

菊芋组织培养快繁技术的建立

陆杰^{1,2}, 宋洋^{2,3}, 王珣^{2,3}, 王秀君^{2,3}, 肖晖^{2,3}, 王婧¹, 穆艳杰⁴, 李柱刚^{2,3,*}

¹黑龙江大学生命科学学院生物化学与分子生物学专业, 哈尔滨150080; ²黑龙江省农业科学院生物技术研究所, 哈尔滨150086; ³黑龙江省作物与家畜分子育种重点实验室, 哈尔滨150086; ⁴黑龙江大学生命科学学院微生物学专业, 哈尔滨150080

提要:以菊芋带芽点的薯盘及带节的幼嫩茎段为外植体, MS为基本培养基, 附加不同种类和浓度的生长调节物质, 研究菊芋组织培养和快速繁殖的技术环节, 最终筛选出最优技术参数组合, 建立菊芋再生体系。试验结果表明: 茎段外植体是理想的快速繁殖材料, 正接(形态学下端向下)是最佳的接种方式。芽诱导最佳培养基为MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ IBA, 诱导率为95%; 继代增殖最适宜培养基为MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA; 壮苗培养最佳培养基为MS+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA; 生根适宜培养基为MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA, 生根率达100%; 移栽成活率达95%, 大田种植成活率达95%以上。

关键词:菊芋; 外植体; 组织培养; 快速繁殖

Establishment of Tissue Culture and Rapid Propagation Technology of *Helianthus tuberosus* L.

LU Jie^{1,2}, SONG Yang^{2,3}, WANG Xun^{2,3}, WANG Xiu-Jun^{2,3}, XIAO Hui^{2,3}, WANG Jing¹, MU Yan-Jie⁴, LI Zhu-Gang^{2,3,*}

¹Biochemistry and Molecular Biology of Graduate Academy, College of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, China; ²Biotechnology Institute, Heilongjiang Academy of Agriculture Sciences, Harbin 150086, China; ³Key Laboratory of Crop and Livestock Molecular Breeding of Heilongjiang, Harbin 150086, China; ⁴Microbiology of Graduate Academy, College of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, China

Abstract: *Helianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) tubers with sprout and shoots with a section of these young stem segments were taken as explants, and were cultured on MS basic medium with several plant growth regulating substances in different concentrations. The technology of tissue culture and rapid propagation on Jerusalem artichoke was researched, and finally filtered out the best combination of technical parameters to establish Jerusalem artichoke regeneration system. The results showed that the optimal explants material for rapid propagation were shoots, positive inoculation (morphology lower down) was the optimal inoculation method. The optimal shoot induction medium was MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA +0.2 mg·L⁻¹ IBA with the induction rate of 95%. The optimal subculture medium was MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA, the optimal strong seedling medium was MS+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA. The optimal rooting medium was MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA, the rooting rate reached 100%, transplant survival rate of 95%, field planting survival rate of 95%.

Key words: *Helianthus tuberosus*; explants; tissue culture; rapid propagation

菊芋属菊科(Compositae)向日葵属多年生宿根植物, 原产自北美洲, 一般用于农业、工业、食品等, 国外利用较早, 随着我国能源的开发利用, 对其需求量逐渐增大, 是备受关注的一种新兴的能源植物及经济作物, 菊芋的开发与深加工被列入2006年度国家级“星火计划”项目。菊芋的常规繁殖为块茎繁殖, 与马铃薯有相似之处, 常年的地下生长可使病毒大量积累, 导致品种的劣化和产量的逐年降低, 采用组织培养的方式可以降低病毒含量, 在短期内获得大量再生苗, 也为满足市场供给的需求

提供一条有效的途径; 同时, 菊芋组织培养体系的建立为能源植物的研究、野生品种的利用及新品种的培育建立了基础。目前我国对菊芋组织培养研究较少, 对南方品种有过报道(闫海霞等2009),

