

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Arroz e Feijão
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 38

Aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo e médio na avaliação da biomassa microbiana do solo

Tatiana Maris Ferraresi
Enderson Petrônio de Brito Ferreira
Wilson Tadeu Lopes da Silva
Ladislau Martin Neto

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Arroz e Feijão

Rodovia GO 462 - Km 12 - Zona Rural - Caixa Postal 179

75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO

Fone: (62) 3533 2123

Fax: (62) 3533 2100

www.cnpaf.embrapa.br

sac@cnpaf.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Camilla Souza de Oliveira*

Secretário-Executivo: *Luiz Roberto Rocha da Silva*

Membros: *Flávia Aparecida de Alcântara*

Luís Fernando Stone

Ana Lúcia Delalibera de Faria

Heloísa Célis Breseghello

Roselene de Queiroz Chaves

Henrique César de Oliveira Ferreira

Raquel Neves de Mello

Murillo Lobo Junior

Supervisão editorial: *Camilla Souza de Oliveira*

Revisão de texto: *Camilla Souza de Oliveira*

Normalização bibliográfica: *Ana Lúcia D. de Faria*

Tratamento de ilustrações: *Fabiano Severino*

Editoração eletrônica: *Fabiano Severino*

1ª edição

Versão online (2012)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Arroz e Feijão

Aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo e médio na avaliação da biomassa microbiana do solo / Tatiana Maris Ferraresi ... [et al]. – Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2012.

36 p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9601 ; 38)

1. Biomassa. 2. Recurso energético. 3. Microbiologia do solo. I. Ferraresi, Tatiana Maris. II. Embrapa Arroz e Feijão. III. Série.

CDD 333.9539 (21. ed.)

© Embrapa 2012

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	7
Introdução.....	9
Material e Métodos.....	11
Resultados e discussão	17
Modelos de calibração	22
Conclusões.....	30
Referências	30

Aplicação da espectroscopia no infravermelho próximo e médio na avaliação da biomassa microbiana do solo

Tatiana Maris Ferraresi¹

Enderson Petrônio de Brito Ferreira²

Wilson Tadeu Lopes da Silva³

Ladislau Martin Neto⁴

Resumo

A biomassa microbiana tem sido um bom indicador da qualidade do solo devido à sua importante participação nos ciclos biogeoquímicos e à sua interação com a matéria orgânica e minerais presentes no solo. O método comumente utilizado em laboratório para sua determinação é o proposto por Vance et al. (1987), que envolve processos de fumigação e extração, além etapas de preparação de amostras. Por outro lado, a espectroscopia de infravermelho tem sido proposta para a análise de solos e produtos agrícolas, em substituição aos métodos clássicos, pela economia de tempo e custo. Entretanto, a utilização da espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) e médio (DRIFTS) nas análises de solos depende da construção de modelos preditivos que correlacionem os dados espectroscópicos com os valores obtidos com um método de referência. Desse modo, para avaliar a aplicabilidade dessas técnicas na determinação de carbono microbiano (CMIC), nitrogênio

¹ Farmacêutica, Mestre em Química Analítica, analista da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, tatiana@cnpaf.embrapa.br

² Engenheiro agrônomo, Doutor em Fitotecnia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO, enderson@cnpaf.embrapa.br

³ Químico, PhD em Química Analítica, pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP, wilson@cnpdia.embrapa.br

⁴ Físico, PhD em Ciências Ambientais, pesquisador da Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP, martin@cnpdia.embrapa.br

microbiano (NMIC) e respiração basal do solo (RB), foram utilizadas amostras provenientes da Fazenda Capivara, pertencente à Embrapa Arroz e Feijão (CNPAF), em Santo Antônio de Goiás-GO, e da Fazenda Canchim, pertencente à Embrapa Pecuária Sudeste (CPPSE), em São Carlos-SP. Os dados de biomassa obtidos com o método utilizado como referência (fumigação-extração) foram correlacionados com os dados de absorvância em infravermelho pelo método PLS (*Partial Least Squares*), em dois subgrupos amostrais segundo a localidade (CNPAF e CPPSE), assim como em todas as amostras. Os testes de validação dos modelos de regressão construídos confirmaram que há relação quantitativa entre os espectros de infravermelho e os parâmetros de biomassa microbiana, sendo os coeficientes de regressão máximos encontrados iguais a 0,82 para CMIC; 0,76 para NMIC e 0,70 para RB.

Termos para indexação: carbono microbiano, nitrogênio microbiano, respiração basal do solo, NIRS, DRIFTS.

Application of near and medium infrared spectroscopy in the assessment of soil microbial biomass

Abstract

Soil microbial biomass has been a good indicator of soil quality due to its important role in biogeochemical cycles and its interaction with organic matter and minerals in the soil. The method commonly used in the laboratory for measuring microbial biomass is that proposed by Vance et al. (1987), which involves fumigation and extraction processes and several steps of sample preparation. On the other hand, infrared spectroscopy has been proposed for the analysis of soils and agricultural products to replace traditional methods for saving time and cost. However, the use of near infrared spectroscopy (NIRS) and medium (DRIFTS) depends on the construction of predictive models that correlate the spectroscopic data with those obtained by a reference method. Thereby, to evaluate the applicability of these techniques in quantifying microbial carbon (CMIC), microbial nitrogen (NMIC) and soil basal respiration (RB) samples were used from the Embrapa Arroz and Feijão (CNPAF), Santo Antônio de Goiás-GO, and Embrapa Pecuária Sudeste (CPPSE), São Carlos-SP. Microbial biomass resulted from reference method (fumigation-extraction) were correlated with infrared absorbance data by PLS method (Partial Least Squares) on two groups of samples, selected by sampling site (CNPAF and CPPSE), as well as in all samples. Tests for validation of predictive models showed that there

is a quantitative relationship between the infrared spectra and parameters of microbial biomass achieving maximum regression coefficients of 0,82 for CMIC; 0,76 for NMIC and 0,70 for RB.

Index terms: *microbial carbon, microbial nitrogen, basal respiration of soil, NIRS, DRIFTS.*

Introdução

A determinação dos conteúdos de carbono e nitrogênio de origem microbiana tem sido muito utilizada na avaliação de impactos ambientais e de fertilidade de solos. Isto se deve principalmente ao importante papel reciclador desempenhado pelas comunidades microbianas, que proporciona às culturas agrícolas uma maior disponibilidade de nutrientes (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006). Além disso, como produtos da organização dessas populações e de sua interação com a matéria orgânica e argilas, surgem os macro e microagregados, que permitem uma adequada aeração e retenção de água no solo (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; CANELLAS et al., 2008). Assim, o equilíbrio das interações entre plantas, matéria orgânica, microrganismos e solo sustentam econômica e ambientalmente a produção agrícola.

O termo biomassa microbiana designa o conjunto de todos os microrganismos maiores que $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ (JENKINSON; LADD, 1981), que engloba fungos e bactérias, e tem sido determinada por métodos químicos tradicionais. Fungos e bactérias são os protagonistas desses microambientes; contudo, desempenham funções diferenciadas. Enquanto as bactérias, alojadas nos microporos, cumprem principalmente a última etapa da degradação da matéria orgânica - a mineralização; os fungos têm a capacidade de utilizar fontes mais complexas de carbono contendo lignina e contribuem para a formação dos macroagregados (SESSITSCH et al., 2001).

A atividade desses microrganismos no solo pode ser percebida através da sua respiração, ou seja, pelos volumes de CO_2 liberados pelo solo (respiração basal), que se devem principalmente à sua atividade metabólica (BALOTA et al., 1998). Já a quantificação da biomassa significa estimar o potencial microbiano de um solo e sua capacidade de transformação (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006).

O procedimento para a quantificação da biomassa descrito por Vance et al. (1987), denominado fumigação-extração, é referência no Brasil desde

2004 (ROSCOE et al., 2006) e envolve a extração da fração lábil da matéria orgânica (moléculas como aminoácidos, carboidratos, peptídeos e ácidos orgânicos), após a fumigação com clorofórmio. Os extratos obtidos são submetidos à quantificação de carbono orgânico por dicromatometria e de nitrogênio pelo método de Kjeldahl. Embora esse procedimento seja amplamente aceito, existem pontos negativos que o inviabilizam, tais como: a demora na preparação das amostras, o dispêndio na compra de reagentes e a poluição gerada pelos resíduos das análises.

