

叶绿素荧光分析技术在野生植物响应多环芳烃(菲)胁迫的应用研究

丁俊男, 王 慧, 于少鹏*

哈尔滨学院, 黑龙江省寒区湿地环境与生态研究重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150086

摘 要 以叶绿素荧光分析为技术手段, 通过研究土壤中多环芳烃(菲)胁迫对野生大豆叶绿素荧光特性以及光能分配参数的影响。结果表明: 土壤菲胁迫降低了 PSII 反应中心活性和电子传递能力, 导致其光能利用能力降低。200 mg · kg⁻¹ 菲胁迫促使 F_v/F_m , q_p , ETR 和 NPQ 的变化, 降低了光合电子传递链上的电子传递能力和光合反应活性; 在不同光强的调控下, 土壤菲胁迫浓度的增大使得大豆幼苗叶片叶绿素荧光响应曲线 Φ_{PSII} 和 q_p 参数呈现降低趋势, NPQ 的上调启动了叶黄素循环途径耗散过剩的辐射激发能, 以维持光合机构的正常生理功能。土壤菲胁迫下野生大豆叶片的 F_m , F_v/F_m , F_v/F_o 和 PI_{ABS} 等参数均随着菲含量的增加而降低, 即土壤菲胁迫抑制了野生大豆叶片的 PSII 光化学活性。通过对 PSII 电子供体侧和受体侧的电子供应及传递能力的研究发现, 土壤菲胁迫下野生大豆叶片 OJIP 曲线上 0.3 ms 时(即 K 点)的荧光强度增加, 即放氧复合体(OEC)活性降低。土壤菲胁迫还导致 OJIP 曲线上 J 点和 I 点荧光强度的增加, 说明土壤菲胁迫导致了野生大豆叶片 PSII 受体侧电子接受能力的降低, 使电子由 Q_A 向 Q_B 传递受阻。野生大豆叶片的光能吸收和分配参数也明显受到土壤菲胁迫的影响; 随着土壤菲浓度的增加野生大豆叶片 PSII 反应中心吸收光能用于 Q_A 以后的电子传递能量比例和单位反应中心捕获用于电子传递的能量降低, 即吸收的光能用于光化学反应的比例降低。因此, 土壤菲胁迫下导致 PSII 电子供体侧 OEC 的损伤和 PSII 电子受体侧电子传递能力的降低, 以及光能分配利用的改变均是导致其 PSII 反应中心的活性降低的重要原因。研究表明, 以叶绿素荧光分析技术可为环境中多环芳烃(菲)胁迫对植物光合作用的影响机理研究提供指导。

关键词 野生大豆; 多环芳烃; 荧光分析; 荧光参数; 荧光曲线

中图分类号: Q945.11 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2022)07-2207-06

引 言

随着我国城镇化和经济建设的快速发展, 工农业废弃物及人类生活垃圾所产生的持久性有机污染物危害生态环境状况愈发严重, 已成为世界各国所面临的重大环境与公共健康问题^[1]。其中具有致癌、致突变和致畸性特性的多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)极易被动植物所吸收富集, 并可通过食物链和环境接触等途径危害人类的健康, 是各国优先控制的一类有机污染物^[2]。菲(phenanthrene, Phe)是具有三个苯环的多环芳烃类有机污染物, 来源主要由垃圾处理中有机物的不完全燃烧、工农业“三废”和汽车尾气排放, 因其结构性质稳定、难降解而广泛存在于土壤、水体的沉积物和空气中, 其中土壤菲的环境污染问题尤

为突出^[3]。植物长期处于土壤菲胁迫下会影响其正常的生长发育, 菲可通过根部吸附积累在植物体中, 产生的中间产物活性氧可参与植物体的氧化还原循环过程, 引起植物体内分子水平和膜脂器官的氧化损伤等一系列毒害效应^[4]。野生大豆(*Glycine soja*)是我国重点二级保护渐濒危野生物种, 是改良栽培大豆重要的天然种质基因库, 亦可作为土壤多环芳烃污染修复的理想植物。

植物光合作用是对逆境胁迫比较敏感的过程之一, 而叶绿素荧光技术作为研究植物逆境下光合机构功能主要研究方法, 特别是可以反映逆境下植物叶片对光能的吸收和利用能力以及 PSII 反应中心活性的变化, 目前在植物生理生态学领域得到了广泛的推广应用^[5]。根据光合电子传递和叶绿素荧光产率理论, 捕光色素吸收的光能绝大部分用于光化学反应, 其余的能量以热能和荧光的形式耗散掉。利用叶绿素荧