收稿 2010-02-08 修定 2010-03-15

资助 黑龙江省科技厅国际合作重点项目(WB07A10)。

致谢 黑龙江省农业科学院的南相日、刘文萍两位老师在试验中给予指导和帮助。

* 通讯作者(E-mail: lizhugang@163.com; Tel:0451-86661820)。

但尚未见菊芋北方品种组织培养快繁的报道。

材料与方法

菊芋(*Helianthus tuberosus* L.)块茎, 由黑龙江省农业科学院大庆分院提供, 并从美国引进部分材料。选取鲜活块茎及生长旺盛、无病虫害的植株, 切取带有芽点的薯盘及带节的幼嫩茎段为外植体。

取2种不同的外植体按下列程序进行消毒: 取材→自来水粗洗30 min→75%乙醇表面消毒→0.1%升汞溶液浸泡→无菌水振荡清洗4~6次→无菌滤纸吸干备用。其中薯盘消毒采用75%乙醇20 s和0.1%升汞1 min组合处理; 茎段消毒采用75%乙醇20 s和0.1%升汞5 min组合的处理。在无菌工作台中分别将薯盘切为厚度0.2 cm带有芽点的楔形, 将茎段切为长度0.5 cm带节的小段, 接入芽诱导培养基培养, 昼温为(25±2) °C, 夜温为(23±2) °C, 光照时间为12~14 h·d⁻¹, 光照强度为10~15 μmol·m⁻²·s⁻¹。

为研究影响诱导不定芽产生的因素, 设计2个方面的试验。(1)芽诱导最适培养基的筛选。以不加任何激素的MS培养基为对照, 培养基中6-BA浓度分别为0.5、1.0和1.5 mg·L⁻¹, NAA浓度分别为0.1、0.3和0.5 mg·L⁻¹, IBA浓度分别为0.1、0.2和0.3 mg·L⁻¹, 不同浓度配比共设22种处理。(2)接种方式的筛选。以茎段为外植体, 采用正接(形态学下端向下)和倒接(形态学下端向上)2种接种方式, 接种于筛选出的最适宜培养基上。以上每种处理每次处理30个外植体, 重复3次, 观察并记录不定芽诱导状况, 15 d后统计不同处理的诱导出芽率。

待不定芽长至1 cm时, 切取接入继代增殖培养基中。为研究影响丛生苗增殖的因素, 设计3个方面的试验。(1)继代增殖最适培养基的筛选。以不加任何激素的MS培养基为对照, 6-BA浓度分别为1.0、2.0和3.0 mg·L⁻¹, 2,4-D浓度分别为1.0、2.0和3.0 mg·L⁻¹, IBA浓度分别为0.1、0.2和0.3 mg·L⁻¹, 不同浓度配比共设25种处理, 每种处理每次处理30个外植体, 3次重复, 观察并记录丛生苗生长状况, 15 d后统计丛生苗数。(2)筛选出继代增殖最适宜的培养基后, 设置不同的pH水平(5.2、5.4、5.6、5.8、6.0、6.2、6.4、6.6、6.8、7.0、7.2和7.4), 每种处理每次处理30个外植体, 3次重复, 15 d后统计丛生苗数。(3)培养瓶(直径7.5 cm×高10 cm

的圆底瓶)中接入外植体密度设置为5株·瓶⁻¹、10株·瓶⁻¹、15株·瓶⁻¹, 每种处理每次处理15瓶, 3次重复, 观察并记录丛生苗生长状况, 30 d后统计丛生苗数。

丛生苗长至2~3 cm时, 切取接入壮苗培养基, 以不加任何激素的MS培养基为对照, 添加6-BA浓度分别为0.05、0.1和0.2 mg·L⁻¹, 每种处理每次处理30株, 重复3次, 观察并记录丛生苗生长状况, 15 d后统计较好的生长状况比率, 筛选最佳壮苗培养基。

