

Paula Roberts

**A yw peptidau bach
yn ffynhonnell maeth i
briddoedd a phlanhigion
yr Antarctig forwrol?**

Gwerddon

CYFNODOLYN ACADEMAIDD CYMRAEG

Golygydd Yr Athro Ioan Williams

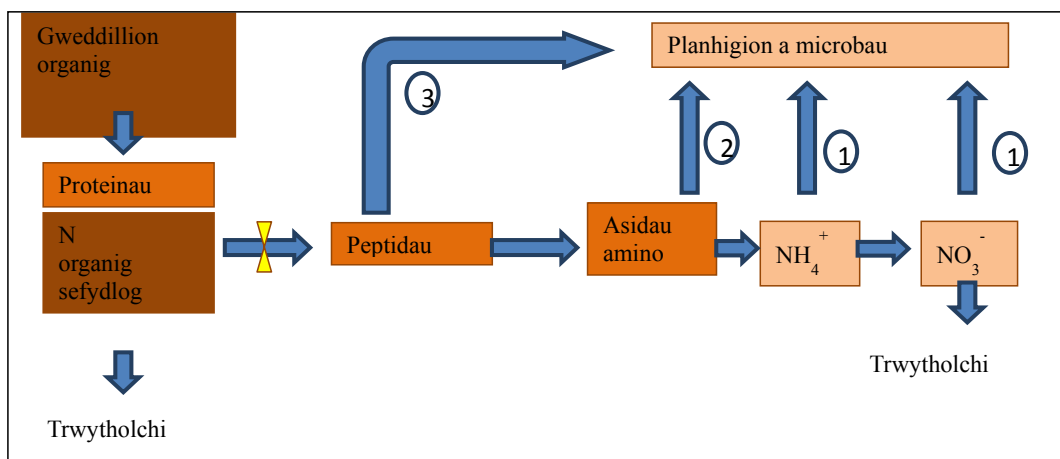
A yw peptidau bach yn ffynhonnell maeth i briddoedd a phlanhigion yr Antarctig forwrol?

Paula Roberts

Cyflwyniad

Yn hanesyddol, mae gwyddonwyr sy'n astudio twf planhigion a phrosesau cylchdroi nitrogen (N) wedi bod o'r farn bod yn rhaid i ffurfiau cymhleth o N (e.e. protein) gael eu torri i lawr i unedau o bwysau moleciwlaidd isel (monomerig) fel asidau amino, yna eu mwyneddio i amoniwm (NH_4^+) a'u nitreiddio i nitrad (NO_3^-) cyn i blanhigion fedru eu defnyddio (rhifau 1 yn Ffig. 1). Yn y 1990au cynnar, darganfuwyd bod rhai planhigion yn y pegynau yn defnyddio asidau amino (rhif 2 yn Ffig. 1) fel ffynhonnell o N. Roedd hyn yn amlygu ein diffyg dealltwriaeth o'r broses o gylchdroi N mewn amgylcheddau pegynol (Chapin, 1995). Ers hynny, mae sawl ymchwilydd wedi dangos mai mewnlifiad uniongyrchol o'r N organig toddedig (NOT) hwn gan blanhigion sy'n gyrru swyddogaeth ecosystemau ac olyniaeth llystyfiant mewn amgylcheddau cyntefig N-gyfyngedig fel y twndra (Chapin et al., 1993; Kielland, 1994; Jones a Kielland, 2002).

Mae'r rhan fwyaf o N mewn unrhyw bridd yn deillio o hen feinwe planhigion ac, yn gyffredinol, ffurfiau solet o N organig toddedig (NOT) yw'r ffurf ddominyddol o N (Stevenson 1982). Nid yw'r ffurf hon ar gael i blanhigion nac i ran helaeth o'r boblogaeth ficrobaidd hyd nes iddi gael ei phrosesu gan ensymau i unedau toddadwy llai. Mae sawl astudiaeth wedi mesur maint y gronfa o NOT ac wedi gwneud cymhariaeth uniongyrchol â'r gronfa anorganig – NH_4^+ a NO_3^- , (Schobert a Komor, 1987; Jones a Kielland, 2002). Mewn rhai priddoedd mae'r gronfa o NOT yn medru bod yn fawr o'i chymharu â'r gronfa anorganig ac mae rhai awduron yn crybwyll bod hyn yn darparu ffynhonnell fawr o N



Ffig. 1: Manylder y broses o gyfnewid gweddillion organig i ffurfiau cemegol sydd o ddefnydd i blanhigion. Mae'r rhifau o fewn y cylchoedd yn adnabod y cemegolion a oedd yn cael eu hystyried o bwysigrwydd i blanhigion 1. cyn 1995; 2. o 1995 ymlaen a 3. datblygiadau diweddar iawn yn ein dealltwriaeth. Mae'r symbol yn adnabod lleoliad y gwagle yn y broses.

sydd ar gael i blanhigion (Jones a Kielland, 2002). Mae'n bosibl bod y gronfa hon yn fawr am nad yw ffurf gemegol yr N yn addas ar gyfer twf planhigion a microbau. Mae'r dystiolaeth bresennol yn awgrymu bod y rhan fwyaf o NOT o faint moleciwlaidd uchel ac yn gwrthsefyll y broses o'i dorri i lawr a bod yn rhaid i NOT fod o bwysau moleciwlaidd isel i'w ddefnyddio fel ffynhonnell maeth.

Dealltwriaeth arwynebol iawn sydd gennym o bwysigrwydd NOT mewn rheoli llwyddiant llystyfiant unrhyw amgylchedd o'i cymharu â NH_4^+ a NO_3^- . Mae hyn yn syndod gan fod NOT yn cael ei ystyried fel ffynhonnell bwysig o faeth mewn ecosystemau dŵr môr a dŵr croyw yn y pegynau (e.e. Thomas et al., 2001; Kähler et al., 1997). Mae absenoldeb y ffynhonnell hon o faeth o fodolau cyfrifiadurol o'r ecosystemau hyn wedi denu beirniadaeth (Chapin, 1995; Perakis a Hedin, 2002), ond i'w chynnwys, mae angen dealltwriaeth ddofn o natur, tarddiad, parhad a'u tynged mewn pridd.

A yw NOT yn bwysig ar gyfer swyddogaeth ecosystem?

Mae NOT wedi cael cryn dipyn o sylw ers i ni sylweddoli ei fod yn medru cynrychioli hyd at 90 y cant o'r N sy'n cael ei golli o ecosystemau N-isel (Perakis a Hedin, 2002). Arweiniodd hyn at y canfyddiad, yn enwedig mewn ecosystemau dŵr croyw a phridd, fod NOT yn ffynhonnell bwysig i blanhigion ac i ficrobau ond mae angen astudio'r awgrym hwn yn ofalus. Mae NOT yn medru cynnwys ystod eang o gemegolion, rhai ohonynt ar ffurf sy'n parhau, yn sefydlog ac yn gwrthsefyll diraddio am amser hir ac felly allan o gyrraedd fel maeth yn y broses o gynhyrchiant sylfaenol. Mae eraill yn gemegolion syml (e.e. asidau amino, siwgrau amino) sy'n medru croesi pilen celloedd planhigion a microbau, ac eraill nad ydynt yn croesi'r bilen fel protein neu brotein sydd wedi ei amsugno i poliphenol. Mae medru adnabod y cemegolion hyn yn holl bwysig os ydym am eu cynnwys wrth fodolau ecosystemau neu brosesau biocemeg planhigion.

Fel arfer, mae cludwyr cemegolion ar draws pilen y gell yn weithredol ar gyfer dosbarthiadau lled eang o asidau amino yn seiliedig ar eu hasidedd (e.e. cludwyr asidau amino asidig, niwtral neu fasig). Felly ymddengys fod planhigion yn medru defnyddio ystod eang o asidau amino sy'n bresennol mewn pridd. Y cwestiwn sy'n codi yw – a yw hyn yn digwydd o ddifrif *in vivo* ac i ba ddiben? Mae'r dystiolaeth o fewnlifiad asidau amino i wreiddiau wedi ei seilio ar astudiaethau sy'n ategu isotopau $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ o asidau amino i bridd ac yn mesur adferiad y ^{13}C a/neu'r ^{15}N ym meinweoedd planhigion. Mae canfod dystiolaeth ddiawys o'r fewnlifiad hwn o bridd yn anodd ac yn cael ei gymhlethu gan y prosesau microbiolegol hynny sy'n mynd rhagddynt yn y pridd megis mwyneiddio'r NOT sy'n cael ei ychwanegu. Yn ogystal, mae'r rhan fwyaf o'r astudiaethau sy'n dangos fewnlifiad uniongyrchol wedi eu cynnal yn y labordy mewn amgylchedd di-haint, yn absenoldeb unrhyw gystadleuaeth gan ficrobau (Jones a Darrah, 1994), neu wedi defnyddio un asid amino ar grynodiad annaturiol o uchel (e.e. Schimel a Chapin, 1996; Näsholm et al., 2001).

