

〔美〕 A. 桑皮特罗 主编

植物生理学研究法

-33

科学出版社

内 容 简 介

本书是作为综合性大学生物学系和农业大学植物生理学专业高年级学生或研究生进行植物生理学实验课的指导书籍。一共选择了23个实验,每章的实验都由一位在那个研究领域中著名专家来担任编写工作,是代表各该领域的当前研究成果,而且是执笔者本人在实验室中经常应用的方法。

本书包括了光合作用、代谢生理、生长发育、组织培养、物质运输、水分生理、抗性生理等领域,在每章开头,指出这个领域研究成果现状,然后将试验步骤予以详细的描述,包括数据的收集和计算等,此外还应当注意与进一步考虑的问题。

本书可供大专院校从事生物科学教学和学习的师生以及科研人员参考。

A. San Pietro (Editor)

EXPERIMENTAL PLANT PHYSIOLOGY

C. V. Mosby Company, 1974

植物生理学研究法

[美] A. 桑皮特罗 主编

北京农业大学植物生理教研组 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1980年3月第一版 开本: 787×1092 1/32

1980年3月第一次印刷 印张: 8 5/8

印数: 0001—8,520 字数: 194,000

统一书号: 13031·1206

本社书号: 1681·13—8

定价: 1.10 元

执 笔 者

Alva A. App (博伊斯·汤普森植物研究所, 细胞生理及病毒学系, 纽约州, 扬克斯)

Donald J. Armstrong (威斯康星大学植物学系, 威斯康星州, 麦狄逊)

Mordhay Avron (魏斯曼科学研究所生物化学系, 以色列, 雷霍沃特)

James A. Bassham (加利福尼亚大学劳伦斯辐射实验室, 加利福尼亚州, 伯克利)

Leonard Beevers (俄克拉何马大学植物及微生物学系, 俄克拉何马州, 诺曼)

Lawrence Bogorad (哈佛大学生物学系, 马萨诸塞州, 坎布里奇)

Walter D. Bonner, Jr. (宾夕法尼亚大学约翰逊研究基金会, 宾夕法尼亚州, 费城)

R. William Breidenbach (加利福尼亚州大学农学及牧场科学系, 加利福尼亚州, 戴维斯)

Arthur W. Galston (耶鲁大学生物学系, 康涅狄格州, 纽黑文)

Donald R. Geiger (德顿大学生物学系, 俄亥俄州, 德顿)

Martin Gibbs (布兰代斯大学生物学系, 马萨诸塞州, 沃尔瑟姆)

Andre T. Jagendorf (康乃尔大学遗传发育及生理学组, 纽约州, 伊萨卡)

Merrill R. Kaufmann (加利福尼亚大学植物科学系, 加利福尼亚州, 里弗赛德)

George G. Laties (加利福尼亚大学生物学系, 加利福尼亚州, 洛杉矶)

A. Carl Leopold (珀杜大学园艺学系, 印第安纳州, 拉斐特)

Jacob Levitt (密苏里大学生物科学系, 密苏里州, 哥伦比亚)

C. O. Manahan (博伊斯·汤普森植物研究所细胞及病毒学系, 纽约州, 扬克斯)

Stephan Miller (哈佛大学生物学系, 马萨诸塞州, 坎伯里奇)
B. W. Poovaiah (珀杜大学园艺学系, 印第安纳州, 拉斐特)
J. Michael Robinson (布兰代斯大学生物学系, 马萨诸塞州, 沃尔瑟姆)
Ruth L. Satter (耶鲁大学生物学系, 康涅狄格州, 纽黑文)
Folke Skoog (威斯康星大学植物学系, 威斯康星州, 麦迪逊)
Joseph E. Varner (华盛顿大学生物学系, 密苏里州, 圣路易斯)
Hubert B. Vickery (康涅狄格州农业试验场生物化学系, 康涅狄格州, 纽黑文)
Jan A. D. Zeevaart (密执安州立大学植物研究室, 密执安州, 东兰辛)
Israel Zelitch (康涅狄格州农业试验场生物化学系, 康涅狄格州, 纽黑文)