壮苗1周后接入生根培养基, 以不加任何激素的MS培养基为对照, 添加NAA浓度分别为0.1、0.2、0.3、0.4和0.5 mg·L⁻¹, 每种处理每次处理30株, 重复3次, 观察并记录再生苗生根状况, 15 d后统计生根率, 筛选最佳生根培养条件。

选择长至4~5 cm生长旺盛、生根良好的再生苗开盖炼苗, 避免强光, 3 d后取出, 洗去根上残留的培养基, 移入混合基质中。为研究影响移栽的因素, 设计3个方面的试验。(1)混合基质的筛选: 选择泥炭土、泥炭土+蛭石(1:1)、泥炭土+珍珠岩(2:1)和泥炭土+蛭石+珍珠岩(2:1:1)4种基质。(2)温度的影响: 设置3种培养温度, 分别为20 °C、23 °C和26 °C。(3)湿度的影响: 设置3个湿度水平, 分别为50%、70%和90%。以上各个处理每次处理30株, 重复3次, 2周后统计移栽成活率。

移栽20 d后(5月中旬), 选取长势良好的植株移至田间生长, 定期进行品种性状调查, 10月末收获, 并进行收获期调查。

实验结果

1 初代培养

1.1 不同激素浓度及配比对诱导不定芽的影响 薯盘和茎段2种外植体均长势良好, 没有较大差异。薯盘不定芽的生长周期为7~10 d, 每个周期1个芽点只产生1个不定芽, 切取后可再萌发新的不定芽产生, 若需要的数量较大时, 对外植体的需要量也较大, 繁殖速度较慢, 适合用于材料保存。而茎段萌发新芽一般有2~3个, 每株苗可切取4~5个茎段做为外植体, 初代培养即可获得较多的不定芽进行继代增殖, 简单便捷, 繁殖量大, 所以茎段是理想的快速繁殖材料(图1)。

由表1可以看出, 诱导不定芽较适宜的培养基



图1 菊芋组织培养快繁过程

Fig.1 The process of tissue culture and rapid propagation of Jerusalem artichoke

a: 薯盘诱导的不定芽; b: 茎段诱导的不定芽; c: 单一不定芽个体; d: 丛生增殖培养; e: 壮苗培养; f: 生根培养; g: 再生苗的移栽。

为 MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA +0.2 mg·L⁻¹ IBA, 诱导率为 94.4%, 不定芽生长较快, 绿色, 较粗壮, 长势良好, 无褐化和“玻璃苗”现象。从外植体的生长状况来看, 6-BA能够较好地诱导外植体芽的产生; NAA对外植体有很明显的诱导生根作用, 随着浓度的增加, 生根作用加强, 抑制了不定芽的产生, 有褐化现象, 因此诱导不定芽不宜添加NAA; 少量IBA具有促生长作用, 当用量超过 0.2 mg·L⁻¹ 时, 抑制不定芽生长, 同时伴随“玻璃苗”现象出现。

1.2 接种方式对诱导不定芽的影响 由表2可以看出, 接种方式对不定芽的诱导生长影响明显, 采用正接方式接种的外植体诱导率为 94.4%, 而倒接诱导率仅为 23.3%, 绝大多数外植体呈“玻璃化”现象, 进而死亡, 因此, 正接为较适宜的接种方式。

2 继代增殖培养

2.1 不同激素浓度及配比对丛生苗增殖的影响 由表3可以看出, 诱导丛生苗增殖最适宜培养基为 MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA, 丛生苗的长势最好, 增殖速度