Mewn amgylchedd trofannol neu dymherol, lle mae planhigion â galw uchel am N yn tyfu (e.e. gwenith), mae'n debygol na fydd y galw hwn yn cael ei fodloni gan NOT yn unig am fod y gymuned ficrobaidd yn y pridd yn cystadlu yn gryf amdano (Hodge et al., 1998; Owen a Jones, 2001; Bardgett et al., 2003). Mewn cymhariaeth gwelwn amgylcheddau pegynol, lle mae'r broses o rewi a dadmer yn debygol o greu pyllau o NOT a charbon organig toddadwy (COT) (Fitzhugh et al., 2001) yn y gwanwyn a fydd yn fwy na bodloni

anghenion y microbau yn y tymor byr, ac felly yn rhoi cyfle i blanhigion ddefnyddio'r NOT sy'n weddill. Yn hwyrach yn yr haf, pan fo gweithgaredd y microbau a'r gystadleuaeth am y NOT ar eu hanterth, tybiwn fod yr N sy'n weddill i'r planhigion yn bennaf ar ffurf anorganig megis NH_4^+ .

Mae cryn dipyn o waith ymchwil yn adrodd ar ymddygiad asidau amino, asidau organig a siwgr amino mewn priddoedd tymherol ac ar allu'r microbau i'w defnyddio i yrru resbiradaeth a thwf (e.e. Jones et al., 2005; Roberts et al., 2007, Roberts a Jones 2012). Mae arsgudiad rhai asidau amino ac asidau organig i'r mwynau clai ac i safleoedd cyfnwid ar fater organig y pridd yn broses sy'n medru tynnu'r cemegolion hyn allan o gyrraedd y boblogaeth ficrobiologol (Vinolas et al., 2001). Mae'r raddfa pan fo hyn yn digwydd yn ddibynnol ar briodweddau'r cemegolion unigol a'r pridd (Jones a Hodge, 1999; Ström et al., 2001; Roberts et al., 2007).

Efallai mai'r hyn sydd bwysicach, wrth ystyried argaeledd y cemegolion hyn i blanhigion, yw cyflymdra'r mewnlifiad i gelloedd microbau'r pridd. Fel arfer mae symud moleciwlau fel hyn ar draws pilen y gell yn defnyddio egni ac yn gostus i'r organeb. Serch hynny mae microbau'r pridd wedi esblygu i fanteisio yn sydyn ar y maethion hyn ac yn ymateb o fewn munudau i bresenoldeb asidau amino, asidau organig, glwcos a siwgr amino. Yn gyffredinol, ac ar grynodiad a geir yn naturiol mewn priddoedd tymherol, gwelwn hanner oes ($t_{1/2}$) y cemegolion hyn rhwng 0.5 a 3 awr (Boddy et al., 2007; Roberts et al., 2007). Rydym hefyd yn ymwybodol bod tymheredd yn effeithio ar gyflymdra'r broses o fwyneiddio asidau amino mewn priddoedd Canoldirol a thymherol (Vinolas et al., 2001).

Am sawl rheswm, mae ymchwil i NOT wedi canolbwyntio ar gemegolion bychain eu maint (asidau amino, glwcos, asidau organig a siwgr amino). Mae'n synhwyrol astudio'r cemegolion hynny sy'n cynrychioli'r cam nesaf yn y gylchred N, ond i raddau helaeth mae argaeledd masnachol cemegolion mwy cymhleth sydd wedi eu labelu ag isotopau ymbelydrol (^{14}C) neu sefydlog (^{13}C , ^{15}N) wedi cyfyngu ar ba arbrofion sy'n bosibl. Mae argaeledd diweddar peptidau wedi'u labelu yn golygu y bydd datblygiadau pellach yn y maes hwn yn debygol dros y blynyddoedd nesaf.

Mae ecosystemau'r pegynau yn labordy pwysig ar gyfer astudio effeithiau'r newid yn yr hinsawdd ac mae'n hanfodol ein bod yn deall yn iawn, y newidiadau sy'n digwydd i llystyfiant a phriddoedd yr ardaloedd hyn (Quayle et al., 2001). Mae'r unigrywiaeth hon yn codi o achos cyfuniad o ecosystemau cymharol syml yn y pridd a bioamrywiaeth llystyfiannol cyfyng, yn enwedig yn yr Antarctig. Yn ogystal, gwelir graddfeydd o gynhesu oddeutu dwywaith yn gyflymach yn yr Antarctig o'u cymharu ag ardaloedd tymherus. Yn yr Arctig, lle mae'r ecosystemau ychydig yn fwy cymhleth, gwelir cynhesu tebyg ond mae'n peri llai o effaith uniongyrchol ar ecosystemau a phrosesau'r pridd a'r planhigion (Oechel et al., 1997; Huntley a Cramer 1997).

N yw'r prif faetholyn sy'n effeithio ar gynhyrchiant planhigion yn ardaloedd y pegynau (Davey a Rothery, 1992; Chapin et al., 1993) ac, er ein bod yn deall y broses ar lefel gyffredinol (Ffig. 1), mae ein dealltwriaeth fanwl yn wan mewn meysydd eraill. Yn benodol, nid ydym yn deall effaith cynhesu ar gyflymdra'r mwyneiddio nac ar y microbau hynny sy'n gyrru'r broses, nac ychwaith pam mae gwahaniaethau amlwg i'w gweld rhwng y ddau begwn. Mae hefyd yn bosibl y byddai newidiadau yn y prosesau sy'n rheoli cylchdroi N mewn priddoedd yn rhwystro gallu planhigion a microbau'r pridd i ymateb i'r ffactorau hynny sy'n gyrru newid amgylcheddol.

Rydym ni ac eraill wedi cadarnhau bod angiosbermau yn medru defnyddio'r N o asidau amino mewn ecosystemau oer a thymherol (Schimel a Chapin, 1996; Lipson a Monson, 1998; Bardgett et al., 2003; Neff et al., 2003; Jones et al., 2005) a bod gwahanol rywogaethau o blanhigion yn dangos ffurfiaeth tuag at wahanol ffurfiau o N. Y cwestiwn sy'n codi yw a yw hon yn broses bwysig i blanhigion o ystyried y gystadleuaeth frwd gan fibrobau am y ffynhonnell hon o faeth? Mae'r ymchwiliad adroddir isod yn tynnu at ei gilydd y gwaith yr ydym wedi ei wneud ar y ffynhonnell hon o NOT ym mhriddoedd y pegynau ac yn cynnig cylchred fer i'r system yr ydym yn ei derbyn sy'n weithredol ar hyn o bryd.

2. Dulliau a defnyddiau

2.1. Safleoedd samplu pridd

Defnyddiwyd pridd o Ynys Signy (6.5 cilomedr x 5 cilomedr mewn maint) sydd wedi ei lleoli yn Ynysoedd De Orkney, yn yr Antarctig (60°42'S, 45°37' W). Mae oddeutu hanner yr ynys wedi ei gorchuddio â chap iâ parhaol. Yn y gaeaf mae pac iâ y môr Weddel yn amgylchynu'r ynys ac yn cysylltu Signy â chyfandir yr Antarctig. Pryd hynny mae'r tywydd ar Signy yn newid i fod yn fwy cyfandirol gyda thymheredd isel (isafswm -39°C). Yn yr haf, mae'r pac iâ yn encilio ac mae'r tymheredd ar Signy yn newid i fod yn arforol gyda thymheredd y pridd rhwng 2 a 10°C (Roberts et al., 2009). Cyfansoddir mamgraig y safleoedd samplu o waddodion metamorffig (sgist cwarts-mica) o darddiad rhewlifol.

Defnyddiwyd tair sampl annibynnol o dair ecosystem nodweddiadol (dyfnder 0-5 cm) ym misoedd haf hemisffer y de o safle 'fellfield' (twndra moel gyda ychydig o gen yn tyfu ar y cerrig) yn Jane Col (60°41'55" De, 45°37'41" Gor), oddi tan blanhigion uwch (*Deschampsia antarctica* Desv. a *Colobanthis quitensis* (Kunth) Bartl.) yn Deschampsia Point (60°40'80" De, 45°38'03" Gor), ac o safleoedd gyferbyn â chytrefi pengwin ar benrhyn Gourlay lle nad oes unrhyw lystyfiant (60°43'85" De, 45°35'29" Gor). Rhoddwyd y samplau mewn rhewgell (-20°C) cyn gynted â phosibl ar ôl eu casglu a'u dychwelyd i Gymru ar gyfer y gwaith canlynol. Fe'u dadmerwyd yn araf yn y tywyllwch dros 5 diwrnod mewn ystafell sy'n rheoli hinsawdd cyn eu defnyddio, ac fe dynnwyd dŵr y pridd allan o is-sampl gan ddefnyddio dull draenio allgyrchol Giesler a Lundström (1993).

2.2. Mesuriadau Cemegol

Dargludedd trydanol (DT; mesurydd-4010, Jenway Scientific Ltd., Dunmow, DU) a pH (mesurydd - pH Orion 410A, Thermo, Waltham, MA) yn dilyn gwanediad 1:1 (cyfaint/cyfaint) o'r pridd gyda dŵr distyll (Smith a Doran, 1996). COT a chyfanswm N toddedig (CNT) gyda mesurydd Shimadzu TOC-TNV (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). NH₄⁺ a NO₃⁻ yn nŵr y pridd gan ddefnyddio dulliau microbrawf lliwfesulol (*colorimetrically by microassay*) yn dilyn trefn Downes (1978) a Mulvaney (1996). Cyfrifwyd NOT trwy ddefnyddio'r gwahaniaeth rhwng CNT a'r N anorganig. Mesurwyd cyfanswm asidau amino rhydd (CAAR) drwy ddefnyddio adwaith fflwroleuol gyda *o-phthalaldehyde-mercaptoethanol* yn ôl dull Jones et al. (2002). Mesurwyd cyfanswm ffenol drwy ddefnyddio adweithydd Folin-Ciocalteu yn ôl dull Box (1983).

