

橫山梨以氰氨基化鈣催芽之探討¹

盧柏松²

摘 要

台東地區橫山梨芽體一般自 9 月起萌芽率降低，開始進入休眠期，11 月下旬至 1 月上旬為深休眠期，2 月以後部份芽體開始覺醒，而在 3 月後解除休眠。本試驗乃探討橫山梨植株分別在 12 月中旬、1 月中旬及 2 月中旬等三個時期以 1:8 濃度之氰氨基化鈣催芽處理，結果以 12 月中旬催芽效果最差，2 月中旬催芽效果較佳，而在 2 月中旬催芽後枝條內之全可溶性糖含量有提早增加之趨勢。故台東地區橫山梨之適當催芽時期應在 1 月中旬以後；而施用氰氨基化鈣液催芽，過濾或不過濾並不影響催芽之效果。

關鍵詞：橫山梨、萌芽、氰氨基化鈣、全氮、全可溶性糖

前 言

休眠是落葉果樹每年均會發生之一生理現象⁽²⁸⁾，依形態及發生原因可區分為條件休眠 (conditional dormancy)、生理休眠 (organic dormancy) 及強制休眠 (enforced dormancy)。生理休眠又稱為自發性休眠 (spontaneous dormancy)⁽²⁴⁾，又將其分為導入期、最深期及覺醒期⁽¹⁷⁾。而影響植物休眠及萌芽之因子很多，外在環境因子方面包括溫度、光、降水及土壤水分等，其中以溫度之影響最大⁽²⁸⁾；內在因子方面，植物在進入休眠期，樹體內之水分、氮素^(16,18)、催化酵素 (catalase) 及生長促進物質 (auxin、cytokinin、GA) 等之含量會降低，而碳水化合物、及植物生長抑制物質 (ABA) 含量會增加^(8,14,16,31)。而在萌芽期樹體內之水分、氮素^(1,3,16)、催化酵素及生長促進物質等之含量會增加，而碳水化合物及植物生長抑制物質含量會降低^(8,14,16)，此時碳水化合物中可溶性糖類會增加而澱粉含量會降低。

而梨樹在溫帶地區自 9 月起進入休眠，10 月至 11 月為深休眠期，12 月下旬開始解除休眠⁽⁸⁾。休眠之解除則必須有足夠之低溫，以滿足芽體之低溫需求量，此低溫需求量會依品種、地域、樹齡及栽培方式而各有差異⁽²⁸⁾。橫山梨屬低需冷性落葉果樹^(7,26)，但因台灣冬季並無明顯低溫且栽培都在中、低海拔 (海拔 800m 以下) 地區，故仍有萌芽不整齊及萌芽率較低之現象⁽⁵⁾，在亞熱帶地區栽培落葉果樹常因冬季低溫不足，造成

1 本文為作者碩士論文之一部份。

2 臺東區農業改良場助理。

萌芽不整齊、生長衰弱現象，成為栽培管理之一大困擾，故可藉由人工催芽之方式以促進芽體萌發^(9,18,21)。施用氰氨基化鈣，可以提早萌芽、提高萌芽率^(9,10,11,12,15,18)並有打破頂芽優勢促進基部芽體萌發之效果^(7,11,18,19)。芽體在不同休眠程度以氰氨基化鈣或其他化學藥劑催芽之效果差異很大，而催芽之效果需視品種的敏感性及芽體發育之生理階段而定^(25,26)。而使用化學藥劑打破休眠之時機最好在接近萌芽期，太晚施用則會對植物造成傷害或死亡⁽²⁷⁾。以氰胺處理梨不同生長期之枝條，結果亦發現氰胺對深休眠之枝條並無影響，但對半休眠之芽體有促進萌芽作用，而對幼嫩枝條或已接受足夠低溫之枝條有延遲萌芽甚至致死的作用⁽²⁶⁾。氰氨基化鈣在自發休眠中後期處理效果最好，如台灣中部地區葡萄催芽之適當時間應在 1 月底以後效果最好且催芽後提高溫度可以促進萌芽⁽¹⁰⁾。