表1 不同激素对不定芽诱导的影响

Table 1 Effects of different hormones on shoot induction

激素浓度 /mg·L ⁻¹			诱导率 /%	生长状况
6-BA	NAA	IBA		
-	-	-	28.9	少量出芽
0.5	-	-	57.8	生长缓慢
0.5	0.1	-	47.8	少量气生根
0.5	0.3	-	44.4	生根较多, 少量褐化
0.5	0.5	-	36.7	生根明显, 褐化严重
0.5	-	0.1	63.3	浅绿色, “玻璃苗”现象明显
0.5	-	0.2	75.6	少量“玻璃苗”
0.5	-	0.3	71.1	少量“玻璃苗”
1.0	-	-	73.3	出芽较多
1.0	0.1	-	67.8	少量气生根
1.0	0.3	-	54.4	生根较明显
1.0	0.5	-	42.2	生根明显, 褐化严重
1.0	-	0.1	82.2	少量“玻璃苗”
1.0	-	0.2	94.4	绿色, 健壮
1.0	-	0.3	88.9	绿色, 正常
1.5	-	-	66.7	出芽较多
1.5	0.1	-	65.6	少量气生根
1.5	0.3	-	53.3	生根较少, 少量褐化
1.5	0.5	-	40.0	生根明显, 褐化严重
1.5	-	0.1	70.0	黄绿色, 少量“玻璃苗”
1.5	-	0.2	78.9	黄绿色, 正常
1.5	-	0.3	72.2	黄绿色, 少量“玻璃苗”

表2 接种方式对芽诱导的影响

Table 2 Effects of different inoculation patterns on shoot induction

放置方式	诱导率 /%	生长状况
正接	94.4	绿色, 生长健壮
倒接	23.3	黄绿色, 大量“玻璃苗”

快, 同时伴随芽的伸长, 10 d 时, 增殖倍数可达 4.0, 降低或升高均能降低丛生的数量和速度。将丛生苗单个切开, 不断转接到继代培养基中继续增殖, 周期为 15 d, 可获得大量丛生苗。选取不同浓度的激素组合进行继代培养, 可以看出, 添加 2,4-D 的培养基中不定芽不丛生, 容易愈伤化; 添加少量 IBA 后丛生苗有一定是伸长现象, 但高浓度(0.3 mg·L⁻¹)容易形成“玻璃苗”, 最终导致死亡; 只添加 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 诱导丛生苗产生较快, 生长健壮, 增殖倍数高。

2.2 pH 值对丛生苗增殖的影响 由表 4 可以看出,

表3 不同激素对丛生苗增殖的影响

Table 3 Effects of different hormones on rosette buds proliferation

激素浓度 /mg·L ⁻¹			平均增殖倍数	生长状况
6-BA	2,4-D	IBA		
-	-	-	0	缓慢生长, 不丛生
1.0	-	-	2.95	丛生倍数较低
1.0	-	0.1	2.63	丛生倍数较低, 有伸长
1.0	-	0.2	2.36	丛生倍数较低, 伸长明显
1.0	-	0.3	1.82	丛生倍数较低, 有“玻璃苗”现象
2.0	-	-	4.02	丛生较快, 苗健壮, 倍数高
2.0	-	0.1	3.87	丛生较快, 苗健壮, 有伸长
2.0	-	0.2	3.56	丛生较快, 苗健壮, 伸长明显
2.0	-	0.3	3.44	丛生较快, 苗健壮, 有“玻璃苗”现象
3.0	-	-	3.23	丛生倍数较低
3.0	-	0.1	3.56	丛生倍数较低, 有伸长
3.0	-	0.2	2.82	丛生倍数较低, 伸长明显
3.0	-	0.3	2.24	丛生倍数较低, 有“玻璃苗”现象
-	1.0	-	0	不丛生, 轻度愈伤化
-	1.0	0.1	0	不丛生, 轻度愈伤化
-	1.0	0.2	0	不丛生, 较小伸长, 轻度愈伤化
-	1.0	0.3	0	不丛生, 较小伸长, 轻度愈伤化
-	2.0	-	0	中度愈伤化, 缓慢死亡
-	2.0	0.1	0	中度愈伤化, 缓慢死亡
-	2.0	0.2	0	中度愈伤化, 较小伸长, 缓慢死亡
-	2.0	0.3	0	中度愈伤化, 较小伸长, 缓慢死亡
-	3.0	-	0	重度愈伤化, 易死亡
-	3.0	0.1	0	重度愈伤化, 易死亡
-	3.0	0.2	0	重度愈伤化, 易死亡
-	3.0	0.3	0	重度愈伤化, 有伸长, 易死亡