2.3. Mwyneiddiad asid amino, peptid a phrotein

Gan na chaniateir gweithio gyda chemegolion ymbelydrol yn y maes, cynhaliwyd yr arbrofion i gyd gyda ^{14}C ym Mangor gyda phriddoedd wedi eu rhewi yn yr Antarctig a'u dychwelyd a'u dadmer yng Nghymru.

I asesu mwyneiddiad NOT mewn pridd defnyddiwyd dau asid amino wedi eu labelu'n unol â ^{14}C megis ^{14}C -U-Val a ^{14}C -U-Glu (100 μM ; 37 kBq ml $^{-1}$; >1.5 GBq mmol $^{-1}$; Amersham Biosciences UK Cyf, Chalfont St Giles, DU). Defnyddiwyd hefyd y dipeptid (^{14}C -U-Glu-Phe) a'r tripeptid (^{14}C -U-Val)-Pro-Pro (100 μM ; 37 kBq ml $^{-1}$; >1.5 GBq mmol $^{-1}$; American Radiolabeled Chemicals Inc., St Louis, MO). I gynhyrchu canlyniadau cymharol i'r arbrawf â pheptidau, roedd toddiant yr asid amino yn cynnwys cyfanswm yr asidau amino sy'n bresennol yn y peptid ac ar grynodiad cyfatebol, gyda'r Val neu'r Glu yn unig wedi eu labelu â ^{14}C .

Rhoddiwyd 2.5 g o bob pridd mewn tiwb polypropylen 20 ml, ac fe ychwanegwyd toddiant o peptid ac asid amino (33 kBq kg $^{-1}$, 0.1 ml g $^{-1}$). Cyn selio'r tiwb, fe gyflwynwyd trap $^{14}\text{CO}_2$ megis tiwbiau bach yn cynnwys 1 M NaOH (300 μl) i gasglu'r $^{14}\text{CO}_2$ a gynhyrchwyd, yn ôl Jones (1999). Cadwyd 3 thiwb dyblygol o bob triniaeth yn y tywyllwch ar dymheredd o 1.5 neu 10°C. Fe newidiwyd y trapiau NaOH bob 1, 3, 7, 24, 48 ac 168 awr a chyfrifwyd cynhyrchiant $^{14}\text{CO}_2$ â pheiriant cyfrif sintileiddiant hylifol (*liquid scintillation counter*) Wallac 1409 (EG&G Cyf, Milton Keynes, DU) a hylif sintileiddio Wallac Optiphase 3 (EG&G Cyf).

Mae mwyneiddiad asidau amino mewn pridd yn ddeu-gyfnodol (*bi-phasic*) (van Hees et al., 2005; Boddy et al., 2007, 2008). Eglurwyd mwyneiddiad y swbstrad gan fodel dadfeiliad 'dwy broses, trefn gyntaf ddwbl' (*two process, double first order decay model*):

$$S = (a_1 \times \exp(-k_1 t)) + (a_2 \times \exp(-k_2 t))$$

Hafaliad 1

Syw'r label ^{14}C yng ngweddill y pridd, k_1 yw'r cyfeirnod esboniadol sy'n disgrifio mwyneiddiad cynradd gan y boblogaeth ficrobaidd, k_2 yw'r cyfeirnod esboniadol sy'n disgrifio mwyneiddiad arafach, eilradd. Mae a_1 a a_2 yn disgrifio'r gyfran o ^{14}C sy'n gysylltiedig â'r pyllau gyda'r cyfeirnodau esboniadol k_1 a k_2 , a t yw amser. Rydym yn cysylltu'r mwyneiddiad cynradd â chynhyrchiant cyflym o $^{14}\text{CO}_2$ gyda defnydd uniongyrchol o'r swbstrad mewn proses gatabolig (h.y. resbiradaeth; Jones, 1999). Cyfrifwyd hanner oes ($t_{1/2}$) y swbstrad ym mhwl a_1 fel

$$t_{1/2} = \ln(2) / k_1$$

Hafaliad 2

Cyfrifwyd effeithlonrwydd defnydd y microbau o'r C (C_{eff}) fel

$$C_{\text{eff}} = a_2 / (a_1 + a_2)$$

Hafaliad 3

2.4. Arsugniad asidau amino a pheptid

Mesurwyd arsugniad asidau amino a pheptid i fwynau solet y pridd drwy anffrwythloni â gwres (80°C, 3 awr) i atal mwynedd microbiolegol o'r swbstrad yn ystod yr arbrawf (Kuzyakov a Jones, 2006). Rydym yn tybio nad yw cynhesu yn newid nodweddiol arsugniol y cyfansoddion hydroffilig, pwysau molecylaidd isel tuag at safleoedd adweithiol y pridd (*soil exchange phase*), (Kuzyakov a Jones, 2006). Darparwyd sawl crynodiad (0 - 2.5 MM) o asid amino a pheptid wedi eu labelu â ¹⁴C mewn toddiant cefndirol o CaCl₂ (0.01 M). Roedd y toddiadau ¹⁴C (2 ml) yn cynnwys unai Glu, Val, Glu-Phe neu Val-Pro-Pro. Pwysom 400 mg o'r pridd anffrwythlon o bob safle i mewn i diwb allgyrchu (15 ml) (92.5 kBq kg⁻¹ pridd) ac ychwanegu'r toddiadau NOT. Ysgydwyd y toddiannau arsugno gyda'i gilydd am 10 munud (200 sigliad mun⁻¹). Yn syth wedi'u hysgwyd, fe'u hall-gyrchwyd yn syth ar ôl ysgwyd am 5 munud (15000 g) ac adferwyd y swpernatent ar gyfer ei fesur am ¹⁴C, fel y disgrifiwyd uchod. Defnyddiwyd isotherm arsugno Freundlich i ddadansoddi'r data arbrofol, lle bo:

$$S = a \times ESC^b$$

Hafaliad 4

ESC yw crynodiad cydbwysedd y toddiant (*equilibrium solution concentration*) ar ddiwedd yr arbrawf (mmol l⁻¹), S yw maint yr arsugniad ar fwynau solet y pridd (mmol kg⁻¹), a pharamedrau deilliadol empirig yw a a b. Cyfrifwyd cyfernod arsugno (K_d) fel hyn:

$$K_d = S / ESC$$

Hafaliad 5

Cyfrifwyd maint gwefr y peptid drwy ddefnyddio *Peptide Charge Calculator* (Gale Rhodes, University of Southern Maine).

2.6 Defnydd *Deschampsia antarctica* o NOT

Er mwyn penderfynu a yw planhigion angiosberm yr Antarctig forwrol yn defnyddio NOT fel maetholyn N, cyflwynwyd ¹⁵NH₄, ¹⁵NO₃ neu ¹⁵N/¹³C asidau amino (98.9 0/00; 1 kg N ha⁻¹) i'r pridd, yn y maes a mesur crynhoad ¹⁵N a ¹³C o fewn y gwreiddiau a'r dail *D. antarctica* (Owen a Jones, 2001). Cyflwynwyd y cemegolion wedi'u labelu yng nghanol yr haf deheuol, pan dybid bod y twf cyflymaf yn digwydd. Defnyddiwyd dull Bardgett *et al.*, (2003), i chwistrellu'r cemegolion i dywyrch (ardaledd 20 cm²) o'r gwair. Er mwyn sicrhau bod pob tywarchen yn derbyn yr un faint o N, chwistrellwyd yr un crynodiad o'r cyfansoddion cymysg heblaw fod elfen wahanol yn cael ei chyflwyno fel label sefydlog ¹⁵N neu ¹³C/¹⁵N ym mhob triniaeth ddyblygol. Casglwyd samplau o *D. antarctica* 6, 24, 48, 168 a 720 awr wedi cyflwyno'r cemegolion, sychwyd hwy am 48 awr ar 80°C ac yna'u malu. Mesurwyd ¹³C a ¹⁵N drwy ddefnyddio sbectromedr mäs gyda dadansoddiad cymhareb isotopig ar y cyd â labordy isotopau sefydlog, Cyngor Ymchwil yr Amgylchedd Naturiol (Prifysgol Caerhirfryn).

2.7. Dadansoddiad ystadegol

Defnyddiwyd Mesuriadau Niferus (*Repeated Measures*) (*ANOVA MN*) i ganfod gwahaniaethau arwyddocaol yn yr arbrofion mwyneiddio. Defnyddiwyd ANOVA un-newidyn i astudio effaith tymheredd gan osod pridd, swbstrad a thymheredd fel ffactorau sy'n effeithio ar fwyneiddiad. Dadansoddiwyd gweddill y data drwy ddefnyddio ANOVA un-ffordd. Adnabuwyd y gwahaniaethau arwyddocaol drwy ddefnyddio prawf post hoc Tukey (gan ddefnyddio $P < 0.05$ fel y ffin arwyddocaol). Defnyddiwyd rhaglen gyfrifiadurol SPSS 14 i brosesu'r holl waith ystadegol a rhaglen Sigmaplot fersiwn 8.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) i gyfrifo'r hafaliad arsgugno ac i ffitio'r model dadfelliad drwy ddefnyddio proses optimeiddiaeth sgwariau lleiaf (*least squares optimization*).

