

A07

Mario Pagano

**Effetti di onde sonore a diverse frequenze
sulla crescita e la fisiologia delle piante**





Aracne editrice

www.aracneeditrice.it
info@aracneeditrice.it

Copyright © MMXX
Gioacchino Onorati editore S.r.l. – unipersonale

www.gioacchinoonoratieditore.it
info@gioacchinoonoratieditore.it

via Vittorio Veneto, 20
00020 Canterano (RM)
(06) 45551463

ISBN 978-88-255-3347-7

*I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica,
di riproduzione e di adattamento anche parziale,
con qualsiasi mezzo, sono riservati per tutti i Paesi.*

*Non sono assolutamente consentite le fotocopie
senza il permesso scritto dell'Editore.*

I edizione: giugno 2020

La natura non fa nulla invano.

ARISTOTELE (384–322 a.C.)

Indice

- 9 **Capitolo I**
 Parte generale
 1.1. Introduzione, 9 — 1.2. Il suono, 10 — 1.2.1. *Caratteristiche del suono*, 11 — 1.3. Settori d'impiego, 13 — 1.4. Modelli matematici, 14 — 1.5. Effetti del suono sulle piante, 18 — 1.5.1. *Il ruolo dei geni TCH*, 18 — 1.5.2. *Segnali fisiologici e biochimici*, 19 — 1.5.3. *I geni sensibili al suono*, 22
- 23 **Capitolo II**
 Parte sperimentale
 2.1. Materiali e metodi, 23 — 2.1.1. *Materiale vegetale*, 24 — 2.1.1.1. *Prove effettuate in campo*, 24 — 2.1.1.2. *Cloni impiegati nella ricerca*, 25 — 2.1.1.3. *Materiale vegetale impiegato nei test di laboratorio*, 27 — 2.1.2. *Materiale elettronico*, 29 — 2.1.2.1. *Impianto sonoro nel vigneto*, 29 — 2.1.2.2. *Materiale elettronico impiegato per valutare la curvatura della radice*, 33 — 2.1.2.3. *Determinazione dei flussi ionici*, 34 — 2.1.2.4. *Vibrometria laser*, 36 — 2.1.2.5. *Elaborazione dei dati con il software Matlab*, 37 — 2.1.3. *Metodologia delle prove in pieno campo*, 38 — 2.1.3.1. *Rilievi vegeto-produttivi*, 38 — 2.1.3.2. *Maturità tecnologica e fenolica*, 39 — 2.1.4. *Metodologia delle prove di laboratorio*, 42 — 2.1.4.1. *La piastra elettronica*, 42 — 2.1.4.2. *Il Vibrating Probe*, 44 — 2.1.4.3. *Il laser doppler vibrometer*, 45 — 2.2. Risultati e discussione, 49 — 2.2.1. *Prove di pieno campo*, 49 — 2.2.2. *Prove di laboratorio*, 56
- 63 *Conclusioni*
- 65 *Ringraziamenti*
- 67 *Bibliografia*
- 73 *Allegati*

Parte generale

1.1. Introduzione

L'impiego delle onde sonore a differente frequenza ha dato luogo a numerose applicazioni in svariati settori, come quello ingegneristico, medico ed estetico. Più recentemente il loro impiego è stato suggerito anche nel campo delle coltivazioni agrarie.

Infatti, in sintonia con tutti gli esseri viventi, le piante necessitano di specifiche condizioni ambientali per crescere ed ambientarsi nel migliore dei modi. In genere, la percezione di stimoli ambientali quali la temperatura del suolo, l'esposizione alla luce, la presenza di acqua, è di fondamentale importanza per una corretta sopravvivenza di questi organismi autotrofi (Telewski, 2006). Oltre a ciò, la percezione da parte delle piante può estendersi anche a rumori e vibrazioni, naturalmente o artificialmente generati nell'ambiente, in grado di influenzare la crescita e l'adattamento di una specie vegetale nel suo specifico territorio. La presente ricerca è stata sviluppata per indagare gli effetti di onde sonore, a differenti frequenze, sulla crescita e la fisiologia delle piante. A tal fine, sono state predisposte prove di campo e di laboratorio, che hanno visto la collaborazione sia di un Istituto di ricerca inglese, sia di una azienda agricola toscana ubicata in un pregevole territorio viticolo.