橫山梨在台灣栽培已有百年之歷史，且栽培面積達 6,000 公頃以上，然在市場導向下，水果愈早上市售價愈高，所以橫山梨或高接梨栽培者都希望利用產期調節錯開主要產期或使產期提早，但因其中涉及橫山梨冬季休眠及低溫不足，造成低萌芽率、生長緩慢及果實與樹勢生育無法配合等一連串影響果實品質之問題，因此不論何種產期調節，橫山梨之生育控制均為成功之關鍵；台東地區橫山梨栽培面積約 300 公頃，栽培模式多以生產高接梨為主，由於冬季氣溫較高，高接後果實約在 5、6 月可成熟採收，其產期較早而售價高，果農栽培意願頗高，但亦因冬季缺乏低溫，造成橫山梨萌芽不整齊且開花量不多，在高接果實發育期可能養分及水分之供應不平衡，致使小果率偏高影響收益，如能使橫山梨提早萌芽及提高萌芽率，以使高接梨果實之發育與樹勢生長相配合，將可提高果實品質及增加產量，以達產期調節之真正目的。但有關氰氨基化鈣液使用時期及調製方法對橫山梨萌芽影響之研究仍十分缺乏，故本研究之目的即探討在不同時期以不同調製方法之氰氨基化鈣液催芽對橫山梨芽體萌發及樹體內碳水化合物含量之影響，以做為果園栽培管理之應用參考。

材料與方法

試驗材料

本試驗材料為 7 年生橫山梨植株，以烏梨為砧木，採開心型之整枝方式栽培，行株距為 8m×8 m，植株生育正常，果園行正常管理，於 11 月中旬施用有基肥，11 月下旬至 12 月上旬進行修剪，以生產高接梨為主。果園位於台東縣卑南鄉台東區農業改良場斑鳩分場，果園之土壤質地屬砂質壤土，海拔約 150m。

試驗方法

一、處理時間：分別於 85 年 12 月 13 日、86 年 1 月 14 日及 86 年 2 月 14 日等 3 個時期進行催芽處理。

二、處理方法：以 1 : 8 濃度之氰氨基化鈣液作橫山梨全株催芽處理，氰氨基化鈣液之調製方法係以日本電化工業株式會社所生產之粉狀氰氨基化鈣(俗稱黑肥或烏肥)為材料進行調製，先將粉狀氰氨基化鈣加入 40°C 之溫水(比率為 1:8)，充分攪拌後靜置 2 小時，取冷卻後之浸出液，浸出液不調整其酸鹼值(pH 值約 12.2)，而以聚乙烯製之肥料袋過濾，將其分為過濾及無過濾液 2 種處理，每株噴施 6 公升，另各以不噴施氰氨基化鈣者做為對照組，採完全隨機設計，3 重複，每重複 1 株，每處理各 3 株，催芽後植株立即大量灌水。

調查及分析方法

一、萌芽率之調查

自催芽次日起每隔 7 日調查全株短果枝及長果枝之萌芽情形，並以催芽後 28 日內植株之萌芽率達 50% 以上時作為打破休眠之判斷。萌芽之認定係以包被芽體之鱗片破裂後，可見內部之綠色為準。

二、枝條內水分含量之調查

自催芽次日起每隔 7 日隨機由每株選取 4 支當年生枝條(長約 20cm，直徑約 0.6-0.8cm)供作調查及分析之用。水分含量之調查以電子天秤測量枝條之鮮重減去烘乾後之乾物重再除以鮮重表示。

三、碳水化合物之分析

枝條烘乾後樣品磨粉再以 Yoshida、Somogyi 之方法測定其全糖及澱粉之含量。

四、氮素之分析

全氮採用 Micro-Kjeldahl 之方法測定。

五、氣象資料收集

試驗期間之氣象資料收集就近以台東區農業改良場斑鳩分場之農業一級氣象觀測站之觀測記錄值為準。

結果與討論

氰氨基化鈣催芽之效果

橫山梨在 3 個不同時期以 1:8 濃度之氰氨基化鈣進行催芽處理之結果差異甚大，在 85 年 12 月 13 日之催芽結果由表一及圖一可知，以氰氨基化鈣過濾液處理者，催芽後第 4 日芽體開始萌芽，但萌芽率不高且參差不齊，以處理後 14~21 日萌芽數較多，