A possibilidade de determinar parâmetros do solo através da espectroscopia de infravermelho vem sendo estudada desde 1995 (BEN-DOR; BANIN, 1995), como uma alternativa às metodologias correntes de análise, pois oferece vantagens como: operacionalidade, necessidade de pequena quantidade de amostra e minimização drástica do resíduo gerado. A espectroscopia de infravermelho possibilita a análise de um número muito maior de amostra a custo e tempo reduzidos, facilitando a amostragem de áreas experimentais heterogêneas de forma representativa. A agricultura de precisão se beneficia com este aumento na capacidade de análise de solo, considerando-se que já existem equipamentos portáteis para uso *in loco* que operam na região do infravermelho próximo.

Graças aos avanços tecnológicos, a espectroscopia de infravermelho, em sinergia com técnicas quimiométricas, fornece hoje um meio efetivo para análises de misturas complexas sem a necessidade de qualquer separação prévia de seus componentes (BLANCO et al., 1995).

A região do infravermelho médio (DRIFTS) já foi mais extensamente estudada que a região do infravermelho próximo (NIRS) quanto à absorção de compostos orgânicos, sendo possível identificar em tais espectros bandas referentes à absorção de diversos grupos funcionais de compostos orgânicos: ácidos carboxílicos, amidas, alquilas e aromáticos (VISCARRA-ROSSEL et al., 2006). Bandas intensas podem ser observadas em 3.400 cm^{-1} (hidroxilas), 1.630 cm^{-1} (carboxilatos e aromáticos), 2.920 cm^{-1} (alifáticos) e 1.450 cm^{-1} (amidas secundárias) (GERZABEK et al., 2006).

Aparentemente, o espectro DRIFTS é mais informativo que aquele obtido por NIRS, que contem bandas em menor quantidade e resolução, referentes aos tons, sobretons e combinações das vibrações de C-H, N-H e O-H. No entanto, deve-se destacar que os componentes inorgânicos como a sílica, que são predominantes no solo e dificultam a identificação de bandas características de compostos orgânicos, não absorvem na região do infravermelho próximo, mas sim no infravermelho médio (MADARI et al., 2005).

Assim, o objetivo deste trabalho foi construir modelos para a predição da biomassa microbiana nos solos de duas fazendas experimentais da Embrapa, a partir de espectros de infravermelho, utilizando-se a ferramenta quimiométrica PLS (*Partial Least Squares*), e comparar as precisões dos modelos multivariados obtidos com as regiões espectrais NIRS e DRIFTS na predição da biomassa microbiana.

Material e Métodos

Áreas de estudo

A fazenda Canchim, da Embrapa Pecuária Sudeste (ou CPPSE – Centro Nacional de Pesquisa em Pecuária Sudeste), está localizada no Município de São Carlos-SP entre as coordenadas geográficas 21°55' e 22°00' Sul e 47°48' e 47°52' Oeste e tem um área de 2.668 ha, dos quais 1.390 ha são destinados a áreas de preservação ambiental (PRIMAVESI et al., 2008). O clima da região é classificado, segundo o sistema Köppen, como de transição entre Cwa-Awa, com uma estação seca de abril a setembro e outra chuvosa, de outubro a março (HORA; SOARES, 2002). A unidade de solo predominante nesta fazenda é a Latossolo Vermelho distrófico típico (PRIMAVESI et al., 2008), com porções de Argissolo Vermelho e Neossolo Quartzarênico (SILVA et al., 2010).

A fazenda Capivara, da Embrapa Arroz e Feijão (ou CNPAF – Centro Nacional de Pesquisa em Arroz e Feijão), situa-se no Município de Santo

Antônio de Goiás-GO, a 16°28' e 16°31' Sul e 49°18' e 49°16' Oeste e possui uma área de 1.012 ha, dos quais pelo menos 400 ha são ocupados com mata de Cerrado. Segundo a classificação de Köppen, essa localidade apresenta clima Aw, com duas estações bem definidas, uma chuvosa (outubro - abril) e outra seca (maio - setembro). O solo predominante na região também é o Latossolo Vermelho distrófico típico (STONE et al., 2006).

Coleta de solo

Durante o ano de 2009, foram coletadas amostras superficiais de solo (0-10 cm), com trado holandês, nas duas fazendas experimentais caracterizadas.

Na fazenda Canchim (CPPSE), foram obtidas, entre os meses de maio e agosto, amostras de solo sob diferentes culturas - sorgo, milho, cana-de-açúcar, alfafa, aveia e feijão guandu – e pastagens - braquiária, mombaça, tanzânia, *coast cross*, *regnellii*, tobiatã, estrela e andropogon. Também foram amostradas áreas de Mata Atlântica e de Cerradão.

Na fazenda Capivara (CNPAF), as amostras numeradas de AF1-AF40 foram coletadas em fevereiro de 2009 em experimento com agricultura orgânica de arroz e feijão, após manejo de adubos verdes, sendo as amostras subsequentes, numeradas de AF41-AF43, provenientes de solo sob vegetação nativa de Cerrado, próximo a este experimento. O restante das amostras desta fazenda foi coletado no período de outubro a novembro de 2009, em áreas sob o cultivo orgânico de arroz, feijão, café e banana, além de áreas de experimentos com pivô central e integração lavoura-pecuária cobertas com pastagem de braquiária. Acrescentaram-se também amostras de matas ciliares, obtidas nas margens das represas próximas ao experimento agroecológico, além de outras amostras de solos com vegetação nativa de Cerrado.

O total de amostras de solo coletado foi de 171, somando-se 114 amostras do CNPAF e 57 amostras do CPPSE. Essas amostras foram passadas em peneira de 2 mm e armazenadas sob refrigeração a 4 °C até o momento da análise.

Método de referência para biomassa microbiana

O método escolhido como referência para a biomassa microbiana foi o fumigação-incubação, descrito por Vance et al. (1987). Alíquotas de 20,0 g de solo foram acondicionadas em frascos com tampas e incubadas em temperatura ambiente na ausência de luz. Para cada amostra de campo foram separadas três alíquotas que foram submetidas à fumigação com clorofórmio e três que não foram fumigadas. As amostras não-fumigadas foram incubadas juntamente com frasco contendo 10,0 mL de solução de hidróxido de potássio 0,3 mol L⁻¹ para a captação do CO₂ liberado pelos microrganismos do solo e consequente quantificação da respiração basal do solo (SILVA et al., 2007).

No sexto dia de incubação, procedeu-se a fumigação com 25 mL de clorofórmio em dessecador a vácuo e as amostras fumigadas permaneceram em atmosfera de clorofórmio por 24 h. No sétimo dia, procedeu-se a determinação da respiração basal do solo, pela titulação da solução alcalina com ácido clorídrico 0,1 mol L⁻¹ após adição de cloreto de bário 20%. Neste dia também foi realizada a extração dos componentes orgânicos dos solos fumigados e não-fumigados, utilizando-se uma solução de sulfato de potássio 0,5 mol L⁻¹. O cálculo da respiração basal foi feito segundo a equação:

$$RB = (V_B - V_A) \times C_{AC} \times N \times MMC \times PS^{-1} \times f \times d^{-1} \times h^{-1} \quad (\text{Eq. 1})$$

onde:

RB = respiração basal do solo (mg C-CO₂ Kg⁻¹ h⁻¹)

V_B = média do volume de ácido clorídrico gasto na titulação da triplicata do branco (mL)

V_A = média do volume de ácido clorídrico gasto na titulação da triplicata de amostras (mL)

C_{AC} = concentração do ácido clorídrico padronizada (mol L⁻¹)

N = número de mols de hidróxido de potássio que reage com o dióxido de carbono

MMC = massa molar do carbono igual a 12 g mol⁻¹

PS = peso seco do solo incubado

f = fator de correção do peso do solo de g para Kg igual a 1.000

d = número de dias de incubação igual a 7

h = horas de incubação por dia (24h)

O carbono e o nitrogênio microbianos foram determinados nos extratos, após digestão, por dicromatometria e pelo método Kjeldahl, respectivamente.