1.2. Il suono

Il suono (dal latino *sonum*) è un fenomeno fisico generato dalla vibrazione di un corpo in oscillazione. Tale fenomeno, quindi, è legato all'oscillazione compiuta di particelle (atomi e molecole) in un mezzo. La sorgente del suono è definita come lo spostamento di particelle causato da un corpo in vibrazione. Tale corpo trasmette il proprio movimento alle particelle adiacenti in relazione alle caratteristiche fisiche del mezzo di propagazione. Il propagarsi per contatto, dell'oscillazione delle particelle vicine, genera l'onda sonora (o onda acustica). Tale onda rappresenta la propagazione meccanica di un movimento vibratorio scaturito dalla sorgente. Affinché la propagazione avvenga è necessario che il mezzo offra condizioni di elasticità. L'aria, ad esempio, è un mezzo elastico di propagazione del suono, in cui sono presenti molecole unite fra di loro da legami deformabili che, successivamente al movimento oscillatorio, riportano le molecole nella posizione iniziale di equilibrio. Il fenomeno fisico dell'oscillazione di ogni singola particella, in vibrazione attorno ad una posizione media fissa, rappresenta il susseguirsi di pressioni e depressioni nell'aria che si ripetono a partire dalla sorgente nel senso di propagazione del suono (Olson, 1967; Righini e Righini, 1974; Owen, 2001).

La rappresentazione grafica del movimento delle particelle vibranti può essere espressa con un'onda (Fig. 1.1). Tale onda è caratterizzata da grandezze fisiche che definiscono lo stato di tensione del corpo elastico che entra in vibrazione. Il movimento delle particelle all'interno dell'onda può essere così schematizzato: inizialmente la particella si sposta dal suo punto di riposo fino a raggiungere il momento più alto del movimento oscillatorio (apice della parabola). Successivamente, la particella inizia un nuovo movimento in direzione

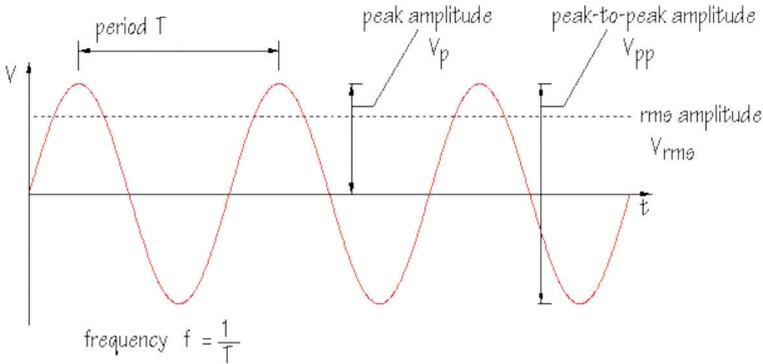


Figura 1.1. Rappresentazione grafica dell'onda sonora (da www.doctrionics.co.uk).

opposta, passando per il punto di riposo e raggiungendo, in fase negativa, il culmine simmetrico al precedente. Il “ciclo” continua con un movimento contrario verso la fase positiva ripetendo gli spostamenti precedenti.

1.2.1. Caratteristiche del suono

Le grandezze fisiche che caratterizzano l'onda sonora sono: il periodo, l'ampiezza, la frequenza e l'intensità. Il periodo rappresenta il tempo necessario alla particella affinché torni nello stesso punto dopo aver iniziato lo spostamento, ed indica la durata complessiva dell'oscillazione espressa in secondi. L'ampiezza è la massima variazione di una grandezza in un'oscillazione periodica. La frequenza è definita come il numero di oscillazioni compiute dalla particella nell'unità di tempo. Essa è espressa in Hz nel caso in cui è impiegato il secondo come unità di misura del tempo. L'intensità costituisce l'energia che transita attraverso l'unità di aria nell'intervallo di tempo unitario. Come unità di misura è utilizzata la potenza per unità di area; cioè watt/metro² (W/m^2) (Giancoli, 2006).

