OCs</sub>	-1.092	0.180	1	202.67	2998.6	922.06	36.82	<0.001
CLAY	0.972	0.184	1	152.16	2948.1	913.29	27.64	<0.001

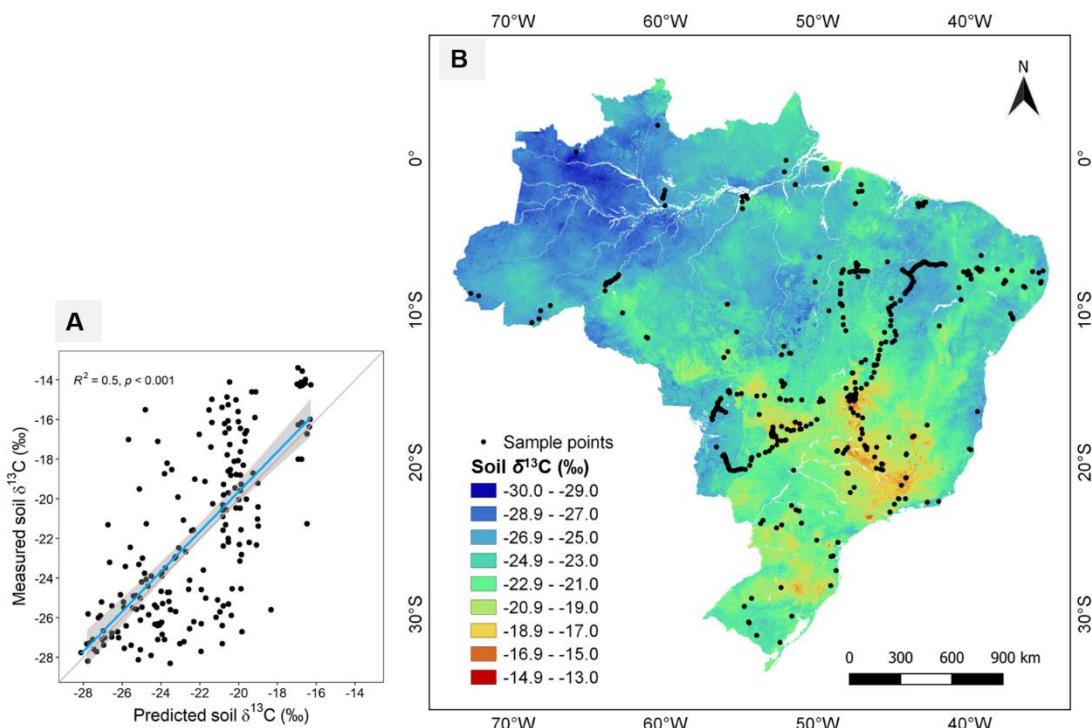
The Shapiro-Wilk test showed normal distribution of the residuals of the multiple linear regression analysis ( $W = 99$ ,  $p = 0.18$ ). The residuals showed no distance pattern of the Moran Index, which presented values between -0.1 and 0.1, indicating no spatial autocorrelation of the residuals of the multiple linear regression. This can be observed by the spatial correlogram of Moran's index (Fig. 2.3A) and the bubble map of the residuals (Fig. 2.3B), which demonstrate the absence of spatial structure.



**Fig. 2.3.** Correlogram of Moran's index for different distance classes of the multiple linear regression residuals (A) and bubble map of the residuals soil  $\delta^{13}\text{C}$  plotted over the Brazilian boundary (B).

### 3.3. Soil $\delta^{13}\text{C}$ isoscape and model validation

The linear regression between the measured soil  $\delta^{13}\text{C}$  values of the validation database with the values predicted by the model showed a significant relationship ( $p < 0,001$ ;  $R^2 = 0,50$ ) (Fig. 2.4A). The model was able to map regional patterns of the distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in Brazil. The soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model showed values between -30‰ e -13‰, with a pattern of decreasing soil  $\delta^{13}\text{C}$  values in the southeast to the northwest direction (Fig. 2.4B). The lowest soil  $\delta^{13}\text{C}$  values, between -30‰ e -25‰, are concentrated in the northwestern region, where the Amazon Forest is located. The central region, where the Brazilian savanna is located, the soils  $\delta^{13}\text{C}$  was highly variable due to the mix of C<sub>3</sub> tree species and C<sub>4</sub> grasses. The northeastern region showed lower values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  at the margins of the Atlantic Ocean coast and higher values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the zones where a semiarid climate predominates. The model was also able to identify patches of savanna in the extreme north of Brazil, with values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  between -23‰ e -19‰.



**Fig. 2.4.** Scatterplot of the simple linear regression between the predicted soil  $\delta^{13}\text{C}$  values and the validation database (A), and modeled soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes for Brazil (B). The black dots represent the sampled points. The gray line represents the 1:1 line, and the blue line represents the regression line. Gray space represents a 95% confidence interval.

#### 4. Discussion

The isoscape model shows that the  $\delta^{13}\text{C}$  values in the soil of Brazil decrease from southeast to northwest. The northwestern region of Brazil presented values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  between  $-30\text{\textperthousand}$  e  $-25\text{\textperthousand}$ . This region is located in the Amazonian Forest, where the Evergreen vegetation type predominates  $\text{C}_3$  plants (Martinelli et al., 2021). These values are confirmed by Sanaiotti et al. (2002), who observed average values of forest-covered soil around  $-28\text{\textperthousand}$  at depths up to 50 cm. Powell et al. (2012) showed mean soil  $\delta^{13}\text{C}$  values around  $-28\text{\textperthousand}$  in a soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes model for South America. Still, in the Amazon region, our model showed regions with soil  $\delta^{13}\text{C}$  values between  $-23\text{\textperthousand}$  and  $-20\text{\textperthousand}$  in the Roraima and Amapá states, northern Brazil. These sites represent fragments of savanna that occur within the Amazon region. Sanaiotti et al. (2002) observed soil  $\delta^{13}\text{C}$  values between  $-23\text{\textperthousand}$  e  $-18\text{\textperthousand}$  at a depth of up to 50 cm in Amazonian savanna soils.

The central region of Brazil presented values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  within the whole range of mapped values. In this region, the Cerrado vegetation type is predominant (Ribeiro and Walter, 2008) which has a high diversity of plant compositions, from  $\text{C}_3$  tree species to

$C_4$  grasses (Ehleringer and Monson, 1993; Ribeiro and Walter, 2008). Due to this environmental complexity, Powell et al. (2012) pointed to the Brazilian savanna as the region of largest uncertainty within the  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model for Latin America. This amplitude of  $\delta^{13}\text{C}$  values is emphasized in soil surveys made in this region. For instance, Assad et al. (2013), observed values between -26‰ and -23‰ in surface soils under native vegetation. Loss et al. (2014) observed values around -26‰ in soils under forest vegetation. Neves et al. (2021) presented a soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes for Brazilian savanna and observed an interval between -29‰ and -13‰ for soil  $\delta^{13}\text{C}$  values up to 20 cm depth.

The northeastern region of Brazil, with a predominance of the Caatinga vegetation type (IBGE, 2012), presented values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  between -27‰ and -23‰. This region is characterized for presenting a semiarid climate and vegetation composed of xerophytic plants. This range of values is confirmed by Mendonça et al. (2010), who observed values between -27‰ and -23‰ in soils with depth up to 20 cm. Martinelli et al. (2021) observed leaf  $\delta^{13}\text{C}$  values between -30‰ and -22‰, with mean values around -26‰ in the Brazilian semiarid vegetation, and associated the highest leaf  $\delta^{13}\text{C}$  values in this with the low level of precipitation.

The southern region of Brazil presented values of soil  $\delta^{13}\text{C}$  between -21‰ and -13‰. In this region, the grassland is predominant (Andriollo et al., 2017). This range of values can also be observed in studies such as Assad et al. (2013), who observed soil  $\delta^{13}\text{C}$  values between -23‰ and -16‰ in surface soils under native vegetation. Andriollo et al. (2017), observed soil  $\delta^{13}\text{C}$  values between -16‰ and -13‰ in surface soils under grassland.

Our model presented the climate, soil, and vegetation variables as explanatory parameters and explained 50% ( $p < 0.05$ ) of the variation of observed soil  $\delta^{13}\text{C}$  with the validation dataset. There was a negative relationship between soil  $\delta^{13}\text{C}$  and temperature, similar to that shown in other studies (Li et al., 2009; Pan et al., 2015; Yang et al., 2015), and positive with precipitation, a result opposite to that found in previous studies (Peri et al., 2012; Rao et al., 2017; Wang et al., 2010). This is due to local characteristics of the environmental diversity of Brazil, which presents a high variability of  $\delta^{13}\text{C}$  values in different types of vegetation (Martinelli et al., 2021), and the fact that temperature and precipitation influence stomatal aperture and  $^{13}\text{C}$  discrimination by plants (Ehleringer and Monson, 1993). In some areas of the Cerrado, predominates a  $C_4$  vegetation type (Fernandes, 2016; Fernandes et al., 2018) and higher precipitation levels. In a soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscapes for the Brazilian savanna, Neves et al. (2021) showed that regions dominated by  $C_4$  grasses had higher levels of precipitation. In areas such as semiarid, where

precipitation levels are lower, vegetation tends to be C<sub>3</sub> (Martinelli et al., 2021; Mendonça et al., 2010). This behavior influences a positive relationship between the soil δ<sup>13</sup>C values and precipitation.

In terms of the soil variables, our model presented a positive relationship between the soil δ<sup>13</sup>C and the clay content, similar to that demonstrated by Bai et al. (2012) in a study carried out in Texas, USA. A positive relationship was also observed between soil δ<sup>13</sup>C and organic carbon stock, opposite to that observed in previous studies (Bai et al., 2012; Luo et al., 2009). As with precipitation, this occurs due to local environmental characteristics. In northeastern Brazil, where the values of soil δ<sup>13</sup>C are lower (between -27‰ and -23‰), the soil carbon stock levels presented by SoilGrids are lower than 30 ton ha<sup>-1</sup>. In southern Brazil, where the values of soil δ<sup>13</sup>C are higher (between -21‰ and -13‰), the soil carbon stock levels are higher than 60 tons ha<sup>-1</sup>. However, our results are not sufficient to accurately infer these relationships. For this, studies at more local scales must be focused on observing the influence of edaphic factors on the soil δ<sup>13</sup>C.

Our results showed that FCOVER and NDVI have a negative relationship with soil δ<sup>13</sup>C. These vegetation variables are related to biomass and influence the δ<sup>13</sup>C distribution through primary productivity (Still et al., 2003). Brazil is a region with a great diversity of types vegetation that regulate the variability of plants δ<sup>13</sup>C values (Martinelli et al., 2021), this shows the importance of considering vegetation variables as essential for estimating soil δ<sup>13</sup>C models because soils reflect the isotopic composition of vegetation (Ehleringer et al., 2000). Previous δ<sup>13</sup>C isoscape models have also used vegetation cover and vegetation index as input data (Neves et al., 2021; Powell et al., 2012; Still and Powell, 2010).

