

HOL EN BRUIN BIJ PEREN

EEN LITERATUURSTUDIE

Ir. Harald N. van der Hoek

Augustus 1994

Agrotechnologisch Onderzoek Instituut ATO-DLO

Bornsesteeg 59

Postbus 17

6700 AA Wageningen

2222003

SAMENVATTING

In deze literatuurstudie wordt ingegaan op de problematiek van hol en bruin bij peren. Het probleem doet zich vaak voor kort na de aanvang van de bewaringsperiode. Na een beschrijving van de verschijnselen, wordt de rol van pre-harvest factoren behandeld. Achtereenvolgens komen de invloed van het klimaat, de boomgaard, boom en het pluktijdstip aan de orde.

Dan worden de oorzaken van bewaring bij het optreden van hol en bruin nader belicht. Deze oorzaken zijn vertraagde inslag, langzame koeling, hoge CO₂-concentratie, lage O₂-concentratie, hoge bewaringstemperatuur en, mogelijk, een te snelle O₂ pull down. Tevens worden enkele naogstbehandelingen vermeld, die hol en bruin zouden verminderen.

Hierna worden mogelijke verklaringen gegeven voor de rol van de factoren betrokken bij het optreden van hol en bruin. Ten eerste wordt het bruiningsproces zelf beschreven. Dan komen de invloed van CO₂ en O₂ op het respiratoir metabolisme en op diffusie aan bod. Ten slotte wordt de mogelijkheid beschouwd, dat de veranderde structuur van membranen als gevolg van lagere temperaturen tijdens het groeiseizoen bijdraagt aan het optreden van hol en bruin.

De literatuurstudie mondt uit in enkele conclusies, die leiden tot aanbevelingen voor onderzoek. De belangrijkste aanbevelingen zijn de volgende:

- een non-destructief detectiesysteem van hol en bruin dient ontwikkeld te worden
- betrouwbare voorspellingsmethoden van hol en bruin en het optimale pluktijdstip moeten opgesteld worden
- er zou een CA-bewaarsysteem ontwikkeld moeten worden, dat hol en bruin voorkomt en mede is gebaseerd op kennis van de biochemische en fysiologische processen die tijdens de teelt en bewaring kunnen leiden tot het optreden van hol en bruin.

INHOUDSOPGAVE

1 INLEIDING	1
2 BESCHRIJVING VAN DE VERSCHIJNSELEN HOL EN BRUIN	1
3 PRE-HARVEST FACTOREN	2
3.1 Klimaat	2
3.2 Boomgaard en boom	3
3.3 Pluktijdstip	5
4 OORZAKEN VAN BEWARING BIJ HET OPTREDEN VAN HOL EN BRUIN	7
4.1 Vertraagde inslag, langzame koeling	7
4.2 De rol van CO ₂ , O ₂ en bewaringstemperatuur	7
4.3 Naoogstbehandelingen die hol en bruin verminderen	9
5 VERKLARINGEN VOOR DE ROL VAN FACTOREN BETROKKEN BIJ HOL EN BRUIN	10
5.1 Bruining	11
5.2 De invloed van CO ₂ en O ₂ op het respiratoir metabolisme en op diffusie	12
5.3 Veranderende structuur van membranen als gevolg van lagere temperaturen tijdens de groeiperiode	17
6 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN VOOR ONDERZOEK	18
LITERATUUR	19

1 INLEIDING

Bij de bewaring van peren, met name in CA-condities, is het optreden van holle en bruine vruchten een steeds terugkerend probleem. Het is een fysiologische afwijking die na enige tijd in bewaring optreedt, waarbij het vruchtvlees bruin verkleurt en er zelfs na verloop van tijd holten ontstaan. De CO₂-concentratie tijdens de bewaringsfase is van grote invloed op het ontstaan van hol en bruin. Inmiddels is er al veel bekend over CO₂ en andere factoren die een rol spelen bij het ontstaan van het probleem, zowel voor de oogst als tijdens de bewaringsperiode. Echter over de biochemische processen die zich afspelen als gevolg van de invloed van de verschillende factoren is nog weinig bekend.

Deze literatuurstudie probeert een aanzet te geven tot toekomstig onderzoek. Eerst zal er een beschrijving gegeven worden van de afwijking. Vervolgens zullen zowel de 'pre-harvest'-factoren als de factoren die van invloed zijn tijdens de bewaring behandeld worden. Tot slot zal er worden ingegaan op de biochemische processen, die optreden onder invloed van de verschillende factoren. Hieruit zullen dan waarschijnlijk enkele aandachtsgebieden voor onderzoek voortkomen. Gedacht kan worden aan de opheldering van de biochemische processen op vrucht- en celniveau en de ontwikkeling van een voorspellingsmodel voor het optreden van hol en bruin.

2 BESCHRIJVING VAN DE VERSCHIJNSELEN HOL EN BRUIN

De termen hol en bruin worden vaak samen genoemd, omdat de oorzaken meestal dezelfde zijn en ook de symptomen soms, maar niet altijd, samen voorkomen. Meestal gaat bruin vooraf aan hol, maar niet iedere bruine peer wordt hol. Hol en bruin zijn niet uitwendig zichtbaar. In een vergevorderd stadium is het wel voelbaar. Hoewel de peer nog groen is, kan ze dan gemakkelijk met de hand ingedrukt worden. Het is dus geen verouderingssymptoom. Inwendig kan het beeld variëren van kleine holten en bruinverkleuringen rond het klokhuis tot zeer grote, soms laddervormige holten in het klokhuis en in het vruchtvlees. Het weefsel kan daar ook totaal verdwenen zijn. Hol en bruin kan bij alle rassen voorkomen (Schaik, 1990).

Uit Amerikaans onderzoek (Frenkel en Patterson, 1977) is gebleken dat de structuur van de celmembranen en andere celorganen wordt aangetast. De stofwisseling wordt nadelig beïnvloed doordat bepaalde enzymen niet langer gemaakt worden en giftige stofwisselingsprodukten niet meer worden afgebroken. Het gevolg is dat cellen en tenslotte gehele weefsels afsterven en daardoor bruin kleuren of zelfs verdwijnen (Schaik, 1990).

Hoewel in de Nederlandstalige literatuur alleen de benaming "hol en bruin" gebruikt wordt voor deze bewaringsafwijking, kent de Engelstalige literatuur veel meer benamingen. Dit wordt verklaard, doordat de verschijnselen bij de verschillende cultivars niet gelijk zijn en doordat de benaming vaak verwijst naar de morfologische verschijnselen van de afwijking (Raese, 1989). In tabel 2.1 zijn de Engelstalige benamingen voor de afwijking weergegeven met daaraan toegevoegd de cultivar, die de verschijnselen vertoonde waaraan de naam is ontleend.

Tabel 2.1. Benamingen voor hol en bruin in de Engelstalige literatuur.

Algemene naam	Gevoelige cultivars	Bron
Brown core	'Bosc'	Chen <i>et al.</i> , 1986
Brown heart	'Winter Cole', 'Packham's Triumph'	Padfield, 1971
Carbon dioxide injury	'Bartlett', 'Clapps', 'Anjou', 'Bosc'	Porritt <i>et al.</i> , 1982
Core breakdown	'Bartlett'	Wang & Worthington, 1979
Internal breakdown	'Conference'	Luton & Holland, 1986
Pithy brown core	'Anjou', 'Bosc', 'Bartlett'	Pierson <i>et al.</i> , 1971

3 PRE-HARVEST FACTOREN

De oorzaken van het ontstaan van hol en bruin liggen vaak al voor de oogst, hoewel het probleem pas tijdens de bewaring optreedt. In dit hoofdstuk zullen de pre-harvest factoren en hun invloed op het ontstaan van hol en bruin besproken worden.