Nella fisica del suono, per correlare la percezione soggettiva della sensazione sonora con la quantità fisicamente misurabile (ovvero l'intensità) è utilizzata una scala logaritmica. Questa scala è il bel, comunemente definita decibel (dB) che equivale ad un decimo di bel ($10 \text{ dB} = 1 \text{ bel}$). In particolare, il livello di intensità β di ogni suono è definito in funzione della sua intensità, I , nel seguente modo:

$$\beta \text{ (in dB)} = 10 \log I/I_0$$

dove I_0 è l'intensità di un certo livello di riferimento mentre il logaritmo è espresso in base 10.

Quindi, 0 dB non significa zero intensità, come anche 10 dB, essendo espressione di un rapporto logaritmico, non corrispondono a 10 volte la variazione di intensità.

In condizioni normali, l'intensità di un suono decresce mentre ci si allontana dalla sorgente sonora del suono stesso. In particolare se la sorgente sonora si trova all'aperto, senza vincoli di diffusione, l'intensità decresce con l'inverso del quadrato della distanza secondo la seguente espressione:

$$I = 1/r^2$$

Su grandi distanze, ovviamente, il rapporto $1/r^2$ è più accentuato, perché una parte dell'energia è condizionata dai moti irregolari delle molecole dell'aria. Tale perdita si verifica maggiormente per le alte frequenze.

Un ulteriore aspetto fisico dell'onda sonora è rappresentato dalla velocità che è funzione dei mezzi impiegati per la sua propagazione. Ad esempio nell'aria a 0°C e 1 atm, il suono viaggia alla velocità di 331 m/s (Tab. I.I). Inoltre, nel caso specifico, gli incrementi di velocità sono subordinati alla seguente espressione:

Tabella 1.1. Velocità del suono in differenti mezzi (rielaborata da Giancoli, 2006).

Materiale	Velocità (m/s)
Aria	343
Aria (0°C)	331
Elio	1005
Idrogeno	1300
Acqua	1440
Acqua di mare	1560
Ferro e acciaio	≈ 5000
Vetro	≈ 4500
Alluminio	≈ 5100
Legno duro	≈ 4000
Calcestruzzo	≈ 3000

$$v \approx (331 + 0.60T) \text{ m/s}$$

dove T è la temperatura in °C (Giancoli, 2006).

1.3. Settori d'impiego

Come già accennato nella parte introduttiva, l'impiego del suono trova ormai applicazione in numerosi settori quale quello per le applicazioni sonar, gli ultrasuoni e la ricostruzione dell'immagine in medicina. Il sonar, acronimo di "*sound navigation and ranging*" è uno strumento in grado di misurare le distanze basandosi sull'emissione di impulsi e sulla ricezione degli stessi. Tale tecnologia è di fondamentale importanza per la localizzazione di oggetti sott'acqua. Un trasmettitore invia un impulso sonoro attraverso l'acqua ed un ricevitore recepisce il segnale riflesso in un determinato intervallo. Conoscendo la velocità di propagazione del suono nell'acqua

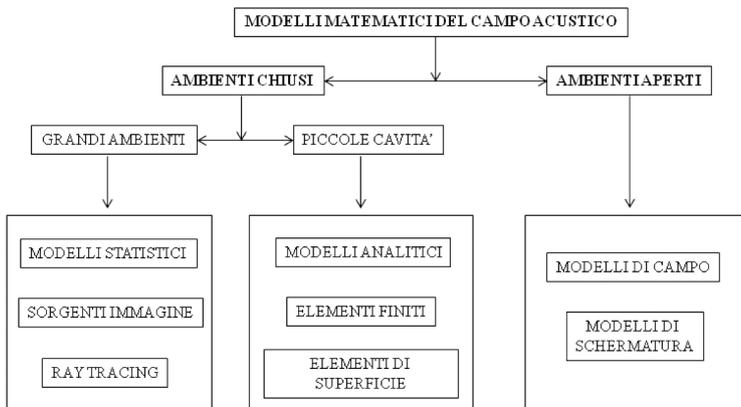
(1440–1560 m/s) è possibile misurare la distanza dell'oggetto riflettente. Generalmente tale tecnologia impiega frequenze ultrasoniche al di fuori dell'intervallo di udibilità dell'uomo (da 20 kHz a 100 kHz).