## 5. Conclusion

The Brazilian soil δ<sup>13</sup>C isoscape model was adjusted from climatic, soil, and vegetation variables and presented regional distribution patterns, where the soil δ<sup>13</sup>C values tend to decrease from southeast to northwest. The model results pointed out relations of the explanatory variables with the soil δ<sup>13</sup>C. However, more detailed studies are still necessary to infer with greater precision these relations.

The results obtained present a greater detail of the spatial distribution of soil δ<sup>13</sup>C in Brazil at a more refined spatial resolution than the region's existing isotopic models. The model presented is an estimate of the distribution of soil δ<sup>13</sup>C for natural areas. Thus, integrating these data with information on land use becomes a future challenge that can

serve as input for studies that incorporate natural and anthropic environments. Furthermore, the results of this work may help in studies with a focus on the ecology of communities, vegetation distribution, food security, and forensic investigations.

## References

- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19, 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>
- Andriollo, D.D., Redin, C.G., Reichert, J.M., da Silva, L.S., 2017. Soil carbon isotope ratios in forest-grassland toposequences to identify vegetation changes in southern Brazilian grasslands. *Catena* 159, 126–135. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.08.012>
- Assad, E.D., Pinto, H.S., Martins, S.C., Groppo, J.D., Salgado, P.R., Evangelista, B., Vasconcellos, E., Sano, E.E., Pavão, E., Luna, R., Camargo, P.B., Martinelli, L.A., 2013. Changes in soil carbon stocks in Brazil due to land use: Paired site comparisons and a regional pasture soil survey. *Biogeosciences* 10, 6141–6160. <https://doi.org/10.5194/bg-10-6141-2013>
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, X. Ben, Hallmark, C.T., Archer, S.R., 2012. Spatial variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and its relation to carbon input and soil texture in a subtropical lowland woodland. *Soil Biol. Biochem.* 44, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.013>
- Baret, F., Weiss, M., Lacaze, R., Camacho, F., Makhmara, H., Pacholczyk, P., Smets, B., 2013. GEOV1: LAI and FAPAR essential climate variables and FCOVER global time series capitalizing over existing products. Part1: Principles of development and production. *Remote Sens. Environ.* 137, 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2012.12.027>
- Bowen, G.J., West, J.B., Hoogewerff, J., 2009. Isoscapes: Isotope mapping and its applications. *J. Geochemical Explor.* 102, 2008–2010. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2009.05.001>
- Camacho, F., Cernicharo, J., Lacaze, R., Baret, F., Weiss, M., 2013. GEOV1: LAI, FAPAR essential climate variables and FCOVER global time series capitalizing over existing products. Part 2: Validation and intercomparison with reference products. *Remote Sens. Environ.* 137, 310–329. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2013.02.030>
- Carvalho Junior, O.A., Silva, N.C., Carvalho, A.P.F., Couto Junior, A.F., Silva, C.R., Shimabukuro, Y.E., Guimarães, R.F., Gomes, R.A.T., 2012. Combining noise-adjusted principal components transform and median filter techniques for denoising modis temporal signatures. *Rev. Bras. Geofísica* 30, 147–157.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V.,

- Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389, 153–158. <https://doi.org/10.1038/38229>
- Cerling, T.E., Quade, J., Wang, Y., Bowman, J.R., 1989. Carbon isotopes in soils and palaeosols as ecology and palaeoecology indicators. *Nature* 341, 138–139. <https://doi.org/10.1038/341138a0>
- Dawson, T.D., Mambelli, S., Plamboek, A.H., Templer, P.H., Tu, K.P., 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 507–559. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.020602.095451>
- Ehleringer, J.R., Buchmann, N., Flanagan, L.B., 2000. Carbon Isotope Ratios in Belowground Carbon Cycle Processes. *Ecol. Appl.* 10, 412. <https://doi.org/10.2307/2641103>
- Ehleringer, J.R., Monson, R.K., 1993. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 411–439. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.es.24.110193.002211>
- Fernandes, G.W., 2016. Ecology and conservation of mountaintop grasslands in Brazil. *Ecol. Conserv. Mt. Grasslands Brazil* 1–567. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-29808-5>
- Fernandes, G.W., Barbosa, N.P.U., Alberton, B., Barbieri, A., Dirzo, R., Goulart, F., Guerra, T.J., Morellato, L.P.C., Solar, R.R.C., 2018. The deadly route to collapse and the uncertain fate of Brazilian rupestrian grasslands. *Biodivers. Conserv.* 27, 2587–2603. <https://doi.org/10.1007/s10531-018-1556-4>
- Galetti, M., Guevara, R., Neves, C.L., Rodarte, R.R., Bovendorp, R.S., Moreira, M., Hopkins, J.B., Yeakel, J.D., 2015. Defaunation affect population and diet of rodents in Neotropical rainforests. *Biol. Conserv.* 190, 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.032>
- Harbert, R.S., Nixon, K.C., 2015. Climate reconstruction analysis using coexistence likelihood estimation (CRACLE): A method for the estimation of climate using vegetation. *Am. J. Bot.* 102, 1277–1289. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400500>
- Hengl, T., De Jesus, J.M., Heuvelink, G.B.M., Gonzalez, M.R., Kilibarda, M., Blagotić, A., Shangguan, W., Wright, M.N., Geng, X., Bauer-Marschallinger, B., Guevara, M.A., Vargas, R., MacMillan, R.A., Batjes, N.H., Leenaars, J.G.B., Ribeiro, E., Wheeler, I., Mantel, S., Kempen, B., 2017. SoilGrids250m: Global gridded soil information based on machine learning. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169748>
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G., Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int. J. Climatol.* 25, 1965–1978. <https://doi.org/10.1002/joc.1276>
- IBGE, Instituto Brasileira de Geografia e Estatística., 2012. Manual técnico da vegetação

brasileira. Rio de Janeiro.

- Kaplan, J.O., Prentice, I.C., Buchmann, N., 2002. The stable carbon isotope composition of the terrestrial biosphere: Modeling at scales from the leaf to the globe. *Glob. Biogeochem. Cycles* 16, 1060. <https://doi.org/10.1029/2001gb001403>
- Kusaka, S., Ishimaru, E., Hyodo, F., Gakuhami, T., Yoneda, M., Yumoto, T., Tayasu, I., 2016. Homogeneous diet of contemporary Japanese inferred from stable isotope ratios of hair. *Sci. Rep.* 6, 33122. <https://doi.org/10.1038/srep33122>
- Li, J., Wang, G., Liu, Xianzhao, Han, J., Liu, M., Liu, Xiaojuan, 2009. Variations in carbon isotope ratios of C<sub>3</sub> plants and distribution of C<sub>4</sub> plants along an altitudinal transect on the eastern slope of Mount Gongga. *Sci. China, Ser. D Earth Sci.* 52, 1714–1723. <https://doi.org/10.1007/s11430-009-0170-4>
- Loss, A., Pereira, M.G., Perin, A., Anjos, L.H.C. dos, 2014. Abundância natural de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em sistemas de manejo conservacionista no cerrado. *Biosci. J.* 30, 604–615.
- Luo, T., Zhang, L., Zhu, H., Daly, C., Li, M., Luo, J., 2009. Correlations between net primary productivity and foliar carbon isotope ratio across a Tibetan ecosystem transect. *Ecography (Cop.)*. 32, 526–538. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2008.05735.x>
- Martinelli, L.A., Nardoto, G.B., Soltangheisi, A., Reis, C.R.G., Abdalla-Filho, A.L., Camargo, P.B., Domingues, T.F., Faria, D., Figueira, A.M., Gomes, T.F., Lins, S.R.M., Mardegan, S.F., Mariano, E., Miatto, R.C., Moraes, R., Moreira, M.Z., Oliveira, R.S., Ometto, J.P.H.B., Santos, F.L.S., Sena-Souza, J., Silva, D.M.L., Silva, J.C.S.S., Vieira, S.A., 2021. Determining ecosystem functioning in Brazilian biomes through foliar carbon and nitrogen concentrations and stable isotope ratios. *Biogeochemistry* 154, 405–423. <https://doi.org/10.1007/s10533-020-00714-2>
- Martinelli, L.A., Ometto, J.P.H.B., Ferraz, E.S., Victoria, R.L., Camargo, P.B., Moreira, M.Z., 2009. Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis. Editora Oficina de Textos.
- Mendonça, L.A.R., Frischkorn, H., Santiago, M.F., Camargo, P.B. de, Lima, J.O.G. de, Mendes Filho, J., 2010. Identificação de mudanças florestais por  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  dos solos da Chapada do Araripe , Ceará. *Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.* 14, 314–319.
- Morellato, L.P.C., Talora, D.C., Takahasi, A., Bencke, C.C., Romera, E.C., Zipparro, V.B., 2000. Phenology of Atlantic rain forest trees: A comparative study. *Biotropica* 32, 811–823. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2000.tb00620.x>
- Nardoto, G.B., Silva, S., Kendall, C., Ehleringer, J.R., Chesson, L.A., Ferraz, E.S.B., Moreira, M.Z., Ometto, J.P.H.B., Martinelli, L.A., 2006. Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. *Am. J. Phys. Anthropol.* 131, 137–146. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20409>
- Neves, G. das, Sena-Souza, J.P., Santos, F.L. de S., Sano, E.E., Nardoto, G.B., Couto