3.1 Klimaat

Het klimaat en bijbehorend weerbeeld is van grote invloed op het ontstaan van hol en bruin. Zo verhoogt een koeler klimaat of seizoen de vatbaarheid van peren voor hol en bruin. Met name lage temperaturen in de 4-5 weken voor de oogst hebben een sterk effect op het ontstaan van hol en bruin (Wang, 1982). Zo vonden Hansen en Mellenthin (1962), dat Bosc peren geplukt na een koel groeiseizoen veel last kregen van hol en bruin. Dit in tegenstelling tot de twee voorgaande groeiseizoenen die duidelijk warmer waren. In Nederland waren de peren van de seizoenen 1986 en 1993 sterk aangetast door hol en bruin. Uit temperatuurgegevens van de Vakgroep Meteorologie van de Landbouwwuniversiteit Wageningen blijkt, dat de temperaturen in augustus en september veel lager waren dan de normaalwaarden (Tabel 3.1). De laatste 10 dagen van augustus

waren de gemiddelden nog lager, namelijk 13,4 en 12,9 voor 1986 en 1993 resp. De temperatuur lijkt in de overige maanden geen rol te spelen bij het ontstaan van de vatbaarheid van hol en bruin. Dit is een bevestiging van de bewering, dat lage temperaturen in de periode 4-5 weken voor de oogst een grote kans geven op hol en bruin tijdens bewaring.

Tabel 3.1. Gemiddelde temperaturen (1986, 1993) en normaalwaarden N (1951-1980) gemeten +150 cm in °C te Wageningen.

	mrt	apr	mei	juni	juli	aug	sept
N	4,9	8,2	12,4	15,6	16,8	16,6	14,1
1986	4,3	6,2	13,6	16,7	16,9	15,6	11,3
1993	5,7	11,2	14,4	15,8	16,1	15,0	13,0

De invloed van het klimaat als een factor wordt verder bevestigd door het feit, dat peren afkomstig uit een streek waar de temperaturen iets hoger liggen dan in een andere streek minder vatbaar zijn voor het probleem (Hansen en Mellenthin, 1962; Chen *et al.*, 1986; Bazhuryanu *et al.*, 1989).

3.2 Boomgaard en boom

Veel fysiologische afwijkingen aan vruchten zijn terug te voeren op factoren die in de boomgaard of de boom zelf hun oorsprong vinden. Zo is bijvoorbeeld calcium nodig voor tal van processen in de bomen en vruchten. Toch zijn er geen duidelijke aanwijzingen, waaruit blijkt, dat hol en bruin het gevolg zou zijn van overmaat of deficiëntie van nutriënten. Er zijn echter wel enkele invloeden van boomgaard en boom aan te wijzen. Bovendien komen in onderzoek van ATO-DLO wel grote verschillen tussen peren van verschillende herkomsten voor in het optreden van hol en bruin, maar het is niet duidelijk wat de oorzaken zijn van deze verschillen (Schaik, 1994, mond. comm.).

De invloed van de drachtwaarde van de boom is onderzocht door peren van bomen met een hoge alswel een lage drachtwaarde uit dezelfde boomgaard te vergelijken. Bij de peren afkomstig van de bomen met een lage drachtwaarde kwam beduidend meer hol en bruin voor (Hansen en Mellenthin, 1962). Ook Blanpied (1975) meldt dat peren van bomen met een lage drachtwaarde een hogere kans geven op hol en bruin. Een mogelijke verklaring is, dat peren van bomen met een lage drachtwaarde sneller rijpen en toch op hetzelfde tijdstip geplukt worden als andere peren. Rijpere peren geven meer kans op hol en bruin (zie ook 3.3).

Factoren die in de boomgaard een rol spelen, zijn nutriëntensamenstelling in de bodem en bemesting, snoei, vruchtdunning en andere teeltmaatregelen. Zo verhoogt overbemesting met stikstof het risico op hol en bruin (Bramlage *et al.*, 1980). Wel hebben nutriënten, met name calcium, effect op andere fysiologische problemen en het rijpingsproces, zij het in mindere mate als bij appels (Bramlage *et al.*, 1980; Sharples, 1980).

Uit onderzoek waarbij peren van verschillende boomgaarden uit Engeland en België onder andere werden vergeleken op de mate van hol en bruin kwamen geen verschillen naar voren, wat eens te meer lijkt te duiden op het geringe effect van boomgaardfactoren op het ontstaan van hol en bruin (Luton *et al.*, 1980; Stow, 1984; Luton en Holland, 1986). Verschillen in hol en bruin tussen peren uit Noord- en Zuid-Oregon werden toegeschreven aan de lagere temperaturen in het Noorden (Chen *et al.*, 1986).

Besputtingen van individuele bomen 30 dagen voor de oogst met de groeiregulatoren 1000 mg/l N'-N'-dimethyl barnsteenzuurhydrazide (daminozide) en 100 mg/l gibberelinezuur (GA3) deden het aandeel holle en bruine peren niet opmerkelijk afnemen t.o.v. een controle (tabel 3.2). De peren werden 60 dagen in lucht bewaard bij 0 °C en dan 7 dagen gerijpt bij 20 °C. Hierna volgde de beoordeling. In twee van de zes jaar was het aandeel holle en bruine peren hoger ten opzichte van de controle bij met daminozide behandelde peren en in één jaar bij de GA3-behandeling. De redenen waarom de omstandigheden in die jaren leidden tot meer bederf zijn onbekend. Het gebruik van daminozide of GA3 remt rijping en zou zodoende de vatbaarheid voor hol en bruin kunnen verminderen (Meheriuk, 1990).

Tabel 3.2. Effect van daminozide en GA3 op het voorkomen van hol en bruin in 'Bartlett' peren bewaard bij 0 °C gedurende 60 dagen en gerijpt bij 20 °C gedurende 7 dagen.

Year	Hol en bruin (% fruit)			SD
	Control	Daminozide	GA3	
1980	77.4a	70.0a	89.1a	4.9
1981	29.0b	56.3a	10.9b	6.7
1983	22.5a	20.6a	39.0a	6.7
1984	62.0a	78.6a	54.4a	5.2
1985	28.5b	97.5a	93.2a	6.4
1987	90.8a	87.6a	92.3a	3.3

Verschillende letters in de rijen duiden op een aangetoond significant verschil m.b.v. Duncans meervoudige reeks-toets. $P < 0.05$.

3.3 Pluktijdstip

Peren zijn, net als appels, climacterisch fruit. Ademhaling en ethyleenproductie stijgen aanzienlijk vlak voor aanvang van de rijping. Ideaal gezien zou het fruit geplukt moeten worden vlak voor het climacterium begint, maar in de praktijk wordt meestal 10 dagen voor het begin van het climacterium geplukt (Luton, 1986). Later geplukte peren zijn grover van structuur en ook rijper. De gevoeligheid voor hol en bruin neemt behoorlijk toe (Schaik, 1986). Ook uit ander onderzoek is gebleken dat peren geplukt na het optimale tijdstip een veel grotere gevoeligheid voor hol en bruin bezitten (Hansen en Mellenthin, 1962; Claypool, 1973; Blanpied, 1975; Wang, 1982; Spruit en Schouten, 1983; Chen *et al.*, 1986; Kunneman-Kooij, 1988; Polderdijk en Van Schaik, 1990).