收稿日期: 2021-03-25, 修订日期: 2021-11-06

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(LH2021D014)资助

作者简介: 丁俊男, 1982 年生, 哈尔滨学院地理与旅游学院讲师

* 通讯作者 e-mail: 446334151@qq.com

e-mail: ding.junnan@163.com

光技术测量时, 通常会在光合作用单次周转期间(初级电子受体 Q_A 再氧化周期内)发射一束饱和激发光, 使初级电子受体 Q_A 完全被氧化, 无法再接收来自水裂解产生的电子, 导致电子传递链被完全阻塞, 从而使得 PS II 反应中心全关闭, 叶绿素吸收的过量能量只能以荧光、热能等形式散发^[6]。为探明叶绿素荧光分析技术在野生植物受环境中有机污染物——多环芳烃(菲)胁迫研究中应用的方法, 本试验以野生大豆为试验材料, 应用叶绿素荧光分析技术, 主要研究土壤菲胁迫下野生大豆叶片 PS II 反应中心活性以及光合能量分配参数的变化特点, 探讨土壤菲胁迫对野生大豆叶片放氧复合体活性、光合电子传递能力以及光合能量分配参数的影响, 以期探明环境中多环芳烃(菲)胁迫对植物光合作用的影响机理。

1 实验部分

1.1 试验设计

供试材料野生大豆品种 ZYD5 由黑龙江省农业科学院耕作与栽培研究所大豆室提供, 采自黑龙江省大兴安岭地区呼玛县, 生境内主要植被有乔木、杂草、蒿等植物, 该地区年平均日照时数 2 529 h, 年平均降水量 500 mm, 土壤类型主要为暗棕壤。供试材料主要形态特征: 主根细长, 侧根极少。蔓茎纤细, 缠绕, 略带四棱形, 密披浅棕色茸毛。叶互生, 3 小叶, 叶柄长 2.6~3.0 cm, 浅棕色茸毛, 小叶披针形, 长 4.5~5.0 cm, 宽 1.0~1.5 cm, 侧生小叶片表面绿色, 背面浅绿色, 两面均有浅棕色茸毛, 叶脉于两面稍隆起, 全缘, 密披棕褐色茸毛。蝶形花, 紫红色, 腋生总状花序, 花萼钟状, 5 裂, 旗瓣近圆形, 雄蕊 10 枚, 9 枚花丝连在一起成管状, 1 枚单独分离, 二体。荚有棕色茸毛, 弯镰形。籽粒黑色, 长椭圆形, 有泥膜, 脐黑色。

试验采用盆栽种植方式, 以草炭土为土壤基质。土壤中分别添加培养基质采用草炭土, 试验基质中菲的含量分别设为 0(CK 为对照组), 50, 100 和 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 共 4 个浓度梯度, 质量分数以风干土壤计算, 各处理中的菲以 10 mL 的丙酮作助溶剂, 将丙酮和菲混匀后加入土壤中充分搅拌, 置于阴凉通风处风干 12 h, 使丙酮充分挥发。将精选成熟饱满、大小相对一致的野生大豆品种 ZYD5 的种子均匀播种到含有不同浓度菲土壤的培养钵中, 培养钵直径 12 cm、高 15 cm, 每钵种植 20 粒种子, 每个处理 5 钵重复, 共计 20 钵。将培养钵放在光照强度 200~300 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光周期 12/12 h(光/暗)的培养室内培养, 定期浇水和苗期管理, 待幼苗出土长至株高约 10 cm 时, 间苗处理, 每钵保留健壮、生长相对一致的幼苗 8 株, 待播种 60 d 后开始进行叶绿素荧光参数的测定。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 叶绿素荧光参数测定

叶绿素荧光参数的测定: 将不同处理野生大豆植株叶片进行 0.5 h 暗适应后, 利用便携式脉冲调制荧光仪 FMS-2 (Hansatch 公司, 英国)测定 PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m) 和电子传递速率 (ETR)、光化学猝灭系数 (q_p) 和非光化学猝