- Junior, A.F., 2021. Spatial distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the central Brazilian savanna. *J. Environ. Manage.* 300. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113758>
- Oliveira, G. de C., Francelino, M.R., Arruda, D.M., Fernandes-Filho, E.I., Schaefer, C.E.G.R., 2019. Climate and soils at the Brazilian semiarid and the forest-Caatinga problem: New insights and implications for conservation. *Environ. Res. Lett.* 14. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab3d7b>
- Ometto, J.P.H.B., Ehleringer, J.R., Domingues, T.F., Berry, J.A., Ishida, F.Y., Mazzi, E., Higuchi, N., Flanagan, L.B., Nardoto, G.B., Martinelli, L.A., 2006. The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. *Biogeochemistry* 79, 251–274. <https://doi.org/10.1007/s10533-006-9008-8>
- Pan, S., Zhang, W., Zhao, M., Li, Y., Xu, S., Wang, G., 2015. Altitude patterns of leaf carbon isotope composition in a subtropical monsoon forest. *Polish J. Ecol.* 63, 512–522. <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2015.63.4.004>
- Peri, P.L., Ladd, B., Pepper, D.A., Bonser, S.P., Laffan, S.W., Amelung, W., 2012. Carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) stable isotope composition in plant and soil in Southern Patagonia's native forests. *Glob. Chang. Biol.* 18, 311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02494.x>
- Powell, R.L., Yoo, E.-H., Still, C.J., 2012. Vegetation and soil carbon-13 isoscapes for South America: integrating remote sensing and ecosystem isotope measurements. *Ecosphere* 3, art109. <https://doi.org/10.1890/es12-00162.1>
- R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Found. Stat. Comput.
- Rao, Z., Guo, W., Cao, J., Shi, F., Jiang, H., Li, C., 2017. Relationship between the stable carbon isotopic composition of modern plants and surface soils and climate: A global review. *Earth-Science Rev.* 165, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.12.007>
- Ribeiro, J.F., Walter, B.M.T., 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado in: Sano, S. M.; de Almeida, S. P., Ribeiro, J. F. *Cerrado Ecologia e Flora*. Embrapa Cerrados-Capítulo em livro científico 151–199.
- Salemi, L.F., Rafaela, S., Lins, M., Ravagnani, E.D.C., Frosini, S., Ferraz, D.B., Martinelli, L.A., 2016. Past and present land use influences on tropical riparian zones: an isotopic assessment with implications for riparian forest width determination. *Biota Neotrop.* 16, 1–8. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2015-0133>
- Salgado, S.S., Motta, P.C., de Souza Aguiar, L.M., Nardoto, G.B., 2014. Tracking dietary habits of cave arthropods associated with deposits of hematophagous bat guano: A study from a neotropical savanna. *Austral Ecol.* 39, 560–566. <https://doi.org/10.1111/aec.12116>

- Sanaiotti, T.M., Martinelli, L.A., Victoria, R.L., Trumbore, S.E., Camargo, P.B., 2002. Past vegetation changes in Amazon savannas determined using carbon isotopes of soil organic matter. *Biotropica* 34, 2–16. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2002.tb00237.x>
- Sena-Souza, J.P., Costa, F.J.V., Nardoto, G.B., 2019. Background and the use of isoscapes in the Brazilian context: essential tool for isotope data interpretation and natural resource management. *Rev. Ambient. e Água* 14, 1–27. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2282>
- Still, C.J., Berry, J.A., Collatz, G.J., DeFries, R.S., 2003. Global distribution of C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> vegetation: Carbon cycle implications. *Global Biogeochem. Cycles* 17. <https://doi.org/10.1029/2001gb001807>
- Still, C.J., Powell, R.L., 2010. Continental-scale distributions of vegetation stable carbon isotope ratios, in: West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P. (Eds.), *Isoscapes: Understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping*. pp. 179–194. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3>
- Ulloa, C.U., Acevedo-Rodríguez, P., Beck, S., Belgrano, M.J., Bernal, R., Berry, P.E., Brako, L., Celis, M., Davidse, G., Forzza, R.C., Robbert Gradstein, S., Hokche, O., León, B., León-Yáñez, S., Magill, R.E., Neill, D.A., Nee, M., Raven, P.H., Stimmel, H., Strong, M.T., Villaseñor, J.L., Zarucchi, J.L., Zuloaga, F.O., Jørgensen, P.M., 2017. An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Science* (80-. ). 358, 1614–1617. <https://doi.org/10.1126/science.aao0398>
- Wang, L., D’Odorico, P., Ries, L., Macko, S.A., 2010. Patterns and implications of plant-soil  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values in African savanna ecosystems. *Quat. Res.* 73, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2008.11.004>
- West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P., 2010. Isoscapes: understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3>
- Yang, Y., Ji, C., Chen, L., Ding, J., Cheng, X., Robinson, D., 2015. Edaphic rather than climatic controls over  $^{13}\text{C}$  enrichment between soil and vegetation in alpine grasslands on the Tibetan Plateau. *Funct. Ecol.* 29, 839–848. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12393>

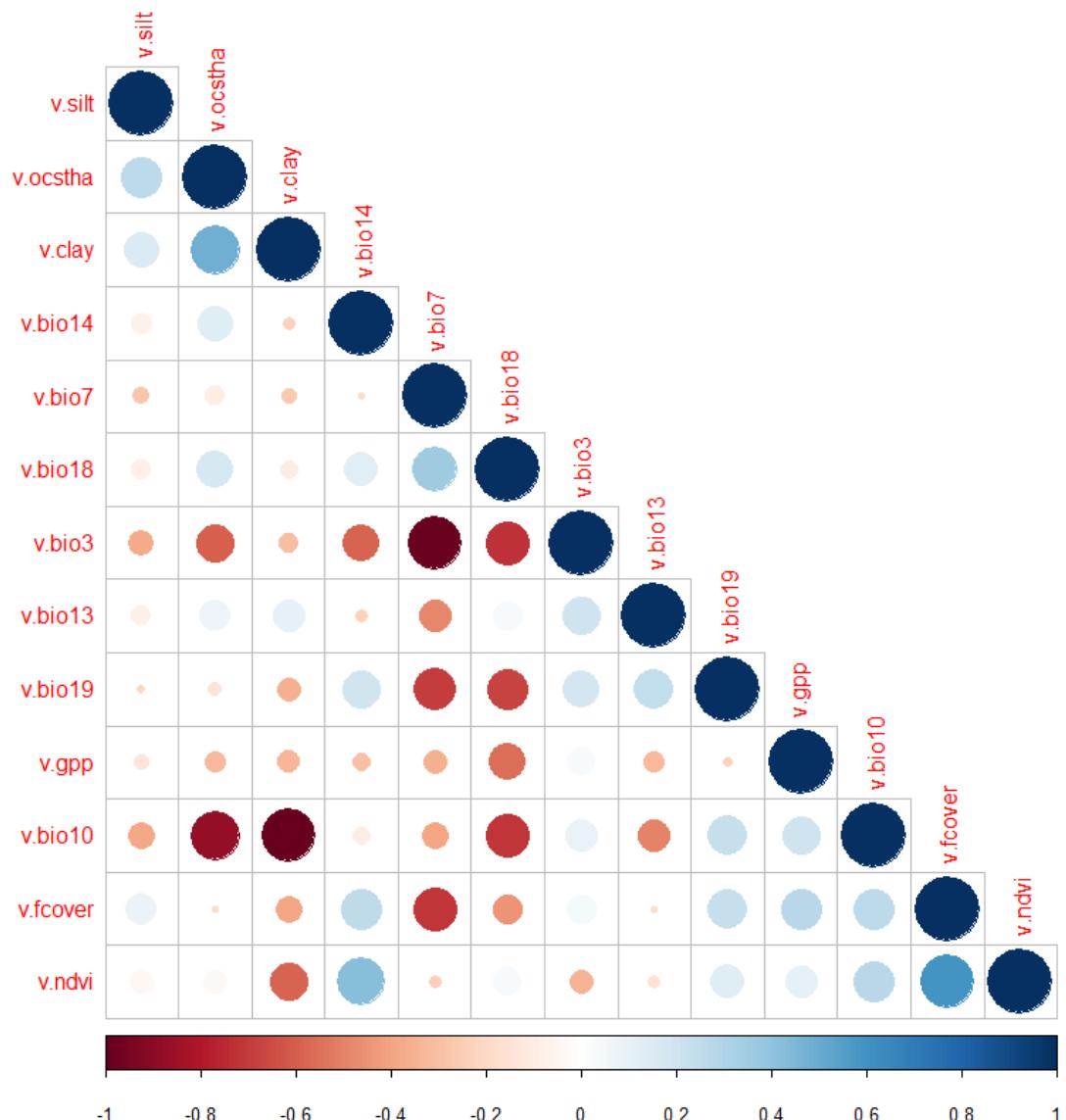
## MATERIAL SUPPLEMENTAR

### Supplementary Tables

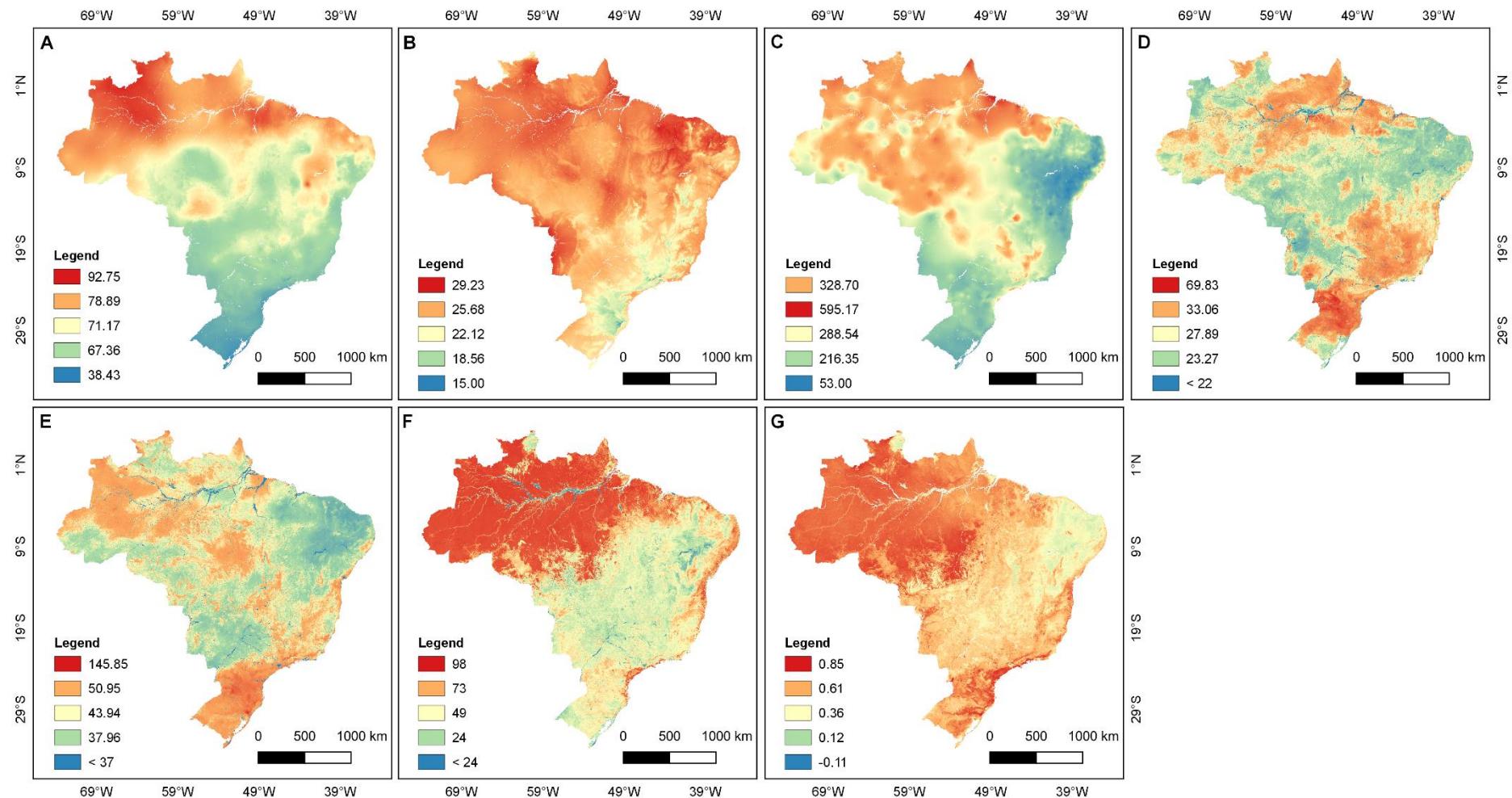
Environmental Isotope Studies, EIS (2021), "BRAZILIAN SOIL  $\delta^{13}\text{C}$  ISOSCAPE BASED ON MULTIPLE LINEAR REGRESSION ANALYSIS ", Mendeley Data, V1, doi: 10.17632/gbdf8fkv89.1

<https://data.mendeley.com/datasets/gbdf8fkv89/1>

### Supplementary Figures



**Supplementary Figure S1.** Correlation matrix of all selected environmental covariates between groups of climatic, soil and vegetation variables.