表4 pH 值对继代增殖的影响

Table 4 Effects of different pH values on shoot proliferation

pH 值	生长状况
5.2	丛生芽有褐化现象, 多数不丛生
5.4	丛生芽有轻度褐化现象, 少量不丛生
5.6	生长正常
5.8	生长正常
6.0	生长正常
6.2	生长正常
6.4	生长正常
6.6	生长正常
6.8	生长正常
7.0	生长正常
7.2	丛生苗有少量脱离培养基现象
7.4	丛生苗有少量脱离培养基现象

pH值对丛生苗增殖影响不明显, 菊芋对环境的适应性很强, pH在5.6~7.0之间不定芽均可增殖, 且生长状况良好; 但pH值小于5.4时, 植株有轻度褐变现象, 部分不定芽不丛生; pH值大于7.2时, 随着不断的丛生, 不定芽有脱离培养基现象。因此, 培养基pH值5.6~7.0均可诱导不定芽丛生增殖。

2.3 丛植密度对增殖的影响 由表5可以看出, 3个水平之间的丛植密度差异较为明显, 培养30 d后, 每瓶10株的丛生倍数平均值最大达4倍, 所以丛生芽适宜的接种密度是每瓶10株。

表5 丛植密度对继代增殖的影响

Table 5 Effects of tufted density on shoot proliferation

接种数 / 株	平均增殖倍数	生长状况
5	3.5	丛生苗较大, 有徒长现象
10	4	丛生苗较多, 生长正常
15	3	丛生苗较小或伸长

3 壮苗培养

由表6可知, 壮苗培养添加0.1 mg·L⁻¹ 6-BA即可, 浓度高时, 再生苗继续丛生, 且容易出现茎细叶宽的徒长现象; 浓度低时, 再生苗生长缓慢; 浓度为0.1 mg·L⁻¹时, 再生苗叶片颜色变为深绿, 茎逐渐变粗, 伸长较快, 生长健壮, 可以进行下一步的生根试验。

表6 壮苗培养基设计方案

Table 6 Effects of 6-BA on strong seedling culture

6-BA/mg·L ⁻¹	生长状况
-	无较大变化
0.05	生长缓慢
0.1	生根快且粗壮
0.2	茎细叶宽

4 生根培养

将再生苗接入添加不同浓度NAA的生根培养基中, 从表7可以看出, NAA对再生苗的生根影响很大, 添加0.2 mg·L⁻¹ NAA, 8~10 d开始生根, 侧根数为4~8条, 根系发达, 根长而粗壮, 生根率达100%, 且再生苗生长健壮。浓度大于0.3 mg·L⁻¹会明显出现不正常的肉质根, 浓度逐渐增大, 肉质根现象越明显, 根逐渐变短、变粗, 呈“鸡爪”状。所以, 菊芋生根最适宜培养基MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA。

表7 NAA对生根的影响

Table 7 Effects of NAA on rooting culture

NAA/mg·L ⁻¹	生根植株数 / 株	生根率 /%	根生长状况
-	9	36	根细, 生长极慢
0.1	22	88	根较细
0.2	25	100	生长正常
0.3	25	100	少量肉质根
0.4	25	100	较多肉质根
0.5	25	100	全部为肉质根

5 试管苗驯化及移栽技术的研究

5.1 混合基质的筛选 由表8可以看出, 移栽较适宜的混合基质为泥炭土:蛭石:珍珠岩(2:1:1), 由于菊芋具有十分发达的根系, 对延伸环境要求较高, 蛭石可以增强混合基质的疏水性, 易于水分的扩散, 珍珠岩可以使混合基质较松软, 便于根的伸入, 有利于再生苗的生长。

