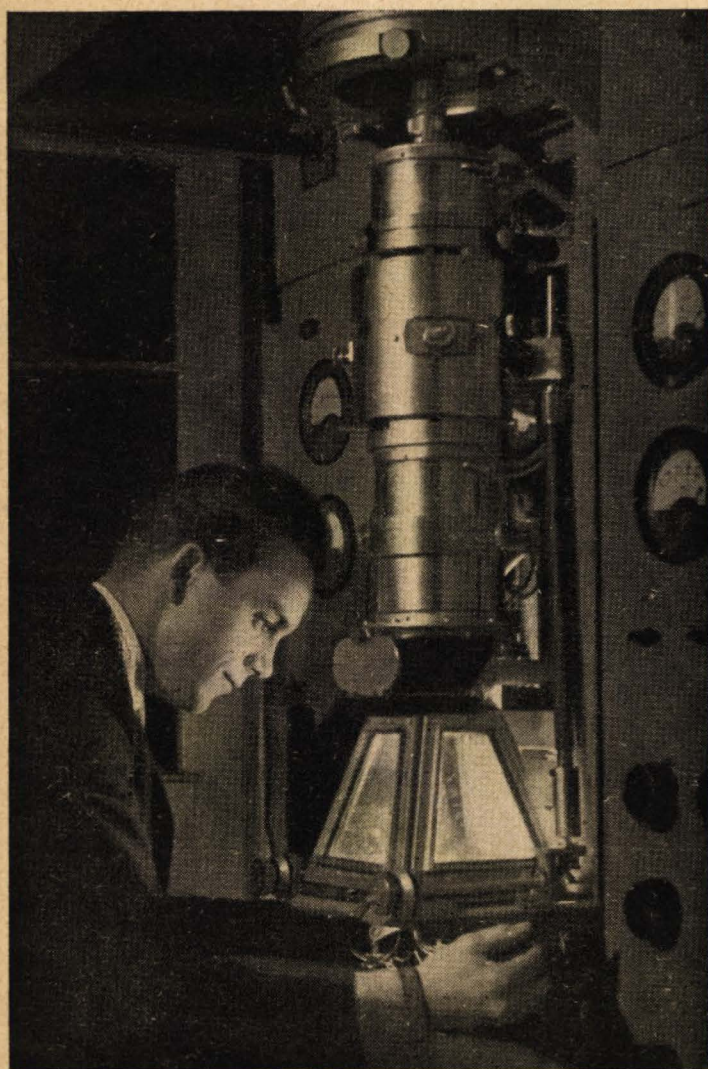


TNO *nieuws*

ORGAAN VAN DE ORGANISATIE VOOR TOEGEPAST-NATUURWETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK

Nr 71



*Electronenmicroscopie; zie ons artikel
op blz. 71 vg.
(Foto: J. A. Schuchmann.)*

Redacteur: Th. J. van Kasteel, Koningskade 12, 's-Gravenhage, tel. 776090
Administratie: Fa A. H. Kruyt, Groothertoginnelaan 28, Bussum, tel. 6155

INHOUD: BLZ. 101





Afb. 2. In de perenboomgaard (*Triomphe de Vienne*). Foto: Afd. Voorlichting Ministerie van Landbouw, Visserij en Voedselvoorziening.

evenwel te lang bij lage temperatuur gehouden (K''), dan wordt bij de narijping niet meer de optimum-rijpheid bereikt (N''). Evenmin is dat het geval, wanneer de vruchten te vroeg (B') of te laat (niet aangegeven) geplukt worden. In geen geval wordt dan na koelhuisbewaring meer een optimale narijping verkregen (P).