**Supplementary Figure S2.** Environmental covariates used as explanatory variables for the soil  $\delta^{13}\text{C}$  isoscape model: (A) isothermality (%), (B) Mean Temperature of Warmest Quarter ( $^{\circ}\text{C}$ ), (C) Precipitation of Wettest Month (mm), (D) Clay Content (%), (E) Soil organic carbon stock ( $\text{ton ha}^{-1}$ ), (F) Fraction of Green Vegetation Cover (%), and (G) Normalized Difference Vegetation Index.

## CAPÍTULO 3 – Variação espacial do $\delta^{13}\text{C}$ no solo a partir de variáveis edáficas e índice de vegetação na Serra da Canastra – Minas Gerais

Glauber das Neves, Renato Henrique Ferrari, Vinicius Vasconcelos, Gabriela Bielefeld Nardoto

**Resumo:** Razões isotópicas de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) têm sido uma ferramenta aplicada em diversos contextos ecológicos. O  $\delta^{13}\text{C}$  no solo é controlado pelo clima, mas também pode ser influenciado por outras variáveis ambientais em escalas mais refinadas, como topografia, solos e vegetação. O objetivo deste trabalho foi identificar as variáveis que influenciam a variação espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo e elaborar um modelo de estimativa do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo baseado em análise de regressão múltipla na Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. Foram utilizadas 32 amostras de solo no intervalo de profundidade de 0-20 cm e um conjunto de variáveis do solo, da vegetação e altitude. O ajuste do modelo indicou que o índice de vegetação ajustado ao solo para o mês de abril (SAVI), teor de silte no solo, concentração de carbono no solo e susceptibilidade magnética em alta frequência explicaram a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo ( $R^2 = 0,62$ ;  $p < 0,001$ ). O modelo estimado de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo apresentou valores que variaram entre -22‰ e -10‰. A distância não significativa entre a linha de regressão e a linha 1:1 mostra que o modelo estimado ainda não pode ser validado, mas a relação significativa entre os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo observados e estimados indica potencial da aplicação da abordagem. Para novos estudos é necessário estabelecer um adensamento amostral que possibilite não apenas o levantamento de dados isotópicos, mas que melhore as interpolações das variáveis ambientais que alimentam os modelos de predição.

**Palavras-chave:** Isoscapes, análise de regressão múltipla, isótopo estável, carbono,  $\delta^{13}\text{C}$

**Abstract:** Carbon isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ) have been a tool applied in various ecological contexts. The soil  $\delta^{13}\text{C}$  is controlled by climate, but other environmental variables at finer scales can also be influenced, such as topography, soils, and vegetation. The objective of this work was to identify the variables that influence the spatial variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and elaborate a model for estimating soil  $\delta^{13}\text{C}$  based on multiple regression analysis in Serra da Canastra, Minas Gerais, Brazil. A set of 32 soil samples in the 0-20 cm depth interval and a set of soil, vegetation, and altitude variables were used. Model fit indicated that the soil-adjusted vegetation index for April (SAVI), soil silt content, soil carbon concentration, and magnetic susceptibility at high frequency explained the variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  ( $R^2 = 0.62$ ;  $p < 0.001$ ). The estimated model of soil  $\delta^{13}\text{C}$  showed values ranging from -22‰ to -10‰. The non-significant distance between the regression line and the 1:1 line shows that the estimated model cannot be validated yet, but the significant relationship between the observed and

estimated soil  $\delta^{13}\text{C}$  values indicates potential of the application of the approach. For further studies, it is necessary to establish a sample densification that enables the survey of isotopic data.

**Keywords:** Isoscapes, multiple linear regression analysis, stable isotope, carbon,  $\delta^{13}\text{C}$

## 1. Introdução

O solo é o compartimento que suporta grande parte das espécies animais e vegetais do planeta (Chapin et al., 2011). O processo de formação dos solos é condicionado pelo clima, geologia, relevo e biota potencial (Jenny, 1941). Nesse sentido, temperatura e precipitação são variáveis fundamentais na formação dos solos e também na dinâmica da matéria orgânica dos ecossistemas (Lal, 2013). Razões isotópicas de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) são capazes de resumir essas interações (Ehleringer et al., 2002). A ferramenta isotópica tem se tornado uma importante ferramenta na avaliação das atividades humanas sobre os ambientes naturais (Martinelli et al., 2009), pois suas aplicações têm sido em diversos contextos ecológicos, como efeitos das mudanças da cobertura da terra (Cerling et al., 1997; Salemi et al., 2016), reconstrução paleoecológica (Cerling et al., 1989), hábitos alimentares de animais (Galetti et al., 2015; Salgado et al., 2014) e dieta humana (Kusaka et al., 2016; Nardoto et al., 2006).

O  $\delta^{13}\text{C}$  no solo reflete a composição isotópica da vegetação (Ehleringer et al., 2000; Still et al., 2003) e está relacionado à fatores climáticos (Peri et al., 2012; Wang et al., 2010; Yang et al., 2015), edáficos (Bai et al., 2012; Yang et al., 2015) e topográficos (Li et al., 2009; Pan et al., 2015; Zhao et al., 2017). A influência da vegetação no  $\delta^{13}\text{C}$  no solo se dá através da contribuição relativa das plantas para a produtividade primária por meio das vias fotossintéticas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> (Still et al., 2003). Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  é um bom indicador para a identificação das vias fotossintéticas, pois apresenta uma baixa sobreposição em seus valores. O fracionamento das plantas de via fotossintética C<sub>3</sub> apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -35‰ e -20‰, enquanto as plantas de via fotossintética C<sub>4</sub> apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -15‰ e -11‰ (Dawson et al., 2002).

O  $\delta^{13}\text{C}$  varia sistematicamente nos ambientes naturais. Identificar e mapear essa variabilidade a partir de modelos espaciais (*isoscapes*) possibilita o melhor entendimento dos processos biogeoquímicos que influenciam as variações das expressões isotópicas (West et al., 2010). Em termos gerais, o fracionamento do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo é inicialmente controlado pelo clima, onde a disponibilidade de luz e água influenciam na abertura estomática e na discriminação do  $^{13}\text{C}$  pelas plantas, a partir das vias fotossintéticas C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> (Ehleringer et al., 2000; Ometto et al., 2006). Entretanto, estudos em escala global podem minimizar padrões espaciais regionais que podem ser influenciados por outras variáveis ambientais (Sena-Souza et al., 2019). Isso é observado em estudos como o de Powell et al. (2012), que mostram que a distribuição do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, no contexto da

América do Sul, apresenta menor precisão da estimativa na Savana, devido a diversidade ambiental local. Neves et al. (2021) mostram que além das variáveis climáticas, a distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo na savana brasileira é explicada também por variáveis da vegetação, solo e topografia. Em escala local, (Bai et al., 2009) mostram que variáveis edáficas ajudam a explicar a variação do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo.

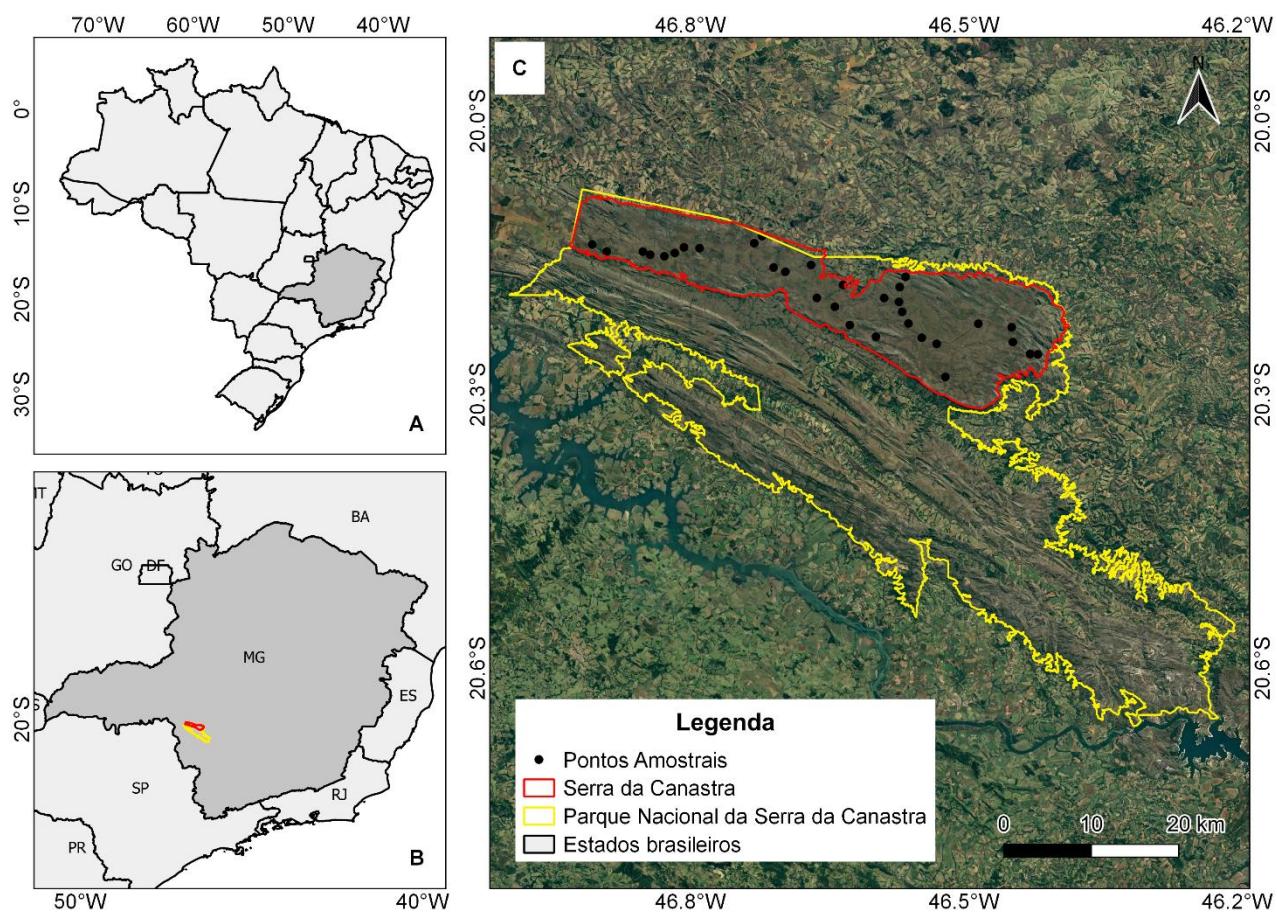
Neves et al. (2021) mostram uma relação positiva entre precipitação e  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do Cerrado, relação oposta ao observado em estudos em outras regiões (Peri et al., 2012; Rao et al., 2017; Wang et al., 2010). Eles apontam que essas relações estão associadas com regiões onde a vegetação é composta principalmente por gramíneas C<sub>4</sub>, com menor temperatura, maior precipitação e altitude acima de 1000 m. A Serra da Canastra é um exemplo desses ambientes, pois apresenta essas características climáticas e topográficas (Vasconcelos et al., 2015) e possui em torno de 70% de sua área total coberta por gramíneas C<sub>4</sub> (Couto Junior et al., 2010). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar as variáveis que influenciam a variação espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo a partir de um ajuste de modelo de regressão linear multipla e elaborar um modelo de estimativa do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil.