表8 混合基质对移栽的影响

Table 8 Effects of mixture on transplantation

混合基质类型	成活率 /%	生长状况
泥炭土	55.7	生长缓慢, 易于在根部腐烂
泥炭土:蛭石(1:1)	78.6	生长正常, 新根伸长较慢
泥炭土:珍珠岩(2:1)	82.4	生长正常, 新根产生较慢
泥炭土:蛭石:珍珠岩(2:1:1)	95.1	生长较快, 根伸长较快

5.2 温度对移栽的影响 由表9看出, 温度对再生苗移栽的影响较为明显, 23 °C与26 °C培养差异较小, 然而与20 °C时移栽成活率相比较差异明显, 温度较低不利于缓苗及根的生长, 所以移栽温度应控制在23~26 °C。

表9 温度对移栽的影响

Table 9 Effects of different temperatures on transplantation

温度 / °C	成活率 /%	生长状况
20	70	生长缓慢
23	92	生长正常
26	95	生长正常

5.3 湿度对移栽的影响 从表10可知, 湿度对移栽影响较为显著, 菊芋是抗旱植物, 对水分要求较低, 湿度为50%时, 再生苗生长状况良好; 湿度为70%

表 10 湿度对移植的影响

Table 10 Effects of different humidity on transplantation

湿度 /%	成活率 /%	生长状况
50	95	生长正常
70	75	少量软腐现象
90	60	软腐现象严重

时, 出现较少的软腐现象; 当湿度达到 90% 时, 软腐现象明显, 成活率极低, 因此, 湿度应控制在 50% 左右为最佳。

6 田间种植及收获

选取长势旺盛, 生长状况良好的移植植株, 种植于田间, 栽种时期为 5 月中旬, 深度为超过根部

2 cm 即可, 株距 75 cm, 此时温度约为 25 °C, 适宜菊芋缓苗及生长; 7 月初为营养生长最快、最旺盛的时期, 株高可达 2~3 m; 8 月中旬块茎开始积累; 由于北方积温较低, 10 月中旬收获, 产量较高, 每株可产块茎 30 个左右, 重为 2.5~5 kg (图 2)。

讨 论

1 外植体的选择

再生苗的获得选取了 2 种有效的方法: 一是通过菊芋薯盘获得, 主芽点产生的不定芽切掉后, 周围的侧芽点会继续萌发, 每个侧芽点都会成为 1 株再生苗, 生长期为 1 周, 再生苗长势较好且粗壮, 数量约为 10 株, 可以较长时间地保存组培苗, 在保存