Juist waar de marge rond B , dus bij het plukken voor koelhuisbewaring, zoveel kleiner is dan die rond A , stapelen bij het plukken gemaakte fouten zich bij de koelhuisbewaring opeen. En daar komt nog iets bij. Wij schreven, dat de ontwikkeling bij lage temperatuur vertraagd voortging; inderdaad, maar feitelijk zouden wij aan „vertraagd” moeten toevoegen „en gewijzigd”. De kunst van de bewaring bij lage temperatuur bestaat daarin, de afwijkingen van de normale ontwikkeling zo gering mogelijk te doen zijn. Die afwijkingen van de normale ontwikkeling zullen later nog wel even ter sprake komen; nu is het al wel duidelijk dat, hoe nauwkeuriger men op de hoogte is van de physiologie van de normale ontwikkeling, hoe groter de kans wordt om de fouten en daarmee de oorzaken der afwijkingen te leren kennen.

*

Wat is er van de normale ontwikkeling van peren bekend?

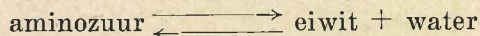
Afgezien van een tamelijk kort durend tussenstadium, waarin een reeks frappante, vrij plotseling optredende veranderingen in de physiologie der vruchten plaats vinden, kunnen in die ontwikkeling twee perioden onderscheiden worden. Zij zijn elk gekenmerkt door een over het algemeen stationnaire toestand; stationnair dan in de zin van een standvastig veranderen. (Ir. Straub zou spreken van twee achtereenvolgende perioden van verschillende harmonie, gescheiden door een periode van harmoniestoring.)

Eerste ontwikkelingsperiode.

In de eerste periode, vanaf de bevruchting tot in de tweede helft van Juni, groeit de vrucht uitsluitend door een intensieve celdeling. Trouwens, alle levensverrichtingen verlopen met een grote intensiteit in deze periode. De via de steel aangevoerde stoffen (suikers, zouten en stikstofverbindingen) worden omgezet in celwandstoffen, maar vooral in eiwitten. Kenmerkend voor deze periode is de zeer intensieve ademhaling. Alle aangevoerde suikers worden verademd of

getransformeerd; de toename van de hoeveelheid suikers in de vrucht is, ondanks de sterke aanvoer, slechts zeer gering. Vooral Kidd en West in Engeland hebben zich met deze ademhaling en suikeromzetting bezig gehouden.

Over de eiwitvorming nog iets naders. Eiwitten ontstaan uit aminozuren, nemen wij nu maar aan, en dit gebeurt in een evenwicht:



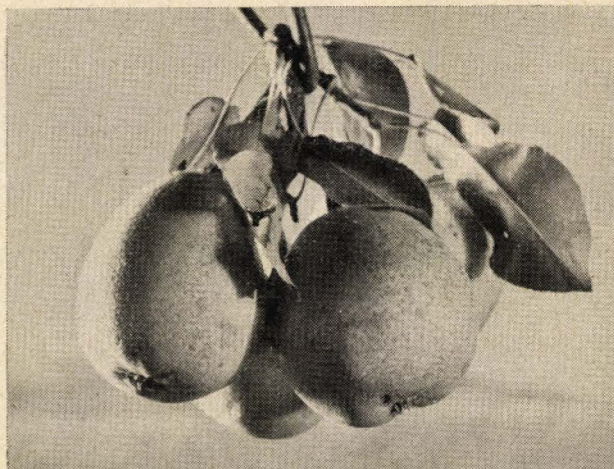
De snelheid van instelling van dit evenwicht wordt beheerst door het met glutathion geactiveerde ferment papainase. Het evenwicht ligt bij redoxpotentialen kleiner dan 300 millivolt naar de aminozuurkant en bij potentialen tussen 400 en 550 millivolt naar de eiwitzijde. Van de redoxpotentialaal bij deze vruchten weten wij niet veel. Wel is men geneigd te veronderstellen, dat deze in de jonge vruchten vrij hoog zal zijn: op grond van de sterke verkleuring, die aangesneden weefsel in dit stadium vertoont.