O CMIC e o NMIC foram determinados pela diferença entre valores obtidos para as amostras fumigadas e aqueles obtidos para as amostras não-fumigadas, conforme as fórmulas a seguir.

$$\text{CMIC} = (V_{\text{NF}} - V_{\text{F}}) \times C_{\text{SFA}} \times \text{meqC} \times C_{\text{D}} \times f_{\text{EX}} \times V_{\text{E}} \times V_{\text{A}}^{-1} \times P_{\text{S}}^{-1} \times f_{\text{U}}$$

onde:

C_{MIC} = carbono da biomassa microbiana em mg C Kg⁻¹ solo seco

V_{NF} = média do volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da triplicata de amostras não-fumigadas (mL)

V_{F} = média do volume de sulfato ferroso amoniacal gasto na titulação da triplicata de amostras fumigadas (mL)

C_{SFA} = concentração do sulfato ferroso amoniacal padronizada (mol L⁻¹)

meqC = miliequivalente do carbono igual a 1,2 mg

C_{D} = concentração do dicromato de potássio

f_{EX} = fator de rendimento da extração igual a 2,64 correspondente a 37,88%

V_{E} = volume total de solução sulfato de potássio utilizado na extração igual a 60 mL

V_{A} = volume da alíquota de extrato utilizada na quantificação do carbono igual a 8 mL

P_{S} = peso seco de solo pesado para a extração

f_{U} = fator de conversão de mg g⁻¹ para mg Kg⁻¹

$$\text{NMIC} = (V_{\text{F}} - V_{\text{NF}}) \times C_{\text{AS}} \times \text{MM}_{\text{N}} \times f_{\text{EX}} \times V_{\text{E}} \times V_{\text{A}}^{-1} \times P_{\text{S}}^{-1} \times f_{\text{U}}$$

onde:

N_{MIC} = nitrogênio da biomassa microbiana em mg C Kg⁻¹ solo seco

V_{NF} = média do volume de ácido sulfúrico gasto na titulação da triplicata de amostras não-fumigadas (mL)

V_{F} = média do volume de ácido sulfúrico gasto na titulação da triplicata de amostras fumigadas (mL)

C_{AS} = concentração do ácido sulfúrico (mol L⁻¹)

MM_{N} = massa molar do nitrogênio igual a 14 g mol

f_{EX} = fator de rendimento da extração igual a 1,85 correspondente a 54%

V_{E} = volume total de solução sulfato de potássio utilizado na extração igual a 60 mL

V_A = volume da alíquota de extrato utilizada na quantificação do carbono igual a 20 mL

P_S = peso seco de solo pesado para a extração

f_U = fator de conversão de mg g^{-1} para mg Kg^{-1}

Espectroscopia no infravermelho

Para a obtenção dos espectros de solos, as amostras foram secas ao ar, trituradas em moinho de bolas, peneiradas em malha de 0,250 mm e analisadas em espectrômetro de infravermelho próximo (10.000 a 4.000 cm^{-1}) da Perkin-Elmer, modelo Spectrum 100N, e em espectrômetro de infravermelho médio (4.000 a 400 cm^{-1}) da Varian. Foram utilizados em ambos o sistema de refletância difusa, com resolução de 16 cm^{-1} e acumulação de 32 varreduras por espectro. Dessa forma, foram obtidos espectros de refletância que em seguida foram transformados para absorbância pela equação $A = \log(1/R)$. Como pré-tratamento espectral, os espectros foram centrados na média e submetidos ao cálculo da 1ª derivada com 5 pontos.

Análise dos resultados e calibrações

Foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) com os dados de referência a fim de visualizar a distribuição das amostras frente às três propriedades quantificadas: CMIC, NMIC e RB.

Realizou-se também a regressão linear entre os espectros e os dados de referência utilizando-se o método dos mínimos quadrados parciais (PLS) para obter modelos de calibração. Este cálculo foi aplicado em 80% das amostras, ficando reservadas 20% para constituírem o grupo de amostras para a validação externa. A seleção das amostras de validação externa foi feita manualmente, a partir dos *scores da* PCA, de forma a abranger toda a variabilidade do universo amostral.

Os modelos de calibração foram validados quanto à capacidade de prever os valores de CMIC, NMIC e RB para as novas amostras. Para isso, foram utilizados dois métodos: a validação cruzada e a validação externa.

A validação cruzada foi feita concomitantemente à construção dos modelos de calibração, com os 80% das amostras. Utilizou-se o método conhecido como *leave-one-out*, em que cada amostra é retirada do cálculo PLS e predita pelo modelo construído com as demais. Já a validação externa consistiu na predição dos 20% das amostras reservadas com os modelos construídos.

Foram testados separadamente os modelos de calibração obtidos com as amostras do CNPAF, do CPPSE e com as amostras de ambas as localidades, para cada uma das técnicas (NIRS e DRIFTS).

Os parâmetros utilizados para comparar a qualidade de cada modelo de calibração nas validações cruzada e externa foram: fatores necessários na calibração (F), número de amostras, desvios-padrão de predição, erros percentuais médios de predição e coeficientes de regressão linear entre os dados preditos e medidos (R).

Para o cálculo dos erros de predição na validação cruzada utilizaram-se as fórmulas:

$$SEV = \sqrt{\frac{1}{Nvc} \sum_{i=1}^n (y - \hat{y})^2}$$

$$SEV(\%) = \frac{SEV}{\bar{y}} \times 100$$

Onde, SEV = desvio-padrão da validação cruzada; Nvc = número de amostras utilizadas na validação cruzada; y = valor medido com método de referência, \bar{y} = valor médio para y dentro do grupo amostral utilizado na calibração; \hat{y} = valor predito pelo modelo de calibração; $SEV\%$ = erro médio percentual de predição cruzada.

O erros envolvidos na validação externa (SEP e SEP%) foram calculados conforme as equações abaixo:

$$SEP = \sqrt{\frac{1}{N_{vc}} \sum_{i=1}^n (y - \hat{y})^2}$$

$$SEP (\%) = \frac{SEP}{\bar{y}} \times 100$$

Utilizaram-se os *softwares*: *OriginPro8*, para a obtenção dos gráficos espectrais, R versão 2.11.1, na análise de componentes principais, e *Pirouette* versão 3.11, na calibração multivariada (PLS).

Resultados e discussão

Caracterização dos solos e dados de referência

São apresentados na Tabela 1 os teores de carbono orgânico total, argila e areia para os solos analisados. Os dados são apresentados para grupos de amostras de solo, classificadas segundo o uso ou localidade. Os resultados de biomassa microbiana obtidos pelo método de referência são apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Caracterização dos solos quanto ao teor de carbono orgânico e granulometria.

		<i>COT (g Kg⁻¹)</i>	<i>Argila (g Kg⁻¹)</i>	<i>Areia (g Kg⁻¹)</i>
Uso do solo	Culturas	17,9 – 52,2 (23,1)	276,0 – 608,8 (476,2)	284,0 – 696,8 (442,6)
	Pastagens	2,3 – 40,6 (26,4)	96,0 – 658,8 (468,2)	224,0 – 866,8 (452,3)
	Matas	18,7 – 53,0 (37,4)	116,0 – 678,8 (438,6)	224,0 – 836,8 (497,7)
	Integração lavoura-pecuária	27,3 – 42,1 (33,9)	428,8 – 668,8 (563,2)	166,8 – 356,8 (251,2)
	Matas ciliares	19,5 – 53,8 (34,3)	236,0 – 608,8 (509,5)	296,8 – 696,8 (376,8)
Local	CNPAF	16,4 – 53,8 (28,2)	296,0 – 678,8 (580,4)	166,8 – 656,8 (316,3)
	CPPSE	2,34 – 52,3 (29,0)	96,0 – 486 (309,5)	356,8 – 866,8 (634,0)
	Todas as amostras	2,34 – 53,8 (28,5)	96 – 678,8 (475,4)	166,8 – 866,8 (439,4)

Valores médios entre parênteses.

Tabela 2. Faixa de valores para CMIC, NMIC e RB obtidas pelo método de Vance et al. (1987).