## 2. Material e métodos

### 2.1. Área de estudo

A Serra da Canastra está localizada entre as coordenadas -20,28°S e -20,12°S e -56,90°O e -46,41°O e cobre uma área de aproximadamente 476 km<sup>2</sup>. A área se encontra dentro do Parque Nacional da Serra da Canastra, nos municípios de São Roque de Minas e Sacramento, Minas Gerais, Brasil (Fig. 3.1). Apresenta um clima sazonal, com duas estações bem definidas (verões chuvosos e invernos secos). A temperatura média varia entre 18°C na estação mais fria e 22°C na estação mais quente. A precipitação média anual é entre 1.000 e 1.500 mm.

A altitude da região varia entre 900 e 1500 m, tendo uma geomorfologia marcada por cadeia de montanhas, colinas, penhascos, vales e planaltos, em sua maioria formados por quartzitos do Grupo Canastra. Os solos são classificados como Cambissolo, Plintossolo e Gleissolo nas regiões côncavas e Latossolo, Cambissolo e Plintossolo Pétrico nas regiões dissecadas, onde ocorre vegetação rupestre (Vasconcelos et al., 2015). As condições hidrológicas e do solo da região possibilitam o desenvolvimento da vegetação típica do Bioma Cerrado. A vegetação é composta por Formação Florestal, Savânica e Campestre (Ribeiro e Walter, 2008), mas com predomínio de vegetação campestre, tendo a maior parte da região coberta por Campo Limpo (60,45%) e Campo Sujo (12,40%) (Couto Junior et al., 2010).



**Fig. 3.1.** Localização da área de estudo. Detalhe para a localização do estado de Minas Gerais em relação ao Brasil (A). Localização da Serra da Canastra em relação ao estado de Minas Gerais (B). Limite da Serra da Canastra e do Parque Nacional da Serra da Canastra com distribuição dos pontos amostrais (C).

## 2.2. *Pontos amostrais e covariáveis ambientais*

Foram utilizados um total de 32 pontos amostrais com valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, sob cobertura vegetal natural, em uma profundidade de 0 – 20 cm, retirados de Neves et al. (2021) (Fig. 1). Foram realizadas análises para determinar características físicas, químicas e mineralógicas desses pontos. Além disso, foram extraídos valores de altimetria e índices de vegetação obtidos através de dados orbitais (para maiores detalhes, ver Material Suplementar S1 e S2, disponível em <https://data.mendeley.com/datasets/mkjdcfcm7/1>).

O  $\delta^{13}\text{C}$  e as concentrações de carbono no solo (%C) foram determinadas no laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/Universidade de São Paulo), através de um analisador elementar e um espectrômetro de massa, respectivamente (Neves et al., 2021).

Os teores de argila, silte e areia no solo foram determinados no Laboratório de Relações Solo e Vegetação (Departamento de Ecologia/Universidade de Brasília), através do método do densímetro (Camargo et al., 2009).

As análises químicas do solo foram realizadas no Laboratório de Análise de Solo, Tecido Vegetal e Fertilizante (Departamento de Solos/Universidade Federal de Viçosa). Foram consideradas as seguintes variáveis: pH em H<sub>2</sub>O (pHH<sub>2</sub>O), na proporção 1:2,5; P e K (extração por Mehlich-1); Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> e Al<sup>3+</sup> (extração por KCl - 1 mol/L); e H+Al (extração por Acetato de Cálcio 0,5 mol/L – pH 7,0) (Teixeira et al., 2017).

A susceptibilidade magnética foi determinada através de um susceptibilímetro magnético Bartington MS2, acoplado a um sensor Bartington MS2B de dupla frequência. As análises foram realizadas no Laboratório de Relações Solo e Vegetação (Departamento de Ecologia/Universidade de Brasília). Foram realizadas medições em baixa frequência (SM<sub>BF</sub>) (0,47 kHz), alta frequência (SM<sub>AF</sub>) (4,7 kHz) e a variação da frequência da susceptibilidade (SM<sub>VF%</sub>), onde SM<sub>VF%</sub> = ((SM<sub>BF</sub> – SM<sub>AF</sub>)/SM<sub>BF</sub>) x 100.

A altitude foi extraída do modelo digital de elevação (DEM) do projeto *Shuttle Radar Topography Mission* (SRTM), com resolução espacial de 90 metros e disponível gratuitamente na plataforma *Earth Explorer* (<http://earthexplorer.usgs.gov>). Os índices de vegetação foram extraídos dos dados do sensor *Operational Land Imager* (OLI) à bordo do satélite Landsat-8, com resolução espacial de 30 metros, resolução temporal de 16 dias e disponíveis gratuitamente na plataforma *Earth Explorer*. Foram selecionadas imagens referentes aos meses de abril (27/04/2019) e setembro (18/09/2019) para representar o período seco e chuvoso do bioma Cerrado, respectivamente. Foram utilizados os seguintes índices de vegetação: *Enhanced Vegetation Index* (EVI<sub>ABR</sub> EVI<sub>SET</sub>); *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI<sub>ABR</sub> e NDVI<sub>SET</sub>); *Normalized Difference Moisture Index* (NDMI<sub>ABR</sub> e NDMI<sub>SET</sub>); *Normalized Difference Water Index* (NDWI<sub>ABR</sub> e NDWI<sub>SET</sub>); *Soil Adjusted Vegetation Index* (SAVI<sub>ABR</sub> e SAVI<sub>SET</sub>); e *Modified Soil Adjusted Vegetation Index* (MSAVI<sub>ABR</sub> e MSAVI<sub>SET</sub>).

### 2.3. Ajuste do modelo de regressão linear múltipla

As covariáveis ambientais foram testadas entre si quanto à multicolinearidade através de matrizes de correlação e o coeficiente de correlação de Pearson. As variáveis foram separadas em dois grupos: variáveis de vegetação e solo. Primeiramente, os grupos foram testados individualmente para retirar os pares de variável que apresentaram alto coeficiente de correlação ( $r > 0,70$ ). Em seguida, uma nova matriz de correlação foi gerada, considerando as variáveis selecionadas em cada grupo, acrescentando altitude, a única variável topográfica. Após a seleção, as covariáveis selecionadas foram padronizadas pelo *z-score* para possibilitar a avaliação do peso de cada variável no modelo de regressão linear múltipla.

O ajuste do modelo de regressão linear múltipla foi realizado a partir de um procedimento *stepwise*. Um primeiro modelo foi ajustado considerando todas as variáveis independentes e um teste

F com  $p < 0,05$  foi realizado para avaliar a significância do modelo. Em seguida, foi ajustado um segundo modelo apenas com as variáveis significativas ( $p < 0,05$ ) do primeiro modelo e escolhido com no Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1974). Os pressupostos da análise de regressão linear múltipla foram testados por meio de testes de hipótese: teste de Shapiro-Wilk ( $p > 0,05$ ) para avaliar a normalidade dos resíduos; teste de Breusch Pagan ( $p > 0,05$ ) para avaliar a homocedasticidade do modelo; e teste de Durbin Watson ( $p > 0,05$ ) para avaliar a ausência de autocorrelação espacial do modelo. Todas as análises foram realizadas no R versão 4.0.5 (R Core Team, 2018).

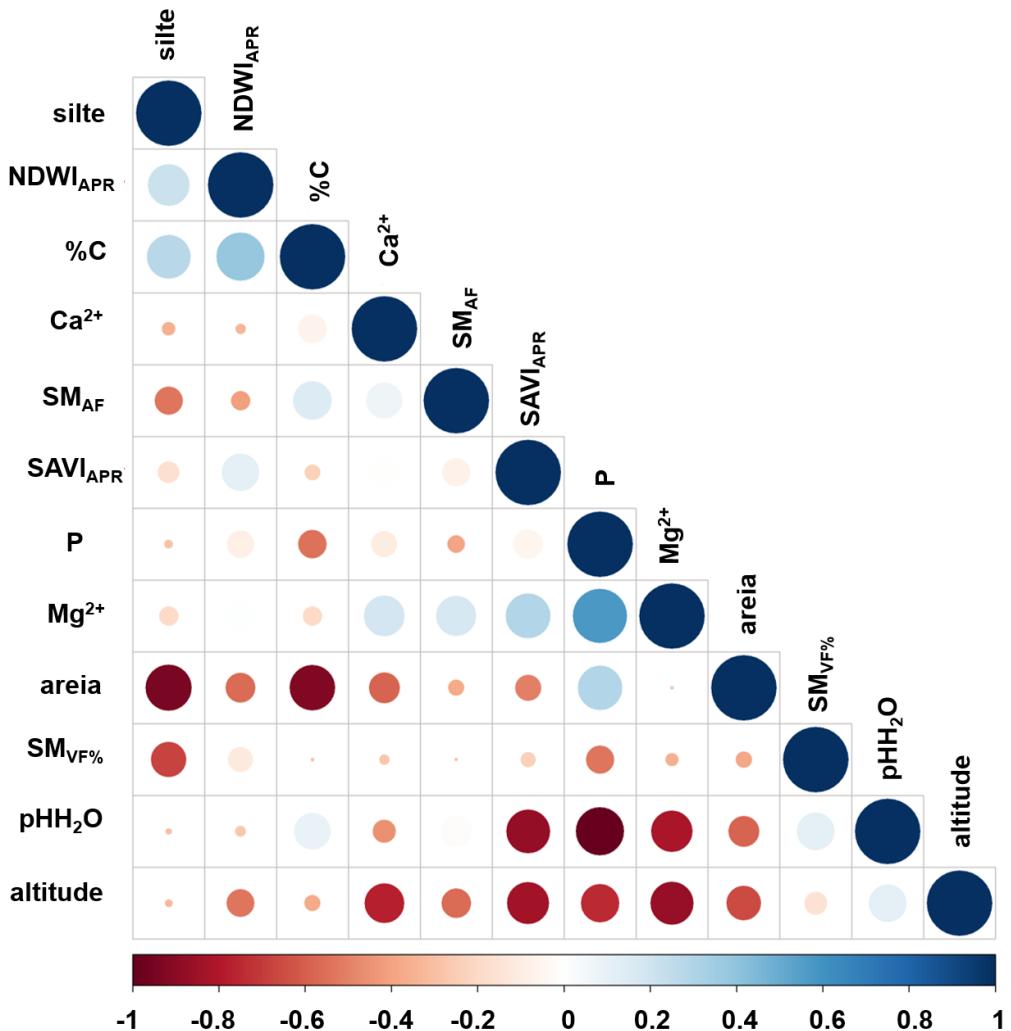
#### 2.4. Modelo espacial isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ no solo