序

许多生物学课程的实验课仅仅当作课堂讲演的一种延长。照此,许多学生把实验课看作是与“度过时间”差不多的地方,不愿接受实验课,当然更不会热衷于此了。这是非常遗憾的,因为正确地设想,实验课可以是一个有效的教学和研究工具。Ruth C. Von Blum 博士最近在《AIBS 教育评论》上她的文章中有力地阐述了实验课的最重要的潜在的功能:

“任何科学课程的首要目的之一,是教育学生在力所能及的水平上进行科学研究。这包括熟练掌握三种基本功:(1) 仔细的观察;(2) 科学仪器及技术的使用;(3) 科学研究的过程。实验课可以专门设计来达到这些目的,但是大多数生物学课程的实验课被看作主要是观察课堂讲授的材料的工具。通常将训练方面看作是分外的和偶然的、研究的成份最经常被忽略掉。”*

本书原来想要克服上述的缺点,并使实验课成为正当的教育工具。朝着这个目标,每章都由一位在那个研究领域中公认为的领导人来编写;而且,他们大多数是大学里的教师,并且讲授大学生水平的课程。他们所描述的实验途径的广泛多样,确实代表当前各领域的研究成果,并且是执笔者本人的实验室经常应用的方法。我们可以引用以下少数例子:两向色谱是阐明光合作用碳素途径的工具;向量质子转移的测量,由 Mitchell 化学渗透学说引申出 ATP 合成的机理;体外蛋白质合成与合成的信使 RNA 之间的关系测定,是一个与用来确

* 第2卷第2期,1973年4月。

定遗传密码原理上相似的实验；以及利用烟草愈伤组织体外培养作为细胞激动素的一个灵敏而专一的生物测定法。

在每章的开头部分，向学生提出课题的评价及该研究领域研究成果的现况。随后继之以试验步骤的详细描述，包括数据的收集、显示和计算，加上应当考虑的问题，以及如果时间容许，可以继续进行的可供选择的额外实验。虽然本书内容比通常一学期的课程所能容纳的实验要多，这是经过仔细考虑向有各种兴趣和便利的学生和教师提供实验途径以充分的多样性和灵活性。本书对大学生以及初级研究生及有关学科的研究人员将会有用。

我认为曾参与这种努力是一个很大的荣幸和乐趣。本书在科学教育中把实验课提高到适当的高度如获得任何成功，将完全归功于每位执笔者努力。对他们在承担这项工作中乐于合作，本人深表感谢。

Anthony San Pietro

[阎隆飞译]

目 录

1. 植物代谢产物的 C^{14} 标记和两向纸色谱法
..... James A. Bassham (1)
2. 离体菠菜叶绿体内的光合 CO_2 掺入.....
..... Martin Gibbs 与 J. Michael Robinson (20)
3. 叶绿体中光诱导的电子传递与磷酸化
..... Mordhay Avron (32)
4. 光合磷酸化的部分反应..... Andre T. Jagendorf (46)
5. 叶绿素的生物合成
..... Lawrence Bogorad 与 Stephan Miller (74)
6. 蛋白质的合成与非核糖体氨基酸掺入蛋白质
..... Alva A. App 与 C. O. Manahan (82)
7. 采集植物叶子相同样本的统计方法
..... Hubert B. Vickery (91)
8. 脱落的调节... A. Carl Leopold 与 B. W. Poovaiah (102)
9. 衰老..... Leonard Beevers (107)
10. 开花刺激剂在短日植物的紫苏 (*Perilla crispa*) 中
通过嫁接传递.....Jan A. D. Zeevaart (116)
11. 光周期诱导牵牛花 (*Pharbitis nil*) 的花形成与花
刺激的移动.....Jan A. D. Zeevaart (121)
12. 植物光敏素和光形态建成
..... Arthur W. Galston 与 Ruth L. Satter (125)
13. 分泌组织的激素控制..... Joseph E. Varner (148)
14. 油料种子贮藏组织中糖原异生酶的发育图式

- R. William Breidenbach (159)
15. 组织培养..... Folke Skoog 与 Donald J. Armstrong (167)
16. 植物贮藏器官组织薄片的呼吸作用
- George G. Laties (180)
17. 植物线粒体 Walter D. Bonner, Jr. (191)
18. 叶子圆片的一些光呼吸特性的测定... Israel Zelitch (205)
19. 用碳¹⁴标记光合产物作为研究运输的方法.....
- Donald R. Geiger (211)
20. 组织和细胞的水分关系 Jacob Levitt (235)
21. 生化抑制剂对气孔开启度的影响..... Israel Zelitch (244)
22. 植物的水分胁强: 它的发展及其对生理的影响 ...
- Merrill R. Kaufmann (249)
23. 抗逆性 Jacob Levitt (263)