	<i>CMIC (mg Kg⁻¹)</i>	<i>NMIC (mg Kg⁻¹)</i>	<i>RB(mg C-CO₂ Kg C⁻¹ h⁻¹)</i>	
Uso do solo	Culturas	28,3 – 357,2 (235,1)	23,4 – 83,5 (36,7)	0 – 8,4 (1,2)
	Pastagens	45,4 – 476,0 (243,2)	22,1 – 193,8 (70,5)	0,49 – 5,1 (2,1)
	Matas	94,7 – 839,0 (451,5)	25,4 – 385,3 (132,2)	0,53 – 7,7 (2,7)
	Integração lavoura-pecuária	222,6 – 984,9 (544,3)	7,2 – 105,6 (72,2)	1,15 – 3,6 (2,2)
	Matas ciliares	218,5 – 434,3 (339,1)	52,4 – 110,1 (76,6)	2,64 – 6,8 (3,9)
Local	CNPAF	45,4 – 984,9 (314,0)	7,2 – 116,2 (51,9)	0 – 8,4 (2,2)
	CPPSE	28,3 – 762,8 (281,7)	23,7 – 385,3 (114,5)	0,5 – 2,8 (1,4)
	Todas as amostras	28,3 – 984,9 (304,5)	7,2 – 385,3 (71,7)	0 – 8,4 (2,0)

Valores médios entre parênteses.

Observa-se ampla faixa para CMIC nas amostras coletadas no CNPAF, com altos valores principalmente em solos de matas e integração lavoura-pecuária, tendo em vista os valores máximos relatados por Kaschuk et al. (2010) para solos do bioma cerrado cobertos com matas (1.201 mg C Kg solo⁻¹) e pastagens (500 mg C Kg solo⁻¹). Os altos teores de CMIC podem ser resultantes da textura predominantemente argilosa dessas solos, o que contribui para maiores conteúdos de matéria orgânica e maior crescimento microbiano.

Os solos do CPPSE, por sua vez, se mostraram mais ricos em nitrogênio microbiano (114,5 mg Kg⁻¹ solo em média), em comparação como os solos do CNPAF, em parte devido à adubação mineral em diversos experimentos conduzidos nessa fazenda, especialmente pastagens.

Quanto aos valores de RB, é comum detectar-se uma alta atividade microbiana em solos de mata, conforme observado neste trabalho, devido à oferta de fontes de carbono, em grande quantidade e em diversidade. A respiração basal do solo pode estar relacionada com a utilização da matéria orgânica e conseqüente liberação de nutrientes para as culturas, porém pode também indicar um distúrbio quando resulta da decomposição de compostos mais estáveis (REIS JÚNIOR; MENDES, 2007).

Na Figura 1 são mostrados os gráficos de dispersão obtidos com três componentes principais por PCA. No primeiro gráfico, tem-se PC1

versus PC2, onde se destacam os solos de matas do CPPSE com altos teores de NMIC e os solos de mata do CNPAF, com alta respiração basal. Já no gráfico de PC2 versus PC3 as amostras destacadas são aquelas provenientes do CPPSE com razões C/N microbianas mais baixas o que, de acordo com Campbell et al. (1991) e Ibomcha Singh e Yadava (2006), indica uma maior predominância de bactérias. Esses solos provavelmente apresentam uma alta biodiversidade, por estarem sob vegetação de Mata Atlântica, além de baixas taxas de respiração basal por unidade de biomassa, o que indica um alto nível de produtividade do ecossistema (REIS JÚNIOR; MENDES, 2007).

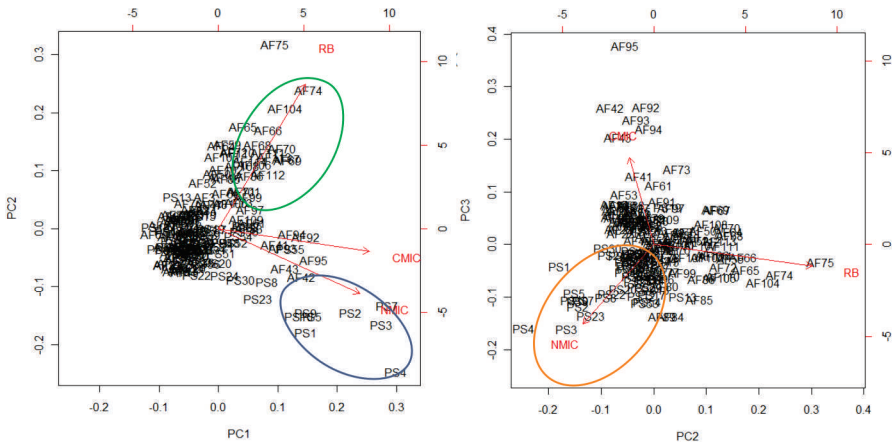


Figura 1. Gráficos de dispersão provenientes da Análise de Componentes Principais (PCA) dos dados de biomassa microbiana dos solos da Embrapa Arroz e Feijão-CNPAF (representados por AF) e Embrapa Pecuária Sudeste-CPPSE (representados por PS).

A partir dessa distribuição das amostras pode-se dizer que o teor de matéria orgânica tem influência na maior variância dos dados de biomassa microbiana (PC1) - onde se destacam as amostras de matas nativas - enquanto que o estresse metabólico (alta RB por unidade de CMIC) e a razão C/N são responsáveis pela variância nas componentes principais PC2 e PC3, respectivamente.

As amostras do CPPSE ficaram bem distribuídas ao longo do eixo NMIC enquanto que as amostras do CNPAF se distribuíram ao

longo do eixo RB. Desse modo, espera-se que as amostras CPPSE e CNPAF possibilitem a construção de modelos de calibração mais representativos para NMIC e RB, respectivamente.

Na Tabela 3 são apresentados os desvios-padrão médios inerentes ao método de referência na quantificação de CMIC, NMIC e RB. Observam-se altos desvios-padrão dos resultados provenientes do método de referência, resultante das diversas etapas de preparo de amostra, desde a coleta do solo e acondicionamento até se obter o resultado final. Isso constitui em fator limitante para o uso da espectroscopia, tendo em vista que estes erros estarão embutidos nos modelos de calibração.

Tabela 3. Desvios-padrão médios e coeficientes de variação para CMIC, NMIC e RB obtidos pelo método de Vance et al. (1987).

	CMIC (mg Kg ⁻¹)	NMIC (mg Kg ⁻¹)	RB (mg C-CO ₂ Kg C ⁻¹ h ⁻¹)
Desvio-padrão médio	43,85	5,73	0,15
Coefficiente de variação (%)	13,13	8,23	6,59

Espectros de infravermelho

Os espectros em NIRS e DRIFTS de algumas das amostras coletadas são mostrados nas Figuras 2 e 3, respectivamente.

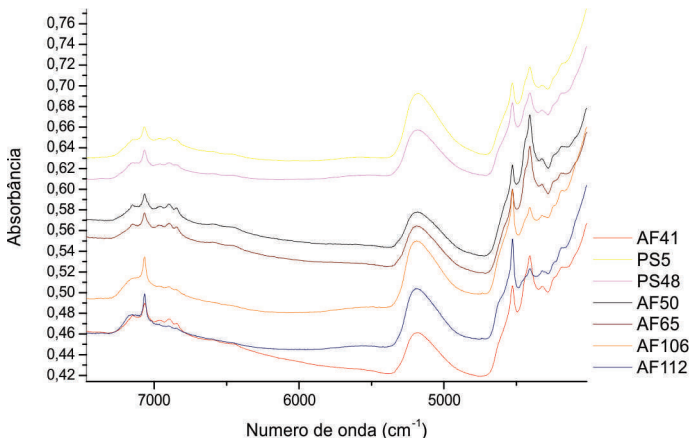


Figura 2. Espectros de absorvância em infravermelho próximo (NIRS) de solos da Embrapa Arroz e Feijão-CNPAF (AF) e da Embrapa Pecuária Sudeste-CPPSE (PS).

É possível identificar três principais regiões (I, II e III) nos espectros no infravermelho próximo (Figura 2) situando-se em torno de 7.000 cm^{-1} , 5.200 cm^{-1} e 4.500 cm^{-1} . Na primeira região dos espectros são observados sinais que derivam da absorção de energia relacionada aos movimentos vibratórios das ligações O-H e N-H, presentes em carboidratos e proteínas. Já na segunda região, em que se observa uma única banda intensa por volta de 5.200 cm^{-1} são detectados compostos que contêm ligações C-H como lipídeos, lipopolissacarídeos, celulose, lignina, amido, pectina e substâncias húmicas. Na região final (III) dos espectros ocorrem combinações entre vibrações de estiramentos de C-H, N-H e O-H. Essas atribuições foram feitas a partir de informações obtidas em Workman (1998), Demattê et al. (2004, 2005), Dalmolin et al. (2005), Rinnan e Rinnan (2007) e Vergnoux et al. (2009).