Foi realizada uma krigagem ordinária de modelo esférico para as covariáveis ambientais selecionadas que não apresentavam estruturação em formato *raster*. Todos os arquivos foram reamostrados para uma resolução espacial de 30 metros e padronizados pelo *z-score*. Após a organização e padronização em formato *raster* para todas as variáveis ambientais selecionadas, foi aplicada a equação do modelo de regressão linear múltipla e gerado um modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo. Foi calculada a raiz quadrada do erro médio (RMSE) para avaliar a acurácia das interpolações por krigagem das covariáveis ambientais. O modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo foi testada a partir de uma regressão linear simples entre os valores observados em campo e os valores estimados no modelo. Para testar a distância da inclinação dos dados em função da inclinação desejada de 1, os valores observados e estimados de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo foram padronizados usando o *z-score*, a fim de forçar a interceptação a 0, e foi rodada uma regressão linear a partir da função *offset()* no R.

### 3. Resultados

#### 3.1. Ajuste do modelo de regressão linear múltipla

A partir da matriz de correlação foi possível excluir do modelo as variáveis altamente correlacionadas. Nessa etapa foram selecionadas três variáveis independentes: SAVI<sub>APR</sub>, EVI<sub>SET</sub>, NDWI<sub>APR</sub>. No grupo de variáveis do solo foram selecionadas as seguintes variáveis: areia, silte, P, Mg<sup>2+</sup>, %C, pHH<sub>2</sub>O, SM<sub>VF</sub>%, Ca<sup>2+</sup>, SM<sub>AF</sub>. Após essa primeira seleção foi realizada uma segunda rodada da análise considerando as variáveis selecionadas no grupo de variáveis de vegetação, solo e a altitude. Nesta etapa, o EVI<sub>SET</sub> foi excluído do modelo. Com isso, foram selecionadas doze variáveis ambientais independentes para a etapa do ajuste do modelo de regressão linear múltipla (Fig. 3.2).



**Fig. 3.2.** Matriz de correlação com as variáveis independentes selecionadas para o ajuste do modelo de regressão linear múltipla.

A análise de regressão linear múltipla mostrou que SAVI<sub>APR</sub>, %C, silte e SM<sub>AF</sub> explicam em 62% ( $R^2 = 0,62$ ) a variação dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, apresentando uma relação significativa ( $p < 0,05$ ) e um valor de AIC de 13,2 (Tabela 3.1) (para maiores detalhes, ver Material Suplementar S3). O teste de Shapiro Wilk apontou distribuição normal dos resíduos da regressão ( $W = 0,98$ ;  $p = 0,9$ ). O teste de Breusch Pagan apontou variância homogênia dos dados ( $\text{BP} = 2,59$ ;  $p = 0,62$ ). O teste de Durbin Watson apontou ausência de autocorrelação espacial dos dados ( $\text{DW} = 1,46$ ;  $p = 0,07$ ).

**Tabela 3.1.** Resumo estatístico do modelo de regressão linear múltipla e teste F. GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, SRQ = soma residual dos quadrados, AIC = critério de informação de Akaike, F = teste F, p = nível de significância. F = 8,47; R<sup>2</sup> = 0,62; p < 0,001.

	<b>Coeficiente</b>	<b>Erro Padrão</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>SRQ</b>	<b>AIC</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Modelo					28,42	13,20		
(Intercepto)	-15,33	0,24	1					
SAVI <sub>APR</sub>	1,13	0,32	1	17,85	46,27	23,39	12,56	< 0,01
%C	-0,99	0,43	1	7,42	35,84	17,00	5,22	< 0,05
silte	0,99	0,28	1	17,51	45,93	23,21	12,32	< 0,01
SM <sub>AF</sub>	1,10	0,32	1	15,88	44,30	22,30	11,17	< 0,01

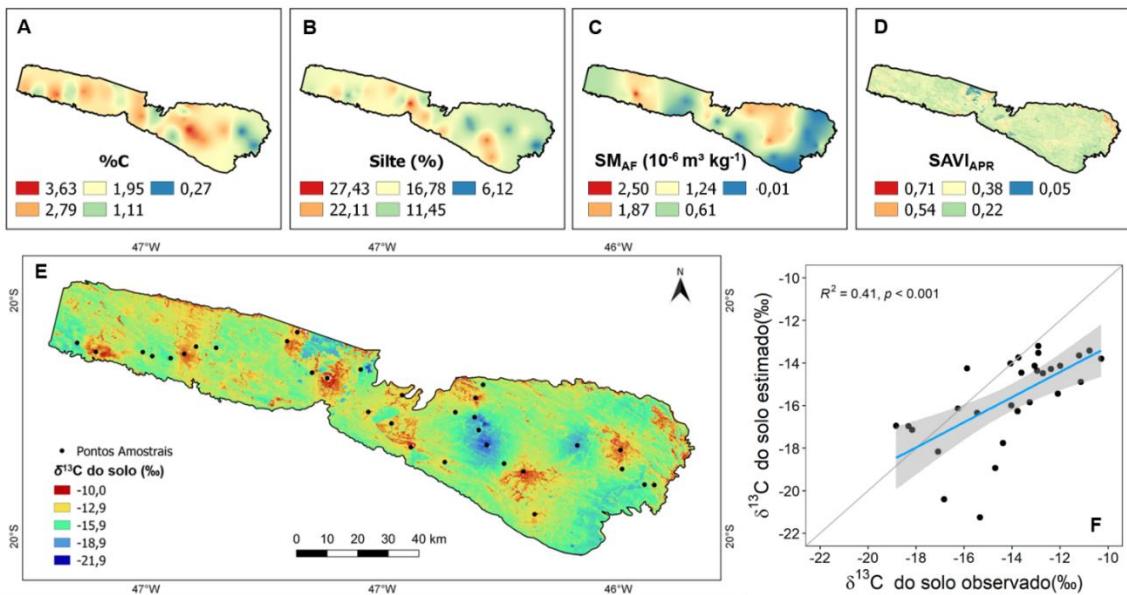
### 3.2. Modelo espacial isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ no solo

Foi realizada uma krigagem ordinária de modelo esférico para %C, silte e SM<sub>AF</sub>. O intuito dessa krigagem foi estruturar uma base de dados de entrada em formato *raster* para todas as variáveis explicativas do modelo de regressão, a fim de aplicar a equação da regressão e gerar um modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo da Serra da Canastra. Os parâmetros de alcance, patamar e efeito pepita utilizados para o ajuste do semivariograma e os valores do RMSE para cada uma das krigagens ordinárias podem ser visualizados na Tabela 3.2 (para maiores detalhes, ver Material Suplementar S4).

**Tabela 3.2.** Parâmetros utilizados para o ajuste do semivariograma de modelo esférico utilizado para a elaboração da krigagem ordinária das variáveis ambientais e RMSE calculado a partir da validação cruzada dos resultados das krigagens.

	<b>Alcance</b>	<b>Patamar</b>	<b>Efeito Pepita</b>	<b>RMSE</b>
<b>%C</b>	0,038	0,883	0	3,61
<b>Silte</b>	0,041	0,042	0	22,5
<b>SM<sub>AF</sub></b>	0,036	15,937	0,55	3,16

A partir da organização das variáveis ambientais em *raster*, foi aplicada a equação da regressão e gerado um mapa de distribuição do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo da Serra da Canastra (Fig. 3.3). Os valores estimados variaram entre -22‰ e -10‰, com maior concentração de distribuição na faixa entre -16‰ e -13‰. Também é possível observar um suave padrão de distribuição com redução dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  de oeste para leste. A regressão linear entre valores de  $\delta^{13}\text{C}$  do solo observados e estimados apresentou uma relação significativa ( $R^2 = 0,41$ ;  $p < 0,001$ ). Entretanto, a distância da inclinação da linha de regressão em relação a linha 1:1 não foi significativa (Coeficiente =  $6,437 \cdot 10^{-17}$ ;  $p > 0,05$ ).



**Fig. 3.3.** Krigagem ordinária das variáveis ambientais: %C (A); silte (B), SM<sub>AF</sub> (C). SAVI<sub>APR</sub>, proveniente do Landsat 8/OLI (D). Mapa de distribuição do δ<sup>13</sup>C no solo da Serra da Canastra, gerado a partir da equação obtida no ajuste de modelo da regressão linear múltipla. (E). Regressão linear entre valores de δ<sup>13</sup>C no solo estimados e observados (F). A linha cinza representa a linha 1:1. A linha azul representa a linha da regressão. O espaço cinza representa o intervalo de confiança de 95%.

$$\delta^{13}\text{C do solo} = 1,1370 * \text{SAVI}_{\text{APR}} - 0,9948 * \% \text{C} + 0,9914 * \text{silte} + 1,1008 * \text{SM}_{\text{AF}} - 15,3388$$

#### 4. Discussão

O ajuste do modelo de regressão linear múltipla apontou que a variação nos valores de δ<sup>13</sup>C no solo da Serra da Canastra pode ser explicada por atributos do solo (%C, silte e SM<sub>AF</sub>) e índice de vegetação (SAVI<sub>APR</sub>). A vegetação influencia a distribuição dos valores de δ<sup>13</sup>C através dos processos fotossintéticos e da produção primária (Still et al., 2003), e é uma variável importante para modelos preditivos dos valores de δ<sup>13</sup>C no solo, pois os solos tendem a exemplificar a composição isotópica da vegetação (Ehleringer et al., 2000). Dados de cobertura da terra e índices de vegetação têm sido aplicados em modelos preditivos da distribuição espacial dos valores de δ<sup>13</sup>C, como por exemplo a estimativa do δ<sup>13</sup>C no solo para o Cerrado (Neves et al., 2021), a estimativa de δ<sup>13</sup>C nas folhas e no solo da América do Sul (Powell et al., 2012), e a estimativa de δ<sup>13</sup>C na vegetação da África (Still and Powell, 2010).