Om het optimale pluktijdstip te bepalen zijn verscheidene methoden ontwikkeld. De beste manier om het optimale pluktijdstip te bepalen zou zijn om alle methoden in beschouwing te nemen. Hieronder volgen enkele methoden ontleend aan Wang (1982), die gebruikt worden voor de bepaling.

Eén van de gemakkelijkste methoden, die tevens goed zou voldoen, is de bepaling van de stevigheid van het vruchtvlees met behulp van een penetrometer. De stevigheid neemt af met toenemende rijping. Echter het Proefstation voor de Fruitteelt te Wilhelminadorp (PFW) heeft in het seizoen 1993-1994 ook de nadruk gelegd op deze methode, maar met onvoldoende resultaat. De grote problemen met hol en bruin konden niet voorspeld worden (De Jager, 1994, pers. meded.).

Met behulp van warmte-eenheden gedurende 6-9 weken na de volle bloei kan het optimale pluktijdstip van sommige variëteiten nauwkeurig bepaald worden. Een warmte-eenheid is de som van de dagelijkse gemiddelde temperaturen boven een zekere minimumtemperatuur. De tijd tot rijpheid neemt af als het aantal warmte-eenheden toeneemt.

Het gehalte aan oplosbare bestanddelen neemt meestal toe tijdens de rijping van peren. Het gehalte wordt beïnvloed door het weer en de positie van de vrucht aan de boom. Er treedt grote variatie op binnen een boomgaard en binnen een boom. Daarom kan het gehalte aan oplosbare bestanddelen niet op zichzelf dienen als rijpheidsbepaling.

De zetmeel-jodine test op een dwarsdoorsnede van een vrucht wordt ook gebruikt om het pluktijdstip te bepalen. De peer wordt geschikt geacht om geplukt te worden als 60% van het zetmeelgehalte resteert. Hoewel dit een gemakkelijke methode is, is de variatie van

jaar tot jaar en van peer tot peer zo groot, dat ze niet overal gehanteerd kan worden.

Er is aangetoond, dat veranderingen in optische dichtheid van de vrucht een goede aanwijzing zijn voor het vaststellen van de rijpheid. De veranderingen in optische dichtheid worden kleiner als de peer rijper is. Deze methode kan bijzonder waardevol zijn, omdat ze non-destructief is. Bovendien kan hol en bruin al in een vroeg stadium worden aangetoond. De veranderingen in optische dichtheid nemen dan namelijk toe (Wang en Worthington, 1979).

Op het PFW wordt momenteel een methode onderzocht die gebaseerd is op de Streif-formule:

$$\text{Rijpingsindex} = \frac{\text{Hardheid}}{\text{Zetmeelwaarde} \times \text{Refractometerwaarde}}$$

Uitgaande van een balans tussen kwaliteit en houdbaarheid zijn gemakkelijk te bepalen factoren gekozen, die tezamen een aanwijzing geven voor de rijpheid. Aan de hand van de indexwaarde kan de optimale oogstperiode bepaald worden. De rijpingsindex ontwikkelt zich vrijwel lineair, zodat aan de hand van slechts enkele waarnemingsmomenten de oogstperiode geschat kan worden. De optimale indexwaarde is voor ieder fruitras en iedere regio verschillend en dient empirisch vastgesteld te worden. Voor een aantal appelrassen in het Bodensee-gebied is deze methode bruikbaar gebleken (Streif, 1989).

4 OORZAKEN VAN BEWARING BIJ HET OPTREDEN VAN HOL EN BRUIN

Hol en bruin treedt meestal op in de eerste maand van de bewaring. Het is aannemelijk dat de behandeling van de peren tussen oogst en inslag en de bewaarcondities van invloed kan zijn op het ontstaan van hol en bruin. In tabel 4.1 staan de verschillende factoren en hun invloed, die na de oogst van belang zijn bij het ontstaan van hol en bruin.

Tabel 4.1. Factoren, die na oogst en tijdens bewaring van invloed zijn op hol en bruin.

Factor	Invloed op hol en bruin
vertraagde inslag	meer bederf
langzame koeling	meer bederf
hoge bewaringstemp.	meer bederf
CO ₂ in CA	hogere concentratie geeft meer bederf
O ₂ in CA	in aanwezigheid van CO ₂ geeft een lage concentratie meer bederf
O ₂ pull down	snelle pull down lijkt meer holle peren te geven

4.1 Vertraagde inslag, langzame koeling

Uit onderzoek is gebleken, dat vertraagde inslag en langzame koeling een grotere kans geven op hol en bruin (Hansen en Mellenthin, 1962). Daarom wordt geadviseerd om peren, bestemd voor gescrubde CA-bewaring, direct na de oogst in de cel op te slaan en de temperatuur te doen dalen (Schaik, 1986). Ook als de peren gelijk worden gekoeld, maar de instelling van de CA-condities enkele dagen wordt uitgesteld is er meer bederf (North, Bubb en Cockburn, 1973). Vooral bij laat geplukte peren treedt meer hol en bruin op (Polderdijk en Van Schaik, 1990). De oorzaak van het feit, dat de kans op hol en bruin toeneemt als inslag en koeling worden vertraagd, ligt bij een sterkere rijping (Kunneman-Kooij, 1988). Zoals al eerder vermeld, zijn rijpere peren vatbaarder voor hol en bruin (Schaik, 1986).

4.2 De rol van CO₂, O₂ en bewaringstemperatuur

Uit vele onderzoeken is gebleken, dat de CO₂-concentratie in de cel van grote invloed is op het ontstaan van hol en bruin. In deze paragraaf zal ingegaan worden op de rol van de CO₂-concentratie, in samenhang met O₂ en de bewaringstemperatuur. In een volgend hoofdstuk zullen mogelijke mechanismen van ontstaan van hol en bruin en de invloed van

CO₂ daarop besproken worden.

Er is aangetoond, dat een hogere CO₂-concentratie in de bewaarruimte, eventueel in combinatie met een lage O₂-concentratie, hol en bruin bevordert (Fig. 4.1 fig. 6 uit Chen et al.) (Hansen en Mellenthin, 1962; Padfield, 1971; Claypool, 1973; Yoshida et al., 1986; Bertolini et al., 1989; Garcia en Streif, 1993). Het ene ras is gevoeliger voor hol en bruin dan het andere. De bewaarcondities zijn dus rasafhankelijk (Garcia en Streif, 1993). Overigens kunnen peren ook hol en bruin worden bij afwezigheid van CO₂ in de bewaarruimte. De O₂-concentratie is dan laag, ongeveer 1%. Een verklaring is dat hol en bruin deels wordt veroorzaakt door een lage O₂-concentratie en dat de toename van holle en bruine peren een interactie is van verhoogde CO₂-concentraties en een laag O₂-gehalte (Chen et al.).

Opvallend is, dat de drempelwaarde voor CO₂-gevoeligheid hoger wordt naarmate de peren in zuidelijker streken geteeld zijn (Tabel 4.2). In paragraaf 3.1 is al aangegeven dat een koeler klimaat een grotere kans geeft op het ontstaan van hol en bruin. Een mogelijke verklaring voor de rol van de temperatuur tijdens de groei en daarmee samenhangende anatomische en biochemische processen zal in een volgend hoofdstuk uitgebreid aan de orde komen.