1. 植物代谢产物的 C^{14} 标记和两向纸色谱法

James A. Bassham

1.1 中间代谢研究中纸色谱分析和放射自显影的优越性

许多生物化学反应在活细胞中同时进行着。研究中间代谢的许多经典方法,在任何一次实验中,都只能研究这些反应中所包含的少数物质。与之相反,用标记的底物所形成的标记化合物作两向纸色谱进行分析,可以同时研究很多不同的化合物。利用这个方法进行的动力学研究,提供一个代谢途径中物质流动的动态图。

绿色植物细胞中的代谢中间产物,靠引进放射性示踪物如碳 14 或磷 32 ,很容易被标记上。碳 14 可用 $C^{14}O_2$ 引进植物的叶子,或用溶液中的 $HC^{14}O_3^-$ 供给水生植物。磷 32 可以用溶液中的无机磷酸盐直接供给水生植物的营养液,或者直接供给根,或注射到植物叶子的叶脉中。绿色植物很快地将放射性示踪物掺入到大量代谢中间产物中去。在光合细胞中,这些代谢产物包括 3-磷酸甘油酸、许多糖的磷酸酯及糖的二磷酸酯、氨基酸、羧酸及其他小分子量的化合物。有些放射性在比较短的时间内也掺入到大分子中。

两向纸色谱是一个分离大量的不同中间代谢物的非常有用的方法。其他色谱法诸如薄层色谱、离子交换树脂柱色谱、气相色谱等等,也适于分离绿色植物细胞中所形成的这些种

类化合物中的某些物质。不过,对于用一步手续即分离许多标记化合物来说,两向纸色谱大概是最有用的方法。第一,两向纸色谱对广泛的中间代谢产物具有高度的分辨率。第二,个别化合物在纸上占据的面积形状和精细结构是非常有特色的,当放射性化合物与载体未标记化合物相符合时,可以出现一种指纹图,并且几乎可作绝对的鉴定。第三,当分析放射性化合物时,先用纸色谱法随后用医用 X 光胶片做放射自显影,可以检查极微量的化合物。

Consden^[1] 于 1944 年应用纸色谱分离氨基酸,导致 Calvin 及其同事^[2]应用这种技术分析绿色植物用 $C^{14}O_2$ 进行光合作用的产物。Benson 等^[3]曾详细介绍过这种方法,在阐明光合作用通过还原磷酸戊糖环的碳素固定途径中是非常重要的^[4,5]。自从那时以来,这个方法被广泛地用来不仅研究光合植物碳素固定的途径,而且研究绿色植物中代谢调节的机理^[6,7]。经过这些年,在方法上得到了很多改进,使得色谱比早期工作得到的结果在分辨上要好得多^[6]。

1.2 纸色谱法的原理

和其他许多类型的色谱法一样,纸色谱法依靠化合物在两种不同的相之间的分配。在纸色谱的情况下,这些都是液相。一个液相是静止的,并吸附在滤纸的纤维素纤维中。一般来说,静止相以水相为主,但其中含有混合的有机溶剂。流动相主要为有机溶剂,但含有溶于其中的水。如以 α 代表相间某一溶质的分配系数,该溶质的相对迁移率可由下面的方程式

$$R_F = A_L / (A_L + \alpha A_S)$$

表示之。 A_L 为色谱中流动相所占据的横截面部分, A_S 为静

止相所占据的横截面部分。 R_F 规定为从原点到溶质位置的距离除以从原点到溶剂前沿的距离。

Benson 等人^[3]用绿色植物细胞中各种羧酸和糖类检验了这一理论,以分液漏斗将这些化合物分配在有机相和水相中,并将计算的 R_F 与测出的 R_F 相比较。所得结果与理论非常一致。不过,应当指出有些化合物出现额外的效应,可能是由于这些化合物被纤维素纤维吸附所致。