灭 (NPQ) 等。各叶绿素荧光参数值的计算方法分别为 PS II 电子量子产率

$$\Phi_{\text{PSII}} = (F_m/F_s)/F'_m \quad (1)$$

电子传递速率

$$\text{ETR} = 0.5 \times 0.85 \times \Phi_{\text{PSII}} \times \text{PFD} \quad (2)$$

式(1)和式(2)中, PFD 为光强, 本试验中为 800 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; $q_p = (F'_m - F_s)/(F'_m - F'_o)$; $\text{NPQ} = (F_s/F'_m) - (F_s/F_m)$ ^[7]。

1.2.2 叶绿素荧光动力参数的测定

利用 Mini 调制式掌上叶绿素荧光仪 (FluorPen FP 100 max, 捷克)测定各处理叶片的 OJIP 参数, 其中 O, J, I 和 P 点分别为 0, 2, 30 和 1000 ms 对应的时刻, OJIP 参数由 3 000 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的脉冲红光诱导, 荧光信号记录从 10 μs 开始至 1 s 结束, 每秒 105 个数据。利用 5 次 OJIP 参数平均值绘制 OJIP 柱形图, 将原始数据进行 O-P 点和 O-J 点标准化, 参数横坐标以对数形式表示。

O-P 点标准化时

$$V_{\text{O-P}} = (F_t - F_o)/(F_m - F_o) \quad (3)$$

O-J 点标准化时

$$V_{\text{O-J}} = (F_t - F_o)/(F_j - F_o) \quad (4)$$

式(3)和式(4)中, F_t 为各时间点的荧光强度。分别计算菲浓度为 50, 100 和 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理 (TR) 和 CK 标准化后的 OJIP 参数差值, 即 $\Delta V_{\text{O-P}} = V_{\text{O-P}}(\text{TR}) - V_{\text{O-P}}(\text{CK})$, $\Delta V_{\text{O-J}} = V_{\text{O-J}}(\text{TR}) - V_{\text{O-J}}(\text{CK})$ 。

对所测 OJIP 参数通过 JIP-test 分析得到叶绿素荧光参数: 初始荧光 (F_o)、最大荧光 (F_m)、PS II 最大光化学效率 (F_v/F_m)、PS II 潜在光化学效率 (F_v/F_o)、以吸收光能为基础的光合性能指数 (PI_{Abs})、OJIP 参数上 2 ms 时有活性反应中心的开放程度 (Ψ_o)、吸收光能用于 Q_A^- 以后电子传递的能量比例 (φE_o)、非光化学猝灭的最大量子产率 (φD_o)、单位反应中心吸收的光能 (ABS/RC)、单位反应中心吸收光能用于还原 Q_A 的能量 (TR_o/RC)、单位反应中心吸收光能用于电子传递的能量 (ET_o/RC) 和单位反应中心耗散掉的能量 (DI_o/RC) 等^[8]。以 CK 的各叶绿素荧光参数为标准, 计算得到不同浓度菲处理下的各叶绿素荧光值与 CK 的各叶绿素荧光值之间比值, 制作不同浓度菲胁迫下各叶绿素荧光参数的雷达图, 其图中数据均为 5 次重复的平均值。

2 结果与讨论

2.1 多环芳烃(菲)对野生大豆叶片叶绿素荧光参数的影响

叶绿素荧光参数可表征植物叶绿体 PS II 系统反应中心的能量吸收利用、传递和耗散过程, 采用叶绿素荧光技术能够灵敏、无损地测定植物 PS II 系统反应中心活性, 快速了解逆境条件下光合器官的损伤状况, 被广泛称为研究植物光合作用反应机制与环境因子胁迫响应的无损探针^[9]。 F_v/F_m 表示植物光系统中光能的转化效率(如图 1 所示), 本研究中不同土壤菲浓度下 F_v/F_m 均保持在 0.8 左右, 土壤菲浓度低于 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时野生大豆叶片的 F_v/F_m 与 CK 无显著差异, 土壤菲浓度达 200 和 F_v/F_m 分别较 CK 降低了 2.74% ($p <$

0.05), 能够基本保持稳定, 与前人的研究结果相一致^[10]; 同时, 土壤菲胁迫导致光合电子传递速率(*ETR*)能力减弱, 降低了光合电子传递链上的电子传递能力[图 1(a)]; 光化学猝灭系数(q_p)参数的下降表明土壤菲胁迫降低了野生大豆叶片 PSII 反应中心的活性及开放程度, 减少了参与光合 CO_2