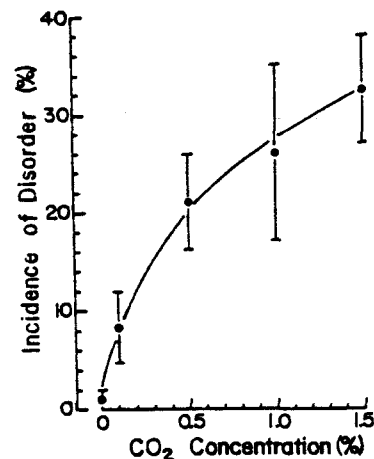


Fig. 4.1. Het gehalte holle en bruine 'Bosc' peren na 6 maanden bewaring bij $-1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in 1% O₂ met verschillende CO₂-concentraties.

Tabel 4.2. Bewaaradviezen voor Conference in verschillende Europese landen

land	T (°C)	O ₂ (%)	CO ₂ (%)
Denemarken	-0,5	2 a 3	0,5
België	-0,5	2 a 2,2	<0,8
Nederland	-1 a -0,5	2 a 3	<<1
Engeland	-1 a -0,5	2	< 1
Duitsland	-0,5	1,5	1,5 a 2
Italië	-1 a -0,5	2 a 3	2 a 4
	-1,5 a -1	6 a 7	1 a 1,5
Spanje	-1	3,5	2
Zwitserland	0	2	2
Slovenië	0	3	3

Om de ademhaling zoveel mogelijk te remmen is een zo laag mogelijke bewaringstemperatuur nodig. Hoe hoger de ademhaling des te sneller gaat de rijping en rijpere peren zijn gevoeliger voor hol en bruin. De geadviseerde bewaringstemperatuur voor peren ligt tussen 0 en -1 °C (Wang, 1982 en Schaik, 1990).

Een belangrijke kwestie is nog of er een invloed is van de O₂ pull down bij aanvang van de bewaring. Er zijn diverse aanwijzingen uit de praktijk, dat een snelle pull down leidt tot meer holle peren. In eigen onderzoek is dat niet bevestigd (Polderdijk en Van Schaik, 1990). Echter een heel lange periode, voordat de lage O₂ werd gerealiseerd was in dit onderzoek niet opgenomen.

4.3 Naoogstbehandelingen die hol en bruin verminderen

Meheriuk (1990) heeft Bartlett peren onderworpen aan naoogstbehandeling met als doel het optreden van hol en bruin te verminderen. In tabel 4.3 staan de verschillende behandelingen vermeld met daarbij het percentage hol en bruin.

Het gunstige effect van behandelingen met calcium kan het gevolg zijn van vertraagde rijping. Onderzoek door anderen had overigens geen indicatie gegeven voor een gunstig effect. Onderzoek met hoge CO₂-concentraties met Anjou peren had al aangegeven dat de kwaliteit beter bewaard bleef, maar boven 26% treedt schade op. Overigens is het zeer interessant, dat peren tijdens CA-bewaring een veel lagere drempelwaarde hebben voor CO₂, terwijl extreem hoge CO₂-concentraties voorafgaande aan de bewaringsperiode een

heilzame werking hebben. Het gunstige effect van DPA (diphenylamine) werd eerder bereikt bij Granny Smith appels, maar hier ging het om uitwendige bruinverkleuring. Bij de behandelingen met hoge temperaturen worden rijpingsenzymen mogelijkterwijs uitgeschakeld. Dit fenomeen is bekend bij appels.

Tabel 4.3. Naoogstbehandelingen van Bartlett peren en bijbehorende percentages hol en bruin na bewaring bij 0 °C gedurende 60 dagen.

Behandeling	Hol en bruin (%), na 7 dagen bij 20 °C
Controle	53,2 a
2% CaCl ₂ dip	16,4 bc
4% CaCl ₂ dip	11,8 c
10 dagen 15% CO ₂	7,1 c
2000 µl L-1 DPA dip (DPA=diphenylamine)	31,1 b
2 d bij 38 °C	16,2
4 d bij 38 °C	11,7
6 d bij 38 °C	6,3
2 d bij 44 °C	24,0 bc

a-c duiden op significante verschillen bepaald m.b.v. Duncan's meervoudige reekstest. P<0,05.

5 VERKLARINGEN VOOR DE ROL VAN FACTOREN BETROKKEN BIJ HOL EN BRUIN

In de voorgaande hoofdstukken is het verschijnsel hol en bruin beschreven en zijn de factoren die betrokken zijn bij het ontstaan opgesomd. Wat tot nu toe buiten beschouwing is gebleven, zijn de veranderingen in de peer als gevolg van het optreden van die factoren. Waarom is een peer het ene seizoen wel vatbaar voor hol en bruin en het andere niet? Waarom ontstaat hol en bruin in de eerste maand van de bewaring en daarna niet meer? Verandert de samenstelling van membranen of celwanden? Vindt er ophoping plaats van toxische stoffen als gevolg van veranderde glycolyse?

Dit hoofdstuk zal nader ingaan op bovenstaande vragen en ze zo mogelijk beantwoorden. Uit de niet te beantwoorden vragen zullen dan aanwijzingen voor onderzoek volgen.

5.1 Bruining

Het bruiningproces treedt pas op als aan alle voorwaarden voor het ontstaan is voldaan en het is een enzymatische reactie. Phenolen worden geoxideerd door polyphenoloxidase (PPO) (Zhou en Feng, 1991). PPO is een membraangebonden enzym (Spanos en Wrolstad, 1992). In peren vormen hydroxykaneelzuurderivaten, vooral chlorogeenzuur, en flavanolen de twee grootste groepen phenolen. De eerste groep vormt oplosbare bruine pigmenten en de tweede groep onoplosbare (Amiot *et al.*, 1993).

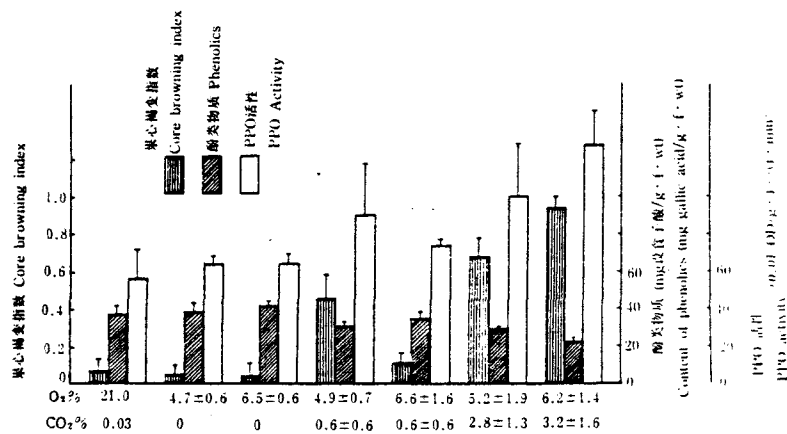


Fig. 5.1. Bruiningsindex, gehalte aan phenolen en PPO-activiteit van klokhuisweefsel van ya-li peren gedurende 50 dagen bewaard bij verschillende condities (Chen *et al.*, 1991).