28 日後全株萌芽率為 23.2%，其中長果枝萌芽率為 12.7%，短果枝為 55.7%；而以無過濾液處理者，催芽後 4 日芽體開始萌發，以處理後 14~21 日之萌芽數較多，28 日後全株萌芽率為 19.5%，其中長果枝萌芽率為 14.7%，短果枝為 54.3%；催芽 28 日後(1 月中旬)對照組之全株萌芽率為 4.2%，其中長果枝萌芽率為 3.9%，短果枝為 5.3%。此時期以氰氨基化鈣液催芽無論過濾或無過濾液處理之萌芽率均顯著高於對照組，但過濾與無過濾液處理對催芽之效果並無明顯差異。

翌年 1 月 14 日催芽結果如表一及圖二，以過濾液處理者，催芽後 5 日開始萌發，28 日後全株萌芽率為 27.7%，其中長果枝萌芽率為 14.1%，而短果枝已達 76.5%。無過濾液催芽後 8 日開始萌芽，28 日後植株萌芽率為 25%，其中短果枝萌芽率已達 64.9%。此時期無論以過濾或無過濾液處理之萌芽率亦均顯著高於對照組(植株萌芽率 10.9%)，而過濾與無過濾處理間並無顯著差異。

2 月 14 日之催芽結果由表一及圖三可以看出，以過濾液處理後 3 日芽體開始萌發，在催芽後 7~21 日芽體大量萌發，21 日後植株萌芽率達 51.2%，其中長果枝為 45.5%，短果枝為 81%；28 日後(3 月中旬)植株萌芽率為 69.3%；無過濾液催芽後 3 日芽體開始萌發，亦在催芽後 7~21 日大量萌發，21 日後(3 月 7 日)植株萌芽率達 60.3%，其中長果枝為 58.5%，短果枝為 73.6%；28 日後植株萌芽率達 76.5%。此時期以過濾或無過濾液處理之萌芽率均顯著高於對照組(植株萌芽率 19.1%)，使植株在 3 月上旬萌芽率均已超過 50%，但過濾與無過濾液處理間亦或無顯著差異。

在三個不同時間利用氰氨基化鈣催芽都有顯著提高萌芽率、提早萌芽之效果；但處理上過濾液與無過濾對促進萌芽並無顯著差異。而不同時間催芽之效果差異很大，其中以 12 月 13 日催芽效果最差，2 月 14 日處理效果最佳。

由此可知台東地區橫山梨以 1:8 濃度之氰氨基化鈣催芽之適當時期應在 1 月中旬以後，尤其 2 月中旬效果最好。而本試驗在 12 月中旬催芽效果不佳可能係因台東地區 12 月中旬以前低溫量太少，由所收集之氣象資料(如圖四)可看出在 12 月中旬以前並無 10°C 以下之低溫而 13°C 以下之低溫亦只有 31 小時，此時橫山梨芽體仍處於深休眠狀態對藥劑之敏感性較低，且催芽後之氣溫亦較低所以催芽效果較差。而 1 月中旬前亦無 10°C 以下之低溫而 13°C 以下之低溫有 118 小時，2 月中旬前已累積至 177 小時，此時芽體已接受較多量之低溫且催芽後氣溫稍高，所以催芽效果最好。

研究亦指出氰氨基化鈣處理，可以取代 1,000 小時(0~5°C)之低溫效果，顯著的降低低溫需求，且在未滿足低溫需求前，低溫處理時間愈久催芽效果愈好，達 50% 萌芽所需時間也愈短⁽¹⁸⁾；但利用化學藥劑處理只有取代部份低溫之效果，無法完全取代低溫⁽²²²⁶⁾。其原因可能是氰氨基化鈣為一刺激性催芽劑，在芽體深休眠時，因鱗片包被緊密且芽體活性低，對藥劑之吸收力差，因此催芽效果不佳，而隨著休眠之減弱，芽體對藥

劑之吸收力增強，所以效果較佳。

氰氨基化鈣液之調製方法亦會影響催芽效果，葡萄以混濁液處理可以防止藥液遇乾、冷後之結晶現象，可增加效果⁽⁸⁾，但在台灣葡萄以氰氨基化鈣過濾液催芽效果較無過濾者高，而調整 pH 值至 8 左右催芽效果更好更穩定⁽¹⁰⁾。在本研究中以 1:8 濃度之氰氨基化鈣處理，不論過濾或不過濾處理都有促進萌芽之效果，但過濾與不過濾處理間並無明顯差異，此結果可能因橫山梨對藥劑之敏感性較差且處理濃度不高或未調整 pH 值所致⁽¹⁰⁾。