3. Canlyniadau

3.1 Mesuriadau Cemegol

Roedd gwahaniaeth arwyddocaol yng nghemeg toddiant y pridd (Tabl 1). Roedd presenoldeb planhigion yn codi crynodiad o COT ac asidau amino rhydd (CAAR) o'i gymharu â phriddoedd moel. Roedd dargludiad trydanol (DT) yn uwch, pH yn is, a chrynodiad CNT, NOT, CAAR, NO_3^- , NH_4^+ a phenol yn uwch ym mhriddoedd nythod pengwin o'u cymharu â'r priddoedd moel. Yn ogystal, roedd crynodiad CNT, NOT, NO_3^- , NH_4^+ a phenol yn uwch a DT yn uwch ym mhriddoedd nythod mewn cymhariaeth â phriddoedd o dan blanhigion (Tabl 1). Roedd 32 y cant o CNT mewn ffurf NOT yn y priddoedd moel ond roedd crynodiadau llawer uwch o NOT (94 y cant a 91 y cant) ym mhriddoedd gyda planhigion ac o'r nythod (Tabl 1). O'r NOT hwn, roedd 28 y cant, 48 y cant a 0.7 y cant yn ôl eu trefn yn asidau amino, gyda 21 y cant, 6.4 y cant a 9.5 y cant yn N anorganig (Tabl 1).

	Moel	Gyda planhigion	Nythod
pH	6.82 ± 0.12^a	6.02 ± 0.13^{ab}	5.22 ± 0.32^b
DT ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	37 ± 9^a	28 ± 3^a	378 ± 60^b
Cyfanswm C (g C kg^{-1})	21.9 ± 2.3^a	$92.6b \pm 9.2^b$	64.7 ± 13.8^b
Cyfanswm N (g N kg^{-1})	1.2 ± 0.14^a	5.7 ± 0.50^a	113.3 ± 26.9^b
COT (mg C l^{-1})	29.4 ± 7.7^a	84.9 ± 16.6^b	71.7 ± 8.3^{ab}
NOT (mg N l^{-1})	0.15 ± 0.08^a	3.23 ± 0.63^a	157 ± 27^b
AA (mg N l^{-1})	0.08 ± 0.02^a	0.30 ± 0.03^b	0.21 ± 0.02^b
NO_3^- (mg N l^{-1})	0.42 ± 0.10^a	0.08 ± 0.01^a	1.30 ± 0.70^b
NH_4^+ (mg N l^{-1})	0.05 ± 0.02^a	0.14 ± 0.02^a	15.0 ± 1.5^b
Phenols (mg l^{-1})	0.06 ± 0.06^a	5.1 ± 1.8^b	21.1 ± 2.0^c

Tabl 1: Nodweddion cemegol y tri phridd a ddefnyddiwyd yn yr arbrofion hyn.

Mae'r gwerthoedd yn cynrychioli cymedr \pm Gwall safonol ($n = 3$). Dynodir gwerthoedd ystadegol arwyddocaol ($P < 0.05$) o fewn yr un rhes gan lythyren uwchysgrifol wahanol DT yn nodi dargludiad trydanol. Mae'r mesuriadau canlynol ar ddŵr y pridd, COT – Carbon organig toddedig, NOT – N organig toddedig, AA yn cynrychioli cyfanswm yr asidau amino, a Phenol yn cynrychioli crynodiad y phenol toddedig.

3.2 Mwyneiddiad asidau amino a pheptid

Ar dymheredd o 10 °C, roedd mwyneiddiad asidau amino a pheptid yn dilyn y patrwm:

Glu-Phe > Glu > Val > Val-Pro-Pro. Nid oedd gwahaniaeth arwyddocaol yn amlwg rhwng y swbstrad unigol ym mhob pridd.

Ar gyfartaledd, ar ôl saith diwrnod, roedd $51 \pm 2\%$ o'r ^{14}C -Glu yn weddill yn y peptid â $44 \pm 5\%$ o'r ^{14}C -Glu wedi ei fwyneiddio i $^{14}\text{CO}_2$. Yn achos Val, adferwyd $34 \pm 3\%$ o'r ^{14}C -Val yn y peptid a $30 \pm 1\%$ o'r asid amino rhydd fel $^{14}\text{CO}_2$ (Ffig 2). Roedd profion ystadegol

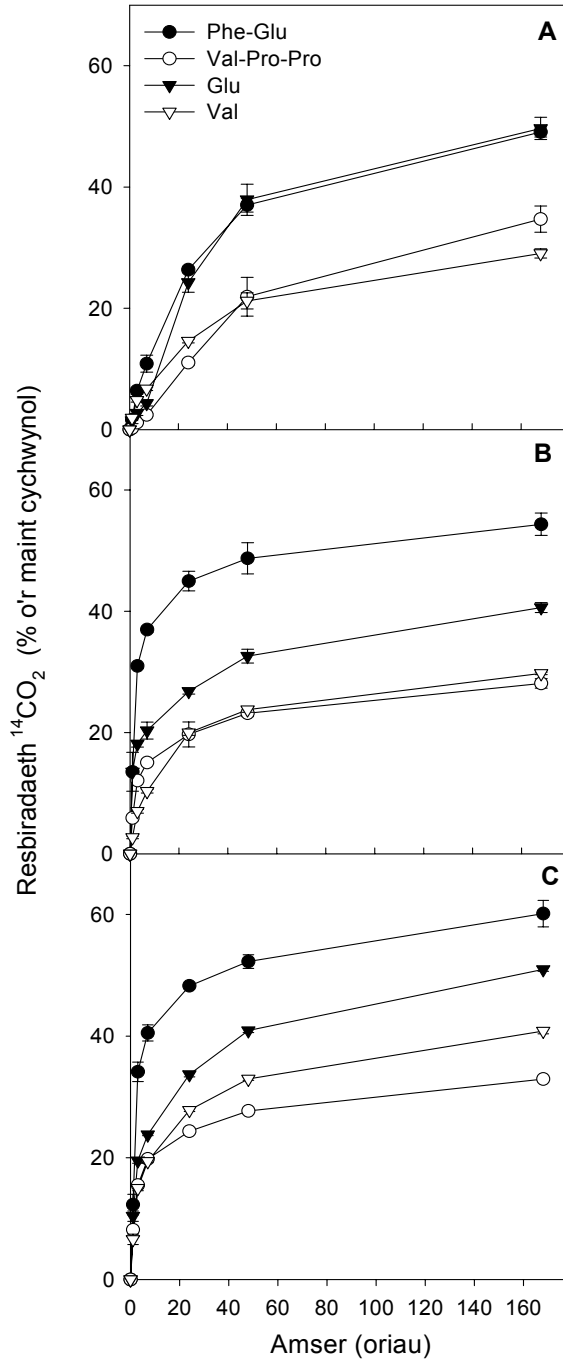


Fig. 2: Mwyneiddiad asidau amino, peptid a protein mewn tri phridd o Ynys Signy. Panel A – priddoedd noeth; panel B – priddoedd gyda *D. antarctica* yn tyfu arnynt; panel C – priddoedd o nythod pengwinaid. Dangosir cymedr bob pwynt â'r gwall safonol ($n = 3$).

ANOVA MN rhwng asidau amino unigol a'r peptid perthnasol yn dangos gwahaniaethau arwyddocaol mewn mwyneiddiad rhwng Glu a Glu-Phe yn y priddoedd â phlanhigion ($P \leq 0.01$) a'r priddoedd o'r nythod ($P \leq 0.01$). Roedd tebygrwydd yn y raddfa resbiradaeth ymysg y ddau bridd hyn (Ffig 2). Yn gyffredinol, roedd cyflymdra'r mwyneiddiad enydaidd (*instantaneous mineralisation rate*) yn arafach yn y priddoedd moel (cymedr \pm gwall safonol $0.05 \pm 0.02 - 1.6 \pm 0.3 \mu\text{M g}^{-1}$ pridd awr⁻¹) o'u cymharu â'r priddoedd eraill a astudiwyd (gyda phlanhigion $0.9 \pm 0.2 - 5.4 \pm 0.04 \mu\text{M g}^{-1}$ pridd awr⁻¹; nythod $2.5 \pm 0.2 - 5.5 \pm 0.4 \mu\text{M g}^{-1}$ pridd awr⁻¹).