Nu stelt men zich veelal voor, dat er via het mechanisme der transaminering een koppeling plaats vindt van koolhydraatcyclus en eiwitsynthese. De zg. Krebs-cyclus, een voorstellingswijze van de koolhydraatcyclus, komt hierop neer, dat een reeks tri- en di-carbonzuren door decarboxylering en waterstof-overdracht in elkaar overgaan om tenslotte via een condensatie het uitgangsproduct weer terug te vormen. Triose wordt regelmatig in de cyclus ingevoerd en feitelijk wordt alleen pyrodruivenzuur verbrand. Door transamineringsreacties kunnen nu de in de cyclus voorkomende ketozuren in aminozuren overgaan. Zoals wij daarstraks zagen, ontstaan dan hieruit weer de eiwitten en wij zien aldus de beide cycli en daarmee de afzonderlijk waargenomen feiten tot één mechanisme samensmelten.

Tweede ontwikkelingsperiode.

In de tweede periode, van half Juli tot eind Augustus, is de situatie duidelijk anders. De intensiteit der levensverrichtingen is duidelijk geringer; het is of de ontwikkeling op een lager niveau is ingesteld. Celdelingen vinden niet meer plaats; de groei geschiedt uitsluitend door celstrekking. De ademhalingsintensiteit is veel geringer en, zoals nu begrijpelijk zal zijn, ook de eiwitsynthese. Aangesneden weefsel verkleurt veel minder snel en sterk dan in den beginne. De aangevoerde suikers worden lang niet volledig meer verademd of getransformeerd.

Wij krijgen hier in één samenhang: een oplopen van het suikergehalte, gevolgd door een gedeeltelijke omzetting in zetmeel (dat later weer wordt afgebroken) en de vorming van met sap gevulde vacuolen: juist doordat, wagen wij te zeggen, de eiwitvorming de celvergroting niet



Afb. 3. Peren op tak (*Zoutewelle*). Foto: Afd. Voorlichting Min. van Landbouw, V. en V.

meer kan bijhouden. Resultaat: de vruchten worden zoet en sappig, maar blijven nog hard.

De rijping.

Aan het einde van deze periode worden de peren geplukt en onder voor de rijping gunstige omstandigheden van temperatuur en vochtigheid gebracht. Voor die rijping zijn drie verschijnselen in hoge mate kenmerkend:

1. De snelle stijging van de ademhalingsintensiteit, welke in navolging van Kidd en West de „climacteric rise in respiration” wordt genoemd.
2. De productie van aethyleen en andere vluchtige stoffen, waarvan sommige mede verantwoordelijk zijn voor het „aroma”, dat zich in deze dagen ontwikkelt.
3. Het zachtworden van de peren. Dit berust voor een belangrijk deel op de overgang van het onoplosbare pectine der celwanden in de oplosbare vorm; de middenlamel, de kitstof der cellen, lost op.

Deze pectine-overgang komt nog nader ter sprake. Maar eerst willen wij trachten te komen tot een samenvattend beeld van de rijping, waarover nog niet zo heel veel met zekerheid bekend is.

Men kan zich zonder veel moeite voorstellen, dat het goed functionneren van het interne aëratiesysteem in het inwendige van de zeer compacte weefselmassa van de vol-uitgegroeide vrucht allengs achteruit moet gaan. Er zal geleidelijk een opeenhoping van koolzuur plaats vinden en een tekort aan zuurstof ontstaan, zodat ongetwijfeld producten van een onvolledige verbranding zullen gaan optreden. Aethyleen is waarschijnlijk één van deze veelal giftige stoffen, die langzamerhand een verandering in de permeabiliteit van de vacuole-wand veroorzaken. Peersoorten, die bijzonder veel aethyleen produce-

ren, hebben dan ook duidelijk mindere bewaar-mogelijkheden. In elk geval wordt dit voor de vruchten het naderend einde.

