

การเพาะเลี้ยงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในสภาพปลอดเชื้อ

Axenic Culture of Rice (KDML 105)

สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล¹ ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ เณติม ระติสุนทร เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา
เลิศลักษณ์ เงินศิริ และพรพรรณ รอดแรงบุญ

Surin Peyachoknagul, Pradit Pongtongkom, Paderm Ratisoontorn,
Saowanee Suputtitada, Lertlak Ngernsiri and Punnee Rodrangboon

ABSTRACT

Callus from seeds of rice var. Khao Dawk Mali 105 was induced on the modified Murashige and Skoog (MS) agar medium (1962) supplemented with 15 percent coconut water, 1 g/l casein hydrolysate and various concentrations of 2,4-D, NAA and kinetin. The highest percentage of callus formation (62.50%) was obtained when cultured on the medium supplemented with 1 mg/l each of 2,4-D, NAA and kinetin. About 30 percent of these calli were regenerated to plantlets on the medium containing 2 mg/l kinetin. Seeds cultured on the modified MS agar medium supplemented with 15 percent coconut water and various concentrations of BAP and GA₃ produced more than 20 shoots on the medium with 10 mg/l BAP. After transferring these shoots to the modified MS agar medium without growth regulators roots were induced and subsequently developed to plantlets. About 90 percent of these plantlets could survive after transplanting to the greenhouse.

Key words: rice axenic culture, multiple shoots

บทคัดย่อ

จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 บนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เคซีนไฮโดรไลเซต 1 ก./ล. 2,4-D, NAA และ kinetin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า อาหารที่เติม 2,4-D, NAA และ kinetin อย่างละ 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด คือ 62.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำแคลลัสนี้มาเลี้ยงบนอาหารที่เติม

kinetin 2 มก./ล. สามารถเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ 30 เปอร์เซ็นต์เมล็ดข้าวเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP และ GA₃ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ สามารถชักนำให้เกิดการทิวจำนวนเป็นยอดหลายยอดได้ดีที่สุดถึงมากกว่า 20 ยอด เมื่อเติมเฉพาะ BAP ความเข้มข้น 10 มก./ล. เมื่อนำยอดเหล่านี้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ในเวลาต่อมา และเมื่อย้ายต้นที่

สมบูรณ์นี้ออกปลูกในเรือนเพาะชำ มีอัตราการรอดชีวิตถึงประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

คำนำ

ข้าวเป็นธัญพืชที่จัดอยู่ใน Family Gramineae Genus *Oryza* Sub-Tribe Oryzineae เป็นพืช diploid มีจำนวนโครโมโซม $2n=24$ (นพพร, 2526) เป็นพืชผสมตัวเองเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ มีถิ่นควบคุมลักษณะต่างๆ มากกว่า 300 ถิ่น และเป็น homozygous (วาสนา, 2523) ประกอบด้วย 23 species โดยเป็นข้าวป่า 21 species ข้าวปลูก 2 species ได้แก่ *Oryza sativa* มีปลูกกันทั่วไป และ *Oryza glaberrima* มีปลูกเฉพาะในแอฟริกาเท่านั้น

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดของประเทศ ไทย นอกจากจะใช้บริโภคเป็นอาหารหลักประจำวันของคนไทยแล้ว ยังเป็นสินค้าออกที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศด้วย ข้าวพันธุ์ที่ทำชื่อเสียงให้แก่ประเทศไทยและมีราคาสูงสุด คือ พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวหอมพันธุ์หนึ่งที่ได้รับการนิยมนจากผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ ลักษณะประจำพันธุ์ คือ เป็นพันธุ์ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง ออกดอกเฉพาะในเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง ใช้ปลูกได้เฉพาะในฤดูนาปี แดก กอปานกลาง เมล็ดข้าวเปลือกสีน้ำตาล เรียวยาว คุณภาพการหุงต้มดีมาก เมื่อข้าวสุกจะนุ่ม มีกลิ่นหอม เมล็ดข้าวกล้องยาวประมาณ 7.6 มิลลิเมตร ไม่ต้านทานต่อโรคใบไหม้ โรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ประพาส, 2531)

ปัจจุบันมีผู้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาใช้ร่วมในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว โดยมีจุดประสงค์แตกต่างกันไป เช่น ผลิตสายพันธุ์แท้ ผลิตพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคหรือแมลง ผลิตพันธุ์ข้าวทนเค็ม ทนต่อสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง ทนต่อความแห้งแล้ง อย่างไรก็ตามการจะบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวจำเป็นต้องศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวขั้นพื้นฐานเสียก่อน ซึ่งได้มีผู้