利用这个原理,研究工作者发觉,选择适当的色谱溶剂变成寻找这样一个溶剂的问题,在此溶剂中大部分要分离的溶质,将在某种程度上分配在具有不同的分配系数的两相之间,视该化合物的物理性质而定。对双向纸色谱来说,两种色谱溶剂必须具有不太相似的性质,因为如果它们完全相同,化合物将在两个方向上等距离地分离开,会在对角线上产生一排化合物。为了在色谱的两个方向上得到两种不同类型的分离,有一个办法就是使一种溶剂成为酸性,另一种成为碱性。不过,在绿色光合细胞的中间代谢中,大多数有意义的化合物或则是中性的或则是酸性的——它们或者是中性氨基酸、酸性氨基酸、羧酸、糖或糖磷酸酯,或者是糖核苷酸磷酸酯。对这些化合物来说,碱性溶剂一般是不很有效的,因为许多物质倾向于停留在后面而且一齐前进。所以,已经发现,绿色细胞的光合作用和中间代谢的大多数产物,是用两种溶剂性质很不同的酸性溶剂分开的*。第一种溶剂为水饱和的苯酚。目前可以买到液化形式极纯的苯酚,其中已含有一些水。在这种纯苯酚中,加足够的水使之达到刚好低于饱和的程度。买到的这种苯酚由于含有杂质通常是酸性的,最好加入额外的酸

* 乙醇酸为例外,它是挥发性的,因而在酸性溶剂中展开时,一部分要从纸上丢失。可以用碱性溶剂(例如,其中加 NH_4OH) 分离乙醇酸与其他代谢产物。色谱被烘干时,乙醇酸的铵盐不致丢失。

使酸性恒定以减少一批色谱与另一批之间的差异。加冰乙酸就可以达到这个目的。还可以加少量 1M 的乙二胺四乙酸(EDTA)，它与二价金属离子形成络合物，使之从纸上除去。这大大改进糖磷酸酯及其它磷酸化的化合物的色谱，这些化合物会与纸上的二价离子起作用。

常用的第二种溶剂是丁醇、丙酸和水的混合物。丙酸的溶剂性质与乙酸没有很大不同，但组成第二种溶剂的主要部分丁醇的溶剂性质与组成第一种溶剂的主要部分苯酚的溶剂性质是很不同的。因此，在这两个方向上得到不一样的分离，即使这两种溶剂都是酸性的。

在研究室中制备双向纸色谱时，把要分离的生化混合物的悬浮液或溶液点在大张适于色谱的滤纸靠近一角的一个小面积上。这个加样点称为原点。将滤纸靠近原点的一边折叠起来，并放进一个干的色谱槽中。通常在同一槽中放入第二张纸，使两张纸的折叠部分重合，并且让纸从槽的两侧悬挂下来。通常每张纸经过一个抗虹吸的棒悬挂，抗虹吸棒是水平的，略微超过槽的顶边并以很小的空间(约 5 毫米)分开，这样纸与槽之间不致发生溶剂的虹吸。然后在两纸折叠部分的顶上放一重棒。

然后将滤纸及槽放在密闭的色谱箱中，并将色谱溶剂加到槽里。溶剂靠毛细管作用流过纸，以均匀速度向下流动并且通过原点。当它通过原点时，它就溶解点在那里的化合物并且以比溶剂前沿流动速度为小的速度带着它们与溶剂一起走。有时让溶剂前沿到达纸的最远一边，而在另一些情况下在下行色谱中，则让溶剂从纸的最远一边滴下来。这取决于要分离的化合物移动的多快——即其 R_F 值的大小，当认为分离完全时，实验者或者从箱中取出滤纸，挂在一个通风橱中让纸干燥，或者，如果设备方便，最好向箱中施以吸力，从箱中

抽出气流送到排气系统中去。在第一种溶剂中纸上的展开时间,可能为 6 小时至 24 小时以上,视所用溶剂及要分离的化合物的 R_F 值而定。

干燥后,将纸旋转 90° ,把纸的另一边放在另一槽中进行第二向的色谱。纸的折叠部分也加重物,将槽及纸放在箱中,加上溶剂,照刚叙述过的方式进行展开。当第二次展开完毕时,再将纸干燥,这时即可准备进行放射自显影。