Os espectros no infravermelho médio, apresentados na Figura 3, trazem grande quantidade de informação sobre os componentes das amostras, havendo maior número de bandas.

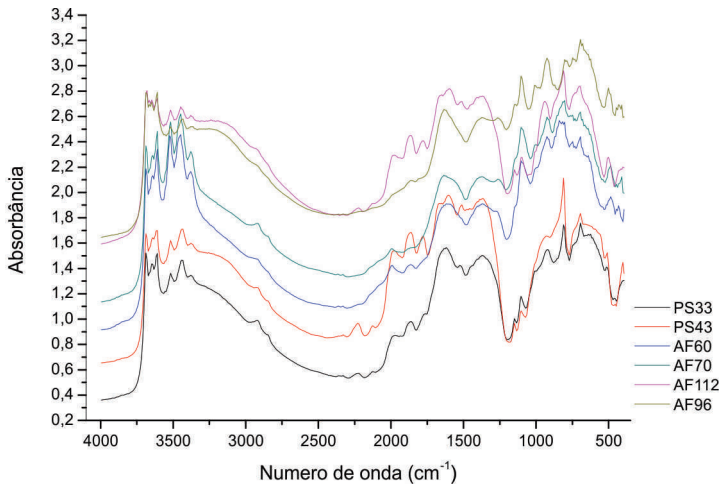


Figura 3. Espectros de absorvância em infravermelho médio (DRIFTS) de solos da Embrapa Arroz e Feijão (AF) e da Embrapa Pecuária Sudeste (PS).

Na primeira parte dos espectros observam-se diversos sinais intensos devido às vibrações O-H e N-H, de moléculas que fazem ligação de hidrogênio entre si (bandas mais largas) e aquelas que não têm esse tipo de interação (bandas agudas).

Na região II existem bandas de C-H por volta de 2.900 cm^{-1} , carbonilas (C=O) em torno de 1.700 cm^{-1} e N-H de amidas na faixa de $1.600\text{--}1.500\text{ cm}^{-1}$, ou seja, são detectados nesta região grupos funcionais que compõem moléculas de ácidos orgânicos e proteínas.

Já na região III há uma grande quantidade de sinais, estando presentes bandas de amidas, éteres, fosfolípidos e metilenos. Nesta região são detectados os fosfolípidos e os ácidos graxos.

Assim, grande parte dos compostos que constituem as paredes celulares e constituintes celulares de bactérias e fungos resultam em sinais nos espectros de infravermelho de solo, juntamente com os sinais provenientes da matéria orgânica.

Existe, porém, uma sobreposição com os sinais provenientes de compostos inorgânicos como sílica, caulinita e gibbsita, principalmente nas regiões entre 4.000 e 3.000 cm^{-1} e entre 1.700 e 500 cm^{-1} . Isto pode dificultar a construção de modelos de regressão para a predição de compostos orgânicos.

Essas atribuições foram feitas através de dados extraídos de Naumann et al. (1996), Madari et al. (2006), Barbosa (2007) e Silverstein et al. (2007).

Modelos de calibração

Carbono microbiano

Os resultados obtidos após a construção de seis modelos para a predição de CMIC a partir de dados espectroscópicos estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Dados de validação cruzada e externa para os modelos de calibração nas regiões NIRS e DRIFTS para CMIC.

<i>Modelo</i>	<i>VALIDAÇÃO CRUZADA</i>					<i>VALIDAÇÃO EXTERNA</i>			
	<i>F</i>	<i>Nvc</i>	<i>R</i>	<i>SEV</i>	<i>SEV%</i>	<i>Nve</i>	<i>R</i>	<i>SEP</i>	<i>SEP%</i>
CNPAF NIRS	2	91	0,34	147,48	46,97	20	0,62	146,77	46,74
CNPAF DRIFTS	6	84	0,44	151,69	48,31	25	0,50	153,23	48,80
CPPSE NIRS	6	42	0,63	141,51	50,23	10	0,64	93,69	33,26
CPPSE DRIFTS	5	39	0,68	127,98	45,43	11	0,82	115,51	41,00
TODOS NIRS	1	127	0,07	155,66	51,11	35	0,25	189,36	62,19
TODOS DRIFTS	7	126	0,50	143,74	46,21	33	0,57	157,37	51,68

F = número de fatores ou variáveis latentes utilizadas na calibração; N = número de amostras preditas; R = coeficiente de regressão; SEV = desvio padrão da validação cruzada; SEP = desvio padrão da validação externa; SEV% e SEP% = erros médios percentuais de predição.

Observa-se que os modelos construídos com amostras do CPPSE resultaram em melhores coeficientes de regressão, tanto na validação externa quanto na validação cruzada. Isso pode ser devido à grande variabilidade das amostras desse local quanto à textura e teor de matéria orgânica, que proporcionou uma amostragem mais representativa do carbono microbiano em toda a faixa de trabalho (28,3 a 762,8 mg Kg⁻¹). Estes modelos também forneceram predições com os menores erros médios percentuais (CPPSE NIRS = 33,26% e CPPSE DRIFTS = 41,00%).

A qualidade dos modelos obtidos para CMIC foi superior à dos obtidos por Chang et al. (2001) (R = 0,60 e SEV = 389,71). Apesar de terem utilizado um número bem maior de amostras, o que contribuiria para a qualidade dos modelos, esses autores fizeram uso do cálculo estatístico PCR (*Principal Components Regression*), que utiliza os vetores da PCA para a modelagem, diferentemente da PLS que dá maior peso para amostras com altos valores (DUCKWORTH, 1998).

Os coeficientes de regressão (R), apresentados na Tabela 4, se aproximam daqueles obtidos por Ludwig et al. (2002) (R = 0,76) e por Rinnan e Rinnan (2007) (R = 0,79), porém não confirmaram os resultados de Coûteaux et al. (2003) (R = 0,96) e de Terhoeven-Urselmans et al. (2008) (R = 1,03). Enquanto Coûteaux et al. (2003) coletaram 119 amostras das duas camadas superficiais de um *Podzol*

(USDA), Terhoeven-Urselmans et al. (2008) amostraram apenas duas classes de solos (*Haplic luvisol* e *Eutric cambisol*), sob cultivo orgânico de cereais (112 amostras). A amostragem de solos menos diversos entre si quanto ao conteúdo inorgânico favorece a modelagem com esse número de amostras.

Nas Figuras 4 e 5 são apresentados os valores de referência *versus* os valores preditos pelos melhores modelos construídos para CMIC. Observa-se que as amostras se aproximam da linha 1:1, onde os valores medidos são iguais aos preditos.

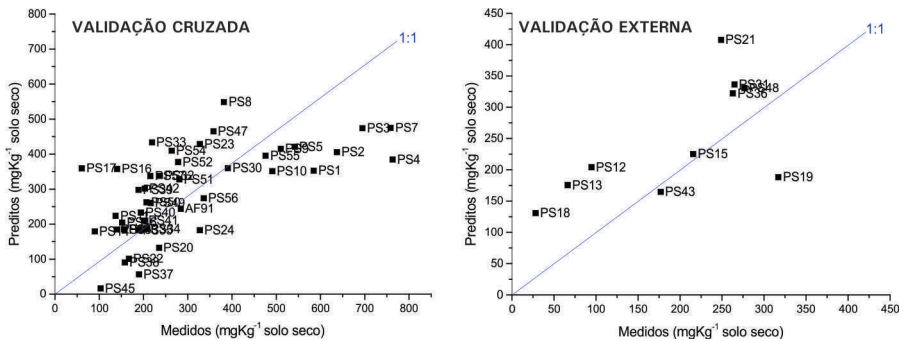


Figura 4. Valores de CMIC preditos pelo modelo CPPSE NIRs *versus* medidos pelo método de referência.

Fonte: Vance et al. (1987).