Ym mhob achos roedd hafaliadau dadfeilio esbonyddol dwbl yn ffitio'r data yn dda ($r^2 = 0.99 \pm 0.02$). Defnyddiwyd cyfnod cyntaf, cyflym o'r hafaliad dadfeilio esbonyddol i gyfrifo hanner oes ($t_{1/2}$) pob swbstrad ym mhob tymheredd. Mae gwerthoedd α_1 a α_2 yn egluro faint o'r swbstrad sy'n cael ei rannu i brosesau anabolig a chatabolig (Tabl 2). Roedd y math o bridd a swbstrad yn effeithio ar ymranïad y swbstrad yn sylweddol. Roedd llawer llai o'r ¹⁴C o bob swbstrad yn cael ei rannu i'r gronfa α_1 yn y priddoedd â phlanhigion ($P < 0.05$) a llawer mwy o'r peptid Glu-Phe yn cael ei rannu i'r gronfa hon na'r un swbstrad arall ($P < 0.001$) (Tabl 2). O ganlyniad, roedd llawer mwy o'r ¹⁴C o bob swbstrad yn aros ym miomas y microbau yn y priddoedd o dan blanhigion. Llonyddwyd llawer llai o'r

Pridd	Glu	Glu-Phe	Val	Val-Pro-Pro
Cronfa C resbiredig α_1 (%)				
Moel	32.2 \pm 7	51.3 \pm 2.0	32.8 \pm 0.	21.0 \pm 0
Gyda phlanhigion	22.0 \pm 1.	39.9 \pm 2.	20.7 \pm 0.	20.1 \pm 0
Nythod	33.4 \pm 3.7	50.0 \pm 3.6	26.1 \pm 1.2	23.5 \pm 1.7
Cronfa C a lonyddwyd α_2 (%)				
Moel	67.7 \pm 7.2	50.2 \pm 1.9	67.8 \pm 0.5	75.1 \pm 0.4
Gyda phlanhigion	76.2 \pm 1.3	59.5 \pm 2.5	77.9 \pm 0.4	78.5 \pm 0.5
Nythod	63.89 \pm 4.4	50.3 \pm 2.4	72.3 \pm 1.1	75.2 \pm 1.7
Cronfa resbiredig (k_1) ($\mu\text{M awr}^{-1} \times 10^{-2}$)				
Moel	2.8 \pm 0.4	1.5 \pm 0.7	2.3 \pm 0.3	5.1 \pm 0.9
Gyda phlanhigion	34.3 \pm 5.5	14.5 \pm 7.3	7.0 \pm 0.8	18.4 \pm 1.8
Nythod	21.45 \pm 10.1	18.0 \pm 8.0	16.4 \pm 0.9	25.0 \pm 3.1
$t_{1/2}$ swbstrad ($\ln(2)/k_1$)				
Gyda phlanhigion				
1 °C	8.5 \pm 1.3	1.7 \pm 0.1	13.4 \pm 2.9	4.6 \pm 0.4
5 °C	4.7 \pm 0.8	2.4 \pm 0.8	9.4 \pm 1.8	4.0 \pm 0.6
10 °C	2.1 \pm 0.1	2.3 \pm 1.3	4.2 \pm 2.0	3.6 \pm 1.2

Tabl 2: Effaith berthnasol asidau amino a pheptidau sy'n cael eu rhannu rhwng resbiradaeth (cronfa α_1) neu'n llonyddu ym miomas y microbau (cronfa α_2). Cysoniad (k_1) ar gyfer trosiant y C a resbiradwyd (cronfa α_1) a chyfrifiad o'r $t_{1/2}$ mewn pridd â phlanhigion ar dri tymheredd. Mae'r gwerthoedd yn cynrychioli cymedr a gwall safonol ($n = 3$).

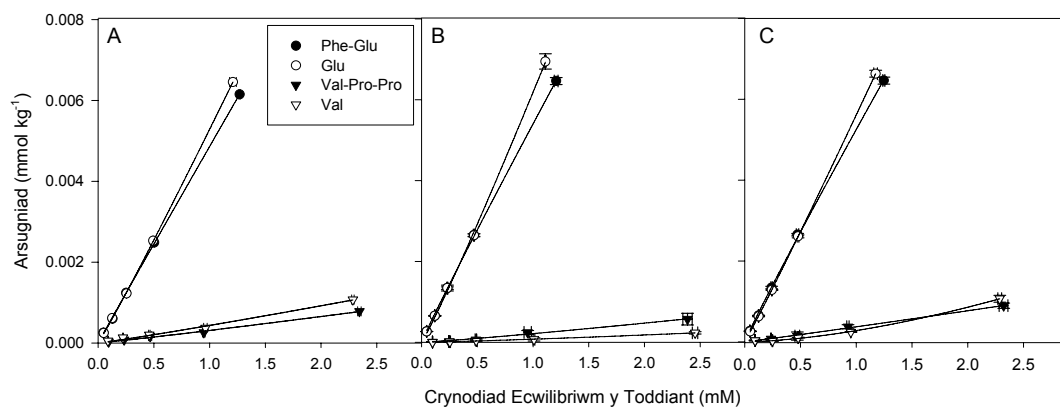
swbstrad Glu-Phe na'r un swbstrad arall. Yn gyffredinol, roedd fflwcs o ^{14}C yn arafach yn y priddoedd moel (cymedr \pm gwall safonol $1.5 \pm 0.7 \cdot 10^{-2} - 5.1 \pm 0.9 \cdot 10^{-2}$) o'u cymharu â'r ddau bridd arall a astudiwyd (gyda phlanhigion $7.0 \pm 0.8 \cdot 10^{-2} - 34.3 \pm 5.5 \cdot 10^{-2}$ a nythod $16.4 \pm 0.9 \cdot 10^{-2} - 25 \pm 3.1 \cdot 10^{-2}$).

Yn groes i'r disgwyl, roedd effaith tymheredd ar barhad y swbstrad yn gymhleth ac yn ddibynnol ar y math o bridd ac ar y swbstrad. O'r tri phridd, ymateb y pridd o dan blanhigion oedd y symlaf i'w egluro lle roedd $t_{1/2}$ yn gostwng wrth i'r tymheredd godi (Tabl 2), ond nid oedd effaith tymheredd yn amlwg ar $t_{1/2}$ yn y ddau bridd arall (data heb ei gyflwyno). Ychydig effaith tymheredd a welwyd hefyd ar fflwcs ^{14}C i'r ddau bwl α_1 ag α_2 (paramedrau k_1 ag k_2 ; $P > 0.05$; Tabl 2).

3.3 Arsugniad asidau amino a pheptid

Ar sail y mesuriadau pH (Tabl 1), roeddwn yn rhagfynegi na fyddai gwefr net (*net charge*) ar asidau amino na'r peptidau Val-Pro a Val-Pro-Pro ym mhob pridd. Byddai gwefr o -1.07 ar Glu a Glu-Phe yn y priddoedd moel (pH 6.82), -0.83 ym mhriddoedd nythod (pH 5.22) a -0.98 (pH 6.02) mewn priddoedd â phlanhigion.

Roedd patrwm arsugniad asid amino a pheptid rhannau solet y pridd yn dilyn y patrwm $\text{Glu} > \text{Glu-Phe} > (\text{Val} = \text{Val-Pro-Pro})$. Roedd isothermau arsugno, sy'n cael eu hegluro gan hafaliad Freundlich (Ffig. 3) yn cynhyrchu'r cyfernod arsugno (K_d) sy'n ymddangos yn Nhabl 3. Roedd gwerthoedd K_d rhwng 4.83 – 5.64 ar gyfer Glu, 5.17 – 5.77 ar gyfer Glu-Phe, 0.16 – 2.41 ar gyfer Val, a 0.35 – 1.28 ar gyfer Val-Pro-Pro. Roedd gan natur y pridd effaith arwyddocaol ar arsugniad Glu, Glu-Phe a Val, gydag arsugniad uwch o Val yn y priddoedd moel ac arsugniad o Glu a Glu-Phe yn uwch yn y priddoedd o dan blanhigion na'r ddau bridd arall (Tabl 3). Nid oedd gan natur y pridd effaith ar arsugniad Val-Pro-Pro (Ffig. 3, Tabl 3).



Ffigwr 3. Isothermau arsugno Freundlich o asidau amino a pheptidau yn y mwynau solet o'r tri phridd o Ynys Signy. Panel A – pridd noeth; panel B – pridd gyda *D. antarctica* yn tyfu arno; panel C – pridd o nythod pengwiniad. Mae'r data yn dangos cymedr pob pwynt a'r gwall safonol ($n = 3$).

Pridd	Glu	Glu-Phe	Val	Val-Pro-Pro
Moel	4.83 ± 0.06 ^a	5.17 ± 0.02 ^c	2.41 ± 0.71 ^d	1.11 ± 0.11 ^e
Gyda Phlanhigion	5.64 ± 0.03 ^b	5.77 ± 0.07 ^{ch}	0.16 ± 0.05 ^{dd}	0.35 ± 0.23 ^e
Nythod	5.20 ± 0.14 ^a	5.55 ± 0.05 ^{ch}	1.49 ± 0.5 ^{d,dd}	1.28 ± 0.3 ^e

Tabl 3: Cyfernod arsgugno (K_d) ar gyfer 100 μ M o ddau asid amino a dau beptid mewn tri phridd o Ynys Signy. Mae'r gwerthoedd yn cynrychioli cymedr \pm gwall safonol ($n = 3$). Dynodir gwahaniaethau arwyddocaol rhwng y peptid neu asidau amino unigol gan y llythrennau bach (a, a b, - Phe-Glu a Glu; c, a d, - Val-Pro-Pro a Val nid oedd gwahaniaethau ystadegol rhwng asidau amino unigol a'r peptid perthnasol yn yr un pridd ($P < 0.05$)).

3.4 Defnydd *D. antarctica* o NOT

Yn y cyswllt hwn, mae'r defnydd o gemegolion sydd wedi eu cyd-labelu â ^{13}C a ^{15}N yn ein galluogi i adnabod ffawd cemegolion o ddi-ddordeb (asidau amino yn yr achos hwn). Os yw gwreiddiau yn defnyddio asidau amino yn eu cyfanrwydd (h.y. heb ddadamineiddio ensymyddol y tu allan i'r gwreiddyn ac yna defnyddio'r NH_4^+ fel maeth), fe fyddwn yn disgwyl gweld cyd-gyfoethogiad o'r lefelau o ^{13}C a ^{15}N yng ngwreiddiau a hefyd yn nail y planhigion. Yn yr achos hwn nid oes cyfoethogiad sylweddol o ^{13}C yn y gwreiddiau nac yn y dail *D. antarctica* (Ffig. 4A). Mae cyfoethogiad o'r lefelau o ^{15}N i'w weld o'r cyfnod samplu cyntaf (Ffig. 4B) ac, yn ôl y disgwyl, mae lefel y cyfoethogiad yn uwch yn y gwreiddiau yn ystod y cyfnod byr hwn wedi i ni fewnsaethu'r asid amino. Ar ôl 7 a 30 diwrnod, mae cynnydd sylweddol yng nghyfoethogiad ^{15}N yn y gwreiddiau a'r dail, gyda chyfoethogiad uwch i'w weld yn y dail.