ประสบผลสำเร็จในการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก เช่น ในข้าวพันธุ์ Kyoto Asachi (Nishi et al., 1968) Taichung No 65 (Wu and Li, 1970) พันธุ์ Aichiasahi และ Kinmaze (Meada, 1980) พันธุ์ปาสมาติ 370 (Raina et al., 1987, เสดิม และคณะ 2532) ข้าวป่าพันธุ์อาฟริกาน (*Oryza langistaminata*) (Boissat, 1990) พันธุ์ Lemont, Ricot, Rexmont, Skybonnet, Taipet 309, IR64 และ IR36 (Peterson and Roberta, 1991)

สำหรับข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 มีรายงานการเพาะเลี้ยงของประภา (2532) โดยการทดลองหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดโดยไม่ผ่านแคลลัส ส่วนการทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสชักนำให้แคลลัสเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ ตลอดจนหาอาหารสูตรที่เหมาะสมในการชักนำเมล็ดให้เกิดการทวีจำนวนเป็นยอดหลายยอดด้วย การศึกษาเทคนิคพื้นฐานของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์นี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์โดยเทคนิคพันธุ์วิศวกรรมต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 (KDML 105)
2. อาหารสังเคราะห์สูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เคซีนไฮโดรไลเซต 1 ก/ล และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้
 - สูตร C1 ไม่เติมน้ำมะพร้าวและเคซีนไฮโดรไลเซต
 - สูตร C2 เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ kinetin 1 มก./ล.
 - สูตร C3 เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ kinetin 1 มก./ล.

และ kinetin 1 มก./ล.

สูตร C4 เดิม 2,4-D 1 มก./ล. NAA 2 มก./ล.

และ kinetin 1 มก./ล.

สูตร C5 เดิม 2,4-D 2 มก./ล. NAA 2 มก./ล.

และ kinetin 1 มก./ล.

3. อาหารสังเคราะห์สูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงแคลลัส เพื่อชักนำให้เกิดการพัฒนาเป็นต้นอ่อน ใช้อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เค ซิน ไฮโดรไลเซต 1 ก./ล. และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

สูตร R1 ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร R2 เติม kinetin 1 มก./ล.

สูตร R3 เติม kinetin 2 มก./ล.

สูตร R4 เติม kinetin 3 มก./ล.

สูตร R5 เติม kinetin 4 มก./ล.

4. อาหารสังเคราะห์สูตรที่ใช้เพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด ใช้อาหารสูตร MS คัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

สูตร M1 ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตร M2 เติม BAP 10 มก./ล.

สูตร M3 เติม BAP 15 มก./ล.

สูตร M4 เติม BAP 20 มก./ล.

สูตร M5 เติม BAP 10 มก./ล. และ GA3 1 มก./ล.

สูตร M6 เติม BAP 15 มก./ล. และ GA3 1 มก./ล.

สูตร M7 เติม BAP 20 มก./ล. และ GA3 1 มก./ล.

สูตร M8 เติม BAP 10 มก./ล. และ GA3 5 มก./ล.

สูตร M9 เติม BAP 15 มก./ล. และ GA3 5 มก./ล.

สูตร M10 เติม BAP 20 มก./ล. และ GA3 5 มก./ล.

สูตร M11 เติม BAP 10 มก./ล. และ GA3 10 มก./ล.

สูตร M12 เติม BAP 15 มก./ล. และ GA3 10 มก./ล.

สูตร M13 เติม BAP 20 มก./ล. และ GA3 10 มก./ล.

Table 1 Type and percent of callus derived from the seed of KDML 105 rice variety cultured on modified MS media for 3 weeks.

Media No.	Number of seed cultured	Type of callus			Number of callus formatuon	Callus formation (%)
		C	F	M		
C1	120	—	—	—	—	—
C2	120	11	19	45	75	62.50
C3	120	10	18	12	40	33.33
C4	120	15	15	24	54	45.00
C5	120	5	8	10	23	19.16

C = compact callus

F = friable callus

M = compact and friable callus

วิธีการ

1. นำเอาเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มาแกะเปลือกออก แล้วฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว โดยแช่เมล็ดข้าวในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 นาที แล้วย้ายไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมสาร Tween 20 จำนวน 3-4 หยด เขย่าเป็นครั้งคราวนาน 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร (C1-C5) เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส โดยบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส และลักษณะของแคลลัสดังนี้

C = แคลลัสที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันแน่น (compact callus)

F = แคลลัสที่ประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่เกาะกันหลวมๆ (friable callus)

M = แคลลัสที่ประกอบด้วยแบบ C และ F

2. นำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้จำนวนมากที่สุดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร (R1-R5) เพื่อหา

Table 2 Plantlet regeneration of KDML 105 rice calli cultured on modified MS media for 4 weeks.