固定和光呼吸的能量; 土壤菲胁迫浓度的增大使得野生大豆叶片非光化学猝灭参数(*NPQ*)的上调, 确保以更多的热耗散形式来有效降低由天线色素吸收的光能过剩而引起对 PSII 反应中心造成的生理损害[图 1(b)]^[11]。

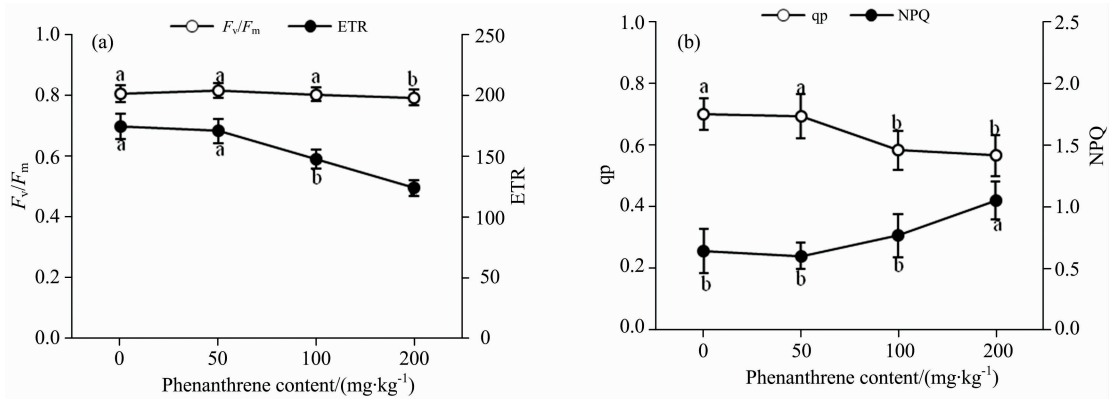


图 1 土壤菲对野生大豆叶片叶绿素荧光参数的影响

(a): F_v/F_m 和 *ETR* 荧光参数变化趋势; (b): q_p 和 *NPQ* 荧光参数变化趋势

Fig. 1 Effects of chlorophyll fluorescence characters in leaves of *Glycine soja* to soils phenanthrene stress

(a): Variation trend of F_v/F_m and *ETR* fluorescence parameters; (b): Variation trend of q_p and *NPQ* fluorescence parameters

2.2 土壤菲胁迫对野生大豆叶片快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的影响

OJIP 曲线中蕴含着丰富的 PSII 原初光化学反应信息, 通过短时间光照后荧光信号的瞬时变化以较高的分辨率研究 F_0 到 F_m 变化的荧光信息, 即可以研究包括 PSII 电子供应、传递以及 PSII 反应中心活性的变化等。土壤菲胁迫下野生

大豆叶片的 OJIP 曲线发生了改变[图 2(a,b)所示], 土壤菲浓度为 50 和 100 mg·kg⁻¹ 时 OJIP 曲线上 O 点荧光强度无明显变化, 而非浓度达 200 mg·kg⁻¹ 时 O 点荧光强度明显增加 ($p < 0.05$), 随着菲浓度的增加, OJIP 柱形图上 J 点荧光强度增强, P 点荧光强度下降[图 2(a,b)]。

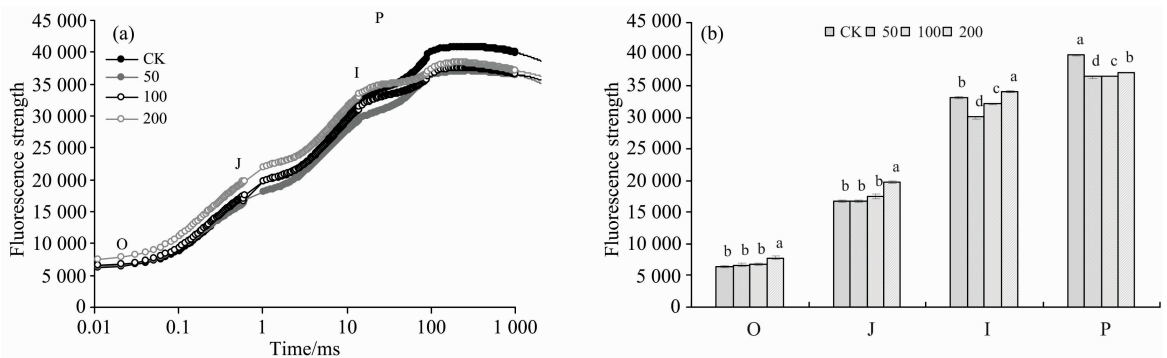


图 2 不同浓度土壤菲胁迫下野生大豆幼苗叶片的 OJIP 曲线

(a): OJIP 曲线变化趋势; (b): O, J, I, P 各点差异分析

Fig. 2 Chlorophyll a fluorescence transient (OJIP) in leaves of *Glycine soja* to phenanthrene polluted