4.0 Trafodaeth

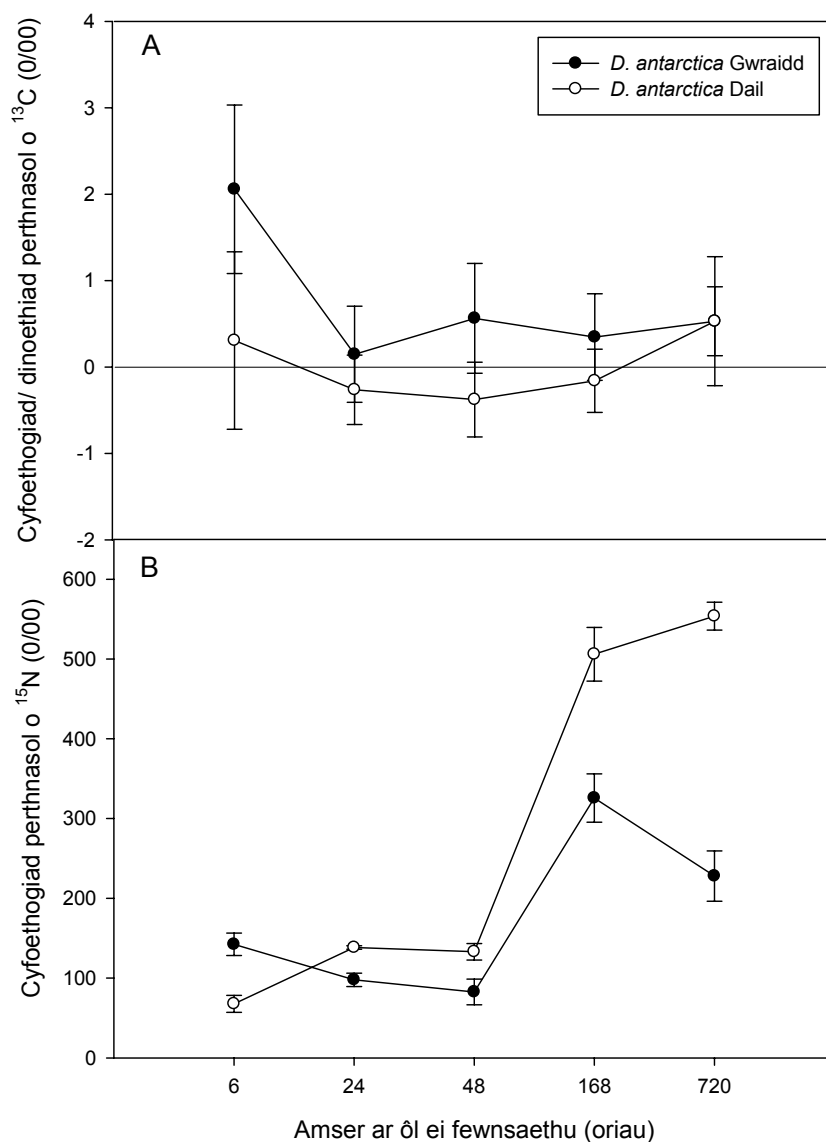
4.1 Mwyneiddiad asid amino a pheptid

Credir mai N yw'r prif faetholyn sy'n rheoli cynhyrchiant planhigion yn y pegynau (Davey a Rothery, 1992; Hopkins et al., 2006; Roberts et al., 2009), a bod ffurfiau organig ar N yn cynrychioli'r gronfa fwyaf o N yn y priddoedd hyn (Kielland, 1994). Er ein bod yn deall cryn dipyn am ymddygiad N mewn priddoedd, ychydig iawn yr ydym yn ei ddeall o'r broses sy'n arwain at gynhyrchiant N mewn ffurf sy'n addas ar gyfer twf planhigion. Er bod tystiolaeth gynyddol bod microbau'r pridd yn defnyddio N organig yn uniongyrchol ar ffurf asidau amino ar gyfer eu prosesau metabolig (Jones et al., 2005), rydym wedi tybio ei bod yn angenrheidiol i brotein a pheptid gael eu diraddio i'w hunedau unigol megis asidau amino cyn i hyn ddigwydd. Yn ogystal, rydym yn cynnig mai'r cam cyfyngol mewn diraddio N organig yw gallu proteas yn y pridd i gyfnewid protein a pheptid i asidau amino (Jan et al., 2009).

Mae'r canlyniadau yn dangos mwyneiddiad o beptidau bach (dau neu dri asid amino). Mae'r mwyneiddiad hwn cyn gyflymed â mwyneiddiad asidau amino unigol (Ffig. 2) sy'n awgrymu bod peptidau bach yn cael eu defnyddio yn uniongyrchol gan ficrobau'r pridd

a'n bod wedi camddehongli lleoliad y cam cyfyngol hwn. Felly, y broses o ddiraddio protein a pheptidau mawr i beptidau llai yw'r cam sy'n rheoli'r ddarpariaeth o N i ficrobau'r pridd.

Ni ellir diystyru'n llwyr posibilrwydd mewnlifiad yr asidau amino unigol i gelloedd y microbau yn dilyn hydrolysis cyflym y tu allan i'r celloedd, ond mae sawl arbrawf *in vitro*, er enghraifft gydag *E. coli*, wedi dangos defnydd uniongyrchol o beptidau bach gan ficrobau yn cefnogi ein dadansoddiad (e.e. Payne a Gilvarg, 1968; Payne a Bell, 1979; Walker ac Altman, 2005). Posibilrwydd ychwanegol yw hydrolysis o fewn y gell ac yna secretiad o'r asidau amino a mwyneddiddiad o'r asidau amino unigol hynny y tu allan i'r gell. Mae arsylwadau o'r broses hon yn bodoli *in vitro* (Payne a Bell, 1979) ond mae cyflymdra'r broses yn yr achos hwn yn awgrymu nad yw hyn yn digwydd. Yn ogystal, nid adroddwyd ar secretiad o unrhyw un o'r asidau amino unigol hyn gan y microbau a ddefnyddiodd Payne a Bell (1979) yn eu hastudiaeth ac mae angen astudiaethau pellach i gadarnhau a yw unrhyw un o'r prosesau hyn yn weithredol mewn priddoedd yn gyffredinol.



Ffig. 4:
Cyfoethogiad perthnasol A = ^{13}C a B = ^{15}N yng ngwreiddiau a dail *D. antarctica* yn y maes. Mae'r data yn dangos cymedr bob pwynt â'r gwall safonol (n = 5).

4.2 Effaith tymheredd ar fwyneiddiad asidau amino a pheptid

Nid oedd tymheredd yn effeithio ar y gyfradd gyson (*rate constant*) o gyfnod cyntaf mwyneiddiad asid amino (k_1) (Tabl 2) ac mae hyn yn cyd-fynd â chanlyniadau Boddy et al., (2008), sef nad yw mwyneiddiad cemegolion organig bach mewn priddoedd o ledred uchel (*high latitude*) yn sensitif i newidiadau tymheredd. Mae hyn yn dra gwahanol i briddoedd o ardaloedd tymherus sy'n dangos sensitifrwydd cryf i dymheredd (Jones, 1999). Yn groes i Boddy et al., (2008) a astudiodd briddoedd o'r Arctig, mae'n ymddangos nad oes effaith tymheredd ar y cyfnod arafach o fwyneiddiad (k_2) (llonyddiad ^{14}C ym miomas y microbau) ym mhriddoedd yr Antarctig forwrol ychwaith.

Trwy ddefnyddio amcangyfrif o'r amser mae cemegolion yn parhau ym miomas microbau'r pridd, sef $\ln(2)/k_2$, rydym yn cael gwerthoedd rhwng 29 a 79 diwrnod. Mae hyn yn lled gytuno â'r amcangyfrifon ar gyfer priddoedd yr Arctig (Boddy et al., 2008). Wrth ystyried dyrannu i'r pyllau C gwahanol, gwelwn fod y gymuned ficrobaidd yn dyrannu'r deubepitid a ddefnyddiwyd yma mewn ffordd wahanol i'r asidau amino unigol (Ffig 3). Yn yr achos hwn, gwelwn fod mwy o'r deubepitid yn cael ei ddefnyddio ar gyfer resbiradaeth a llai yn cael ei ddefnyddio i greu biomas newydd. Nid oes gennym eglurhad am hyn ac ni wyddom a yw hyn yn wir am ddeubepitidau eraill. Felly, mae angen llawer mwy o waith ymchwil i ddeall ymddygiad a rôl peptidau bychain mewn pridd yn gyffredinol ac yn arbennig mewn systemau N isel fel yn achos y priddoedd hyn.