Volgens Chen *et al.* (1991) nemen in ya-li peer (*Pyrus Bretschneideri* Rehd.) bruiningsindex en PPO-activiteit toe met de CO₂-concentratie van de atmosfeer waarin de peren bewaard worden (Fig. 5.1). Er bestaat een rechtlijnig verband tussen klokhuisbruiningsindex en PPO-activiteit (Fig. 5.2). Overigens treedt bruining pas op als membraanstructuren dusdanig zijn veranderd, dat PPO in contact komt met phenolen (Spanos en Wrolstad, 1992). De invloed van CO₂, onder andere op dit proces zal uitvoerig behandeld worden in de volgende paragraaf.

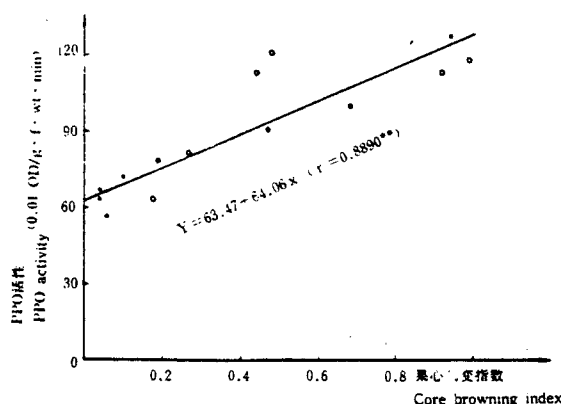


Fig. 5.2. Het verband tussen klokhuisbruiningsindex en PPO-activiteit in ya-li peer (Chen *et al.*, 1991).

5.2 De invloed van CO₂ en O₂ op het respiratoir metabolisme en op diffusie

Ondanks veel onderzoek naar de bepaling van optimale CA-condities is slechts een klein deel gericht geweest op de werking van verlaagde O₂- en verhoogde CO₂-concentraties. Hol en bruin kan voortkomen uit metabolische veranderingen, zoals biochemische veranderingen geassocieerd met het respiratoir metabolisme. CA-condities kunnen direct of indirect invloed hebben op deze veranderingen (Kader, 1989).

Verlaagde O₂- dan wel verhoogde CO₂-concentraties verlagen de mate van ademhaling van het produkt (Claypool, 1973; Kader, 1989). Hierdoor kan het climacterium lange tijd uitgesteld worden (Kader, 1989). Ook in onderzoek uitgevoerd door ATO-DLO kon het climacterium van Conference peren, geogst op het optimale tijdstip, uitgesteld worden (van Schaik, 1994, pers. meded.). Bij O₂-gehaltes lager dan 1% of CO₂-gehaltes hoger dan 20% kan ophoping ontstaan van ethanol en acetaldehyde, wat duidt op een verschuiving in de richting van anaerobe ademhaling (Kader, 1989).

Produktfactoren, zoals vruchtgrootte, rijpheidsfase en fysiologische leeftijd als wel omgevingsfactoren, zoals temperatuur, relatieve vochtigheid en atmosferische samenstelling beïnvloeden gasuitwisseling in peren. Vruchten bewaard bij 0 °C hebben, volgens Kader (1989), veel hogere diffusieweerstanden voor CO₂ en ethyleen dan vruchten bewaard bij hogere temperaturen. Overigens maakt de auteur niet duidelijk of het hier gaat om diffusieweerstanden van de gehele vrucht, de schil of het vruchtvlees. Het betekent hoe dan ook dat de inwendige CO₂-concentratie ook hoger is. Lagere externe O₂-

niveaus resulteerden in lagere diffusieweerstanden voor CO₂ en hogere voor ethyleen. Verhoogde CO₂-concentraties hadden hogere diffusieweerstanden voor zowel ethyleen als O₂ tot gevolg, hetgeen betekent, dat O₂ minder makkelijk doordringt tot het inwendige van de vrucht (Kader, 1989).

Bij Conference peren is geconstateerd, dat de CO₂-productie in de eerste 4 dagen van de bewaringsperiode een piek vertoont (Fig. 5.3). Dit kan duiden op een aanpassingsfase van de peren aan de veranderde atmosferische omstandigheden en aan de temperatuur (van Schaik, 1994, pers. meded.). Verhoogde CO₂-concentraties kunnen enkele intermediären en enzymen uit de Krebs-cyclus beïnvloeden. Zo wordt de werking van barnsteenzuurdehydrogenase, een mitochondriaal enzym, geremd en hoopt barnsteenzuur zich op (Frenkel en Patterson, 1973). Tevens treedt er een schadelijke stijging van de zuurtegraad op (Frenkel, 1977). Bovendien vinden onder CA-condities ultrastructurele veranderingen plaats van mitochondria, waaronder afname in grootte, fragmentatie en vormverandering (Frenkel en Patterson, 1973). Deze veranderingen lijken op de veranderingen, die verband houden met veroudering en afleving van de vrucht, maar deze processen vinden plaats in peren, die nog groen zijn en in de pre-climacteriële fase (Frenkel, 1977).

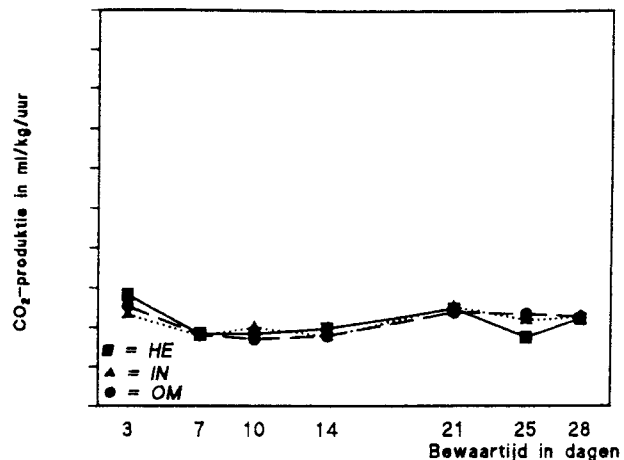


Fig. 5.3. CO₂-productie van diverse herkomsten Conference peren tijdens de beginfase van de CA-bewaring.

De ultrastructuur van membranen als mogelijke plaats van schadelijke CO₂-activiteit wordt versterkt door onderzoek, dat aantoonde dat bicarbonaat ionen in evenwicht met gasvormig CO₂ de grensvlakspanning van een water-lipide grenslaag kunnen veranderen. De veranderde grensvlakspanning van lipide-lagen zou de mogelijkheid van lipide bevattende membranen om de structuur te handhaven kunnen ontregelen, waardoor de membranen vernietigd worden (Frenkel en Patterson, 1977).

Verder kunnen bicarbonaat ionen, ontstaan als gevolg van hoge CO₂-spanningen onoplosbare calciumcarbonaat zouten vormen. Op die manier is calcium niet meer beschikbaar voor de handhaving van de membraanstructuur, waardoor de ultrastructuur kapot gaat (Frenkel en Patterson, 1977).

Het remmende effect van CO₂ op de activiteit van barnsteenzuurdehydrogenase en waarschijnlijk ook van andere mitochondriale enzymen (Kerbel *et al.*, 1988) kan leiden tot een verminderd verloop van ademhalingsmetabolieten. Deze metabolische toestand kan resulteren in verminderd productie van ATP of essentiële intermediaire metabolieten en daarom in abnormaal metabolisme. Daarbij komt de afbraak van de membraanstructuur en -functie als gevolg van CO₂, welke kan leiden tot verlies van controle over het metabolisme. Het is niet duidelijk of de veranderingen in enzymactiviteit en membraanfunctie interactief zijn. Hoe dan ook, de twee processen kunnen gecombineerd leiden tot het verdwijnen en verstoren van de normale functies in weefsels, resulterend in metabolische afbraak (Frenkel en Patterson, 1977).