将纸放在一大张医用 X 射线底片上,将框放在一个不见光的小盒中几天,让从标记化合物的放射性辐射使 X 射线底片曝光。然后冲洗底片,放射性化合物无论在何处与底片接触,那里就出现黑点。

1.3 植物组织对放射性的曝露

研究光合作用的代谢产物可以用叶片、单细胞藻类悬液或离体叶绿体的悬液。对藻类或叶绿体的悬液来说,生物材料要悬浮在适当的缓冲液中。加上一 C^{14} 标记的重碳酸盐或 P^{32} 标记的磷酸盐溶液,或二者都加。将悬液照光 1 分钟左右,轻轻搅动,然后在室温下加进甲醇使最后浓度达到 80%,以杀死生物材料。甲醇迅速溶解细胞的脂质膜并使酶蛋白变性,因而中止生化反应。为了测定动力学,定时取出藻类或叶绿体样本,并分别杀死。

为了叶片实验,将小植物的叶片放在具有透明四壁或小窗的小室中,通过壁或窗使之照明,加进气体 CO_2 ,或在小室内加酸于 $BaC^{14}O_3$ 中以产生 $C^{14}O_2$ 气。经过短时间的光合作用后,从小室取出叶片并杀死。然后取死的生物材料全部悬液的一部分样本,点在纸色谱的原点上。理发吹风机的气流可以用来加速干燥,使生物材料留在原点上。如果用理发吹

风机,必须把温度调得很低,使那些化学不稳定的化合物不致被破坏。或者可以用压缩空气或氮气吹干。

1.4 实验室的实验

由于有些学生实验室可能不具备大约 46 厘米 × 57 厘米大小的纸色谱需要的大型色谱箱,下面叙述研究工作中所用技术的一些变革。不过,用 25 厘米 × 25 厘米大小的小得多的色谱也可以检定这原理。也叙述单细胞藻类或叶片的实验。这些生物实验不论哪种都可以结合大型或小型色谱进行分析。

1.4.1 材 料

1.4.1.1 植物

选择能高速度进行光合作用的陆生植物的健康叶片,并且具有容易用有机溶剂提取的那种结构。已经成功地研究过的植物有菠菜、大豆、豌豆和苜蓿。 CO_2 固定具有额外的丙酮酸-苹果酸途径的植物,如玉米或甘蔗,也可以使用,但是提取往往比较困难,因为它们叶子的纤维素多的原故。

让一个学生做一个实验,取一片约 2 厘米长的苜蓿叶(或类似大小的其他叶子)。不论选择什么叶子,必须尽可能在摘取的当天保存在冰上,并且要使用掉。

在淡水植物中,单细胞绿藻如粉核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*) 在研究中广泛应用,并且非常合用。海藻的色谱分析存在一个严重的问题,因为在其生活介质中盐含量高。

1.4.1.2 放射性碳

对叶片及高等植物来说,采用与 C^{12}O_2 混合的 C^{14}O_2 。对

藻类及叶绿体悬液来说,采用与未标记的重碳酸盐混合的 $\text{NaH C}^{14}\text{O}_3$ 溶液.在每种情况下,都应当采用比放射性至少为 10 微居里/微克分子,以便纸色谱上的少量物质即含有足够的 C^{14} 以便容易标定.建议课堂使用时,1 毫升 0.05M 的 $\text{NaHC}^{14}\text{O}_3$ 及 $\text{NaHC}^{12}\text{O}_3$ 溶液含有 20 微居里/微克分子的比放射性.这种含有 1 微居里 C^{14} 的溶液放在一个具有严密的血清塞的 2 毫升血清瓶中.对一切实验来说,每个学生可以用一个装有 $2\frac{1}{2}$ 英寸 20 号规格的皮下注射针的 0.1 毫升刻度的微量注射器吸取 20 微升(20 微居里).所有被 C^{14} 污染的玻璃器皿连同针头都应当在毒气橱中用稀 HCl 冲洗.

1.4.1.3 色谱溶剂

第一向溶剂含有 840 毫升液化的苯酚 (Mallinckrodt, 约 88% 苯酚及 12% 水), 160 毫升水, 10 毫升冰醋酸及 1 毫升 1.0M EDTA^[6].

第二向溶剂的制备是在临色谱分析之前,将等量的下列两种混合物^[6]: 正丁醇:水 (370:25 容积/容积) 及丙酸:水 (180:220 容积/容积) 混合在一起.