Er nad oes effaith tymheredd ar gyflymdra cychwynnol mwyneiddiad y swbstradau, mae'r canlyniadau dros gyfnod hirach (168 awr) yn dangos bod mwy o'r cemegolion ^{14}C yn cael eu mwyneiddio ar dymheredd uwch. Cyfrifwyd gwerthoedd Q_{10} o 1.1 – 1.6 yn y priddoedd moel, 1.4 – 4.7 yn y priddoedd â phlanhigion a 0.5 – 2.5 o'r nythod. Mae'r rhain yn lled gytuno ag astudiaethau yn yr Arctig (Bekku et al., 2004; Boddy et al., 2008). Cyfrifwyd y gwerthoedd isaf o Q_{10} yn achos y triepitid (Val-Pro-Pro), ffaith sy'n awgrymu rheolaeth wahanol o fwyneiddiad gan dymheredd. Mae maint peptid yn effeithio ar ei fewnlifiad i'r gell ond tybir mai dim ond peptidau sy'n cynnwys pump asid amino neu fwy (yn ddibynnol ar y math o asid amino) sy'n cael eu harafu yn sylweddol (Payne a Gilvarg, 1968). O ganlyniad, mae'n annhebygol mai maint sy'n effeithio ar fwyneiddiad Val-Pro-Pro yn yr achos hwn.

Mae ystod y tymheredd a ddefnyddiwyd yn yr arbrofion hyn yn gul (1 – 10°C) ond yn adlewyrchu yr hyn a welwn yn naturiol yn mhriddoedd yr Antarctig dros yr haf, ac mae'n debyg bod y canlyniadau hyn yn berthnasol i'r prosesau naturiol. Mae'n bosibl y byddwn yn gweld patrwm mwy amlwg wrth ddefnyddio tymhereddau uwch. Yn wir, mae archwiliadau cychwynnol wedi dangos nad yw resbiradaeth y microbau hyn yn cael ei heffeithio yn andwyol gan dymheredd hyd at 35°C. Fodd bynnag, mae diffyg dealltwriaeth o ymddygiad ac effaith peptidau mewn pridd ac mae'n faes ymchwil sydd angen llawer mwy o ymchwilio i'w ddeall yn well.

4.3 Arsugniad asid amino a pheptid

Mae sawl ffactor yn rheoli gallu'r microbau a'r planhigion i ddefnyddio elfennau cemegol ar gyfer maeth. Un o'r rhai pwysicaf yw'r raddfa mae elfennau unigol yn arsgugno i fater solet y pridd. Mae gwefr cemegol gronynnau clai y pridd yn un o'r ffactorau pwysicaf yn y cyd-destun hwn. Er bod cryn wybodaeth parthed arsgugniad asidau amino unigol, siwgrau

amino a glwcos (Jones a Hodge, 1999), mae'r dystiolaeth ynglŷn ag arsugniad peptidau yn brin ac yn amwys, ond ceir awgrymiad bod maint, gwefr net, presenoldeb grwpiau N terfynol a mwyneiddiaeth y clai yn ffactorau pwysig. Nid oes astudiaeth o fwyneiddiaeth clai Ynys Signy yn bodoli hyd yn hyn, nac ychwaith astudiaeth o arsugniad peptid i'r rhan organig o'r pridd. O ganlyniad, dim ond canlyniadau cyffredinol sy'n bosibl yn yr achos hwn. Yn gyffredinol, nid oes gwahaniaeth rhwng arsugniad peptid unigol a'r un asidau amino cyfansoddol (e.e. rhwng Phe-Glu a'r asidau amino rhydd Phe a Glu neu Val-Pro-Pro a Val a Pro yn unigol, Ffig. 3). Yn yr un modd, nid oes patrwm amlwg i arsugniad peptid neu asid amino unigol yn y tri phridd gwahanol. Yn ogystal, mae gwerthoedd isel y cyfernod arsugno K_d a welwn yn yr astudiaeth hon yn awgrymu nad yw'r peptidau na'r asidau amino yn arsugno yn gryf iawn i'r rhan solet o'r pridd. Mewn ymgais i geisio adnabod y ffactorau hynny sy'n rheoli arsugniad, edrychwyd ar gydberthynas K_d a ffactorau cemegol y pridd yn Nhabl 1. Eto ni welwyd perthynas amlwg rhwng yr un o'r ffactorau hyn (nid yw'r data wedi ei gynnwys). Ar sail y canlyniadau cychwynol hyn, yr ydym yn rhagfynegi bod arsugniad peptidau i'r pridd yn gymhleth ond yn digwydd ar raddfa pan fo dad-arsugno (*desorption*) yn digwydd yn weddol hawdd; ond mae angen arbrofion ychwanegol i gadarnhau hyn.

4.4 Defnydd o NOT gan *D. antarctica*

Er mwyn cadarnhau mewnlifiad asidau amino yn eu cyfanrwydd, yr ydym yn chwilio am gyfoethogiad ar y cyd o ^{13}C a ^{15}N . Yn yr achos hwn, nid hyn a ddigwyddodd (Ffig. 4), felly rhaid dod i'r casgliad nad yw *D. Antarctica* yn defnyddio asidau amino yn uniongyrchol. Ni olyga hyn nad ydynt yn meddu ar y gallu i'w defnyddio ond gan ystyried fod $t_{1/2}$ asidau amino yn y priddoedd hynny sydd â *D. antarctica* yn tyfu arnynt rhwng 12.0 a 60.0 munud (Tabl 2) yna mae'n debyg mai'r broses amlycaf yn y priddoedd hyn yw mewnlifiad NOT i gelloedd microbau'r pridd ac nid yn uniongyrchol i'r planhigion. Mae cyfoethogiad sylweddol yn yr ^{15}N yn y gwreiddiau ac yn nail y planhigion i'w weld yn glir o'r cyfnod samplu cyntaf ac mae hyn yn dod yn fwy amlwg gydag amser (Ffig. 4). Mae'n ymddangos felly mai defnyddio'r ^{15}N wedi i'r microbau ei archwysu yw'r broses sy'n darparu N ar gyfer twf *D. antarctica*. Yn yr achos hwn, nid oedd cyflenwad o beptid dau-labelog ar gael ac nid astudiwyd mewnlifiant peptid i blanhigion. Ar sail y canlyniadau a welwyd yma er hynny, mae'n debyg mai tebyg iawn i asidau amino fyddai'r canlyniad gan fod $t_{1/2}$ y ddau beptid a ddefnyddiwyd yn dilyn yr un drefn.

5.0 Casgliadau

Tan yn ddiweddar iawn, ychydig o sylw a roddwyd i fwyneiddiad peptidau mewn pridd. Mewn ecosystemau sy'n naturiol isel mewn maeth, mae deall y broses o gylchdroi NOT yn hanfodol ar gyfer modelu a rhagfynegi ymddygiad maeth ar brosesau ecolegol fel allyrru CO_2 , trwytholchi maeth a newidiadau i fioamrywiaeth llysiuol. Mae'n ymddangos ein bod wedi diystyru ffynhonnell ychwanegol o N a bod rhaid ystyried bod yna lwybr ychwanegol (rhif 3 yn Ffig. 1). Yn groes i'r gred, mae mwyneiddiad peptidau bychain yn digwydd ar raddfa debyg i'r asidau amino rhydd ac ym mhreddoedd yr Antarctig forwrol mae'n broses gyflym sy'n gymharol ansensitif i newid tymheredd. Yn ogystal, nid y broses o dorri peptidau i asidau amino unigol yw'r rhwystr pennaf yn y broses o gylchdroi N ond y broses o dorri

proteinau i lawr i beptidau byrion ac yn y maes, mae'n annhebygol bod planhigion yn defnyddio NOT ar gyfer twf am fod microbau yn ei ddefnyddio yn llawer cyflymach. Megis cychwyn y broses o ddeall ffawd ac ymddygiad peptidau mewn pridd mae'r erthygl hon ac mae llawer mwy o waith i'w wneud os ydym am gadarnhau'r broses o fewnlifiad uniongyrchol a'i bwysigrwydd i dwf microbau a phlanhigion.

Diolchiadau

Ariannwyd y gwaith hwn gan Gyngor Ymchwil yr Amgylchedd Naturiol.

Talfyriadau

AA	Asidau Amino
CAAR	Cyfanswm Asidau Amino Rhydd
CNT	Cyfanswm N Toddedig
COT	Carbon Organig Toddedig
DT	Dargludedd Trydanol
ESC	<i>Equilibrium Solution Concentration</i>
Glu	<i>Glutamic acid</i>
NOT	Nitrogen Organig Toddedig
Pro	<i>Proline</i>
Val	<i>Valine</i>