催芽後當年生長果枝水分含量之變化

橫山梨在不同時期以氰氨基化鈣液催芽後當年生長果枝水分含量變化大致相似，12 月 13 日催芽後枝條中水分含量變化如圖一所示，各處理在催芽後 7~14 日水分明顯增加，尤其以過濾液處理者枝條水分含量達 57%，之後呈不規則變化。1 月 14 日催芽處理或對照組之水分含量變化大致相似，在處理後 14 日水分急速增加，之後上下起伏呈不規則變化(如圖二)，2 月 14 日催芽者各處理枝條中水分含量在處理後均逐漸增加(如圖三)。

由此可知橫山梨樹與其它果樹如葡萄、梨、果桑等相同，在萌芽前枝條內水分含量會逐漸增加，以促使枝條內貯存之不溶性碳水化合物轉變為可溶與性，以供芽體萌芽所需^(3,6,8)。

催芽後當年生長果枝碳水化合物含量之變化

不同時間催芽後長果枝中碳水化合物含量變化如圖 1、2、3 所示，由圖 1 可看出 12 月 13 日以氰氨基化鈣過濾液催芽者，澱粉含量在催芽後 7 日由 30.7% 急速降低，28 日後降低至 21.5%；全可溶性糖含量在催芽 14 日後由 1.4% 急速降低至 0.6%，之後又逐漸回升至催芽前濃度。以無過濾氰氨基化鈣液處理者，澱粉含量在催芽後僅略為降低；全可溶性糖含量則逐漸降低，在 21 日後降至最低僅 0.6%，之後又逐漸回升。對照組枝條內澱粉含量呈上下起伏變化，但整體而言仍逐漸減少；全可溶性糖含量並無明顯變化。

由圖 2 可知 1 月 14 日催芽後各處理之澱粉含量均呈現緩慢下降趨勢；而全可溶性糖含量在催芽後處理組(過濾及無過濾)略為上升，28 日後急速增加，對照組則呈緩和增加現象，2 月 14 日催芽後各處理之澱粉含量均急速降低。而枝條中全可溶性糖含量在催芽後，處理組(過濾及無過濾)立即急劇增加，而對照組則呈緩慢增加趨勢。

一般而言，落葉果樹在休眠前會將碳水化合物貯藏在根、主幹、枝條及芽體，組織內不溶性之澱粉及糖含量會上升，以增加耐寒力，而在春天氣溫回升，芽體解除休眠

開始萌芽時，澱粉會轉變為可溶性糖以供生長所需^(8,27,28)。葡萄及果桑均有研究指出以氰氨基化鈣處理後可以促使結果母枝及芽體內之水分含量會增加及澱粉轉變為可溶性糖的時間提早，並可增加細根中之非蛋白態氮含量，因而促使芽體生理活性提高而萌發^(1,3,6,18)。本試驗於 12 月 13 日催芽，催芽後 14 天枝條內全可溶性糖之含量會逐漸降低，之後又回升，可能係因太早催芽，植株無法完全打破休眠，樹體內之澱粉轉化為可溶性糖速率較為遲緩，而芽體在萌芽前呼吸作用加速需大量之能源供給^(6,29)，因而消耗枝條內之全糖使含量降低。而 1 月中旬及 2 月中旬催芽後全可溶性糖含量大量增加，其原因可能是 2 月以後橫山梨芽體已開始覺醒，樹體本身之澱粉轉化為可溶性糖速率已逐漸加速，而利用氰氨基化鈣液催芽後更促使澱粉加速轉變為可溶性糖以供萌芽所需，因此測得之全糖含量會急速增加。而 Wang 等人(1985)報告指出落葉果樹在芽體萌芽前呼吸率會上升，洪(1995)研究亦指出葡萄以氰氨基化鈣催芽後至萌芽期間，樹體之呼吸率、內生乙稀及 ICDH 酵素活性會增加，此會促使樹體內澱粉提早轉變成可溶性糖，以供植物呼吸作用及萌芽所需。