Gli ultrasuoni possono essere di grande utilità nella diagnostica medica per la rappresentazione digitale di immagini. In particolare la tecnica chiamata ecografia, simile per metodica ma differente dalla tecnologia sonar per le frequenze impiegate (da 1 a 10 MHz), è di fondamentale importanza per lo studio di strutture o lesioni presenti in un corpo (Giancoli, 2006).

1.4. Modelli matematici

Un settore importante della ricerca si occupa della realizzazione di modelli matematici per la previsione della diffusione del suono. Al riguardo, è di seguito riportata una tabella che riassume le tipologie di modelli fino ad oggi impiegati per lo studio del campo acustico (Tab. 1.2):

Tabella 1.2. Tipologie di modelli matematici (schema rielaborato da Farina, 1991).



Di seguito, sono analizzate le tipologie di tali modelli.

Ambienti chiusi — Grandi ambienti

- *Modelli dei grandi ambienti*: essi sono utilizzati per lo studio di sorgenti sonore di scarsa quantità ma ben localizzate. Un'ulteriore caratteristica risiede nella particolarità del campo acustico che risulta dipendente, per lo più, dai fenomeni di riflessione multipla del suono sulle pareti dell'ambiente.
- *Modelli statistici*: in questo caso viene supposto che le proprietà acustiche legate al fenomeno delle riflessioni multiple siano uniformi in tutti i punti dell'edificio. La statistica di riferimento in questo caso tiene conto della teoria di Sabine che può essere espletata secondo la seguente formula:

$$T_{riv} = 0,16 * (V / \sum_i \alpha_i * S_i)$$

dove α è il coefficiente di assorbimento, S è la superficie e V è il volume dell'ambiente.

- *Sorgenti Immagine*: essa considera il concetto di riflessione speculare del suono su una parete, questo permette di immaginare l'onda riflessa come proveniente da una sorgente reale "riprodotta" dalla parete (Fig 1.2). Tale metodo richiede tempi di calcolo molto lunghi, perché il numero di sorgenti N_s che si creano cresce in base alle riflessioni e al numero delle superfici secondo la seguente espressione:

$$N_s = S * (S - 1)^{(0-1)}$$

dove 0 è l'ordine delle riflessioni e S è il numero delle superfici.

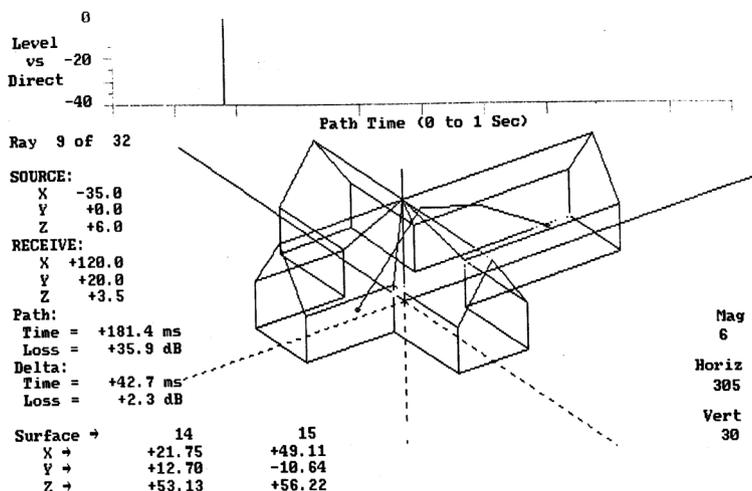


Figura 1.2. Esempio di output del software per la modellistica delle “sorgenti immagini” (da Farina, 1991).