(a): Change trend of OJIP curve; (b): Difference analysis of each point on O, J, I, P

2.3 土壤菲胁迫对野生大豆叶片 PSII 电子受体侧和电子供体侧传递能力的影响

如图 3(a—e)所示由于原始 OJIP 数据变异性受外界因素的影响较大, 因此常通过数学方法把荧光信号数据标准化, 即使所有的 OJIP 数据具有相同的起点和终点, 将 OJIP 数据标准化后可以发现, 随着土壤中菲浓度的增加, OJIP 数据变化上 J 点和 I 点的相对可变荧光明显上升, 并且随着土壤中菲浓度的增加, 增加趋势更为明显[图 3(a,b)所示]。将

不同浓度菲处理与 CK 之间的标准化 OJIP 曲线做差值也可以看出, 随着土壤中菲浓度的增加, J 点和 I 点的相对可变荧光强度变化较明显, 并且表现出明显的浓度效应, 即菲胁迫明显抑制了大豆幼苗叶片 PSII 受体侧的电子传递, 如图 3(c,d)所示。研究发现, PAHs 会抑制植物蛋白质的合成, 或加速蛋白质的降解, 如 D1 蛋白等, 而 D1 蛋白的第 190 位 His 残基与原初电子供体中的 Mn 原子相结合, D1 蛋白的含量会直接影响到放氧复合体的功能, 土壤菲胁迫下野生大豆

幼苗叶片 OJIP 曲线上 0.3 ms 时 K 点荧光强度增加, K 点的荧光强度的增加与 PS II 电子供体侧 OEC 的损伤有关, 当 OEC 活性受到抑制时会使水裂解过程中产生大量的 H_2O_2 , 而叶绿体内还不含有清除 H_2O_2 的 CAT, H_2O_2 氧化细胞中的 DNA 和蛋白质等, 还会通过破坏 OEC 的构成亚基而反馈

抑制 OEC 的活性, 因此, 菲胁迫会通过抑制野生大豆幼苗叶片 OEC 的活性而降低光合电子的产生; 另外 OEC 活性的抑制导致活性氧的代谢紊乱也可能是导致 PS II 反应中心发生光抑制的重要原因之一。