Media No.	Number of calli	Callus differentiation					Plantlet formation (%)
		N	S	R	G	P	
R1	28	20	-	1	4	3	10.71
R2	19	18	-	1	-	-	-
R3	30	14	-	-	7	9	30.00
R4	25	23	-	-	2	-	-
R5	25	21	-	-	3	1	4.00

N = non regeneration

S = shoot formation

R = root formation

G = green spot on callus

P = whole plantlet

สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดต้นอ่อน โดยบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อน และการเปลี่ยนแปลงของแคลลัสดังนี้

N = แคลลัสไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นยอดและราก

S = แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอด

R = แคลลัสพัฒนาไปเป็นราก

G = แคลลัสมีพื้นที่สีเขียวเกิดขึ้น

P = แคลลัสพัฒนาไปเป็นยอดและราก

3. นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเรียบร้อยแล้วไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ 13 สูตร (M1-M13) เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอดบันทึกผลโดยนับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นต่อเมล็ด

ผลและวิจารณ์

จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วบนอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร (C1-C5) เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่า 2 สัปดาห์หลังจากการเพาะเลี้ยงสา

Table 3 Multiple shoots formation from seed of KDML 105 rice variety cultured on modified MS media for 4 weeks.

Media No.*	Average number of shoots per seed
M1, M5, M6, M8, M9, M11, M12, M13	1-5
M4, M7, M10	6-10
M3	11-20
M2	over 20

*used 20 seeds per media No.

มารดชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารทุกสูตร ยกเว้นอาหารสูตร C1 โดยที่แคลลัสที่เกิดขึ้นจะมีสีเหลืองอ่อนประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ด มีลักษณะต่างๆ กัน คือแบบที่เซลล์เกาะกันแน่น (compact callus) พวกนี้ผิวของเซลล์จะคู้แห้ง ส่วนอีกแบบหนึ่งเป็นแบบที่เซลล์เกาะกันหลวมๆ (friable callus) และผิวของเซลล์คู้เป็นมัน ในสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร ที่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้นั้น จะมีแคลลัสทั้งแบบที่เซลล์เกาะกันแน่นแบบที่เซลล์เกาะกันหลวมๆ และแคลลัสที่มีทั้งสองแบบอยู่ด้วยกัน หลังจากการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ อาหารสูตร C2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 62.50 รองลงมาคืออาหารสูตร C4 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเท่ากับ 45 (Table 1)

เมื่อนำแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร C2 ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร R1-R5 เพื่อชักนำแคลลัสให้เจริญเป็นต้นอ่อน พบว่า สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยงแคลลัสบางอันจะเกิดบริเวณสีเขียวขึ้นที่ผิวแคลลัส และบริเวณดังกล่าวจะเริ่มเจริญพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ (Figure 1) บางแคลลัสจะเจริญไปเป็นรากเท่านั้น บางแคลลัสเมื่อย้ายลงบนอาหารจะเปลี่ยนเป็นลำตาลและตายในที่สุด อาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุด ในการชักนำให้แคลลัสเจริญเป็นต้นอ่อน

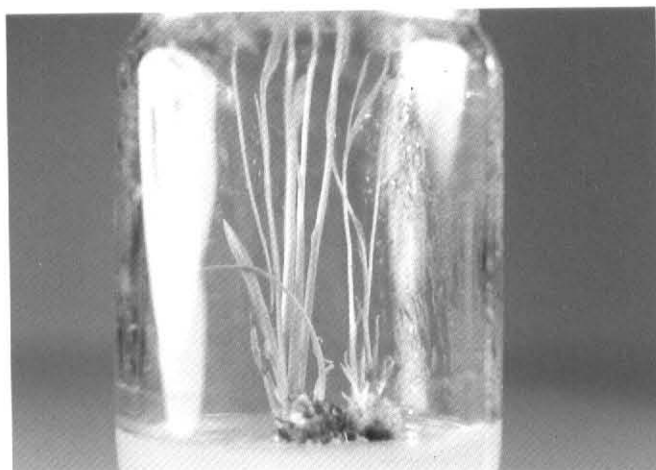


Figure 1 Plantlets regenerated from calli on the modified MS medium containing 2 mg/l kinetin for 4 weeks.



Figure 2 Multiple shoots formation from seeds on the modified MS medium supplemented with 0, 10, 15, 20 mg/l BAP for 4 weeks.