催芽後當年生長果枝氮素含量之變化

不同時間催芽後長果枝氮素含量之變化如圖 1、2、3 所示；12 月 13 日催芽後，處理組枝條全氮含量之變化均與對照組相似，在催芽後 7 日略為上升，之後呈不規則變化(如圖 1)。1 月 14 日催芽者，催芽處理組枝條之全氮含量均呈現緩慢增加，而對照組在第 7 日略為降低，之後亦呈緩慢增加(如圖 2)。2 月 14 日催芽後各處理(含對照處理)枝條全氮含量均逐漸增加，但處理組與對照組間並無明顯差異(如圖 3)。

此結果與葡萄及桑樹^(3,31)之情形相似，其中於 12 月 13 日催芽者，可能因芽體休眠較深，對藥劑之感應性低⁽²⁶⁾，因此無法刺激氮素之吸收與利用。

參考文獻

- 1、沈百奎、楊耀祥 1988 葡萄芽體休眠與氮素之關係。 興大園藝 13:1~10
- 2、林嘉興 1986 橫山梨與高接梨栽培管理技術。 台灣省台中區農業改良場特刊第4號
- 3、林進財、楊耀祥 1991 桑樹新梢生長與碳水化合物及氮素之關係。 興大園藝 16:45~60
- 4、林金和、林信山、林嘉興、廖萬正、張林仁 1983 應用cyanamide 打破巨峰葡萄之休眠。 科學月刊 11(4):291~300
- 5、林信山、林嘉興、張林仁 1996 以生化及組織化學方法預測橫山梨之萌芽期。 台灣省台中區農業改良場研究彙報 51 : 59~68

- 6、洪素芬 1995 巨峰葡萄催芽後生理反應之探討。 國立中興大學園藝學研究所 碩士論文
- 7、倪正柱 1990 氫胺打破頂芽優勢之初步觀察。 興大園藝 15:33 ~ 37
- 8、張林仁、林嘉興、林信山 1990 梨樹之營養動態。 果樹營養與果樹土壤管理研討會專集 P.233 ~ 243
- 9、楊耀祥、林嘉興、廖萬正 1982 氫氨基化鈣及Merit 液肥對打破巨峰葡萄休眠之影響。 興大園藝7:21 ~ 29
- 10、楊耀祥 1984a 葡萄催芽劑氰氨基化鈣製法之研究。 興大園藝9:7 ~ 16
- 11、楊耀祥 1984b 葡萄催芽劑氰氨基化鈣使用方法之研究。 農林學報 33(1):97 ~ 116
- 12、廖萬正 1991 溫帶梨催芽試驗。 園藝作物產期調節研討會專集II p.213 ~ 218
- 13、田村文男、田邊賢二、伴野 潔、池田隆政 1993 二〇〇〇 ‘二十世紀’〇芽〇休眠打破〇及〇〇〇〇 高溫處理〇影響。 日本園藝學會雜誌 62(1):41 ~ 47
- 14、伴野 潔、林真 二、田邊賢二 1986 二〇〇〇 幼木〇〇〇〇 〇樹體內養分〇動向〇。 〇。 日本園藝學會研究發表要旨昭和61年春季:78 ~ 79
- 15、岩崎一男、水谷房雄、磯貝勝 1981 果樹〇休眠〇關〇〇研究(第3報)CaCN₂中〇休眠打破有效成分〇 〇。 日本園藝學會研究發表要旨昭和56年春季:108 ~ 109
- 16、高馬進、北尺昌明 1953 落葉果樹〇自發休眠〇關〇〇研究(2)。 信州大紀要 3:205 ~ 211
- 17、堀內昭作、中川申一 1981 〇〇〇 芽〇休眠〇一般特徵。 日本園藝學會雜誌 50:176 ~ 184
- 18、黑井伊作 1974 〇〇 樹〇休眠中〇石灰窒素處理〇〇 生育促進〇關〇〇研究。 新瀉大學農學部記要 12:1 ~ 71
- 19、黑井伊作 1985 〇〇〇 • 〇〇〇 及〇〇〇〇〇〇〇〇 ‘巨峰’〇芽〇休眠打破〇及〇〇〇〇果。 日本園藝學會雜誌 54(3):301 ~ 306
- 20、望月太、青木幹雄、佐久間信夫 1981 〇〇〇 催芽促進〇關〇〇研究(第1報)石灰窒素• 〇〇〇 催芽促進〇及〇〇〇〇影響〇 〇、兩藥劑〇混用〇果。 山梨縣果樹試驗場研究報告 (5):20 ~ 33
- 21、Erez, A. 1985 Defoliation of deciduous fruit trees with magnesium chlorate and cyanamide. HortScience 20(3):452 ~ 453
- 22、Fernandez-Escobar, R. and R. Martin 1987 Chemical treatments for breaking rest in peach in relation to accumulated chilling. J. Hort. Sci. 62(4) :457 ~ 461