Questo tipo di software (CAD espressamente approntato per scopi sonori) consente di poter studiare il campo acustico per valutare l’esistenza di echi o riflessioni veloci. L’energia sviluppata dal livello sonoro è espressa dalla seguente relazione matematica:

$$L = L_w + 10 * \log \left\{ \frac{Q * (1 - \alpha_1) * (1 - \alpha_2) * \dots * (1 - \alpha_n)}{4 * \pi * d^2} \right\}$$

dove Q è la direttività della sorgente nella particolare direzione considerata e α il coefficiente di assorbimento delle singole superfici.

- *Ray Tracing*: questa tecnica prevede l’emissione di raggi sonori in molteplici direzioni partendo, però, da una posizione ben definita della sorgente. La propagazione dei raggi è rettilinea, nonostante i rimbalzi nell’ambiente per effetto di molteplici riflessioni. La precisione

di questa tecnica risiede nella quantità di raggi necessari per ricoprire la maggior quantità di superficie.

Ambienti chiusi — Piccole cavità

- *Soluzioni analitiche*: questa metodologia è utile nel caso di cavità di forma semplice (sfere, cilindri, parallelepipedi) per conoscere tutte le grandezze del campo acustico ed, in particolare, la pressione sonora in tutti i punti della cavità.
- *Elementi finiti*: attraverso una implementazione della formula di D’Alambert è possibile realizzare la tecnica degli elementi finiti. Essa impiega sottodomini con forme geometriche standardizzate, come per esempio tetraedri, per la suddivisione dei volumi oggetto di studio. Successivamente con una interpolazione dell’equazione di Helmholtz, derivata da quella di D’Alambert, è possibile calcolare il valore dell’integrale in funzione delle pressioni sonore nei vertici del tetraedro. Questo sistema ha come difetto quello di produrre una notevole quantità di incognite.
- *Elementi di superficie*: consente di poter studiare cavità con aperture, misurando, con una direzionalità esterna, la radiazione che le attraversa.

Ambienti aperti

- *Modelli di campo cilindrico*: in questa categoria di modelli, ritroviamo formule in grado di poter misurare preventivamente la “rumorosità” generata da un oggetto in movimento. Esso si basa sull’ipotesi di una sorgente sonora costituita da una linea retta che ha una certa potenza per metro lineare.

- *Modelli di schermatura*: questi modelli sono particolarmente importanti per lo studio di problemi derivanti da distorsioni del suono, provocate da eventuali ostacoli, in ambienti aperti. È possibile, quindi, misurare l'attenuazione ΔL prodotta da tale barriera. Tale modello è rappresentato dalla seguente espressione matematica:

$$\Delta L = 5 + 10 * \log \{ [| 2 * \pi * |N|] / \tan h (| 2 * \pi * |N|) \}$$

dB (Farina, 1991)

1.5. Effetti del suono sulle piante

1.5.1. *Il ruolo dei geni TCH*

Come è noto, le modifiche di carattere fisiologico nelle piante possono dipendere da stimoli meccanici (vento, spruzzi d'acqua, tagli) che, a loro volta, influenzano la resistenza a forme di stress nei tessuti. I cambiamenti dovuti a meccano-stimolazioni sono definiti come "tigmomorfogenesi" (Braam *et al.*, 1997; Johnson *et al.*, 1998; Braam, 2005; Jeong *et al.*, 2008). Alcuni studi hanno dimostrato come *Hordeum vulgare*, *Bryonia dioica*, *Cucumis sativus*, *Phaseolus vulgaris*, *Ricinus communis* e *Mimosa pudica* se sottoposti ad una manipolazione meccanica due volte al giorno per 10 sec. mostrano un allungamento significativamente inferiore degli internodi (Jaffe, 1973). Inoltre, sembra che nei meccanismi che regolano il fenomeno della tigmomorfogenesi delle piante sia coinvolto anche un incremento di etilene.

I cambiamenti fisiologici ed evolutivi non sono scevri dal mutare delle condizioni ambientali in cui la pianta vi risiede. Tali variazioni comportano rapide fluttuazioni nell'espressione genica della pianta consentendo, così, di poter resistere alle

avversità ambientali e di propagare tali cambiamenti anche alle generazioni successive. Un particolare ruolo genetico nella risposta e nell'adattamento agli stimoli ambientali, è dato dai i geni TCH. Essi sono strettamente coinvolti nell'espansione delle cellule e dei tessuti sottoposti a sollecitazioni meccaniche. È inoltre ipotizzato che tali geni possano collaborare alla biogenesi della parete cellulare (Braam *et al.*, 1977; Braam, 1992; Sistrunk *et al.*, 1994; Braam, 2005; Jeong *et al.*, 2008).