Bij Bartlett peren, die onder anaerobe omstandigheden bewaard werden (0,25% O₂), hoopten ethanol en acetaldehyde zich op. Nadat de peren werden blootgesteld aan normale lucht daalden de gehalten tot normaal of zelfs daaronder. De peren vertoonden een hogere activiteit van pyruvaatdecarboxylase (PDC) en alcoholdehydrogenase (ADH), die ook hoog bleef na een aantal dagen in lucht. Er werden 3 isozymen van ADH gevonden in tegenstelling tot slechts 1 bij peren van de controle, die in lucht bewaard waren. Deze waarnemingen duiden erop, dat pre-climacteriële peren èn minder gestressed zijn onder extreem lage O₂-spanningen èn zich in de nafase makkelijker herstellen dan peren van een meer gevorderde fysiologische leeftijd. Verhoogde ademhalings- en enzymatische activiteit in de nafase en de werking van nieuwe ADH-isozymen lijken deel uit te maken van dit herstellingsproces (Nanos *et al.*, 1992). De ethanol en acetaldehyde verdwijnen dus minder snel, waardoor ze langere tijd schadelijk kunnen zijn.

De gasuitwisseling tussen de vruchten en de omringende atmosfeer gebeurt via intercellulaire ruimten en de schil. De grootte van de intercellulaire ruimten alswel de ademhalingsintensiteit maken uit hoe hoog de concentraties van gassen zijn in de vrucht. Hoewel de ademhaling van peren en appels ongeveer gelijk is, is de porositeit van peren ongeveer 20 keer zo klein. De porositeit van Conference peren is slechts 1,6% (Ohse-Nguyen, 1978; Schulz, 1990). Er is vastgesteld, dat de grootte van de cellen recht evenredig is met de grootte van de vrucht. Daaruit kan geconcludeerd worden dat de beslissing over de uiteindelijke grootte van de vrucht niet in de celstrekingsfase valt. Hoe beter de nutriëntenvoorziening, des te meer strekken individuele cellen zich. Het wordt

hierdoor ook begrijpelijk, dat vruchtvlees van peren van hetzelfde ras een lossere structuur heeft naar gelang de vruchtgrootte toeneemt. Overigens bestaat er geen verband tussen het volume dat wordt ingenomen door de intercellulaire ruimten en de celgrootte van individuele vruchten (Ohse-Nguyen, 1978).

Naast de intercellulaire ruimten spelen de opbouw en de structuur van de schil een belangrijke rol bij de gasuitwisseling. Vanwege de structuur van de chemische en fysische gesteldheid van de vruchtschil en vanwege de ademhalingsintensiteit stelt zich in de vrucht een andere gassenstelling in als in de omringende atmosfeer (Ohse-Nguyen, 1978).

De schil is als volgt opgebouwd. Onder de cuticula ligt de epidermis en daaronder de subepidermis, welke bestaat uit 4 tot 10 cellagen. De epidermis en subepidermis vormen de eigenlijke schil (Fig. 5.4) (Ohse-Nguyen, 1978).

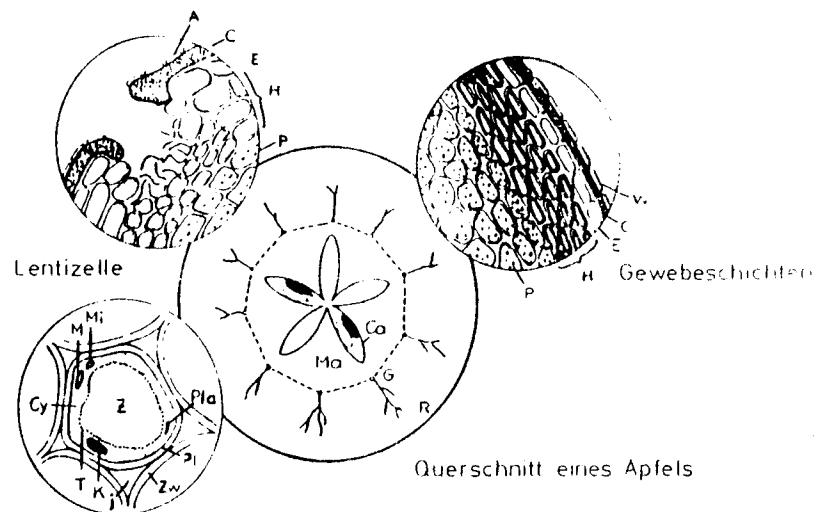


Abb. 1: Gewebearten im Apfel und Aufbau einer Parenchymzelle (nach SCHULZ, 1969; C - Kutikula; E - Epidermis; H - Hypodermis; I - Interzellularräume; I_k - Zellkern; M - Mitochondrien; Mi - Mikrosomen; W - Wachsschicht; Z - Zellvakuole; Zw - Zellwände)

Fig. 5.4. Weefselsoorten in een appel en de opbouw van een parenchymcel (Ohse-Nguyen, 1978).

De gesteldheid van de cuticula is van doorslaggevende invloed op de intensiteit van gasuitwisseling bij vruchten. Volgens de diffusiewet van Fick verhoudt de gasuitwisseling zich als het verschil tussen de inwendige concentratie van een gas (C_i) en de uitwendige

concentratie (Cu) vermenigvuldigd met een constante (K):

$$\text{Gasdiffusie} = K(C_i - C_u).$$

De constante is afhankelijk van de weerstand van de schil en de viscositeit van het gas in de intercellulaire ruimten. De doorlaatbaarheid van verschillende cellagen van de vruchtschil is niet gelijk (Ohse-Nguyen, 1978).

De cuticula en de epidermis zijn bijvoorbeeld goed doorlaatbaar voor waterdamp en CO₂, maar voor O₂ zeer moeilijk doorlaatbaar. Daarentegen laten lenticellen O₂ makkelijker en sneller door dan CO₂. De oplosbaarheid van CO₂ en O₂ in celsap is ook verschillend. Bij 0 °C lost 35 keer zoveel CO₂ op als O₂ (Ohse-Nguyen, 1978).

Zeichenerklärungen :

- o + 15°C
- + 18°C
- ▲ + 21°C
- x + 24°C
- - - O₂ bei + 1°C
- - - O₂ bei Reifung
- CO₂ bei + 1°C
- CO₂ bei Reifung

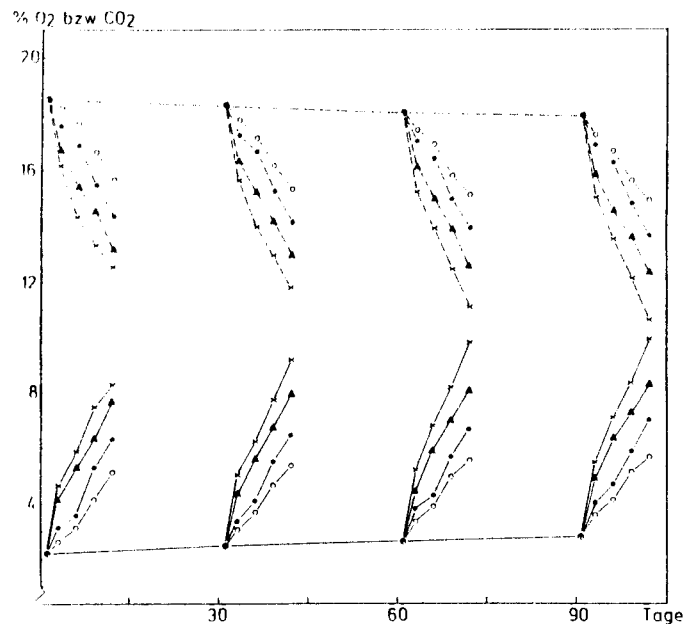


Fig. 5.5. CO₂- en O₂-concentraties in de inwendige atmosfeer van Conference peren bij 1 °C als wel bij de narijping (Ohse-Nguyen, 1978).