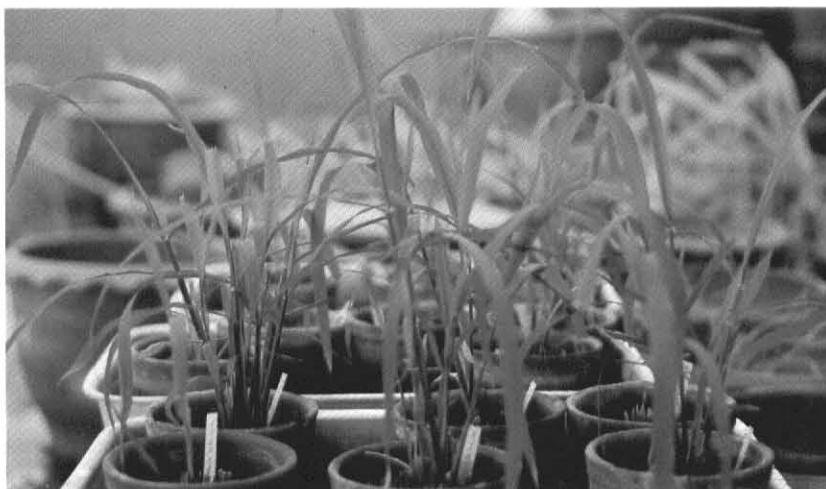


Figure 3 Plantlets after transplantation to the pots in the greenhouse.

คือ สูตร R3 ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนได้ 30 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาก็คือสูตร R1 สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นอ่อนได้ 10.71 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) มีข้อสังเกตว่าแคลลัสที่ประกอบด้วยเซลล์ที่เกาะกันแน่นสามารถจะเจริญและพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าแคลลัสที่เซลล์เกาะกันแบบหลวมๆ

ในการชักนำให้เกิดยอดหลายยอด จากเมล็ดเมื่อนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ 13 สูตร (M1-M13) พบว่า ในสัปดาห์แรกมียอดงอกออกมา 1 ยอด ในสัปดาห์ที่สอง จะมียอดใหม่เจริญออกมาเฉลี่ย 3-5 ยอด และจำนวนยอดใหม่จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อยๆ ในสัปดาห์ต่อมา บางสูตรอาหารจะมีต้นสีขาว (albino) เกิดขึ้น อาหารสูตรที่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดถึงมากกว่า 20 ยอด คือ สูตร M2 รองลงมา คือ อาหารสูตร M3 ซึ่งชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยประมาณ 11-20 ยอด (Table 3) (Figure 2)

เมื่อนำยอดที่เกิดขึ้นไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (M1) สามารถชักนำยอดเหล่านี้ให้เกิดรากและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ เมื่อนำต้นที่สมบูรณ์เหล่านี้ย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ พบว่ามีอัตราการตายสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (Figure 3)

สรุป

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 บนอาหารสูตรต่างๆ รวม 5 สูตร (C1-C5) พบว่า อาหารสูตร C2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด คือ 62.50 เปอร์เซ็นต์ และแคลลัสที่ได้มีการเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้มากที่สุดถึง 30 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร R3 ส่วนการชักนำให้เมล็ดข้าวเกิดการเจริญเป็นยอดหลายยอด พบว่า อาหารสูตร M2 สามารถชักนำให้เมล็ดข้าวเกิดการทิวจำนวนได้มากที่สุด คือ มากกว่า 20 ยอด ต่อเมล็ด เมื่อนำยอดเหล่านี้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต (M1) สามารถ

ชักนำให้เกิดราก และพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ เมื่อย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำ มีอัตราการรอดตายสูงถึง 90 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

- นพพร สายัมพล. 2526. เทคนิคการปรับปรุงพันธุ์พืช. ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 123 น.
- ประพาส วีระแพทย์. 2531. ความรู้เรื่องข้าว. ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ. 108 น.
- ประภา ศรีพิจิตต์. 2532. การชักนำให้เกิดยอดเป็นจำนวนมากจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวหอมในสภาพปลอดเชื้อ. ว.เกษตรศาสตร์ (วทบ.) 23:324-330.
- เผด็จ ระติสุนทร, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เสาวนีย์ สุพุทธิธาดา และ สุพรรณิ แก่นสาร. 2532. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวพันธุ์ปทุมมา 370. ว.เกษตรศาสตร์ (วทบ.) 23(3):205-210.
- วาสนา พลารักษ์. 2523. ข้าว. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 76 น.
- Boissot, N., M. Valdez and E. Guiderdoni. 1990. Plant regeneration from leaf and seed-derived calli and suspension culture of the African perennial wild rice (*Oryza longgiss-taminata*). Plant cell Rep. 9:447-450.
- Meada, E. 1980. Organogenesis and cell culture in rice plants under sterile condition (part I). JARQ. 14:4-8.
- Nishi, T., Y. Yamada and E. Takahashi. 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. Nature 219:508-509.
- Peterson, G. and S. Roberta 1991. Effect of abscisic acid and callus size on regenerate of American and international rice varieties. Plant

- Cell Rep. 10:35-38.
- Raina, S.K., P. Sathish and K.S. Sarma. 1987. Plant regeneration from in vitro cultures of anthers and mature seeds of rice (*Oryza sativa* L.) Basmati-370. Plant Cell Rep. 6:43-45.
- Wu, L. and H.W. Li. 1970. Introduction of callus tissue initiation from different somatic organs of rice plant by various concentrations of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid. Cytol. 36:411-416.