- 23、 Iwasaki, K. 1980 Effects of bud scale removal, calcium cyanamide, GA₃ and ethephon on bud break of 'Muscat of Alexandria' grape (*Vitis vinifera* L.). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 48(4):395 ~ 398
- 24、 Kondo, I.N. and L.P. Pudrikova 1970 Changes in the carbohydrates of vine shoot during the cold season. Hort. Abs. 40:416
- 25、 Lavee, S. 1973 Dormancy and bud break in warm climates ; considerations of growth regulator involvement. Acta Hort. 34:225 ~ 234
- 26、 Nee, C.C. 1992 Overcoming rest at different growth stages with hydrogen cyanamide. Sci. Hort. (50):107 ~ 113
- 27、 Samish, R.M. 1954. Dormancy in woody plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 5:183 ~ 203
- 28、 Saure, M.C. 1986 Dormancy release in deciduous fruit. Hort. Rev. 7:239 ~ 287
- 29、 Wang, S.Y., M. Faust and G.L. Steffens 1985 Metabolic changes in cherry flower bud associated with breaking of dormancy in early and late blooming cultivars. Physiol. Plant. 65:89 ~ 94
- 30、 Yang, Y.S., M.T. Chang and B.K. Shen 1990 The effect of calcium cyanamide on budbreak, retranslocation of accumulated ¹⁴C-assimilates and changes of nitrogen in grapevines in Taiwan. Acta Hort. (279):409 ~ 425
- 31、 Young, E. 1992 Timing of high temperature influences chilling negation in dormant apple trees. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117(2):271 ~ 272

Studies on Forcing Budbreak of 'HengShan Pear' by Calicum Cyanamid¹

Bor-Soun Lu²

Abstract

The buds of 'Heng-Shan' pear tree (*Pyrus serotina* R.) go into dormancy in September and remain in a state of deep rest from late November to early January. The degree of dormancy diminish from February and emerges in March in Taitung prefecture, Taiwan. Field experiment showed that induction of budbreak was least effective when applied in the middle of December if dormant 'Heng-Shan' pear trees were sprayed with calcium Cyanamid solution(1:8) , however, better result could be expected if it was applied in the middle of January or February. The content of total soluble sugar increased rapidly and accumulated early in shoots in the middle February sampling. The optimal time to break dormancy was in late January in Taitung. Spraying solution filtering process, in general, did not affect much in this experiment.

Key word: hengshan pear, budbreak, calicum Cyanamid, nitrogen, total soluble sugar

¹ A Part of Author 's Master Thesis.

² Research Assistant, Taitung Agriculture Research Station.

表一、橫山梨不同時間利用氰氨基化鈣液處理後之萌芽情形

Table1. The budbreak of Hengshan pear after different calcium Cyanamid solution and spraying times

Date of Treatment	Treatment	Budbreak ^z (%)		
		Branch stem	Spur	Whole Plant
13 Dec.1996	CaCN ₂ Filter solution	12.7	55.7	23.3
	CaCN ₂ Turbid solution	14.7	54.3	19.5
	CK	3.9	5.3	4.2
	LSD _{0.05}	6.9	11.4	8.3
14 Jan.1997	CaCN ₂ Filter solution	14.1	76.5	27.7
	CaCN ₂ Turbid solution	14.3	64.9	25.0
	CK	6.7	25.4	10.9
	LSD _{0.05}	9.7	18.6	11.6
14 Feb.1997	CaCN ₂ Filter solution	65.6	89.1	69.3
	CaCN ₂ Turbid solution	76.7	81.1	76.5
	CK	12.2	50.8	19.1
	LSD _{0.05}	8.6	18.4	11.3

^z:Values of budbreak rate are spray calcium Cyanamid solution treatment after 28 days.