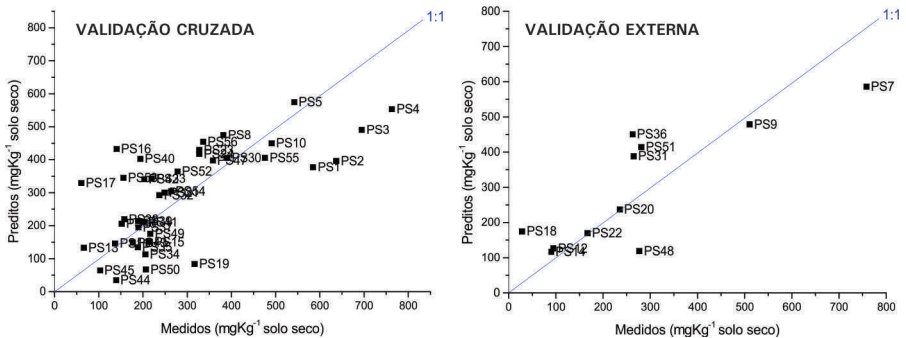


Figura 5 Valores de CMIC preditos pelo modelo CPPSE DRIFTS em comparação ao método de referência.

Fonte: Vance et al. (1987).

Nitrogênio microbiano

Dentre os modelos de predição construídos com os mesmos grupos amostrais, observa-se que o modelo a partir das amostras do CNPAF e com o uso da região DRIFTS apresentou bons coeficientes de regressão tanto na validação cruzada quanto na externa, assim como o modelo para as amostras do CPPSE na mesma região espectral, porém com menores erros de predição (Tabela 5). Observa-se também que a separação das amostras por localidade de coleta do solo e o uso da região DRIFTS proporcionaram melhorias nos resultados em relação aos modelos com todas as amostras e com o uso de NIRS, assim como observado na análise de CMIC.

Tabela 5. Dados de validação cruzada e externa para os modelos de calibração nas regiões NIRS e DRIFTS para NMIC.

<i>Modelo</i>	<i>VALIDAÇÃO CRUZADA</i>					<i>VALIDAÇÃO EXTERNA</i>			
	<i>F</i>	<i>Nvc</i>	<i>R</i>	<i>SEV</i>	<i>SEV%</i>	<i>Nve</i>	<i>R</i>	<i>SEP</i>	<i>SEP%</i>
CNPAF NIRS	2	91	0,62	18,81	36,24	20	0,63	26,15	50,39
CNPAF DRIFTS	9	84	0,65	21,06	40,58	25	0,75	20,18	38,82
CPPSE NIRS	4	42	0,52	79,82	69,71	10	0,76	55,36	48,35
CPPSE DRIFTS	6	39	0,75	59,38	51,86	11	0,73	62,59	54,66
TODOS NIRS	1	127	0,48	54,58	76,12	35	0,52	43,65	60,88
TODOS DRIFTS	3	126	0,63	45,37	63,28	33	0,52	57,57	80,29

F = número de fatores ou variáveis latentes utilizadas na calibração; N = número de amostras preditas; R = coeficiente de regressão; SEV = desvio padrão da validação cruzada; SEP = desvio padrão da validação externa; SEV% e SEP% = erros médios percentuais de predição.

Os melhores coeficientes de regressão alcançados neste trabalho são comparáveis aos obtidos por Ludwig et al. (2002) (R = 0,74) e superiores àqueles obtidos por Rinnan e Rinnan (2007) (R = 0,60) em NIRS, porém menores que os obtidos por Coûteaux et al. (2003) (R = 0,97) e por Terhoeven-Urselmans et al. (2008) (R = 1,03), também com o uso dos espectros NIRS.

Nas Figuras 6 e 7 são apresentados os gráficos de valores preditos *versus* valores medidos para os modelos CNPAF DRIFTS e CPPSE DRIFTS.

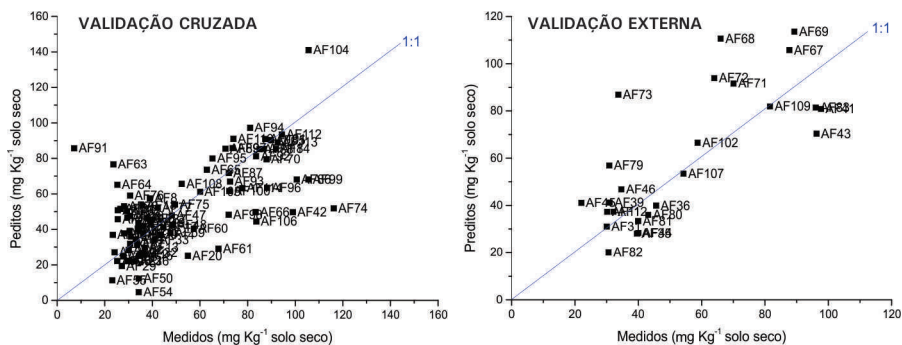


Figura 6. Valores de NMIC preditos pelo modelo CNPAF DRIFTS *versus* valores medidos pelo método de referência.

Fonte: Vance et al. (1987).

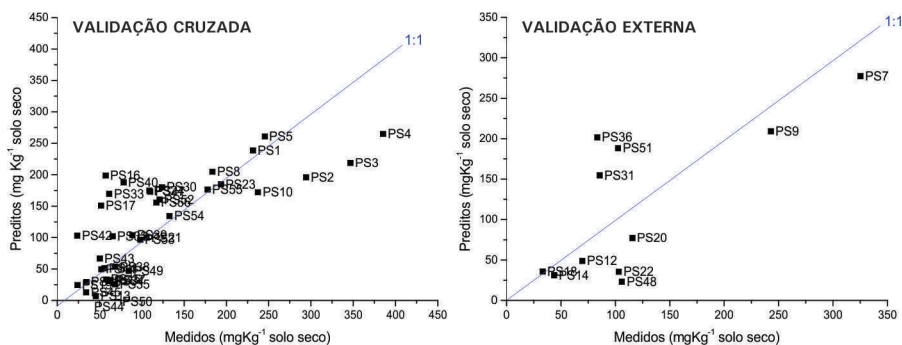


Figura 7. Valores de NMIC preditos pelo modelo CPPSE DRIFTS *versus* medidos pelo método referência.

Fonte: Vance et al. (1987).

As Figuras 6 e 7 demonstram uma melhor distribuição das amostras do CPPSE ao longo da linha de referência em relação às amostras do CNPAF. Isso confirma hipótese levantada durante a análise de componentes principais, de que as amostras do CPPSE possibilitariam a construção de bons modelos de calibração para NMIC, pela ampla faixa de valores de NMIC, porém um maior número de amostras seria necessário para obter menores erros de predição.

Respiração basal do solo

Dentre os modelos de quantificação para RB, o modelo para as amostras do CNPAF utilizando a região NIRS apresentou maiores coeficientes de regressão (Tabela 6), confirmando sugestão dos dados da PCA, de que esse grupo amostral traria bons resultados nas calibrações para RB.

Tabela 6. Dados de validação cruzada e externa para os modelos de calibração em NIRS e DRIFTS para RB.

<i>Modelo</i>	<i>VALIDAÇÃO CRUZADA</i>					<i>VALIDAÇÃO EXTERNA</i>			
	<i>F</i>	<i>Nvc</i>	<i>R</i>	<i>SEV</i>	<i>SEV%</i>	<i>Nve</i>	<i>R</i>	<i>SEP</i>	<i>SEP%</i>
CNPAF NIRS	2	91	0,60	1,39	63,18	20	0,70	1,40	63,64
CNPAF DRIFTS	3	84	0,60	1,51	68,64	25	0,39	1,48	67,27
CPPSE NIRS	4	42	0,62	0,49	35,00	10	-0,15	0,71	50,71
CPPSE DRIFTS	3	39	0,52	0,56	40,00	11	0,06	0,63	45,00
TODOS NIRS	2	127	0,57	1,17	58,50	35	0,62	1,57	78,50
TODOS DRIFTS	4	126	0,58	1,20	60,00	33	0,53	1,61	80,50

F = número de fatores ou variáveis latentes utilizadas na calibração; N = número de amostras preditas; R = coeficiente de regressão; SEV = desvio padrão da validação cruzada; SEP = desvio padrão da validação externa; SEV% e SEP% = erros médios percentuais de predição.

Os coeficientes de regressão apresentados na Tabela 6 não são equiparáveis àqueles publicados por Chang et al. (2001), Ludwig et al. (2002) e Terhoeven-Urselmans et al. (2008): R = 0,82; R = 0,96 e R = 1,00; respectivamente.