Volgens Kidd kunnen door de veranderde permeabiliteit saccharose en inactieve fructose uit de vacuole naar het cytoplasma permeëren, daar omgezet worden in „actieve” fructose (tegenwoordig noemt men dat fructose-6-fosfaat) en aldus, daar deze actieve fructose als het werkelijke ademhalingssubstraat beschouwd wordt, de versnelde ademhaling veroorzaken. De concentratie van de giftige „verbrandingsslakken” neemt daardoor nog meer toe, er ontstaan „lekken” in de semipermeabele membranen en zuur uit de vacuole dringt binnen in het cytoplasma. Hierdoor daalt de pH daarvan, die vóórdien wel ± 5 à 6 geweest zal zijn, en de aanwezige pectinase met haar lage pH-optimum krijgt kans, de celwand-pectine aan te grijpen. En daarmee is het door de mensen gewenste stadium bereikt: de vrucht is rijp.

*

Eigen onderzoek

Het beeld van ontwikkeling en rijping, dat wij in het voorgaande hebben trachten te geven, is ontwikkeld uit gegevens van talloze publicaties van physiologen en tuinbouwkundigen over de gehele wereld. Publicaties, die het resultaat waren van onderzoekingen, welke zich in eerste instantie ten doel stelden, een inzicht te verkrijgen in de hoeveelheden der voor de vruchten belangrijke stoffen als suikers, zetmeel, eiwitten, celwandbestanddelen, organische zuren, enz. Het is een buitengewoon omvangrijk en ook zeer noodzakelijk werk geweest, dat in al die jaren verricht is, maar het heeft door de grote wisselvalligheid der uitkomsten niet geleid tot veel inzicht in de samenhang met de levensprocessen.

In plaats van nog weer nieuwe bepalingssreeksen aan de reeds bestaande toe te voegen, hebben wij ons begeven op een terrein, waarop in ons gebied nog opvallend weinig gewerkt is; een terrein, waar toch eens de alle omzettingen regulerende mechanismen gevonden zullen moeten worden: dat van de fermenten. Laten wij met de zetmeelregulering beginnen.

Het spel van het zetmeel.

Wij wezen reeds op het voor de tweede ontwikkelingsperiode zo typische verschijnsel der zetmeelvorming en de verdwijning er van.

Iets nauwkeuriger in een voorbeeld. In 1950 waren eind Juni de eerste sporen zetmeel bij Doyenne-Boussoch-peren vlak onder de schil reeds met een eenvoudige jodium-reactie aantoonbaar. Geleidelijk breidde dit zetmeelrayon zich steeds verder naar het centrum van de

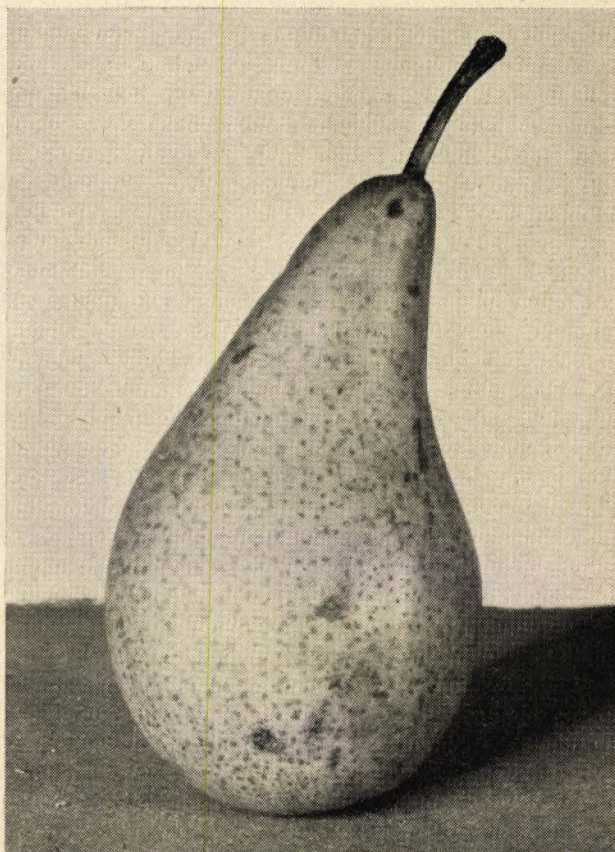
vrucht uit; het bereikte begin Augustus zijn maximum ($\pm 5\%$ van de droge stof), waarbij het zetmeel tot in het klokhuis aantoonbaar was, om daarna in ongeveer gelijk tempo, maar in omgekeerde volgorde, weer af te nemen.