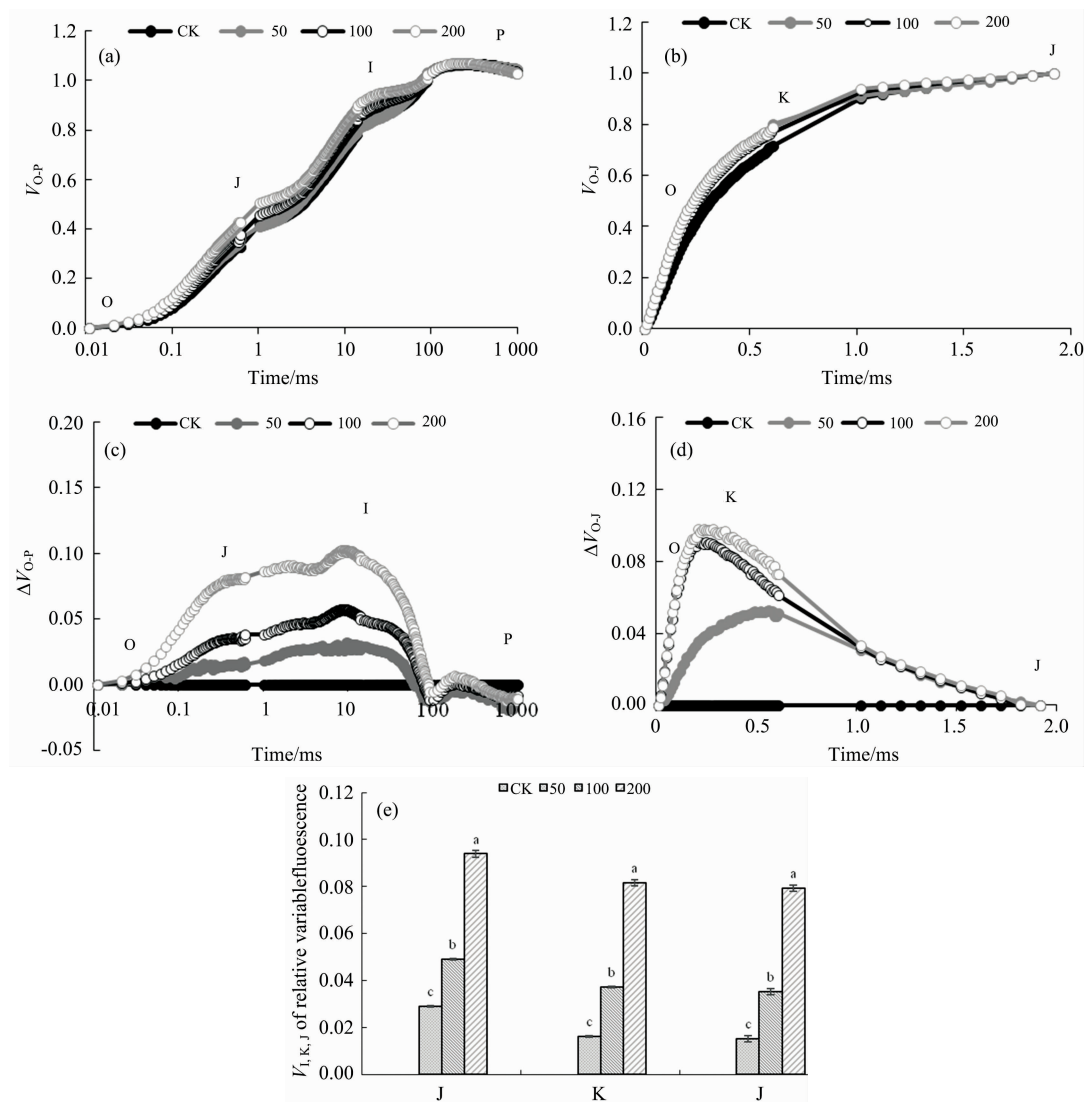


图 3 土壤菲胁迫下野生大豆叶片标准化的 O-P 和 O-J 曲线及相对可变荧光差异显著分析

- (a): O-P 点数据标准化荧光曲线变化趋势; (b): O-J 点数据标准化荧光曲线变化趋势;
 (c): O-P 点与 CK 数据标准化差值荧光曲线变化趋势; (d): O-J 点与 CK 数据标准化差值荧光曲线变化趋势;
 (e): I, K, J 各点相对可变荧光差异分析

Fig. 3 Chlorophyll a fluorescence transients (O-P and O-J) were normalized and significant difference analysis of relative variable fluorescence in leaves of *Glycine soja* to phenanthrene polluted soils

- (a): Variation trend of fluorescence curve of O-P point data standardization;
 (b): Variation trend of fluorescence curve of O-J point data standardization;
 (c): Variation trend of fluorescence curve of standardized different between O-P and CK date;
 (d): Variation trend of fluorescence curve of standardized different between O-J and CK date;
 (e): Analysis of relative variable fluorescence difference of I, K, J points

2.4 土壤菲胁迫对野生大豆叶片叶绿素荧光参数的影响

土壤菲胁迫下野生大豆叶片的光能吸收和分配参数发生了明显的改变(如图 4 所示), $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土壤菲浓度下野

生大豆叶片的 ABS/RC 与 CK 相比无明显变化, 而 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 菲浓度明显降低了野生大豆叶片的 ABS/RC , 但当菲浓度增加到 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时野生大豆叶片的 ABS/RC