Deve-se destacar, porém, que a respiração basal do solo é um processo quantificado normalmente por titulação indireta, não sendo possível detectá-lo diretamente por meio de espectros de refletância do solo obtidos dentro de curto intervalo de tempo. Essa quantificação por espectroscopia ocorre graças à correlação existente entre o processo de liberação de CO₂ e os teores de carbono orgânico e microbiano no solo. Entretanto, os modelos construídos só serão capazes de prever os valores de RB em amostras externas se essa correlação se mantiver constante e igual àquela encontrada nas amostras de calibração.

No presente trabalho, a diversidade dessas propriedades nos solos coletados foi demonstrada na análise de PCA, sendo incluídos solos com diferentes proporções de RB/CMIC e CMIC/NMIC.

Nas Figuras 8 e 9 são apresentados alguns gráficos dos valores preditos *versus* medidos para respiração basal do solo.

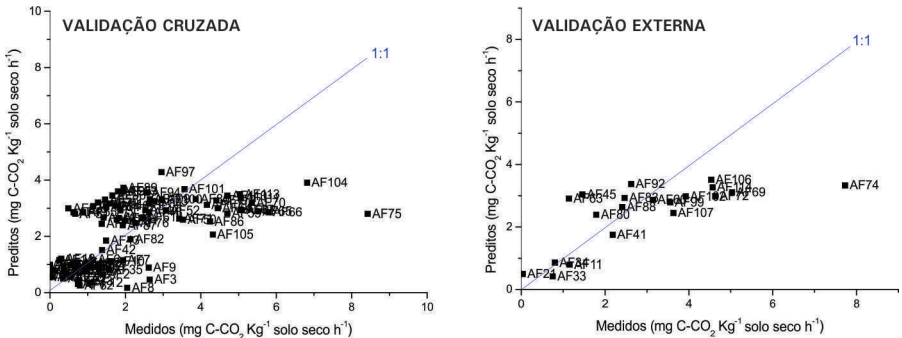


Figura 8. Valores de RB preditos pelo modelo CNPAF NIRS *versus* medidos pelo método de referência.

Fonte: Vance et al. (1987).

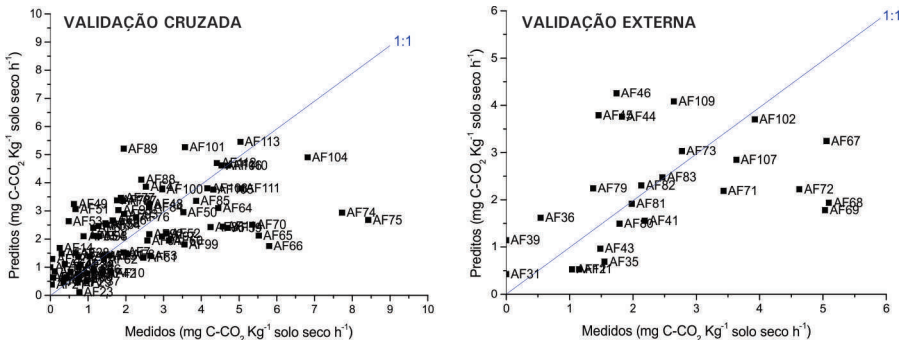


Figura 9. Valores de RB preditos pelo modelo CNPAF DRIFTS *versus* medidos pelo método de referência.

Fonte: Vance et al. (1987).

Obtiveram-se maiores coeficientes com NIRS, porém, como mostram os gráficos nas Figuras 8 e 9, o uso da região DRIFTS resulta em melhores distribuições amostrais ao longo do eixo 1:1.

Todos os trabalhos citados (CHANG et al., 2001; LUDWIG et al., 2002; COÛTEAUX et al., 2003; RINNAN; RINNAN, 2007; TERHOEVEN-URSELMANS et al., 2008) construíram modelos de calibração para biomassa microbiana com dados de infravermelho próximo, que provavelmente não têm um limite de detecção suficientemente baixo para quantificar elementos microbianos com concentrações na ordem de ppm (partes por milhão) ou mg Kg⁻¹ (TERHOEVEN-URSELMANS et al., 2008). Os dados do presente trabalho demonstram que a DRIFTS seria mais indicada para esse tipo de análise, por apresentar maior sensibilidade aos compostos orgânicos, tendo em vista que os sinais observados nessa faixa são cerca de dez vezes mais intensos.

Comparação entre o desvio-padrão e erro de predição

Como podem ser observados nas Tabelas 7 e 8, os desvios-padrão médios dos métodos de referência utilizados no presente trabalho são mais baixos que aqueles obtidos por Chang et al. (2001), Ludwig et al. (2002) e Coûteaux et al. (2003) e os erros de predição pela espectroscopia de infravermelho foram medianos. Esses erros de predição estão relacionados à diversidade e ao número de amostras de solo utilizados na construção do modelo de calibração. Quanto mais homogêneo o grupo amostral, maior esses erros, porém menor a robustez dos modelos construídos.

Tabela 7. Valores de desvio-padrão médio nas análises de referência.

	<i>CMIC (mg Kg⁻¹)</i>	<i>NMIC (mg Kg⁻¹)</i>	<i>RB (mg Kg⁻¹)</i>
Coûteaux et al. (2003)	261	154	nd
Chang et al. (2001)	989	nd	70
Ludwig et al. (2002)	nd	nd	nd
Resultado obtido	43,85	5,73	0,15

nd = não divulgado

Tabela 8. Valores de erros de predição (SEP).

	<i>CMIC (mg Kg⁻¹)</i>	<i>NMIC (mg Kg⁻¹)</i>	<i>RB (mg Kg⁻¹)</i>
Coûteaux et al. (2003)	55	25	nd
Chang et al. (2001)	390	nd	24
Ludwig et al. (2002)	132	43	nd
Resultado obtido	115,51	62,59	1,48

nd = não divulgado

Os erros de predição altos limitam de certa forma a aplicação da espectroscopia aos estudos de tendências de mudanças na biomassa microbiana, não sendo indicada para estudos de ciclagem de nutrientes que requerem dados com alta precisão, com erros de quantificação de no máximo 10%.

Conclusões

1. Os resultados deste trabalho mostraram que é possível construir modelos preditivos para carbono e nitrogênio da biomassa microbiana pela correlação existente entre os espectros de infravermelho e a medida de parâmetros microbianos do solo;
2. Os dados preditos pelos modelos seguem a mesma tendência dos dados obtidos pelos métodos tradicionais. Isso mostra que esses valores preditos podem ser utilizados na avaliação do impacto de sistemas produtivos sobre a atividade microbiológica do solo;
3. A validação externa comprovou a robustez desses modelos na predição de amostras desconhecidas. Sendo assim, tais modelos poderão ser utilizados para prever as mudanças na dinâmica dos microrganismos do solo em novas amostras coletadas nas fazendas da Embrapa Arroz e Feijão e da Embrapa Pecuária Sudeste, alcançando com isso maior rapidez e menor custo para as análises;
4. A faixa do infravermelho médio (DRIFTS) demonstrou maior aplicabilidade na determinação de componentes orgânicos do solo por ser mais sensível a esses compostos.

Referências

BALOTA, E. L.; COLOZZI-FILHO, A.; ANDRADE, D. S.; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, Viçosa, MG, v. 22, n. 4, p. 641-649, out./dez. 1998.

BARBOSA, L. C. de A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 189 p.

BEN-DOR, E.; BANIN, A. Near-infrared analysis as a rapid method to simultaneously evaluate several soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 59, n. 2, p. 364-372, Mar./Apr. 1995.

BLANCO, M.; COELHO, J.; ITURRIAGA, H.; MASPOCH, S.; BERTARN, E. Simultaneous determination of rubber additives by FT-IR Spectrophotometry with multivariate calibration. **Applied Spectroscopy**, Baltimore, v. 49, n. 6, p. 747-753, Jun. 1995.

CAMPBELL, C. A.; BIEDERBECK, V. O.; ZENTNER, R. P.; LAFOND, G. P. Effect of crop rotations and cultural practices on soil organic matter, microbial biomass and respiration in a thin Black Chernozem. **Canadian Journal of Soil Science**, Ottawa, v. 71, n. 3, p. 363-376, Aug. 1991.

CANELLAS, L. P.; MENDONÇA, E. S.; DOBBSS, L. B.; BALDOTTO, M. A.; VELOSO A. C. X.; SANTOS, G. A.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. Reações da matéria orgânica. In: SANTOS, G. de A.; CAMARGO, F. A. de O. (Ed.) **Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais**. Porto Alegre: Metrópole, 2008. p. 45-61.