Dit is het regelmatig elk jaar opnieuw optredend komen en gaan van het zetmeel. Slechts de momenten van verschijnen en maximum variëren met de seizoenomstandigheden, want zolang de vruchten aan de boom blijven, blijft ook een laatste kleine hoeveelheid van het zetmeel in de peren aanwezig. Veranderingen na de normale plukdata (rond de eerste dagen van September) treden in dit opzicht aan de boom tot ver in October niet meer op.

Niet zodra evenwel worden de vruchten geplukt — en het maakt hierbij geen verschil, of dit nu half Augustus of half October gebeurt — of binnen enige dagen is het zetmeel verdwenen. M.a.w. elke normale rijping begint onder de aanwezigheid van zetmeel; laten wij dat in gedachte houden.

Hoe staat het met dat zetmeel; welke rol speelt die stof?

In vele gevallen moet deze koolhydraatvorm bij de planten als een reservestof beschouwd worden. Hiervan uitgaande ligt het voor de hand, aldus te redeneren: de aanvoer van suikers



Afb. 4. Geplukte peer (*Conférence*). Foto: Afd. Voorlichting Min. van Landbouw, V. en V.

naar de vrucht wordt in Juli zó groot, dat een te hoog stijgende osmotische waarde van het celvocht zou ontstaan, wanneer niet een deel der suikers in de vorm van het osmotisch onwerkzame zetmeel vastgelegd werd om later weer in de veradembare suiker te worden omgezet.

Zo eenvoudig is het evenwel niet! Gaat men nl. de suikers kwantitatief bepalen, dan blijkt, dat de zetmeelvorming begint, wanneer de suikerconcentratie duidelijk minder hoog is dan later, wanneer het zetmeel alweer wordt afgebroken. Interessant, maar op zichzelf uit praktisch oogpunt nog geen aanleiding om deze kwestie in onderzoek te nemen.

Anders wordt het, wanneer wij de relatie zetmeel-rijping gaan bezien. Wij vermeldde reeds het feit, dat de normale rijping begint onder aanwezigheid van zetmeel. Tijdens die rijping verdwijnt dit zetmeel en nu neemt men aan, dat bij de gedeeltelijk onvolledige verbranding, die in de rijpingsperiode van vol-uitgegroeide vruchten plaats vindt, een deel van de zetmeelafbraakproducten tot aromastoffen wordt omgezet. Bij de rijping van bij lage temperatuur bewaarde peren moet een en ander een afwijkend verloop hebben; al zeer kort nadat men de vruchten bij die lage temperatuur gebracht heeft, blijkt nl. het zetmeel verdwenen te zijn. Niet alle processen worden dus in het koelhuis gelijkmatig vertraagd en wanneer nu later de vruchten tot narijping worden gebracht, is de

rijping niet „normaal” meer: zij begint nu immers bij afwezigheid van zetmeel en wij begrijpen nu tegelijkertijd ook de mogelijke oorzaak van aromagebreken bij koelhuisperen.

En hiermee wordt een en ander van groot belang, want nu krijgt de gehele zetmeel-suikerrelatie een duidelijk praktische zijde: een nauwkeuriger kennis van dit verband zou aanleiding kunnen worden tot verbeteringen in de bewaarvoorwaarden.

De zetmeelfermenten.