Fig. 5.5 laat de inwendige atmosfeer van Conference peren zien, bewaard in normale lucht en gemeten bij 1 °C en tijdens de narijplingsfase bij verschillende temperaturen. De CO₂-concentratie neemt sterker toe en de O₂-concentratie meer af met het toenemen van de fysiologische leeftijd dan bij andere peren. Hetzelfde geldt voor de CO₂- en O₂-concentraties in het celsap. Dit betekent dat het systeem van de intercellulaire ruimten meer belast wordt (Ohse-Nguyen, 1978).

5.3 Veranderende structuur van membranen als gevolg van lagere temperaturen tijdens de groeiperiode

Wat ook een oorzaak zou kunnen zijn van het ontstaan van hol en bruin is de veranderende structuur van membranen als gevolg van lagere temperaturen tijdens de groeiperiode. In 3.1 werd al vermeld, dat de kans op hol en bruin tijdens de bewaring toeneemt na een koel groeiseizoen.

Celmembranen vormen een heterogeen systeem van lipiden en eiwitten welke tezamen een dynamisch evenwicht vormen. De lipiden bevinden zich in een dubbellaag gel fase, waarbij de polaire fosfolipide moleculen aan de extracellulaire en intracellulaire kant geplaatst zijn. Aan de binnenzijde bevinden zich de apolaire vetzuurketens, die in normale toestand vrijwel verzadigd zijn. Lipide samenstelling en omgevingstemperatuur bepalen de graad van vloeibaarheid binnen het membraan en deze, op haar beurt, beïnvloedt de diffusie van membraaneiwitten (Pringle en Chapman, 1981).

Als antwoord op lage temperaturen verhogen veel planteweefsels de graad van niet-verzadiging van de membraanvetzuren. Op deze manier lijkt een mechanisme te zijn om membraanviscositeit te reguleren. De veranderde samenstelling van membraanvetzuren kan in aardappelknollen leiden tot een verhoogde membraanpermeabiliteit tijdens bewaring bij lage temperaturen (Spychalla en Desborough, 1990).

De samenstelling van membranen, met name van de lipide component, kan dus veranderen als antwoord op omgevingsfactoren, zoals temperatuur, water stress etc. zowel gedurende groei, ontwikkeling als veroudering van de cel. Het heet dan, dat er fasescheiding optreedt van de membraanbestanddelen. Bij veel membranen van hogere planten en bacteriën is deze fasescheiding geconstateerd. Als de omgevingsfactoren te sterk wijzigen kan er een kritiek punt van fasescheiding optreden. Voorbij dit punt zullen de membranen zich niet meer herstellen. Dit kritieke punt is niet onder alle omstandigheden gelijk. Zo is bij de bacterie *Anacystis nidulans* gevonden, dat indien deze gegroeid is bij verschillende temperaturen ook de kritieke temperatuur, waarbij definitieve fasescheiding optreedt verschillend is (Quinn, 1988).

Het is denkbaar, dat bij peren iets vergelijkbaars optreedt als bij voornoemde bacterie. Indien de temperatuur tijdens groei en ontwikkeling van de vrucht lager is dan normaal, kan het zo zijn, dat de peer tijdens de bewaring een hogere kritieke temperatuur heeft, waarbij fasescheiding definitief is en dus membraanbeschadiging optreedt. Ook is het mogelijk, dat de graad van verzadiging van de vetzuurketens verandert, zoals bij

aardappelknollen, waardoor de permeabiliteit van membranen zich wijzigt.

6 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN VOOR ONDERZOEK

Het is tot nu toe onduidelijk welke teeltfactoren in welke mate bepalend zijn voor de vatbaarheid van peren voor het ontstaan van hol en bruin in CA-bewaring. In de nabije toekomst kan onderzoek gedaan worden naar de vaststelling van de kwantitatieve en kwalitatieve waarde van teeltfactoren. Hierbij kan gemanipuleerd worden met dracht, nutriëntensamenstelling, groeiregulatoren etc. in combinatie met empirische bewaarexperimenten.

Het is van belang, dat het ontstaan van cq. de vatbaarheid voor hol en bruin voorspeld kan worden, zodat tijdig maatregelen genomen kunnen worden. Tevens dient een nauwkeurige voorspellingsmethode van het optimale pluktijdstip ontwikkeld te worden.

Naast de voorspelling is het ook van belang om hol en bruin te kunnen vaststellen. Hiervoor moet een non-destructief detectiesysteem ontwikkeld worden, welke gebaseerd kan worden op Röntgen-imaging, Vibration Response Measurement of optische dichtheidsbepaling.

Het is nog steeds niet duidelijk welke chemische, fysische, morfologische en anatomische veranderingen de peer ondergaat. Niet alleen tijdens de groei, maar ook tijdens de bewaring. Hiertoe dienen hol en bruin geïnduceerde weefsels onderworpen te worden aan microscopische en biochemische analyses, om op cellulair niveau de processen die hol en bruin veroorzaken te verklaren. Tevens zullen gecombineerde diffusie- en respiratiemetingen onder diverse CA-condities gedurende het bewaarseizoen uitgevoerd moeten worden. De aldus te verkrijgen resultaten en de ontwikkelde kennis van bepalende fysiologische en biochemische factoren kunnen het onderzoek naar een CA-bewaarsysteem voeden, dat het optreden van hol en bruin voorkomt dan wel minimaliseert.

Het onderzoek is dusdanig veelomvattend, dat het meerjarig zal zijn en multidisciplinair van opzet. Daarom zal het onderzoek gefaseerd worden en voor het seizoen 1994-1995 ziet het onderzoeksveld er als volgt uit:

- anatomie en morfologie van aangetast weefsel bestuderen
- optreden anaerobische ademhaling en diffusie van CO₂ en O₂ bepalen in relatie met ethanol, ADH, acetaldehyde en eventueel lactaat
- ontwikkeling van een nondestructieve meetmethode van hol en bruin
- ontwikkeling van een 'veilig' bewaarsysteem.