1.5.2. Segnali fisiologici e biochimici

Nel mondo vegetale la percezione di uno stimolo meccanico avviene in tempi brevissimi e attraverso la conversione, della pressione indotta, in un messaggio biochimico o bioelettrico.

In tale contesto, sono state condotte ricerche per studiare i cambiamenti biochimici e fisiologici nelle piante in risposta a differenti trattamenti sonori. Sono stati così sottoposti a trattamento di una frequenza sonora di 20 kHz il cavolo cinese (*Brassica pekinensis*) ed il cetriolo (*Cucumis sativus*) (Smith, 1985; Kin e Heinrich, 1995; Lee, 1997; Qin *et al.*, 2001a; Qin *et al.*, 2001b; Qin *et al.*, 2003). Come indicatori biochimici sono state utilizzate le poliammine, note per essere accumulate in tessuti in crescita. L'impiego di 20 kHz ha comportato un incremento significativo del livello di tali sostanze e così pure un aumento dell'assorbimento di ossigeno. L'incremento respiratorio è risultato essere funzione oltre che di una rapida crescita dei tessuti, anche di stress esterni (gelo, lesioni, infezioni). I risultati della ricerca hanno posto in evidenza la possibilità di incrementare la crescita della specie in questione con specifiche frequenze (Qin *et al.*, 2001a; Qin *et al.*, 2001b; Qin *et al.*, 2003).

Una recente ricerca, ha mostrato come l'impiego di onde sonore possa consentire di inibire o stimolare la prolifera-

zione di tessuto parenchimatico indifferenziato nel crisantemo. Tra gli indici fisiologici e biochimici impiegati in questo studio, sono particolarmente importanti l'impiego dei SOD (enzimi antiossidanti presenti nel citosol e nei mitocondri), il contenuto di proteine solubili e il tasso di assorbimento di calcio nel callo.

Oltre ai SOD, sono state analizzate le attività di altri enzimi protettivi nelle piante, quali perossidasi (POD) e catalasi (CAT) che mostrano un loro particolare coinvolgimento in risposta a stimoli meccanici come quelli sonori (Murphy, 1990; Goodman *et al.*, 1995). È noto come la divisione e la crescita dei tessuti vegetali dipendano molto dal contenuto di proteine solubili. Uno studio al riguardo, è stato effettuato su *Dendranthema morifolium*, soggetto spesso utilizzato per la sua rapida crescita e notevole produzione di semi (Shi e Cheng, 1991; Sun, 1999; Zhao *et al.*, 2003). Un trattamento a 800 Hz e 100 dB ha comportato l'incremento del contenuto di proteine solubili garantendo una migliore crescita dei tessuti (Cai e Yuan, 1982; Long, 1999). Oltre questo valore di frequenza si può notare un decremento del vantaggio precedentemente descritto (Cai e Hou, 2000; Zhao *et al.*, 2003). Ulteriori studi sono stati effettuati sugli acidi nucleici e proteine di *Chrysanthemum*, dimostrando che il livello di trascrizione nelle cellule, sottoposte a trattamento sonoro di 60 Hz, è stato 4 volte superiore al controllo (Wang *et al.*, 2003). Inoltre, è stato accertato che tale trattamento ha avuto un effetto catalizzatore per la sintesi di RNA e proteine solubili (Goodman e Henderson, 1991). Alcune analisi biochimiche hanno dimostrato come gli stimoli esercitati da onde sonore possano essere correlati ad un incremento di acido indolacetico (IAA) e alla diminuzione di acido abscissico (ABA) (Cai, 1980; Yuan e Ding, 1990; Jeong *et al.*, 2008). Più precisamente è stato dimostrato come un trattamento sonoro di 1,4 kHz e 95 dB, per 10 giorni, possa