CHANG, C. W.; LAIRD, D. A.; MAUSBACH, M. J.; HURBURGH, C. R. J. Near-infrared reflectance spectroscopy-principal components regression analyses of soil properties. **Soil Science Society of America Journal**, Madison, v. 65, n. 2, p. 480-490, Mar./Apr. 2001.

COÛTEAUX, M. M.; BJORN, B.; ROVIRA, P. Near infrared reflectance spectroscopy for determination of organic matter fractions including microbial biomass in coniferous forest soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 35, n. 12, p. 1587-1600, Dec. 2003.

DALMOLIN, R. S. D.; GONÇALVES, C. N.; KLAMT, E.; DICK, D. P. Relação entre os constituintes do solo e seu comportamento espectral. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 481-489, mar./abr. 2005.

DEMATTE, J. A. M.; CAMPOS R. C.; ALVES, M. C.; FIORIO, P. R.; NANNI, M. R. Visible-NIR reflectance: a new approach on soil evaluation. **Geoderma**, Amsterdam, v. 121, n. 12, p. 95-112, July 2004.

DEMATTE, J. A. M.; SILVA, M. L. S.; ROCHA, G. C.; CARVALHO, L.A.; FORMAGGIO, A. R.; FIRME, L. P. Variações espectrais em solos submetidos à aplicação de torta de filtro. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 317-326, maio/jun. 2005.

DUCKWORTH, J. H. Spectroscopic quantitative analysis. In: WORKMAN J. R. J.; SPRINSTEEN, A. (Ed.) **Applied spectroscopy: a compact reference for practitioners**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 93-164.

GERZABEK, M. H.; ANTIL, R. S.; KOGEL-KNABNER, I.; KNICKER, H.; KIRCHMANN, H. HABERHAUER, G. How are soil use and management reflected by soil organic matter characteristics: a spectroscopic approach. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 485-494, Aug. 2006.

HORA, R. C.; SOARES, J. J. Estrutura fitossociológica da comunidade de lianas em uma floresta estacional semidecidual na Fazenda Canchim, São Carlos, SP. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 323-329, set. 2002.

IBOMCHA SINGH, L.; YADAVA, P. S. Spatial distribution of microbial biomass in relation to land-use in subtropical systems of north-east India. **Tropical Ecology**, Varanasi, v. 47, n. 1, p. 63-70, 2006.

JENKINSON, D. S.; LADD, J. N. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: PAUL, E. A.; LADD, J. N. (Ed.). **Soil biochemistry**. New York: Marcel Dekker, 1981. v. 5, p. 415-473.

KASCHUK, G.; ALBERTON, O.; HUNGRIA, M. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 42, n. 1, p. 1-13, Jan. 2010.

LUDWIG, B.; KHANNA, P. K.; BAUHUS, J.; HOPMANS, P. Near infrared spectroscopy of forest soils to determine chemical and biological properties related to soil sustainability. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 171, n. 2, p. 121-132, Nov. 2002.

MADARI, B. E.; REEVES III, J. B.; COELHO, M. R.; MACHADO, P. L. O. A.; DE-POLLI, H.; COELHO, R. M.; BENITES, V. M.; SOUZA, L. F.; MCCARTY, G. W. Mid- and near-infrared spectroscopic determination of carbon in a diverse set of soils from the Brazilian National Soil Collection. **Spectroscopy Letters**, New York, v. 38, n. 6, p. 721-740, 2005.

MADARI, B. E.; REEVES, J. B.; MACHADO, P. L. O. A.; GUIMARÃES, C. M.; TORRES, E.; MCCARTY, G.W. Mid- and near-infrared spectroscopic assessment of soil compositional parameters and structural indices in two Ferrasols. **Geoderma**, Amsterdam, v. 136, n. 1/2, p. 245-259, Dec. 2006.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. 2. ed. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2006. 729 p.

NAUMANN, D.; SCHULTZ, C. P.; HELM, D. What can infrared spectroscopy tell us about structure and composition of intact bacterial cells? In: MANTSCH, H. H.; CHAPMANN, D. (Ed.) **Infrared spectroscopy of biomolecules**. New York: Wiley, 1996. p. 279-310.

PRIMAVESI, O.; VINHOLIS, M. de M. B.; NICODEMO, M. L. F.; CORDEIRO, C. A.; ESCRIVANI, L. P.; ANTONIO, F. de J. A.; SOUZA, G. B. de; NOGUEIRA, A. R. de A.; REGITANO, L. C. de A.; BERNARDI, A. C. de C. Ações de gestão ambiental: o caso da Embrapa Pecuária Sudeste. In: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSTITUIÇÕES DE PESQUISA TECNOLÓGICA, 2008, Campina Grande. **Os desníveis regionais e a inovação no Brasil: os desafios para as instituições de pesquisa tecnológica: anais**. Brasília, DF: ABIPTI, 2008. 1 CD-ROM.

REIS JÚNIOR, F. B. dos; MENDES, I. de C. **Biomassa microbiana do solo**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 40 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 205).

RINNAN, R.; RINNAN, A. Application of near infrared reflectance (NIR) and fluorescence spectroscopy to analysis of microbiological and chemical properties of arctic soil. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 39, n. 7, p. 1664-1673, July 2007.

ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; MENDES, I. de C.; REIS JÚNIOR, F. B. dos; SANTOS, J. C. F. dos; HUNGRIA, M. Biomassa microbiana do solo: fração mais ativa da matéria orgânica. In: ROSCOE, R.; MERCANTE, F. M.; SALTON, J. C. (Ed.). Dinâmica da matéria orgânica do solo em sistemas conservacionistas: modelagem matemática e métodos auxiliares. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006. p. 163–198.

SESSITSCH, A.; WEILHARTER, A.; GERZABEK, M. H.; KIRCHMANN, H.; KANDELER, E. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 67, n. 9, p. 4215-4224, Sept. 2001.

SILVA, E. E. da; AZEVEDO, P. H. S. de; DE-POLLI, H. **Determinação da respiração basal (RBS) e quociente metabólico do solo (qCO_2)**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2007. 4 p. (Embrapa Agrobiologia. Comunicado técnico, 99).

SILVA, F. das G. B. da; MINOTTI, R. T.; LOMBARDI NETO, F.; PRIMA-VESI, O.; CRESTANA, S. Previsão da perda de solo na Fazenda Canchim - SP (EMBRAPA) utilizando geoprocessamento e o USLE 2D. **Engenharia Sanitária Ambiental**, Rio de Janeiro, v.15, n. 2, p. 141-148, 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 490 p.

STONE, L. F.; SILVA, S. C. da; GUIMARÃES, C. M. **Características climáticas e atributos dos solos dos sítios de fenotipagem para tolerância à seca da Embrapa Arroz e Feijão, em Goiás.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 19 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 199).

TERHOEVEN-URSELMANS, T.; SCHMIDT, H.; JOERGENSEN, R. G.; LUDWIG, B. Usefulness of near-infrared spectroscopy to determine biological and chemical soil properties: Importance of sample pre-treatment. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 40, n. 5, p. 1178-1188, May 2008.

VANCE, E. D.; BROOKES, P. C.; JENKINSON, D. S. Microbial biomass measurements in forests soils: the use of the chloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils. **Soil Biology and Biochemistry**, Elmsford, v. 19, n. 6, p. 697-702, 1987.

VERGNOUX, A.; DUPUY, N.; GUILIANO, M.; VENNETIER, M.; THÉRAU-LAZ, F. ; DOUMENQ, P. Fire Impact on forest soils evaluated using near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Talanta**, London, v. 80, n. 1, p. 39-47, Nov. 2009.

VISCARRA-ROSSEL, R. A.; WALVOORT, T. D. J. J.; MCBRATNEY, A. B.; JANIK, L. J.; SKJEMSTAD, J. O. Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. **Geoderma**, Amsterdam, v. 131, n. 1/2, p. 59-75, Mar. 2006.

WORKMAN, J. R. Optical spectrometers. In: WORKMAN J. R.; SPRINSTEEN, A. (Ed.) **Applied spectroscopy: a compact reference for practitioners.** San Diego: Academic Press, 1998. p. 4-91.