Aanvankelijk mislukten pogingen om het enig bekende zetmeelvormende ferment *fosforylase* in het fijn gewreven vruchtvlees aan te tonen. Uit proeven met uit aardappelen geïsoleerde fosforylase bleek de oorzaak hiervan te zijn, dat de lage pH ($\pm 3,6$) van het vacuolevocht, dat bij fijnwrijven der cellen vrijkomt, het ferment, dat in het cytoplasma gelocaliseerd moet zijn, vernietigde. Door nu vóór het fijnwrijven de pH van dit celsap kunstmatig met natrium-bicarbonaat te verhogen kon de vernietiging voorkomen worden en inderdaad werd het nu mogelijk, de aanwezigheid van dit belangrijke ferment vast te stellen.

Evenzeer gelukte het, daarnaast de beide zetmeelafbrekende fermenten α - en β -*amylase* in de vruchten aan te tonen, zodat het mogelijk werd, tijdens ontwikkeling, koelhuisbewaring en rijping de potentiële werkzaamheid van het zetmeelopbouwende en van het afbrekende mechanisme naast elkaar na te gaan.

Daarbij werd een verrassende waarneming gedaan. Dat beide fermenten, het synthetiserende zowel als het afbrekende, eerst bij het begin der zetmeelvorming aantoonbaar worden, hoeft ons niet te verbazen. Evenmin het feit, dat het afbrekende ferment gedurende de gehele koelperiode aanwezig blijft. Verrassend en verheugend was evenwel de waarneming, dat ook het synthetiserende ferment de fosforylase steeds, ook tijdens de gehele koelhuisbewaring, duidelijk in de cellen kan worden aangetoond.

Verheugend: nu kunnen wij ons immers voorstellen, dat het al of niet verdwijnen van zetmeel in de afgeplukte en in de in het koelhuis bewaarde vrucht een gevolg is en blijft van de resulterende werking van beide fermenten, fosforylase en amylase. En dat betekent, dat pogingen om het zetmeel ook tijdens de koelperiode in de vrucht te houden, beperkt kunnen blijven tot pogingen om het evenwicht der beide fermentwerkingen te verschuiven. Dit zou wel eens eenvoudiger kunnen blijken dan het weer tevoorschijn roepen van een reeds verdwenen ferment — al moet men zich daarvan nu weer niet direct teveel voorstellen: het bewust wijzi-



Afb. 5. Kistjes peren worden in de koelruimte opgeslagen. Foto: Afd. Voorlichting Min. van Landbouw, V. en V.

gen van het interne mechanisme van levende objecten is maar zelden een eenvoudige zaak!

Tot zover over het zetmeel tijdens ontwikkeling, koelhuisbewaring en rijping. Wij willen het ook nog hebben over een ander typisch rijpingsverschijnsel: het zacht-worden.

*De schone schijn en de werkelijkheid:
de pectine-omzettingen.*

Bij het geven van een totaal beeld van de rijping hebben wij al gezegd, hoe men zich een voorstelling kan maken van de wijze, waarop de pectine-afbrekende fermenten bij de rijping hun kans krijgen, de pectine aan te grijpen. Vergelijken wij nu die voorstelling met het in figuur 2 gegeven schema, dan moeten wij alweer zeggen, dat alles op papier eenvoudiger lijkt dan het in werkelijkheid is.

De moeilijkheid is nl., dat men nimmer in appels of peren de aanwezigheid van pectine-afbrekende fermenten heeft kunnen aantonen. Kertesz, een van de meest op de voorgrond tredende pectine- en pectineferment-deskundigen in Amerika, heeft dat bijzonder sterk gevoeld. Juist op grond van deze steeds weer mislukte pogingen is hij in een andere richting gaan zoeken en inderdaad is hij er in geslaagd, pectine tot galacturonzuur af te breken met behulp van *ascorbinezuur*; vooral bij toevoegen van peroxyden was het resultaat duidelijk. In vitro! Maar zó, meent Kertesz, zou het ook wel eens in de vrucht kunnen gaan.