降低程度却较 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时有所下降。当 PS II 反应中心有活性反应中心的数量降低时会迫使剩余有活性反应中心效率增加而表现为吸收光能增强^[12]，这暗示了土壤中菲浓度过高时会降低野生大豆叶片 PS II 反应中心有活性反应中心的数量。随着菲浓度的增加，野生大豆叶片的 φE_o 、 TR_o/RC 和 ET_o/RC 降低，而 φD_o 和 DI_o/RC 呈增加趋势，吸收光能用于 Q_A^- 以后的电子传递的能量比例和单位反应中心捕获的用于电子传递的能量降低，即 PS II 反应中心吸收光能用于光合电子传递能量的比例降低，而用于热耗散的比例增加，这虽是野生大豆叶片对菲胁迫的一种适应机制，但光合电子传递能量的比例降低势必会降低同化力的生成，从而影响光合碳同化能力^[13]。因此，土壤菲胁迫降低了野生大豆叶片 PS II 反应中心吸收光能用于 Q_A^- 以后的电子传递的能量比例和单位反应中心捕获的用于电子传递的能量，即改变了野

生大豆叶片光合机构对光能的吸收和利用能力，这也是土壤菲胁迫对野生大豆叶片光合机构破坏使之发生光抑制的重要原因之一。

3 结 论

应用快速叶绿素荧光分析技术测定野生大豆响应多环芳烃(菲)胁迫的生理机制，研究表明：低浓度土壤菲胁迫 ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对野生大豆生长及叶片 PS II 反应中心的影响较小，野生大豆对土壤菲胁迫具有一定的耐受性，但随着土壤菲含量的继续增加，野生大豆叶片中电子传递能力的降低，但野生大豆可以通过启动依赖于叶黄素循环的非辐射能量耗散机制和反应中心的活性降低的方式来降低土壤菲胁迫下的叶片 PS II 的光抑制程度，防止 PS II 反应中心的大量失活。同时，土壤菲胁迫会抑制 PS II 电子供体侧放氧复合体 OEC 的活性，还会降低 PS II 电子受体侧电子的接受能力而影响电子由 Q_A 向 Q_B 的传递。另外，土壤菲胁迫还导致了野生大豆叶片光能吸收和分配不平衡，光能分配到电子传递的能量比例降低，而用于热耗散的比例增加，PS II 反应中心的活性降低。因此，土壤菲胁迫引起野生大豆叶片电子传递速率的降低和光能利用紊乱是引起其光抑制的主要原因。土壤菲胁迫会抑制 PS II 电子供体侧放氧复合体 OEC 的活性，还会降低 PS II 电子受体侧的电子的接受能力而影响电子由 Q_A 向 Q_B 的传递。另外，土壤菲胁迫还导致了野生大豆叶片光能吸收和分配不平衡，光能分配到电子传递的能量比例降低，而用于热耗散的比例增加，PS II 反应中心的活性降低。因此，土壤菲胁迫引起野生大豆叶片电子传递速率的降低和光能利用紊乱是引起其光抑制的主要原因。研究证实，快速叶绿素荧光分析技术为广泛研究于植物响应多环芳烃胁迫的生理机制提供理论指导和技术支撑。

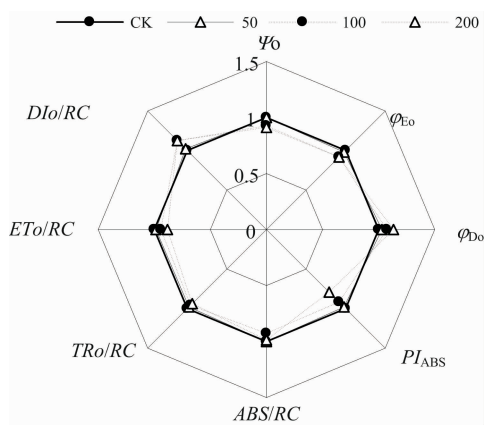


图 4 土壤菲胁迫下野生大豆幼苗叶片叶绿素荧光参数雷达图
Fig. 4 Radar plot of fluorescence data in leaves of *Glycine soja* to phenanthrene polluted soils