Entretanto, esses trabalhos utilizaram dados de fração da cobertura vegetal e NDVI como dados de entrada dos modelos preditivos. Na Serra da Canastra, o índice de vegetação incorporado no modelo foi o SAVI. Isso ocorre devido ao SAVI ser uma modificação do NDVI com o foco em minimizar os efeitos da variabilidade e da

densidade da vegetação, melhorando a avaliação de regiões com cobertura vegetal menos densa (Huete, 1988). A incorporação do SAVI para a Serra da Canastra é coerente com a composição da vegetação da região, que possui mais de 70% da sua área coberta por vegetação campestre (Couto Junior et al., 2010).

Dentro do grupo de variáveis do solo incorporadas no modelo, %C está associado aos processos de fotossíntese e decomposição da matéria orgânica do solo e, consequentemente, são refletidos nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo (Boutton et al., 1998; Ehleringer et al., 2000). %C apresentou uma influência negativa em relação ao  $\delta^{13}\text{C}$  no solo no modelo (coeficiente de regressão = -0,99). Essa relação também é mostrada por Bai et al. (2012), que observaram uma relação negativa entre o estoque de carbono e o  $\delta^{13}\text{C}$  no solo, principalmente causado devido a entrada de matéria orgânica proveniente de plantas lenhosas em ambientes campestres. Por mais que a Serra da Canastra tenha uma estrutura vegetal composta por gramíneas C<sub>4</sub>, espécies arbóreas e arbustivas C<sub>3</sub> também são presentes nas fitofisionomias de Campo Limpo e Campo Sujo (Ribeiro and Walter, 2008) e influenciam nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo.

Silte e SM<sub>AF</sub> apresentaram uma influência positiva em relação ao  $\delta^{13}\text{C}$  no solo no modelo de regressão múltipla (coeficiente de regressão = 0,99 e 1,10, respectivamente). Alguns estudos mostram que, em escala local, a textura do solo é uma variável explicativa para a distribuição espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo (Bai et al., 2009, 2012). A susceptibilidade magnética está relacionada com a assinatura magnética dos minerais presentes no solo e nas rochas. Nos solos da Serra da Canastra, a susceptibilidade magnética possui uma correlação negativa com hidróxido de alumínio e óxidos de ferro decorrente do grau de intemperismo elevado. Entretanto, em Cambissolos localizados em ambiente mais dissecado, a fração silte contribui para explicar os processos de evolução pedogeomorfológica (Vasconcelos et al., 2013).

Modelos espaciais isotópicos têm sido elaborados em escalas mais amplas a partir da inserção de dados contínuos das variáveis preditoras dos modelos, como no caso do modelo espacial isotópico de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo do bioma Cerrado (Neves et al., 2021) e o modelo espacial isotópico de  $\delta^{15}\text{N}$  no solo para a América do Sul (Sena-Souza et al., 2020). Entretanto, os dados utilizados nesses estudos apresentaram resolução espacial incompatível para estudos em escala local. Para isso, é importante que trabalhos que possuam o foco em escalas detalhadas estabeleçam um desenho amostral que considere não apenas a coleta de dados isotópicos, mas que também possibilite a estruturação de modelos geoestatísticos para interpolação das variáveis ambientais.

A distância não significativa da linha de regressão em relação a linha 1:1 aponta que o modelo estimado ainda não possui poder explicativo suficiente para validação da *isoscapes* de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo. Entretanto, a relação entre valores observados e estimados é significativa ( $R^2 = 0,41$ ;  $p < 0,001$ ) o que indica potencial da aplicação dessa abordagem.

## 5. Conclusão

A análise de regressão linear múltipla foi capaz de ajustar um modelo explicativo para as variações do  $\delta^{13}\text{C}$  no solo ( $R^2 = 0,62$ ) tendo como variáveis explicativas a concentração de carbono no solo, teor de argila no solo, susceptibilidade magnética em alta frequência e o índice de vegetação ajustado ao solo (SAVI). O modelo estimado de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo elaborado neste trabalho, apresentou um intervalo de valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -22‰ e -10‰ e uma relação significativa entre valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no solo observados e estimados.

Essa abordagem apresenta potencial para modelagem espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  associado aos atributos do solos e índices de vegetação. Para novos estudos é necessário estabelecer um adensamento amostral que possibilite não apenas o levantamento de dados isotópicos, mas que melhore as interpolações das variáveis ambientais que alimentam os modelos de predição. Esses modelos isotópicos podem servir de base de entrada para estudos ecológicos e forenses.

## Material Suplementar

Environmental Isotope Studies, EIS (2021), “Variação Espacial do  $\delta^{13}\text{C}$  no Solo para a Serra da Canastra/MG”, Mendeley Data, V1, doi: 10.17632/mkjdcpfcm7.1  
<https://data.mendeley.com/datasets/mkjdcpfcm7/1>.

## Agradecimentos

Glauber das Neves recebeu bolsa de doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Código financeiro 001. As análises laboratoriais foram financiadas pelo projeto número 23038.006832/2014-11 – Edital CAPES 25/2014 – Pró-Forense. Os autores dedicam o trabalho em memória do Prof. Dr. Antonio Felipe Couto Junior.

## Referências

- Akaike, H., 1974. A New Look at the Statistical Model Identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19, 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>
- Bai, E., Boutton, T.W., Ben Wu, X., Liu, F., Archer, S.R., 2009. Landscape-Scale vegetation dynamics inferred from spatial spattersns of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in a subtropical savanna parkland. *J. Geophys. Res. Biogeosciences* 114, 1–10. <https://doi.org/10.1029/2008JG000839>
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, X. Ben, Hallmark, C.T., Archer, S.R., 2012. Spatial variation of soil  $\delta^{13}\text{C}$  and its relation to carbon input and soil texture in a subtropical lowland woodland. *Soil Biol. Biochem.* 44, 102–112. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.013>
- Boutton, T.W., Archer, S.R., Midwood, A.J., Zitzer, S.F., Bol, R., 1998.  $\delta^{13}\text{C}$  values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. *Geoderma* 82, 5–41. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00095-5)
- Camargo, O.A., Moniz, A.C., Jorge, J.A., Valadares, J.M.A., 2009. Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas. Bol. técnico 106, 77 p.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389, 153–158. <https://doi.org/10.1038/38229>
- Cerling, T.E., Quade, J., Wang, Y., Bowman, J.R., 1989. Carbon isotopes in soils and palaeosols as ecology and palaeoecology indicators. *Nature* 341, 138–139. <https://doi.org/10.1038/341138a0>
- Chapin, F.S., Matson, P.A., Vitousek, P., 2011. Principles of terrestrial ecosystem ecology, Springer. ed, Tạp chí Khoa học Đại học Huế. New York.
- Couto Junior, A.F., Souza, V.V. de, Carvalho Júnior, O.A. de, Martins, É.D.S., Santana, O.A., Freitas, L.F., Gomes, R.A.T., 2010. Integração de parâmetros morfométricos e imagem aster para a delimitação das fitofisionomias da Serra da Canastra, Parque Nacional da Serra da Canastra, MG. *Rev. Bras. Geomorfol.* 11, 57–68. <https://doi.org/10.20502/rbg.v11i1.142>
- Dawson, T.D., Mambelli, S., Plamboek, A.H., Templer, P.H., Tu, K.P., 2002. Stable isotopes in plant ecology. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 33, 507–559. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.020602.095451>
- Ehleringer, J.R., Bowling, D.R., Flanagan, L.B., Fessenden, J., Helliker, B., Martinelli, L.A., Ometto, J.P., 2002. Stable isotopes and carbon cycle processes in forests and grasslands. *Plant Biol.* 4, 181–189. <https://doi.org/10.1055/s-2002-25733>
- Ehleringer, J.R., Buchmann, N., Flanagan, L.B., 2000. Carbon Isotope Ratios in

Belowground Carbon Cycle Processes. Ecol. Appl. 10, 412.  
<https://doi.org/10.2307/2641103>

Galetti, M., Guevara, R., Neves, C.L., Rodarte, R.R., Bovendorp, R.S., Moreira, M., Hopkins, J.B., Yeakel, J.D., 2015. Defaunation affect population and diet of rodents in Neotropical rainforests. Biol. Conserv. 190, 2–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.04.032>

Huete, A.R., 1988. A soil-adjusted vegetation index (SAVI). Remote Sens. Environ. 25, 295–309. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257\(88\)90106-X](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257(88)90106-X)

Jenny, H., 1941. Factors of Soil Formation: A System of Quantitative Pedology, Foreword by Ronald Amundson. Dover Publications, New York.  
<https://doi.org/10.2307/211491>

Kusaka, S., Ishimaru, E., Hyodo, F., Gakuhami, T., Yoneda, M., Yumoto, T., Tayasu, I., 2016. Homogeneous diet of contemporary Japanese inferred from stable isotope ratios of hair. Sci. Rep. 6, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep33122>

Lal, R., 2013. Intensive Agriculture and the Soil Carbon Pool. J. Crop Improv. 27, 735–751. <https://doi.org/10.1080/15427528.2013.845053>

Li, J., Wang, G., Liu, Xianzhao, Han, J., Liu, M., Liu, Xiaojuan, 2009. Variations in carbon isotope ratios of C3 plants and distribution of C4 plants along an altitudinal transect on the eastern slope of Mount Gongga. Sci. China, Ser. D Earth Sci. 52, 1714–1723. <https://doi.org/10.1007/s11430-009-0170-4>

Martinelli, L.A., Ometto, J.P.H.B., Ferraz, E.S., Victoria, R.L., Camargo, P.B., Moreira, M.Z., 2009. Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis. Editora Oficina de Textos.