1.4.1.4 色谱纸

进行纸色谱要想得到最好的结果,需要用纹理细的色谱级的滤纸.研究工作常用的一种纸为惠特曼 (Whatman) 1 号.应当注意保证第一种溶剂 (苯酚-水) 顺着纸的纹理跑.纹理细的纸很难看出来,但是色谱用滤纸通常注明纹理.惠特曼 1 号的纹理为纸的长的方向.

以前常用草酸溶液或 EDTA 溶液洗纸,以去掉二价阳离子,阳离子会干扰磷酸酯类在纸上的流动.现在在苯酚溶剂

中加 EDTA 就省掉这种费力的洗纸工作了。

1.4.1.5 放射性墨水

纸色谱图展开后为了将 X 射线底片与纸色谱图准确排好,最好用放射性墨水把色谱纸的四角标记好。这样,当底片冲洗出来时,纸上的墨水可以刚好与纸上相应的曝光的记号相匹配。用这种方法,纸上所有放射性斑点都与底片上的黑点准确地定位。这种墨水可以在普通黑墨水中加不挥发的放射性化合物(如 C^{14} 标记的葡萄糖)来制备。

1.4.1.6 X 射线底片

采用一面涂布的对蓝色敏感的医用 X 射线底片(如柯达 SB-54)。两面涂布的底片也可以用,但会产生两个背景(由于宇宙线辐射),并且只有一面会被 C^{14} 辐射的弱 β 射线曝光。

1.4.1.7 其他材料

在需用的其他材料中有杀死植物用的甲醇,如要杀死叶片并且提取,要液态氮及干冰,微量注射器及针头,以及各种标准生化试剂,诸如氨基酸(丙氨酸、天门冬氨酸及谷氨酸)糖类、羧酸类等,以便作鉴定用。茚三酮可用作喷在氨基酸上的显色剂。

1.4.2 设 备

1.4.2.1 植物或叶片小室

用作整株小植物或用切下的整片叶子的进行试验的小室必须是透明的或具有供照明用的窗户,并且必须有引进 CO_2 的进口及出口的活塞,或者在小室内生产 $C^{14}O_2$ 。真正的设计要看植物的大小和形状以及可利用的材料而定。

对小植物来说,如一片苜蓿单叶,可以用一个 4 毫升广口管(14 毫米外径,45 毫米高)用一个 15 号橡皮血清塞塞严。 $C^{14}O_2$ 即在这个带有叶片的瓶内产生。1 分钟后,在一干燥箱中,从管中取出瓶塞及叶片,干燥箱通过 NaOH 将其中剩余的少量 $C^{14}O_2$ 抽到毒气橱中去掉。

1.4.2.2 藻类及离体叶绿体的曝光

可以用一个小的(约 10 毫升)带密封血清帽的圆底玻璃烧瓶。因为绿色材料吸收光的系数很高,在瓶底最好有一薄层生物材料。取 0.5—1.0 毫升细胞或叶绿体悬液,缓缓振荡(用手或机械振荡器),将材料在瓶底分布成一薄层^[8]。可从底部照光,最好通过一个带透明底部的水浴以控制瓶内的温度。

对大量藻类悬液来说,要用一个平底、盘状、并在其顶部及底部装有入口及出口活塞的瓶子。瓶子的内部厚度不要超过 5 毫米。放射性 $HC^{14}O_3$ 溶液可以从顶部活塞加进去,并可以周期性地取样,先开顶部活塞,然后短暂地开一下底部活塞。瓶子要保持垂直位置,从两边照光,通常用白炽灯泡通过冷却水浴中埋藏的红外线滤光片照射。用藻类曝露给放射性示踪物进行动力学试验的更复杂得多的系统已经描述过^[9]。这个系统用一个抽气泵,使通过藻类的空气中的 $C^{14}O_2$ 混合物和在密闭系统中的检定气体的仪器流通。电磁线圈操纵的活门可以快速抽取大小一致的样品。

1.4.2.3 色谱装置

两向纸色谱用的最简单而且最便宜的装置是一个广口玻璃缸,就像家庭用的做水果罐头,装有上螺旋的盖子。上行色谱可在这种缸中进行,底部放溶剂深约 2 厘米,在溶剂上放一