LITERATUUR

- Amiot, M.J., S. Aubert and J. Nicolas, 1993. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple and pear cultivars at maturity. *Acta Horticulturae* 343: 67-69.
- Bazhuryanu, N.S., L.T. Gaikovskaya, L.M. Prokhorova, 1989. The relationship between pear chemical composition during long-term storage and picking dates and growing conditions. *Izvestia Akademii Nauk Moldavskoi SSR, Seriya Biologicheskikh i Kimicheskikh Nauk*, No. 5.: 19-23.
- Bertolini, P., G.C. Pratella, G. Tonini and G. Gallerani, 1989. Physiological disorders of 'Abbé Fetel' pears as affected by low-O₂ and regular CA storage. In: *Technical innovations in freezing and refrigeration of fruits and vegetables*. Paris, France: 61-65.
- Blanpied, G.D., 1975. Pithy brown core occurrence in 'Bosc' pears during controlled atmosphere storage. *J. Amer. Hort. Sci.* 100(1): 81-84.
- Bramlage, W.J., M. Drake and W.J. Lord, 1980. The influence of mineral nutrition on the quality and storage performance of pome fruits grown in North America. *Acta Horticulturae*, 92: 29-39.
- Chen, K.S., L. Yu and S.T. Zhou, 1991. A preliminary study on possible mechanism of CO₂ injury of 'Ya-Li' pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) during CA storage. *Scientia Agricultura Sinica* 24(5): 83-88.
- Chen, P.M., T. Yoshida and D.M. Borgic, 1985. Effect of CO₂ concentration on ethylene production, organic acid retention, and internal disorders of pear fruit in low O₂ storage. In: *Controlled atmospheres for storage and transport of perishable agricultural commodities*. North Carolina, USA: 135-141.
- Chen, P.M., D.M. Borgic, D. Sugar and W.M. Mellenthin, 1986. Influence of fruit maturity and growing district on brown core disorder of 'Bartlett' pears. *Hort. Science*, Vol. 21(5): 1172-1173.
- Claypool, L.L., 1973. Further studies on controlled atmosphere storage of 'Bartlett' pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98(3): 289-293.
- Frenkel, C. and M.E. Patterson, 1973. Effect of carbon dioxide on activity of succinic dehydrogenase in 'Bartlett' pears during cold storage. *HortScience* 8: 395-396.
- Frenkel, C. and M.E. Patterson, 1977. Metabolic effects of CO₂ in Bartlett pears. In: Dewey, D.H. (Ed.). *Controlled atmospheres for the storage and transport of perishable agricultural commodities*. Michigan, USA: 108-115.
- Garcia, J.M. und J. Streif, 1993. Qualität und Haltbarkeit von Birnen. 1. Einfluß von CA- bzw. ULO-Lagerbedingungen. *Gartenbauwissenschaft*, 58(1)S.: 36-41.
- Hansen, E. and W.M. Mellenthin, 1962. Factors influencing susceptibility of pears to

- carbon dioxide injury. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 80: 146-155.
- Kader, A.A., 1989. Mode of action of oxygen and carbon dioxide on postharvest physiology of 'Bartlett' pears. *Acta Horticulturae* 258: 161-167.
- Kerbel, E.L., A.A. Kader and R.J. Romani, 1988. Effects of elevated CO₂ concentrations on glycolysis in intact 'Bartlett' pears. *Plant Physiol.* 86: 1205-1209.
- Kunneman-Kooij, W., 1988. Inwendige kwaliteitsproblemen bij Conference. *Fruitteelt* 78(20): 12-13.
- Luton, M., 1986. the safekeeping of pears in store. *Grower*, October 16th: 34-35.
- Luton, M.T. and D.A. Holland, 1986. The effects of preharvest factors on the quality of stored Conference pears. I. Effects of orchard factors. *Journal of Horticultural Science* 61(1): 23-32.
- Luton, M.T., M.A. Perring and K. Pearson, 1980. Effects of pre-harvest factors on the storage quality of pears. *Rep. E. Malling Res. Stn. for 1979*: 152-153.
- Meheriuk, M., 1990. Effects of diphenylamine, gibberellic acid, daminozide, calcium, high CO₂ and elevated temperatures on quality of stored Bartlett pears. *Can. J. Plant Sci.*, July(70): 887-892.
- Nanos, G.D., R.J. Romani and A.A. Kader, 1992. Metabolic and other responses of 'Bartlett' pear fruit and suspension-cultured 'Passe Crassane' pear fruit cells held in 0.25% O₂. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117(6): 934-940.
- North, C.J., M. Bubb, J.T. Cockburn and M. Knee, 1973. Controlled atmosphere storage of Conference pears - Effect of storage temperature on Beuré Hardy pears. *Rep. E. Malling Res. Stn.* 1972: 107-108.
- Ohse-Nguyen, P.K., 1978. Einfluß der Temperatur auf den Reifungsverlauf sowie auf die Kohlendioxid- und Sauerstoffkonzentrationen in der inneren Atmosphäre und im Zellsaft von Birnen. Bonn, Germany. 94 pp.
- Padfield, C.A.S., 1971. Pear varieties in low carbon dioxide and low oxygen controlled atmospheres. *New Zealand Journal of Science* 14: 89-96.
- Pierson, C.F., M.J. Ceponis, and L.P. McCulloch, 1971. Market diseases of apples, pears and quinces. *U.S. Dept. Art. Handb.* 376 pp.
- Polderdijk, A. en A. van Schaik, 1990. Hol en bruin bij langdurig bewaarde Conference peren in een scrubcel. *Fruitteelt* 80(36): 18-19.
- Porritt, S.W., M. Meheriuk and P.D. Lidster, 1982. Postharvest disorders of apples and pears. Ottawa, Canada.
- Pringle, M.J. and D. Chapman, 1981. Biomembrane structure and effects of temperature. In: Morris, G.J. and A. Clarke (Eds.). *Effects of low temperatures on biological membranes.* London, UK: 21-37.
- Quinn, P.J., 1988. Effects of temperature on cell membranes. In: ?. UK: 237-258.
- Raese, J.T., 1989. Physiological disorders and maladies of pear fruit. *Horticultural reviews*,

volume 11. Portland, USA.

- Schaik, A.C.R. van, 1986. Bewaring van Conference: onderzoeksresultaten 1977-1985. *Fruiteelt* 76(23): 694-696.
- Schaik, A.C.R. van, 1990. Bewaarziekten en -afwijkingen. In: *De peer*. PFW, Nederland: 257-262.
- Schulz, H., 1990. Internationaler Stand und Trend der CA-Lagerung von Kernobstfrüchte. In: *Verslag van deelname aan het CA-Lagersymposium Obst; Wernigerode, DDR, 5-12 november 1989*: 8-9.
- Sharples, R.O., 1980. The influence of orchard nutrition on the storage quality of apples and pears grown in the United Kingdom. *Acta Horticulturae*, 92: 17-28.
- Spanos, G.A. and R.E. Wrolstad, 1992. Phenolics of apple, pear, and white grape juices and their changes with processing and storage - a review. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1478-1487.
- Spruit, G. en S.P. Schouten, 1983. Bewaring van Conference. *Fruiteelt* 36: 952-953.
- Spychalla, J.P. and S.L. Desborough, 1990. Fatty acids, membrane permeability, and sugars of stored potato tubers. *Plant Physiol.* 94: 1207-1213.
- Stow, J., 1984. The controlled atmosphere storage of Conference pears. *Journal of Horticultural Science* 59(4): 507-513.
- Streif, J., 1989. Reifeverhalten von Äpfeln mit unterschiedlichem Erntetermin. ? : 72-80.
- Wang, C.Y., 1982. Fruit maturity, harvesting, storage, and marketing. In: *Zwet, T. van der, and N.F. Childers, 1982. The pear, cultivars to marketing*. pp. 431-443.
- Wang, C.Y. and J.T. Worthington, 1979. A nondestructive method for measuring ripeness and detecting core breakdown in 'Bartlett' pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104(5): 629-631.
- Yoshida, T., D.M. borgic, P.M. Chen and E.A. Mielke, 1986. Changes in ethylene, acids, and brown-core development of 'Bartlett' pears in low-oxygen storage. *HortScience* 21(3): 472-474.
- Zhou, H.W. and X. Feng, 1991. Polyphenol oxidase from Yali pear (*Pyrus bretschneideri*). *J. Sci. Food Agric.* 57: 307-313.