Nardoto, G.B., Silva, S., Kendall, C., Ehleringer, J.R., Chesson, L.A., Ferraz, E.S.B., Moreira, M.Z., Ometto, J.P.H.B., Martinelli, L.A., 2006. Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. Am. J. Phys. Anthropol. 131, 137–146. <https://doi.org/10.1002/ajpa.20409>

Neves, G. das, Sena-Souza, J.P., Santos, F.L. de S., Sano, E.E., Nardoto, G.B., Couto Junior, A.F., 2021. Spatial distribution of soil  $\delta^{13}\text{C}$  in the central Brazilian savanna. J. Environ. Manage. 300. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113758>

Ometto, J.P.H.B., Ehleringer, J.R., Domingues, T.F., Berry, J.A., Ishida, F.Y., Mazzi, E., Higuchi, N., Flanagan, L.B., Nardoto, G.B., Martinelli, L.A., 2006. The stable carbon and nitrogen isotopic composition of vegetation in tropical forests of the Amazon Basin, Brazil. Biogeochemistry 79, 251–274.  
<https://doi.org/10.1007/s10533-006-9008-8>

Pan, S., Zhang, W., Zhao, M., Li, Y., Xu, S., Wang, G., 2015. Altitude patterns of leaf carbon isotope composition in a subtropical monsoon forest. Polish J. Ecol. 63, 512–522. <https://doi.org/10.3161/15052249PJE2015.63.4.004>

- Peri, P.L., Ladd, B., Pepper, D.A., Bonser, S.P., Laffan, S.W., Amelung, W., 2012. Carbon ( $\delta$  13C) and nitrogen ( $\delta$  15N) stable isotope composition in plant and soil in Southern Patagonia's native forests. *Glob. Chang. Biol.* 18, 311–321. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02494.x>
- Powell, R.L., Yoo, E.-H., Still, C.J., 2012. Vegetation and soil carbon-13 isoscapes for South America: integrating remote sensing and ecosystem isotope measurements. *Ecosphere* 3, art109. <https://doi.org/10.1890/es12-00162.1>
- R Core Team, 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Found. Stat. Comput.
- Rao, Z., Guo, W., Cao, J., Shi, F., Jiang, H., Li, C., 2017. Relationship between the stable carbon isotopic composition of modern plants and surface soils and climate: A global review. *Earth-Science Rev.* 165, 110–119. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2016.12.007>
- Ribeiro, J.F., Walter, B.M.T., 2008. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado in: Sano, S. M.; de Almeida, S. P., Ribeiro, J. F. Cerrado Ecologia e Flora. Embrapa Cerrados-Capítulo em livro científico 151–199.
- Salemi, L.F., Rafaela, S., Lins, M., Ravagnani, E.D.C., Frosini, S., Ferraz, D.B., Martinelli, L.A., 2016. Past and present land use influences on tropical riparian zones: an isotopic assessment with implications for riparian forest width determination. *Biota Neotrop.* 16, 1–8. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2015-0133>
- Salgado, S.S., Motta, P.C., de Souza Aguiar, L.M., Nardoto, G.B., 2014. Tracking dietary habits of cave arthropods associated with deposits of hematophagous bat guano: A study from a neotropical savanna. *Austral Ecol.* 39, 560–566. <https://doi.org/10.1111/aec.12116>
- Sena-Souza, J.P., Costa, F.J.V., Nardoto, G.B., 2019. Background and the use of isoscapes in the Brazilian context: essential tool for isotope data interpretation and natural resource management. *Rev. Ambient. e Agua* 14, 1–27. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2282>
- Sena-Souza, J.P., Houlton, B.Z., Martinelli, L.A., Bielefeld Nardoto, G., 2020. Reconstructing continental-scale variation in soil  $\delta$ 15N: a machine learning approach in South America. *Ecosphere* 11. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3223>
- Still, C.J., Berry, J.A., Collatz, G.J., DeFries, R.S., 2003. Global distribution of C3 and C4 vegetation: Carbon cycle implications. *Global Biogeochem. Cycles* 17. <https://doi.org/10.1029/2001gb001807>
- Still, C.J., Powell, R.L., 2010. Continental-scale distributions of vegetation stable carbon isotope ratios, in: West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P. (Eds.), *Isoscapes: Understanding Movement, Pattern, and Process on Earth Through Isotope Mapping*. pp. 179–194. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3>

Teixeira, P.C., Donagemma, G.K., Fontana, A., Teixeira, W.G., 2017. Manual de métodos de análise de solo, 3<sup>a</sup> Edição. ed. Brasília - DF.

Vasconcelos, V., Carvalho Junior, O.A., Martins, E.S., Couto Junior, A.F., 2015. The Canastra Range: on the way to São Francisco River Spring, in: Vieira, B.C., Salgado, A.A.R., Santos, L.J.C. (Eds.), Landscapes and Landforms of Brazil. Springer, pp. 349–357. <https://doi.org/http://10.1007/978-94-017-8023-0>

Vasconcelos, V., Martins, É.D.S., Carvalho Júnior, O.A. de, Marques Júnior, J., Siqueira, D.S., Couto Júnior, A.F., Guimarães, R.F., Gomes, R.A.T., Reatto, A., 2013. Modelo de evolução pedogeomorfológica da Serra Da Canastra, MG. Rev. Bras. Geomorfol. 14. <https://doi.org/10.20502/rbg.v14i2.379>

Wang, L., D'Odorico, P., Ries, L., Macko, S.A., 2010. Patterns and implications of plant-soil  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values in African savanna ecosystems. Quat. Res. 73, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2008.11.004>

West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E., Tu, K.P., 2010. Isoscapes: understanding movement, pattern, and process on Earth through isotope mapping. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3>

Yang, Y., Ji, C., Chen, L., Ding, J., Cheng, X., Robinson, D., 2015. Edaphic rather than climatic controls over  $^{13}\text{C}$  enrichment between soil and vegetation in alpine grasslands on the Tibetan Plateau. Funct. Ecol. 29, 839–848. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12393>

Zhao, Y., Wu, F., Fang, X., Yang, Y., 2017. Altitudinal variations in the bulk organic carbon isotopic composition of topsoil in the Qilian Mountains area, NE Tibetan Plateau, and its environmental significance. Quat. Int. 454, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.quaint.2017.08.045>

## ANEXO – Script para ajuste do modelo de regressão linear múltipla

```
##### INSTALAÇÃO DOS PACOTES #####
```

```
install.packages("corrplot")
install.packages("caret")
install.packages("lares")
install.packages("factoextra")
install.packages("leaps")
install.packages("raster")
install.packages("MASS")
install.packages("gstat")
install.packages("ncf")
install.packages("sp")
install.packages("gridExtra")
install.packages("ggpmisc")
install.packages("ggpubr")
```

```
##### ABERTURA DOS PACOTES #####
```

```
library(corrplot)
library(caret)
library(lares)
library(factoextra)
library(leaps)
library(raster)
library(MASS)
library(gstat)
library(ncf)
library(sp)
library(gridExtra)
library(ggpmisc)
library(ggpubr)
```

```
##### IMPORTAÇÃO DA BASE DE DADOS #####
```

```
(dados<-read.table("base_dados.txt", header=T))
summary(dados)
```

```
##### TESTE DE CORRELAÇÃO LINEAR #####
```

```
v<-data.frame(dados[4:43]) #selecione todas as colunas do seu conjunto de dados a serem testadas.
cor_var<-corr_var(v,variavel_resposta, method = "spearman", plot =F, top = 43,
```

```

max_pvalue = 0.05)
cor_var$variables

##### TESTE DE MULTICOLINEARIDADE #####
par(mfrow=c(1,1))
corrplot(cor(variaveis_preditoras), order="hclust", method=c("circle"), type="lower")
allCor<-findCorrelation(cor(variaveis_preditoras),cutoff=0.70)
var.final<-subset(variaveis_preditoras,select=c(-allCor))
corrplot(cor(var.final), order="hclust", method=c("circle"), type="lower")

db.final<-data.frame(dados$latitude, dados$longitude, variavel_resposta, var.final)

```

#### ##### ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA #####

### Dividindo a base de dados em grupo de treinamento e validação ###

```

inTrain<-createDataPartition(y=db.final$variavel_resposta, p=0.75, list=FALSE)
training<-db.final[inTrain,]
validation<-db.final[-inTrain,]
write.csv(training, file=" training.csv")
write.csv(validation, file=" validation.csv")

training<-read.csv("training.csv",header=T)
validation<-read.csv("validation",header=T)

training<-training[,-1]
validation<-validation[,-1]

training.coord<-training[,1:2]
training<- training[,-1:-2]

```

### Ajustando o modelo de regressão linear múltipla ###

```

modelo <- lm(variável_resposta~, data=training)
summary(modelo)

drop1(modelo, test="F")

```

#### ##### APLICAÇÃO DA EQUAÇÃO DA REGRESSÃO LINEAR #####

### Carregar arquivos raster ###

```

preditor1 = raster("endereço_do_arquivo_raster")
#Exemplo raster("E:\\Banco de dados\\RECORTE_CERRADO\\bio17.tif")
#carregar todos os arquivos raster selecionados no ajuste do modelo

### Reamostragem dos dados e padronização da resolução espacial dos dados ###

pred1 = resample(raster_a_ser_reamostrado,raster_base_da_reamostragem)

### Aplicando a equação ###
# a equação é gerada a partir dos coeficientes de regressão do modelo linear

resultado=coeficiente_pred1*raster_pred1+coeficiente_pred2*raster_pred2...
+coeficiente_predn*raster_predn+coeficiente_intercepto

##### VALIDAÇÃO DO MODELO #####
##### Teste de Normalidade dos Resíduos #####
Shapiro.test(modelo$residuals)

##### Correlograma do Índice de Moran #####
d13c.resid<-data.frame(training.coord$latitude,
                           training.coord$longitude,
                           modelo$residuals)
colnames(d13c.resid)<-c("y", "x", "residuals")
coord <- data.frame(d13c.resid$x, d13c.resid$y)

## Salvando os resíduos com as coordenadas para fazer um mapa dos valores dos resíduos

write.csv(d13c.resid, "residuals_xy.csv")

ncf.cor<-correlog(d13c.resid[,2],d13c.resid[,1],d13c.resid$residuals,
                    increment = 0.70, resamp = 1000, quiet = T)
plot(ncf.cor, xlab="Class of Distance", ylab= "Residuals Moran's Index")
abline(h = 0, lty = 2)

### Regressão entre valores observados e estimados ###

testing<-validation[,2:4] #selecionar coluna com longitude, latitude e variável resposta

spatial.testing<-SpatialPointsDataFrame(testing[,c("x","y")], testing)
testing.model<-extract(resultado, spatial.testing, method='bilinear',
                       buffer=NULL,na.rm=TRUE)
model.valid<-data.frame(testing,testing.model)
colnames(model.valid)<-c("y", "x", "obs.d13c", "pred.d13c")

```

```
write.csv(model.valid,file="model.valid")
model.valid <- read.csv("model.valid.csv", header = T)

summary(lm(model.valid$pred.d13c~model.valid$obs.d13c))
```