References

- [1] Ruby M V, Lowney Y W, Bunge A L, et al. Environmental Science Technology, 2016, 50(5): 2151.
- [2] Gong C, Shen G, Huang H, et al. Chemosphere, 2017, 168(1): 58.
- [3] Li J, Yue L, Shen Y, et al. Chemosphere, 2017, 186: 588.
- [4] Rajniak J, Giehl R H, Chang E, et al. Nature Chemical Biology, 2018, 14(5): 442.
- [5] Shen Y, Li J, Shi S, et al. Environmental Science and Pollution Research International, 2019, 26(4): 3595.
- [6] Alves W S, Manoel E A, Santos N S, et al. Micron, 2017, 95: 23.
- [7] ZHANG Hui-hui, LONG Jing-hong, WANG Jun-rui, et al(张会慧, 龙静泓, 王均睿, 等). Chinese Journal of Ecology(生态学杂志), 2019, 38(1): 161.
- [8] Wang G, Bi A, Amombo E, et al. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 2032.
- [9] WANG Xiang, YIN Gao-fang, ZHAO Nan-jing, et al(王翔, 殷高方, 赵南京, 等). Acta Optica Sinica(光学学报), 2020, 40(24): 2412001-1.
- [10] Yan H, Wu L, Filardo F, et al. Acta Physiologiae Plantarum, 2017, 39(6): 125.
- [11] YAN Hui, LI Xin-ping, XU Zhu, et al(燕辉, 李心平, 徐竹, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2020, 40(10): 3118.
- [12] Shen Y, Li J, Gu R, et al. Environmental Pollution, 2017, 220(B): 1311.
- [13] Zhang H H, Xu N, Teng Z Y, et al. Journal of Plant Interactions, 2019, 14(1): 119.

Application of Rapid Fluorescence Analysis Technology on Study on *Glycine Soja* Response to PAHs(Phenanthrene)

DING Jun-nan, WANG Hui, YU Shao-peng*

Harbin University Heilongjiang Province Key Laboratory of Cold Region Wetland Ecology and Environment Research, Harbin 150086, China

Abstract In this study, the chlorophyll fluorescence analysis was used as a technical means to study the effects of PAHs (Phe) stress in soil on chlorophyll fluorescence characteristics and light energy distribution parameters of *Glycine soja*. The results showed that Phe stresses can decrease PS II activity center and the electron transfer ability, resulting in the decrease of the light energy utilization ability, especially for the use of the strong specular ability. Under 200 mg · kg⁻¹ Phe stress conditions, F_v/F_m , q_p , ENR and NPQ were changed, and slow light inhibition occurred in *G. soja* leaves, which reduced the electron transport capacity and photosynthetic reactivity of the photosynthetic electron transport chain. Under the control of different light intensity and the increase of concentration of Phe stresses that *G. soja* leaves chlorophyll fluorescence response curve Φ_{PSII} and q_p parameters showed a trend of decrease, increase of NPQ launched the PS II cycles way excitation energy dissipation of excess radiation, in order to maintain the normal physiological function of photosynthetic institutions. Those parameters such as F_m , F_v/F_m , F_v/F_o and PI_{ABS} decreased with the increasing concentration of Phe, which means that the soils Phe stressing subdued the photochemical activity of PS II of those *G. soja*. Based on the study of electronic supply and transmission capacity at electronic donor side and receptor side of the PS II found that on 0.3 ms (K point) of the OJIP curve of Phe stressed *G. soja* leaf, the fluorescence intensity increased the activity of OEC decreased. Phe stressing also caused the increase of the fluorescence intensity at the J point and I point on the OJIP curve of Phe stressed *G. soja* leaf. It showed that the Phe stressing reduced the electronically acceptability at the electronic receptor side of PS II on the leaves of *G. soja*, and made the electronic from Q_A to Q_B transfer blocked. The optical energy absorption and distribution parameters of seedling leaves of *G. soja* were influenced by Phe stressing. With the increase of soil Phe concentration, the ratio of optical energy absorbed by PS II reaction center and used for electron transfer after Q_A^- and the energy absorbed by each unit reaction center and used for electron transfer was reduced in the leaves of treated *G. soja*. It means that the proportion of optical energy captured by the reaction center and used for the photochemical reaction was reduced, and the proportion used through the invalid heat dissipation was increased. It could be concluded that there were three important reasons that generated the reduction of activity of PS II reactive center of *G. soja* leaves under the soil Phe stress, which was the damage of OEC at electron donor side of PS II, the electron transfer ability reducing at the electron acceptor side of PS II and the change of the distribution and utilization of optical energy. This study on the chlorophyll fluorescence analysis technique could provide guidance for the effect mechanism of plant photosynthesis to PAHs (Phe) stress.

Keywords *Glycine soja*; PAHs; Fluorescence analysis; Fluorescence parameters; Fluorescence curves

(Received Mar. 25, 2021; accepted Nov. 6, 2021)

* Corresponding author