Ongetwijfeld een theorie, die een zekere „verlegenheid” verraaft; in elk geval is er op een belangrijk punt nog veel problematisch in deze materie. Maar wij zijn niet ongelukkig geweest bij onze pogingen om wat meer licht in de hier beschreven controverse te brengen. De verheldering kwam voort uit een aanvankelijk in het onderzoek optredende complicatie; zoals dat wel meer het geval is.

In het cytoplasma der cellen van het vruchtweefsel bleek nl. een tijdens de ontwikkeling toenemende en bij de rijping snel naar een maximum stijgende hoeveelheid van een stof aanwezig te zijn, die de werking van pectinase remt. Voegen wij iets van deze stof (die zich gemakkelijk laat afscheiden, drogen en weer oplossen) bij een pectine-pectinase-mengsel in oplossing, dan blijkt uit regelmatige pectinebepalingen, dat de afbraak der pectine zeer aanzienlijk vertraagd wordt vergeleken bij die van een mengsel, waaraan deze stof niet wordt toegevoegd. Interessant is, dat deze remstof juist begint op te treden bij de overgang van de eerste naar de tweede ontwikkelingsperiode; de toenemende hoeveelheid er van is dus een nieuw kenmerkend verschil voor de twee ontwikke-

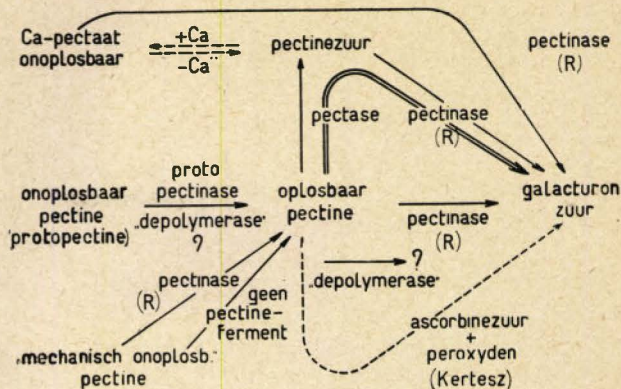


Fig. 6. Schema van de verschillende pectinestoffen en hun afbraak door fermenten.

lingsstadia. In elk geval moet dus in het verband tussen pectine en pectine-afbrekend ferment nog ergens die pectinase-remstof ingeschakeld gedacht worden. Dit is de complicatie, waarop wij doelden. En de verheldering, die deze met zich meebrengt, is deze, dat wij in deze remstof de oorzaak kunnen zien van het feit, dat de pectinase niet kon worden aange-toond.

Bij verder onderzoek bleek, dat pectinase bij lage pH-waarden sterker aan de structuurbestanddelen van perenmoes geadsorbeerd wordt dan deze remstof. Dit gaf ons hoop voor het welslagen van een proef, die op de volgende gedachte berust. Nemen wij eens aan, dat er ondanks alles toch pectinase aanwezig is in het moes van rijpe peren. Normaal kunnen wij die niet meten door de overmaat remstof; maar wanneer wij dat moes uitwassen met water, terwijl wij er voor zorgen dat de pH laag blijft, dan bestaat de kans om relatief meer remstof dan pectinase weg te wassen. Deze gedachte bleek inderdaad juist: bij toevoegen van pectine aan dit uitgewassen materiaal (wij laten de noodzakelijke contrôles buiten bespreking) is een duidelijke pectinase-afbraak vast te stellen.

Hiermee is dan toch de aanwezigheid van pectinase in rijpe peren gebleken en dus is het gegeven beeld der rijping, voor zover onze kennis thans gaat, juist gebleken.

*

Laten wij hiermee deze beschrijving van de grote lijn van ons onderzoek en van de achtergrond, waartegen het zich afspeelt, mogen besluiten. Wij hopen er in geslaagd te zijn duidelijk te maken, welke betekenis dit onderzoek heeft en hoe de verwachting mag bestaan, dat op den duur voordeel getrokken zal kunnen worden uit de soms schijnbaar slechts kleine vooruitgang in kennis, waartoe ook wij onze bijdrage leveren.