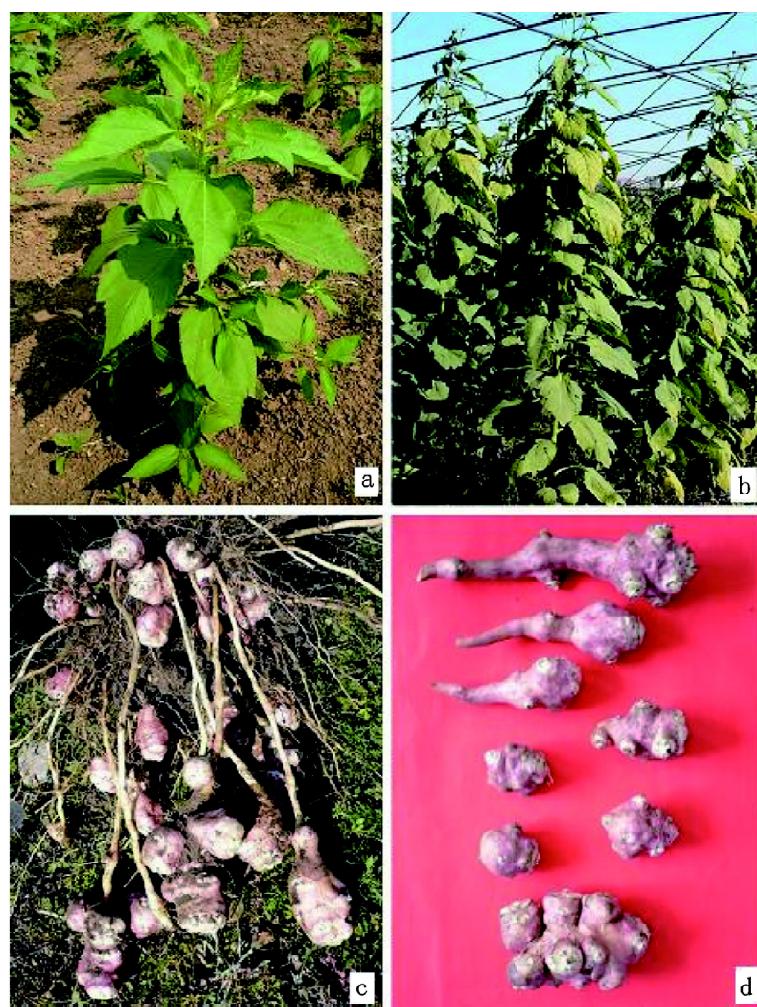


图 2 菊芋田间种植及收获

Fig.2 The field planting and harvest of Jerusalem artichoke

a: 田间种植幼苗期; b: 田间种植成熟期; c: 收获的块茎; d: 多种形状的块茎。

品种上具有重要意义;二是通过带有芽点的茎段获得,此种方法的优点在于能够短期内大量繁殖再生苗,并成指数形式递增,从农业扩产和品种推广上讲具有重要意义。

2 激素对菊芋生长的作用

通过试验可以明显看出,激素的种类和不同配比对菊芋各个快繁环节都有较为明显的影响,参考非洲菊(石文山等 2006)、滁菊(邓衍明等 2007)、万寿菊(邹永梅和黄雪芳2005)等同属菊科的其他植物,综合看出,6-BA对菊科作物有明显的诱导作用,较低浓度时,与生长素配比可促进其芽的产生,浓度稍高时,可以促进不定芽的丛生增殖。NAA 对菊芋的生根作用极为明显,较低浓度可以诱导菊芋产生较为粗壮、发达的根系,然而,随着浓度的逐渐增高,长成肉质根的趋势极为明显,当达到 $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,即可产生大量极不正常的肉质根,短小而粗,呈“鸡爪”状。由此可见,6-BA 和 NAA 是对菊芋作用十分明显的 2 种生长调节物质。南北方品种的差异也会导致激素浓度的用量有很大不同,本试验的生根培养生根率可以达到 100%。

3 菊芋脱毒在品种保持上的探讨

菊芋与马铃薯有较为相似的生长方式,均可通过块茎进行繁殖,因此,长期的地下生长会导致大量的病毒病的积累,最终导致品种的劣化和产量的逐年降低。菊芋是目前备受关注的新型能源植物和经济作物,在能源的开发领域有着极为广泛的应用(王志勇和杨今朝 2009),如工业酒精的制备、食品果糖的提炼,农业饲料的生产等方面,因此,产量的提升具有重要的实际意义,脱毒技术在菊芋的增产上将发挥巨大的作用。

参考文献

- 闫海霞, 汪卫星, 向素琼, 梁国鲁(2009). 菊芋的组织培养与快繁技术研究. 南方农业, (3): 58~61
石文山, 李树丽, 胡敬宜, 滕娜(2006). 非洲菊的离体培养和快速繁殖技术研究. 中国种业, (12): 44~46
邓衍明, 褚芳玲, 华如枝(2007). 滁菊组织培养脱病毒技术研究. 安徽农业科学, 35 (14): 4130, 4158
邹永梅, 黄雪芳(2005). 万寿菊的组织培养和瓶苗开花研究. 江苏林业科技, 32 (6): 17~19
王志勇, 杨今朝(2009). 菊芋综合利用的研究进展.安徽农业科学, 37 (25): 11923~11924, 11927