Llyfryddiaeth

- Bardgett, R. D., Streeter, T., Bol, R. (2003), 'Soil microbes compete effectively with plants for organic nitrogen inputs to temperate grasslands', *Ecology*, 84, tt. 1277-87.
- Bekku, Y. S., Nakatsubo, T., Kume, A. a Koizumi, H. (2004), 'Soil microbial biomass, respiration rate, and temperature dependence on a successional glacier foreland in Ny-Alesund, Svalbard', *Arctic Antarctic and Alpine Research*, 36, tt. 395-9.
- Boddy, E., Hill, P. W., Farrar, J. a Jones, D. L. (2007), 'Fast turnover of low molecular weight components of the dissolved organic carbon pool of temperate grassland field soils', *Soil Biology and Biochemistry*, 39, tt. 827-35.
- Boddy, E., Roberts, P., Hill, P.W., Farrar, J. a Jones, D.L. (2008), 'Fast turnover of low molecular weight DOC in Arctic tundra soils', *Soil Biology & Biochemistry*, 40, tt. 1557-66.
- Box, J.D. (1983), 'Investigation of the Folin-Ciocalteu phenol reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters', *Water Research*, 17, tt. 511-25.
- Chapin, F.S., Moilanen, L. a Kielland, K. (1993), 'Preferential use of organic N for growth by a nonmycorrhizal arctic sedge', *Nature*, 361, t. 150.
- Chapin, F.S. (1995), 'A new cog in the nitrogen cycle', *Nature*, 377, tt. 199-200.
- Davey, M.C. a Rothery, P. (1992), 'Factors causing the limitation of growth of terrestrial algae in maritime Antarctica during late summer', *Polar Biology*, 12, tt. 595-601.
- Downes, M.T. (1978), 'An improved hydrazine reduction method for the automated determination of low nitrate levels in freshwater', *Water Research*, 12, tt. 673-5.
- Fitzhugh, R. D., Driscoll, C.T., Groffman, P. M., Tierney, G. L., Fahey, T. J. a Hardy, J. P. (2001), 'Effects of soil freezing disturbance on soil solution nitrogen, phosphorus, and carbon chemistry in a northern hardwood ecosystem', *Biogeochemistry*, 56, tt. 215-38
- Giesler, R., a Lundström U. (1993), 'Soil Solution Chemistry – Effects of Bulking Soil Samples', *Soil Science Society of America Journal*, 57, tt. 1283-8.
- Hodge, A. Stewart, J., Robinson, D., Griffiths, B.S., Fitter, A.H., (1998), 'Root proliferation, soil fauna and plant nitrogen capture from nutrient-rich patches in soil', *New Phytologist*, 139, tt. 479-94.
- Hopkins, D.W., Sparr, A.D., Novis, P.M., Gregorich, E.G. Elberling, B., Greenfield, L.G. (2006) 'Controls on the distribution of productivity and organic resources in Antarctic Dry Valley soils. *Proceedings Of The Royal Society B*, 273, tt. 2687-2695
- Huntley, B. a Cramer, W. (1997), 'Arctic ecosystems and environmental change: Perceptions from the past and predictions for the future', yn Crawford, R. M. M. (gol.), *Disturbance and recovery in Arctic lands: an ecological perspective*, Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on Disturbance and Recovery of Arctic Terrestrial Ecosystems, Medi 24-30 1995, Rovaniemi, Ffindir (Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, Springer-Verlag), tt. 1-24.
- Jones, D. L. a Darrah, P. (1994), 'Amino-acid influx at the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in the rhizosphere', *Plant and Soil*, 163, tt. 1-12.
- Jones, D. L. a Hodge, A. (1999), 'Biodegradation kinetics and sorption reactions of three differently charged amino acids in soil and their effect on plant organic nitrogen availability', *Soil Biology & Biochemistry*, 31, tt. 1331-42.

- Jones, D. L. (1999), 'Amino acid biodegradation and its potential effects on organic nitrogen capture by plants', *Soil Biology & Biochemistry*, 31, tt. 613-22.
- Jones, D. L. a Kielland, K. (2001), 'Soil amino acid turnover dominates the nitrogen flux in permafrost-dominated taiga forest soils', *Soil Biology & Biochemistry*, 34, tt. 209-19.
- Jones, D. L., Owen, A. G. a Farrar, J. F. (2002), 'Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solutions and soil extracts', *Soil Biology & Biochemistry*, 34, tt. 1892-1902.
- Jones, D. L., Healey, J. R., Willett, V. B. a Farrar, J. F. (2005), 'Dissolved organic nitrogen uptake by plants – an important N uptake pathway?', *Soil Biology & Biochemistry*, 37, tt. 413-23.
- Kähler, P., Bjornsen, P. K., Lochte, K. ac Antia, A. (1997), 'DOM and its utilization by bacteria during spring in the Southern Ocean', *Deep Sea Research*, 44, tt. 341-53.
- Kielland, K. (1994), 'Amino-acid-absorption by arctic plants – implications for plant nutrition and nitrogen cycling', *Ecology*, 75, tt. 2373-83.
- Kuzyakov, Y. a Jones, D. L. (2006), 'Glucose uptake by maize roots and its transformation in the rhizosphere', *Soil Biology & Biochemistry*, 38, tt. 851-60.
- Lipson, D. A., a Monson, R. K. (1998), 'Plant-microbe competition for soil amino acids in the alpine tundra: effects of freeze-thaw and dry-rewet events', *Oecologia*, 113, tt. 406-14.
- Mulvaney, R. L. (1996), 'Nitrogen – inorganic forms', yn Sparks, D. L. (gol.), *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, (Madison, Wisconsin: SSSA Book Series, 5), tt. 1123-84.
- Näsholm, T. Huss-Danell, K., Hogberg, P. (2001), 'Uptake of glycine by field grown wheat', *New Phytologist*, 150, tt. 59-63.
- Neff, J. C., Chapin, F. S. a Vitousek, P. M. (2003), 'Breaks in the cycle: dissolved organic nitrogen in terrestrial ecosystems', *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1, tt. 205-11.
- Oechel, W. C., Cook, A. C., Hastings, S. J. a Vourlitis, G. L. (1997), 'Effects of CO₂ and climate change on arctic ecosystems', yn Woodin, S. J. a Marquiss, M. (goln.), *Ecology of Arctic Environments* (Rhydychen: Blackwell Science), tt. 255-74.
- Owen, A. G. a Jones, D. L. (2001), 'Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition', *Soil Biology & Biochemistry*, 33, tt. 651-7.
- Payne, J. W. a Gilvarg, C. (1968), 'Size restriction on peptide utilization in *Escherichia coli*', *The Journal of Biological Chemistry*, 243, tt. 6291-9.
- Payne, J.W. (1972), 'Mechanisms of bacterial peptide transport', yn Elliott, K. ac O'Connor, M., (goln.), *Peptide transport in bacterial and mammalian guts*, Ciba Foundation Symposium 4 (Amsterdam: Associated Scientific Publishers), tt. 17-32.
- Payne, J.W. a Bell, G. (1979), 'Direct determination of the properties of peptide transport systems in *Escherichia coli*, using fluorescent-labelling procedure', *Journal of Bacteriology*, 137, tt. 447-55.
- Payne, J.W. (1980), 'Transport and Utilization of Peptides by Bacteria', yn Payne, J.W. (gol.), *Microorganisms and nitrogen sources*, (Efrog Newydd: John Wiley and Sons), tt. 212-48.
- Perakis, S. S. a Hedin, L. O. (2002), 'Nitrogen loss from unpolluted South American forests mainly via dissolved organic compounds', *Nature*, 415, tt. 416-19.

- Quayle, W. C., Peck, L. S., Peat, H., Ellis-Evans, J. C. a Harrigan P. R. (2001), 'Extreme responses to climate change in Antarctic lakes', *Science*, 295, t. 645.
- Roberts, P., Bol, R. a Jones, D. L. (2007), 'Free amino sugar reactions in relation to soil carbon and nitrogen cycling', *Soil Biology and Biochemistry*, 39, tt. 3081-92.
- Roberts, P., Newsham, K. K., Bardgett, R. D., Farrar, J. F. a Jones, D. L. (2009), 'Vegetation cover regulates the quantity, quality and temporal dynamics of dissolved organic carbon and nitrogen in Antarctic soils', *Polar Biology*, 32, tt. 999-1008.
- Roberts, P. a Jones, D. L. (2012), 'Microbial and plant uptake of free amino sugars in grassland soils', *Soil Biology & Biochemistry*, 49, tt. 139-49.
- Schoberl C. a Komor, E. (1987), 'Amino-acid-uptake by *ricinus-communis* roots – characterization and physiological significance', *Plant Cell and Environment*, 10, tt. 493-500.
- Schimel, J., a Chapin, F.S. (1996), 'Tundra plant uptake of amino acid and NH₄⁺ nitrogen in situ: Plants compete well for amino acid N.', *Ecology*, 77, tt. 2142-7.
- Smith, J. L. a Doran, J.W. (1996), 'Measurement and use of pH and electrical conductivity', yn Doran, J.W., Jones, A. J. (gol.), *Methods for assessing soil quality* (Madison, Wisconsin: SSSA Special Publications, 49), tt. 169-86.
- Stevenson, F. J. (1982), 'Organic forms of soil nitrogen', yn Stevenson, F. J. (gol.), *Nitrogen in agricultural soils*, (Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Monograph, 22), tt. 67-122.
- Ström, L., Owen, A. G., Godbold, D. L. a Jones, D. L. (2001), 'Organic acid behaviour in a calcareous soil: sorption reactions and biodegradation rates', *Soil Biology & Biochemistry*, 33, tt. 2125-33.
- Thomas, D. N., Kennedy, H., Kattner, G., Gerdes, D., Gough, C. a Dieckmann, G. S. (2001), 'Biogeochemistry of platelet ice: its influence on particle flux under fast ice in the Weddell Sea, Antarctica', *Polar Biology*, 24, tt. 486-96.
- van Hees, P. A.W., Jones, D. L., Finlay, R., Godbold, D. L. a Lundström, U. S. (2005), 'The carbon we do not see – the impact of low molecular weight compounds on carbon dynamics and respiration in forest soils: a review', *Soil Biology & Biochemistry*, 37, tt. 1-13.
- Vinolas, L. C., Healy, J. R. a Jones, D. L. (2001), 'Kinetics of soil microbial uptake of free amino acids', *Biology and Fertility of Soil*, 33, tt. 67-74.
- Walker, J. R. ac Altman, E. (2005), 'Biotinylation facilitates the uptake of large peptides by *Escherichia coli* and other gram-negative bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 71, tt. 1850-5.